

MONOGRAF

APLIKASI TEKNOLOGI OZONASI UNTUK PENGOLAHAN BAHAN MAKANAN DAN PEMBUATAN OBAT HAYATI



*Aji Prasetyaningrum
Ratnawati
Bakti Jos
Yudhy Dharmawan
Dwi Purwati*

**FKM UNDIP
PRESS**

**FKM UNDIP PRESS
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG
ISBN : 978-602-5788-24-6**

**APLIKASI TEKNOLOGI OZONASI UNTUK
PENGOLAHAN BAHAN MAKANAN DAN
PEMBUATAN OBAT HAYATI**

Penyusun :

**Aji Prasetyaningrum
Ratnawati
Bakti Jos
Yudhy Dharmawan
Dwi Purwati**

Editor :

Aji Prasetyaningrum

**Didukung Oleh
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik
Indonesia Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat
Universitas Diponegoro**

APLIKASI TEKNOLOGI OZONASI UNTUK PENGOLAHAN BAHAN MAKANAN DAN PEMBUATAN OBAT HAYATI

©2019 FKM UNDIP Press

ISBN : 978-602-5788-24-6

Disusun oleh :

AJI PRASETYANINGRUM
RATNAWATI
BAKTI JOS
YUDHY DHARMAWAN
DWI PURWATI

Editor : Aji Prasetyaningrum

Desain Cover : Dwi Purwati

Diterbitkan oleh :



FKM UNDIP Press

Universitas Diponegoro Semarang
Jl. Prof. Soedarto,SH,Tembalang, Semarang

Cetakan 1 : - 2019

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun, termasuk fotokopi, tanpa izin tertulis dari Penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena dengan karunia-Nya, buku monograf dengan judul “Aplikasi Teknologi Ozonasi untuk Pengolahan Bahan Makanan dan Pembuatan Obat Hayati” ini dapat terselesaikan dengan baik. Meskipun banyak hambatan yang dialami dalam proses pengerjaannya, namun buku monograf ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu.

Monograf ini adalah salah satu buku referensi yang digunakan untuk mata kuliah Teknologi Pengolahan Bahan Makanan. Dalam monograf ini dijelaskan aplikasi teknologi ozonasi untuk pengawetan dan pengolahan berbagai macam produk makanan.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro
2. Laboratorium Penelitian Departemen Teknik Kimia dan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.
3. Program Hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) Kemenristekdikti Tahun anggaran 2019
4. Kolega, teman sejawat, dan segenap pihak yang mendukung dalam penyelesaian monograf ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan monograf ini. Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk memperbaiki monograf ini. Semoga karya monograf ini dapat memberikan sumbangan bagi pengembangan teknologi ozonasi khususnya untuk bahan makanan dan obat-obatan.

Semarang, Mei 2019

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Teknologi Ozonasi.....	1
1.2. Sejarah Penerapan dan Regulasi Ozon.....	2
1.3. Pengertian Ozon.....	5
1.4. Sifat Fisik dan Kimia Ozon	7
1.5 Pemanfaatan Ozon	12
BAB II PROSES PEMBUATAN OZON	19
2.1. Metode Pembuatan Ozon.....	19
2.2. Parameter yang Terlibat dan Sistem Kontrol dalam Pembuatan Ozon	24
BAB III REAKSI KIMIA.....	40
3.1. Reaksi Kimia Ozon terhadap Air	40
3.2. Reaksi Kimia Ozon terhadap Senyawa Organik/Makromolekul.....	41
3.3. Reaksi Kimia Ozon terhadap Senyawa Anorganik	42
3.4. Reaksi Kimia Ozon terhadap Bakteri	43
3.5. Reaksi Kimia Ozon terhadap Virus.....	44
BAB IV APLIKASI TEKNOLOGI OZONISASI UNTUK PEMBUATAN OBAT HAYATI : κ -KARAGENAN BERAT MOLEKUL RENDAH	45
4.1. Karagenan.....	45
4.2. Mekanisme Depolimerisasi κ -Karagenan dengan Reaksi Ozonasi.	47
4.3. Hasil Penelitian Aplikasi Teknologi Ozonasi pada Depolimerisasi Karagenan	48
4.4. Aplikasi Ozonasi di Dalam Proses Aktivitas Antibakteri dari κ -karagenan	87

4.5. Pembahasan Kinetik Depolimerisasi Karagenan Menggunakan Proses Ozonasi.....	87
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	89
5.1 Kesimpulan.....	89
5.2 Saran	90
DAFTAR PUSTAKA.....	92

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Sejarah Penerapan dan Regulasi Ozon.....	2
Tabel 1.2	Sifat Fisik Utama Ozon Murni	8
Tabel 1.3	Potensial Reduksi pada Beberapa Molekul	8
Tabel 1.4	Kelebihan dan Kekurangan Penggunaan Ozon pada Buah dan Sayur	13
Tabel 2.1	Inaktivasi oleh Gas Ozon Pada Kontaminan Mikroba pada Agen Anti Caking Berbasis Silika dengan Aktivasi Air dan Nilai pH yang Berbeda	26
Tabel 4.1	Rancangan Variabel dengan Metode CCD.....	59
Tabel 4.2	Hasil Analisis ANOVA.....	60
Tabel 4.3	Analisis Regresi dan Nilai Signifikans	62
Tabel 4.4	Validasi Nilai Eksperimen dan Prediksi.....	65
Tabel 4.5	Rentang Pita Absorpsi spektrum FT-IR pada κ - karagenan	72
Tabel 4.6	Data EDX (<i>Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometer</i>).....	79
Tabel 4.6	Laju Kinetik Konstan.....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Struktur Molekul Ozon.....	7
Gambar 1.2	Struktur Resonansi dalam Molekul Ozon	7
Gambar 1.3	Stabilitas Ozon pada Buffer Fosfat.....	10
Gambar 1.4	Dekomposisi Ozon dalam Air.....	10
Gambar 2.1	Pembentukan Ozon secara Alamiah	19
Gambar 2.2	Proses Pembuatan Ozon Metode <i>Corona Discharge</i>	21
Gambar 2.3	Diagram Skematis dari Sistem Pengeringan Udara PSA.....	33
Gambar 2.4	Diagram Skematik dan Konsentrasi Oksigen tipe PSA.....	34
Gambar 2.5	Diagram Skematis Kontraktor Invektor Venturi.....	35
Gambar 2.6	Diagram Skematis Ozon pada Ruang Penyimpanan Makanan.....	38
Gambar 3.1	Diagram Kimia dari Intertransformasi antara Spesies reaktif Tinggi Primer.....	40
Gambar 3.2	Ozon pada Cychloaddition.....	41
Gambar 3.3	Reaksi Asam Amino dengan Ozon.....	42
Gambar 3.4	Reaksi Dekomposisi Ozon.....	42
Gambar 4.1	Mekanisme Reaksi Depolimerisasi Polisakarida dalam Larutan Asam.....	47
Gambar 4.2	Pengaruh Variabel Proses	49
Gambar 4.3	Konsentrasi Ozon Terlarut pada Air dan Larutan k-Karagenan.....	51

Gambar 4.4	Teori Film untuk Profil Rejim Kinetika Reaksi Lambat.....	54
Gambar 4.5	Pengaruh Variabel Waktu, pH, dan Suhu terhadap Penurunan Berat Molekul k-Karagenan.....	55
Gambar 4.6	Spektrum UV-VIS pada Larutan.....	67
Gambar 4.7	Spektrum UV-VIS pada Larutan dengan pH 10	68
Gambar 4.8	Spektrum UV-VIS pada Larutan dengan berbagai pH.....	71
Gambar 4.9	Spektrum FT-IR pada κ -Karagenan Sebelum dan Sesudah Ozonasi	73
Gambar 4.10	Spektrum FT-IR pada κ -Karagenan	75
Gambar 4.11	Kadar Sulfat pada k-Karagenan.....	77
Gambar 4.12	Pola Difraksi Hasil XRD	80
Gambar 4.13	Pola Difraksi hasil XRD dalam Berbagai pH	82
Gambar 4.14	Hasil Analisis SEM.....	85

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Teknologi Ozonasi

Pengawetan makanan menjadi tantangan bagi umat manusia sepanjang zaman. Pengawetan makanan dapat didefinisikan sebagai perpanjangan umur simpan dari bahan mentah atau makanan yang disiapkan di luar waktu peluruhan alami mereka. Industri makanan umumnya terkonsentrasi pada menonaktifkan atau membunuh mikroorganisme dan enzim sebagai sarana pengawetan dengan menggunakan sejumlah metode fisik, sebagian besar melibatkan panas (Jakob dan Hensen, 2005).

Meminimalkan mikroorganisme patogen dari pembusukan pada buah-buahan, sayuran, dan produknya merupakan masalah utama keamanan pangan. Metode pemrosesan termal tradisional digunakan untuk menghambat pathogen dan telah lama menjadi metode utama untuk menghilangkan patogen. Teknologi menggunakan panas ini, mempengaruhi kualitas makanan. Teknologi terbaru saat inipun, termasuk pasteurisasi uap, vakum vakum, flash pasteurisasi dan lainnya terus mengandalkan panas untuk mengontrol atau mengurangi mikroorganisme berbahaya dalam makanan (Majchrowicz, 1999). Meskipun perlakuan termal membantu membunuh organisme vegetatif dan beberapa spora, namun besarnya waktu-perlakuan dan suhu proses juga sebanding dengan jumlah kehilangan nutrisi, perkembangan rasa yang tidak diinginkan dan kerusakan sifat fungsional dari produk makanan (Dolatowki et al., 2007).

Pengolahan non-thermal juga mencegah kehilangan kualitas makanan seperti kehilangan rasa asli, rasa, penampilan, warna, kualitas nutrisi dll. Teknologi non-termal, seperti pembilasan kimia (Sanitizer) dan lainnya bekerja tanpa panas, mempengaruhi komposisi dan aktivitas seluler patogen dan akhirnya membunuh mereka (Majchrowicz, 1999). Sanitizer telah digunakan di fasilitas pengolahan makanan untuk mengontrol mikroorganisme kontaminan, terutama yang menyebabkan penyakit yang ditularkan melalui makanan. Namun, permintaan konsumen untuk aman (karena

ketidakpercayaan untuk pengawet kimia buatan) dan produk segar mempengaruhi perkembangan dalam pengolahan makanan. Sehingga penggunaannya dibatasi atau dilarang karena potensi bahaya bagi kesehatan.

Di sisi lain, kebutuhan bahan antimikroba yang potensial meningkat dalam beberapa tahun terakhir, seiring dengan meningkatnya wabah dan munculnya bakteri patogen pada makanan. Oleh karena itu, industri makanan mencari aplikasi teknologi yang efektif dalam inaktivasi bakteri patogen secara umum sekaligus menghilangkan kontaminan atau senyawa yang beracun pada bahan makanan. Diharapkan inovasi teknologi ini dapat meningkatkan kualitas produk dan aplikasi bahan makanan.

Salah satu senyawa yang memiliki kemampuan diatas adalah ozon (Kim et al., 1999). Selanjutnya, penelitian dan aplikasi komersial telah memverifikasi bahwa ozon dapat menggantikan agen sanitasi tradisional dan memberikan manfaat lain (Cena, 1998; Graham, 1997). Hasil yang menjanjikan telah terungkap dalam memecahkan masalah industri makanan seperti mikroba, hama, mikotoksin dan residu pestisida oleh aplikasi ozon. Dekomposisi spontan tanpa membentuk residu berbahaya dalam media perlakuan membuat ozon aman dalam aplikasi makanan.

I.2. Sejarah Penerapan dan Regulasi Ozon

Ozon pertama kali ditemukan pada tahun 1839 oleh Schönbein, yang meneliti bahwa elektrolisis air menghasilkan gas yang berbau. Ozon pertama kali digunakan secara komersial sebagai desinfektan air minum di Perancis pada awal 1900-an (Hill and Rice 1982). Saat ini diperkirakan ada ribuan pabrik pengolahan air minum di dunia yang menggunakan ozon. Tabel 1.1 menunjukkan sejarah penerapan dan regulasi ozon.

Tabel 1.1. Sejarah Penerapan dan Regulasi Ozon

Year	Achievement
1839	Discovery of ozone by Schönbein.
1895	The molecular formula of ozone determined by Soret.
1886	The potential of ozone to disinfect polluted water recognised in Europe.

1891	Test results from Germany show that ozone is effective against bacteria.
1893	First full-scale application using ozone for drinking water in the Netherlands.
1906	France commissions its first municipal ozone plant for drinking water.
1909	Ozone employed for preservation of meat in Germany.
1914	Research leads to the production of inexpensive chlorine gas and interest in ozone for water treatment begins to decline.
1936	Ozone used to depurate shellfish in France
1939	Ozone found to prevent the growth of yeast and mould during the storage of fruits.
1942	Ozone used in egg-storage rooms and in cheese-storage facilities in the USA.
1957	Ozone implemented for oxidation of iron and manganese in German drinking water.
1964	Spontaneous flocculation in ozone contact chambers leads to France constructing an ozone plant to enhance particulate removal.
1965	Ozone employed for colour control of surface water in Ireland and the UK. Ozone used to oxidize micropollutants such as phenolic compounds and several pesticides in Switzerland.
1970	Ozone exploited for algae control in France.
1982	US FDA grants GRAS (generally recognised as safe) status for ozone disinfection of bottled water.
1987	600 MGD (million gallons per day) ozonation plant comes on line in Los Angeles after seven years of pilot testing.
1995	FDA GRAS approval for ozone disinfection of bottled water renewed.
1997	Expert Panel convened by the Electric Power Research Institute (EPRI) affirms ozone as GRAS for direct contact with foods. FDA does not object to this GRAS affirmation. Regulators have the option to later add controls on ozone use.
1999	United States Department of Agriculture (USDA) rejects an ozone protocol for meat application, citing the 1982 GRAS declaration for disinfection of bottled water in which

	the FDA stated ‘any other use must be regulated by a Food Additive Petition.
2000	A Food Additive Petition (FAP) filed by the EPRI requests FDA approval of ozone for direct contact with foods.
2001	FDA approves ozone as a secondary direct food additive, antimicrobial agent (Federal Register, Vol. 66, no. 123, June 26). The American Meat Institute files a letter with the US FSIS (Food Safety and Inspection Service of the FDA) asking for an interpretation on the scope of FDA rule. In its response, FSIS determines that, ‘The use of ozone on meat and poultry products, including treatment of ready-to-eat meat and poultry products just prior to packaging, is acceptable’, and that there are ‘no labelling issues in regard to treated product’.
2004	FDA issues industrial guidance and recommendations to processors of apple juice or cider on the use of ozone for pathogen reduction purposes.

I.2.1 Tinjauan Tentang Dasar Hukum Ozonasi

GRAS (Ozone in Generally Recognised as Safe) di Amerika Serikat untuk desinfeksi dan sanitiser di pabrik air minum kemasan disetujui oleh FDA (*Food and Drug Administration*) pada tahun 1995. Persetujuan ozon sebagai agen antimikroba untuk kontak langsung dengan makanan disetujui di AS untuk digunakan pada semua produk daging dan unggas oleh Departemen Pertanian AS USDA FSIS pada tahun 2001.

FIFRA (*Federal Insecticide, Fungicide, dan Rodenticide Act*) yang berada di bawah EPA (*Environment Protection Agency*) menyatakan bahwa ozon merupakan bahan kimia yang didefinisikan sebagai bahan yang diproduksi, dikemas, diangkut, disimpan, dan diterapkan.

I.2.2 Tinjauan Tentang Peraturan Eropa

Pada tahun 2003 dan 2004, Badan Keamanan Makanan Prancis memberikan dua Pendapat tentang keamanan penggunaan ozon sebagai teknologi tambahan untuk mengolah biji-bijian gandum sebelum digiling.

I.2.3 Tinjauan Tentang Peraturan Kanada

Ozon diizinkan sebagai aditif makanan sesuai dengan ketentuan tertentu yang tercantum dalam Peraturan Makanan dan Obat Kesehatan Kanada. Ozon dapat digunakan sebagai agen pematangan pada apel dan anggur dan pada sterilisasi air mineral kemasan atau mata air dengan tingkat penggunaan yang didefinisikan oleh *Good Manufacturing Practice* (GMP).

I.2.4 Tinjauan Tentang Peraturan Australia Dan Selandia Baru

Di Australia, perlakuan ozon dianggap sebagai bantuan pemrosesan dalam Standar Makanan (FSANZ 2006) yang tercantum pada peraturan standar 1.3.1, Ayat 11.

I.2.5 Tinjauan Tentang Peraturan Jepang

Pada pertengahan 1990-an, ozon disetujui untuk pengolahan makanan di Jepang. Pada 2006, ada lebih dari 500 ozon berbasis gas atau instalasi pengolahan air dalam industri makanan di seluruh Jepang, dan lebih dari 100 000 pabrik pengolahan makanan memproses berbagai macam makanan dan produk makanan (Naito dan Takahara 2006).

I.2.6 Harmonisasi Global pada Peraturan Keamanan Pangan

Harmonisasi global diprakarsai pada tahun 2004 oleh Institusi Teknologi Pangan Amerika Serikat (IFT) divisi internasional dan Federasi Ilmu dan Teknologi Pangan Eropa (EFFoST). Harmonisasi global ini bertujuan untuk mencapai kesepakatan tentang peraturan dan undang-undang pangan untuk memastikan ketersediaan produk makanan secara global yang aman dan sehat untuk semua konsumen.

1.3. Pengertian Ozon

Ozon (O_3) adalah bentuk allotropic oksigen (O_2), yaitu terdiri dari atom yang sama, tetapi mereka dikombinasikan dalam bentuk yang berbeda. Perbedaanannya adalah adanya tiga atom oksigen, sedangkan oksigen secara umum hanya memiliki dua. Ini memiliki berat molekul rendah (BM = 48) yang tiga atom oksigen secara kimia diatur dalam rantai. Ozon kemudian diperkaya oksigen (O_3) (Guzel-Seydim et al., 2004).

Ozon adalah senyawa gas yang secara alami ada di atmosfer dan terbentuk sebagai hasil dari radiasi sinar UV atau energi tinggi (Jakob dan Hansen, 2005). Ozon telah digunakan selama beberapa dekade untuk pengolahan air minum untuk disinfeksi air dan untuk membantu menghilangkan bau busuk dan kotoran organik/anorganik (Rice, 1999; Muthukumarappan et al., 2000). Ozon telah digunakan di negara-negara Eropa untuk waktu yang lama (Guzel-Seydim et al., 2004) dan meskipun dalam aplikasi ozon AS dalam industri makanan belum banyak digunakan. Namun, Administrasi Makanan dan Obat-obatan Amerika Serikat umumnya diakui sebagai status aman (GRAS) untuk penggunaan ozon dalam air kemasan pada tahun 1982. Ozon juga telah dinyatakan sebagai Generally Recognized as Safe (GRAS) untuk digunakan dalam pemrosesan makanan oleh Food AS. dan Administrasi Obat (FDA) pada tahun 1997 (Graham, 1997). Selanjutnya, sekarang ozon juga diakui dan diizinkan sebagai aditif makanan antimikroba oleh Food and Drug Administration (FDA) AS pada tahun 2001.

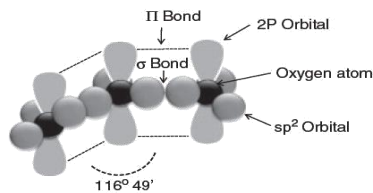
Ozon terbentuk secara alami di stratosfer dalam jumlah kecil (0,05 mg/liter) oleh aksi penyinaran UV pada oksigen. Sejumlah kecil ozon juga terbentuk di troposfer sebagai hasil sampingan dari reaksi fotokimia antara hidrokarbon, oksigen dan nitrogen yang dilepas dari knalpot mobil, industri, hutan dan aksi gunung berapi. Namun, gas yang dihasilkan sangat tidak stabil dan cepat terurai di udara (Khadre et al., 2001). Untuk menghasilkan ozon, molekul oksigen diatomik harus dipecah terlebih dahulu. Oksigen radikal bebas yang dihasilkan dengan demikian bebas bereaksi dengan oksigen diatomik lainnya untuk membentuk molekul ozon triatomik. Namun, untuk memutuskan ikatan O-O, diperlukan banyak energi (Bocci, 2006; Gonçalves, 2009).

Ketika digunakan dalam industri, ozon biasanya dihasilkan pada titik aplikasi dan dalam sistem tertutup (Gonçalves, 2009). Radiasi ultraviolet (panjang gelombang 188 nm) dan metode pelepasan korona dapat digunakan untuk memulai pembentukan oksigen radikal bebas dan dengan demikian menghasilkan ozon. Untuk menghasilkan tingkat ozon komersial, metode pelepasan korona biasanya digunakan (Duguet, 2004; Guzel-Seydim dkk., 2004; Bocci, 2006; Gonçalves, 2009).

1.4. Sifat Fisik dan Kimia Ozon

1.4.1 Wujud, Zat, Warna dan Bau

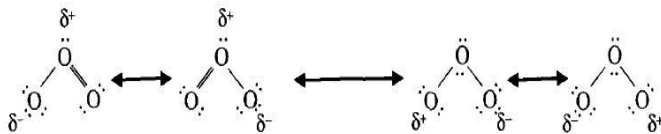
Ozon adalah gas biru pada suhu biasa ketika dihasilkan dari udara kering, tetapi tidak berwarna ketika dihasilkan dari oksigen kemurnian tinggi. Ozon murni adalah gas biru pucat dan cairan kebiruan dengan bau tajam dan khas. Ozon ada dalam keadaan gas pada suhu kamar dan pendinginan dan sebagian dapat larut dalam air. Pada -112°C , ozon mengembun menjadi cairan biru gelap. Ozon cair dapat diledakkan jika $> 20\%$ campuran ozon-oksigen terjadi.



Gambar 1.1. Struktur Molekul Ozon

1.4.2 Struktur Molekul dan Resonansi Struktur

Tiga atom oksigen dalam molekul ozon disusun pada sudut tumpul, di mana atom oksigen pusat melekat pada dua atom oksigen yang sama jauhnya; Sudut yang disertakan adalah sekitar $116^{\circ}49'$ dan panjang ikatan adalah $1,278 \text{ \AA}$. Hibrida mengalami resonansi membentuk empat bentuk kanonik yang memiliki ikatan terdelokalisasi seperti yang diperlihatkan oleh gambar 1.3.



Gambar 1.2. Struktur Resonansi dalam Molekul Ozon

1.4.3. Titik Didih, Titik Leleh, Titik Didih Kritis, Tekanan Uap Kritis dan Kepadatan

Sifat fisik utama ozon murni dijabarkan pada tabel di bawah ini 1.1.

Table 1.2. Sifat Fisik Utama Ozon Murni

Karakteristik	Nilai
Boiling Point	-111,97°C
Melting Point	-192,57°C
Critical Temperature	-121°C
Critical Pressure	54,6 atm

Kepadatan ozon dalam keadaan gas adalah 2,14 g/L pada 0°C dan 101,3 kPa (Wojtowicz, 1996), yang lebih besar daripada udara (1,28 g/L) dalam kondisi yang sama.

I.4.4 Potensial Oksidasi dan Reduksi

Ozon memiliki potensi pengoksidasi tinggi 2,07 V (Manley dan Niegowski 1967; Pehkonen 2001) dibandingkan dengan klorin (1,36 V) dan oksigen (1,23 V), yang menjadikannya oksidan terkuat yang saat ini tersedia untuk aplikasi makanan (Tabel 1.3). Mekanisme dekomposisi ozon dalam air belum sepenuhnya diselesaikan tetapi beberapa skenario menunjukkan dekomposisi menjadi radikal hidroksil, oksigen dan ion hidroksida, dan pada rentang pH di atas 7,5, pembentukan radikal hidroksil meningkat (Pehkonen 2001). Hidroksil radikal bebas memiliki potensi oksidasi yang lebih tinggi (2,80 V) daripada ozon (Pehkonen 2001).

Tabel 1.3. Potensial Reduksi pada Beberapa Molekul

Agent	Molecular formula	Oxidation-reduction potential
Fluorine	F ₂	2.87
Ozone	O ₃	2.07
Hydrogen peroxide	H ₂ O ₂	1.78
Potassium permanganate	KMnO ₄	1.70
Hydrobromous acid	HOBr	1.59
Hypochlorous acid	HOCl	1.49
Chlorine	Cl ₂	1.36
Chlorine dioxide	ClO ₂	1.27
Oxygen	O ₂	1.23
Chromic acid	H ₂ CrO ₄	1.21
Bromine	Br ₂	1.09
Nitric acid	HNO ₃	0.94
Iodine	I ₂	0.54

I.4.5 Kelarutan

Sejumlah parameter mempengaruhi kelarutan ozon dalam air adalah suhu, pH, kekuatan ion, kehadiran zat mudah teroksidasi oleh ozon dan autodecomposition ozon di fase gas

dan cair. Menurut hukum Henry, kelarutan ozon dalam cairan berbanding lurus dengan tekanan yang diberikan gas di atas cairan (Bablon et al., 1991).

Parameter yang paling penting yang mempengaruhi kelarutan ozon mungkin adalah suhu air. Berdasarkan konstanta Henry-Dalton, kelarutan ozon dalam air lebih tinggi pada suhu yang lebih rendah. Watson (1943) melaporkan bahwa rasio kelarutan (konsentrasi ozon dalam fase air/konsentrasi ozon dalam fase gas) adalah 0,26 pada 20°C. Meddows-Taylor (1947) melaporkan rasio kelarutan 0,4 pada 20 ° C. Menurut Horvath et al. (1985), rasio kelarutan ozon dalam air adalah 0,31-1,13, tergantung pada suhu air. Data kami menunjukkan bahwa rasio kelarutan bervariasi dengan sumber air yang digunakan untuk melarutkan ozon. Rasio kelarutan adalah 0,16 untuk air suling pada 22°C, setelah ozon digelembungkan dalam air pada 29,4 mL min⁻¹ selama 18 menit (Kim, 1998). Ketika ozon tumpah selama 18 menit ke keran (dari dua sumber yang berbeda) dan air deionisasi dalam kondisi yang sama, kelarutan ozon adalah 38, 56 dan 95% dari itu untuk air suling, masing-masing (Gambar 1.3). Variasi dalam data kelarutan yang dipublikasikan dapat dikaitkan dengan perbedaan dalam desain reaktor, laju aliran gas dan metode analisis yang digunakan untuk mengukur ozon.

Ketika pH larutan ozon meningkat, laju penguraian ozon molekul menjadi radikal hidroksil juga meningkat (Adler dan Hill, 1950; Hewes dan Davison, 1973).

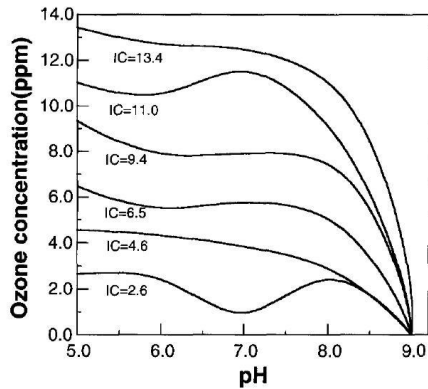
Para peneliti menghubungkan dekomposisi cepat ozon dalam larutan berair dengan pH tinggi pada aktivitas katalitik ion hidroksil. Maka penting dicatat, jika nilai pH > 7 untuk meningkatkan laju dekomposisi ozon dan dalam larutan asam kuat (pH <3) tidak dipengaruhi radikal OH.

1.4.6 Stabilitas

Pada suhu kamar, ozon adalah gas yang tidak stabil. Ozon mudah terdegradasi (Manley dan Niegowski 1967) tetapi memiliki waktu paruh yang lebih lama dalam keadaan gas daripada dalam larutan berair (Rice 1986). Kelarutan ozon dalam air adalah 13 kali dari oksigen pada 0–30°C dan secara progresif lebih larut dalam air yang lebih dingin (Rice 1986).

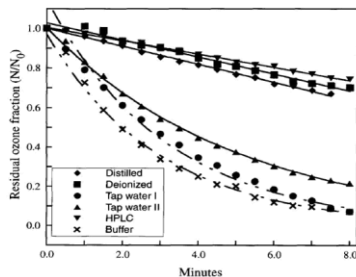
Stabilitas ozon terlarut dipengaruhi oleh konsentrasinya, pH media berair, paparan radiasi UV, kehadiran

pemulung radikal (Tomiyasu et al., 1985; Kim, 1998), penerapan turbulensi (Shechter, 1973), suhu (Sease, 1976), dan kehadiran bahan organik dan ion logam (Horvath et al., 1985). Dekomposisi ozon dalam air tidak selalu mengikuti hukum tingkat orde pertama (Gurol dan Singer, 1982; Tomiyasu et al., 1985; Yurteri dan Gurol, 1988).



Gambar 1.3 Stabilitas Ozon pada Buffer Fosfat

Stabilitas ozon dalam air menurun ketika pH medium meningkat dan diyakini juga mengganggu kelarutan ozon molekuler (Roth dan Sullivan, 1981; Ouederni et al., 1987). Kim (1998) menemukan bahwa ozon terurai dengan cepat dalam buffer fosfat ketika pH lebih besar dari 8,0 (Gambar 1.4). Peneliti menggelembungkan ozon dalam berbagai jenis air dan buffer fosfat (pH 7,0) pada 25 °C, untuk mencapai 1,6-2,5 ppm, dan memantau dekomposisi ozon secara spektrofotometri. Tingkat dekomposisi ozon lebih besar di air keran dan penyanga dibandingkan dengan air suling, deionisasi dan HPLC (Gambar 1.5).



Gambar 1.4 Dekomposisi Ozon dalam Air

Stabilitas ozon di dalam air sangat dipengaruhi oleh keberadaan kontaminan, khususnya ion logam. Menurut Bablon et al. (1991), bagaimanapun, kekuatan ion yang dihasilkan dari mineralisasi air minum (<1000 mgL⁻¹ total padatan terlarut) tidak mempengaruhi kelarutan ozon lumayan.

Suhu memainkan peran penting dalam stabilitas ozon dalam larutan. Waktu paruh ozon dalam keadaan gas kira-kira 12 jam pada suhu kamar dan dalam air bersih murni (pH 7-8) adalah 20-30 menit (Graham, 1997). Stabilitas ozon dalam larutan juga sangat tergantung pada jumlah bahan ozon-kebutuhan di dalam air. Rosenthal (1974) melaporkan bahwa waktu paruh ozon jauh lebih lama dalam air suling ganda (> 85 menit) pada 20 ° C dibandingkan pada air suling atau air keran (~20 menit). Kim (1998) menemukan bahwa paruh waktu ozon pada 25°C dalam deionisasi dan air keran adalah 12 dan 6 menit, masing-masing. Waktu paruh ozon dalam larutan yang mengandung 0,01 mol perklorida asam ~18 jam pada 25 ° C dan pada 0,001 mol besi perklorat adalah ~83 jam. Waktu paruh radikal bebas biasanya diukur dalam mikrodetik.

Ozon adalah molekul metastabil yang dihasilkan dari oksigen elemental. Reaksi keseluruhan untuk pembentukan ozon oleh proses apa pun dijelaskan oleh reaksi endotermik (Langlais et al. 1991, hal. 101): $3\text{O}_2 \leftrightarrow 2\text{O}_3$ (ΔH° pada 1atm, + 284,5kJ/mol). Juga, entropi formasi besar dan tidak menguntungkan: ΔS° (1atm) = -69.9 (Jmol)/derajat. Jelas, ozon tidak dapat dihasilkan oleh aktivasi termal oksigen, karena energi bebas standar pembentukan ΔG° (1 atm) = +161,3 kJ/mol. Singkatnya, ozon hanya dapat diuraikan dengan mudah oleh pemanasan, dan kontrol suhu yang memadai dari proses (pakan) gas merupakan faktor penting dalam efisiensi pembangkitan ozon.

Proses energik yang dapat menghasilkan molekul ozon juga dapat merusak ozon. Konsentrasi ozon yang lebih tinggi menghasilkan tingkat kerusakan ozon yang lebih tinggi. Konsekuensinya, konsentrasi ozon tidak dapat ditingkatkan melampaui titik di mana tingkat pembentukan dan kehancuran adalah sama (Manley dan Niegowski 1967). Karena ozon terdegradasi secara spontan, gas ozon tidak dapat disimpan (Kogelschatz 1988; Wickramanayake 1991; Coke 1993).

1.5 Pemanfaatan Ozon

Ozon adalah oksidan kuat dan agen desinfektan yang kuat. agen desinfektan memiliki aplikasi luas untuk menjamin keamanan dan kualitas dalam industri makanan. Ozon memiliki aplikasi potensial yang tinggi dalam industri makanan (Khadre et al., 2001; Kim et al., 1999). Potensi pemanfaatan ozon untuk industri makanan terletak pada fakta bahwa ozon 52% lebih kuat dari klorin dan telah terbukti efektif atas spektrum yang jauh lebih luas dari mikroorganisme dari klorin dan desinfektan lainnya.

1.5.1. Pengawetan Bahan Makanan

Pengawetan makanan melalui ozon adalah teknologi pemrosesan non-termal yang membantu dalam meningkatkan keamanan pangan tanpa mengorbankan kualitas dan keinginan produk makanan (Guzel-Seydim et al., 2004). Ozon bertindak sebagai agen pengoksidasi potensial dan membantu dalam menghilangkan patogen karena sifat antimikroba tanpa meninggalkan residu dalam makanan yang diolah. Ozon berair mungkin memiliki potensi yang baik untuk perlakuan permukaan jangka pendek (dekontaminasi) buah dan sayuran dan sebagai desinfektan untuk air proses pada tanaman penghasil makanan (Muthukumarappan et al., 2000; Khadre dkk., 2001; Garcia dkk., 2003). Konsentrasi ozon yang relatif rendah dan waktu kontak yang singkat cukup untuk menginaktivasi bakteri, kapang, ragi, parasit dan virus (Kim et al., 1999). Beberapa aplikasi teknologi ozon untuk bahan makanan meliputi :

1.5.1.1 Aplikasi Ozon pada Buah dan Sayur

Aplikasi ozon sangat luas dalam industri makanan terutama untuk dekontaminasi pada buah dan sayur. Ozon yang digunakan dapat berupa gas maupun cair. Penggunaan ozon pada buah dan sayuran memiliki banyak kelebihan dibandingkan bahan kimia lain seperti klorin, klorin dioksida, kalsium hipoklorit, sodium klorit, dan sodium hipoklorit. Tabel 4.1 menjelaskan kelebihan dan kekurangan penggunaan ozon pada buah dan sayur.

Pada dasarnya ozon yang digunakan dalam industri buah dan sayur bertujuan untuk mendekontaminasi lapisan. Ozon yang digunakan terdiri dari dua jenis yaitu gas maupun cair. Ozon dalam bentuk cair digunakan untuk mencuci buah dan sayur. Air yang mengandung ozon telah digunakan untuk

tujuan sanitasi, menurunkan residu pestisida, mengurangi populasi mikroba, dan memperpanjang umur simpan. mengandung ozon dapat mencuci buah dan sayur agar steril, dengan tanpa menghilangkan warna, aroma, dan tidak mengurai senyawa organik yang terkandung dalam bahan pangan, sehingga mampu memperpanjang umur kesegaran.

Tabel 1.4. Kelebihan dan Kekurangan Penggunaan Ozon pada Buah dan Sayur

Kelebihan	Kekurangan
Aktivitas antimikrobia tinggi	Dapat menjadi racun ketika terhirup
	Memerlukan kontrol pada penggunaan di
Waktu kontak pendek	dalam ruangan
Zat GRAS (<i>Generally Recognize as Safe</i>)	Pada konsentrasi >4ppm bersifat korosif
Tidak menghasilkan residu	Biaya investasi tinggi
Tidak mengandung bahan berbahaya	
Biaya operasional rendah	
Proses pembuatan dilakukan secara <i>onsite</i>	

Perlakuan ozonisasi terhadap buah tomat terbukti dapat memperpanjang umur kesegaran tomat sampai 3 minggu dan pada buah anggur penggunaan air berzonasi juga dapat menghambat pertumbuhan jamur. Sedangkan ozon dalam bentuk gas digunakan untuk mengurangi jumlah *Bacillus* spp. dan *Micrococcus* pada kacang polong dan kacang tanah, tergantung dari jumlah ozon yang digunakan. Fan et al. (2007) melaporkan bahwa penggunaan gas ozon pada brokoli dapat menonaktifkan pertumbuhan *Listeria innocua* dan memperlambat perubahan warna brokoli dari hijau menjadi kuning. Akan tetapi, penggunaan gas ozon dapat mengubah

warna pada lapisan pada buah dan sayur. Selain itu Prasetyaningrum et al. (2017) melaporkan bahwa ozon juga mampu menyimpan buah dan sayur segar selama tiga hari dan masih dalam keadaan segar. Ozon mampu menjadi desinfektan sehingga buah dan sayur yang disimpan akan terbebas dari bakteri.

Efektivitas ozon pada buah dan sayur dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jumlah ozon yang digunakan, pH, suhu, kelembaban, kandungan bahan organik dalam sel dan bahan tambahan yang digunakan. Agar penggunaan dan kualitas produk tetap baik penting untuk melakukan sistem kontrol dan membuat model matematika yang mewakili reaksi biokimia dan inaktivasi mikroba. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa penggunaan ozon dalam industri buah dan sayur bersifat potensial karena aman dan dapat menghasilkan produk berkualitas tinggi.

1.5.1.2. Aplikasi Ozon pada Biji-Bijian

Berdasarkan sifatnya, ozon digunakan untuk mengontrol penyimpanan biji-bijian sebagai pembasmi kuman pada tepung, dan mengurangi jumlah bahan kimia beracun. Jenis ozon yang digunakan pada proses ini adalah dalam bentuk cair maupun gas. Penggunaan ozon pada gandum dinilai aman karena sifat ozon yang cepat terdekomposisi menjadi O_2 serta tidak meninggalkan residu. Penggunaan ozon pada makanan sebagai agen antimikroba telah disetujui oleh FDA (*Food and Drug Administration*) pada tahun 2001 dan disetujui oleh AFSSA (*French Food Safety Agency*) pada tahun 2003 untuk pengolahan biji-bijian sebelum fraksinasi. Penggunaan ozon pada gandum dilakukan untuk mengontrol hama dan mikroorganisme lain termasuk jamur dan bakteri pada penyimpanan hasil panen biji gandum karena dapat mengakibatkan berkurangnya *yield* sebesar 3-10%.

Tempat penyimpanan biji-bijian sangat berpotensi oleh kontaminasi serangga seperti *Tribolium*, *Sitophilus*, dan ngengat yang bersifat merusak dan berubah menjadi *resistance* apabila diberi insektisida. Peningkatan permasalahan pada lingkungan dan undang-undang yang berlaku di berbagai negara seperti Amerika dan Eropa mengurangi kadar penggunaan pestisida. Sehingga ozon dinilai dapat mengganti penggunaan pestisida sebagai pengontrol pertumbuhan serangga. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kells et al. (2001) menunjukkan

bahwa penggunaan ozon pada jagung dapat mencegah pertumbuhan berbagai serangga seperti *Tribolium castaneum*, *Sithophilus zeamais*, dan *Plodia interpunctella* sebesar 77-99%, tergantung dari jenis spesiesnya. Tingkat kematian serangga tergantung pada kondisi dan posisi serangga. Proses ozonasi pada biji-bijian terdiri dari beberapa tahap. Pada tahap pertama, ozon bergerak melalui butiran secara perlahan karena gas bereaksi atau berikatan dengan materi pada permukaan butir. Proses ini memungkinkan ozon bereaksi dengan sebagian besar permukaan butiran. Hal ini yang memungkinkan ozon kontak dan membunuh serangga. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan kondisi optimum dengan cara menyesuaikan dosis ozon, suhu dan waktu paparan.

Hasil penelitian McKenzie et al. (1997) menunjukkan bahwa disamping dapat mengurangi jumlah serangga, penggunaan ozon juga dapat membantu menurunkan akumulasi dan detoksifikasi *mycotoxin*. Ia melaporkan adanya penurunan aflatoxin B1 sebesar 95% yang dihasilkan oleh strain *Aspergillus* dalam biji jagung yang terkontaminasi secara alami. Hasil yang sama dilaporkan oleh Prudente et al. (2002) mengenai penurunan kadar aflatoxin B1 dan pestisida pada biji jagung setelah di ozonasi.

Oleh karena itu, penggunaan ozon pada biji-bijian dinilai sangat potensial untuk mengontrol keamanan dan kualitas produk. Akan tetapi, penggunaan ozon harus dibandingkan dengan teknik lain seperti dekontaminasi biji-bijian dan tepung menggunakan ionisasi, *pulsed light*, dll dalam segi biaya, efisiensi, dan potensinya. Penggunaan ozon pada industri ini juga dapat dikombinasikan dengan beberapa proses salah satunya kombinasi ozon dan sinar UV untuk mengurangi pertumbuhan mikroba pada produk.

1.5.1.3. Aplikasi Ozon pada Hidrokoloid

Hidrokoloid seperti pati, gelatin, karagenan, alginat, pektin dan berbagai jenis getah banyak digunakan untuk bahan makanan. Hidrokoloid digunakan sebagai pengental pada produk makanan yang dipengaruhi oleh sifat struktural dan mekanisme pembentukan *gel*-nya atau kemampuannya untuk menaikkan viskositas. Ozon bersifat oksidan kuat daripada oksigen dan tidak meninggalkan residu. Sehingga penggunaan ozon untuk menggantikan pelarut kimia dinilai sangat efektif.

Pati digunakan dalam berbagai olahan makanan. Pati dimodifikasi secara kimia untuk beberapa tujuan diantaranya memperbaiki sifat setelah dilakukan pemasakan, satabilisasi untuk pencegahan degradasi pada berbagai kondisi pemrosesan, dan mencegah rekristalisasi yang terjadi selama proses retrogradasi. Kitin adalah suatu polimer yang terdiri atas monomer β -1,4-N-asetil-glukosamin dan ditemukan pada cangkang *crustacea* seperti kepiting, udang, dan lobster. Ozonasi pada kitin dimaksudkan untuk mendepolimerisasi atau mendekolorisasi kitin serta mengurangi penggunaan bahan kimia yang mahal dan tidak aman. Gelatin adalah bahan yang digunakan untuk berbagai produk. Sama dengan hidrokoloid lain, berat molekul gelatin merupakan karakteristik penting yang mempengaruhi viskositas, kekuatan *gel*, dan stabilisasi emulsi. Ketika gelatin dibuat makan harus dilakukan sterilisasi. Ozonasi diharapkan dapat menjadi alternatif untuk memecah senyawa gelatin selain proses enzimatik atau kimia. Ozon juga berfungsi untuk memproduksi hidrolisat gelatin yang bermanfaat untuk berbagai produk seperti suplemen nutrisi, minuman, dan *emulsifier*. Pektin merupakan senyawa yang diekstrak dari kulit jeruk nipis atau apel. Pektin digunakan pada beberapa produk seperti jeli, yoghurt, dan permen. Proses ozonasi pada pektin digunakan untuk depolimerisasi.

Dapat disimpulkan bahwa ozonasi dinilai sangat optimal untuk menggantikan bahan-bahan kimia lain yang berbahaya. Ozonasi pada hidrokoloid sendiri bertujuan untuk depolimerisasi dan dekolokasi sehingga dapat meningkatkan sifat fisikokimianya.

Aplikasi teknologi ozonisasi dalam depolimerisasi karagenan akan dibahas secara detail dalam Bab 4.

1.5.1.4. Aplikasi Ozon pada Daging

Keamanan produk daging menjadi perhatian global saat ini. Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, dan patogen lain merupakan permasalahan serius. Akibat permasalahan ini, maka industri daging mencari cara untuk menghilangkan kandungan patogen tersebut seperti penggunaan asam-asam organik. Beberapa asam organik seperti asam laktat ditambahkan pada produk daging. Tetapi, penambahan asam organik ini menurunkan pH sehingga dapat mengoksidasi warna dan kandungan lipid. Penurunan pH daging akibat penggunaan asam organik dapat memodifikasi struktur

molekul dari myoglobin atau yang biasa disebut pigmen pada daging. Sehingga warna daging berubah menjadi lebih gelap. Oleh karena itu digunakanlah proses ozonasi pada pengolahan daging.

Penggunaan ozon pada industri daging digunakan sebagai agen antimikroba. Jenis ozon yang digunakan pada industri ini terdiri dari dua jenis yaitu ozon dalam fase gas dan cair. Ozon dengan cepat terdekomposisi menjadi oksigen sehingga tidak meninggalkan residu pada daging. Ozon dapat mengurangi mikroorganisme pada daging unggas dan hewan ternak lainnya dikarenakan ozon memiliki nilai potensial oksidasi yang tinggi yaitu sebesar $-2,07V$. Disamping keunggulannya, penggunaan ozon pada daging terdapat beberapa kekurangan. Daging mengandung pigmen sehingga oksidasi dapat mempengaruhi stabilitas lemak. Daging mengandung lemak baik lemak jenuh maupun lemak tak jenuh. Oksidasi dari lemak dapat menimbulkan perubahan pada aroma dan rasa daging. Pada pengolahan daging menggunakan ozon tidak terdapat perubahan yang signifikan pada warna. Oleh karena itu, penggunaan ozon pada kondisi optimum dimungkinkan pada industri daging tanpa mengubah tampilan dan stabilitas lemaknya.

1.5.1.5. Aplikasi Ozon pada Makanan Hasil Laut

Di Jepang, ikan merupakan sumber protein utama. Namun ternyata, produk hasil laut seperti ikan termasuk komoditas yang cepat rusak bahkan lebih cepat dibandingkan dengan daging hewan lainnya. Pendinginan yaitu salah satu cara yang umum digunakan untuk memperlambat kerusakan pada produk-produk hasil laut. Pendinginan dapat dilakukan dengan menggunakan refrigerasi, es, es cair (*slurry ice*) dan air laut dingin (*chilled sea water*). Cara yang paling mudah untuk pendinginan adalah dengan menggunakan es. Es potensial bila dikombinasikan dengan bahan tambahan lain seperti ozon yang mungkin berkontribusi untuk mempertahankan kualitas ikan.

Ozon merupakan agen pembersih pada produk hasil laut. Penggunaan ozon dalam memperpanjang daya simpan ikan segar merupakan salah satu teknologi pengawetan pangan yang menjanjikan. Disamping itu, ozon tidak menghasilkan residu beracun dalam lingkungan setelah perlakuannya dan telah

dinyatakan aman oleh panel ahli untuk digunakan dalam pengolahan makanan. Sejak itu ozon telah digunakan dalam beberapa penelitian untuk mengurangi kontaminasi pada produk hasil laut. Hal tersebut juga telah diterapkan pada ikan *Hake* dan *Shucked Mussels* untuk mempertahankan kualitasnya selama penyimpanan dingin. Penggunaannya pada beberapa ikan komersial juga dikombinasikan dengan es cair. *Finfish* dan *Albacore* yang disimpan dalam sistem tersebut memiliki kualitas lebih baik dibandingkan metode pendinginan lain. Kombinasi ini merupakan salah satu sistem penyimpanan dingin baru yang dapat memperlambat mekanisme hidrolisis dan oksidasi lemak pada ikan Farmed Turbot. Penggunaan ozon dengan kombinasi es slurry juga telah dimanfaatkan untuk memperpanjang daya simpan ikan Nila Merah.

BAB II

PROSES PEMBUATAN OZON

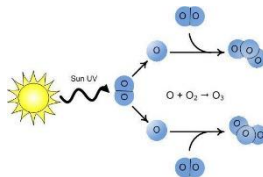
Ozon (O_3) dibentuk oleh input energi tinggi yang memisahkan molekul oksigen (O_2) di udara menjadi oksigen radikal bebas. Molekul oksigen tunggal (O) dengan cepat bergabung dengan O_2 yang tersedia untuk membentuk ozon ($O + O_2 \xrightarrow{\text{panas dan cahaya}} O_3$). Di alam, sumber energi tinggi ini adalah radiasi ultraviolet dari matahari dan juga debit petir. Karena ozon tidak stabil, ia akan kembali menjadi molekul oksigen. Ozon dapat dihasilkan di tempat seperti yang dipersyaratkan oleh beberapa teknik, tiga di antaranya tersedia secara komersial pada saat ini yaitu pelepasan korona (*Corrona Discharge*), radiasi UV dan elektrolisis.

Beberapa aplikasi (fumigasi udara dan beberapa aplikasi pengemasan udara yang dimodifikasi baru-baru ini) menggunakan radiasi UV dan elektrolisis akan dijelaskan seadanya. Beberapa aplikasi melibatkan CD dan UV, meskipun tidak diterapkan pada saat yang bersamaan.

2. 1. Metode Pembuatan Ozon

2.1.1 Secara Alamiah

Ozon dapat terbentuk melalui radiasi sinar ultraviolet pancaran sinar Matahari. Sinar ultraviolet dari pancaran sinar matahari mampu menguraikan gas oksigen di udara bebas. Molekul oksigen tadi terurai menjadi dua buah atom oksigen, proses ini kemudian dikenal dengan nama fotolisis. Lalu atom oksigen tadi secara alamiah bertumbukan dengan molekul gas oksigen yang ada disekitarnya, lalu terbentuklah ozon. Gambar 2.1 menunjukkan proses pembentukan ozon secara alamiah.



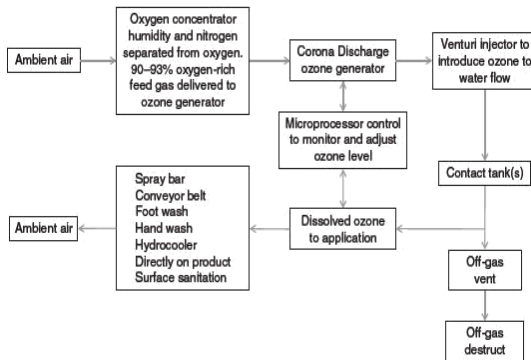
Gambar 2.1. Pembentukan Ozon Secara Alamiah

2.1.2. *Corona Discharge*

Teknik yang paling signifikan secara komersial adalah dengan pelepasan korona (yang disebut prosedur "pemutusan listrik diam". Ini sama saja dengan menghasilkan petir sintesis. Dalam generator ozon corona discharge, jika udara dilewatkan melalui generator sebagai gas umpan, 1–3% ozon dihasilkan; menggunakan oksigen kemurnian tinggi dapat menghasilkan setinggi 16% ozon (Rice et al. 1981).gas umpan (udara kering, oksigen, atau campurannya), lewat di antara dua elektroda yang berjarak dekat (salah satunya dilapisi dengan bahan dielektrik) di bawah potensial terapan nominal ~10 kV. Pembuangan diam atau penghalang terjadi ketika gas menjadi terionisasi sebagian, menghasilkan cahaya violet yang khas ketika udara adalah gas umpan (dengan oksigen kemurnian tinggi warna ungu jarang diamati).

Ada dua elektroda dalam pelepasan korona, tegangan tinggi dan tegangan rendah (ground) elektroda, dipisahkan oleh medium dielektrik dalam celah debit sempit. Ketika elektron memiliki energi yang cukup untuk memisahkan molekul oksigen, fraksi tertentu dari tabrakan ini terjadi dan molekul ozon dapat terbentuk dari setiap atom oksigen. Diagram skematik dari pembentukan ozon dengan metode pelepasan korona diberikan pada Gambar 3.1.

Efisiensi produksi ozon oleh lucutan korona tergantung pada kekuatan microdischarges yang dipengaruhi oleh sejumlah faktor seperti lebar celah, tekanan gas, sifat-sifat elektroda dielektrik dan logam, pasokan listrik, dan keberadaan uap air. Pada pelepasan yang lemah, sebagian besar energi dikonsumsi oleh ion, sedangkan pada pelepasan yang lebih kuat, hampir semua energi pelepasan ditransfer ke elektron yang bertanggung jawab untuk pembentukan ozon. Yang optimum adalah kompromi yang menghindari kehilangan energi untuk ion tetapi pada saat yang sama memperoleh efisiensi konversi yang masuk akal dari atom oksigen ke ozon. Jika udara digunakan sebagai gas umpan, maka harus dikeringkan secara teliti dan bebas dari jejak minyak dan lemak (teroksidasi oleh ozon). Udara lembab menghasilkan nitrogen oksida di dalam generator ozon yang akan membentuk asam nitrat yang akan menimbulkan korosi pada generator, yang memerlukan perlakuan dan waktu henti yang sering. Jika udara dilewatkan melalui generator sebagai gas umpan, 1–3% ozon dibuat; menggunakan oksigen kemurnian tinggi dapat menghasilkan setinggi 16% ozon (Rice et al., 1981).



Gambar 2.2. Proses Pembuatan Ozon metode *Corona Discharge*

Secara umum diterima bahwa generator ozon CD diklasifikasikan menjadi tiga jenis: frekuensi rendah (50-100 Hz), frekuensi sedang (100–1000 Hz) dan frekuensi tinggi (> 1000 Hz). Sekitar 85-95% dari energi listrik yang dipasok ke generator ozon CD menghasilkan panas, secara inheren mengurangi keluaran O₃ yang dihasilkan dan efisiensi kapasitas/energi. Akibatnya, sistem transferensi dan penghilangan panas adalah barang standar untuk generator ozon CD seperti udara, air dengan minyak atau Freon, atau air.

Seiring waktu, CD telah menggunakan banyak nama yang berbeda (*Silent discharge*; *dielectric barrier discharge*; *cold plasma*; *plasma block*; *cold plate discharge*) Mereka semua CD menggunakan berbagai teknik untuk menciptakan ozon dengan muatan listrik di celah.

Ada dua elektroda dalam CD, salah satunya adalah elektroda tegangan tinggi dan yang lainnya adalah elektroda tegangan rendah (elektroda ground). Ketika arus bolak balik tegangan tinggi diaplikasikan di seluruh celah pembuangan di hadapan oksigen akan dihasilkan elektron oksigen dan menginduksi pemecahan molekul oksigen. Atom dari oksigen split bergabung dengan molekul oksigen lainnya untuk membentuk ozon. Produksi ozon bervariasi tergantung pada tegangan, frekuensi arus, properti bahan dielektrik dan ketebalan, celah pembuangan dan tekanan absolut dalam celah debit (Khadre et al., 2001). Jika udara dilewatkan melalui generator sebagai gas umpan, 1-4% ozon dapat dihasilkan.

Namun, penggunaan oksigen murni memungkinkan hasil untuk mencapai 6 hingga 14% ozon. Konsekuensinya, konsentrasi ozon tidak dapat ditingkatkan melampaui titik dimana tingkat pembentukan dan kehancuran adalah sama. Gas ozon tidak dapat disimpan karena ozon secara spontan menurunkan kembali oksigen (Guzel-Seydim et al., 2004; Gonçalves, 2009). Gas kering digunakan untuk meminimalkan korosi permukaan logam karena deposisi asam nitrat yang dihasilkan dari gas basah di dalam generator (Khadre et al., 2001). Keuntungan dari *corona discharge* adalah konsentrasi ozon tinggi, paling baik untuk aplikasi air, dapat menghilangkan bau yang berasal dari bahan-bahan organik dengan cepat dan perawatan dapat bertahan selama bertahun-tahun tanpa perawatan.

Dalam cara pembuatan *Corona Discharge* ada bagian yang disebut generator ozon. Pada generator CD membutuhkan persiapan udara sebelum generasi ozon. Output ozon hanya sedikit meningkat dengan meningkatkan kandungan oksigen atau mengeringkan udara. Dua jenis persiapan gas umum untuk memberi umpan ozon CD generator adalah oksigen dan udara kering. Jika pengering udara dipilih untuk memberi umpan sistem CD ozon, pastikan bahwa peralatan persiapan udara dicocokkan dan diukur ke ozon. Setiap generator ozon dirancang untuk beroperasi pada laju aliran optimal tergantung pada ukuran ozon generator, dan informasi tersebut harus dinyatakan dalam manual peralatan pemasok. Dengan hadir kelembaban dalam gas umpan, asam nitrat yang sangat korosif (HNO_3) sudah siap terbentuk. Akibatnya, gas yang memberi umpan generator ozon harus sangat kering (maksimum "titik embun 54°C "), karena keberadaan uap air juga mempengaruhi produksi ozon, serta mengarah pada pembentukan asam nitrat. Asam korosif ini dapat menghancurkan bagian internal generator ozon CD, yang dapat menyebabkan kegagalan sistem prematur dan akan meningkatkan frekuensi pemeliharaan yang dibutuhkan. Ketika menggunakan oksigen sebagai gas umpan, konsentrasi ozon yang dihasilkan meningkat dua hingga tiga kali lipat dari konsentrasi ozon di udara kering untuk pengeluaran energi yang sama. Sebagai contoh, generator CD udara-umpan-kering dari ukuran yang digunakan dalam pabrik pemrosesan makanan menghasilkan 1–2% ozon, tetapi ketika diberi oksigen dengan kemurnian tinggi, konsentrasi ozon 3–6% berat dihasilkan untuk pengeluaran energi yang sama. Sebagian besar produsen peralatan ozon mencukur mengoptimalkan peralatan mereka untuk gas umpan oksigen. Dalam beberapa kasus, generator

ozon dapat menghasilkan setinggi 20% ozon (dari oksigen), tetapi energi dan persyaratan lainnya lebih tinggi untuk menghasilkan ozon pada konsentrasi ini. Generator CD-ozon yang dirancang dan dioperasikan dengan baik yang tersedia secara komersial saat ini mampu memproduksi jumlah kg/jam ozon dalam konsentrasi fase gas 1-5% berat di udara dan hingga 14% berat dalam oksigen kemurnian tinggi. Keuntungan dari produk ozon berbobot lebih tinggi adalah ekonomi. Proses atom-atom oksigen yang pecah secara elektrik untuk menghasilkan ion-ion oksigen atau atom-atom yang bergabung dengan lebih banyak oksigen untuk menghasilkan ozon menghasilkan panas yang cukup besar. Panas yang dihasilkan selama proses ini harus dikeluarkan dari generator untuk menghindari reaksi balik (ozon kembali menjadi oksigen) dari mengambil alih dan menurunkan efisiensi generasi ozon. Akibatnya pendinginan generator ozon corona discharge menjadi komponen penting dalam desain generator. Biasanya pendinginan disediakan oleh air, tetapi ada generator CD-ozon berpendingin udara yang tersedia secara komersial, terutama pada skala yang lebih kecil, sesuai untuk banyak aplikasi makanan (Prabha, 2015).

2.1.3. Ultraviolet

Lampu UV merkuri tekanan rendah digunakan sebagai sarana produksi ozon serta untuk perawatan udara. Keuntungan utama terletak pada spektrum emisi dari pelepasan merkuri, karena merkuri memancarkan dengan efisiensi tinggi dua garis resonansi dengan panjang gelombang 254 dan 185 nm. Foton dengan panjang gelombang 185 nm bertanggung jawab untuk produksi ozon, sedangkan foton memiliki Panjang gelombang 254 nm efektif dalam mengubah DNA mikroorganisme, sehingga mencegah kemampuan mereka untuk bereproduksi.

Metode ini didasarkan pada konversi oksigen pada molekul ozon oleh lampu sinar ultraviolet (panjang gelombang 188 nm. Namun demikian, produksi ozon memiliki intensitas rendah. Pada suhu rendah, proses ventilasi ozon dibuat dengan fasilitas yang lebih besar. Produksi ozon terjadi umumnya oleh ventilasi pembuangan listrik tegangan tinggi di udara atau oksigen murni (Guzel-Seydim et al., 2004; Gonçalves, 2009). Radiasi ini mempengaruhi molekul oksigen umum yang ditemukan di atmosfer yang menghasilkan pemisahan molekul dan pemisahan atom oksigen bebas. Atom-atom ini bertabrakan dengan molekul oksigen lainnya, membentuk molekul ozon (Duguet, 2004; Chawla et al., 2007; Gonçalves, 2009).

Keuntungan dari metode sinar UV adalah konstruksi sederhana, biaya lebih rendah dari debit korona, output sangat dipengaruhi oleh kelembaban, kurang produk sampingan vs. pembuangan korona (Gonçalves, 2009). Mekanisme reaksi pembentukan ozon dengan sinar UV dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Energi yang diserap oleh molekul oksigen memecahnya menjadi dua atom oksigen.
2. Masing-masing atom ini bergabung dengan molekul oksigen untuk memberikan satu lagi ozon.
3. Akhirnya, molekul ozon hancur lagi menyerap lebih banyak radiasi ultraviolet.
4. Ozon terbentuk, setelah jangka waktu tertentu, terdegradasi secara spontan dalam oksigen (Gonçalves, 2009).

Untuk keperluan buku monograf ini, fokus utamanya adalah pada CD (*Charge Discharge*) dikarenakan hampir semua aplikasi pengolahan makanan menggunakan generasi ozon CD (*Charge Discharge*).

2.2. Parameter yang Terlibat dan Sistem Kontrol dalam Pembuatan Ozon

Dalam pembuatan ozon, ada berbagai parameter yang mempengaruhi kemampuan disinfeksi ozon. Adapun parameter tersebut yaitu laju aliran, temperatur, pH, kelembaban relatif, konsentrasi ozon (meliputi sisa ozon dan kebutuhan ozon), keberadaan konten padat (bahan organik), reaktor dan pertimbangan peralatan serta interaksi ozon dengan peralatan pengolahan.

2.2.1. Laju Aliran

Tergantung pada laju aliran gas yang diterapkan untuk produksi ozon, ukuran gelembung yang berbeda diproduksi. Ukuran gelembung telah terbukti memiliki efek pada tingkat pelarutan ozon dan keefektifan disinfeksi. Ahmad dan Farooq, 1985 melaporkan hal itu

Transfer massa ozon dan efektivitas disinfeksi meningkat ketika ukuran gelembung menurun (ukuran gelembung ozon bervariasi sementara semua faktor lainnya tetap konstan). Area antarmuka yang lebih tinggi tersedia untuk

transfer massa pada ukuran gelembung yang lebih kecil mungkin bertanggung jawab untuk efek ini. Penurunan diameter gelembung dari 1 cm menjadi 0,1 cm meningkatkan area kontak sebesar 32 kali (Ogden, 1970). Bakteri tersuspensi bebas bermigrasi ke arah gelembung ozon karena sifat aktif permukaannya dan secara preferensi dinonaktifkan oleh konsentrasi ozon yang relatif tinggi pada antarmuka cairan gas gelembung (Hill and Spencer, 1974).

2.2.2 Temperatur

Beberapa peneliti telah menguji hubungan antara efikasi ozon dan perlakuan suhu, tetapi hasil mereka tampaknya tidak meyakinkan. Kuprianoff (1953) menemukan bahwa ozon lebih efektif terhadap mikroorganisme bila diterapkan pada suhu rendah ($<10^{\circ}\text{C}$) dibandingkan pada suhu tinggi. Herbold dkk. (1989) juga melaporkan bahwa efektivitas ozon terhadap virus hepatitis A (HAV) dan *E. coli* berkurang ketika suhu meningkat dari 10°C hingga 20°C . Katzenelson dkk. (1974), bagaimanapun, menunjukkan bahwa menurunkan suhu dari 5°C ke 1°C hanya memiliki efek kecil pada kinetika inaktivasi mikroorganisme. Menurut Kinman (1975), tidak ada perbedaan dalam tingkat disinfeksi oleh ozon bila diterapkan pada 0°C atau 30°C . Achen dan Yousef (2001) memperlakukan apel yang diinokulasi dengan *E. coli* O157: H7 dalam gelembung air ozon pada suhu 4, 22 dan 45°C selama 3 menit. Para peneliti menemukan bahwa konsentrasi ozon sisa setelah perlakuan adalah 36, 22 dan 18 mg L⁻¹, masing-masing, dan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam efikasi ozon antara perlakuan pada tiga suhu yang berbeda ditemukan ($P > 0,05$). Ketidaksepakatan di antara para peneliti mungkin disebabkan oleh perubahan sifat ozon pada temperatur yang berbeda. Penurunan suhu media berair meningkatkan kelarutan dan stabilitas ozon. Sebaliknya, peningkatan suhu meningkatkan reaktivitas ozon sisa. Kontribusi relatif dari dua faktor ini (kelarutan/stabilitas dan reaktivitas) terhadap efikasi ozon dapat bervariasi dengan pengaturan eksperimental (O'Donnell, 2012).

2.2.3 pH

Pengaruh pH pada inaktivasi ozon terutama disebabkan oleh fakta bahwa tingkat dekomposisi ozon berubah secara substansial dengan perubahan pH (Farooq et al., 1977b; Roy et al., 1980). Patil et al., 2010a mengamati bahwa inaktivasi ozon dari *E. coli* jauh lebih cepat pada pH yang lebih rendah. Lama

perlakuan ozon yang diperlukan untuk mencapai pengurangan 5-log adalah 4 menit pada pH terendah dan 18 menit pada pH tertinggi yang diteliti.

2.2.4. Kelembaban Relatif

Kelembaban tinggi diperlukan untuk inaktivasi mikroorganisme oleh gas ozon. Dipercaya bahwa hidrasi mikroorganisme kering di atmosfer lembab membuat mereka rentan terhadap ozon. Kelembaban relatif optimum (RH) untuk inaktivasi mikroba oleh gas ozon adalah 90-95%, dan gas kehilangan efek bakterisida pada <~ 50% RH (Kuprianoff, 1953). Ozon, bagaimanapun, terurai lebih cepat pada tinggi daripada pada nilai RH rendah. Elford dan van den Ende (1942) menggunakan konsentrasi ozon rendah dan waktu paparan panjang pada kelembaban relatif variabel untuk mendisinfeksi mikroorganisme di udara. Pada <45% RH, daya pembunuh germisida ozon dapat diabaikan. Inaktivasi adalah substansial pada kelembaban tinggi bahkan ketika konsentrasi ozon adalah <0,1 mg/L. Ewell (1946) juga menunjukkan bahwa mikroorganisme dibunuh lebih mudah oleh ozon di atmosfer yang memiliki RH tinggi daripada rendah. Hoffman (1971) menunjukkan bahwa tidak hanya mikroorganisme yang dikeringkan lebih tahan daripada sel terhidrasi untuk sterilisasi oleh ozon, tetapi sekali kering, beberapa sel sulit untuk rehidrasi cukup untuk rentan terhadap sterilisasi ozon. Ozon, oleh karena itu, adalah sanitiser yang efektif hanya terhadap sel mikroba yang terhidrasi dengan baik. J. G. Kim dan A. E. Yousef. Tabel 6.1 menemukan reaksi serupa ozon dalam bubuk, food grade, bahan anticaking yang mengandung kontaminan alami.

Tabel 2.1 Inaktivasi oleh Gas Ozon pada Kontaminan Mikroba pada Agen *Anticaking* Berbasis Silika dengan Aktivitas Air dan Nilai pH yang Berbeda

Anticaking agent	a _w	pH	Ozone dose (ppm) ^a	Count (CFU g ⁻¹)
1	0.84	8.03	0	2.7 x 10 ²
			200	1.7 x 10 ²
			0	8.2 x 10 ³
			150	3.0 x 10 ¹
1 (water added)	0.95	8.23	300	<10
			0	5.0 x 10 ³
			150	1.5 x 10 ¹
2	0.96	3.16	0	5.0 x 10 ³
			150	1.5 x 10 ¹

			300	<10
3	0.10	7.00	0	3.4×10^3
			200	2.3×10^3

CFU, colony-forming unit.

^a μg gaseous ozone per g powder.

2.2.5. Konsentrasi Ozon

- **Sisa Ozon**

Istilah "ozon sisa" digunakan dalam bab ini untuk merujuk pada konsentrasi yang dapat dideteksi, dalam medium pengolahan, dari ozon setelah diterapkan pada produk makanan yang ditargetkan. Efektivitas ozon terhadap mikroorganisme tergantung pada jumlah yang diterapkan, tetapi lebih pada ozon sisa dalam medium. Stabilitas ozon dalam kondisi aplikasi dan keberadaan bahan yang menuntut ozon dalam media pengolahan sangat mempengaruhi tingkat ozon residu yang tersedia untuk desinfeksi produk makanan. Venosa (1972) menunjukkan bahwa salah satu kegagalan paling serius oleh berbagai peneliti adalah ketidakmampuan mereka untuk membedakan antara konsentrasi ozon terapan dan ozon sisa yang diperlukan untuk sanitasi yang efektif. Oleh karena itu, selain dosis yang diterapkan, ketersediaan dan peluruhan ozon selama perlakuan harus dilaporkan, jika tidak dosis efektif yang sebenarnya digunakan mungkin berlebihan (O'Donnell, 2012).

Dikarenakan adanya penurunan terbatas dalam jumlah bakteri dapat dikaitkan dengan waktu paparan singkat ke ozon (ruang kontak 35s) dan hilangnya oksidasi cepat yang disebabkan oleh bahan organik tersuspensi dalam medium, sehingga dosis ozon juga menjadi perhatian yang penting (O'Donnell, 2012).

- **Kebutuhan Ozon dari Medium**

Jika dibandingkan dengan media perlakuan lainnya, air murni memiliki membutuhkan ozon yang paling rendah. Kotoran dalam air bereaksi dengan ozon yang diaplikasikan dan menghasilkan kebutuhan. Beberapa pengotor ini dapat memicu dekomposisi ozon (Hoign6 dan Bader, 1976); ini termasuk asam glyoxylic, asam format dan zat humat. Kim (1998) menggelembungkan beberapa jenis air yang digunakan di laboratorium dengan gas ozon (1,1 mM) pada laju aliran -30

mL/menit. Ozon terlarut lebih cepat dalam air deionisasi dan suling daripada di air ledeng, menghasilkan konsentrasi ozon maksimum yang lebih tinggi di bekas air. Kelarutan ozon adalah >2 kali lipat lebih besar dalam air deionisasi dan suling daripada di air ledeng. Yang dan Chen (1979) melaporkan bahwa kemanjuran bakterisida dari ozon lebih rendah dalam larutan Ringer, dan dalam larutan yang mengandung NaCl (5%) atau albumin telur, dibandingkan dengan air suling. Zat yang diuji menguraikan ozon dan dengan demikian menurunkan jumlah ozon sisa yang tersedia untuk reaksi dengan mikroorganisme. Menurut Restaino et al. (1995), tingkat kematian dari beberapa mikroorganisme dalam air ozonated, yang mengandung bahan organik, tidak dipengaruhi secara signifikan oleh pati yang larut dalam 20 ppm tetapi secara signifikan berkurang dengan penambahan 20 ppm bovine serum albumin (BSA). Residu ozon dalam air yang mengandung BSA secara signifikan lebih rendah daripada di air deionisasi dan air dengan pati larut. Achen (2000) memvariasikan konsentrasi BSA dalam *E. coli* O157: H7 suspensi dan memperlakukan campuran dengan ozon. Peneliti mengamati tidak ada inaktivasi patogen ketika > 0,1% BSA ditambahkan.

2.2.6. Materi Organik

Kebutuhan ozon dapat disebabkan oleh organik tertentu, anorganik, atau padatan tersuspensi. Bahan organik terlarut mengurangi aktivitas disinfeksi dengan mengonsumsi ozon untuk menghasilkan senyawa dengan sedikit atau tanpa aktivitas mikrobiosida, sehingga mengurangi konsentrasi spesies aktif yang tersedia untuk bereaksi dengan mikroorganisme. Williams et al., 2005 mempelajari inaktivasi *E. coli* dalam jus jeruk, dan menemukan bahwa kemanjuran ozonisasi berkurang dengan adanya asam askorbat dan bahan organik. Dalam air limbah, protein, karbohidrat, lipid, dan amina organik akan meningkatkan konsentrasi karbon organik terlarut. Oksidasi disinfektan seperti ozon akan kehilangan kekuatan bakteriosida melalui reaksi dengan bahan organik. Produk reaksi umumnya memiliki aktivitas bakteriosidal yang lemah atau tidak ada sama sekali (Prabha, 2015).

2.2.7. Reaktor dan Pertimbangan Peralatan

Untuk perlakuan makanan dengan ozon cair, pembersih harus dipindahkan dari gas ke fase cair. Desain ruang perlakuan dan sistem difusi penting untuk memaksimalkan

transfer ozon untuk tujuan yang dimaksudkan dan untuk membuat proses layak secara ekonomi. Pembubaran/ unit penghubung untuk menyediakan ozon berair untuk aplikasi bervariasi, tergantung pada fungsi spesifik ozon pada titik aplikasi. Sejumlah teknik tersedia untuk pelarutan ozon dalam cairan. Ini termasuk difusi gelembung halus konvensional, mixer turbin, injektor, kolom dikemas, ruang semprot, tabung U dalam, kontaktor diffuser berpori piring, dan kontak turbin radial statis terendam (Bellamy et al., 1991). Transfer massa ozon terjadi melalui difusi melalui antarmuka gas-air. Kondisi yang menguntungkan untuk transfer massa ozon termasuk konsentrasi ozon yang tinggi dalam gas carrier dan tekanan tinggi (Gomella, 1972). Menurut hukum Henry, tekanan tinggi di atas cairan proses meningkatkan kelarutan ozon. White (1986), bagaimanapun, menekankan pentingnya efisiensi kontaktor, karena mempertahankan tekanan parsial ozon yang tinggi di atas cairan proses kadang-kadang tidak dapat dicapai. Penurunan diameter gelembung ozon meningkatkan total luas pertukaran dan waktu kontak antara air dan gas ozon (Harris, 1972).

Meddows-Taylor (1947) mendefinisikan "nilai kontak" sebagai total area gelembung gas dikalikan dengan waktu yang diperlukan untuk menaikkan jarak satuan. Penulis menemukan bahwa gelembung dengan diameter 0,1 cm memiliki ~ 32 kali lebih banyak nilai kontak dibandingkan dengan diameter 1,0 cm. Dalam pekerjaan eksperimental kami (misalnya Kim dan Yousef, 2000b), sebuah sparger dengan ukuran pori 10 μ m digunakan secara efektif untuk menurunkan diameter gelembung gas ozon dan untuk meningkatkan laju transfer gas ozon ke dalam fase air. Selain itu, pengadukan dilakukan selama ozonisasi untuk memastikan turbulensi yang cukup.

Penggunaan ozon yang efisien dalam pengolahan makanan dapat dicapai dengan menambahkan alat filtrasi sebelum kontaktor. Filtrasi dapat menjaga tingkat zat kebutuhan nontarget ke minimum dan meningkatkan pembubaran ozon di kontaktor (Hampson dan Fiori, 1997). Prefiltrasi air chiller unggas untuk mengurangi beban organik sebelum perlakuan ozon juga disarankan untuk pengurangan optimal tingkat mikrobiologi dan penggunaan ozon secara efisien (Sheldon, 1986; EPRI, 1999). Ketika Sheldon (1986) menyaring air unggas yang dihabiskan dengan tanah diatom (DE) sebelum ozonisasi, peneliti memperoleh air berkualitas tinggi. Kombinasi filtrasi-ozonasi menurunkan COD, total padatan,

lemak/minyak/lemak (FOG), total mikroorganisme aerobik, coliform dan Salmonella spp. oleh 87%, 65%, 95%, 3 unit log, 2,7 unit log dan 3 unit log, masing-masing. Perlakuan gabungan serupa diterapkan pada air bilas burung utuh dari pabrik pengolahan unggas komersial (Sheldon dan Chang, 1987). Pengurangan terukur dalam tingkat COD (92%), absorbansi pada 280 nm (88%), total padatan (59%), total padatan mudah menguap (82%), jumlah pelat aerobik (> 3 unit log), coliform (2 unit log), E. coli (2 unit log), dan Salmonella spp. (3 unit log) dideteksi setelah perlakuan filtrasi-ozonisasi. Filtrasi lebih efektif dan cepat ketika DE daripada pasir digunakan untuk menghilangkan kontaminan dari pengolahan air.

2.2.8. Interaksi Ozon dengan Peralatan Pengolahan

Ozon tidak hanya bereaksi dengan kontaminan (termasuk mikroorganisme) dalam media perlakuan dan makanan, juga dapat berinteraksi dengan reaktor dan peralatan. Efek perlakuan ozon, oleh karena itu, dapat dipengaruhi oleh jenis bahan yang digunakan untuk memproduksi peralatan (O'Donnell, 2012).

• Reaksi dengan Logam

Ozon mengoksidasi logam kecuali emas, platinum dan iridium menjadi oksida dari logam dalam keadaan oksidasi tertinggi. Ozon mengubah oksida menjadi peroksida, sulfida menjadi sulfat, karbon menjadi karbon dioksida, dan NH_3 ke NH_4NO_3 . Pada sebagian besar reaksi oksidasi, ozon direduksi menjadi molekul oksigen. Ozon pada peralatan berkarat konsentrasi tinggi, tetapi konsentrasi tinggi seperti itu hanya ditemukan di dalam generator atau di sistem menghubungkan ozon-towater. Bahan yang digunakan dalam pengolahan makanan biasanya kompatibel dengan ozon pada konsentrasi rendah (Tabel 6.2). Baja tahan karat (misalnya 316L) lebih sedikit terkorosi oleh ozon dibandingkan dengan klorin (Greene dkk., 1999; Singh dan Singh, 1999). Baja berlapis kaca (Grosse dan Streng, 1960) dan baja dengan permukaan dalam yang berpelumas (Waller dan McTurk, 1965) tahan terhadap ozon dan cocok untuk penyimpanan paruh waktu maksimum ozon. Menurut laporan terbaru (Viera et al., 2000), ozon dalam larutan berair 0,1 dan 0,2 ppm, tidak mempengaruhi wadah yang terbuat dari baja tahan karat dan titanium, sedangkan paduan tembaga rentan terhadap korosi.

Logam umumnya mempromosikan dekomposisi ozon dan beberapa reaksi ini bersifat katalitik. Katalis yang baik untuk dekomposisi ozon termasuk besi, terutama jika berkarat, seng, merkuri, platinum dan perak (Horvath et al., 1985). Permukaan absorben khusus yang besar seperti karbon aktif, saringan molekuler, silika gel dan alumina aktif, sangat mengkatalisis penguraian ozon (Mahieux, 1962). Greene dkk. (1999) melaporkan bahwa mengaburkan ozon ke dalam air pada suhu kamar selama 20 menit per hari selama 7 hari menyebabkan penurunan berat yang lebih besar dari aluminium, baja karbon, tembaga, baja anti karat 304 dan sampel baja stainless 316 daripada yang diamati pada kontrol yang tidak dirawat; Namun, berat badan untuk baja karbon hanya signifikan ($P < 0,05$). Pitting yang parah tercatat pada sampel tembaga yang diolah ozon ketika diamati dengan pemindaian mikroskop elektron. Black striations diamati pada permukaan baja karbon yang diolah ozon. Kuningan dan tembaga juga harus dihindari untuk konsentrasi $> 1,0$ ppm berair ozon (Hampson, 2000). Dalam atmosfer ozon 25-40 mg m⁻³, permukaan logam harus dilindungi oleh lukisan tahan ozon yang sesuai; Namun, campuran gas yang mengandung ozon $\sim <5$ mg m⁻³ menyebabkan korosi minimal (Kuprianoff, 1953). Penulis merekomendasikan stainless steel dan aluminium anodized untuk pembangunan saluran dan pipa yang membawa ozon.

- **Reaksi dengan Karet dan Plastik**

Plastik umum yang digunakan dalam pengolahan makanan umumnya tahan terhadap ozon ini termasuk polychlorotrifluoroethylene (ECTFE), polydichlorodifluoroethylene (PDPE), polytetrafluoroethylene (PTFE), polyvinylidene fluoride (PVDF), polyvinylchloride (PVC), dan silikon tubing dan gasket (Grosse dan Streng, 1960; Mahieux, 1962). Beberapa bahan plastik (misalnya PVC dan polyethylene, PE) berguna dalam aplikasi di mana konsentrasi ozon rendah digunakan. Karet dalam segel, pipa dan komponen lainnya bereaksi aktif dengan ozon, yang menyebabkan disintegrasi total menjadi bubuk. Karet sintetis, bagaimanapun, tahan terhadap ozon (Horvath et al., 1985). Pelumas hidrokarbon terfluorinasi memiliki ketahanan yang baik terhadap ozon, tetapi polimer monochlorotrifluoroethylene adalah yang paling cocok sebagai pelumas. Gemuk silikon cukup untuk digunakan dalam jangka pendek, tetapi dioksidasi pada paparan diperpanjang ke ozon. Bahan penyegel pada pintu dan jendela ruang penyimpanan

buah harus terbuat dari bahan sintetis yang tahan ozon (Kuprianoff, 1953).

2.2.9. Kontrol Ozon

2.2.9.1. Sistem Persiapan Gas Umpan

- **Kebutuhan untuk perlakuan gas umpan**

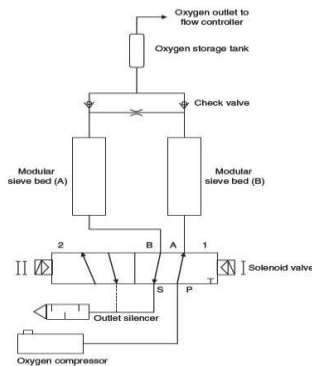
Dua jenis umum persiapan gas untuk memberi makan generator ozon CD adalah oksigen dan udara kering. Jika pengering udara dipilih untuk memberi makan sistem CD ozon, pastikan bahwa peralatan persiapan udara dicocokkan dan diukur ke ozon. Setiap generator ozon dirancang untuk beroperasi pada laju aliran optimal (standar kaki kubik per menit (SCFM) atau kaki kubik per menit (CFM)) tergantung pada ukuran generator ozon, dan informasi tersebut harus dinyatakan dalam manual peralatan pemasok. Saat ini sebagian besar sistem pembangkit ozon menggunakan oksigen sebagai gas umpan karena konsentrasi ozon yang dihasilkan meningkat dua hingga tiga kali untuk pengeluaran energi yang sama. Sebagian besar produsen peralatan ozon telah mengoptimalkan peralatan mereka untuk pabrik pengolahan makanan untuk beroperasi pada gas umpan oksigen (O'Donnell, 2012).

- **Sistem Persiapan Udara**

Secara historis, sistem persiapan udara yang memasok generator ozon untuk instalasi pengolahan air minum dalam volume besar telah melibatkan udara bertekanan rendah atau tinggi. Pengolahan udara bertekanan rendah juga melibatkan kompresor udara, penukar panas (untuk menghilangkan panas kompresi), refrigeran dan pengering pengering yang diaktifkan kembali panas. Generator ozon CD buatan-udara menghasilkan ozon pada konsentrasi antara 1 dan 2,5% berat. Sistem udara-umpan yang lebih baru dapat menghasilkan ozon 3–4%. Sistem ozon udara bertekanan tinggi (sekitar 100 psig) menggunakan kompresor udara, penukar panas dan pengering pengering yang tidak panas (O'Donnell, 2012).

O'Donnell (2012) menjelaskan bahwa ada beberapa jenis sistem pengeringan udara. Yang pertama, ayunan tekanan adsorpsi (PSA) pengeringan adalah yang paling umum digunakan untuk memberikan $<-54^{\circ}\text{C}$ (-60°F) titik embun udara ke generator ozon. Sistem pengeringan udara PSA

memberikan tingkat udara sekitar 20-22% oksigen dengan operasi terus menerus. Gambar 6.2 adalah diagram skematik yang menunjukkan komponen sistem pengering udara PSA yang digunakan untuk memberikan $<-54^{\circ}\text{C}$ (-60°F) titik embun udara ke generator ozon. Sistem pengeringan udara PSA memberikan tingkat udara sekitar 20-22% oksigen dengan operasi terus menerus.



Gambar 2.3 Diagram Skematis dari Sistem Pengeringan Udara PSA

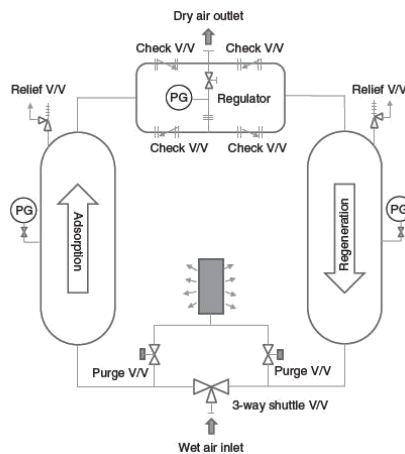
Tipe kedua dari sistem pengeringan panas regeneratif udara melibatkan proses pengeringan konveksi yang bergantung pada tempat tidur saringan molekuler bergantian dengan pemanas untuk mengeringkan saringan yang berisi kelembaban. Sistem ini cukup untuk kebutuhan aliran udara rendah di lingkungan dengan udara ambient titik embun yang relatif rendah. Mereka tidak memerlukan kompresor udara, melainkan hanya mengandalkan aliran konvensi udara. Pengering udara jenis ini akan digunakan untuk aplikasi tugas ozon ringan - seperti aplikasi fumigasi yang lebih kecil, proyek percontohan atau kapan saja 1 g/jam ozon atau kurang memadai.

Sebagai aturan umum, generator UV ozon tidak memerlukan persiapan udara khusus. Output ozon hanya sedikit meningkat dengan meningkatkan kandungan oksigen atau mengeringkan udara. Meskipun pengeringan udara menguntungkan, biaya versus manfaat biasanya tidak membenarkan biaya tambahan peralatan persiapan udara ketika UV digunakan untuk menghasilkan ozon (O'Donnell, 2012).

- **Sistem Gas Umpan Oksigen**

Untuk pabrik pengolahan makanan, udara yang diperkaya oksigen ($>90\% \text{ O}_2$) disediakan secara sederhana dan nyaman dengan menggunakan konsentrator oksigen. Perangkat ini mengambil udara ambien, secara otomatis menyaring (menghilangkan partikel debu), kemudian memisahkan dan menghilangkan nitrogen (sehingga meninggalkan udara yang sangat diperkaya dengan oksigen), yang juga dikeringkan hingga di bawah titik embun maksimum yang diinginkan (-4°C , -60°F), semua sekaligus dalam satu perangkat kecil. Konsentrator oksigen ini beroperasi berdasarkan prinsip PSA. Kompresor udara menekan aliran udara dan mengirimkannya melalui tempat tidur saring molekular (microscopic porous bead) yang menyerap atau memerangkap nitrogen dan uap air, sambil memberikan udara yang diperkaya oksigen ke output pasokan konsentrator. Karena tempat tidur ayakan molekular menjadi sarat dengan nitrogen dan uap air, mereka menyerap limbah dalam bentuk uap ke lingkungan, memulihkan kapasitas adsorpsi dari unggun saringan. Konsentrator oksigen biasanya menggunakan desain multi-bilik, sehingga pada suatu saat ruang akan mengalami tekanan dan adsorpsi, sementara yang lain akan menjalani depresiasi dan desorpsi (O'Donnell, 2012).

Gambar 2.4 adalah diagram skematik yang menunjukkan komponen dari konsentrator oksigen PSA yang digunakan untuk menyediakan $> 90\%$ berat oksigen ke generator OZON.

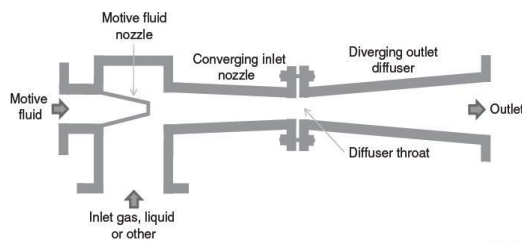


Gambar 2.4 Diagram Skematik dari Konsentrator Oksigen Tipe PSA

2.2.9.2. Menghubungi Ozon dengan Air: Sarana Fisik Transfer Ozon Ke Dalam Air

- **Metode Injeksi Venture**

Keuntungan utama dari penggunaan Venturi (Gambar 6.4) yang berhubungan dengan ozon adalah bahwa aliran air di seluruh hidrolik selalu berada di bawah tekanan negatif. Ini berarti bahwa jika terjadi kebocoran pada pipa hidrolik, udara ruangan akan ditarik ke dalam air yang mengalir, bukan cairan, bersama dengan gas ozon yang bocor ke atmosfer ruangan. Pada saat yang sama, monitor/pengontrol tekanan hidrolik akan merasakan perubahan tekanan hidrolik yang disebabkan oleh kebocoran tersebut, dan mematikan sistem, sehingga menghilangkan potensi paparan pekerja pabrik terhadap ozon yang secara tidak sengaja dibuang ke atmosfer ruang kerja (O'Donnell, 2012).



Gambar 2.5 Diagram Skematis Kontaktor Inektor Venturi

- **Metode Diffuser Gelembung Halus**

Karena metode ini menerapkan gas ozon di bawah tekanan positif, umumnya dianggap kurang aman (daripada injeksi Venturi) jika terjadi kebocoran potensial dalam sistem gas ozon antara pembangkit dan kontak. Dengan sistem seperti ini di bawah tekanan, kebocoran pipa berarti bahwa isi pipa (termasuk gas ozon) dapat bocor ke dalam ruangan. Perhatikan: loop barometrik atau umpan gas ozon tinggi harus digunakan antara generator ozon dan diffusers gelembung halus untuk mencapai ketinggian di atas ketinggian kolom air maksimum dan dengan demikian mencegah aliran balik air ke generator ozon (O'Donnell, 2012).

2.2.9.3. Mengukur dan Memantau Ozon Dalam Air

- **Metode Colourimetric**

Dua zat kimia utama yang digunakan adalah DDPD (bentuk metil tersubstitusi dari DPD, yaitu N, N-dietil-p-phenylenediamine) dan indigo trisulfonat. Dengan prosedur DDPD, kalium iodida ditambahkan ke sampel sebelum analisis. Ozon bereaksi dengan anion iodida untuk membebaskan yodium bebas. Yodium kemudian bereaksi dengan reagen DDPD untuk menghasilkan warna biru-violet, intensitas yang kemudian diukur secara colourimetrically. Berbagai halogen bebas dan agen halogenasi juga menghasilkan warna biru-violet dengan reagen DDPD, dan karena itu mengganggu analisis untuk ozon. Chromate dalam sampel uji di bawah 25 ppm tidak akan mengganggu hasil. Hasilnya dinyatakan sebagai ppm (mg/L) ozon.

Reagen trisulfonat nila bereaksi secara instan dan kuantitatif dengan ozon, memutihkan warna biru indigo dalam proporsi langsung dengan jumlah ozon yang ada. Asam malonat termasuk dalam formulasi untuk mencegah gangguan dari klorin. Hasilnya dinyatakan sebagai ppm (mg/L) O_3 (O'Donnell, 2012).

- **Metode Elektronik Untuk Ozon Terlarut**

Monitor elektronik atau pengendali untuk ozon terlarut menggunakan sensor amperometrik yang terbuat dari membran, yang terdiri dari selaput permeabel gas yang membentang rapat di atas katoda emas. Sebuah anoda perak dan larutan elektrolit melengkapi sirkuit internal. Selama operasi, ozon berdifusi dari sampel melalui membran. Begitu berada di dalam sensor, ozon bereaksi dengan larutan elektrolit untuk membentuk senyawa antara. Tegangan polarisasi yang diterapkan pada katoda benar-benar mengurangi senyawa antara ini, menghasilkan arus antara katoda dan anoda, yang diukur oleh peng analisis. Arus ini berbanding lurus dengan tingkat di mana ozon berdifusi melalui membran ke dalam sensor, yang akhirnya sebanding dengan konsentrasi ozon dalam sampel. Keuntungan dari metode elektronik adalah mengukur sampel secara real time dan memungkinkan untuk mengontrol generator ozon serta pengukuran tingkat ozon terlarut. Kerugian adalah biaya modal yang lebih tinggi dan biaya pemeliharaan (O'Donnell, 2012).

- **Metode Elektronik Untuk ORP**

ORP adalah singkatan dari 'oksidasi-reduksi potensial', yang diukur oleh probe. Dalam istilah praktis, probe ORP adalah voltmeter, mengukur tegangan di sirkuit yang dibentuk oleh elektroda referensi yang terbuat dari kawat perak (berlaku, kutub negatif dari rangkaian) dan elektroda pengukur yang dibangun dari pita platinum (kutub positif), dengan analisis air di antaranya. Meskipun ORP tidak mengukur ozon terlarut (kecuali ozon adalah satu-satunya zat pengoksidasi yang ada dalam larutan), itu bisa sangat berguna untuk mengendalikan output generator ozon. Ketika tingkat ORP yang telah ditentukan terlampaui, sinyal dikirim ke generator ozon untuk mengurangi produksi ozon, dan sebaliknya (O'Donnell, 2012).

O'Donnell (2012) mengatakan elektroda referensi dikelilingi oleh larutan garam (elektrolit), yang menghasilkan tegangan kecil lainnya. Tegangan yang dihasilkan oleh elektroda referensi adalah konstan dan stabil, sehingga memberikan referensi terhadap tegangan yang dihasilkan oleh elektroda pengukur platinum dan oksidator dalam air dapat dibandingkan. Perbedaan tegangan antara dua elektroda adalah apa yang sebenarnya diukur dengan meter. (Catatan: pH tinggi atau rendah dapat mengubah pembacaan ORP yang melibatkan ozon terlarut karena penguraian cepat ozon pada pH tinggi. Keakuratan optimal membutuhkan tingkat pH dalam 6.5–8.0.)

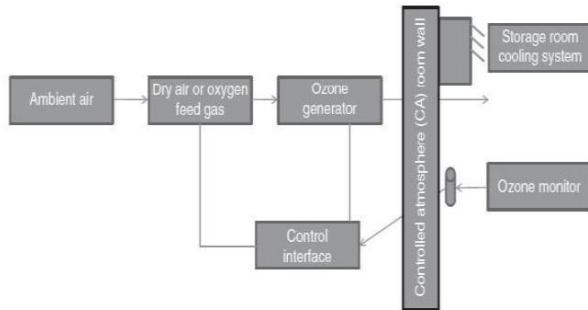
2.2.9.4. Mengukur dan Memantau Ozon Di Udara

O'Donnell (2012) menyebutkan penyerapan UV (berdasarkan hukum Beer-Lambert) dan teknologi metal oxide semiconductor (MOS) berperan dalam mengukur dan memantau ozon di udara. Penyerapan UV sangat akurat, $\pm 1\%$ (kurang dari 0,10 ppm), dan karena itu cukup kompleks dan mahal secara teknis. Kemudian, MOS lebih murah dari analisa UV, dan biasanya digunakan dalam situasi di mana akurasi yang tepat kurang penting (0,10 ppm).

2.2.9.5. Peralatan Ozonasi untuk Ruang Penyimpanan Makanan

Komponen peralatan yang diperlukan untuk menghasilkan dan menerapkan ozon dalam fase gas cukup sederhana dibandingkan dengan aplikasi ozon berair, terutama

karena pencampuran gas (ozon) dengan gas lain (udara) jauh lebih rumit daripada melarutkan gas ozon dalam air. Komponen yang umum adalah gas umpan, yang akan mengeringkan udara dan menekan ozon yang masuk ke ruang penyimpanan, generator ozon, lebih disukai dengan kontrol 4/20 mA untuk output variabel waktu nyata, dan akhirnya monitor ozon fase gas, untuk mencapai dan mempertahankan tingkat ozon yang diinginkan di dalam ruangan. Satu catatan desain: disarankan untuk menghubungkan sistem dengan kipas pendingin sehingga tidak ada penumpukan (atau lokalisasi) ozon tanpa pergerakan udara di mana pun di dalam ruangan (O'Donnell, 2012). Gambar 6.5 adalah diagram skematik yang menunjukkan bagaimana ozon dihasilkan dan diterapkan ke ruang penyimpanan makanan CA.



Gambar 2.6 Diagram Skematis Ozon pada Ruang Penyimpanan Makanan

2.2.9.5 Kontrol Keluaran Ozon Generator

Dengan beberapa generator ozon, saklar kontrol volume manual sederhana dapat digunakan untuk meningkatkan dan/atau mengurangi tingkat output ozon dari 0 hingga 100%. Namun, untuk pendekatan real-time yang akurat, generator ozon yang lebih canggih dapat diberikan dengan kontak ON/OFF atau kontrol 4-20 mA. Dengan fitur ozone generator dapat dikontrol melalui monitor/controller ozon terlarut atau ORP monitor/controller. Kontroler dapat diprogram dengan titik set yang ditentukan sebelumnya; ini adalah level di mana tingkat ozon terlarut atau pembacaan ORP tidak boleh dilampaui atau tidak jatuh di bawah. Kontroler dapat menyediakan fungsi ON

ketika level menurun ke titik set rendah dan fungsi OFF ketika level naik ke nilai set point tinggi (O'Donnell, 2012).

3.1. Reaksi Kimia Ozon terhadap Air

The diagram illustrates the catalytic cycle of ozone decomposition by hydroxyl radicals. The cycle involves the following steps:

- Step (1):** $\text{OH} + \text{O}_3 \rightarrow \text{HO}_2 + \text{O}_2$
- Step (2):** $\text{HO}_2 + \text{O}_3 \rightarrow \text{OH} + 2\text{O}_2$
- Step (3):** $\text{HO}_2 + \text{HO}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$
- Step (4):** $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{OH} \rightarrow \text{HO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

The diagram also shows the formation of OH from O₃ and H₂O, and the conversion of O₃ to O₂ via HO₂ and OH. The overall reaction is $\text{O}_3 \rightarrow \text{O}_2 + \text{O}$.

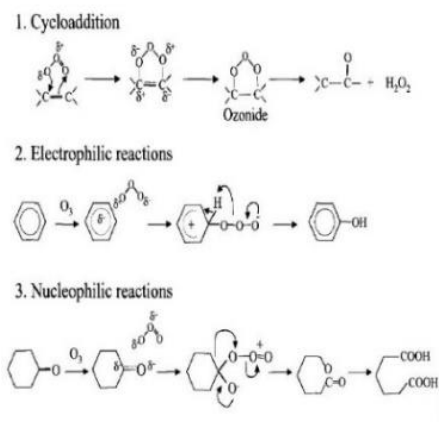
Karena molekul ozon bersifat selektif, tidak semua senyawa dalam larutan air dengan cepat teroksidasi olehnya, dan tentu saja tidak pada tingkat yang sama. Mengatasi masalah ini dengan mengubah ozon menjadi radikal OH yang sangat reaktif secepat mungkin, dikenal sebagai 'oksidasi lanjut'. Dengan menggunakan aktivator, seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) atau sinar UV, atau dengan atau tidak adanya ozon. Karena proses oksidasi, zat berbahaya menjadi kurang berbahaya tanpa pembentukan partikel (von Gunten 2003; Huang et al. 1993).

40

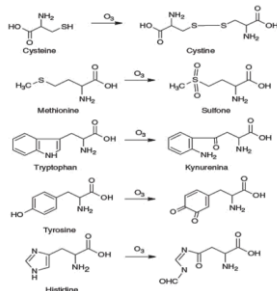
Hordern et al. 2004) dan ozonisasi dua fase (Kasprzyk-Hordern et al. 2003), keduanya telah berhasil mengurangi regangan kompetitif pada proses ozonisasi.

3.2.Reaksi Kimia Ozon terhadap Senyawa Organik/Makromolekul

Di hadapan senyawa organik, ozon bereaksi dalam berbagai reaksi kompleks karena pembentukan berbagai spesies reaktif. Ozon mengalami tiga jenis reaksi dalam media pelarut organik (Bailey, 1978): (1) cyclo-penambahan dipolar dengan ikatan karbon-karbon tidak jenuh; (2) reaksi elektrofilik dengan senyawa aromatik, amina dan sulfida yang memiliki densitas elektronik yang kuat; dan (3) reaksi nukleofilik dengan karbon yang membawa gugus penarik elektron (Gambar 3.2). Oleh karena itu, reaksi ozon molekul adalah selektif dan terbatas pada senyawa aromatik dan alifatik tak jenuh serta untuk kelompok-kelompok fungsional tertentu. (Gambar 3.3).

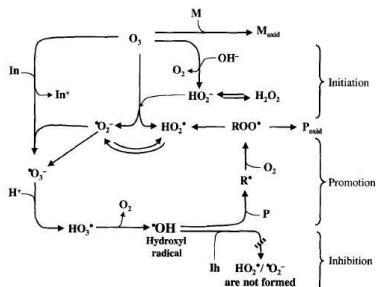


Gambar 3.2. Ozon pada Cycloaddition



Gambar 3.3 Reaksi Asam Amino dengan Ozon

Serupa dengan reaksi ozon dalam air, senyawa organik juga mengalami reaksi berantai. Dekomposisi ozon terjadi dalam proses reaksi berantai termasuk langkah inisiasi, propagasi, dan pemutusan (Gambar 3.4) (Weiss, 1935; Staehelin et al., 1984; Jans dan Hoignr, 1998).



Gambar 3.4. Reaksi Dekomposisi Ozon

3.3. Reaksi Kimia Ozon terhadap Senyawa Anorganik

Mineral, ion logam, ion hidroksil dan halogen (misalnya klorin) mengkatalisis dekomposisi ozon dan ini meningkatkan kebutuhan ozon (Alder dan Hill, 1950; Hewes dan Davidson, 1973; Hoigné dan Bader, 1976). Reaksi ozon dengan senyawa anorganik yang ditemukan dalam air biasanya mengikuti kinetika orde pertama, berkaitan dengan ozon dan senyawa teroksidasi. Ozon mengoksidasi besi (Fe^{2+}) menjadi besi (Fe^{3+}) spesies, yang mengendap dalam air sebagai hidroksida besi, $Fe(OH)_3$, dan mudah dihilangkan dengan penyaringan. Demikian pula, ion mangan (Mn^{2+}) dioksidasi oleh ozon ke dalam keadaan mangan (Mn^{4+}), membentuk oksida

mangan (MnO_2), yang juga mengendap keluar dan dapat disaring. Reaksi-reaksi ini penting untuk menghilangkan logam kontaminan dari air minum (Dore, 1989). Nilai potensial reduksi oksidasi untuk ozon, klorida, bromida dan iodida adalah 2,07, 1,49, 1,33 dan 0,99 V, masing-masing. Oleh karena itu, ozon dapat mengoksidasi ion klorida secara perlahan, tetapi bereaksi moderat dengan bromida dan cepat dengan ion iodida, menghasilkan unsur bromin dan yodium, masing-masing (Haag dan Hoigné, 1983).

3.4. Reaksi Kimia Ozon terhadap Bakteri

Stewart dan Raquepas (1995) mengembangkan metode untuk menganalisis efektivitas agen antimikroba ketika diterapkan pada biofilm mikroba. Menggunakan adaptasi teori reaksi-difusi, para peneliti mempelajari tingkat penetrasi antimikroba ke dalam biofilm dan keterbatasan transportasi pada tingkat disinfeksi biofilm secara keseluruhan. Tercatat zat pengoksidasi kuat seperti ozon atau klorin, agen antimikroba akhirnya menembus ke dalam biofilm karena ia menghabiskan komponen biomassa reaktif dalam biofilm. Namun, waktu untuk menembus biofilm jauh lebih lama daripada yang diharapkan oleh difusi.

Inaktivasi oleh ozon adalah proses kompleks yang melibatkan ozon yang bekerja pada berbagai sel-sel dan konstituen dinding (misalnya lemak tak jenuh) bersama dengan konstituen konten-sel (misalnya enzim dan asam nukleat). Ozon dapat mempengaruhi glikoprotein membran dan / atau glikolipid (Guzel- Seydim et al. 2004), enzim yang terikat membran (Murray et al. 1965) dan oksidasi ikatan ganda oleh oksigen singlet yang ditemukan dalam sel (Scott 1975), dan mungkin juga kerusakan protein dan DNA (Komanapalli dan Lau 1996).

Dua mekanisme utama penghancuran ozon organisme target diidentifikasi: (1) Ozon mengoksidasi gugus sulfhidril dan asam amino dari enzim, peptida dan protein menjadi peptida yang lebih kecil; dan (2) Ozon mengoksidasi asam lemak tak jenuh ganda menjadi peroksida asam (Victorin 1992). Selain itu, faktor yang mendorong dekomposisi ozon dalam sistem dapat menyebabkan disipasi ozon yang lebih cepat, sehingga diperlukan peningkatan konsentrasi ozon untuk mencapai tingkat inaktivasi yang diinginkan (Zuma et al. 2009).

3.5. Reaksi Kimia Ozon terhadap Virus

Beberapa peneliti melaporkan bahwa ozon menonaktifkan virus yang terbungkus dan tidak berkembang dalam air (Bolton et al. 1982; Roy et al. 1982; Akey dan Walton 1985). Ozon efektif terhadap bakteriofag f2 (Kim et al. 1980), spesies virus yang diselimuti (termasuk spesies virus stomatitis vesikular, virus influenza A (strain WSN), virus bovine rhinotracheitis yang menular) dan virus yang tidak berkembang (termasuk polio tipe I dan virus hepatitis anjing yang terinfeksi) (Bolton et al. 1982). Penelitian menunjukkan bahwa virus yang diselimuti lebih rentan terhadap inaktivasi ozon daripada mereka yang tidak memiliki amplop lipid (Bolton et al. 1982).

BAB IV

APLIKASI TEKNOLOGI OZONASI UNTUK PEMBUATAN OBAT HAYATI : κ -KARAGENAN BERAT MOLEKUL RENDAH DAN PROSES DALAM AKTIVITAS ANTIBAKTERI

4.1. Karagenan

Carrageenan (karagenan) adalah nama umum dari polisakarida yang diperoleh dari ekstraksi berbagai jenis alga merah (*Rhodophyta*). Karagenan merupakan polisakarida berantai linear dengan berat molekul yang tinggi. Rantai polisakarida tersebut terdiri dari ikatan berulang antara gugus galaktosa dengan 3,6-anhidrogalaktosa (3,6 AG). Keduanya baik yang berikatan dengan sulfat maupun tidak, dihubungkan dengan ikatan glikosidik α -(1,3) dan β -(1,4). Karagenan disebut juga polisakarida galaktan sulfat (*Sulfated Galactans*) karena mengandung gugus galaktosa dan sulfat serta residu karbohidrat lain seperti *xylose*, *glukosa*, asam *uronic* serta kelompok metil eter dan piruvat. κ -karagenan yang komersial memiliki ukuran berat molekul antara 400-600 kDa. Polimer alam tersebut memiliki kemampuan untuk membentuk gel secara *thermoreversible* sehingga banyak dimanfaatkan sebagai pengental dan bahan penstabil di berbagai industri seperti pangan, farmasi, kosmetik, percetakan, dan tekstil (Campo *et al.*, 2009). Prasetyaningrum *et al.* (2019) menyatakan bahwa karagenan mampu menjadi sumber *nutraceutical* dan *functional food* di masa depan.

Karagenan digunakan secara luas dalam industri makanan karena sifat fungsional yang baik (*thickening, gelling dan stabilizing*), mengontrol viskositas dan memperbaiki tekstur pada bahan makanan, serta pengikat dan stabilisator dalam industri pengolahan daging. Meskipun karagenan mempunyai kegunaan yang cukup banyak, namun berat molekul dan viskositasnya yang tinggi membatasi dalam penggunaan dan aplikasi yang lebih luas. Dengan mengubah karagenan berat molekul tinggi (KBMT) menjadi karagenan berat molekul rendah (KBMR) akan meningkatkan bioavailabilitas dan memperluas potensi aplikasi karagenan dalam bidang farmasi dan biomedis. Proses pembuatan KBMR dapat dilakukan dengan beberapa teknik diantaranya adalah proses kimiawi, enzimatik, dan perlakuan iradiasi seperti depolimerisasi oksidatif. Beberapa penelitian terbaru menunjukkan potensi

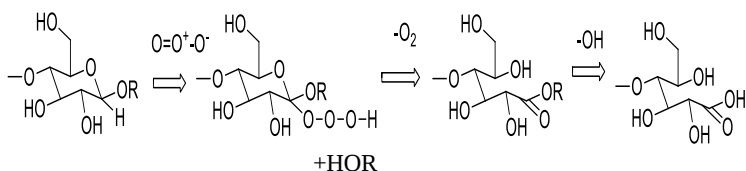
ozon pada proses pengolahan limbah dan depolimerisasi makromolekul polisakarida. Reaksi ozonasi untuk depolimerisasi molekul alginat (Nagasawa *et al.*, 2000a), kitosan (Seo, 2006; Seo *et al.*, 2007), dan tepung *cassava* (Klein *et al.*, 2014). Ozon adalah oksidan kuat yang tidak meninggalkan residu pada bahan, sehingga aman digunakan untuk pengolahan bahan makanan dan obat-obatan. Ozon terurai dengan cepat menjadi oksigen dan tidak meninggalkan residu pada bahan, sehingga proses ozonasi sering disebut sebagai “*green technology*”. Ozon banyak digunakan untuk pengolahan dalam industri makanan, karena tidak ada masalah tentang keamanan sisa ozon pada bahan (Seydim *et al.*, 2004). Modifikasi dan pengembangan proses ozonasi yang efektif dan efisien perlu dikembangkan untuk menghasilkan produk KBMR. studi tentang pengaruh reaksi ozonasi pada pembuatan karagenan berat molekul rendah (KBMR) dilakukan dengan respons ukuran berat molekul KBMR. Selanjutnya dilakukan analisis kimia produk KBMR, yaitu analisis kadar sulfat dengan *barium chloride-gelatine methods*, analisis gugus fungsional dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR), analisis komposisi produk KBMR dengan *Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometer* (EDX) untuk mengetahui keberadaan gugus fungsional κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi. Perubahan morfologi yang terjadi pada κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi dianalisis dengan *X-Ray Diffraction* (XRD) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Studi tentang mekanisme reaksi diperlukan untuk menjelaskan rejim reaksi yang berpengaruh pada proses depolimerisasi κ -karagenan dan tahapan pemutusan ikatan rangkap pada κ -karagenan selama depolimerisasi dengan ozonasi. Mekanisme reaksi tersebut dapat dijabarkan berdasarkan data-data yang diperoleh dari analisis distribusi ukuran berat molekul (GPC) dan didukung data analisis spektrum UV Vis dan FT-IR. Studi kinetika reaksi diperlukan untuk mengetahui tingkat reaksi pada depolimerisasi κ -karagenan dengan ozonasi. Selama ini belum ada studi yang mempelajari kinetika reaksi depolimerisasi κ -karagenan dengan ozonasi. Diperlukan penjelasan tentang pengaruh pH terhadap laju depolimerisasi κ -karagenan, perhitungan konstanta laju reaksi dan orde reaksi depolimerisasi molekul κ -karagenan dengan proses ozonasi. Nilai konstanta laju depolimerisasi κ -karagenan dengan ozonasi dan data pendukung yang diperoleh dapat digunakan untuk menyusun model kinetika reaksi dan

sangat bermanfaat untuk perancangan reaktor pada proses skala industri.

4.2. Mekanisme Depolimerisasi κ -Karagenan dengan Reaksi Ozonasi.

Mekanisme depolimerisasi larutan polisakarida dengan ozonasi dapat dijelaskan melalui tiga macam reaksi, yaitu: (1) depolimerisasi ozonolitik ikatan β -D-glikosida (2) depolimerisasi oksidatif oleh radikal hidroksil yang terbentuk dalam air (3) hidrolisis pada kondisi asam. Mekanisme (1) merupakan reaksi ozonolisis langsung sedangkan mekanisme (2) dan (3) merupakan reaksi ozonolisis yang berlangsung secara tidak langsung. Menurut Wang *et al.* (1999), di antara ketiga reaksi tersebut mekanisme yang dominan adalah reaksi pertama, yaitu depolimerisasi selektif ikatan β -D-glikosida dengan ozon. Reaksi polisakarida dengan ozon membentuk ester asam aldonat, yang secara spontan mengalami saponifikasi menghasilkan fragmen berukuran lebih kecil. Mekanisme pemutusan ikatan β -D-glikosida dengan reaksi ozon disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1: Mekanisme reaksi depolimerisasi polisakarida dalam larutan ozon
(Duan dan Kasper, 2011)

Reaksi yang terjadi antara ozon dengan polisakarida biasanya mengarah pada pembentukan aldehid dan asam karboksilat. Molekul ozon akan menyerang pada ikatan atom karbon yang paling lemah. Selanjutnya terbentuk hidrotrioksida yang tidak stabil. Terjadi pelepasan molekul oksigen (O_2) disertai dengan pembentukan senyawa yang memiliki ikatan rangkap (Duan dan Kasper, 2011). Mekanisme yang hampir sama dengan depolimerisasi menggunakan ultrasound seperti yang pernah dilaporkan oleh Ratnawati *et al* (2016) yang melakukan penelitian penurunan kappa karagenan menggunakan metode ultrasound. Karena baik ultrasound

maupun ozon mampu menghasilkan hidroksil bebas yang memutus ikatan pada gugus karagenan.

4.3. Hasil Penelitian Aplikasi Teknologi Ozonasi pada Depolimerisasi Karagenan

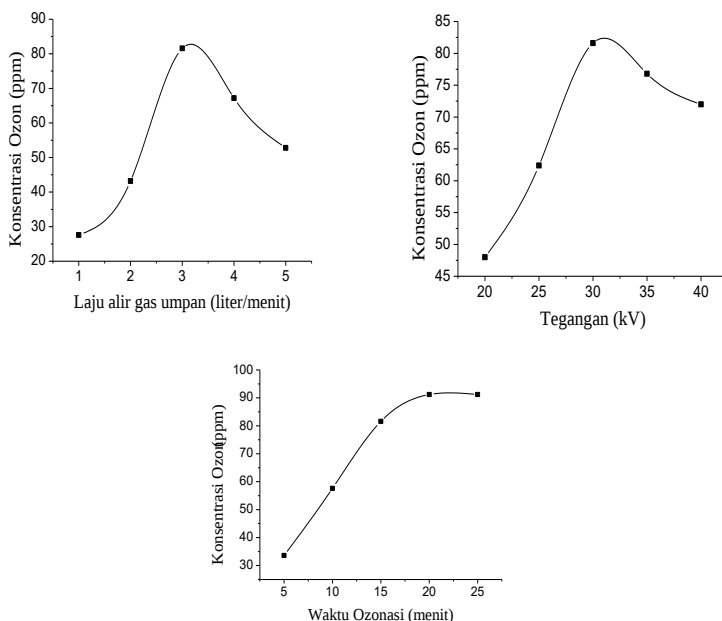
4.3.1. Pengaruh variabel proses pada konsentrasi ozon

Konsentrasi gas ozon yang dihasilkan oleh reaktor pembangkit ozon ditentukan oleh kondisi operasi proses ozonasi, diantaranya adalah laju alir gas umpan (udara), tegangan alat pembangkit ozon, waktu reaksi, temperatur dan pH reaksi ozonasi (Gao *et al.*, 2005; Al-Abduly *et al.*, 2014; Flores-Payan *et al.*, 2015). Kondisi operasi diatur pada temperatur $29 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7 dan tekanan 1 atm. Respons yang diambil adalah nilai konsentrasi ozon di dalam air. Penentuan konsentrasi ozon menggunakan analisis iodo-iodimetri. Data hasil penelitian tentang pengaruh variabel proses (laju alir gas umpan, tegangan ozon generator dan waktu ozonasi) terhadap konsentrasi ozon disajikan pada Gambar 4.2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi ozon yang dihasilkan akan naik seiring dengan kenaikan laju alir gas umpan (udara). Hal ini disebabkan kenaikan laju alir udara akan menambah jumlah oksigen yang bereaksi untuk membentuk gas ozon, seperti disajikan pada Persamaan 4.1 dan 4.2.



Kenaikan laju alir gas umpan yang terlalu tinggi, yaitu di atas 3 liter/menit akan menyebabkan penurunan konsentrasi ozon yang dihasilkan (Gambar 4.2). Hal ini disebabkan kecepatan alir gas umpan yang terlalu besar dapat memperpendek waktu tinggal oksigen di dalam reaktor, sehingga reaksi pembentukan oksigen menjadi ozon menjadi sangat singkat.



Gambar 4.2: Pengaruh variabel proses: a) laju alir gas umpan
b) tegangan
c) waktu ozonasi terhadap konsentrasi ozon

Penelitian yang dilakukan oleh Al-Abduly *et al.* (2014) dan Boonduang *et al.* (2012) menunjukkan kecenderungan yang sama, yaitu konsentrasi ozon terlarut meningkat seiring dengan meningkatnya laju alir gas umpan. Peningkatan laju alir udara yang terlalu tinggi menyebabkan waktu tinggal gas umpan (oksigen) di dalam reaktor yang terlalu singkat sehingga menyebabkan pembentukan ozon tidak sempurna karena molekul oksigen tidak memiliki cukup waktu untuk bereaksi menjadi ozon.

Pengaturan input tegangan listrik pada sistem pembangkit ozon berpengaruh terhadap produksi ozon. Data tentang variasi konsentrasi ozon yang dihasilkan akibat perubahan tegangan pembangkit ozon disajikan pada Gambar 4.2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi gas ozon meningkat seiring dengan kenaikan tegangan listrik. Kenaikan tegangan listrik akan memperbanyak jumlah lucutan ion yang terbentuk di reaktor, sehingga meningkatkan produksi ozon (Boonduang *et al.* 2012). Pada kondisi tertentu yaitu tegangan di atas 30 kV, konsentrasi ozon yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan kenaikan tegangan akan

meningkatkan energi dari lucutan elektron. Kenaikan energi akibat lucutan elektron di dalam reaktor plasma (*Dielectric Barrier Discharge*) tersebut akan menyebabkan kenaikan suhu di dalam reaktor yang berakibat pada penurunan produksi ozon. Kelarutan ozon di dalam air turun seiring dengan kenaikan suhu (Ullman's *et al.*, 1991).

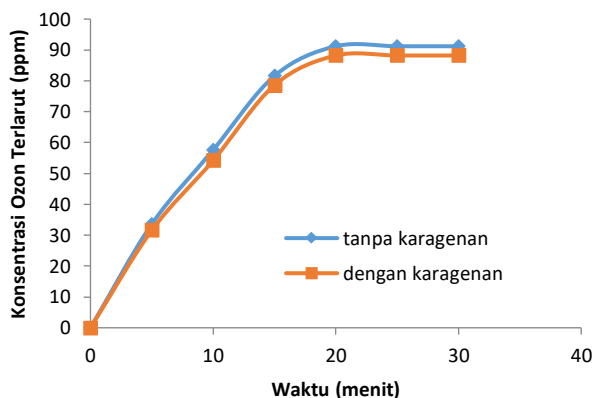
Masato *et al.* (2009) menyatakan bahwa konsentrasi ozon terlarut di dalam air meningkat seiring dengan bertambahnya waktu ozonasi hingga dicapai batas konsentrasi tertentu. Semakin lama waktu ozonasi, maka waktu reaksi pembentukan oksigen menjadi lebih sempurna sehingga produksi ozon cenderung bertambah. Pada penelitian ini konsentrasi ozon menunjukkan peningkatan signifikan setelah 20 menit ozonasi. Di atas 20 menit konsentrasi ozon yang dihasilkan cenderung stabil (Gambar 4.2).

Ozon adalah senyawa yang mudah larut di dalam air, dengan nilai kelarutan 14 kali lebih besar dibandingkan dengan oksigen. Kelarutan ozon di dalam air akan meningkat seiring dengan penurunan suhu. Nilai kelarutan ozon juga dipengaruhi oleh impuritas yang terkandung di dalam air. Semakin tinggi konsentrasi impuritas menyebabkan penurunan konsentrasi ozon terlarut. Nilai kelarutan 100% gas ozon di dalam air murni pada suhu 30°C adalah 400 ppm (Beltran, 2004). Pada penelitian ini kelarutan ozon maksimal hanya mencapai ± 90 ppm karena gas umpan adalah udara, sehingga produksi gas ozon masih mengandung oksigen, nitrogen serta impuritas yang lain.

4.3.2. Koefisien Transfer Massa Proses Ozonasi (k_La)

Laju perpindahan massa ozon dari fase gas ke fase cair sangat mempengaruhi efektivitas reaksi ozonasi. Nilai konstanta laju perpindahan massa per unit volume biasanya dinyatakan sebagai koefisien transfer massa (k_La). Koefisien perpindahan massa gas ozon di dalam air dapat diketahui dengan mengukur konsentrasi ozon terlarut sebagai fungsi waktu. Data konsentrasi ozon terlarut digunakan untuk menentukan koefisien transfer massa (k_La) untuk fase cair berdasarkan Persamaan 3.4. Mengacu pada data penelitian sebelumnya (Gambar 4.2) nilai kelarutan gas ozon yang terbaik diperoleh pada waktu ozonasi 20 menit, laju alir gas umpan 3 liter/menit dan tegangan pada 30 kV. Kondisi operasi ini digunakan untuk membandingkan nilai k_La ozon di dalam air dan k_La ozon di dalam larutan κ -karagenan. Penelitian ini menggunakan konsentrasi κ -karagenan 1% (b/v) dan kondisi operasi diatur pada temperatur $29 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7 dan tekanan 1 atm.

Perpindahan massa dan reaksi kimia terjadi secara simultan pada ozonasi larutan κ -karagenan. Data tentang perbandingan konsentrasi ozon terlarut di dalam air dan di dalam larutan karagenan disajikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3: Konsentrasi ozon terlarut pada air dan larutan κ -karagenan

Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi ozon terlarut di dalam larutan karagenan sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi ozon terlarut dalam di air. Pada ozonasi selama 30 menit nilai rata-rata konsentrasi ozon terlarut di dalam air adalah $74,4 \text{ mg L}^{-1}$, sedangkan nilai rata-rata konsentrasi ozon terlarut di dalam larutan κ -karagenan adalah $71,5 \text{ mg L}^{-1}$. Penurunan nilai konsentrasi ozon terlarut tersebut sebesar 3,89%.

K_{La} merupakan koefisien transfer gas secara keseluruhan dan memiliki satuan waktu^{-1} . Nilai k_{La} dapat ditentukan dalam skala percobaan sesuai langkah yang dijabarkan pada Sub bab 4.3.2. Nilai k_{La} diperoleh dengan membuat grafik $\ln\left(\frac{C^*-C_o}{C^*-C}\right)$ terhadap waktu ozonasi, seperti disajikan pada Lampiran 2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai koefisien transfer massa gas ozon (k_{La}) di dalam air adalah 0,131/menit sedangkan nilai koefisien transfer massa gas ozon (k_{La}) di dalam larutan κ -karagenan adalah 0,128/menit. Nilai k_{La} gas ozon di dalam larutan κ -karagenan sedikit lebih rendah dibandingkan nilai k_{La} gas ozon di dalam air. Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.*, (2013) yang mempelajari tentang pengaruh konsentrasi kontaminan terhadap nilai koefisien transfer massa

gas oksigen. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa kenaikan konsentrasi biomassa akan meningkatkan viskositas larutan dalam bioreaktor, sehingga menurunkan nilai koefisien perpindahan massa ($k_L a$). Sada *et al.*, (1983) mengukur nilai $k_L a$, a dan k_L pada ozonasi larutan magnesium hidroksida di dalam reaktor kolom gelembung. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa untuk konsentrasi magnesium hidroksida 0,2-5% berat tidak memberikan perubahan secara signifikan pada harga $k_L a$. Nilai $k_L a$ akan turun seiring dengan kenaikan konsentrasi larutan. Ratnawati *et al.* (2018) melaporkan bahwa pengaruh pH juga memberikan efek pada transfer massa pada proses ozonasi.

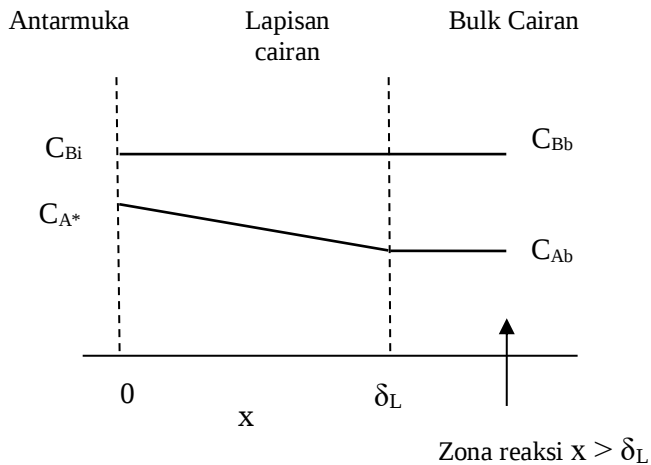
Untuk menggambarkan pengaruh reaksi kimia terhadap peningkatan laju perpindahan massa pada reaksi ozonasi, diperlukan perhitungan faktor *enhancement* (E). Faktor *enhancement* merupakan perbandingan antara laju reaksi ozonasi dengan reaksi kimia terhadap laju reaksi ozonasi tanpa reaksi kimia. Perhitungan nilai faktor *enhancement* menggunakan Persamaan 2.17. Gottschalk *et al.*, (2012) menyatakan bahwa jika reaksi kimia berjalan lambat, maka peningkatan laju reaksi karena perpindahan massa dapat diabaikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai faktor *enhancement* adalah 1,04 atau mendekati 1 (Lampiran 2). Pada reaksi ozonasi larutan κ -karagenan dapat disimpulkan bahwa laju reaksi dikendalikan oleh reaksi kimia dan peristiwa perpindahan massa tidak memberikan pengaruh yang signifikan.

4.3.3 Penentuan Regim Reaksi Ozonasi

Regim kinetika reaksi dapat diklasifikasikan menjadi reaksi yang berlangsung secara lambat, moderat, cepat dan sangat cepat. Bilangan Hatta merupakan bilangan tak berdimensi yang mengindikasikan bahwa suatu reaksi berlangsung cepat atau lambat dalam sistem reaksi nonkatalitik gas-cair. Jumlah kontaminan atau konsentrasi zat yang terkandung di dalam larutan mempengaruhi regim kinetika reaksi. Menurut Beltran (2005) penggolongan sifat reaksi ozonasi berdasarkan nilai bilangan Hatta adalah jika reaksi berlangsung dalam regim kinetika yang cepat maka nilai bilangan $Ha > 3$, jika reaksi dalam regim kinetika yang moderat maka nilai bilangan Ha antara $0,3 < Ha < 3$ dan jika reaksi kimia berlangsung secara lambat dan terjadi dalam fase cairan *bulk* maka nilai bilangan $Ha < 0,3$.

Parameter penting yang digunakan untuk mengukur tingkat reaksi yang terjadi selama ozonasi adalah bilangan Hatta (Ha). Bilangan Hatta dipengaruhi oleh nilai koefisien transfer massa individu dalam fase cair (k_L), difusivitas ozon dalam fase cair (D_A), konsentrasi senyawa atau kontaminan dalam fase cair, serta konstanta laju reaksi *overall* antara ozon dan kontaminan. Koefisien transfer massa dalam fase cair (k_L) diperoleh dari nilai k_{LA} dibagi luas penampang perpindahan massa (a). Pada penelitian ini digunakan reaktor kolom gelembung (*bubble column reactor*) dengan ukuran diameter 0,1 m. Hasil perhitungan nilai koefisien transfer massa dalam fase cair (k_L) untuk ozonasi dalam larutan κ -karagenan adalah $1,674 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$ (Lampiran 2). Penelitian yang dilakukan Beltran (2005) menyatakan bahwa nilai koefisien transfer massa dalam fase cair (k_L) untuk ozonasi dalam air pada reaktor kolom gelembung adalah $3 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$, sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap nilai k_L pada hasil penelitian ini. Nilai difusivitas ozon dalam fase cair (D_A) dihitung berdasarkan persamaan empiris yang dikemukakan oleh Johnson dan Davis (1996), disajikan pada Persamaan 2.20. Persamaan tersebut menghubungkan nilai difusivitas terhadap viskositas cairan dan suhu reaksi. Pada penelitian ini digunakan suhu cairan 29°C atau 327 K dan viskositas larutan κ -karagenan 45,13 cP. Hasil perhitungan nilai difusivitas ozon dalam larutan κ -karagenan (D_A) adalah $4,275 \times 10^{-9}$. Pada penelitian ini digunakan larutan κ -karagenan dengan konsentrasi 1% (berat/volume) dan pH 7. Konstanta laju reaksi menggunakan nilai konstanta laju reaksi orde dua yaitu $1,27 \times 10^{-4} \text{ menit}^{-1}$ yang disajikan pada Tabel 4.9.

Nilai bilangan Hatta dapat dihitung menggunakan Persamaan 2.18. Pada penelitian ini bilangan Hatta adalah 0,0044 (Lampiran 2). Nilai bilangan Hatta yang sangat kecil ($< 0,3$) menunjukkan bahwa reaksi kimia pada ozonasi larutan κ -karagenan berlangsung lambat. Rejim reaksi ditentukan oleh reaksi kimia dengan mengabaikan reaksi akibat perpindahan massa. Profil teori film untuk rejim kinetika reaksi ozonasi larutan κ -karagenan disajikan pada Gambar 4.4.



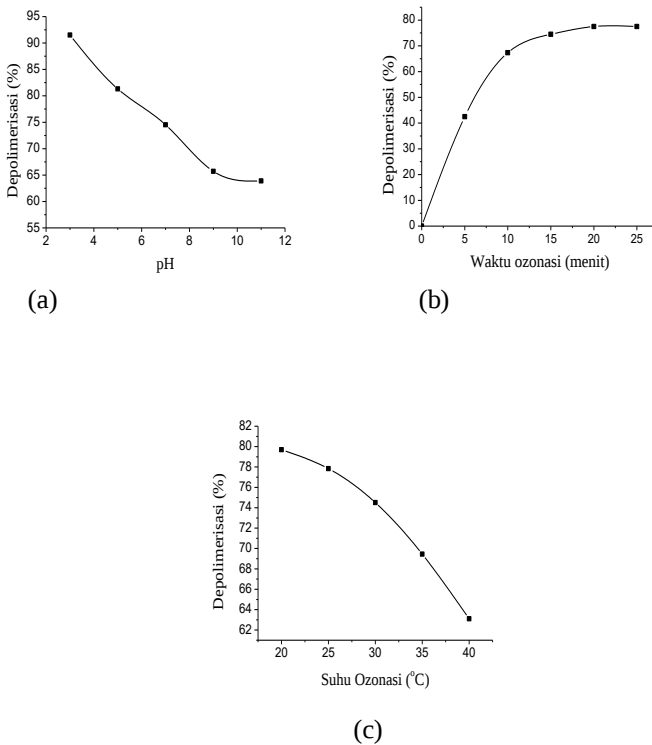
Gambar 4.4: Teori film untuk profil rejim kinetika reaksi lambat
(Beltran, 2005)

Gas ozon terlarut (A) pada larutan κ -karagenan (B) dan zone reaksi terjadi pada $x > \delta_L$. Pada kondisi ini, profil ozon cenderung seragam pada lapisan antarmuka. Reaksi terjadi secara sempurna pada badan cairan (*bulk* cairan). Reaksi kimia berlangsung sangat lambat jika dibandingkan dengan perpindahan massa, sehingga tahanan perpindahan massa dapat diabaikan.

4.3.3 Depolimerisasi molekul κ -karagenan melalui proses ozonasi

Untuk mengetahui pengaruh variabel proses terhadap depolimerisasi κ -karagenan, maka dilakukan uji pengaruh waktu, pH dan suhu ozonasi terhadap penurunan berat molekul κ -karagenan. Proses depolimerisasi menggunakan κ -karagenan dengan BM mula-mula 270 ± 5 kDa. Konsentrasi ozon masuk mula – mula diatur pada kondisi 80 ± 2 ppm. Konsentrasi umpan κ -karagenan dipersiapkan dengan melarutkan sampel κ -karagenan dalam air distilasi pada konsentrasi 1% (berat/volume). Pada penelitian ini digunakan waktu ozonasi 5-25 menit, pH reaksi 3-11 dan suhu reaksi ozonasi 20-40 °C. Data

pengaruh variabel waktu, pH dan suhu ozonasi terhadap depolimerisasi κ -karagenan disajikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5: Pengaruh variabel: a) waktu b) pH c) suhu ozonasi terhadap penurunan berat molekul κ -karagenan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan ukuran berat molekul atau kenaikan derajat depolimerisasi seiring dengan peningkatan waktu ozonasi. Semakin lama waktu ozonasi menyebabkan kecenderungan semakin banyak pemutusan ikatan glikosidik pada κ -karagenan. Pada perlakuan ozonasi pH 7 dan suhu 29°C terjadi penurunan berat molekul κ -karagenan secara signifikan pada 15 menit pertama ozonasi, dengan nilai % depolimerisasi mencapai 74,51%. Setelah 20 menit ozonasi, penurunan berat molekul κ -karagenan tidak terlalu signifikan (Gambar 4.5). No *et al.* (1999) menyatakan bahwa proses ozonasi dalam waktu 10 menit, 20 menit dan 30

menit dapat menurunkan berat molekul kitosan masing-masing sebesar 63%, 85% dan 93% dibandingkan berat molekul kitosan mula-mula. Chan *et al.* (2011) menyatakan bahwa proses ozonasi selama 10 menit dapat menurunkan ukuran berat molekul tepung jagung sebesar 22,5% dan tepung sagu sebesar 30,6% dari ukuran berat molekul mula-mula. Ozon berfungsi sebagai oksidator yang memutus ikatan glikosidik pada κ -karagenan. Selama reaksi ozonasi juga dihasilkan radikal hidroksil (OH^*) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang berperan penting pada proses depolimerisasi κ -karagenan.

Pengaturan pH selama ozonasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan berat molekul κ -karagenan. Gambar 4.5 menunjukkan bahwa terjadi kenaikan % depolimerisasi seiring dengan penurunan pH ozonasi. Penurunan berat molekul κ -karagenan berlangsung dengan cepat pada pH rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pemutusan rantai β -D glikosidik κ -karagenan karena ozonasi pada pH rendah juga disebabkan reaksi hidrolisis (Karlsson *et al.*, 2005). Penelitian tentang ozonasi kitosan yang dilakukan oleh Seo dkk. (2007) menunjukkan kecenderungan yang sama, yaitu kenaikan waktu ozonasi dan perlakuan ozonasi pada kondisi asam akan meningkatkan derajat depolimerisasi. Klein *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa pH 3,5 adalah yang paling efektif untuk menurunkan viskositas dan pemutusan ikatan rangkap tepung *cassava* dengan proses ozonasi.

Hubungan antara suhu ozonasi terhadap penurunan berat molekul κ -karagenan disajikan pada Gambar 4.5. Pada penelitian ini dilakukan variasi suhu ozonasi dari 20-40°C dan kondisi operasi dijaga waktu ozonasi 10 menit dan pH 10. Terdapat kecenderungan kenaikan % depolimerisasi seiring dengan penurunan suhu ozonasi. Mennad *et al.* (2014) meneliti tentang pengaruh suhu terhadap produksi ozon dengan lucutan korona. Penelitian tersebut menggunakan variabel suhu 200, 298 dan 380 K. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa efektivitas produksi ozon naik pada kondisi operasi suhu rendah. Kelarutan ozon di dalam air meningkat seiring dengan penurunan suhu. Menurut hasil penelitian Ullman's (1991), nilai kelarutan ozon di dalam air pada suhu 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C masing-masing adalah 780 ppm, 570 ppm, 400 ppm, 270 ppm, 190 ppm dan 140 ppm. Sedangkan waktu tinggal maksimal gas ozon di dalam air (pH 7) pada suhu 15°C, 20°C, 25°C, 30°C dan 35°C masing-masing adalah 30 menit, 20 menit, 15 menit, 12 menit dan 8 menit.

Dari data hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa selama reaksi ozonasi terjadi depolimerisasi pada senyawa κ -karagenan. Terdapat kecenderungan bahwa kenaikan waktu ozonasi sampai batas tertentu menyebabkan kenaikan derajat depolimerisasi κ -karagenan. Di sisi lain, perlakuan ozonasi pada pH asam dan suhu yang rendah cenderung menurunkan berat molekul κ -karagenan. Untuk itu diperlukan proses optimasi agar diperoleh kondisi operasi yang sesuai untuk menghasilkan senyawa κ -karagenan dengan ukuran berat molekul tertentu.

4.3.4 Optimasi Depolimerisasi molekul κ -karagenan melalui Proses Ozonasi.

4.3.4.1. Optimasi dengan metode RSM

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kondisi optimum pada depolimerisasi κ -karagenan dengan perlakuan ozonasi. Rentang variabel yang digunakan untuk optimasi adalah waktu ozonasi (18-22 menit), pH (2-4) dan suhu (25-33°C). Respons dari proses ozonasi adalah % depolimerisasi κ -karagenan (% DK) dan % sulfat (% SF). Pada penelitian ini digunakan metode *full factorial design* untuk mengevaluasi pengaruh masing-masing variabel dan pengaruh interaksi antara satu variabel dengan variabel yang lain terhadap respons. Rentang variabel untuk batas bawah, batas tengah dan batas atas masing-masing diberikan kode sebagai (-1, 0 dan 1). Titik bintang (*star point*) terendah dan tertinggi ditambahkan untuk menghasilkan perkiraan lengkungan pada model matematika. Titik bintang dinyatakan sebagai $\alpha = 2^{(n/4)}$, dimana n adalah jumlah variabel atau faktor. Pada penelitian ini, rancangan variabel menggunakan model *Central Composite Design* (CCD) yang terdiri dari 3 faktor, 1 blok dan 16 run seperti disajikan pada Tabel 3.5. Tiga buah variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah waktu ozonasi (X_1), pH (X_2) dan suhu (X_3). Untuk perhitungan statistika, variabel X_i diberikan kode sebagai x_i sesuai persamaan berikut:

$$X_i = (x_i - x_0)/\delta x \quad (4.3)$$

Di mana X_i adalah variabel tak berdimensi dari variabel i , x_i adalah nilai asli dari variabel i , x_0 adalah nilai x_i pada titik pusat, dan δx adalah rentang variabel. Hasil perhitungan dengan metode RSM menghasilkan persamaan polinomial orde 2. Persamaan tersebut digunakan untuk memprediksi pengaruh

variabel eksperimen dan interaksinya terhadap respons variabel, seperti disajikan pada Persamaan 4.4.

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{j=1}^3 \beta_j x_j + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^3 \beta_{jj} X_j^2 \quad (4.4)$$

Y_i adalah hasil prediksi dari respons, sedangkan β_0 , β_j , β_{ij} dan β_{jj} adalah koefisien regresi (Vuong dkk., 2011). Pada penelitian ini akan diamati pengaruh tiga variabel yaitu waktu, pH dan suhu ozonasi selama proses depolimerisasi terhadap respons derajat depolimerisasi dan kadar sulfat κ -karagenan. Analisis statistika dilakukan dengan bantuan program Statistika 6. Analisis tersebut juga meliputi *F-test* (*Fisher-test*) untuk mengetahui signifikansi keseluruhan model yang dihubungkan dengan peluang $p(F)$. Hasil koefisien korelasi atau R menunjukkan kedekatan antara data eksperimen dengan hasil model regresi. Optimasi depolimerisasi κ -karagenan diteliti untuk memperoleh respons κ -karagenan dengan ukuran berat molekul rendah (% depolimerisasi tinggi) dan kadar sulfat yang tinggi. Hubungan antara data percobaan dan prediksi dari 16 tempuhan percobaan disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1: Rancangan variabel dengan metode CCD terhadap respons % depolimerisasi dan kadar sulfat karagenan

Tempuhan	Variabel <i>independent</i>			Variabel <i>dependent</i>		% kesalahan	Variabel <i>dependent</i>		% kesalahan
	Waktu (menit)	pH	Suhu (°C)	Y _{DK} Eksp. (%)	Y _{DK} Prediksi (%)		Y _{SF} Eksp. (%)	Y _{SF} Prediksi (%)	
1	18,0	2,0	25	89,61	89,85	0,27	11,52	11,60	0,69
2	18,0	2,0	33	86,11	84,33	2,06	11,29	11,31	0,17
3	18,0	4,0	25	89,18	86,10	3,45	11,48	11,39	0,78
4	18,0	4,0	33	81,72	80,79	1,14	11,11	11,11	0,00
5	22,0	2,0	25	73,82	73,99	0,23	10,29	10,48	1,85
6	22,0	2,0	33	77,77	80,09	2,98	10,54	10,83	2,75
7	22,0	4,0	25	82,16	83,18	1,24	11,12	11,29	1,53
8	22,0	4,0	33	90,49	89,49	1,10	11,54	11,65	0,95
9	20,0	3,0	29	92,25	92,30	0,05	12,12	12,00	0,99
10	16,5	3,0	29	79,53	82,48	3,71	10,91	11,01	0,92
11	23,5	3,0	29	77,77	76,20	2,02	10,81	10,49	2,96
12	20,0	1,2	29	75,58	73,98	2,12	10,53	10,23	2,85
13	20,0	4,8	29	77,77	79,07	1,67	10,84	10,77	0,65
14	20,0	3,0	22	93,12	92,80	0,59	12,31	12,20	0,89
15	20,0	3,0	36	92,25	93,50	0,41	12,42	12,27	1,21
16	20,0	3,0	29	92,25	92,30	0,05	11,89	12,00	0,92

Keterangan: Y_{DK} Eksp: Depolimerisasi κ-Karagenan dari Percobaan

Y_{SF} Eksp: Kadar Sulfat κ-Karagenan dari Percobaan

Y_{DK} Prediksi: Depolimerisasi κ-Karagenan dari Prediksi

Y_{SF} Prediksi: Kadar Sulfat κ-Karagenan dari Prediksi

Data pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa respons % depolimerisasi κ -karagenan (DK) tertinggi adalah 93,12% pada tempuhan percobaan ke 14, dengan kondisi waktu ozonasi 20 menit, pH 3 dan suhu ozonasi 22°C. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan nilai prediksi (92,80%) dengan presentase kesalahan 0,59%. Persamaan polinomial orde 2 yang menjelaskan hubungan antara variabel waktu ozonasi (X_1), pH (X_2) dan suhu (X_3) terhadap respons depolimerisasi κ -karagenan (Y_{DK}) disajikan pada Persamaan 4.5 sedangkan respons kadar sulfat (Y_{SF}) disajikan pada Persamaan 4.6.

$$Y_{DKprediksi} = 92,30 + 6,47X_1 - 2,82X_2 - 3,58X_3 + 0,40X_1X_2 + 0,55X_1X_3 - 0,10X_2X_3 - 5,81X_1^2 - 9,73X_2^2 - 8,46X_3^2 \quad (4.5)$$

$$Y_{SFprediksi} = 11,990,29X_1 + 0,30X_2 + 0,03X_3 + 0,51X_1X_2 + 0,31X_1X_3 - 0,01X_2X_3 - 0,81X_1^2 - 0,91X_2^2 + 0,16X_3^2 \quad (4.6)$$

Data hasil percobaan ini didukung dengan analisis ANOVA yang akan mengevaluasi keakuratan data hasil penelitian. Analisis ANOVA diperlukan untuk mengetahui diterima atau tidaknya suatu model matematika yang dihasilkan. Tabel 4.2 menyajikan hasil analisis ANOVA pada depolimerisasi κ -karagenan dengan respons derajat depolimerisasi dan kadar sulfat.

Tabel 4.2: Hasil Analisis ANOVA terhadap respons depolimerisasi κ -karagenan

Parameter	SS	dF	MS	F value	F _{0,05} tabel	R ²
ANOVA Derajat Depolimerisasi						
SS_{reg}	671,66	9	74,62	12,19	4,10	0,95
SS_{error}	36,70	6	6,12			
SS_{total}	708,36					
ANOVA Kadar Sulfat						
SS_{reg}	5,88	9	0,65	9,55	4,10	0,93
SS_{error}	0,41	6	0,068			
SS_{total}	6,29					

Nilai F -value untuk regresi didefinisikan sebagai MS_{reg}/MS_{res} . Nilai MS_{reg} diperoleh dari nilai *sum of square* (SS) dibagi jumlah derajat kebebasan atau *degree of freedom* (dF). MS_{res} adalah nilai kuadrat rata-rata dari data residu. F -value menunjukkan pengaruh variabel terhadap model, dengan hipotesis H_0 (tidak ada pengaruh variabel terhadap model) dan H_1 (ada pengaruh variabel terhadap model). Pada penelitian ini nilai F dari perhitungan (F_{model}) untuk respons % depolimerisasi adalah 12,19 dan nilai F dari perhitungan (F_{model}) untuk respons % kadar sulfat adalah 9,55. Nilai tersebut lebih tinggi daripada nilai F_{tabel} ($F_{0,05} = 4,10$), sehingga H_0 dapat diabaikan dan variabel x_i memiliki pengaruh terhadap depolimerisasi κ -karagenan.

Keakuratan dari model dapat dianalisis dari nilai koefisien regresi (R^2). Koefisien (R^2) merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai sejauh mana kedekatan nilai data eksperimen dan prediksi respons untuk respons % depolimerisasi (Aksoy *et al.*, 2016; Regti *et al.*, 2017). Berdasarkan analisis varian nilai koefisien R^2 pada penelitian ini untuk respons adalah % depolimerisasi 0,95. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat 95% kesesuaian antara data % depolimerisasi data eksperimen dan prediksi. Analisis varian nilai koefisien R^2 untuk respons % kadar sulfat adalah 0,93, sehingga menunjukkan bahwa terdapat 93% kesesuaian antara data eksperimen dan prediksi untuk respons % kadar sulfat.

4.3.5. Signifikansi Model

Untuk mengetahui pengaruh signifikansi terhadap model matematika yang diperoleh pada Persamaan 4.5 dan 4.6, maka dilakukan uji signifikansi model dengan ketelitian hingga 95%. Analisis nilai F (F -value) digunakan untuk mengetahui signifikansi keseluruhan model depolimerisasi dengan respons derajat depolimerisasi dan kadar sulfat κ -karagenan. Tabel 4.3 menunjukkan signifikansi koefisien regresi dari model depolimerisasi κ -karagenan dengan ozonasi dengan respons derajat depolimerisasi dan kadar sulfat.

Tabel 4.3. Analisis regresi dan nilai signifikansi terhadap respons depolimerisasi κ -karagenan dan kadar sulfat

Paramet er	Vari abel	% Depolimerisasi Karagenan			Kadar Sulfat		
		Koefisien	t- value	p- value	Koefisi en	t- value	p-value
β_0		92,303	52,83 6	0,000	11,992	65,09 1	0,000
β_1	X_1	6,470	3,699	0,010 <	-0,293	-	0,048<
β_1^2	X_1^2	5,810	3,321	0,016 <	-0,807	2,121	0,002<
β_2	X_2	-2,826	-	0,047<	0,303	4,998	0,036<
β_2^2	X_2^2	-9,735	-6,358	0,001 <	-0,919	2,192	0,001<
β_3	X_3	-3,583	-2,732	0,034 <	0,037	-	0,797
β_3^2	X_3^2	-8,466	-5,529	0,001 <	0,160	0,268	0,358
β_{12}	$X_1 X_2$	0,401	0,306	0,769	0,512	0,993	0,032<
β_{13}	$X_1 X_3$	0,556	0,363	0,729	0,317	2,778	0,135
β_{23}	$X_2 X_3$	-0,105	-	0,954	0,007	1,721	0,968
			0,060			0,041	

Model dapat dinyatakan sangat signifikan apabila mempunyai nilai probabilitas ($p \leq 0,05$). Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa fungsi linier dari waktu (X_1), pH (X_2) dan suhu ozonasi (X_3) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respons depolimerisasi κ -karagenan ($p \leq 0,05$). Demikian juga fungsi kuadrat dari waktu (X_1^2), pH (X_2^2) dan suhu ozonasi (X_3^2). Disisi lain, semua interaksi antara variabel yaitu waktu-pH ($X_1 X_2$), waktu-suhu ($X_1 X_3$) serta pH-suhu ($X_2 X_3$) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap % depolimerisasi κ -karagenan. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa fungsi linier dari waktu (X_1) dan pH (X_2) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respons kadar sulfat κ -karagenan dengan nilai ($p \leq 0,05$). Demikian juga fungsi kuadrat dari waktu (X_1^2) dan pH (X_2^2). Disisi lain, suhu ozonasi (X_3) dan fungsi kuadrat suhu (X_3^2) serta interaksi antara variabel yaitu waktu-suhu ($X_1 X_3$) serta pH-suhu ($X_2 X_3$) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar sulfat κ -karagenan.

Data analisis regresi yang disajikan pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa variabel waktu, pH dan suhu ozonasi berpengaruh terhadap respons % depolimerisasi κ -karagenan. Pengaruh tersebut digambarkan sebagai fungsi linier, kuadratik dan interaksi variabel. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fungsi linier dari variabel waktu ozonasi memberikan respons positif terhadap % depolimerisasi κ -karagenan. Penambahan waktu ozonasi cenderung meningkatkan % depolimerisasi κ -karagenan. Di sisi lain, variabel pH dan suhu ozonasi memberikan respons negatif terhadap % depolimerisasi κ -karagenan.

Hasil analisis RSM dengan respons % depolimerisasi κ -karagenan ini memiliki korelasi dengan hasil penelitian yang dijabarkan di atas. Pada proses ozonasi terjadi pemutusan ikatan glikosidik pada κ -karagenan. Peningkatan waktu ozonasi akan memperpanjang waktu kontak antara gas ozon dengan κ -karagenan sehingga lebih banyak produk yang memiliki ukuran berat molekul rendah. Pada perlakuan waktu ozonasi 18 menit, pH 4, suhu 33°C menghasilkan derajat depolimerisasi κ -karagenan 81,72%. Sedangkan perlakuan ozonasi pada pH 4, suhu 33°C selama 22 menit mencapai depolimerisasi κ -karagenan sebesar 90,49%.

Pada variasi pH, perlakuan ozonasi pH 2, waktu 18 menit dan suhu 33°C menghasilkan derajat depolimerisasi κ -karagenan sebesar 86,11%. Pada waktu dan suhu ozonasi yang sama, derajat depolimerisasi κ -karagenan turun jika ozonasi dilakukan pada pH 4 menjadi 81,72%. Perlakuan ozonasi sebaiknya dilakukan pada kondisi asam karena dengan pemberian waktu dan suhu ozonasi yang sama menghasilkan derajat depolimerisasi κ -karagenan yang lebih tinggi. Proses ozonasi pada pH rendah akan memicu pemutusan ikatan glikosidik pada polisakarida sehingga terbentuk gugus karbonil dan karboksil (Kabal'nova *et al.*, 2000; Seo *et al.*, 2007; Klein *et al.*, 2014). Penurunan pH cenderung mempercepat reaksi depolimerisasi, karena pada pH rendah keberadaan ozon di dalam sistem lebih stabil dibandingkan pH tinggi (Beltran., 2005). Reaksi pemutusan rantai polisakarida menjadi lebih selektif jika ozonasi dilakukan pada pH rendah (Kabal'nova *et al.*, 2000; Roncero *et al.*, 2012).

Perlakuan ozonasi pada suhu rendah meningkatkan respons depolimerisasi, karena ozonasi pada suhu rendah meningkatkan waktu tinggal ozon di dalam sistem. Pada penelitian ini, perlakuan ozonasi pada suhu 25°C, pH 2 dan waktu 18 menit menghasilkan depolimerisasi κ -karagenan 89,61%. Pada perlakuan suhu 33 °C dengan pengaturan kondisi pH dan waktu ozonasi yang sama hanya mencapai depolimerisasi κ -karagenan sebesar 86,11%. Kenaikan suhu mengakibatkan penurunan depolimerisasi κ -karagenan, sehingga reaksi ozonasi sebaiknya dilakukan pada suhu yang tidak terlalu tinggi. Namun, perlakuan suhu yang terlalu rendah akan menimbulkan pembentukan gel dari larutan κ -karagenan sehingga reaksi ozonasi tidak efektif. Hal ini dibuktikan dengan nilai negatif untuk efek kuadratik dari variabel suhu (X_3). Jika fungsi kuadratik variabel tertentu melebihi nilai yang optimal, akan menyebabkan nilai penolakan terhadap perlakuan kondisi operasi tersebut.

Pada penelitian ini, terdapat korelasi pengaruh variabel waktu, pH dan suhu ozonasi terhadap kadar sulfat pada κ -karagenan. Peningkatan waktu ozonasi akan memperpanjang waktu kontak sehingga lebih banyak sulfat yang terlepas dari ikatan galaktosa 4 sulfat pada κ -karagenan. Pada perlakuan waktu ozonasi 18 menit, pH 2, suhu 25°C kadar sulfat pada κ -karagenan adalah 11,52%. Sedangkan perlakuan ozonasi pada pH 2, suhu 25°C selama 22 menit kadar sulfat pada κ -karagenan menjadi 10,29%.

Semakin rendah pH ozonasi maka semakin turun kadar sulfat pada κ -karagenan. Perlakuan ozonasi pH 4, waktu 22 menit dan suhu 25°C, kadar sulfat pada κ -karagenan sebesar 11,12%. Pada perlakuan ozonasi pH 2 dengan waktu dan suhu ozonasi yang sama, kadar sulfat pada κ -karagenan turun menjadi 10,29%. Untuk mendapatkan kadar sulfat yang tinggi pada κ -karagenan, perlakuan ozonasi sebaiknya dilakukan pada kondisi basa sehingga tidak banyak sulfat yang hilang. Proses ozonasi pada pH rendah akan memicu pemutusan ikatan galaktosa 4 sulfat pada κ -karagenan (Karlsson *et al.*, 1999).

Perlakuan ozonasi pada suhu tinggi dapat menaikkan kadar sulfat pada κ -karagenan, karena pada suhu tinggi kelarutan ozon menurun sehingga tidak banyak ozon yang bereaksi untuk

memutus ikatan galaktosa 4 sulfat pada κ -karagenan. Pada penelitian ini, perlakuan ozonasi pada suhu 25°C, pH 2 dan waktu 22 menit menghasilkan κ -karagenan 10,29%. Pada perlakuan suhu 33 °C dengan pengaturan kondisi pH dan waktu ozonasi yang sama kadar sulfat pada κ -karagenan turun menjadi 10,54%.

4.3.6. Validasi Model

Analisis ANOVA juga dapat digunakan untuk mendapatkan kondisi operasi yang optimal pada ozonasi κ -karagenan untuk menghasilkan KBMR dengan % depolimerisasi dan kadar sulfat yang tinggi. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa kondisi operasi optimum diprediksi terjadi pada waktu ozonasi 19,7 menit, pH 3,1 dan suhu 29°C dengan respons depolimerisasi κ -karagenan sebesar 92,49% dan kadar sulfat 12,01%. Prediksi ini selanjutnya diuji ulang dengan melakukan eksperimen seperti disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4: Validasi nilai eksperimen dan prediksi

Tem puh an	Faktor		Nilai Respons			Kesalah an (%)	Nilai Respons		Kesalahan (%)
			Suh u (°C)	Y _{DK} Eksp. (%)	Y _{DK} Prediksi (%)		Y _{SF} Eksp. (%)	Y _{SF} Prediksi (%)	
1	19,7	3,1	29	89,57	92,49	3,96	11,89	12,01	1,09
2	19,7	3,1	29	90,53	92,49	2,04	12,31	12,01	2,43
3	19,7	3,1	29	87,65	92,49	4,96	11,52	12,01	4,25
Rata-rata						3,65	Rata-rata		2,59

Keterangan:

Y_{DK} Eksp: Depolimerisasi κ -Karagenan dari Percobaan

Y_{SF} Eksp: Kadar Sulfat κ -Karagenan dari Percobaan

Y_{DK} Prediksi: Depolimerisasi κ -Karagenan dari Prediksi

Y_{SF} Prediksi: Kadar Sulfat κ -Karagenan dari Prediksi

Validitas nilai prediksi terhadap data eksperimen dengan respons derajat depolimerisasi κ -karagenan dan kadar sulfat disajikan pada Tabel 4.5. Persentase kesalahan antara data eksperimen dan data prediksi terhadap respons depolimerisasi κ -karagenan antara 2,04 – 4,96%. Persentase kesalahan antara data eksperimen dan data prediksi terhadap respons kadar sulfat κ -karagenan antara 1,09 - 4,25 %. Hal ini membuktikan bahwa model statistika sesuai untuk memprediksi kondisi eksperimen yang optimal pada depolimerisasi κ -karagenan

dengan ozon untuk menghasilkan produk KBMR dengan ukuran berat molekul rendah dan kadar sulfat yang tinggi.

Beberapa penelitian terdahulu menyatakan bahwa κ -karagenan yang terdepolimerisasi dilaporkan memiliki aktivitas sebagai anti koagulan (Yamada *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2010), anti tumor (Myslabodski *et al.* 1996; Haijin *et al.*, 2003; Yao *et al.*, 2014), anti virus (Navvaro *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2012; Kalitnik *et al.*, 2013), promotor kultur jaringan (Relleve *et al.*, 2005; Abad *et al.*, 2009). Myslabodski *et al.* (1996) menyatakan bahwa depolimerisasi κ -karagenan pada kondisi asam menghasilkan KBMR yang bermanfaat sebagai anti tumor dengan ukuran berat molekul 23 kDa. Yamada *et al.* (2000) menyatakan bahwa depolimerisasi κ -karagenan berbantu ultrasonik menghasilkan KBMR dengan ukuran berat molekul 20-30 kDa yang bermanfaat sebagai anti koagulan. Peneliti terdahulu menyatakan bahwa kadar sulfat KBMR antara 8,98-12,95% bermanfaat sebagai anti tumor, anti koagulan dan anti oksidan (Yamada *et al.*, 2000, Haijin *et al.*, 2003, Abad *et al.*, 2009).

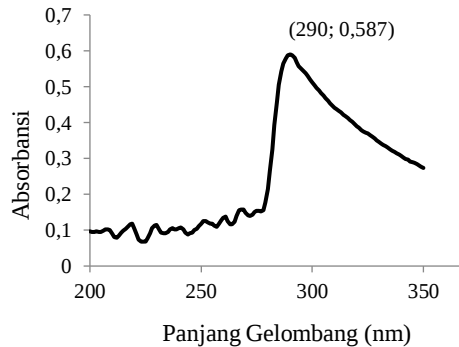
Produk KBMR yang bermanfaat sebagai bahan baku untuk obat dan farmasi adalah berat molekul < 30 kDa dan kadar sulfat antara 8,98-12,95%. Pada penelitian ini, perlakuan ozonasi pada kondisi optimum yaitu waktu ozonasi 19,7 menit, pH 3,1 dan suhu 29°C menghasilkan respons depolimerisasi κ -karagenan sebesar 92,49 % (21 kDa) dan kadar sulfat 12,01%. Produk KBMR memenuhi spesifikasi sebagai bahan baku obat dan farmasi khususnya untuk anti koagulan, anti tumor, anti oksidan, anti infeksi, anti imunodulasi, anti inflamasi.

4.3.7 Analisis Fisikokimia

4.3.7.1. Analisis Spektrum UV-Vis

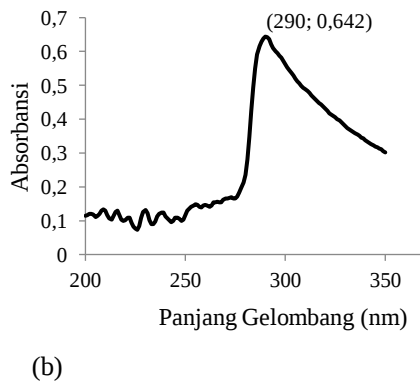
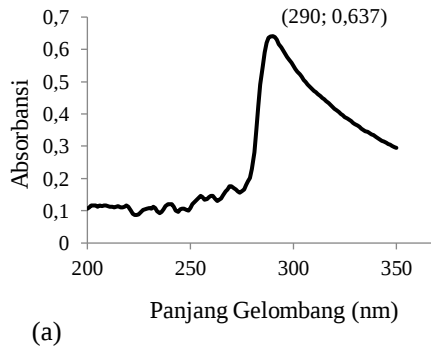
Reaksi depolimerisasi κ -karagenan dengan ozonasi menghasilkan polisakarida dengan ukuran berat molekul yang lebih rendah dan terbentuk produk berikatan rangkap seperti gugus karbonil, karboksil atau produk lain. Pada penelitian ini, perubahan gugus fungsional pada reaksi depolimerisasi dengan ozonasi diuji dengan spektrum UV-Vis dan FT-IR. Gambar

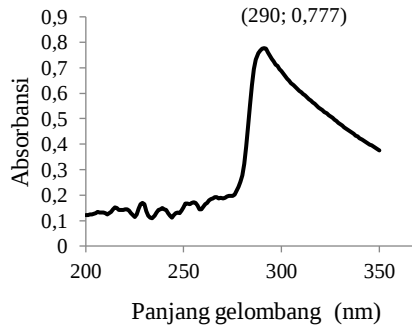
4.6 menunjukkan hasil analisis spektrum UV-Vis pada κ -karagenan tanpa ozonasi.



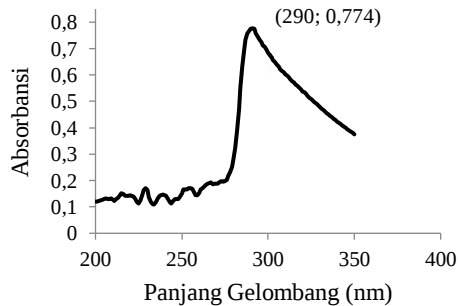
Gambar 4.6: Spektrum UV-Vis pada larutan κ -karagenan tanpa ozonasi

Data spektrum UV-Vis menunjukkan bahwa sebelum ozonasi telah terjadi pemutusan ikatan glikosidik karena proses hidrolisis pada pelarutan sampel κ -karagenan. Hal ini ditunjukkan telah terjadinya kenaikan puncak absorbansi pada panjang gelombang 290 nm. Sebelum ozonasi, nilai intensitas absorbansi κ -karagenan masih rendah, yaitu sebesar 0,587. Setelah perlakuan ozonasi pada pH 10 selama 20 menit, terjadi peningkatan nilai absorbansi menjadi 0,777. Setelah perlakuan ozonasi terjadi peningkatan pembentukan produk yang memiliki ikatan rangkap, sehingga nilai intensitas absorbansinya semakin tinggi. Pada penelitian terdahulu, kenaikan intensitas absorbansi pada panjang gelombang 290 nm menunjukkan terbentuknya produk berikatan rangkap pada depolimerisasi ekstrak rumput laut coklat yaitu alginat (Nagasawa *et al.* 1999) dan laminarin (Choi *et al.* 2011). Data hasil analisis UV-Vis larutan κ -karagenan pada berbagai waktu ozonasi dengan perlakuan pada pH 10 disajikan pada Gambar 4.7.





(c)



(d)

Gambar 4.7: Spektrum UV-Vis larutan κ -karagenan setelah ozonasi pada pH 10 (a) 5 menit (b) 10 menit (c) 15 menit (d) 20 menit

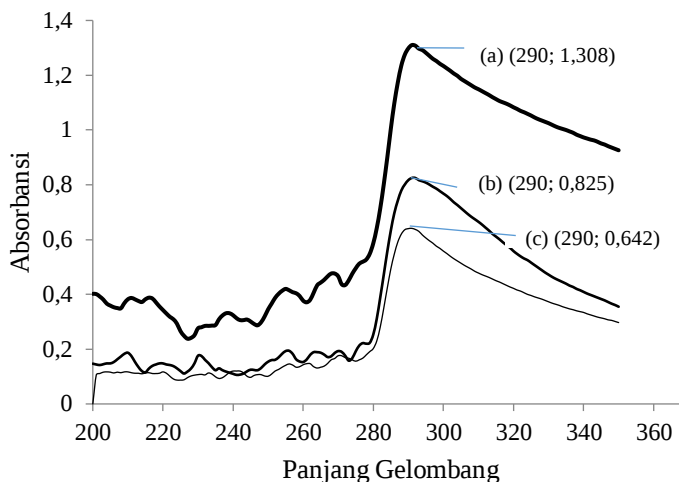
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai intensitas absorbansi pada panjang gelombang 290 nm untuk larutan κ -karagenan setelah ozonasi selama waktu 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 20 menit masing-masing adalah 0,637; 0,642; 0,774 dan 0,777. Setelah ozonasi selama 10 menit terjadi kenaikan produk berikatan rangkap yang signifikan ditandai dengan kenaikan intensitas radiasi yang cukup tinggi dari 0,642 menjadi 0,774. Namun setelah 15 menit ozonasi, kenaikan

produk tersebut tidak terlalu tinggi yang ditandai dengan intensitas absorbansi yang cenderung konstan, yaitu dari 0,774 menjadi 0,777.

Fenomena yang sama ditunjukkan oleh beberapa peneliti terdahulu, diantaranya adalah Nagasawa *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa pada terjadi perubahan warna alginat dari terang menjadi coklat tua yang disebabkan oleh paparan ozon. Perubahan warna ini menunjukkan pembentukan ikatan ganda dalam cincin piranosa karena terjadinya depolimerisasi pada alginat. Perubahan warna dapat diamati dan ditandai dengan kenaikan nilai serapan absorbansi spektrum UV pada panjang gelombang 290 nm. Intensitas puncak serapan spektrum UV meningkat seiring dengan meningkatnya dosis ozonasi. Hal ini dapat dijelaskan bahwa terjadi peningkatan jumlah ikatan ganda pada alginat sebagai akibat pemutusan rantai utama hidrokarbon pada polisakarida. Pembentukan ikatan rangkap ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari jernih menjadi agak kekuningan. Pemberian ozon dalam waktu yang lebih lama akan mengubah warna menjadi jernih kembali (*decolorization*) karena terjadinya reaksi pemutusan kembali ikatan rangkap yang terbentuk. Kim *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa kenaikan nilai absorbansi *hyaluronic acid* setelah diberikan perlakuan dengan radiasi sinar gamma. Choi *et al.* (2011) meneliti tentang kemungkinan terjadinya perubahan struktural pada laminarin (alga coklat) setelah perlakuan radiasi. Radiasi sinar gamma akan memutus ikatan polisakarida laminarin sehingga menambah jumlah gugus karbonil dan karboksil yang berikatan rangkap. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya nilai pengukuran absorbansi dengan spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 290 nm.

Beberapa peneliti terdahulu menyatakan bahwa pH berpengaruh terhadap reaksi ozonasi. Pada penelitian ini dilakukan ozonasi larutan κ -karagenan dalam waktu 10 menit dengan konsentrasi ozon 80 ± 2 ppm. pH ozonasi diatur pada kondisi pH 3, 7 dan 10. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaturan pH larutan κ -karagenan selama proses ozonasi sangat berpengaruh terhadap hasil analisis spektrum

UV-Vis. Data analisis UV-Vis hasil ozonasi larutan κ -karagenan pada berbagai pH disajikan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8: Spektrum UV-Vis hasil ozonasi larutan κ -karagenan pada berbagai pH: (a) pH 3 (b) pH 7 (c) pH 10

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada pH asam lebih banyak pemotongan ikatan glikosidik yang menyebabkan terbentuknya ikatan rangkap pada larutan κ -karagenan. Proses pembentukan ikatan rangkap ini berpotensi meningkatkan intensitas absorbansi. Nilai intensitas absorbansi pada panjang gelombang 290 nm untuk larutan larutan κ -karagenan yang diozonasi pada pH 3, 7 dan 10 masing-masing adalah 1,308; 0,825 dan 0,642. Ozonasi pada pH asam cenderung memberikan nilai intensitas absorbansi yang lebih tinggi, yang menunjukkan ikatan rangkap yang terbentuk lebih banyak dibandingkan ozonasi pada pH basa dan netral. Hasil uji UV-Vis ini memiliki kecenderungan yang sama dengan analisis gugus fungsional dengan FT-IR. Setelah proses ozonasi terjadi kenaikan puncak intensitas absorpsi spektrum FT-IR larutan κ -karagenan pada angka gelombang

1637 cm^{-1} yang membuktikan terbentuknya ikatan rangkap (C=O).

4.3.7.2. Analisis FT-IR

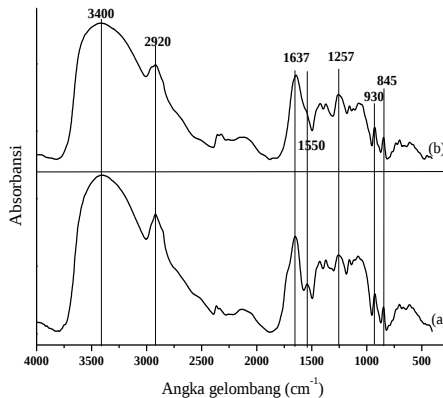
Pada umumnya polisakarida yang termasuk golongan karbohidrat menunjukkan absorbansi tinggi pada wilayah angka gelombang 1270–600 cm^{-1} . Wilayah ini biasa disebut sebagai wilayah “*finger print*”. Posisi dan intensitas pita absorbansi adalah spesifik untuk masing-masing polisakarida dan mengikuti identifikasi sesuai rentang angka gelombang. Penjelasan secara lebih lengkap tentang daerah pita absorbansi dan gugus fungsi κ -karagenan disajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Rentang pita absorpsi spektrum FT-IR pada κ -karagenan

Absorpsi (cm^{-1})	Gugus Fungsional
3600-3000	O-H (<i>stretching</i>)
3000-2800	C-H(<i>stretching</i>)
1670-1620	C=O
1645-1640	<i>Polymer bound water</i>
1380-1355	<i>Sulphates (stretching)</i>
1380-1370	<i>Methylene group (bending)</i>
1270-1230	O=S=O (<i>asymmetric stretching</i>)
1190	S=O(<i>asymmetric stretching</i>)
1160-1155	C-O-C (<i>asymmetric stretching</i>)
1126	<i>Glycosidic bonds (asymmetric stretching)</i>
1080-1040	<i>Combination C-O and C-OH</i>
1040	<i>C-OH and S=O</i>
1080-1010	<i>Glycosidic linkage</i>
933-928	C-O-C (3,6 <i>anhydro-D-galactose</i>)
900-890	<i>C6 group in β-D-galactose</i>
850-840	C4-O-S in <i>galactose (stretching)</i>
740-725	C-O-C α (1,3) (<i>stretching</i>)
615-608	O=S=O (<i>bending</i>)
578	O=S=O (<i>bending</i>)

Hasil identifikasi dengan spektrum FT-IR untuk κ -karagenan memperlihatkan pita absorpsi yang spesifik dengan wilayah angka gelombang antara 1270-1230 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus O=S=O (ester sulfate). Absorpsi pada 928-933 cm^{-1} menunjukkan terjadinya penggabungan rantai C-O membentuk ikatan C-O-C (3,6 anhidro D-galaktosa). Posisi gugus sulfat dalam cincin galaktosa yang terikat atom C4 ditunjukkan pada rentang 840–850 cm^{-1} . Intensitas absorpsi pada angka gelombang 1637 cm^{-1} menunjukkan terbentuknya ikatan rangkap (C=O).

Hasil spektrum FT-IR pada κ -karagenan sebelum dan setelah ozonasi disajikan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9: Spektrum FT-IR pada κ -karagenan (a) sebelum ozonasi (b) setelah ozonasi

Hasil uji spektra FT-IR pada rentang 3000-3600 cm^{-1} , menunjukkan bahwa sampel karagenan sebelum ozonasi memiliki intensitas absorpsi lebih tinggi daripada sampel karagenan setelah ozonasi. Penelitian yang dilakukan oleh Venegas *et.al.* (2013) tentang proses ultrasonikasi karagenan juga menunjukkan hasil yang sama. Terjadi penurunan intensitas absorpsi pada spektrum FT-IR pada rentang 3000-3600 cm^{-1} karena terjadinya pemutusan rantai hidrogen dari

senyawa H_2O di dalam larutan karagenan dan selanjutnya melakukan re-distribusi ke dalam gugus OH.

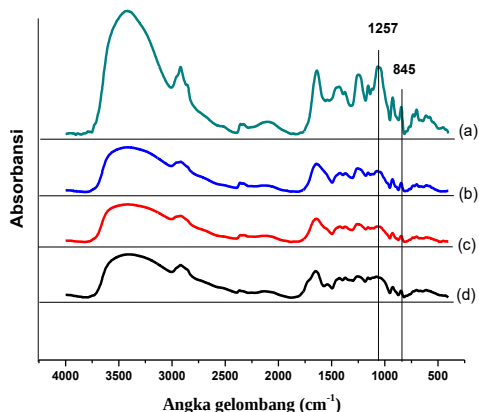
Setelah proses ozonasi terjadi peningkatan gugus yang mengandung ikatan rangkap pada κ -karagenan, yang ditunjukkan dengan peningkatan luas area spektrum FT-IR pada angka gelombang antara $1620\text{--}1670\text{ cm}^{-1}$. Kenaikan puncak intensitas absorpsi pada angka gelombang 1637 cm^{-1} menunjukkan terbentuknya ikatan rangkap ($\text{C}=\text{O}$). Pada penelitian ini intensitas spektrum FT-IR κ -karagenan sebelum ozonasi adalah 0,1085 dan sesudah ozonasi adalah 0,1909. Perbedaan pembentukan puncak terjadi pada angka gelombang sekitar 1550 cm^{-1} , yaitu hilangnya puncak absorpsi pada κ -karagenan sesudah ozonasi. Perbedaan tersebut disebabkan variasi oksigen yang terkandung pada hasil fragmen karagenan yang dioksidasi. Hasil ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian tentang ozonasi kitosan yang dilakukan oleh Kabal'nova *et al.* (2000). Setelah reaksi oksidasi kitosan dengan H_2O_2 terjadi perbedaan puncak spektrum FT-IR pada angka gelombang 1566, 1580 dan 1630 cm^{-1} yang menunjukkan jumlah oksigen yang terkandung pada produk hasil ozonasi.

Beberapa peneliti menyatakan bahwa keberadaan gugus sulfat mempunyai arti penting pada aktivitas biologi senyawa KBMR. Pada penelitian ini, hasil spektrum FT-IR menunjukkan bahwa tidak terjadi kehilangan gugus sulfat pada κ -karagenan sesudah ozonasi. Puncak absorpsi terjadi pada 1257 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus ester sulfat ($\text{S}=\text{O}$) dan 845 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan $\text{C}-\text{O}-\text{S}$ sebagai ikatan aksial sulfat sekunder pada C-4 galaktosa. Selain itu, kenaikan pada pita absorpsi 930 cm^{-1} menunjukkan karakteristik ikatan $\text{C}-\text{O}$ dari 3,6-anhydro-D-galaktosa (Gambar 4.8.b). Karakterisasi spektrum FT-IR tersebut mengindikasikan bahwa tidak terjadi perubahan gugus fungsional pada κ -karagenan setelah perlakuan ozonasi dan gugus sulfat masih terkandung dalam senyawa KBMR. Seperti yang dilaporkan Prasetyaningrum *et al.*, 2017 dalam penelitiannya mengenai pengaruh ozonasi terhadap sifat psikokimia dan reologi dari κ -karagenan. Melaporkan bahwa tidak ada perubahan yang signifikan terhadap struktur kimia

dan gugus fungsi yang terdapat pada κ -karagenan setelah proses ozonasi.

Hasil spektrum FT-IR menunjukkan keberadaan gugus sulfat pada KBMR setelah reaksi ozonasi pada berbagai pH. Sulfat yang terkandung pada senyawa κ -karagenan diidentifikasi dari gugus ester sulfat pada angka gelombang 1270-1230 cm^{-1} dan galaktosa 4-sulfat pada rentang 840-850 cm^{-1} . Hal ini ditunjukkan dengan nilai intensitas puncak absorbansi pada angka gelombang 1257 cm^{-1} yang mewakili keberadaan gugus ester sulfat pada pH 10, pH 7 dan pH 3 masing-masing adalah 0,1925; 0,1750 dan 0,1481. Sedangkan nilai intensitas puncak absorbansi pada angka gelombang 845 cm^{-1} yang mewakili keberadaan gugus galaktosa 4-sulfat pada pH 10, pH 7 dan pH 3 masing-masing adalah 0,0752; 0,0590 dan 0,0526. Jika dilihat dari hasil spektrum FT-IR, masih terdapat senyawa sulfat pada κ -karagenan setelah proses ozonasi. Terdapat kecenderungan bahwa variasi pH selama ozonasi tidak memberikan perubahan secara signifikan pada penurunan kadar sulfat κ -karagenan.

Hasil spektrum FT-IR pada κ -karagenan sebelum dan setelah ozonasi pada berbagai pH disajikan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10. Spektrum FT-IR pada κ -karagenan (a) sebelum ozonasi (b) ozonasi pada pH 10 (c) ozonasi pada pH 7 (d) ozonasi pada pH 3

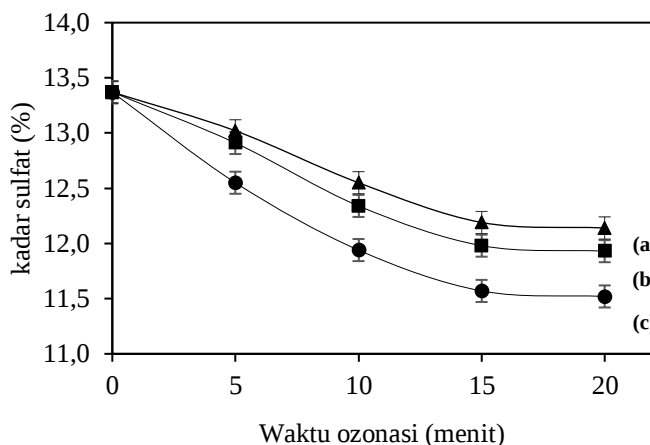
Beberapa peneliti juga memberikan data tentang kestabilan kadar sulfat pada senyawa κ -karagenan setelah proses depolimerisasi. Karlsson *et al.* (1999) menyatakan bahwa kandungan sulfat pada senyawa κ -karagenan relatif stabil setelah depolimerisasi dengan asam pada pH 2 dibandingkan dengan polisakarida sulfat yang lain. Relleve *et al.* (2009) menyatakan bahwa kadar sulfat pada senyawa κ -karagenan setelah proses iradiasi cenderung stabil dibandingkan ι dan λ karagenan. Prasetyaningrum *et al.* (2018) melaporkan bahwa κ karagenan setelah mengalami proses depolimerisasi menggunakan proses ozon juga menunjukkan masih stabilnya kandungan sulfat di dalam κ karagenan setelah perlakuan. Selanjutnya perlu diketahui berapa kadar sulfat yang masih terkandung pada senyawa κ -karagenan setelah proses ozonasi. Kadar sulfat κ -karagenan setelah ozonasi dapat ditentukan dengan beberapa metode diantaranya dengan metode gravimetri, spektrofotometri, turbidimetri dan instrument analisis yang lain. Pada penelitian ini penentuan kadar sulfat pada senyawa κ -karagenan setelah proses ozonasi dilakukan dengan cara gravimetri (*barium chloride gelatin method*) dan analisis komposisi senyawa pada KBMR dengan instrument EDX. Pada metode *barium chloride gelatin*, kadar sulfat dihitung berdasarkan data perbandingan antara endapan sulfat yang terbentuk terhadap berat sampel total, sedangkan perhitungan konsentrasi sulfat dengan instrument EDX berdasarkan perbandingan konsentrasi SO_3 terhadap senyawa lain yang dapat dideteksi.

4.3.8 Analisis Kadar Sulfat

4.3.8.1 Analisis *barium chloride gelatin*

Pada penelitian ini hasil analisis kadar sulfat pada κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi pada berbagai pH yang ditentukan dengan metode *barium chloride gelatin* disajikan pada Gambar 4.10. Kadar sulfat pada κ -karagenan sebelum ozonasi adalah $13,37 \pm 0,12\%$. Setelah 20 menit ozonasi dan perlakuan ozon pada pH 10, 7, dan 3 kadar sulfat

yang tersisa pada produk KBMR masing-masing adalah $12,14 \pm 0,25\%$, $11,93 \pm 0,19\%$ dan $11,52 \pm 0,27\%$. Perlakuan ozonasi pada berbagai pH tidak memberikan penurunan kadar sulfat secara signifikan. Kadar sulfat yang tersisa pada κ -karagenan setelah 20 menit ozonasi pada pH 10, 7 dan 3 masing-masing adalah 91%, 89% dan 86%.



Gambar 4.11: Kadar sulfat pada κ -karagenan setelah ozonasi pada (a) pH 10 (b) pH 7 (c) pH 3

Beberapa peneliti menyatakan bahwa proses depolimerisasi tidak memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan kadar sulfat pada κ -karagenan (Abad *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012; Kalitnik *et al.*, 2013). Abad *et al.* (2010) menyatakan bahwa κ -karagenan paling stabil terhadap desulfatasi selama depolimerisasi dengan radiasi jika dibandingkan ι dan λ karagenan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar sulfat yang tersisa setelah radiasi untuk κ -, ι - dan λ karagenan masing-masing adalah 90%, 83% dan 71%.

Karlsson *et al.* (1999) menyatakan bahwa hidrolisis κ -karagenan pada kondisi asam dalam waktu 2 jam tidak memberikan perubahan pada kadar sulfat κ -karagenan. Yuan

and Song (2005) menyatakan bahwa produk KBMR dengan kadar sulfat antara 8,98-12,95% bermanfaat sebagai anti tumor. Pada penelitian ini produk KBMR memiliki kadar sulfat antara 11,52-12,14%, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku obat dan farmasi. Sun *et al.* (2015) melakukan penelitian dengan membandingkan kadar sulfat pada κ -karagenan setelah proses depolimerisasi dengan H_2O_2 , hidrolisis enzimatik, hidrolisis reduktif secara parsial dan hidrolisis dengan HCl. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa kadar sulfat sebelum depolimerisasi adalah $15,66 \pm 0,30\%$. Setelah proses depolimerisasi dengan H_2O_2 , hidrolisis enzimatik, hidrolisis reduktif dan hidrolisis dengan HCl kadar sulfat κ -karagenan masing-masing adalah $15,47 \pm 0,43\%$, $15,27 \pm 0,35\%$, $15,55 \pm 0,16\%$, dan $11,87 \pm 0,51\%$.

Terdapat relevansi antara hasil analisis kadar sulfat pada produk KBMR dengan metode *barium chloride gelatin* dan FT-IR seperti dijabarkan pada Sub bab 4.4, yaitu proses depolimerisasi dengan ozonasi tidak memberikan perubahan secara signifikan pada penurunan kadar sulfat pada produk KBMR. Selanjutnya komposisi senyawa dan identifikasi kadar sulfat yang terkandung pada KBMR ditentukan dengan instrument *Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometer* (EDX) seperti disajikan pada Sub bab 4.4.8.2.

4.3.8.2. Analisis *Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometer* (EDX)

Komposisi senyawa organik maupun anorganik dapat ditentukan dengan bantuan instrument EDX. Prinsip kerja EDX didasarkan pada intensitas penyerapan sinar X pada panjang gelombang tertentu. Konsentrasi suatu senyawa berbanding lurus dengan intensitas penyerapan spektrum sinar X. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah proses ozonasi terdapat senyawa SO_3 pada KBMR dengan komposisi disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6: Data EDX (*Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometer*)

Senyawa	Komposisi (%)				Intensitas Spektrum EDX			
	Native	Ozonasi pH 3	Ozonasi pH 7	Ozonasi pH 10	Native	Ozonasi pH 3	Ozonasi pH 7	Ozonasi pH 10
SO ₃	41,68	55,25	43,50	51,33	15,98	18,45	17,13	17,62
K ₂ O	38,94	39,68	36,57	33,96	37,27	38,03	36,02	35,26
Cl	10,47	-	11,96	-	18,27	-	21,39	-
CaO	6,79	4,38	3,73	11,12	5,42	3,27	3,22	9,50
BaO	-	-	2,43	0,07	-	-	5,80	0,14
SiO ₂	1,63	-	1,05	1,49	0,07	-	0,05	0,06
Fe ₂ O ₃	0,33	0,31	0,47	1,11	6,42	5,73	9,63	21,40
ZnO	0,02	0,09	0,04	-	-	4,50	2,06	-
CuO	0,05	0,09	0,07	-	2,05	3,82	3,32	-
I	-	0,08	0,07	0,34	-	0,82	0,69	3,15
Br	0,04	0,06	0,04	0,05	4,08	5,37	4,12	4,81
Ag ₂ O	-	-	0,03	-	-	-	0,98	-
SrO	0,01	0,03	0,01	0,02	1,42	2,52	1,33	1,82
Co ₂ O ₃	-	0,02	-	-	-	0,55	-	-
CuO	-	-	-	0,08	-	-	-	3,23
ZnO	0,02	-	-	0,04	1,09	-	-	2,00
Cs ₂ O	-	-	-	0,28	-	-	-	0,55
NiO	-	-	0,02	0,02	-	-	0,76	0,81
Rb ₂ O	-	-	-	0,05	-	-	-	0,54
MnO	0,04	-	-	-	0,57	-	-	-

Reaksi oksidasi dengan ozon menyebabkan sebagian impuritas diantaranya adalah Cl⁻ banyak yang tereduksi, terutama pada pH 3 dan pH 10. Komposisi SO₃ pada κ -karagenan sebelum ozonasi adalah 41,68%. Setelah ozonasi komposisi SO₃ meningkat menjadi 55,25% untuk ozonasi pada pH 3; 43,50% untuk ozonasi pada pH 7 dan 51,33% untuk ozonasi pada pH 10.

Data hasil penelitian ini membuktikan bahwa κ -karagenan relatif stabil terhadap desulfatasi. Bahkan jika ditinjau dari komposisi senyawa KBMR total, maka reaksi ozonasi

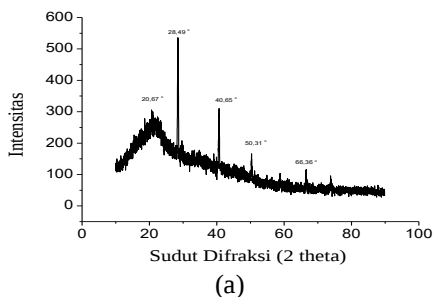
memberikan efek signifikan terhadap peningkatan kadar sulfat karena terjadinya depolimerisasi atau hilangnya senyawa lain akibat reaksi ozonasi. Terdapat perbedaan nilai kadar sulfat ada metode *barium chloride gelatin* dan analisis dengan EDX. Hal ini disebabkan analisis kadar sulfat dengan *barium chloride gelatin* dihitung berdasarkan data perbandingan antara endapan sulfat yang terbentuk terhadap berat sampel total, sedangkan perhitungan konsentrasi sulfat pada alat EDX dihitung berdasarkan perbandingan konsentrasi SO_3 terhadap senyawa lain yang dapat dideteksi oleh alat EDX.

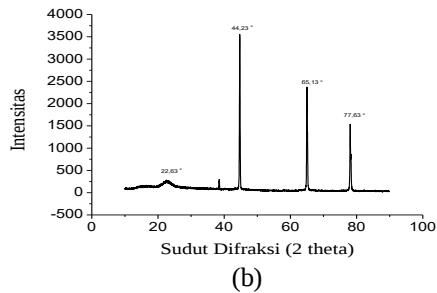
4.3.9. Analisis Morfologi

4.3.9.1. Analisis *X-Ray Diffraction* (XRD)

Karakterisasi dengan *X-Ray Diffraction* (XRD) dimaksudkan untuk mengidentifikasi sifat morfologi produk KBMR sebelum dan sesudah ozonasi. Pada penelitian ini digunakan peralatan XRD merk Shimadzu type XRD-7000 *X-Ray Diffractometer* Maxima. Tabung *X-Ray* dioperasikan pada 40 kV dan 30 mA.

Pola difraksi hasil XRD pada κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi disajikan pada Gambar 4.12.





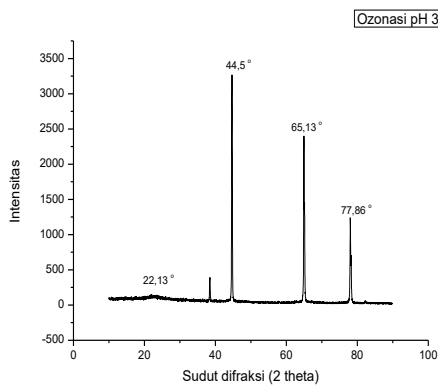
Gambar 4.12: Pola difraksi hasil XRD pada κ -karagenan: a) tanpa ozonasi b) dengan ozonasi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi perbedaan morfologi κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi. Pola difraksi sinar X dari κ -karagenan sebelum dan sesudah ozonasi disajikan pada Gambar 4.12. Pola difraksi κ -karagenan sebelum ozonasi menunjukkan puncak pada $20,67^0$; $28,49^0$; $40,65^0$; $50,31^0$ dan $66,36^0$ sedangkan pola difraksi κ -karagenan setelah ozonasi menunjukkan puncak utama pada $22,63^0$; $44,23^0$; $65,13^0$ dan $77,63^0$. Secara umum perlakuan ozonasi κ -karagenan meningkatkan intensitas difraksi sinar X, dimana terjadi kenaikan intensitas pada puncak pada $44,23^0$ dan $65,13^0$ pada κ -karagenan sesudah ozonasi. Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Klein *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa terjadi kenaikan intensitas radiasi pada tepung *cassava* setelah perlakuan ozonasi.

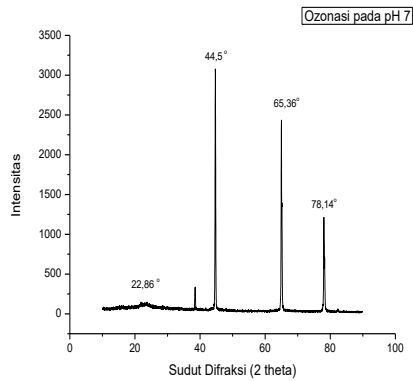
Perlakuan pH selama ozonasi juga memberikan perubahan terhadap hasil analisis XRD pada produk κ -karagenan. Perubahan intensitas difraksi sinar X dan nilai indeks kristalinitas produk κ -karagenan sesudah ozonasi pada berbagai pH disajikan pada Gambar 4.12. Data tersebut menunjukkan bahwa intensitas difraksi sinar X naik seiring dengan kenaikan pH. Intensitas radiasi yang tertinggi dicapai pada kondisi basa atau pH 10. Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Klein *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa kenaikan

intensitas radiasi tertinggi dicapai untuk perlakuan ozonasi tepung *cassava* pada pH 9,5. Kenaikan intensitas difraksi sinar X tersebut menunjukkan perpindahan ikatan-ikatan untai ganda (*double helices*) yang berdekatan dan penataan ulang ikatan tersebut dalam posisi paralel yang lebih sempurna.

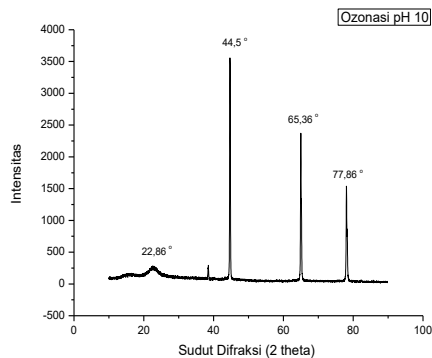
Jika ditinjau dari nilai indeks kristalinitas, maka perlakuan ozonasi mengakibatkan penurunan nilai indeks kristalinitas. Definisi dari indeks kristalinitas adalah perbandingan antara struktur kristalin dan struktur amorf pada suatu senyawa. Semakin tinggi nilai indeks kristalinitas maka struktur senyawa semakin kristalin, sebaliknya semakin rendah nilai indeks kristalinitas maka struktur senyawa semakin *amorf*. Perbedaan nilai indeks kristalinitas pada polisakarida dapat dihubungkan dengan ukuran kristal, jumlah daerah kristalin yang dipengaruhi oleh kandungan kristal dan panjang rantai, orientasi ikatan untai ganda (*double helices*) di dalam area kristal dan tingkat interaksi antara ikatan heliks untai ganda (Klein *et al.*, 2014).



(a)



(b)



(c)

Gambar 4.13: Pola difraksi hasil XRD ozonasi κ -karagenan pada berbagai pH (a) pH 3 (b) pH 7 (c) pH 10

Roncero *et al.* (2003) melakukan penelitian tentang pengaruh ozonasi pada kristalinitas *cellulose*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa nilai indeks kristalinitas *cellulose* turun apabila dosis ozon naik. Pada penelitian ini juga memberikan kecenderungan yang sama, yaitu nilai indeks

kristalinitas κ -karagenan turun setelah perlakuan ozonasi. Data penelitian ini menunjukkan bahwa nilai indeks kristalinitas κ -karagenan tanpa perlakuan ozonasi adalah 30,95%. Nilai indeks kristalinitas setelah perlakuan ozonasi pada pH 10, pH 7 dan pH 3 masing-masing adalah 22,09%; 24,13% dan 26,59%. Nilai indeks kristalinitas untuk κ -karagenan sesudah ozonasi pada pH 3 > pH 7 > pH 10. Nilai indeks kristalinitas terendah adalah pada pH 10, yang menunjukkan struktur kristal KBMR pada perlakuan ozonasi kondisi basa lebih *amorf* dibandingkan pada kondisi asam.

Klein *et al.* (2014) menyatakan bahwa proses ozonasi pada berbagai pH memberikan pengaruh terhadap kristalinitas *starch*, dengan nilai indeks kristalinitas *native starch* > pH 3,5 > pH 6,5 > pH 9,5. Penurunan nilai indeks kristalinitas pada *starch* setelah ozonasi menunjukkan bahwa ozonasi tidak hanya terjadi pada daerah yang amorf, tetapi juga terjadi pada daerah semi kristalin. Penurunan nilai indeks kristalinitas juga dikaitkan dengan terjadinya depolimerisasi, yaitu pemutusan ikatan glikosidik pada polisakarida. Roncero *et al.* (2003) menyatakan bahwa pada perlakuan ozonasi *cellulose*, pemberian dosis ozon yang tinggi dan pengaturan ozonasi pada pH 10 mampu mendegradasi sebagian kristal *cellulose* dengan laju reaksi yang konstan sehingga membentuk senyawa *cellulose* yang lebih amorf. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa proses oksidasi dengan ozon mampu menghasilkan perubahan struktural pada senyawa polisakarida.

4.3.9.2. Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Pada penelitian ini, evaluasi sifat morfologi κ -karagenan sebelum dan setelah perlakuan ozonasi digunakan teknologi SEM (*Scanning Electron Microscope*). SEM adalah suatu tipe mikroskop elektron yang menggambarkan permukaan sampel melalui proses scan dengan menggunakan pancaran energi yang tinggi dari elektron. Elektron berinteraksi dengan atom-atom yang akan membuat sampel menghasilkan sinyal dan memberikan informasi mengenai permukaan topografi sampel, komposisi dan sifat-sifat lainnya seperti konduktivitas listrik.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa sebelum perlakuan ozonasi, sifat morfologi permukaan κ -karagenan cenderung halus dan tidak berpori. Namun setelah ozonasi dengan perbesaran 100x, 2500x dan 5000x menunjukkan bahwa permukaan κ -karagenan menjadi lebih kasar dan berpori. Hal ini disebabkan pada proses ozonasi terjadi pemotongan gugus anhidro galaktosa dan galaktosa 4-sulfat pada molekul κ -karagenan, sehingga permukaannya cenderung lebih kasar dan berpori.



Gambar 4.14. Hasil analisis SEM κ -karagenan (a) sebelum ozonasi perbesaran 100x ;(b) sebelum ozonasi perbesaran 2500x ;(c) sebelum ozonasi perbesaran 5000x ;(d) sesudah ozonasi perbesaran 100x;(e) sesudah ozonasi perbesaran 2500x ; (f) sesudah ozonasi perbesaran 5000x

Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian tentang ozonasi pada tepung beras (Catal dan Ibanoglu, 2013) dan ozonasi tepung *cassava* (Klein *et al.*, 2014). Catal dan Ibanoglu (2013) menyatakan bahwa hanya sedikit terjadi perubahan morfologi pada polarisasi tepung beras, namun data tersebut cukup untuk mencerminkan terjadinya perubahan struktur internal butiran pati yang disebabkan oleh ozonasi. Fojas *et al.* (2013) melakukan penelitian tentang pengaruh iradiasi terhadap sifat morfologi κ -karagenan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa setelah iradiasi, permukaan κ -karagenan lebih kasar dan berpori. Klein *et al.* (2014) menyatakan bahwa terjadi perubahan bentuk dan permukaan butiran tepung *cassava* sesudah ozonasi, dengan perbesaran 2000x dan 5000x. Shahbazi *et al.* (2016) meneliti tentang pengaruh depolimerisasi secara termal terhadap perubahan morfologi κ -karagenan. Hasil analisis SEM tersebut menunjukkan bahwa setelah pemanasan terjadi pemutusan rantai karbon pada κ -karagenan sehingga permukaannya menjadi lebih kasar dan berpori.

Pada penelitian ini terdapat relevansi antara hasil analisis SEM κ -karagenan sebelum dan setelah proses ozonasi dengan hasil analisis XRD yang telah dibahas di bab sebelumnya. Kedua analisis tersebut memberikan kesimpulan bahwa telah terjadi perubahan struktur morfologi κ -karagenan setelah proses ozonasi. Perubahan struktur morfologi κ -karagenan tersebut disebabkan oleh pemutusan ikatan glikosidik pada κ -karagenan yang terjadi selama ozonasi.

4.4. Aplikasi Ozonasi di Dalam Proses Aktivitas Antibakteri dari κ -karagenan

κ -karagenan merupakan jenis polisakarida sulfat hidrofilik yang diekstraksi dari rumput laut merah (Rhodophyta). Berat molekul rendah dari κ -karagenan mempunyai kegunaan sebagai bahan aktif dalam meterial antibakteri. Kandungan sulfat yang tinggi yang terkandung di dalam κ -karagenan inilah yang mempunyai fungsi secara biologi sebagai antibakteri. Beberapa metode yang digunakan untuk menurunkan berat molekul dari κ -karagenan adalah dengan proses ozonasi. Ozon merupakan oksidator yang kuat dengan angka potensial reduksi-oksidasinya 2.07 V (Loures, 2013). Beberapa keuntungan yang diperoleh dari proses ozonasi adalah tidak meninggalkan residu, mampu diregenerasi, dan proses ozonasi telah direkomendasikan oleh FDA (Food and Drug Administration) (Seydim dan Greene, 2004). Dalam penelitian Prasetyaningrum et al (2017) mengenai κ -karagenan untuk aktivitas antibakteri, kandungan sulfat yang terdapat di dalam κ -karagenan akan mampu menghalangi pertumbuhan dari bakteri. Polisakarida yang mengandung sulfat akan mempunyai muatan negatif yang kuat, sehingga akan berinteraksi secara elektrostatis dengan protein spesifik pada bakteri dengan membentuk ikatan sulfat-ester. Interaksi inilah yang dapat memicu pembentukan efek biologis untuk antibakterial.

4.5. Pembahasan Kinetik Depolimerisasi Karagenan Menggunakan Proses Ozonasi

Depolimerisasi kappa karagenan menggunakan proses ozonasi dapat ditinjau dari segi kinetiknya. Orde untuk kinetik depolimerisasi kappa karagenan ini dihitung sesuai dengan orde 0, orde 1 dan orde 2 (pseudo orde 1). Berikut rumus untuk masing-masing orde :

$$\frac{1}{M_t} = \frac{k_z}{m} t + \frac{1}{M_0} \quad 4.5.1$$

$$\ln\left(1 - \frac{m}{M_t}\right) - \ln\left(1 - \frac{m}{M_0}\right) = -k_f t \quad 4.5.2$$

$$\frac{1}{\left(1 - \frac{m}{M_t}\right)} = k_s t + \frac{1}{\left(1 - \frac{m}{M_0}\right)} \quad 4.5.3$$

Dalam penelitian Prasetyaningrum et al (2017) mengenai kinetik depolimerisasi kappa karagenan menggunakan proses ozonasi didapatkan hasil bahwa %AAD yang paling rendah adalah menggunakan persamaan orde 2 atau orde 1 semu. Sehingga dapat disimpulkan bahwa untuk depolimerisasi kappa karagenan dengan proses ozonasi ini paling cocok menggunakan persamaan kinetik orde 2.

Tabel 4.7 Laju Kinetik konstan

pH	Zero-order reaction			First-order reaction			Second-order reaction		
	k_0 (min ⁻¹)	R ²	%AAD	k_1 (min ⁻¹)	R ²	%AAD	k_2 (min ⁻¹)	R ²	%AAD
3	4.94×10 ⁻⁴	0.97	11.67	5.42×10 ⁻⁴	0.98	11.62	5.45×10 ⁻⁴	0.98	11.62
7	1.22×10 ⁻⁴	0.93	9.43	1.07×10 ⁻⁴	0.96	9.08	1.27×10 ⁻⁴	0.97	7.98
10	6.32×10 ⁻⁵	0.94	8.33	6.32×10 ⁻⁵	0.94	8.17	7.21×10 ⁻⁵	0.96	8.26
Over all		0.95	9.81		0.96	9.62		0.97	9.29

Dari hasil penelitian tersebut, untuk reaksi orde 2 mempunyai nilai %AAD yang paling rendah. Sehingga untuk kinetik depolimerisasi kappa karagenan menggunakan proses ozonasi lebih cocok menggunakan persamaan reaksi orde 2.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ozon (O_3) merupakan zat desinfektan yang kuat dan mampu membunuh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus dan jamur. Saat ini pemanfaatan ozon telah diaplikasikan di berbagai bidang/sector, diantaranya pengolahan air minum, desinfeksi air minum dalam kemasan, desinfeksi untuk pengolahan limbah cair, sterilisasi peralatan kedokteran, sterilisasi bahan pangan mentah dan pengawetan bahan makanan serta depoimerisasi polisakarida untuk sumber obat hayati.
2. Proses pembentukan ozon secara umum dengan radiasi sinar ultra violet, elektrolisis dan lucutan corona. Metode lucutan corona dengan *electrical barrier discharge* secara prinsip sangat mudah digunakan dan lebih efisien dalam produksi ozon jika dibandingkan dengan proses yang lain. Tumbukan dari elektron yang dihasilkan oleh *electrical discharge* dengan molekul oksigen menghasilkan dua buah atom oksigen. Selanjutnya atom oksigen secara alamiah bertumbukan kembali dengan molekul oksigen sehingga membentuk ozon.
3. Aplikasi ozon dalam bidang pangan dapat difungsikan sebagai pengawetan bahan makanan. Ozon bertindak sebagai agen pengoksidapotensial dan membantu dalam menghilangkan patogen karena sifat mikroba tanpa meninggalkan residu dalam makanan yang diolah. Pengaplikasian teknologi ozon bisa untuk bahan makanan pada buah dan sayur, biji-bijian, hidrokoloid, daging, dan makanan hasil laut.
4. Ozon dapat bereaksi secara kimia dengan air, senyawa organik atau makromolekul, senyawa anorganik, bakteri dan virus. Mekanisme reaksi kimia ozon dapat terjadi

secara langsung ataupun tidak langsung. Reaksi kimia secara langsung menunjukkan bahwa ozon dapat bertindak sebagai agen elektrofilik atau neukleofilik selama reaksi. Sedangkan untuk reaksi kimia tidak secara langsung dapat terjadi sesuai dengan model proses inisiasi, reaksi berantai radikal dan penghentian.

5. Teknologi Ozonasi dapat digunakan untuk memodifikasi κ -karagenan sebagai bahan untuk pembuatan obat hayati. κ -karagenan mempunyai berat molekul dan viskositas yang terlalu tinggi sehingga membatasi dalam penggunaan dan aplikasi yang lebih luas. Dengan teknologi ozonasi (*Corona Discharge*) karagenan berat molekul tinggi (KBMT) mampu diubah menjadi karagenan berat molekul rendah (KBMR).

5.2 Saran

1. Penelitian tentang aplikasi teknologi ozonasi untuk pengawetan dan pengolahan bahan makanan dan obat, khususnya untuk depolimerisasi karagenan sebagai sumber obat hayati perlu dikembangkan sehingga dapat dimanfaatkan secara maksimal dan memberikan kontribusi positif bagi masyarakat. Industri pengolahan bahan makanan perlu mempertimbangkan penggunaan teknologi ozonasi (*green technology*) yang mampu menghasilkan produk makanan yang higienis dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Proses depolimerisasi dengan ozonasi dapat menghasilkan karagenan berat molekul rendah untuk aplikasi dalam bidang farmasi dan biomedis.
2. Pemerintah melalui program hilirisasi berkomitmen untuk memperkuat posisi Indonesia sebagai pelaku utama industri pengolahan bahan pangan dan obat-obatan. Diperlukan peran serta *link and match* antara Perguruan Tinggi, industri dan *stake holder* terkait untuk menghasilkan produk yang memiliki daya saing tinggi, baik dari sisi keunggulan inovatif produk maupun efisiensi produksi.

3. Proses ozonasi yang efektif dan efisien perlu dikembangkan untuk memperluas aplikasinya dalam bidang industri pengolahan bahan makanan dan obat hayati.
4. Sumber daya rumput laut yaitu karagenan berpotensi dijadikan sebagai sumber bahan makanan dan obat bagi masa depan. Kandungan nutrisi penting dan bahan bioaktif (sulfat) sangat potensial dimanfaatkan sebagai sumber obat hayati. Bagi masyarakat, pengembangan produk berbahan dasar rumput laut ini akan memberikan dampak positif untuk meningkatkan nilai ekonomi dan derajat kesehatan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Achen, M. 2000. Efficacy of ozone in inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in pure cell suspensions and on apples. M. Sc. Thesis, The Ohio State University, Columbus, OH.
- Achen, M. and Yousefa, A. E. 2001. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. J. 961. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Adler, M. G. and Hill, G. R. 1950. The kinetics and mechanism of hydroxide ion catalyzed ozone decomposition in aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.* 72, 1884-1886.
- Akey, D. H., & Walton, T. E. 1985. Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(4), 882-886.
- approach. *Environ.Sci. Technol.* 16, 377-383.
- Bablon, G., Bellamy, W. D., Bourbigot, M-M., Daniel, E B., Dore, M., Erb, E, Gordon, G., Langlais, B., Laplanche, A., Legube, B., Martin, G., Masschelein, W.J., Pacey, G., Reckhow, D. A. and Ventresque, C. 1991. Fundamental aspects. In "Ozone in Water Treatment, Application and Engineering" (G. Langlais, D.A. Reckhow and D. R. Brink, eds), pp. 11-132. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI.
- Bellamy, W. D., Langlais, B., Lykins, B. Jr., Rakness, K. L., Robson, C. M. and Schulhof, P. 1991. Economics of ozone systems: New installations and retrofits. In "Ozone in Water Treatment, Applications and Engineering" (B. Langlais, D. A. Reckhow and D. R. Brink, eds), pp. 491-542. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI.

- Beltran, F.J 2005. Ozone reaction kinetics for water and wastewater systems. Lewis Publishers. Taylor and Francis e-Library.
- Bocci V 2006. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 216(3): 493-504.
- Bolton, D. C., Zee, Y. C., & Osebold, J. W. 1982. The biological effects of ozone on representative members of five groups of animal viruses. *Environmental Research*, 27, 476–484.
- Boonduang, S., Limsuwan, S., Kongsri, W., and Limsuwan, P. 2012. Effect of Oxygen Pressure and Flow Rate on Electrical Characteristic and Ozone Concentration of a Cylinder-Cylinder DBD Ozone Generator. *Procedia Engineering*, 32, 936–942. doi:10.1016/j.proeng.02.035.
- Brady, J. E., and Humiston, G. E. 1978. "General Chemistry Principles and Structure," 2nd edn. John Wiley & Sons, New York
- C. C. A. Loures, M. A. K. Alcântara, H. J. I. Filho, A. C. S. C. Teixeira, F. T. Silva, T. C. Paiva, and G. R. L. Samanamud, *International Review of Chemical Engineering* 5. 2013.
- Campo, V. L., Kawano, D. F., Silva, D. B. D and Carvalho, I. 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 167–180.
- Cena A. 1998. Ozone: Keep it fresh for food processing. *Water Conditioning Purification*, Sept. pp 112- 115.
- Chawla AS, Bell JW and Marlene EJ. 2007. Optimization of Ozonated Water Treatment of Wild-Caught and Mechanically Peeled Shrimp Meat, *Journal of Aquatic Food Products Technology*, 16 (2): 41-56.

Chem. 15, 363.

- Choi, W.S., Ahn, K.J., Lee, D.W., Byun, M.W., and Park, H.J. 2002. Preparation of chitosan oligomers by irradiation. *Polymer Degradation and Stability*, 78(3), 533–538.
- Coke, A. L. 1993. Mother nature's best remedy: Ozone. *Water Conditioning and Purification*, (October) pp. 48–51. *Crit. Rev. Envir. Contr.* 5, 141-152.
- Dolatowski ZJ, Stadnik J and Stasiak D. 2007. Application of ultrasound in food technology. *ACTA Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 6(3): 89-99.
- Duguet JP. 2004. Basic concepts of industrial engineering for the design of new
- Elford, W. J., and van den Ende, J. 1942. An investigation of the merits of ozone as an aerial disinfectant. *J. Hygiene* 42, 240-265.
- EPRI 1999. Membrane filtration and ozonation of poultry chiller overflow water: Study of membrane treatment to reduce water use and ozonation for sanitation at a poultry processing plant. Technical Report-114435, EPRI, Palo Alto, CA
- Ewell, A. W. 1946. Recent ozone investigation. *J. Appl. Phys.* 17, 908-911.
- Farooq, S., Chian, E. S. K., and Engelbrecht, R. S. 1977. Basic concepts in disinfection with ozone. *J. Water Poll. Control*
- FDA. 2001. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption, *Federal Register*, 66(123): 33 829–30.
- Food Sci.* 66, 1380-1384

- Garcia, A., Mount, J.R., Davidson, P.M. 2003. Ozone and Chlorine Treatment of Minimally Processed Lettuce. *Journal of Food Science*, **68** (9), 2747–2751.
- Gonçalves AA (2009). Ozone-An Emerging Technology for the Seafood Industry. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(6): 1527-1539.
- Gottschalk, C., Libra, J. A., and Saupe, A. 2010. Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and its Applications, 2nd Edition, pp. 1–378. Wiley-Vch.
- Graham, D. M. 1997. Use of ozone for food processing. *Food Technol.* 51, 72-75.
- Greene A. K., Smith, G. W., and Knight, C. S. 1999. Ozone in dairy chilling water systems: effect on metal materials. *Int. J. Dairy Technol.* 52(4), 126-128
- Grosse, A. V., and Streng, A. G. 1960. Storage of explosive gases. Research Institute, Temple University. Patent 2928529 (1958/1960).
- Gurol, M. D., and Singer, P. C. 1982. Kinetics of ozone decomposition, a dynamic
- Guzel-Seydim ZB, Greene AK and Seydim AC .2004. Use of ozone in the food industry. *Lebensm-Wiss-UTechnologie*, 37: 453-460.
- Haijin, M., Xiaolu, J., and Huashi, G. 2003. A carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity, 297–303.
- Hampson,, B. C., and Fiori, S. 1997. Application in food processing operations. *In* Proceedings of the IOAPAG Annual Conference Lake Tahoe, NV, pp. 261-267, International Ozone Association, Pan American Group, Stamford, CT.

- Hampson.. B. C. 2000. Use of ozone for winery and environmental sanitation. *Practical Winery & Vineyard*, Jan-Feb, 27-30.
- Hang, W. R., and Hoign6, J. 1983. Ozonation of bromide-containing waters: kinetics of formation of hypobromous acid and bromate.*Environ. Sci. Technol.* 17, 261.
- Harris, W. C. 1972. Ozone disinfection. *J. Water Works Assoc.* 64, 182-183.
- Herbold, K., Flehmig, B., and Botzenhart, K. 1989. Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2949-2953.
- Hewes, C. G., and Davison, R. R. 1973. Renovation of wastewater by ozonation. *Am.*
- Hill, A. G., & Rice R, . G. 1982. Historical background, properties and applications. In R. G. Rice (Ed.), *Ozone treatment of water for cooling application* (pp. 1-37). Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science Publishers.
- Hoffman, R. K. 1971. Toxic gases. In "Inhibition and Destruction of the Microbial Cell" (W.B. Hugo, ed.), pp. 225-258. Academic Press, New York.
- Hoignt, J. and Bader, H. 1976. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. *Water Res.* 10, 377-386.
- Inst. Chem.Engng. Symp. Ser.* 69(129), 71-80.
- Jakob SJ and Hansen F .2005. New Chemical and Biochemical Hurdles. In *Emerging technologies for Food Technology*. Edited by Sun, D. Elsevier Ltd. pp 387-418.

- Jans, U., and Hoigné, J. 1998. Activated carbon and carbon black catalyzed transformation of aqueous ozone into OH-radicals. *Ozone Sci. Engng.* 20(1), 67-90.
- Karlsson, A., and Singh, S. K. 1999. Acid hydrolysis of sulphated polysaccharides . Desulphation and the effect on molecular mass, 38, 7–15.
- Katzenelson, E., Kletter, B., and Shuval, H. I. 1974. Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *J. Am. Water Works Assoc.* 66, 725-729.
- Khadre, M. A., and Yousef, A. E. 2001. Decontamination of a multilaminated aseptic food packaging material and stainless steel by ozone. *J. Food Safety* 21, 1-13.
- Kim, C. K., Gentile, D. M., and Sproul, O. J. 1980. Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 210-218.
- Kim, J. G. 1998. Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed foods. Ph.D. thesis, The Ohio State University, Columbus, OH.
- Kim, J. G., and Yousef, A. E. 2000. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. *J. Food Sci.* 65, 521
- Kim, J.G., Yousef, A.E., Dave, S. 1999 Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods: A Review. *Journal of Food Protection*, **62** (9), 1071–1087.
- Kinman, R. N. 1975. Water and wastewater disinfection with ozone, a critical review.
- Klein, B., Vanier, N. L., Moomand, K., Pinto, V. Z., Colussi, R., da Rosa Zavareze, E., and Dias, A. R. G. 2014. Ozone oxidation of cassava starch in aqueous solution at different pH. *Food Chemistry*, 155, 167–73.

- Knutsen, S. H., Myslabodski, D. E., Larsen, B., and Usov, a. I. (1994). A Modified System of Nomenclature for Red Algal Galactans. *Botanica Marina*, 37(2), 163–169.
- Kogelschatz, U. 1988. Advanced ozone generation. In S. Stucki (Ed.), *Process technologies for water treatment* (pp. 87–120). New York: Plenum Publishers.
- Komissarov, V. D., and Komissarova, I. N. 1973. Formation of phenol during benzene
- Kumar, A., Degaleesan, T. E., Laddha, G. S., and Hoelscher, H. E. 1976. Bubble swarm characteristics in bubble columns. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 54(6), 503–508.
- Kuprianoff . 1953. The use of ozone for the cold storage of fruit, *Z Kaltentechnik*, Vol. 10 (translation).
- Mahieux, E 1962. Genie chimique. *Chimie et Industrie* 87, 15.
- Majchrowicz A. 1999. Innovative technologies could improve food safety. *Food Review*, 22(2):16-20.
- Mennad, B., Harrache, Z., Yanallah, K., Amir Aid, D., and Belasri, a. 2014. Effect of the anode material on ozone generation in corona discharges. *Vacuum*, 104, 29–32.
- Murray, R. G., Pamela, S., and Elson, H. E. 1965. The location of the mucopeptide of sections of the cell wall of *Escherichia coli* and other Gram negative bacteria. *Can. J. Microbiol.* 11(3), 547-560.
- Nagasawa, N., Mitomo, H., Yoshii, F., and Kume, T. 2000a. Radiation-induced degradation of sodium alginate. *Polymer Degradation and Stability*, 69(3), 279–285.
- Nagasawa, N., Yoshii, F., Mitomo, H., & Kume, T. 2000b. 14 . Radiation Degradation of Al gin ate and Chitosan.

- O'Donnell, Colm & Brijesh kumar, Tiwari & Cullen, P.J & G. Rice, R. 2012. Ozone in Food Processing. *Optimization*, 1 edn, Denver, CO: American Water Works Association ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3471-3475. ozonation processes. *Ozone News*, 32 (6): 15-19. ozonolysis. *Izv.Akad. Nauk. USSR, Ser. Khim.* 3, 677-679.
- Patil, S., Valdramidis, V.P., Cullen, P.J., Frias, J., Bourke, P., 2010. Inactivation of *Escherichia coli* by ozone treatment of apple juice at different pH levels. *Food Microbiol.* 27 (6), 835-840.
- Prabha, Vithu & Barma, Deb & Singh, Ranjit & Madan, Aditya. (2015). Ozone Technology in Food Processing: A Review. *Trends in Biosciences* 0974-8. 6. 4031-4047.
- Prasetyaningrum, A., Jos, Bakti., Ratnawati, R. 2017. Effect of Ozonation Process on Physicochemical and Rheological Properties of κ -carrageenan. *Scientific study and Research*, 18 (1), pp. 009-018.
- Prasetyaningrum, A., Ratnawati, Jos, Bakti., Gunadi, A., Krisnanda, A. 2017. The Effect of Ozonation Process on Antibacteria Activity of κ -carrageenan. *Advanced Science Letters*, Vol. 23, pp. 5783-5785.
- Prasetyaningrum, A., Ratnawati, Jos, Bakti. 2017. Kinetics of Oxidative Depolymerization of κ -carrageenan by Ozone. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 12 (2), pp. 235-242.
- Prasetyaningrum, A., Bramantiya, Muqsit., Meidianto, Alwi., Saputra, Pajar., Qonita, F. D., Ardiana, N.S. 2017. Prototype Penyimpanan Buah dan Sayur Menggunakan Ozon dan Metode Evaporative Cooling sebagai Sistem Pendingin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6 (1), pp. 31-35.

- Prasetyaningrum, Aji., Jos, Bakti., Dharmawan, Yudhy., Octaviani, R.V., Ratnawati, R. 2018. Chemical and Spectral Characterization of The Ozonation Products of κ -carrageenan. EDP Sciences, MATEC Web of Conferences 156, 05006.
- Prasetyaningrum, A., Praptyana, I.R., Nurfiningsih, Ratnawati, R. 2019. Carrageenan : Nutraceutical and Fuctional Food as Future Food. International Confrence on Food Science & Technology, IOP Conf. Series: Earth and Enviromental Science 292.
- Rakness, K.L. 2005. *Ozone In Drinking Water Treatment: Process Design, Operation and Refrig. Engng.* 46, 103.
- Ratnawati, R., Prasetyaningrum, A., Wardhani, D.H. 2016. Kinetics and Thermodynamics of Ultrasound-Assisted Depolymerization of κ -carrageenan. Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis. 11(1), pp. 46-58.
- Ratnawati, R., Kusumaningtyas, D.A., Suseno, Purbo., Prasetyaningrum, A. 2018. Mass Transfer Coefficient of Ozone in a Bubble Column. EDP Science, MATEC web of Coffferences 156.
- Rice, R.G. and Gomez-Taylor, M. 1986. Occurrence of the byproducts of strong oxidants reacting with drinking water contaminants – scope of the problem, *Environ Health Perspectives*, **69**: 31–44.
- Rice, R.G., Robson, C.M., Miller, G.W., Hill, A.G., 1981. Uses of ozone in drinking
- Roncero, M. Blanca., Qureal, M.A., Colom, J.F., Vidal. 2003. Why Acid pH Increases the Selectivity of the Ozone Bleaching Processes. *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*, 25(6), 523–534.

- Rosenthal, H. 1974. Selected bibliography of ozone, its biological effects and technical applications. Fisheries research board of Canada technical report No. 456, Fisheries and Marine Service, Pacific Biological Station, Nanaimo, BC.
- Roth, J. A., and Sullivan, D. E. 1981. Solubility of ozone in water. *Indus. Engng. Chem. Fund.* 20, 137.
- Roy, D., Englebrecht, R. S., & Chian, E. S. K. 1982. Comparative inactivation of six enteroviruses by ozone. *Journal of the American Water Works Association*, 74, 660–664.
- Science and Engineering*, 21: 99-118.
- Scott, D. B. M. 1975. The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives. In "Aquatic Applications of Ozone" (W.J. Blogoslawski, and R.G. Rice, eds.), pp. 226-240. International Ozone Institute, Syracuse, NY.
- Sease, W.S. 1976. Ozone mass transfer and contact system. In "Proceedings of the Second International Symposium on Ozone Technology" (R. G. Rice, P. Pichet and M. A. Vincentr, eds), pp. 1-14. International Ozone Association, Vienna, VA.
- Seo, S., King, J. M., and Prinyawiwatkul, W. 2007. Simultaneous depolymerization and decolorization of chitosan by ozone treatment. *Journal of Food Science*, 72(9), C522–6.
- Seydim, Z. B., Greene, A. K., Seydim, a. C. 2004. Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Science and Technology*, 37(4), 453–460.
- Shahbazi, M., Rajabzadeh, G., Ettelaie, R. 2016. Kinetic study of k-carrageenan degradation and its impact on mechanical and structural properties of chitosan/ k-carrageenan film. *Carbohydrate Polymers*, 142. pp. 167-176. ISSN 0144-8617.

- Shechter, H. 1973. Spectrophotometric method for determination of ozone in aqueous solutions. *Water Res.* 7, 729-739.
- Sheldon, B. W. 1986. Effects of ozonation of poultry processing water on the characteristics of process water and potential for recycling. Industry Summary, Southwestern Poultry and Egg Association.
- Singh, G., and Singh, A. K. 1999. Localized corrosion in chlorine dioxide bleach media of paper industry. *Bull Electrochem.* 15(3--4), 127-130.
- Staehelin, J., Buhler, R. E., and Hoignr, J. 1984. Ozone decomposition in water studied by pulse radiolysis. 2. OH and HO 4 as chain intermediates. *J. Phys. Chem.* 88, 5999-6004.
- Tomiyasu, H., Fukutomi, H., and Gordon, G. 1985. inetics and mechanisms of ozone decomposition in basic aqueous solution, *Inorg. Chem.* 24, 2962-2966.
- Victorin, K. 1992. Review of the genotoxicity of ozone. *Mutation Research*, 277, 221-238.
- Viera, M. R., Guiamet, P. S., de Mele, M. F. L. and Videla, H. A. 2000. The effect of dissolved ozone on the corrosion behavior of heat exchanger structural materials, biocidal efficacy on bacterial films. *Corrosion Rev.* 18(2-3), 205-270.
- Waller, J. G., and McTurk, G. 1965. Storage of compressed gaseous ozone. *J. Appl.*
- Wang, Y., Hollingsworth, R. I., and Kasper, D. L. 1999. Ozonolytic depolymerization of polysaccharides in aqueous solution. *Carbohydrate Research*, 319(1-4), 141-147. water treatment. *J. Am. WaterWorks Ass.* 73 (1), 4457.
- Watson, G. 1943. Some factors influencing the toxicity of ozone to fungi in cold storage.

- Weiss, J. 1935. Investigation on the radical HO₂ in solution. *Trans. Faraday Soc.* 31,668.
- White, G. C. 1986. Ozone. In "The Handbook of Chlorination," 2nd edn, Ch.13, pp. 893-
- Wickramanayaka, G. B. 1991. Disinfection and sterilization by ozone. In S. B. Seymour(Ed.), Disinfection, sterilization and preservation (4th ed.) (pp. 182–190). Malvern, PA: Lea and Febiger.
- Williams RC, Sumner SS and Golden DA. 2005. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and Salmonella in apple cider and orange juice treated with combinations of ozone, dimethyl dicarbonate, and hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*,70(4): M197-M201.
- Wojtowicz, J. A. 1996. Ozone. In "Encyclopedia of Chemical Technology" (R. E. Kirk, and D. E.Othmer, eds), 4th edn, Vol. 17, pp. 953-994. Wiley-Interscience, New York.
- Yamada, T., Ogamo, A., Saito, T., Uchiyama, H., and Nakagawa, Y. 2000. Preparation of O⁶-acylated low-molecular-weight carrageenans with potent anti-HIV activity and low anticoagulant effect, 41, 115–120.
- Yang, P. P. W., and Chen, T. C. 1979. Stability of ozone and its germicidal properties on poultry meat microorganisms in liquid phase. *J. Food Sci.* 44, 501-504.
- Yao, Z., Wu, H., Zhang, S., and Du, Y. 2014. Enzymatic preparation of κ -carrageenan oligosaccharides and their anti-angiogenic activity. *Carbohydrate Polymers*, 101, 359–367.
- Yurteri, C., and Gurol, M. D. 1988. Ozone consumption in natural water: Effects of background organic matter, pH and carbonate species. *Ozone Sci. Engng.* 10, 277-290.

Z. B. Seydim and A. K. Greene. 2004. *Journal LWT-Food Science and Technology* 4.

ISBN 978-602-5788-24-6

