

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemasan yang ada di pasaran sebagian besar terbuat dari polimer konvensional sintesis seperti polietilena, polipropilena dan polistirena, bahan kemasan ini dapat melindungi makanan secara efektif dari kerusakan fisik (Moeini et al., 2022). Minat terhadap film dan pelapis yang dapat dimakan telah meningkat dalam beberapa dekade terakhir karena permintaan konsumen akan solusi pengemasan yang ramah lingkungan (Galus et al., 2020) (Rai et al., 2021). Menurut bahan substrat, edible film biasanya dikategorikan ke dalam protein, polisakarida dan film yang dapat dimakan komposit.

Saat ini senyawa fungsional yang terkandung dalam ikan telah banyak dimanfaatkan dalam pangan diantaranya yaitu Omega-3, kalsium yang sumbernya dari tulang ikan, karotenoid, dan juga vitamin D. Minyak ikan sangat kaya akan lemak tak jenuh ganda asam lemak (PUFA) seperti asam *eicosa pentaenoic* (EPA) dan *docosa hexaenoic acid* (DHA), yang termasuk dalam PUFA omega-3 (Tocher et al., 2019) (Wang et al., 2020)(Kakko et al., 2022). Selain itu, senyawa asam linolenat, EPA, dan DHA berkaitan dengan aktivitas antibakteri melawan bakteri gram positif (Inguglia et al., 2020).

Ikan lemuru merupakan salah satu jenis ikan tropis yang mengandung komponen asam lemak omega-3 dalam jumlah yang cukup tinggi. Hal ini dikarenakan ikan lemuru di alam banyak memakan plankton-plankton maupun mikro alga yang banyak memproduksi komponen asam lemak omega-3. Ikan lemuru mengandung 13,7% EPA, 8,9 DHA, dan 26,8 % total omega-3 dari total minyak . Ikan lemuru mengandung protein sebanyak 20 g, lemak 3 g, kalsium 20 mg, dan energi sebesar 112 kalori (Rodiah Sari, 2019)

Pektin umumnya ditemukan di dinding sel utama tanaman, terutama di celah antara selulosa dan hemiselulosa. Pektin digunakan sebagai bahan baku untuk edible film karena memiliki beberapa keunggulan, seperti kinerja biodegradasi yang baik, biokompatibilitas dan tidak beracun (A. C. Mellinas et al., 2020). Pektin dianggap sebagai salah satu makromolekul paling kompleks di alam dan dibentuk oleh suatu kelompok polisakarida struktural, sebagian besar mengandung unit asam galakturonat (C. Mellinas et al., 2020). Pektin hadir di dalam dinding sel primer dari banyak tanaman, memberikan kontribusi kekakuan pada strukturnya, dan sering digabungkan dengan lignin, hemiselulosa atau selulosa. Pektin pada dasarnya terdiri dari α - (1,4) -d-galakturonat yang terhubung dengan d-galakturonat dan sifat-sifatnya dipengaruhi oleh tingkat esterifikasi metil, yang bergantung pada asal tanaman dan kondisi pengolahannya (Cataldo et al., 2017). Oleh karena itu, pektin semakin penting untuk berbagai aplikasi pengemasan makanan, seperti zat pengental dan pembentuk gel, penstabil koloid, pengatur tekstur, dan pengemulsi, dan sebagai zat enkapsulasi mikro dan nano untuk

pelepasan partikel zat aktif yang dapat dikontrol dengan berbagai fungsional (Noreen et al., 2017)

Salah satu kulit buah yang dapat digunakan sebagai bahan untuk pembuatan edible film adalah buah *Dillenia serrata*. Buah ini dihasilkan oleh tanaman endemik *Dillenia serrata Thunb* yang banyak ditemukan di daerah Sulawesi, Indonesia. Penduduk Sulawesi, khususnya yang berada di Sulawesi Selatan dan Tengah, sudah tidak asing lagi dengan spesies ini. Masyarakat di Sulawesi Selatan menyebut menyebut buah ini dengan sebutan Dengen. Buah *Dillenia serrata* mirip dengan buah jeruk tetapi memiliki rasa yang sangat asam; oleh karena itu, penduduk setempat tidak membudidayakannya, namun buah ini memiliki aktivitas antioksidan yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan bakteri *Streptococcus mutans*. Selain itu, *Dillenia serrata* mengandung asam *koetjapic*, asam *betulinic* dan *3-oxoolean-12-en-30-oic* yang dapat menghambat produksi *prostaglandin E2* (PGE2) (Sultan et al., 2023)

Film digunakan dalam produk pangan sebagai kemasan primer untuk mencegah transfer massa antara produk pangan dengan lingkungan sekitar atau antara fase yang berbeda dari produk pangan campuran (seperti Aw yang berbeda dalam produk pangan yang sama) (Syarifuddin et al., 2019).

Saat ini, konsep pengemasan telah berubah sedemikian rupa sehingga sistem pengemasan mungkin bukan hanya bahan pengemas dan mencakup fungsi lain seperti aktivitas antioksidan, sifat antimikroba, atau pembersih oksigen, dan adanya sensor, mengubah kemasan konvensional menjadi aktif dan atau cerdas kemasan, dan menjadi beberapa di antaranya film atau pelapis yang dapat dimakan (Hassan et al., 2018).

Sehingga peneliti tertarik untuk membuat edible film berbahan pektin dengan menambahkan minyak ikan yang diharapkan dapat menjadi sumber vitamin karena minyak ikan dikenal sebagai sumber yang kaya akan asam lemak tak jenuh ganda omega-3 (n-3) rantai panjang, yang mengandung asam *doc-octahexaenoic* (DHA) dan asam *eicosapentaenoic* (EPA) (Jamshidi et al., 2020). Sifat dari kemasan ini dapat langsung dikonsumsi serta dapat memberikan perlindungan langsung pada produk ketika kemasan pertama dibuka (Jaja et al., 2021).

Penelitian (Chou et al., 2023) telah dibuat edible film ekstrak gelatin dari kulit ikan nila taiwan yang dilakukan dengan mengekstraksi kulit ikan dengan menggunakan cairan aquades pada suhu 45 °C kemudian disaring lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu $\pm 40-45^{\circ}\text{C}$ hingga kadar airnya mencapai 15 %. Selanjutnya penelitian (Tongnuanchan et al., 2012) membuat edible film dari gelatin kulit ikan yang ditambahkan dengan minyak jeruk yang berbeda. Penelitian yang sama dilakukan oleh (Sultan et al., 2023) yaitu membuat edible film nabati berbahan dasar pektin dari kulit *Dillenia serrata* dan kurkumin. Namun belum ada penelitian tentang pembuatan edible film dari ekstrak minyak ikan. Oleh karena itu pada penelitian ini akan membuat edible film dari minyak ikan dengan bahan utama pektin .

1.2. Rumusan Masalah

Permintaan Edible film berfungsi sebagai pengemas semakin bertambah karena kemasan tradisional memiliki masalah seperti tidak dapat terurai dan keamanan makanan yang buruk. Edible Film yang dapat dimakan berperan penting dalam

pengemasan, dan penyimpanan makanan, yang telah menjadi fokus penelitian karena biayanya yang murah, dapat diperbarui, dapat terurai, aman, dan tidak beracun. Sehingga peneliti tertarik mengembangkan edible film yang berbahan dasar pektin dengan penambahan ekstrak minyak ikan agar dapat dimanfaatkan sebagai kemasan yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan fisik, serta memperpanjang umur simpan makanan hingga sampai pada tangan konsumen. Selain itu juga dapat sebagai pembawa komponen makanan seperti vitamin, mineral, antioksidan, antimikroba, pengawet, bahan untuk memperbaiki rasa dan warna produk yang dikemas. Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu mengetahui karakteristik ekstrak minyak ikan, ekstrak pektin dan juga karakterisasi edible film yang dihasilkan.

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan, maka tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Menganalisis karakteristik pektin dari kulit buah dengan.
2. Menganalisis karakteristik ekstrak minyak ikan.
3. Menganalisis karakteristik edible film
4. Menganalisis hubungan antara pektin dengan minyak ikan terhadap sifat fisik dan mekanik edible film.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan teori ilmiah mengenai pemanfaatan minyak ikan lemuru (*sardinella longiceps*), mengetahui manfaat dari buah dengan (*Dillenia Serrata*), serta mengembangkan edible film sebagai kemasan yang sehat dan bermanfaat bagi Masyarakat.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juni 2024 di Laboratorium pengolahan pangan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan, Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa Sokhlet, heating mantle, labu alas bulat, oven, desikator, neraca analitik, blender, erlenmeyer, pipet tetes, buret, alat refluks, oven vacuum, loyang, erlenmeyer, corong pisah, tabung reaksi, viskosimeter fenske, mesin kuat tarik, mikrometer sekrup, timbangan analitik, magnetic stirrer, hot plate, oven, gelas ukur, spatula, pipet volum, pipet mikro, bola hisap, termometer, cawan petri, autoklaf, laminar *air flow*, media TSA.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu minyak ikan yang diperoleh dari ikan lemuru (*Sardinella longiceps*), pektin yang diperoleh dari kulit buah dengan (*Dillenia serrata*), gliserol, aquades, plastik wrap, silica gel, aluminium foil, pelarut polar dietil eter, KOH, indikator PP, etanol, KI.

2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun dengan berbagai konsentrasi pektin dan penambahan ekstrak minyak ikan. dibuat menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi pektin (P) dan konsentrasi minyak ikan (M), yang terdiri dari 3 taraf konsentrasi dengan 3 kali pengulangan sehingga terdapat 9 unit percobaan. Adapun perlakuan pada penelitian pembuatan edible film ini yaitu :

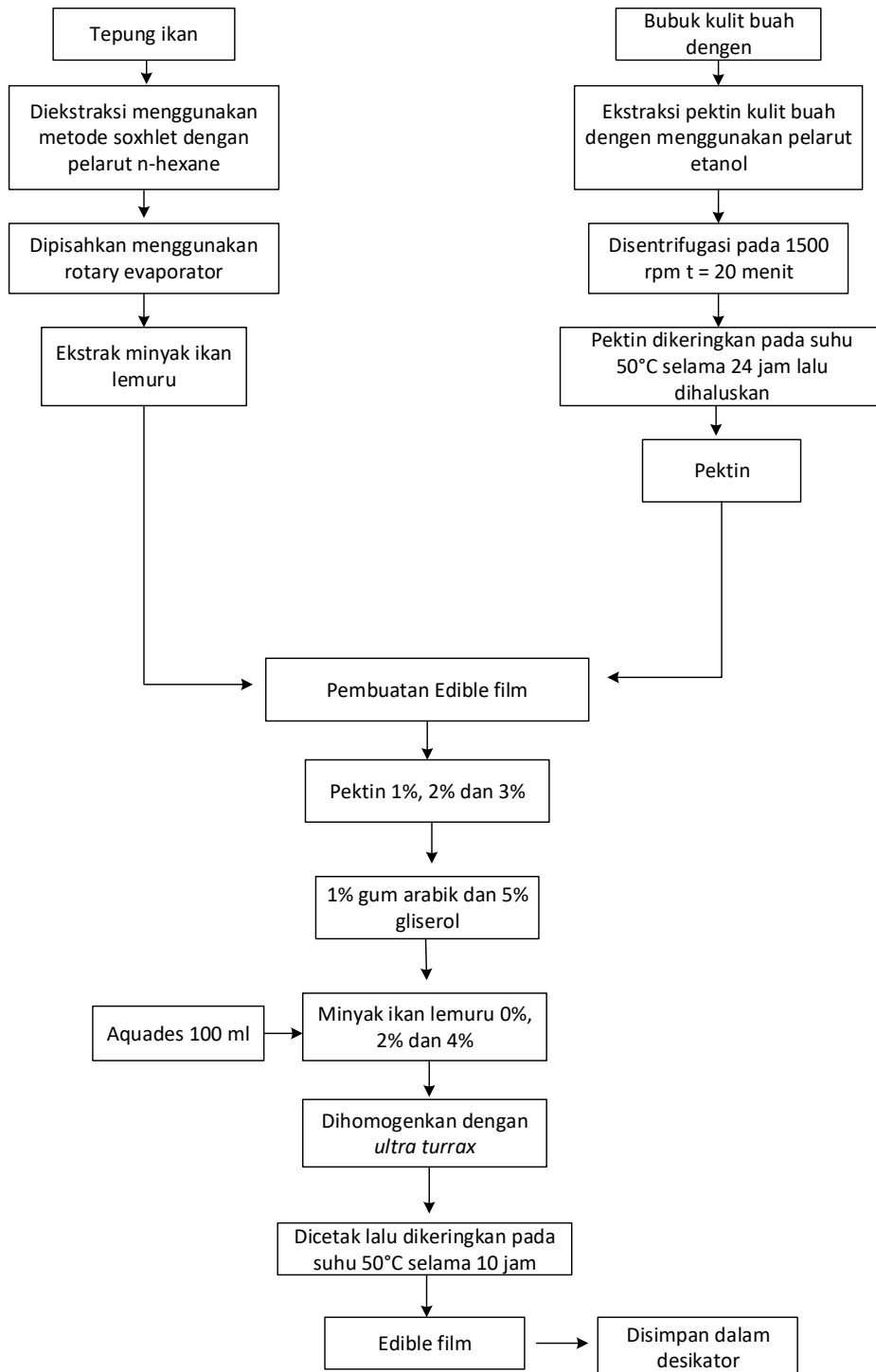
Tabel 1. Perlakuan Edible Film Pektin dan Minyak Ikan

Konsentrasi Pektin	Konsentrasi Minyak Ikan
P1 (1%)	M1 (0%) M2 (2%) M3 (4%)
P2 (2%)	M1 (0%) M2 (2%) M3 (4%)
P3 (3%)	M1 (0%) M2 (2%) M3 (4%)

Penentuan konsentrasi pektin dan minyak ikan diperoleh dari penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya.

2.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu persiapan bahan baku, prosedur ekstraksi minyak ikan, prosedur ekstraksi pektin, prosedur pembuatan edible film, analisis karakteristik edible film. Prosedur penelitian diuraikan pada diagram alir sebagai berikut :



Gambar 1 Diagram Alir Penelitian

2.5 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku pada penelitian ini berupa ikan lemuru (*Sardinella Longiceps*) dan kulit buah dengan (*Dillenia Serrata*). Bahan baku pektin diambil dari kulit buah Dengan dan bahan kimia lainnya. Ikan kemudian dicuci bersih kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 65 °C selama 6 jam setelah itu dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya untuk kulit buah Dengan sebanyak 1 kg dicuci bersih, kemudian dipotong-potong lalu dilakukan *steam-blanching* pada suhu 50°C selama 10 menit dan ditiriskan. Kulit buah dengan yang sudah ditiriskan kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu 50°C selama 10 jam. Setelah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu dilakukan pengayakan hingga memperoleh tepung yang halus.

2.6. Prosedur ekstraksi.

2.6.1. Ekstraksi Minyak Ikan (de la Fuente et al., 2022)

Ekstraksi minyak ikan dilakukan menggunakan Metode Soxhlet konvensional yang mengacu pada penelitian (de la Fuente et al., 2022), yaitu Sampel limbah ikan ditimbang sebanyak 5 gr kemudian dilarutkan dalam *n-heksana* sebanyak 250 ml. Kemudian sampel yang telah dilarutkan kemudian dimasukkan ke dalam mesin soxhlet dengan suhu 80 °C selama 6 jam. Setelah proses ekstraksi pelarut dihilangkan menggunakan mesin *rotary vacuum evaporator* dengan penangas air pada suhu 40°C. Ekstraksi dilakukan dengan dua kali ulangan.

2.6.2. Ekstraksi pektin (Listyarini et al., 2020)

Ekstraksi pektin yang dilakukan mengacu pada penelitian (Listyarini et al., 2020), yaitu sebanyak 100 gr kulit buah dengan ditambahkan dengan 200 ml akuades yang telah ditambahkan HCL hingga pH 2,0. Kemudian campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 70°C selama 60 menit. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dan dipisahkan dengan pengotor dengan cara diendapkan menggunakan sentrifus dengan dengan kecepatan 1500 rpm selama 20 menit. Filtrat yang diperoleh selanjutnya ditambahkan etanol 96% dengan komposisi 1:2 (pektin:etanol). Pektin yang mengendap dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Pektin yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Terakhir kering yang diperoleh dihaluskan dan dapat digunakan untuk pembuatan edible film.

2.7. Prosedur Pembuatan Edible Film (Sultan et al., 2023)

Pembuatan edible film dilakukan dengan mencampurkan pektin kulit buah dengan (1%; 2%; 3%) dan gum arabik 1% kedalam 100 ml aquades lalu ditambahkan Gliserol 5 % serta Ekstrak Minyak ikan (0%, 2%, 4%). Lalu dihomogenkan menggunakan ultra-turrax selama 3 menit pada kecepatan 24.000 rpm. Kemudian sebanyak 30 ml larutan edible film masing masing perlakuan dicetak pada loyang plastik lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 10 jam. Setelah kering edible film diletakkan pada desikator untuk mencapai kondisi suhu kelembaban yang konstan. Kemudian, diukur sifat mekanik edible film meliputi kuat tarik, ketebalan film, laju transmisi uap air (LTUA), warna, FTIR, antioksidan, dan antibakteri.

2.8 Uji Karakterisasi

2.8.1. Penentuan karakterisasi minyak ikan

2.8.1.1 Rendemen (Apituley *et al*, 2020)

Penentuan rendemen mengacu pada penelitian (Apituley *et al.*, 2020). Rendemen minyak ditentukan berdasarkan perbandingan antara volume minyak dengan berat bahan yang dinyatakan dalam satuan persen sehingga di peroleh perhitungan:

$$\text{Rendemen minyak} = \frac{\text{minyak yang dihasilkan}}{\text{banyaknya sampel}} \times 100\%$$

2.8.1.2 Asam Lemak Bebas (Suseno, *et al* 2023)

Analisis asam lemak bebas mengacu pada penelitian Suseno, *et al* (2023) yaitu dengan cara minyak ikan 2,5 gram dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml kemudian ditambahkan 25 ml alkohol 95%. Minyak dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit sambil diaduk sampai keduanya tercampur, kemudian setelah dinginn campuran tersebut ditetesi indikator PP 2 ml lalu dikocok dan dititrasi dengan KOH 0,1 N hingga timbul warna merah muda yang tidak hilang dalam 10 detik. Presentase nilai asam lemak bebas dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{FFA} = \frac{A \times N \times M}{10 \times G} \times 100\%$$

Keterangan :

A = jumlah titrasi KOH (ml)

N = normalitas larutan KOH (0,1 N)

M = bobot molekul asam oleat (282,47 g/mol)

G = bobot sampel

2.8.1.3 Bilangan Peroksida (Yulianto, 2022)

Analisis bilangan peroksida mengacu pada penelitian Yulianto (2022) (Yulianto, 2022). Metode ini mendeteksi semua zat yang mengoksidasi kalium iodida dalam kondisi asam. Analisis bilangan peroksida menggunakan sampel minyak ikan seberat 2 gram. Sampel minyak ikan tersebut ditambahkan 30 mL campuran larutan asam asetat dan kloroform (3:2) kemudian ditambah larutan KI jenuh 0,5 mL dan dikocok. Campuran tersebut ditambah akuades 30 mL serta indikator pati 1% 0,5 mL. Warna campuran dilakukan titrasi adalah kehitaman. Larutan kemudian dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N. Larutan tersebut dititrasi sampai warna kehitaman menghilang dan berubah menjadi tak berwarna atau bening. Perhitungan nilai bilangan peroksida ditentukan berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Nilai peroksida} = \frac{A \times N \times 1000}{G}$$

Keterangan :

A = Jumlah titrasi $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mL)

N = Normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01 N)

G = Bobot sampel (gram)

2.8.1.4 Pengujian Kadar Air (Pangestika, *et al*, 2021)

Pengujian kadar air mengacu pada penelitian (Pangestika *et al.*, 2021) dimana prinsip dari metode ini adalah berdasarkan penguapan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian ditimbang sampai berat konstan. Pengurangan bobot yang terjadi merupakan kandungan air yang terdapat dalam.

2.8.2. Uji karakterisasi pektin (Devianti *et al*, 2020)

Penentuan karakterisasi pektin mengacu pada penelitian Devianti *et al* (2020) (Devianti *et al.*, 2020). Karakterisasi pektin dilakukan untuk mengetahui mutu pektin yang dihasilkan, meliputi penentuan berat ekuivalen, kadar metoksil, dan derajat esterifikasi. Penentuan karakterisasi pektin dilakukan dengan menimbang 0,1 gr pektin hasil ekstraksi dari kulit buah dengan kemudian ditambahkan 20 ml akuades bebas karbon dioksida (dipanaskan hingga mendidih) dan ditambahkan 1 ml etanol 96%. Selanjutnya larutan diaduk hingga pektin larut selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah larutan homogen ditambahkan 0,2 gr NaCl dan 3 tetes indikator PP. Kemudian larutan dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N hingga berubah warna menjadi merah muda dan dicatat volume titrasinya untuk penentuan berat ekuivalen. Setelah itu larutan tersebut ditambahkan 10 ml NaOH 0,25 N dan kembali dihomogenkan hingga berubah warna menjadi merah muda dan dicatat kembali volume titrasinya untuk penentuan kadar metoksilnya. Kadar galakturonat dihitung dari nilai berat ekuivalen dan kadar metoksil menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar Metoksil (\%)} = \frac{\text{Ml titran} \times \text{N titran} \times 31}{\text{massa sampel (mg)}}$$

2.9 Uji Karakteristik Edible Film

2.9.1 Analisis Kuat Tarik

Pengukuran kuat tarik dan persen pemanjangan menggunakan alat universal testing machine edible film digunting menjadi potongan persegi dengan lebar 35 mm dan panjang 50 mm, kemudian diukur. Potongan edible film dipasang ke pegangan alat, 1 pegangan tetap dan 1 pegangan bergerak, pegangan digerakkan ke atas secara perlahan sampai film sobek, nilai gaya maksimum untuk merobek film yang diukur terlihat pada display alat, kuat tarik ditentukan berdasarkan beban maksimum pada saat edible film terputus dan perpanjangan didasarkan atas perpanjangan pada saat edible film terputus. Kekuatan tarik edible film dihitung dengan persamaan berikut :

$$\tau \frac{F_{max}}{A}$$

Keterangan :

τ : kekuatan tarik (Mpa)

F_{max} : Tegangan Maksimum (N)

A : Luas Penampang Melintang (mm²)

2.9.2 Analisis Ketebalan edible film

Edible film yang telah kering diukur menggunakan mikrometer sekrup yang memiliki ketelitian 0,01 mm. Pengukuran dilakukan pada 5 titik yang berbeda pada edible film. Kemudian diambil rata-rata hasil pengukuran ketebalan edible film.

2.9.3 Analisis Warna

Kromameter Minolta CR 300 digunakan untuk memeriksa warna film. Kemudian pembaca warna dihidupkan menggunakan sistem L, a, b. Pengujian dilakukan dengan menempatkan sensor pada permukaan film dan menembakkan sinar pada dua titik yang berbeda. Untuk setiap bagian, pengukuran dilakukan tiga kali. Data yang terkumpul kemudian dirata-ratakan.

2.9.4 Analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Salah satu metode spektroskopi yang sangat populer adalah metode spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*), merupakan metode spektroskopi inframerah modern yang dilengkapi dengan teknik transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Spektrum FTIR merupakan hasil interaksi antara senyawa-senyawa kimia dalam matriks sampel yang kompleks. Spektrum FTIR sangat kaya dengan informasi struktur molekular dengan serangkaian pita serapan yang spesifik untuk masing-masing molekul sehingga dapat digunakan untuk membedakan suatu bahan baku yang memiliki kemiripan (Parkia & Polimer, 2022). Analisis FTIR (QATR-S, Shimadzu, Jepang) digunakan untuk mengkarakterisasi film. Rentang pemindaian adalah 4000 cm⁻¹ hingga 400 cm⁻¹, dan 32 pemindaian dengan resolusi 2 cm⁻¹ (Sultan et al., 2023)

2.9.5 Analisis Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar. Sampel *edible film* dipotong dengan diameter 10 mm lalu diletakkan pada cawan petri yang telah berisi media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan inokulum bakteri yang akan diuji sekitar 10⁶ CFU/mL. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat bakteri yang terbentuk akan diukur menggunakan jangka sorong.

2.9.6 Analisis Laju Transmisi Uap Air (*Water Vapor Transmission Rate/WVTR*)

Pengujian LTUA dilakukan dengan metode gravimetric dessicant yang telah dimodifikasi dengan prinsip dasar yaitu mengukur besarnya uap air yang mampu menembus sampel edible film dengan cara menghitung pertambahan berat pada bahan penyerap uap air (desikan) yang menyerap uap air dari sisi luar edible film. Pengukuran

WVTR dilakukan menggunakan cawan berisi silica gel yang ditempatkan pada jarak 3 mm dari permukaan film yang akan diuji. Film kemudian diletakkan kedalam cawan dan disekat tepiannya menggunakan lilin mainan untuk menghindari adanya celah. Cawan kemudian ditimbang dan dimasukkan kedalam desikator berisi garam NaCl sebanyak 200gram dalam 1 liter air, kemudian ditutup rapat. Cawan kemudian ditimbang pada setiap interval waktu 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 jam lalu ditentukan penambahan berat dari cawan kemudian dibuat grafik keterkaitan pertambahan berat dan waktu. Nilai laju transmisi uap air dinyatakan dalam g/mm² jam dan dihitung menggunakan rumus menurut Sukkunta (2005).

Nilai WVTR dihitung menggunakan rumus :

$$WVTR = \frac{\text{Slope} \left(\frac{\text{g}}{\text{jam}} \right)}{\text{Luas sampel (cm}^2\text{)}}$$

2.9.7 Analisis Aktivitas Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan mengacu pada metode yang dilakukan dengan menyiapkan larutan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebanyak 0,002 g yang dilarutkan dengan metanol 50 mL. Selanjutnya, sampel *edible film* ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dalam 30 mL akuades untuk membuat stok sampel. Stok sampel kemudian dilarutkan dalam metanol 20 mL untuk membuat larutan sampel yang diencerkan dengan konsentrasi 1000 ppm, 900 ppm, 800 ppm, 700 ppm dan 600 ppm. Masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan 2 mL DPPH lalu divortex. Kemudian sampel diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dapat diketahui menggunakan perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100$$

Keterangan :

Abs. blanko = Absorban larutan DPPH

Abs. sampel = Absorbansi sampel uji

Nilai aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan nilai IC₅₀ yang menunjukkan konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC₅₀ ditentukan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva hubungan persen inhibisi dengan konsentrasi sampel pada persamaan

$$Y = ax + b.$$