

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengemasan merupakan salah satu aspek vital dalam industri makanan karena berperan penting dalam melindungi produk dari kerusakan, kontaminasi dan penurunan mutu selama distribusi dan penyimpanan. Namun, penggunaan kemasan konvensional yang terutama terbuat dari plastik berbasis minyak bumi telah menimbulkan masalah lingkungan yang serius karena sulit terurai. Berdasarkan OECD (OECD, 2022), produksi sampah plastik global tahunan telah mengalami peningkatan signifikan, dari 156 juta ton pada tahun 2000 menjadi 353 juta ton pada tahun 2019. Hanya 9% dari total sampah plastik yang berhasil didaur ulang, selebihnya dibuang di tempat pembuangan yang tidak teratur, dibakar secara terbuka, atau dilepaskan ke lingkungan. Kondisi ini juga ditambah dengan pembuangan akhir masa pakai yang tidak memadai, pada tahun 2019 mengakibatkan 22 juta ton (Mt) bahan plastik bocor ke lingkungan dan 1,7 Mt mengalir ke lautan yang berkontribusi pada polusi plastik yang terus-menerus. Oleh karena itu, pengembangan kemasan yang dapat terurai secara hayati, yang terdiri dari komponen ramah lingkungan (*biodegradable*), tidak beracun dan mudah terurai dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti plastik konvensional.

Biopolimer alami kini banyak dilirik sebagai kandidat utama pengganti plastik berbasis minyak bumi untuk menanggapi permasalahan ini. Salah satu keunggulan utama biopolimer adalah kemampuannya untuk terurai secara alami dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan plastik konvensional. Selain itu, biopolimer juga memiliki sifat biokompatibilitas, yang membuatnya aman untuk digunakan dalam aplikasi makanan dan medis. Di antara berbagai biopolimer yang tersedia, pektin dan kitosan menjadi dua material yang paling menjanjikan. Pektin merupakan salah satu jenis polimer alami yang menjanjikan sebagai bahan dalam pembuatan plastik *biodegradable*. Pektin sejenis polisakarida alami yang ditemukan dalam dinding sel tumbuhan mengandung rantai linier asam D-galakturonat dalam ikatan $\alpha(1-4)$ dengan beberapa -COOH dalam bentuk metil ester (Dirpan et al., 2024; H. Wang et al., 2020). Pektin dapat diekstraksi dari berbagai sumber alami, termasuk buah-buahan seperti jeruk, apel, lemon, serta biji-bijian dan dapat berasal dari limbah pertanian seperti kulit lemon, pitaya, *tomato*, *pomelo*, *dragon fruit*, dan *passion fruit* (Alancay et al., 2017; Jiang et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Tien et al., 2023). Pektin dapat digolongkan menjadi dua yaitu pektin metoksil tinggi dengan derajat esterifikasi karboksil lebih tinggi dari 50% dan pektin metoksil rendah dengan derajat esterifikasi karboksil kurang dari 50% (W. Lin et al., 2024). Pektin telah menarik perhatian luas sebagai sumber potensial untuk biopolimer dalam pengemasan pangan karena sifat-sifatnya yang unik, seperti biodegradabilitas (Firdaus et al., 2024), biokompatibilitas, dan kemampuan membentuk film yang kokoh (Qiang et al., 2024). Gambaran umum

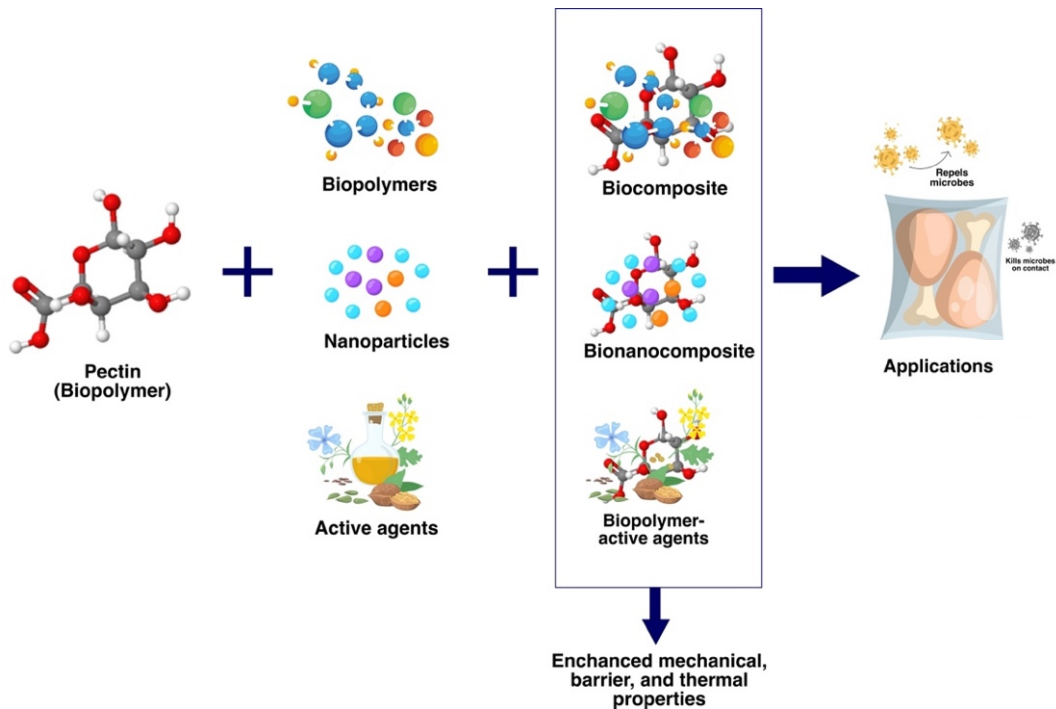
pektin sebagai biopolimer dalam kemasan makanan disajikan pada Gambar 1. Kemasan berbasis pektin umumnya dianggap aman (GRAS) oleh Administrasi Makanan dan Obat (FDA) (Eça et al., 2015). Namun, sebagai material pengemasan, pektin memiliki kekurangan, seperti sifat mekanik yang rendah dan ketahanan terhadap kelembapan yang buruk, sehingga membatasi penggunaannya secara mandiri.

Sebaliknya, kitosan merupakan polisakarida kationik hasil deasetilasi kitin dari limbah kerang ataupun limbah kulit udang, memiliki sifat mekanik yang lebih baik dibandingkan pektin, termasuk kekuatan tarik (*tensile strength*) yang tinggi (Vadalà et al., 2024). Namun, kitosan juga memiliki kelemahan, seperti sifat rapuh (*brittle*) yang mengurangi fleksibilitasnya, ketahanan yang rendah terhadap kelembapan dan oksigen, serta sifat mekanik yang kurang ideal untuk aplikasi tertentu. Oleh karena itu, meskipun pektin dan kitosan memiliki keunggulan masing-masing, kelemahan kedua material ini memerlukan pendekatan inovatif untuk mengoptimalkan potensi penggunaannya.

Salah satu pendekatan inovatif yang muncul dalam beberapa tahun terakhir adalah metode *layer-by-layer* (LBL), di mana dua material dengan sifat saling melengkapi digabungkan dalam struktur bilayer. Metode ini memanfaatkan interaksi elektrostatik antara molekul bermuatan berbeda, dalam hal ini pektin yang bermuatan negatif dan kitosan yang bermuatan positif, untuk membentuk struktur yang padat dan stabil. Pendekatan LBL memungkinkan optimalisasi sifat fisikokimia material pengemasan, seperti peningkatan kekuatan mekanik, penghalang terhadap kelembapan, dan kemampuan penghalang gas. Selain itu, metode ini mengatasi masalah flokulasi atau pembentukan gel yang biasanya terjadi jika kedua polimer dicampur secara langsung. Struktur bilayer memberikan fleksibilitas tambahan, karena sifat unik masing-masing lapisan dapat dimanfaatkan secara maksimal. Misalnya, lapisan berbasis pektin dapat dioptimalkan untuk ketahanan terhadap kelembapan, sedangkan lapisan berbasis kitosan dapat meningkatkan sifat antimikroba dan biokompatibilitas.

Akhir-akhir ini, perkembangan produksi film kemasan untuk makanan yang menggunakan polimer *biodegradable* berbasis bio seperti pektin, yang dikombinasikan dengan aditif alami atau sintesis guna meningkatkan sifat-sifat material dan umur simpan produk; telah menjadi solusi menarik dalam industri makanan. Pengemasan aktif adalah salah satu inovasi penting dalam industri makanan, yang tidak hanya melindungi makanan secara fisik tetapi juga memperpanjang masa simpannya melalui pencegahan kontaminasi mikroba dan kerusakan oksidatif (Dirpan et al., 2022, 2023). Telah banyak penelitian yang menambahkan zat penguat seperti nanofiller (Deshmukh et al., 2022; Lei et al., 2023; Przybyszewska et al., 2023), biopolimer (de Oliveira Júnior et al., 2023; Kannan et al., 2023; X. Lin et al., 2023), pemlastis, dan zat alami seperti minyak esensial kedalam matriks kemasan (Chaichi et al., 2023; Qin et al., 2024). Dalam konteks ini, penambahan senyawa bioaktif seperti asam galat ke dalam sistem bilayer berbasis pektin dan kitosan dapat memberikan nilai tambah yang signifikan. Asam galat, senyawa fenolik yang banyak ditemukan dalam tanaman, memiliki aktivitas

antimikroba dan antioksidan yang kuat. Penambahan asam galat ke dalam lapisan kitosan diharapkan tidak hanya meningkatkan perlindungan terhadap mikroorganisme tetapi juga menambah stabilitas kimia material pengemasan. Namun, integrasi asam galat ke dalam matriks film bilayer memerlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan kestabilan senyawa, distribusi yang merata, dan kompatibilitasnya dengan struktur bilayer.



Gambar 1. Pektin berbasis biopolimer dalam aplikasi sebagai kemasan aktif

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi besar biopolimer dan pendekatan bilayer dalam pengembangan material pengemasan. Pektin dan kitosan telah diidentifikasi sebagai biopolimer yang memiliki potensi besar untuk digunakan dalam pengemasan aktif, seperti yang ditunjukkan oleh Liu et al. (2023) (Liu et al., 2023). Namun, kelemahan masing-masing material, seperti sifat mekanik yang rendah pada pektin dan sifat rapuh pada kitosan, memerlukan pendekatan kombinasi untuk meningkatkan performanya. Salah satu pendekatan yang efektif adalah penggunaan film bilayer, di mana penelitian oleh Fu et al. (2022) menunjukkan bahwa pendekatan ini mampu meningkatkan sifat fisikokimia, seperti kekuatan mekanik dan penghalang kelembapan, dibandingkan dengan film monolayer (Fu et al., 2022). Selain itu, penambahan senyawa bioaktif seperti asam galat juga telah terbukti meningkatkan aktivitas antimikroba dan antioksidan tanpa merusak sifat mekanik film (Fang et al., 2018). Penelitian lainnya oleh Cotrim et al. (2024) menunjukkan bahwa penambahan CaCl_2 ke dalam matriks pektin dapat meningkatkan kekuatan mekanik

film melalui pembentukan ikatan silang (Cotrim et al., 2024). Namun, hingga saat ini, belum ada penelitian yang secara komprehensif mengintegrasikan pendekatan film bilayer berbasis pektin-kitosan dengan penambahan asam galat sebagai agen antimikroba dan penambahan CaCl_2 untuk meningkatkan kekuatan mekanik lapisan pektin. Penelitian ini memiliki keunikan dalam menggabungkan ketiga pendekatan tersebut untuk menghasilkan material pengemasan aktif yang inovatif dengan sifat mekanik, penghalang kelembapan, dan aktivitas antimikroba yang optimal. Hasil dari penelitian ini berpotensi memberikan kontribusi signifikan dalam upaya global untuk mengembangkan solusi kemasan makanan yang ramah lingkungan dan multifungsi.

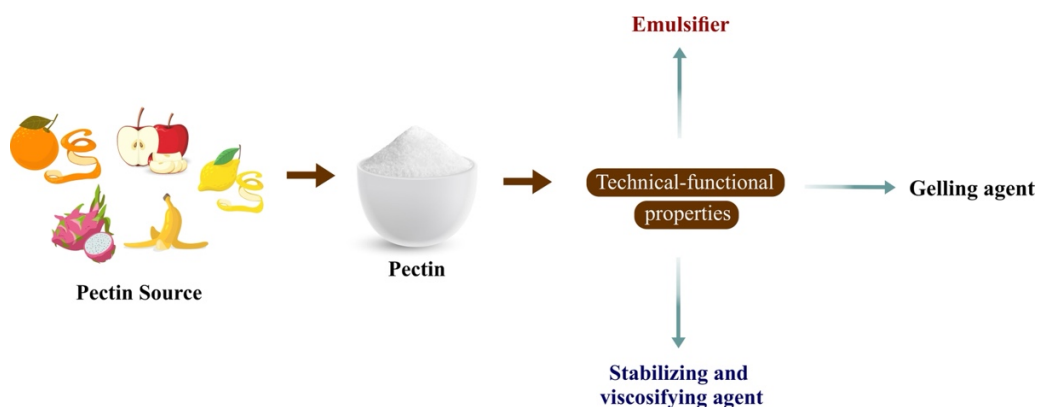
a. Sumber Pektin

Pektin adalah jenis polisakarida kompleks yang secara alami ada di dinding sel dan lamela pada semua tumbuhan. Karena itu, pektin bisa diperoleh dari berbagai buah, sayuran, dan juga limbah pertanian. Walaupun pektin bisa diekstraksi dari berbagai tanaman, dalam industri atau secara konvensional, sumber utamanya berasal dari kulit jeruk dan kulit/pulp apel karena hasil ekstraksi yang tinggi dan ketersediaannya yang tinggi sebagai limbah industri pengolahan makanan (Dubey et al., 2023; Ma et al., 2019). Saat ini, permintaan yang meningkat dan minat terhadap berbagai sifat fungsional pektin telah membuka peluang penggunaan produk sampingan dan limbah lain dari industri makanan dan pertanian untuk ekstraksi pektin. Beberapa sumber baru yang menjanjikan seperti kulit pisang (Ahsan et al., 2024), kulit mangga (Gemechu et al., 2024), *pomelo peel* (Hossain et al., 2024; Yu et al., 2024), limbah kakao (Girón-Hernández et al., 2024; Pinkaew et al., 2024), pulp dan ampas kopi (Biratu et al., 2024; Reichembach et al., 2024).

Secara umum, karakteristik pektin dalam penggunaan komersial sangat dipengaruhi oleh sumber bahan pektin, metode ekstraksi, kandungan residu asam galakturonat, tingkat metoksilasi/esterifikasi (DM/DE), komposisi gula netral, dan berat molekulnya. Sifat-sifat pektin seperti kelarutan, kemampuan membentuk gel, dan kemampuan membentuk film sangat bergantung pada sumber dan tingkat esterifikasinya. Pektin dengan metoksil tinggi memiliki $\text{DE} > 50\%$ dan metoksil rendah yaitu $\text{DE} < 50\%$. Film kemasan dengan derajat esterifikasi tinggi cenderung menunjukkan kekuatan gel yang lebih baik, viskositas yang lebih tinggi, dan kestabilan yang lebih tinggi dalam kondisi penyimpanan yang berbeda (Chinnathambi et al., 2024). Film pektin dengan tingkat esterifikasi tinggi juga memiliki daya serap air yang lebih rendah dan ketahanan mekanik yang lebih baik, menjadikannya lebih cocok untuk aplikasi kemasan pangan yang memerlukan penghalang yang efektif terhadap kelembapan dan gas (Fu et al., 2022). Selain itu, penambahan bahan plasticizer seperti gliserol dapat meningkatkan fleksibilitas film pektin (Antoniou et al., 2014). Sehingga derajat esterifikasi pada pektin mempengaruhi sifat fisik dan mekanik film untuk aplikasi kemasan pangan.

Berdasarkan data karakteristik buah pamelo (*Citrus maxima* Merr.) yang telah matang, diketahui bahwa rata-rata berat satu buah pamelo berkisar antara 1,3 hingga 1,8 kg, dengan proporsi albedo mencapai 18–27% (berbasis berat basah)

(Gamonpilas et al., 2021). Dengan menggunakan estimasi berat rata-rata 1,55 kg dan proporsi albedo sebesar 22,5%, diperoleh bahwa albedo dalam satu buah dapat mencapai sekitar 348,75 gram. Mengacu pada kandungan air albedo sebesar 70–73%, maka berat kering albedo diperkirakan sekitar 99,38 gram. Berdasarkan literatur sebelumnya yang melaporkan kandungan pektin pada albedo pamelos sebesar 13,6% dari berat kering, maka estimasi pektin yang dapat diekstraksi dari satu buah pamelos matang adalah sekitar 13,52 gram. Temuan ini menunjukkan bahwa albedo pamelos merupakan sumber biomassa yang sangat potensial dalam produksi pektin berbasis limbah agroindustri.



Gambar 2. Sifat tekno-fungsional pektin

Pektin memiliki beberapa sifat teknis-fungsional yang signifikan (Gambar 2). Dalam industri makanan, pektin sering digunakan sebagai agen pengental dan penstabil, serta telah diakui aman oleh *Food and Drug Administration* (FDA). Selain itu, pektin memiliki sifat biodegradabilitas, biokompatibilitas, dan edibilitas yang membuatnya cocok sebagai matriks polimerik untuk pembuatan film kemasan aktif yang dapat dimakan (Espitia et al., 2014). Penelitian lain menunjukkan bahwa pencampuran pektin dengan polimer lain, seperti pullulan, dapat meningkatkan sifat film pektin. Kombinasi ini membentuk ikatan hidrogen antarmolekul yang meningkatkan stabilitas termal dan hidrofobisitas permukaan film, yang sangat penting untuk aplikasi kemasan makanan (Priyadarshi et al., 2021). Inovasi lebih lanjut melibatkan pengembangan film komposit pektin dengan penambahan nanopartikel seperti titanium oksida (TiO_2). Penambahan nanopartikel TiO_2 ke dalam film pektin tidak hanya meningkatkan sifat mekanik dan penghalang uap air tetapi juga memberikan kapasitas penyaringan sinar UV, menjadikan film ini ideal sebagai bahan kemasan makanan yang ramah lingkungan dan fungsional (Dash et al., 2019). Selain itu, film pektin juga dapat dimodifikasi dengan bahan-bahan alami lainnya untuk meningkatkan sifat antimikroba dan antioksidan. Misalnya, penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak polifenol dari teh ke dalam film pektin dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan antimikroba, yang sangat penting

untuk memperpanjang masa simpan produk makanan (Lei et al., 2019). Berdasarkan hal tersebut, pektin menawarkan solusi inovatif dan ramah lingkungan untuk aplikasi kemasan makanan, memberikan perlindungan yang efektif terhadap mikroba dan oksidasi, serta meningkatkan kualitas dan keamanan produk makanan.

b. Kemasan Film Bilayer

Film bilayer atau multilayer telah menjadi fokus utama dalam pengembangan material pengemasan modern, terutama karena kemampuannya untuk mengombinasikan dua atau lebih lapisan material dengan sifat saling melengkapi. Setiap lapisan dalam film ini dirancang untuk memenuhi fungsi tertentu, seperti meningkatkan sifat penghalang terhadap kelembapan, gas, atau oksigen, serta memberikan kekuatan mekanik yang lebih baik (Ganjeh et al., 2024). Kombinasi ini membuat film bilayer/multilayer lebih unggul dibandingkan film monolayer, yang cenderung memiliki keterbatasan jika digunakan secara mandiri. Misalnya, film bilayer berbasis pektin dan kitosan memungkinkan optimalisasi sifat penghalang kelembapan dan gas dari pektin, serta sifat antibakteri dari kitosan, sehingga cocok untuk aplikasi seperti pengemasan makanan aktif yang membutuhkan perlindungan tambahan terhadap kontaminasi mikroorganisme dan oksidasi.

Proses fabrikasi film bilayer umumnya menggunakan metode *layer-by-layer* (LBL), yang memanfaatkan interaksi elektrostatik antara material bermuatan berbeda, seperti pektin bermuatan negatif dan kitosan bermuatan positif. Metode ini menawarkan banyak keunggulan, termasuk kontrol presisi terhadap ketebalan lapisan, kompatibilitas antar lapisan, serta kemampuan untuk menambah zat bioaktif seperti asam galat. Sebagai senyawa fenolik dengan aktivitas antimikroba dan antioksidan yang kuat, asam galat dapat meningkatkan efektivitas lapisan kitosan, tanpa mengorbankan kestabilan struktur bilayer secara keseluruhan. Dengan pendekatan ini, film bilayer tidak hanya ramah lingkungan tetapi juga memenuhi kebutuhan multifungsi dalam pengemasan pangan.

Namun, dalam pengembangannya, film bilayer/multilayer menghadapi tantangan seperti kompatibilitas antar lapisan dan biaya produksi yang lebih tinggi dibandingkan film monolayer (T. Li et al., 2024). Meskipun demikian, dengan adanya teknologi fabrikasi yang terus berkembang, material bilayer berbasis pektin dan kitosan berpotensi menjadi solusi pengemasan yang lebih ramah lingkungan dan fungsional. Penggunaannya tidak hanya membantu mengurangi limbah plastik, tetapi juga memperpanjang masa simpan produk, menjadikannya alternatif yang relevan dengan kebutuhan industri pangan masa kini.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan plastik berbasis minyak bumi sebagai material pengemasan telah menimbulkan dampak serius terhadap lingkungan, terutama akibat akumulasi mikroplastik yang sulit terurai, sehingga mendesak kebutuhan akan material alternatif yang ramah lingkungan. Pektin dan kitosan, sebagai biopolimer alami yang biodegradable dan biokompatibel, memiliki potensi besar sebagai pengganti plastik

konvensional, tetapi penggunaannya secara individu terbatas oleh kelemahan seperti sifat mekanik yang rendah, serta kemampuan penghalang terhadap kelembapan dan gas yang kurang memadai. Pendekatan *layer-by-layer* (LBL) yang menggabungkan pektin dan kitosan dalam struktur bilayer menawarkan peluang untuk mengoptimalkan sifat fisikokimia material ini, namun kompatibilitas antar lapisan dan stabilitas film masih memerlukan penelitian lebih lanjut. Selain itu, integrasi senyawa bioaktif seperti asam galat dapat meningkatkan aktivitas antimikroba film bilayer, tetapi stabilitas senyawa tersebut dalam matriks film dan pengaruhnya terhadap sifat mekanik dan penghalang material perlu dieksplorasi lebih jauh untuk menghasilkan material pengemasan aktif yang relevan dengan kebutuhan industri.

1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Untuk mengekstraksi dan mengkarakterisasi pektin dari kulit jeruk pamelos;
2. Untuk mengkarakterisasi sifat fisik, mekanik, morfologi, dan aktivitas fungsional dari film bilayer yang dihasilkan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk meningkatkan pemanfaatan limbah kulit jeruk pamelos sebagai sumber bahan baku ekstraksi pektin. Selain itu, dari penelitian ini dapat diperoleh pektin dari kulit jeruk pamelos yang dapat digunakan sebagai bahan baku film bilayer yang memiliki sifat mekanik yang baik dan bersifat ramah lingkungan untuk pengaplikasian pada produk pangan.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 – Februari 2025 bertempat di Laboratorium berikut:

1. Gedung Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, lantai 3, Universitas Hasanuddin, Makassar
2. Laboratorium Kimia Analisa dan Mutu Pangan, departemen teknologi pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar
3. Laboratorium Balai Besar Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Hasil Perkebunan, Mineral Logam, dan Maritim, Makassar
4. Laboratorium Lab. Pengembangan Penelitian Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang pengaduk, botol kaca, cetakan plastik, *cutter*, desikator, Erlenmeyer, gelas kimia, oven pengering, pipet volume, timbangan analitik, wadah plastik, mikropipet, tip, *hot plate*, *stirrer*, *tension testing*, SEM dan XRD.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu pektin kulit jeruk pamel, kitosan, asam galat dan kalsium klorida. Selain itu, penelitian ini juga menggunakan bahan tambahan diantaranya gliserol, asam klorida (HCl), alkohol 96%, NaOH, *aluminium foil*, plastisin, tanah kompos, dan label.

2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor yaitu pektin 2% (b/v) + CaCl_2 (0; 0,5; 1; 1,5% b/v) dan kitosan 2% (b/v) + asam galat (0; 5; 10; 15% b/b) dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk masing-masing level. Penambahan konsentrasi CaCl_2 dan asam galat dengan menggunakan rasio perbandingan seperti berikut:

Tabel 1. Rancangan penelitian.

Film	Komposisi			
	Pektin (b/v)	CaCl ₂ (b/v)	Kitosan (b/v)	Asam Galat (b/b)
P1C1	2%	0%	2%	0%
P2C2	2%	0,5%	2%	5%
P3C3	2%	1%	2%	10%
P4C4	2%	1,5%	2%	15%

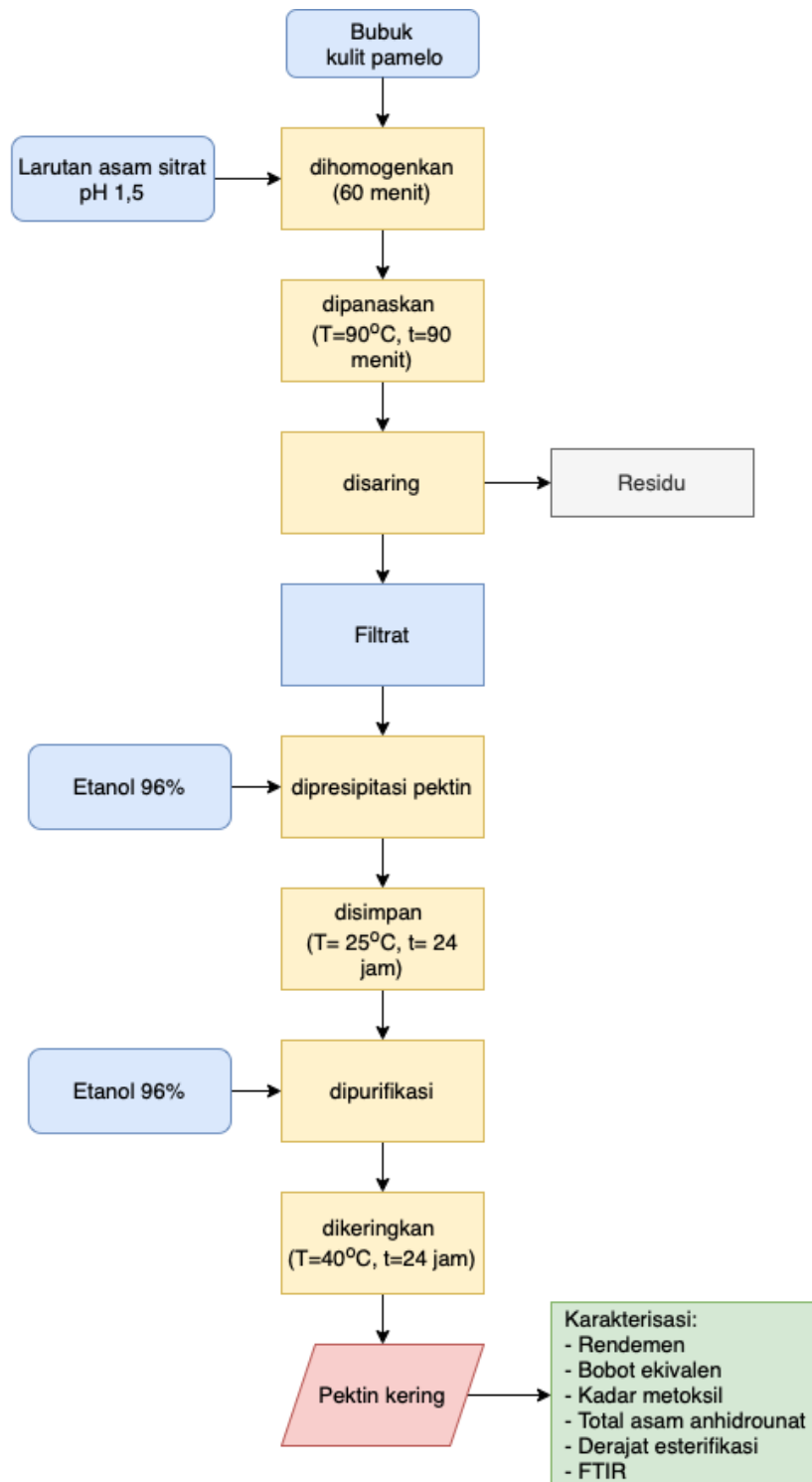
2.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu: (1) Ekstraksi dan karakterisasi pektin kulit jeruk pamelo (Gambar 3); dan (2) Fabrikasi dan karakterisasi film kemasan bilayer berbasis pektin-chitosan (Gambar 4).

2.4.1 Preparasi dan Ekstraksi Pektin

Bahan baku kulit jeruk pamelo dicuci dengan menggunakan air mengalir, lalu dilakukan pengirisan dengan menggunakan pisau menjadi potongan- potongan kecil. Setelah itu, dikeringkan dalam oven udara panas pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah kering, kulit jeruk pamelo dihaluskan hingga menjadi bubuk halus dan disaring menggunakan saringan 60 mesh, sehingga diperoleh bubuk kulit jeruk pamelo.

Selanjutnya, proses ekstraksi pektin dilakukan dengan menggunakan bubuk kulit buah pomelo sebagai bahan baku menggunakan metode (Hossain et al., 2024) dengan sedikit modifikasi. Proses dimulai dengan mencampurkan bubuk kulit pomelo ke dalam larutan asam sitrat pada pH 1.5, dengan rasio cairan terhadap padatan 30:1. Campuran tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 120 menit untuk mengaktifkan proses ekstraksi pektin. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diendapkan dengan menambahkan etanol 96% dalam rasio 1:2 (v/v), dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu 25°C untuk memastikan presipitasi pektin berlangsung dengan sempurna. Setelah presipitasi, pektin yang telah mengendap disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Pektin yang mengendap dicuci tiga kali menggunakan larutan etanol 96%. Pektin yang telah dicuci kemudian dikeringkan dalam oven udara panas pada suhu 40°C selama 24 jam. Pektin yang telah kering disimpan pada suhu kamar untuk digunakan lebih lanjut.



Gambar 3. Prosedur ekstraksi pektin kulit jeruk pamelo

2.4.2 Karakterisasi Pektin

a. Rendemen Pektin

Pengukuran rendemen pektin penting untuk mengevaluasi efisiensi proses ekstraksi yang dilakukan. Rendemen pektin dihitung untuk mengetahui jumlah pektin yang berhasil diekstraksi dari bahan mentah, seperti kulit buah, sehingga dapat menilai kualitas dan efektivitas metode ekstraksi yang digunakan. Persentase rendemen pektin dihitung menggunakan persamaan yang diadaptasi dari (Hossain et al., 2024):

$$PY = \frac{m}{m_0} \times 100$$

Keterangan:

m (gram) = berat pektin yang telah dikeringkan

m_0 (gram) = berat awal kulit buah yang telah dikeringkan

b. Bobot ekivalen

Berat ekivalen dihitung berdasarkan metode yang dijelaskan dalam Hossain et al. (Hossain et al., 2024). Penentuan berat ekivalen sangat penting untuk mengukur kandungan asam anhidrouroat dan derajat esterifikasi pektin. Pengukuran dilakukan dengan cara titrasi menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) pada pH 7,5 dengan bantuan indikator fenol merah. Langkah pertama dalam proses ini adalah melarutkan 0,5 gram pektin dalam 5 mL etanol di dalam labu Erlenmeyer berkapasitas 250 mL. Untuk memperjelas titik akhir titrasi, 1 gram natrium klorida ditambahkan. Selanjutnya, larutan tersebut ditambah dengan 100 mL air deionisasi dan enam tetes indikator fenol merah, kemudian diaduk hingga semua pektin yang diekstraksi larut sempurna. Larutan ini kemudian dititrasi secara perlahan dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Setelah proses titrasi selesai, larutan yang telah dinetralkan disimpan untuk mengukur kandungan metoksil. Berat ekivalen (EW) pektin kemudian dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Berat ekivalen} = \frac{\text{Berat sampel (g)} \times 1000}{\text{ml alkali yang digunakan} \times \text{Normalitas alkali}}$$

c. Kadar metoksil

Metode yang dijelaskan dalam Hossain et al. (Hossain et al., 2024) digunakan untuk menghitung kandungan metoksil (MeO). Kandungan metoksil atau derajat esterifikasi pektin mempengaruhi waktu pembentukan gel, sensitivitas pektin terhadap kation polivalen, dan kemampuannya untuk disusun menjadi gel dengan padatan rendah, film, dan serat. Kandungan metoksil ini ditentukan melalui proses saponifikasi pektin dan titrasi gugus karboksil yang terbebaskan.

Prosedur ini dimulai dengan menambahkan 25 mL NaOH 0,25 N ke dalam larutan netral, kemudian diaduk hingga tercampur sempurna dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang dalam labu tertutup. Setelah itu, 25 mL HCl 0,25 N ditambahkan ke dalam larutan, dan titik akhir titrasi ditentukan dengan NaOH 0,1 N. Kandungan metoksil dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kandungan metoksil (\%)} = \frac{\text{ml alkali} \times \text{Normalitas alkali} \times 3,1}{\text{Berat sampel (g)}}$$

d. Kandungan total asam anhidrounat (AUA)

Kandungan total asam anhidrounat (AUA) dalam pektin dihitung menggunakan metode yang diuraikan dalam Hossain et al. (Hossain et al., 2024). Asam anhidrounat merupakan komponen penting dalam pektin yang menentukan kualitas dan sifat fungsionalnya, seperti kemampuan pembentukan gel dan kestabilan pada berbagai kondisi lingkungan. Oleh karena itu, penentuan kandungan AUA sangat penting untuk mengevaluasi karakteristik pektin dalam berbagai aplikasi, terutama di industri pangan dan farmasi.

Kandungan AUA (%) dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{AUA (\%)} = \left(\frac{176 \times 0,1z \times 100}{w \times 1000} \right) + \left(\frac{176 \times 0,1y \times 100}{w \times 1000} \right)$$

Keterangan:

- z mengacu pada volume NaOH (dalam mL) yang digunakan dalam titrasi untuk menentukan berat ekuivalen,
- y adalah volume NaOH (dalam mL) yang digunakan dalam titrasi untuk mengukur kandungan metoksil, dan
- w merupakan berat sampel pektin yang diuji (dalam gram).

e. Derajat Esterifikasi (DE)

Kandungan metoksil (MeO) dan asam anhidrounat (AUA) digunakan untuk menghitung derajat esterifikasi (DE) pektin, sesuai dengan metode yang dijelaskan Hossain et al. (Hossain et al., 2024). Derajat esterifikasi ini penting untuk menilai kualitas pektin, karena memengaruhi sifat fungsionalnya seperti kemampuan membentuk gel, kestabilan terhadap ion logam, dan kelarutannya dalam berbagai kondisi. Derajat esterifikasi (DE) pektin dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{DE (\%)} = \frac{176 \times \% \text{ MeO}}{31 \times \% \text{ AUA}} \times 100$$

Keterangan:

% MeO = persentase kandungan metoksil pektin, dan

% AUA = persentase kandungan asam anhidrounat dalam pektin.

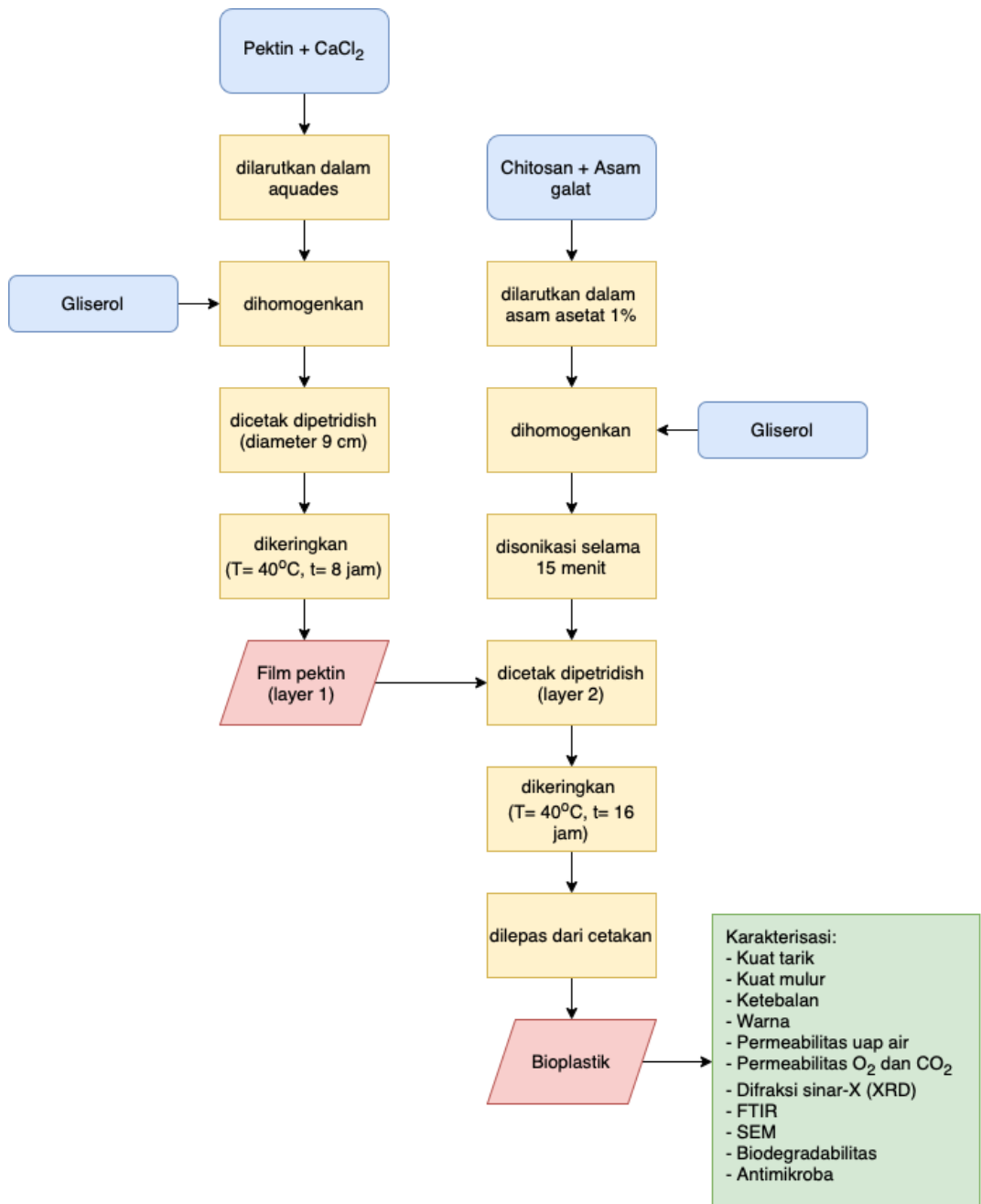
f. Karakterisasi struktur pektin (FTIR)

Karakterisasi struktur pektin dilakukan menggunakan metode *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) spektroskopi. Untuk analisis ini, digunakan spektrometer FT-IR merek Perkin Elmer (Perkin Elmer Co., MA, USA). Prosedur ini memanfaatkan metode cakram KBr (kalium bromida) untuk mempersiapkan sampel pektin yang telah diekstraksi. Pengukuran dilakukan dalam rentang panjang gelombang 4000 hingga 450 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} . Metode FT-IR ini memungkinkan identifikasi gugus fungsi dan analisis ikatan kimia dalam struktur pektin, yang penting untuk memahami sifat kimianya dan potensinya dalam berbagai aplikasi.

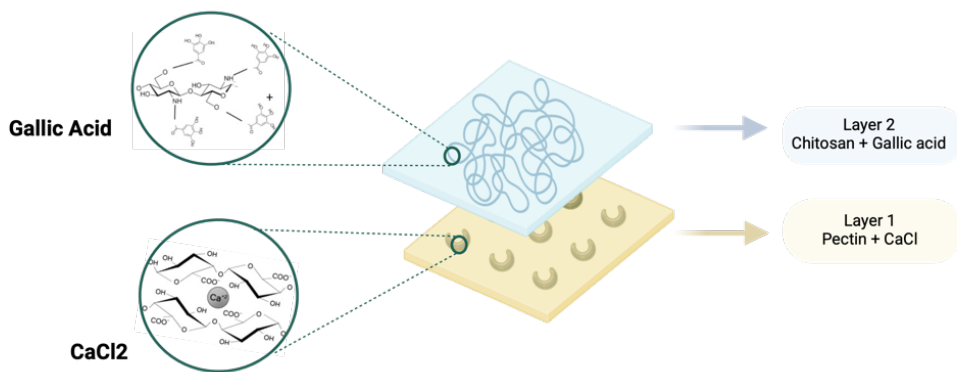
2.4.3 Pembuatan Film

Film bilayer pektin-kitosan dibuat menggunakan metode casting dengan cawan petri plastik berbentuk lingkaran (diameter 9 cm) sebagai cetakan. Larutan pektin 2% (b/v) disiapkan dengan melarutkan pektin kulit jeruk pamelito dalam air suling pada suhu 70°C sambil diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 30 menit hingga homogen. Gliserol sebesar 30% dari berat pektin ditambahkan sebagai plasticizer, dan larutan diberi perlakuan sonikasi selama 30 menit untuk menghilangkan gelembung udara. Pada formulasi P2C2, P3C3, dan P4C4, larutan pektin masing-masing ditambahkan CaCl_2 sebesar 0,5%, 1%, dan 1,5% (b/v). Setelah bebas gelembung, larutan dituangkan ke dalam cawan petri plastik dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam untuk membentuk lapisan pertama.

Lapisan kedua dibuat dengan melarutkan kitosan 2% (b/v) dalam larutan asam asetat 1% (v/v), lalu ditambahkan gliserol sebesar 30% dari berat kitosan. Untuk formulasi P2C2, P3C3, dan P4C4, larutan kitosan masing-masing ditambahkan asam galat sebesar 5%, 10%, dan 15% (b/b). Larutan diaduk hingga homogen dan disonikasi selama 30 menit untuk menghilangkan gelembung udara, kemudian dituangkan di atas lapisan pektin yang telah kering. Lapisan kedua dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam untuk membentuk film bilayer yang menyatu. Setelah pengeringan, film dilepaskan dari cawan petri dan disimpan dalam desikator hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut. Metode ini memastikan film dengan permukaan halus, ketebalan konsisten, serta sifat mekanis dan visual yang sesuai untuk aplikasi biodegradable. Gambaran film bilayer pektin/kitosan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Prosedur pembuatan film bilayer pektin/kitosan.



Gambar 5. Film bilayer pektin-chitosan

2.4.4 Karakterisasi Struktural dari Film

a. SEM

Karakteristik morfologi permukaan dan penampang film dianalisis menggunakan mikroskop elektron pemindai (SEM, JCM-6000Plus) dengan tegangan percepatan 10 kV. Secara spesifik, film dipatahkan dalam nitrogen cair dan dilapisi dengan sputtering kromium untuk memungkinkan pengamatan bagian permukaan dan penampang.

b. FT-IR

Karakterisasi struktur pektin dilakukan menggunakan metode *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) spektroskopi (Hoque et al., 2022). Untuk analisis ini, digunakan spektrometer FT-IR merek Perkin Elmer (Perkin Elmer Co., MA, USA). Prosedur ini memanfaatkan metode cakram KBr (kalium bromida) untuk mempersiapkan sampel pektin yang telah diekstraksi. Pengukuran dilakukan dalam rentang panjang gelombang 4000 hingga 450 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} . Metode FT-IR ini memungkinkan identifikasi gugus fungsi dan analisis ikatan kimia dalam struktur pektin, yang penting untuk memahami sifat kimianya dan potensinya dalam berbagai aplikasi.

c. X-ray diffraction (XRD)

Analisis fase kristal sampel film dilakukan menggunakan difraktometer sinar-X (Shimadzu 7000) dengan sumber radiasi Cu-K α ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$), dioperasikan pada tegangan 40 kV dan arus 30 mA. Polanya difraksi direkam menggunakan mode pemindaian kontinu pada rentang sudut 2θ dari 15° hingga 70° dengan kecepatan pemindaian 2° per menit.

2.4.5 Sifat Fisik dan Mekanik dari Film

a. Pengujian ketebalan

Pengujian ketebalan plastik biodegradable dilakukan dengan cara memotong plastik dengan ukuran 10 X 10 cm, kemudian diukur tingkat ketebalannya pada keempat sisi menggunakan mikrometer sekrup dengan ketelitian 0.01 mm. pengukuran dari keempat sisiakan rata-ratakan sebagai nilai ketebalan plastik (Wan Yahaya et al., 2023).

b. Pengujian warna film

Nilai warna diukur menggunakan kolorimeter (MS/S-4500L, HunterLab, USA). Sebelum pengukuran dilakukan, alat dikalibrasi menggunakan pelat putih standar dengan parameter berikut: $L^* = 93,48$, $a^* = -0,65$, dan $b^* = 1,91$. Parameter warna yang diukur meliputi L (kecerahan), a (merah/hijau), dan b (kuning/biru). Selanjutnya, nilai-nilai tersebut digunakan untuk menghitung perbedaan total warna (ΔE) serta indeks keputihan (WI) menggunakan persamaan berikut:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

c. Kejernihan/opasitas film

Spektroskopi *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) digunakan untuk mengukur transmitansi dan opasitas film yang telah dipotong dengan ukuran 3 cm × 3 cm. Pengukuran dilakukan menggunakan *UV-Visible-Near Infrared Spectrophotometer* PE1050+ (PerkinElmer, Inc., Massachusetts, USA). Absorbansi film dianalisis dalam rentang panjang gelombang 200–800 nm, dengan sel kosong sebagai referensi. Nilai opasitas film dihitung menggunakan rumus berikut (J. Zhu et al., 2019):

$$Opasitas = \frac{A_{600}}{H}$$

Keterangan:

A600 = menunjukkan nilai absorbansi pada 600 nm.

H = mengacu pada ketebalan film dalam milimeter (mm).

d. Pengujian kekuatan tarik

Pengujian kekuatan tarik plastik menggunakan alat yang disebut *tension testing* (Hasan et al., 2020; Soury et al., 2023). Sampel plastik dipotong dengan ukuran 1 X 15 cm, lalu plastik tersebut dijepit di kedua sisi. Selanjutnya tekan tombol knob start pada alat *testing* kemudian tunggu hingga plastiknya putus. Nilai kuat tarik serta panjang plastik setelah putus dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\sigma(MPa) = \frac{F_{maks}}{A}$$

Keterangan:

σ = kuat Tarik (MPa)

F_{maks} = gaya tarik/tegangan maksimum (N)

A = luas penampang lintang (tebal X lebar sampel) (mm²)

e. Pengujian elongasi (kuat mulur)

Pengujian elongasi plastik dengan alat *tension testing* (Hasan et al., 2020; Paudel et al., 2023). Sampel plastik dipotong ukuran 1 X 15 cm lalu kedua sisi dijepit pada alat *tension testing*. Kemudian tekan tombol knb start pada alat dan tunggu hingga plastik putus. Selanjutnya catat nilai gaya kuat tarik serta Panjang plastik setelah putus. nilai yang diperoleh akan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\varepsilon(\%) = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100\%$$

Keterangan:

ε = Elongasi/regangan (%)

Δl = Pertambahan Panjang (cm)

l_0 = Panjang awal sampel (cm)

f. Kadar air film

Kadar air (%) pada film pektin ditentukan berdasarkan persentase kehilangan berat sampel film setelah dikeringkan dalam oven udara panas pada suhu 105 °C hingga beratnya tetap konstan, yang menandakan bahwa kandungan air telah menguap sepenuhnya. Pengukuran ini dilakukan dengan mengikuti metode yang dijelaskan oleh (Nguyen et al., 2024).

g. Kelarutan

Pengujian kelarutan dimodifikasi dari metode yang telah dijelaskan sebelumnya (Yi et al., 2024). Secara ringkas, potongan film berukuran 2 cm × 2 cm dikeringkan pada suhu 105 °C hingga mencapai berat konstan (W_1), kemudian direndam dalam air suling dan disimpan pada suhu 25 °C selama 24 jam. Setelah itu, film dikeringkan kembali pada suhu 105 °C hingga mencapai berat konstan (W_3). Kelarutan film yang diuji dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kelarutan: } \frac{(W_1 - W_3)}{W_1} \times 100\%$$

h. Permeabilitas Uap Air (WVP)

Pengujian WVP pada film dilakukan menggunakan metode yang telah dimodifikasi (Fu et al., 2024). Sampel film disegel dalam wadah uji dengan diameter 3,3 cm dan

tinggi 9,2 cm yang berisi 13,3 g kalsium klorida anhidrat. Wadah uji dengan sampel film ditimbang terlebih dahulu, kemudian ditempatkan dalam lingkungan dengan suhu 25 °C dan kelembaban relatif (RH) 75% selama 48 jam. Nilai WVP dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$WVP = \frac{\Delta M \times d}{A \times t \times \Delta P}$$

Keterangan:

- ΔM : peningkatan berat wadah uji (kg)
- d : ketebalan film (m)
- A : luas efektif film (m²)
- t : waktu kesetimbangan (s)
- ΔP : perbedaan tekanan uap air (Pa)

2.4.7 Bioaktivitas Film

Pengujian aktivitas antibakteri pada sampel film dilakukan dengan mengikuti metode Riaz et al (Riaz et al., 2020) dengan sedikit modifikasi. Suspensi bakteri patogen terlebih dahulu diinokulasikan dalam media *nutriet broth* selama 24 jam, kemudian sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri dengan konsentrasi 1×10^6 CFU/mL disebarakan secara merata pada permukaan media agar *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Disk film berdiameter 10 mm ditempatkan di atas media MHA yang telah dituangkan dalam cawan petri, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan di sekitar disk film diukur menggunakan *vernier caliper*. Sampel yang diuji meliputi film bilayer P1C1, P2C2, P3C3, dan P4C4 dengan film bilayer P1C1 berperan sebagai kontrol.

2.4.8 Biodegradabilitas Film

Pengujian biodegradabilitas dengan menggunakan metode *soil burial test* (Ghobashy et al., 2023; J. Lee et al., 2024; Qiang et al., 2024), dimana plastik biodegradable ditanam pada tanah. Sampel plastik dipotong dengan ukuran 2 X 2 cm setelah itu plastik ditimbang lalu ditanam pada tanah kompos dengan kedalaman sekitar $\pm 7,5$ cm, kemudian dilakukan inkubasi selama 25 hari. Pengamatan sampel dilakukan lima hari sekali dengan cara mengambil plastik dari dalam tanah, selanjutnya plastik *biodegradable* dibersihkan dari sisa tanah kemudian ditimbang. Nilai penurunan bobot plastik dapat dihitung menggunakan rumus:

$$Weight\ loss\ (\%) = \frac{W_i - W_t}{W_i} \times 100\%$$

Keterangan:

W_i = Bobot awal plastik sebelum ditanam

W_t = Bobot akhir plastik sesudah ditanam

2.5 Analisis Statistik

Seluruh eksperimen dilakukan dalam tiga ulangan. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS 20.0 (Chicago, IL, USA). Data dianalisis menggunakan analisis varians satu arah (ANOVA) dengan uji Duncan dan disajikan dalam bentuk mean $\pm$ standar deviasi. Perbedaan dianggap signifikan secara statistik jika $p < 0.05$.