BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia membutuhkan makanan sebagai kebutuhan esensial. Makanan berperan sebagai sumber energi untuk mengatur proses metabolisme yang ada pada tubuh manusia. Makanan menjadi salah satu kebutuhan pokok manusia untuk dapat melangsungkan kehidupan selain kebutuhan sandang dan papan. Selain mengandung nilai gizi, makanan juga merupakan media untuk berkembangbiaknya mikroba atau kuman yang dapat mengakibatkan gangguan pada kesehatan manusia yang mengonsumsinya (Rahmayani dan Simatupang, 2019). Makanan pada umumnya sangat sensitif dan mudah mengalami penurunan kualitas karena faktor lingkungan, kimia, biokimia, dan mikrobiologi. Penurunan kualitas tersebut dapat dipercepat dengan adanya oksigen, air, cahaya, dan temperatur. Untuk menghambat kerusakan tersebut dilakukan pengemasan terhadap makanan (Hartoyo, 2023). Kemasan pada makanan berfungsi untuk membuat makanan menjadi aman untuk dikonsumsi. Ada banyak jenis kemasan yang digunakan pada makanan mulai dari jenis kertas, plastik sampai *stryofoam* (Yani, 2021).

Pengemas makanan yang umumnya sering digunakan adalah plastik. Plastik bersifat non-biodegradable atau material yang tidak bisa terdekomposisi secara alami sehingga dapat mencemari lingkungan (Zahra et al., 2023). Plastik banyak digunakan karena mudah didapat, penggunaannya mudah dan harga yang relatif murah. Disamping kelebihan yang dimiliki, ada kekurangan dari penggunaan plastik. Menurut Utomo dan Solin, (2021) memusnahkan kantong plastik dengan cara membakar tidak akan menyelesaikan masalah. Membakar kantong plastik selain mencemari udara juga akan menghasilkan gas dioksin yang jika terhirup akan membahayakan kesehatan. Salah satunya dapat menyebabkan penyakit kanker. Selain dari segi pemusnahan limbah, penggunaan plastik juga memberi dampak negatif dari aspek bahan baku dan aspek penggunaanya. Menurut Santoso (2020) bahan baku pembuatan plastik berasal dari minyak bumi yang merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui dan tidak hemat energy. Pada aspek penggunaan, plastik merupakan bahan *polysteryne* yang mudah terdegradasi pada suhu tinggi menjadi *monosteryne*. Senyawa tersebut dapat bermigrasi ke dalam bahan pangan yang dikemas oleh plastik yang bias berakibat kanker. Penggunaan kemasan dari bahan plastik akan terus meningkat sehingga diperlukan bahan pengemas makanan alternatif yang bersifat biodegradable sebagai pengganti bahan plastik, salah satu nya yang banyak diteliti dan mengalami perkembangan sekarang ini yaitu *edible film*.

Edible Film menjadi inovasi bahan pengemas yang ramah lingkungan dan bersifat biodegradable atau dapat terurai oleh alam (Nurhakim et al., 2021). Menurut Estiningtyas et al. (2012) *edible film* merupakan lapisan tipis yang umumnya digunakan untuk melapisi makanan (coating), atau diletakkan di antara komponen-komponen yang berfungsi sebagai penahan terhadap transfer massa,

seperti air, oksigen dan lemak. Hal ini dapat membantu untuk mengurangi pencemaran lingkungan dan melindungi makanan sehingga bisa lebih tahan lama. Menurut Harmely et al. (2014) *edible film* berfungsi sebagai bahan pengemas yang memberikan efek pengawetan. *Edible film* dapat menjadi barrier terhadap oksigen, mengurangi penguapan air dan memperbaiki penampilan produk. Penggunaan *edible film* dapat mencegah proses oksidasi, perubahan organoleptik, pertumbuhan mikroba atau penyerapan uap air.

Penelitian terkait *edible film* telah banyak dilakukan dengan berbagai jenis bahan. Penelitian terkait *edible film*, salah satunya dilaporkan oleh Ismaya et al. (2021) yang membuat *edible film* dari nata de coco dan gliserol sebagai plasticizer nya. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu nilai ketebalan *edible film* yaitu 0,09 mm, elongasi 1,58% dan kuat tarik 32,4 MPa. Penelitian terkait lainnya dilaporkan oleh Hayati et al. (2020) yang membuat *edible film* dari alginat dengan penambahan serbuk spirulina platensis. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu nilai ketebalan *edible film* 0,2 mm, kadar fenol 52,373%, aktivitas antioksidan 37,695% dan kelarutan 50,21%. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan *edible film* dengan menggunakan bahan baku utama karagenan. Penelitian terkait penggunaan karagenan dalam pembuatan *edible film* telah dilakukan, seperti pada penelitian yang dilaporkan oleh Jacoeb et al. (2014) yang membuat *edible film* dari pati buah lindur dengan penambahan gliserol dan karagenan. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu nilai ketebalan berkisar 0,13 - 0,20 mm, elongasi 181,21 - 17,77% dan laju transmisi uap air 231,23 - 298,82 g/m^2/24 jam. Penelitian terkait lainnya dilaporkan oleh Nuansa et al. (2017) yang membuat *edible film* dari karagenan dan gliserol dengan penambahan minyak atisiri. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu nilai aktivitas antioksidan sebesar 15,12%, total fenol 71,39 - 2441,51 (ppm), laju transmisi uap air 1,46 - 1,58 (g/m^2/h) dan elongasi 7,91 - 13,28%.

Karagenan dapat digunakan sebagai pelapis bahan pangan atau bahan pembentuk *edible film*. *Edible film* dapat dibuat dari senyawa polisakarida yang larut di dalam air seperti karagenan yang tersedia secara luas (Handito, 2011). Menurut Sari et al. (2024) karagenan termasuk dalam kelompok polisakarida galaktosa yang diekstraksi dari rumput laut. Karagenan bersifat larut dalam air dan dapat membentuk gel secara *thermoreversible* yaitu gel yang mampu berubah menjadi larutan karena pengaruh suhu. Karagenan mampu mengentalkan dan menstabilkan material utama pada campuran larutan. Karagenan digunakan untuk mengendalikan kandungan air dalam bahan pangan, mengendalikan tekstur dan menstabilkan makanan (Isnaeni et al., 2022).

Edible film tidak hanya berfungsi sebagai pengemas makanan, namun dapat difortifikasi sebagai pembawa senyawa antioksidan yang mampu menghambat terjadinya oksidasi pada makanan dalam kemasan. Fortifikasi merupakan proses penambahan zat tertentu pada suatu produk untuk meningkatkan atau menambah nilai fungsi seperti penambahan senyawa bioaktif antioksidan. *Edible film* sebagai pembawa antioksidan yang dapat melindungi produk terhadap proses oksidasi lemak (Fatisa, 2018). Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan dan menangkal pembentukan reaksi oksidasi yang

disebabkan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas adalah atom yang tidak stabil karena tidak memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Berawi dan Marini, 2018). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat. Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk, di antaranya vitamin, mineral, dan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan
(Wanita et al., 2018). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis. Penggunaan antioksidan sintesis dalam bidang industri pangan tidak direkomendasikan oleh badan pengawas obat dan makanan sehingga dibutuhkan antioksidan alami sebagai alternatif dalam bidang kesehatan dan industri. Beberapa tanaman dan buah-buahan bermanfaat melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas karena potensi antioksidan yang terdapat pada tanaman dan buah-buahan tersebut seperti karoten, mangiferin, flavonoid, komponen fenolik lain, vitamin C dan E. Antioksidan alami banyak ditemukan pada tanaman seperti biji-bijian, buah, daun dan sayur-sayuran yang mempunyai manfaat bagi kesehatan (Agustikawati et al., 2017). Salah satu sumber antioksidan yang dapat digunakan yaitu daun mangga.

Daun mangga sering dianggap sebagai produk limbah dan tidak digunakan, daun mangga mengandung bahan aktif mangiferin dan polifenol. Kedua senyawa tersebut merupakan sumber antioksidan yang kuat (Seran et al., 2023). Daun mangga adalah bagian tanaman yang banyak digunakan untuk obat karena memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat digunakan untuk pengobatan, terutama sebagai sumber antioksidan. Kandungan terbesar ekstrak daun mangga yaitu mangiferin yang memiliki fungsi salah satunya sebagai antioksidan (Jutiviboonsuk dan Sardsaengjun, 2010) Pada penelitian ini, daun mangga yang digunakan berjenis daun mangga arum manis. Taksonomi mangga arum manis sebagai berikut (ITIS gov, 2020):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Sapindales
Famili : Anacardiaceae
Genus : Mangifera
Spesies : Mangifera indica

Daun mangga arum manis memiliki pola berbentuk lonjong dan panjang, penampakan daun mangga arum manis berbentuk ombak serta ujung daun yang runcing dengan jumlah daun yang banyak. Panjang daun berkisar 22-24 cm

(Pulungan et al., 2022). Adapun bentuk daun mangga arum manis dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Daun Mangga Arum Manis (Rahayu et al., 2016)

Daun mangga arum manis adalah daun yang memiliki kandungan antioksidan seperti fenolik dan flavonoid yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh karena berperan sebagai pencegah kerusakan oksidatif yang dapat menyebabkan kanker (Cornelia dan Sutisna, 2019). Menurut Ningsih et al. (2019) daun mangga arum manis secara spesifik dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal karena kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid dan tannin. Penelitian yang dilakukan oleh Seran et al. (2023) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangga arum manis menunjukkan nilai aktivitas IC_{50} sebesar 132 ppm. Meskipun demikian, analisis antioksidan dari daun mangga arum manis akan tetap dilakukan sebagai perbandingan dengan hasil penelitian sebelumnya. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis berinisiatif untuk meneliti formulasi *edible film* berbasis karagenan dengan fortifikasi ekstrak daun mangga arum manis (*Mangifera indica* L.) sebagai antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. bagaimana profil fitokimia ekstrak daun mangga arum manis?
2. bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga arum manis?
3. bagaimana formulasi terbaik pembuatan *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis?
4. bagaimana karakterisasi *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis?
5. bagaimana aktivitas antioksidan *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. menentukan profil fitokimia ekstrak daun mangga arum manis.
2. menentukan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga arum manis.

3. menentukan formulasi terbaik pembuatan *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis.
4. menentukan karakterisasi *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis.
5. menentukan aktivitas antioksidan *edible film* berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun mangga arum manis.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam pengembangan ilmu pengetahuan, terutama memberikan informasi ilmiah mengenai pembuatan *edible film*. Pada penelitian ini juga telah dibuktikan bahwa fortifikasi ekstrak daun manga arum manis memberikan fungsi antioksidan pada *edible film* sehingga menambahkan fungsi lain pada *edible film*.

BAB II
METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga arum manis, tepung karagenan, etanol, n-heksana, etil asetat, metanol p.a, pati, pereaksi 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-asam sulfonat) (ABTS), padatan asam askorbat, padatan kalium persulfat, gliserol, HCl pekat, pereaksi dragendroff, pereaksi Lieberman burchard, NaOH 10%, $FeCl_3$ 1%, akuades.

2.2 Alat Penelitian

Peralatan utama yang digunakan adalah *vortex*, spektrofotometer UV-Vis, *rotary evaporator,* FTIR *spectrometers* SHIMADZU, mikropipet, oven, neraca analitik (*ohaus*), *Universal Tensile Machine MCT-2150, Scanning Electron Microscope* (SEM), *hotplate magnetik stirrer*, blender, cawan petridis, inkubator, jangka sorong digital, seperangkat penyaring *buchner*, desikator, kertas saring, rak tabung, corong spatula, gunting, sendok tanduk, botol semprot, botol vial, pipet tetes dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni - Oktober 2024. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Penguji Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Material Departemen Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel daun mangga arum manis dilakukan di Kelurahan Labakkang, Kecamatan Labakkang, Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan, Provinsi Sulawesi Selatan. Peta lokasi pengambilan sampel ditunjukkan pada Lampiran 1.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Daun Mangga Arum Manis

Daun mangga arum manis dicuci bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 48 jam. Selanjutnya daun mangga arum manis yang telah kering dihaluskan dengan blender lalu diayak menggunakan ayakan 40 mesh hingga menghasilkan serbuk halus (Seran et al., 2023)

2.4.2 Ekstraksi Daun Mangga Arum Manis

Sampel daun mangga arum manis yang telah dipreparasi diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat. Daun mangga arum manis direndam dengan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1 : 7 selama 3 x 24 jam serta dilakukan pengadukan secara berkala. Pergantian pelarut yang sama dilakukan setiap 24

jam. Kemudian maserat disaring dengan corong *buchner*. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator. Prosedur yang sama dilakukan untuk pelarut etil asetat dan etanol secara berturut-turut (Devika dan Justin, 2014).

2.4.3 Uji Fitokimia

2.4.3.1 Uji alkaloid.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi dragendorff. Hasil positif akan menghasilkan endapan merah atau jingga (Alydrus et al., 2023).

2.4.3.2 Uji flavonoid.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan NaOH 10%. Hasil positif apabila terbentuk warna *orange* atau jingga (Alydrus et al., 2023).

2.4.3.3 Uji saponin.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan akuades panas lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok dan ditambahkan HCL. Hasil positif apabila terbentuknya busa yang stabil (Alydrus et al., 2023).

2.4.3.4 Uji tanin.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi FeCl3 1%. Hasil positif apabila terbentuk warna hijau kehitaman (Alydrus et al., 2023).

2.4.3.5 Uji triterpenoid.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman burchard. Hasil positif apabila terbentuknya warna merah-ungu (Alydrus et al., 2023).

2.4.3.6 Uji steroid.

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman burchard. Hasil positif apabila terbentuknya warna hijau-biru (Alydrus et al., 2023).

2.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangga Arum Manis dengan Reagen ABTS

2.4.4.1 Pembuatan larutan ABTS.

Sebanyak 7,1 mg serbuk ABTS dan 3,5 mg kalium persulfat masing-masing dilarutkan dalam 5 ml akuades. Kedua larutan tersebut dicampurkan dalam labu

ukur 25 ml. Larutan diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap kemudian dihimpitkan sampai tanda batas dengan metanol p.a (Muthia et al., 2024).

2.4.4.2 Pembuatan larutan pembanding asam askorbat (vitamin c).

Asam askorbat ditimbang sebanyak 0,5 mg, masukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian dilarutkan dengan menggunakan metanol p.a sampai tanda batas sehingga dihasilkan larutan baku pembanding asam askorbat 10 ppm. Larutan baku pembanding 10 ppm dipipet masing-masing 0,1 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,8ml dan 1,6 ml dan dihimpitkan dengan menggunakan metanol p.a sampai tanda batas sehingga dihasilkan larutan dengan masing masing konsentrasi 0,5 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 4 ppm dan 8 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

2.4.4.3 Pembuatan larutan sampel ekstrak n-heksana daun mangga arum manis.

Sebanyak 50 mg ekstrak n-heksana daun mangga arum manis dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,08 mL; 0,16 mL; 0,32 mL; 0,64 mL dan 1,28 mL, dan diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 40 ppm; 80 ppm; 160 ppm; 320 ppm dan 640 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

2.4.4.4 Pembuatan larutan sampel ekstrak etil asetat daun mangga arum manis.

Sebanyak 25 mg ekstrak etil asetat daun mangga arum manis dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,08 mL; 0,16 mL; 0,32 mL; 0,64 mL dan 1,28 mL, dan diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 20 ppm; 40 ppm; 80 ppm; 160 ppm dan 320 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

2.4.4.5 Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol daun mangga arum manis.

Sebanyak 5 mg ekstrak etanol daun mangga arum manis dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL; 0,8 mL dan 1,6 mL, dan diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 5 ppm; 10 ppm; 20 ppm; 40 ppm dan 80 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

2.4.4.6 Uji aktivitas antioksidan dengan reagen ABTS.

Masing-masing larutan pembanding asam askorbat, larutan sampel dan larutan kontrol ditambahkan 2 ml ABTS lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi pada tempat gelap selama 30 menit kemudian diukur Absorbannya (A) pada panjang gelombang 744 nm. Persentase pengikat radikal bebas dapat dihitung menggunakan persamaan (1).

$$\%\text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko - Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \quad (1)$$

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya dibuat dalam kurva absorbansi sampel kemudian diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk mengetahui IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh adalah nilai IC_{50} (Mutiananda dan Mahbub, 2023).

2.4.5 Pembuatan *Edible Film*

2.4.5.1 Pembuatan larutan karagenan 3%, 5% dan 7%.

Karagenan ditimbang masing - masing sebanyak 3 g, 5 g dan 7 g kemudian dilarutkan masing-masing didalam 100 ml akuades. Larutan kemudian dipanaskan dan diaduk di atas hot plate stirrer pada suhu 50 ^{o}C (Supeni et al., 2015).

2.4.5.2 Pembuatan larutan pati.

Pati ditimbang sebanyak 7 g, kemudian dilarutkan didalam 100 ml akuades. Larutan kemudian dipanaskan dan diaduk di atas hot plate stirrer pada suhu 50 ^{o}C hingga homogen (Supeni et al., 2015).

2.4.5.3 Pembuatan *edible film.*

Edible film dibuat dengan komposisi 0,5 g ekstrak daun mangga arum manis, 45 ml karagenan 3%, 1,7 ml gliserol dan 15 ml pati 7% yang diaduk dan dipanaskan menggunakan hot plate stirrer pada suhu 50 ^{o}C. Larutan campuran dituang kedalam media cetak cawan petri kemudian *edible film* dikeringkan di oven pada suhu 50 ^{o}C selama 2 jam. Lembaran *edible film* kemudian dikelupas dari media cetak dan disimpan di dalam desikator. Prosedur yang sama dilakukan untuk larutan karagenan 5% dan 7% (Supeni et al., 2015).

2.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan *Edible Film* dengan Reagen ABTS

2.4.6.1 Pembuatan larutan sampel *edible film* karagenan 3%.

Sebanyak 25 mg *edible film* karagenan 3% dilarutkan dengan akuades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan akuades, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,08 mL; 0,16 mL;

0,32 mL; 0,64 mL dan 1,28 mL, dan diencerkan menggunakan akuades hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 20 ppm; 40 ppm; 80 ppm; 160 ppm dan 320 ppm (Hayati et al., 2020).

2.4.6.2 Pembuatan larutan sampel *edible film* karagenan 5%.

Sebanyak 50 mg *edible film* karagenan 5% dilarutkan dengan akuades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan akuades, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,08 mL; 0,16 mL; 0,32 mL; 0,64 mL dan 1,28 mL, dan diencerkan menggunakan akuades hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 40 ppm; 80 ppm; 160 ppm; 320 ppm dan 640 ppm (Hayati et al., 2020).

2.4.6.3 Pembuatan larutan sampel *edible film* karagenan 7%.

Sebanyak 250 mg *edible film* karagenan 7% dilarutkan dengan akuades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan akuades, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 5000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,04 mL; 0,08 mL; 0,16 mL; 0,32 mL dan 0,64 mL, dan diencerkan menggunakan akuades hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm; 200 ppm; 400 ppm; 800 ppm dan 1600 ppm (Hayati et al., 2020).

2.4.6.4 Uji aktivitas antioksidan dengan reagen ABTS (Mutiananda dan Mahbub, 2023).

Masing-masing larutan sampel *edible film* karagenan 3%, 5%, 7% dan larutan kontrol ditambahkan 2 ml ABTS lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi pada tempat gelap selama 30 menit kemudian diukur Absorbannya (A) pada panjang gelombang 744 nm. Persentase pengikat radikal bebas dapat dihitung menggunakan persamaan (2).

$$\%\text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko - Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \qquad (2)$$

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya dibuat dalam kurva absorbansi sampel kemudian diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk mengetahui IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh adalah nilai IC_{50} (Mutiananda dan Mahbub, 2023).

2.4.7 Uji Mekanik *Edible Film*

2.4.7.1 Uji kuat tarik dan elongasi.

Pengujian kuat tarik dilakukan dengan cara sampel dipotong dengan ukuran 5 x 2 cm. Pengukuran kuat tarik sampel dilakukan dengan menggunakan instrumen *Universal Tensile Machine MCT-2150.* Kuat tarik sampel diukur sampai putus. Hasil pengujian kuat tarik sekaligus diperoleh nilai persen elongasi. Kuat tarik dinyatakan dalam satuan MPa dan elongasi dalam satuan persen (%) (Liu et al., 2024).

2.4.7.2 Uji ketebalan.

Edible film diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. *Edible film* diukur pada 9 titik yang berbeda kemudian dirata-rata sebagai nilai hasil ketebalan (Unsa dan Paramastri, 2018).

2.4.7.3 Uji kelarutan.

Edible Film dipotong dengan ukuran 4 cm^2 dan ditimbang beratnya menggunakan cawan petri (m_1) yang sebelumnya telah dikeringkan dalam oven selama 20 menit pada suhu 105 ^oC. *Edible film* direndam dengan akuades 100 ml selama 24 jam pada suhu ruang. *Edible film* yang tidak larut dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105 ^oC. *Edible film* ditimbang hingga diperoleh bobot konstan (m_2). Kelarutan sampel *edible film* ditentukan menggunakan persamaan (3) (Ningrum et al., 2021):

$$\%\text{Kelarutan} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \qquad (3)$$

2.4.8 Uji FTIR

Analisis Spektrum FTIR dilakukan dengan menggunakan instrumen *Spektrofotometer Fourier Transform Infrared* (FTIR) SHIMADZU. Pengujian ini dilakukan dengan cara memotong sampel *edible film* kemudian hasil potongan tersebut di analisis dan di amati spektrum yang terbentuk antara bilangan gelombang dan transmitan hingga dapat diketahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel *edible film* (Elisusanti et al., 2018).

2.4.9 Uji Morfologi (SEM)

Analisis morfologi terhadap *edible film* dilakukan dengan menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscope* (SEM). Sampel masing-masing digunting dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm. Sampel ditempelkan pada set holder dengan perekat ganda kemudian dilapisi dengan logam emas dalam keadaan vakum. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam instrumen SEM kemudian diamati gambar topografi (Setiawan et al., 2015).