



# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar belakang

Pangan sebagai salah satu komoditas penting dan strategis bagi kebutuhan masyarakat Indonesia karena pangan merupakan kebutuhan dasar manusia yang harus dipenuhi. Pangan tidak hanya dapat dinikmati secara langsung, tetapi juga melewati proses pengolahan terlebih dahulu sehingga menghasilkan produk (Apriyani et al., 2021). Pengemasan produk menjadi hal yang penting bagi produk olahan pangan. Pengemasan adalah kegiatan merancang dan memproduksi wadah atau bungkus sebagai sebuah produk. Produk pangan yang sudah diolah hendaknya dikemas dengan baik sehingga dapat menjaga mutu produk (Budiman et al., 2018).

Plastik merupakan bahan kemasan pangan yang paling populer digunakan. Plastik banyak digunakan diberbagai sektor kehidupan. Hampir setiap produk industri menggunakan plastik sebagai pengemas. Setiap tahun sekitar 100 juta ton plastik diproduksi di dunia untuk digunakan di berbagai sektor industri dan sekitar itulah limbah plastik yang dihasilkan setiap tahun untuk memenuhi kebutuhan plastik dalam kehidupan sehari-hari (Afif et al., 2018). Selain itu, untuk mendaur ulang sampah plastik dibutuhkan biaya yang lebih tinggi dibandingkan dengan memproduksinya. Maka diperlukan pemikiran dan teknologi baru untuk membuat plastik yang ramah lingkungan (Sari et al., 2019).

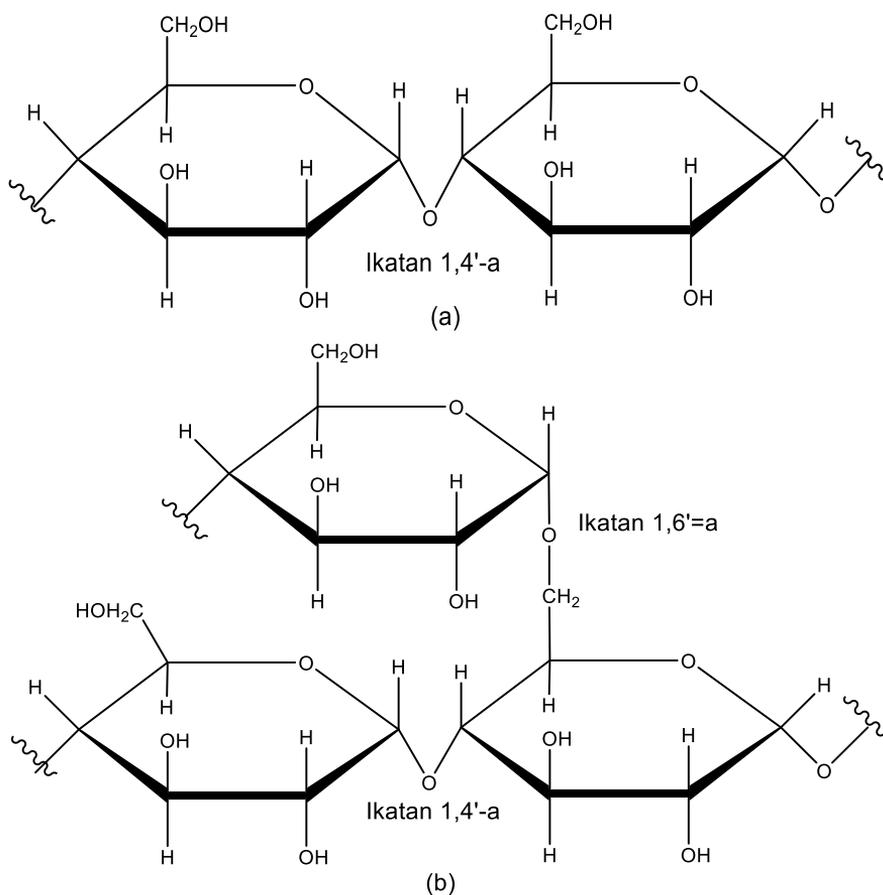
*Edible film* adalah lapisan tipis dari bahan alami yang aman dikonsumsi, berfungsi untuk melapisi bahan pangan, dan ramah lingkungan karena mudah terdegradasi di tanah maupun air (Nairfana dan Ramdhani, 2021). *Edible film* diterapkan langsung pada permukaan produk dan memiliki banyak keunggulan dibandingkan kemasan sintetik. Keunggulan tersebut termasuk dapat dimakan bersama produk, tidak mencemari lingkungan, meningkatkan sifat organoleptik produk, berfungsi sebagai suplemen gizi, serta dapat membawa flavor, pewarna, zat antimikroba, dan antioksidan (Ridlo et al., 2021).

*Edible film* harus mempunyai komposisi bahan yang dapat mendukung dan dapat diterapkan pada produk pangan yang diinginkan. Sifat fungsional, organoleptik, nutrisi dari edible film dapat ditingkatkan dengan menambahkan bahan kimia tertentu seperti antioksidan, antimikroba, nutrisi tambahan, dan lainnya. Akan tetapi, dapat juga menyebabkan terjadinya perubahan nyata pada sifat edible film (Manab et al., 2017). Oleh karena itu, juga berfungsi sebagai *active packaging* atau sebagai pembawa komponen aktif seperti antioksidan dan antimikroba sehingga dengan penambahan komponen aktif pada *edible film* dapat menambah nilai fungsi *edible film* (Sulistiyowati et al., 2019).

Bahan utama dalam pembuatan *edible film* salah satunya adalah polisakarida, dengan adanya perlakuan tertentu terhadap bahan utama yang mengandung polisakarida seperti tapioka ataupun pati dapat membentuk jaringan film (Sutra et al., 2020). Kegunaan bahan utama yang mengandung polisakarida seperti

pati telah banyak di gunakan dalam industri pangan sebagai *biodegradable* menggantikan polimer plastik karena memiliki nilai yang ekonomis serta memberikan karakteristik fisik yang baik dan dapat diperbaharui (deden et al., 2020).

*Edible film* dapat dibuat dari hidrokoloid yang terdapat di alam bebas contohnya seperti pati (Marudin et al., 2017). Pati alami merupakan jenis pati yang banyak di produksi oleh masyarakat. Selain di produksi banyak oleh masyarakat, pati alami ini memiliki kelebihan sebagai bahan dasar pembuatan edible film karena mudah tergelatinisasi pada suhu rendah, memiliki viskositas yang tinggi dan resistensinya rendah (Dewi et al., 2021). Ditinjau dari rumus kimianya, pati merupakan karbohidrat berbentuk polisakarida berupa polimer anhidro monosakarida dengan rumus umum  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Penyusun utama pati adalah amilosa dan amilopektin. Amilosa tersusun atas satuan glukosa yang saling berkaitan melalui ikatan 1-4 glukosida, sedangkan amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun atas 1-4 $\alpha$  glikosida dan mempunyai rantai cabang 1-6 $\alpha$  glukosida (Purnamawati dan Putra, 2021). Adapun rumus struktur amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Struktur (a) amilosa; (b) amilopektin (Murni et al., 2015)

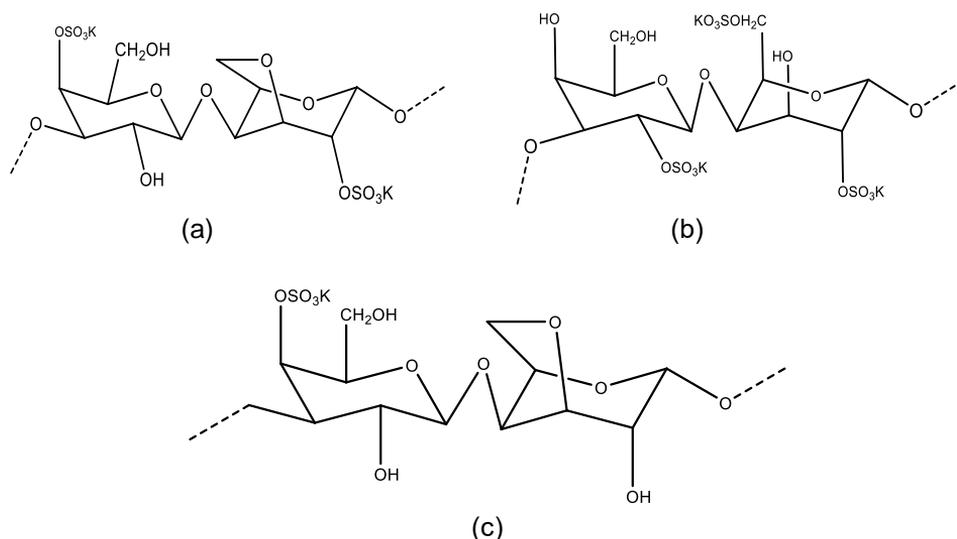
Menurut Santoso (2015), pati alami umumnya mempunyai banyak kelemahan diantaranya gel yang kohesif, suhu gelanisasi tinggi, kemampuan membentuk gel tinggi pada dispersi pati, ketahanan dispersi pati rendah terhadap asam dan agitasi. Sehingga pada pembuatan edible film dari pati alami masih memiliki sifat mekanik seperti *tensile strength* dan *elongation at break* yang masih kurang baik. Beberapa penelitian yang sudah diteliti sebelumnya oleh Dewi (2021), dimana pati alami berupa pati sagu di campurkan dengan minyak sawit masih bersifat rapuh sehingga mudah patah dan bersifat hidrofilik. Kekurangan sifat pati ini membuat pengguna terutama pada industri pangan menjadi terbatas. Oleh karena itu, diperlukan senyawa yang dapat dijadikan sebagai bahan untuk menunjang kualitas secara fisik *edible film* yang diperoleh.

*Plasticizer* merupakan senyawa organik dengan titik didih, berat molekul dan tekanan uap yang rendah dan biasa digunakan sebagai aditif polimer. Peran *plasticizer* yaitu untuk meningkatkan sifat mekanik polimer dengan membuat fleksibilitas yang tinggi (Luqman, 2021). *Plasticizer* merupakan zat aditif yang paling umum digunakan, hal ini disebabkan karena memiliki nilai yang ekonomis dan dapat digunakan dalam pemrosesan dan pengaplikasian bahan polimer (Wypych, 2023)

Gliserol merupakan salah satu *plasticizer* yang banyak digunakan karena cukup efektif mengurangi ikatan ikatan hidrogen internal sehingga akan meningkatkan jarak intermolekul. Gliserol juga memiliki sifat hidrofilik, sehingga cocok untuk bahan pembentuk plastik yang bersifat hidrofobik (Purnavita et al., 2020). Menurut kamsiati et al. (2017), menyebutkan bahwa penambahan gliserol sebagai *plasticizer* dapat membuat bioplastik menjadi lebih fleksibel dengan cara meregangkan ikatan antar molekul penyusun edible film.

Menurut Rahmayetti (2018), gliserol adalah senyawa *plasticizer* yang aman dan tidak beracun serta memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap sifat mekanik suatu polimer yakni meningkatkan kuat tarik dan elongasi. Jika dibandingkan dengan sorbitol, gliserol lebih menguntungkan karena mudah tercampur dalam larutan film dan terlarut dalam air (hidrofilik). Sedangkan sorbitol sulit bercampur dan mudah mengkristal pada suhu ruang. Kelebihan lain dari gliserol adalah bahan organik dengan berat molekul rendah sehingga apabila penambahan bahan baku dapat menurunkan kekakuan dari polimer sekaligus meningkatkan fleksibilitas pada *edible film*. Akan tetapi, penggunaan gliserol harus dibarengi dengan senyawa polisakarida yang bertindak sebagai bahan utama dalam pembuatan *edible film* (Coniwanti, 2014)

Karagenan adalah polisakarida yang memiliki banyak kandungan hidrokoloid sehingga dapat dijadikan bahan dasar pembuatan edible film karena memiliki banyak gugus hidroksil (Wulandari et al., 2021). Karagenan dapat diklasifikasikan menjadi enam kelas. Enam tipe karagenan tersebut diantaranya Iota ( $\tau$ ); Lambda ( $\lambda$ ); Kappa ( $k$ ); Theta ( $\theta$ ); Nu ( $\nu$ ); dan Mu ( $\mu$ ). Akan tetapi, tipe karagenan yang paling umum digunakan adalah tipe Iota ( $\tau$ ); Lambda ( $\lambda$ ); Kappa ( $k$ ) dan strukturnya dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur (a) kappa karagenan; (b) iota karagenan; (c) lambda karagenan (Necas dan Bartovsikova, 2013)

Sifat Fisik dari karagenan ditentukan oleh kation yang terkait bersama dengan konformasi unit gula dalam rantai polimer. Viskositas tergantung pada konsentrasi, suhu, keberadaan zat terlarut lainnya, dan jenis karagenan. Viskositas berbanding lurus secara eksponensial dengan konsentrasi. Viskositas baik yang dihasilkan dari karagenan dapat terjadi apabila dikombinasikan dengan polimer pengembang yang berbeda (Thakur dan Thakur, 2016). Sifat karagenan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Sifat Karagenan (Thakur dan Thakur, 2016)

Karagenan	Kappa Karagenan	Iota Karagenan	Lambda Karagenan
<b>Pembentukan gel ionik</b>	Gel dengan garam kalium	Gel dengan garam kalsium	Tidak ada pembentukan gel
<b>Tekstur gel</b>	Rapuh dengan sedikit sineresis	Elastis dan tidak ada sineresis	Freeze/thaw stabil
<b>Viskositas</b>	Thixotropik rendah	Thixotropik tinggi, sedang	Thixotropik tinggi, sedang; membentuk larutan yang viskositasnya tinggi
<b>Kelarutan dalam air</b>	Larut sempurna dalam air panas; sebagian larut dalam air dingin	Larut sempurna dalam air panas	Larut sempurna dalam air panas; sebagian larut dalam air dingin
<b>Stabilitas asam</b>	>pH 3,8, pH netral dan alkali	>pH 3,8, pH netral dan alkali	-

Penelitian sebelumnya yang menggunakan karagenan hasil ekstraksi dari rumput laut merah yang dilakukan oleh Nurlaila et al. (2013) memberikan hasil karakteristik terbaik untuk dijadikan bahan dasar dalam pembuatan *Edible Film* seperti kekuatan tarik, persen pemanjangan dan struktur internal polimer yang paling kompak dan padat. Selain itu, untuk menambah nilai fungsional edible film maka perlu dipadukan dengan senyawa lain dengan dilakukannya fortifikasi senyawa antioksidan dari alam. Fortifikasi senyawa antioksidan adalah proses penambahan bahan yang dapat bertindak sebagai antioksidan pada bahan baku untuk meningkatkan nilai gizi dan fungsi suatu produk (Alfiah, 2021).

Antioksidan adalah molekul senyawa yang stabil dalam memberikan elektron atau hidrogennya kepada molekul atau senyawa radikal bebas dan menetralkannya, sehingga mengurangi kemampuannya untuk melakukan reaksi berantai radikal bebas. Antioksidan ini dapat menunda ataupun bahkan menghambat kerusakan sel terutama melalui sifat penangkal radikal bebasnya. Antioksidan ini dapat berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai dan mencegah radikal bebas merusak molekul vital. Beberapa antioksidan diproduksi seperti *glutation*, *ubiquinol* dan asam urat (Ibroham et al., 2022)

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan dapat melawan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk dari hasil metabolisme dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kanker, arteriosklerosis dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi (Agustina, 2017).

Metode yang biasa digunakan dalam pengujian antioksidan adalah metode serapan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) karena merupakan metode yang terbilang sederhana, cepat, mudah, cukup teliti dan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat. Metode ini memiliki prinsip yaitu DPPH akan mengambil atom hidrogen (transfer elektron) yang teradapat dalam suatu senyawa antioksidan. Maka menyebabkan absorpsi DPPH akan berkurang yang ditandai dengan adanya perubahan warna radikal bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Metode ini dinyatakan dengan nilai perendaman DPPH (Sakka dan Muin, 2022).

Metode lain yang dapat digunakan dalam pengujian antioksidan yaitu metode ABTS. Metode ABTS ini memiliki keunggulan yaitu dapat memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang *visible* dan waktu reaksi yang cepat. ABTS juga memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut organik maupun air, sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik. Aktivitas antioksidan senyawa dalam sampel dapat diamati dengan penurunan intensitas warna biru pada ABTS menggunakan instrumen spektrofotometer uv-vis dengan melihat nilai absorbansi untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet sinar tampak adalah 700-750 nm (Mutiananda dan Mabub, 2023).

Sumber antioksidan diantaranya yaitu karotenoid, flavonoid, asam amino, protein yang dapat kita jumpai di sekitar kita meliputi sayur sayuran, buah buahan ataupun tanaman tanaman obat herbal yang sering kita konsumsi. Salah satu

sumber antioksidan yang dapat kita gunakan yaitu tanaman bidara bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*).

Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) merupakan jenis tumbuhan yang tumbuh baik pada tanah yang subur. Anggota *famili Rhamnaceae*, bidara termasuk dalam tanaman lengkap, dimana bidara merupakan tumbuhan yang bandel, yang dapat mengatasi suhu ekstrem dan mampu bertahan hidup pada lingkungan yang agak kering. Pada tanaman bidara (*Ziziphus mauritina L.*) memiliki kegunaan yaitu untuk mengobati abses (bisul), gangguan hati, demam, asma, luka, bengkak dan diare. Selain itu tanaman bidara juga bisa berguna sebagai antiinflamasi (meredakan peradangan, serta nyeri), antimikroba (sebagai antibiotik), mencegah timbulnya penyakit tumor, antifungi (mencegah jamur), antioksidan (Chairunnisa et al., 2019).

Menurut Dillasamola et al. (2023) Klasifikasi tanaman bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)  
 Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)  
 Super Divisi : *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)  
 Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)  
 Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua / dikotil)  
 Sub Kelas : *Rosidae*  
 Ordo : *Rhamnales*  
 Famili : *Rhamnaceae*  
 Genus : *Ziziphus*  
 Spesies : *Ziziphus mauritiana Lamk*

Tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) merupakan jenis tumbuhan yang tumbuh pada tanah yang subur, serta dapat di tanaman di dataran rendah maupun dataran tinggi. Tanaman ini memiliki bentuk daun bulat telur, ujung daun meruncing, pangkal daun bangun bulat telur, tepi daun majemuk ganda atau rangkap 4, daging daun seperti kertas, pertulangan menjari, warna permukaan bagian atas daun hijau tua mengkilap, dan warna permukaan bagian bawah daun putih berbulu lembut (Raharjeng dan Masliyah, 2020). Adapun wujud tanaman bidara dapat di lihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Morfologi tanaman daun bidara (Raharjeng dan Masliyah, 2020)

Tanaman bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*) memiliki banyak manfaat terkhusus pada bagian daun yang banyak di manfaatkan oleh masyarakat sebagai obat antioksidan (Nova dan Firda, 2024). Selain itu, daun bidara memiliki kandungan vitamin B1, B2, dan vitamin C (Supratman, 2020). Tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) memiliki zat kimia yaitu berupa polifenol, saponin, tanin, dan flavonoid (Askur et al., 2021). Penelitian yang di lakukan oleh Krissanti (2018) menunjukkan hasil ekstrak daun bidara memiliki persentase zat kimia yaitu 0,03% flavonoid, 0,12% tanin, 0,08% saponin dan 0,06 alkaloid. Sehingga diketahui zat yang melimpah dalam daun bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) yaitu flavonoid dan saponin.

Penelitian terkait potensi daun bidara sebagai antioksidan telah dilakukan oleh Sakka (2022), yang menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan perbandingan kadar dengan asam askorbat memiliki hasil yang terbilang cukup tinggi yaitu 119,84  $\mu\text{g/ml}$ . Serta penelitian yang dilakukan Safrudin dan Nurfitasari (2018) meyebutkan ekstrak daun bidara memiliki beragam senyawa aktif hasil dari pengujian fitokimia seperti alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin. Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka pada penelitian ini dilakukan pembuatan edible film dengan berbahan dasar karagenan yang difortifikasi ekstrak daun bidara dan dilakukan pengujian karakteristik fisik serta uji aktivitas antioksidan.

## 1.2 Rumusan Masalah

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

1. bagaimana profil fitokimia daun bidara?
2. bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara?
3. bagaimana formulasi pembuatan edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi ekstrak daun bidara?
4. bagaimana bagaimana karakteristik edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun bidara?
5. bagaimana aktivitas antioksidan edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi ekstrak daun bidara?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini untuk:

1. menentukan profil fitokimia dari daun bidara.
2. menentukan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara
3. menentukan formulasi terbaik pembuatan edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun bidara.
4. menentukan karakterisasi terbaik edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun bidara.
5. menentukan aktivitas antioksidan edible film berbahan dasar karagenan dengan fortifikasi daun bidara

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini yaitu dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu material pangan, khususnya dalam formulasi edible film berbasis karagenan dengan penambahan ekstrak daun bidara sebagai sumber antioksidan alami dan berpotensi dalam memperluas wawasan tentang penggunaan bahan-bahan alami untuk meningkatkan sifat fungsional kemasan, seperti aktivitas antioksidan. Selain itu, penelitian ini mendukung inovasi dalam bidang biopolimer dan teknologi kemasan ramah lingkungan yang relevan dengan kebutuhan industri pangan modern.

## **BAB II METODE PENELITIAN**

### **2.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Bidara yang diperoleh di Kelurahan Tamalanrea Jaya Kecamatan Tamalanrea Kota Makassar, tepung Karagenan, etanol, metanol pa, n-heksan, etil asetat, akuades, 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, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCL<sub>3</sub> 1%, gliserol, tepung tapioka, alumunium foil, *plastic wrap* dan sabun, NaOH 10%.

### **2.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam peneltian ini adalah neraca analitik OHAUS, *vortex*, blender, oven, Rotary evaporator, FTIR *Spectrometers* SHIMADZU, jangka sorong digital, *Universal Tensile Machine* MCT-2150, cawan petri, inkubator, corong, gunting, spatula, sendok tanduk, botol semprot, botol vial, botol vial gelap, hot plate, mikropipet, pipet tetes, desikator, rak tabung, spektrofotometer UV-Vis, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

### **2.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juni hingga Oktober 2024 di kompleks perumahan dosen unhas tamalanrea sebagai lokasi pengambilan sampel, Laboratorium Biokimia, Laboratorium kimia terpadu departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Material, Departemen Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Laboratorium Penguji Badan Penelitian dan Pengembangan Industri.

### **2.4 Prosedur Penelitian**

#### **2.4.1 Preparasi daun bidara**

Daun bidara dicuci bersih, kemudian dikeringkan di dalam ruangan yang tidak terkena sinar matahari langsung hingga kandungan air hilang. Selanjutnya daun bidara yang telah kering dihaluskan dengan blender lalu diayak hingga menghasilkan serbuk halus (Putri et al., 2022).

#### **2.4.2 Ekstraksi daun bidara**

Serbuk daun bidara diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat. Serbuk daun bidara direndam dengan pelarut n-heksan 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 (Alydrus et al., 2023).

### **2.4.3 Uji fitokimia**

#### **2.4.3.1 Uji alkaloid.**

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.**

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.**

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.**

Ekstrak dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif apabila terbentuk warna hijau kehitaman (Alydrus et al., 2023).

#### **2.4.3.5 Uji triterpenoid.**

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.**

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 untuk ekstrak daun bidara**

#### **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 dan dihipitkan sampai tanda batas dengan menggunakan etanol. Larutan diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap kemudian dihipitkan sampai tanda batas dengan menggunakan methanol 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 metanol p.a sampai tanda batas sehingga dihasilkan larutan induk pembanding asam askorbat 10 ppm. Larutan induk pembanding 10 ppm dipipet masing-masing 0,5 ml; 1 ml; 2 ml, 4 ml dan 8 ml ke dalam labu ukur 10 ml, dan diencerkan 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-heksan.**

0,04 g ekstrak daun bidara dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 800 ppm. Kemudian larutan dipipet masing-masing sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 4 ml dan 8 ml, ke dalam labu ukur 10 ml lalu 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.**

0,01 g ekstrak daun bidara dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 200 ppm. Kemudian larutan dipipet masing-masing sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 4 ml dan 8 ml, ke dalam labu ukur 10 ml lalu diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 40 ppm; 80 ppm dan 160 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

#### **2.4.4.5 Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol.**

0,01 g ekstrak daun bidara dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml. kemudian dihimpitkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 200 ppm. Kemudian larutan dipipet masing-masing sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 4 ml dan 8 ml, ke dalam labu ukur 10 ml lalu diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 40 ppm; 80 ppm dan 160 ppm (Sakka dan Muin, 2022).

#### **2.4.4.6 Pengujian aktivitas antioksidan.**

Masing-masing larutan pembanding asam askorbat dan larutan sampel tiap Ekstrak dipipet sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan 2 ml ABTS lalu dikocok menggunakan vortex dan diinkubasi pada ruangan tertutup selama 30 menit kemudian diukur Absorbannya (A) pada panjang gelombang 743 nm dan blanko (1 ml metanol) pada panjang gelombang 743 nm (Mutiananda dan Mahbub, 2023). Persentase pengikat radikal bebas dapat dihitung menggunakan persamaan (1).

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}}$$

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* dari karagenan**

### **2.4.5.1 Pembuat larutan karagenan 3%, 5%, 7%.**

Karagenan ditimbang masing-masing sebanyak 3, 5, 7 g kemudian dilarutkan masing masing dalam 100 ml akuades. Larutan kemudian dipanaskan dan diaduk diatas *hot plate stirrer* pada suhu 50°C (Supeni et al., 2015).

### **2.4.5.2 Pembuatan larutan pati 7%.**

Tepung tapioka ditimbang sebanyak 7 g, kemudian dilarutkan didalam 100 ml akuades. Larutan kemudian dipanaskan dan diaduk di atas *ot plate stirrer* pada suhu 50 °C (Supeni et al., 2015).

### **2.4.5.3 Pembuatan *edible film*.**

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

## **2.4.6 Uji aktivitas antioksidan *edible film* dengan metode abts**

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

Sebanyak 0,25 gram *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 5000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,05 mL; 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL dan 0,8 mL, dan dicukupkan volumenya menggunakan akuades hingga mencapai 1 ml sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 250 ppm; 500 ppm; 1000 ppm; 2000 ppm dan 4000 ppm (Hayati et al., 2020).

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

Sebanyak 0,5 gram *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 10.000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,05 mL; 0,1 mL;

0,2 mL; 0,4 mL dan 0,8 mL, dan dicukupkan volumenya menggunakan akuades hingga mencapai 1 ml sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm; 1000 ppm; 2000 ppm; 4000 ppm dan 8000 ppm (Hayati et al., 2020).

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

Sebanyak 0,5 gram *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 10.000 ppm. Kemudian larutan dipipet masing masing sebanyak 0,05 mL; 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL dan 0,8 mL, dan dicukupkan volumenya menggunakan akuades hingga mencapai 1 ml sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm; 1000 ppm; 2000 ppm; 4000 ppm dan 8000 ppm (Hayati et al., 2020).

#### 2.4.6.4 Uji aktivitas antioksidan dengan reagen abts.

Masing-masing larutan sampel *edible film* karagenan 3%, 5%, dan 7% ditambahkan 2 ml ABTS lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi pada tempat gelap kemudian diukur Absorbansinya (A) pada panjang gelombang 744 nm dan blanko (4 ml akuades) pada panjang gelombang 744 nm (Mutiananda dan Mahbub, 2023). Persentase pengikat radikal bebas dapat dihitung menggunakan persamaan (2)

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

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 ketebalan.

Pengukuran ketebalan *edible film* diukur menggunakan mikrometer digital dengan ketelitian 1  $\mu\text{m}$  pada Sembilan titik berbeda yang dilakukan secara acak. Nilai ketebalan ditentukan dari rata rata Sembilan titik pengukuran (Rusli et al., 2017).

#### 2.4.7.2 Uji kelarutan.

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

$$\%K\text{el\text{a}r\text{u}t\text{a}n} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (3)$$

#### 2.4.7.3 Uji kuat tarik dan pemanjangan.

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

#### 2.4.8 Uji FTIR

Analisis Spektrum FTIR dilakukan dengan menggunakan alat 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 transmittan hingga dapat diketahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel *edible* (Elisusanti et al. 2018).

#### 2.4.9 Uji morfologi (SEM)

Analisi morfologi terhadap *edible film* dilakukan dengan menggunakan *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 lalu dimasukkan pada tempatnya di SEM kemudian gambar topografi diamati (Setiawan et al., 2015).