

Pengaruh Paparan Gas Ozon terhadap Kadar Air, Lignin, Selulosa dan Hemiselulosa pada *Azolla pinnata*

Ari Oscar Moris^{1,a}, Muhammad Nur², Hendi Setyawan¹ dan Iwan Setiawan¹

¹Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Sumedang

²Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang

^aemail: arioscarmoris@gmail.com

Abstrak

Azolla pinnata memiliki protein berkisar antara 25%-30% sehingga berpotensi dijadikan bahan pakan untuk ruminansia, unggas maupun ikan. Kandungan serat kasar yang cukup tinggi mencapai 20% menjadi penghambat kecernaan nutrisi. Gas ozon dikenal sebagai zat oksidatif yang mampu mengurai struktur lignin menjadi asam maleat dan asam oksalat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan gas ozon terhadap kadar air, lignin, selulosa dan hemiselulosa pada *Azolla pinnata*. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Parameter yang diukur adalah kadar air, lignin, selulosa dan hemiselulosa. Perlakuan ozon yang digunakan adalah durasi paparan 0 menit (T0), 60 menit (T1), 120 Menit (T2), 180 menit (T3) dan 240 menit (T4). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan paparan gas ozon tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air akan tetapi mampu menurunkan kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa dengan signifikan. Paparan selama 180 menit merupakan waktu yang optimal untuk menurunkan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa.

Kata kunci : *Azolla pinnata*, ozon, lignin, selulosa, hemiselulosa

Effect of Ozonation on Water Content, Lignin, Cellulose and Hemicellulose of *Azolla pinnata*

Abstract

Azolla pinnata has a protein ranging from 25%-30% so it has the potential to be used as feed for ruminants, poultry and fish. Crude fiber content is high enough to reach 20% becomes an inhibitor of nutrient digestibility. Ozone gas is known as an oxidative compound capable of breaking down the lignin structure into maleic acid and oxalic acid. This research aims to determine the effect of ozonation on water content, lignin, cellulose and hemicellulose in *Azolla pinnata*. This research was conducted experimentally using a completely randomized design with 5 treatments and 4 replications. The parameters measured were the content of lignin, cellulose and hemicellulose. The ozone treatment used was the duration of exposure 0 minutes (T0), 60 minutes (T1), 120 minutes (T2), 180 minutes (T3) and 240 minutes (T4). The results showed that the treatment of ozone gas exposure had no significant effect on water content although significantly reduce the content of lignin, cellulose and hemicellulose. Exposure for 180 minutes is the optimal time to reduce the levels of lignin, cellulose and hemicellulose.

Keywords: *Azolla pinnata*, ozone, lignin, cellulose, hemicellulose

Pendahuluan

Azolla berasal dari bahasa Yunani yaitu *azo* yang berarti musim dan *olloyo* yang berarti mati. Jadi *Azolla* berarti tanaman ini akan mati pada lingkungan yang kering (Lumpkin dan Plucknett, 1980). Yunus (1983) menyebutkan bahwa *Azolla pinnata* mudah dijumpai di daerah tropis dengan suhu optimum 20-25°C. Daunnya bertekstur lunak, berklorofil dan letak daunnya berselang-seling (*pinnate*). Daunnya berbentuk segitiga sampai segi banyak dan berwarna hijau tua atau kemerah-merahan dengan diameter sekitar 1-2,5 cm setiap koloninya (Lumpkin dan Plucknett, 1980).

Daun *Azolla pinnata* memiliki rongga berisikan koloni *annabaena* yang mampu menambat N₂ dari udara (Tjitrosoepomo,

1981). Menurut Lawrance (1968) *Azolla* bersimbiosis dengan ganggang hijau-biru yang dapat menangkap Nitrogen dari udara bebas dan menyimpannya dalam sel daun. *Azolla* tumbuh di lingkungan dengan tingkat naungan 50%, pH antara 3,5-10, dan untuk pertumbuhan optimalnya diperlukan H 4,5-7, temperatur antara 20°C hingga 30°C. Tanaman *Azolla* akan mati pada temperatur dibawah 5°C dan diatas 45°C (Tran dan Dao, 1973).

Kandungan serat yang tinggi (19,52%), terutama selulosa (14,08%) dan lignin (21,42%) pada *azolla* merupakan kendala jika dimanfaatkan sebagai bahan pakan unggas karena tidak memiliki enzim pemecah serat (Noferdian dan Zubaidah, 2012). Querubin dkk., (1988) melaporkan bahwa *azolla*

mengandung NDF (57,80%), ADF (44,5%), selulosa (9,46% dan lignin (27,52%).

Upaya yang banyak dikenal dan paling banyak digunakan dalam mereduksi lignin pada hijauan pakan adalah secara fermentatif. Penggunaan mikroba MA-11 dalam proses fermentasi jerami selama enam hari dapat mereduksi 50% kandungan lignin yang ada (Suryani, 2018). Fermentasi yang memanfaatkan pengurai mikroba (*Trichoderma harzianum*) selama tiga hari dan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) selama tujuh hari mampu mereduksi kadar lignin pada *Lemna minor* hingga mencapai 1,25% (Setyatwan dkk., 2018).

Penguraian lignin dalam pakan ternak menggunakan gas O₃ (ozon) belum dilakukan di Indonesia, sedangkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa gas O₃ (ozon) efektif dalam penguraian struktur lignin. Proses ozonasi dapat mengubah struktur lignin menjadi asam maleat dan asam oksalat (Mbachu, 1979). Pemanfaatan ozon untuk mendegradasi lignin pertama kali dipelajari oleh Doree dan Cunningham yang berhasil melakukan delignifikasi lignin pada kayu *Fagus sp.* Proses ozonasi terhadap tepung kayu cemara selama 120 menit dapat mereduksi kandungan lignin sebanyak 87,7% (Mbachu, 1979). Penelitian yang dilakukan oleh Eqra dkk., (2014) menunjukkan bahwa perlakuan ozonolisis yang digunakan sebagai *pretreatment* ampas tebu selama 3,5 jam menghasilkan hemiselulosa dapat dipecah sebanyak 50%.

Ozon (O₃) merupakan molekul triatomik karena tersusun atas tiga atom O, bersifat tidak stabil, berbau menyengat dan mudah terurai kembali (Mbachu, 1979). Metcalf dan Eddy (2003) menyatakan bahwa ozon pada suhu ruang berwarna biru dan memiliki bau yang tajam. Ozon dapat dideteksi oleh hidung manusia pada konsentrasi 0,01 – 0,05 ppm dan akan meledak saat konsentrasinya mencapai 240 g/m³ atau sebanyak 20% di udara. Ozon tidak bisa disimpan ataupun ditransportasikan secara khusus karena waktu paruh keberadaan ozon sangat singkat, yaitu sekitar 4 – 6 menit karena ozon akan dengan cepat terdekomposisi kembali menjadi molekul oksigen. Oleh karena itu ozon harus diproduksi secara *in situ* yaitu dekat dengan instalasi pemanfaatannya (Bismo, 1999).

Ozon dapat diproduksi oleh sebuah generator ozon menggunakan teknologi

plasma. Teknologi lucutan berpenghalang dielektrik sering digunakan untuk membangkitkan ozon (Nur dkk, 2017). Semakin tinggi voltase yang digunakan, maka jumlah ozon yang terbentuk akan semakin banyak (Syarifudin dan Novia, 2013). Saat ini ozon banyak digunakan untuk penanganan pasca panen produk hortikultura dalam upaya memperpanjang masa simpan produk (Nur dkk, 2021; Susan dkk, 2018).

Materi dan Metode

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *Azolla pinnata* beumur 14 hari hasil budidaya mandiri dan gas ozon yang dihasilkan dari generator ozon milik PT Dipo Technology Semarang. Generator ozon yang digunakan memiliki kapasitas 150gram/jam dengan flow rate 20 liter/menit pada arus listrik 220 volt. Tanaman azolla disusun di atas rak bertingkat berbahan *stainless steel* kemudian dimasukkan ke dalam boks plastik yang sudah dimodifikasi untuk dilakukan pemaparan gas ozon dalam keadaan suhu ruang.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan empat pengulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan durasi pemaparan yaitu; 0 menit (T0), 60 menit (T2), 120 menit (T3), 180 menit (T4) dan 240 menit (T5). Seluruh sampel hasil pemaparan gas ozon dianalisis Van Soest di Laboratorium Nutrisi Ternak Ruminansia dan Kimia Makanan Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Parameter yang diamati adalah kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa. Data yang diperoleh dianalisis dengan perangkat lunak SPSS menggunakan analisa sidik ragam (*anova*) dan dilanjutkan dengan analisis DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

Hasil dan Pembahasan

Proses pemaparan gas ozon terhadap tanaman azolla secara langsung mengubah warna yang awalnya berwarna hijau menjadi kecoklatan. Perubahan warna disebabkan oleh proses oksidasi yang ditimbulkan oleh gas ozon. Hal ini sesuai dengan pendapat Grulke dan Heath (2019) bahwa paparan gas ozon akan mengakibatkan efek terbakar atau oksidasi dari reaksi gas O₃ yang masuk melalui stomata ketika proses respirasi.

Gambar 1. Perubahan warna *Azolla pinnata* setelah dipaparkan gas ozon**Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap rata-rata kadar air, lignin, selulosa dan hemiselulosa**

Perlakuan	Air	Lignin	Selulosa	Hemiselulosa
		----- % -----		
T0	93,13 ^a	22,09 ^a	13,23 ^a	15,17 ^a
T1	94,17 ^a	19,43 ^b	11,81 ^{ab}	14,76 ^{ab}
T2	94,38 ^a	18,19 ^{bc}	10,48 ^{bc}	12,54 ^{bc}
T3	93,88 ^a	16,63 ^{cd}	9,49 ^{cd}	11,19 ^c
T4	93,90 ^a	15,31 ^d	8,53 ^d	12,01 ^c

Keterangan : Perbedaan *superscript* pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Durasi paparan gas ozon 0 menit (T0), 60 menit (T1), 120 menit (T2), 180 menit (T3) dan 240 menit (T4).

Proses paparan gas ozon juga mengakibatkan perubahan kimiawi khususnya komposisi kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisa sidik ragam menunjukkan paparan gas ozon tidak memberi pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar air *Azolla pinnata*. Menurut Prasetyaningrum dkk (2019) ozon merupakan senyawa oksidatif yang bersifat selektif terhadap senyawa tertentu. Reaksi terjadi dalam tiga tahap, yaitu inisiasi, reaksi berantai radikal dan penghentian reaksi. Gas Ozon bereaksi H_2O akan membentuk radikal OH yang bersifat oksidatif terhadap senyawa lain dan reaksi lainnya akan terhenti ketika molekul O_2 dan molekul H_2O terbentuk kembali. Jadi dapat disimpulkan bahwa reaksi berantai O_3 dengan H_2O akan membentuk kembali molekul H_2O yang menyebabkan kadar air pada tanaman *Azolla pinnata* relatif tetap meskipun dipaparkan gas ozon selama 240 menit. Kandungan air yang tinggi pada *Azolla pinnata* tidak terpengaruh karena paparan gas ozon, akan tetapi kondisi tersebut membuat reaksi ozon terhadap senyawa lainnya menjadi lebih efektif (Doree dkk, 1913: Mbachu, 1979).

Berdasarkan Tabel 1, secara keseluruhan proses paparan gas ozon (ozonasi) pada *Azolla pinnata* menurunkan kadar lignin secara signifikan ($P < 0,05$). Penurunan kadar lignin terjadi secara gradual sesuai dengan lama

proses ozonasi, semakin lama proses ozonasi penurunan kadar lignin tanaman semakin tinggi. Rataan kadar lignin pada perlakuan paparan gas ozon selama 60 menit (T1) yaitu 19,43% atau terjadi penurunan kandungan lignin secara signifikan ($P < 0,05$) sebesar 12,04% apabila dibandingkan dengan kandungan lignin *Azolla pinnata* tanpa dilakukan paparan gas ozon (T0). Kadar lignin terendah terdapat pada *Azolla pinnata* yang diberi paparan gas ozon selama 240 menit (4 jam) yaitu 15,31% walaupun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan T3. Fatriasari dkk (2019) menyebutkan struktur ligniselulosa tersusun dalam bentuk teratur (kristalin) dan tidak teratur (*amorf*). Struktur kristalin berbentuk padat dan teratur sehingga lebih sulit diurai dibandingkan dalam bentuk *amorf*. Diduga paparan ozon selama 120 menit mampu mengurai sebagian besar ligniselulosa dalam bentuk *amorf*, sehingga penambahan durasi lebih dari 120 menit menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Pada perlakuan ini terjadi penurunan kadar lignin secara signifikan ($P < 0,05$) yaitu sebesar 30,69%. Penurunan kadar lignin pada *Azolla pinnata* hasil ozonasi disebabkan karena adanya proses oksidasi baik secara langsung oleh ozon maupun secara tidak langsung melalui radikal OH yang akan mengoksidasi molekul organik. Hal ini sesuai dengan pendapat Savitri dan Purwanto (2019) yang menyatakan bahwa lamanya proses

ozonasi pada jerami padi akan mengakibatkan oksidator dari ozon maupun radikal akan semakin banyak yang kontak dengan struktur lignin sehingga struktur lignin akan terdegradasi menjadi molekul yang lebih kecil. Ikatan lignin bereaksi dengan gas ozon dan terdegradasi menghasilkan asam maleat dan asam oksalat (Mbach, 1979). Menurut Vidal dan Molinier (1988) degradasi menggunakan ozon pada dasarnya secara khusus berdampak pada lignin. Struktur ikatan lignin yang terurai secara langsung memberi dampak terhadap hemiselulosa dan selulosa.

Pengaruh pemaparan gas ozon terhadap kadar selulosa *Azolla pinnata* baru terlihat secara signifikan ($P < 0,05$) pada perlakuan T2 yaitu 10,48% atau mengalami penurunan sebesar 20,78% dibandingkan dengan kandungan selulosa *Azolla pinnata* tanpa pemaparan gas ozon (T0). Penurunan kadar selulosa tertinggi terdapat pada perlakuan pemaparan gas ozon selama 240 menit (T4) dengan nilai 8,53% atau mengalami penurunan sebesar 35,53% walaupun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan T3 (pemaparan gas ozon 180 menit). Hal ini mengindikasikan bahwa pada 60 menit pertama ozonisasi proses degradasi selulosa relatif kecil, setelah 60 menit kemudian terjadi proses degradasi selulosa secara signifikan sampai dengan 240 menit proses ozonasi. Proses ini terjadi karena terdegradasinya lignin sebagai pengikat dan perekat struktur kristalin yang dibangun oleh selulosa dan hemiselulosa. Menurunnya lignin mengakibatkan struktur selulosa semakin terbuka tidak terlindung oleh lignin sehingga ozon maupun radikal hidroksi lebih mudah mendegradasi selulosa. Hal ini sejalan dengan pendapat Savitri dan Purwanto (2019) bahwa kadar selulosa jerami padi mulai menurun secara signifikan pada periode setelah 30-60 menit pertama proses ozonasi sebagai akibat terdegradasi menjadi sukrosa yang kemudian terdegradasi lanjut menjadi glukosa dan fruktosa. Menurut Mbachu (1979) selulosa dengan kondisi lembab dapat didegradasi oleh ozon, hal ini sesuai dengan kondisi kadar air *Azolla pinnata* yang mencapai 93,89%.

Pengaruh perlakuan terhadap kandungan hemiselulosa mempunyai fenomena berbeda dengan selulosa, walaupun penurunan kadar hemiselulosa baru terjadi pada perlakuan pemaparan gas ozon 120 menit (T2) yaitu 12,54% atau mengalami penurunan sebesar 17,34%, tetapi penambahan waktu ozonasi (T3

dan T4) menghasilkan kadar hemiselulosa yang sama dengan T2. Proses ini terjadi karena terdegradasinya lignin sebagai pengikat dan perekat struktur kristalin yang dibangun oleh selulosa dan hemiselulosa. Ozon dapat mendegradasi struktur lignin yang mengikat hemiselulosa (Vidal dan Molinier, 1988). Menurunnya lignin mengakibatkan struktur hemiselulosa semakin terbuka tidak terlindung oleh lignin sehingga ozon maupun radikal hidroksi lebih mudah mendegradasi hemiselulosa. Hal ini sejalan dengan pendapat Savitri dan Purwanto (2019) yang menyatakan bahwa kadar selulosa jerami padi mulai menurun secara signifikan pada periode setelah 30-60 menit pertama proses ozonasi sebagai akibat terdegradasi menjadi sukrosa.

Kesimpulan

Pemaparan gas ozon (ozonasi) tidak mempengaruhi kadar air pada *Azolla pinnata* akan tetapi mampu mereduksi kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa. Pemaparan gas ozon selama 180 menit merupakan waktu yang optimal untuk menurunkan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa pada *Azolla pinnata*.

Daftar Pustaka

- Bismo, S. 1999. *Teknologi Ozon (I) : Kajian Prospek Penggunaan Ozon untuk Pengendalian Limbah Industri*. Jurnal Teknologi, No. 2, XIII, 197-206
- Fatriasi, W., Masruchin, N., Hermiati, E., 2019. *Selulosa karakteristik dan pemanfaatannya*. Lipi Press. Jakarta
- Gulke, N.E. and Heath. R. L. 2019. *Ozone effects on plant in natural ecosystems*. Plant Biology. Article review. Western Wildlands Environmental Threats Assessment Center, US Forest Service.
- Lawrence, G.H.W. 1968. *Taxonomy of Vascular Plants*. The Mac. Millan Company New York
- Lumpkin, T.A dan Plucknet, D.L. 1980. *Azolla: Botany, Physiology, and Use a Green Manure*. J. Economic Botany 34(2): 111-153
- Lynd, L. R., Wiemer ,P.J., Van Zyl, W.H., and Pretorius, I.S. 2002. *Microbial Sellulose Utilization: Fundamental and Biolotechnology*. Microbial mol. Biol. Rev 66(3). 506-577

- Mbachu, R.A.D. 1979. *Degradation of Lignin by Ozone*. Thesis. Departement of Chemistry, McGill University.
- Metcalf and Eddy, I. 2003. *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. 4th ed. New York: McGraw Hill
- Noferdiman dan Zubaidah. 2012. *Penggunaan Azolla microphylla fermentasi dalam ransum ayam broiler*. Halaman 792-799 dalam: Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang Ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat tahun 2012. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan
- Nur, M., Al-Baarri, A.N., Sabrina, T., Kusumiyati, Fauzi, T., 2021, *Analysis of Ozone Technology Interventions for Economic Recovery during the COVID 19 Pandemic: A Case Study of Batu Bara District through Chili Production Center*, Budapest International Research and Critics Institute-Journal (BIRCI-Journal). 4(4): 12910-12918
- Nur, M., Susan, A.I., Muhlisin, Z., Arianto, F., Kinandana, A.W., Nurhasanah, I., Sumariyah, S., Wibawa, P.J., Gunawan, G., Usman, A., 2017, *Evaluation of Novel Integrated Dielectric Barrier Discharge Plasma as Ozone Generator*.
- Preatyaningrum, A., Ratnawati., Jos, Bakti., Dharmawan, Yudhi., Purwati, Dwi. 2019. *Aplikasi Teknologi Ozonasi Untuk Pengolahan Bahan Makanan dan Pembuatan Obat Hayati*. FKM Undip Press. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Querubin, L.J., Alcantara, P.F. and Princessa, A.O. 1986. *Chemical Composition of three azolla species (Caroliana, A. Microphylla and A. Pinnata) and feeding value of azolla meal in broiler ration*. Philipines Agriculture. 69 (4a): 479 - 490
- Savitri, Emma dan E. Purwanto. 2019. *Degradasi Lignin dan Selulosa dari Jerami Padi dengan Proses Ozonasi*. Indonesian Polymer Journal. 22 (2): 21-25
- Setyatwan, H., Harlia, E., Rusmana, D. 2018. *Kandungan Lignin, Selulosa dan Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen L. Minor Hasil Fermentasi menggunakan Trichoderma harzianum dan Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Ilmu Ternak, 18(2) Hal 115-120.
- Suryani, Sri. 2018. *Kajian Kandungan Lignin dan Selulosa Jerami Padi Fermentasi*. Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian Vol 2(2): 160-164
- Syarifudin, A., Novia. (2013). *Produksi Ozon Dengan Bahan Baku Oksigen Menggunakan Alat Generator Ozon*. Jurnal Teknik Kimia Vol. 19 (2): 1-9. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya. Palembang
- Tjitrosoepomo, G. 1981. *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Tran, Q.T and Dao, T. T. 1973. *Azolla: A Green Compost*. Vietnamese Studies, Agriculture Problems. 38: 119-127
- Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press. Ithaca. New York
- Vidal, P.F. and Molinier J. 1988. *Ozonolysis of lignin – Improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust*. Biomass 16(1): 1-17. Ecole Nationale Suprieure de Chime, France.
- Yunus, M. 1987. *Hijauan Makanan Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang