

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Provinsi Sulawesi Selatan memiliki luas wilayah sebesar 46.717,48 km² dan terdiri dari 314 pulau, menjadikannya wilayah yang kaya akan potensi sumber daya alam, khususnya sektor perikanan dan kelautan. Berdasarkan data sensus penduduk 2020, jumlah penduduk provinsi ini mencapai 9,14 juta jiwa, yang mendorong kebutuhan akan pangan yang kaya protein, karbohidrat, dan serat guna mendukung kesehatan masyarakat. Dalam konteks ini, rumput laut muncul sebagai komoditas pangan potensial yang sangat layak dikembangkan, mengingat Sulawesi Selatan merupakan penyumbang terbesar produksi rumput laut nasional dengan kontribusi sekitar 32,57% dari total produksi Indonesia (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2023).

Secara global, Indonesia menempati posisi penting dalam perdagangan rumput laut dunia. *Data International Trade Center* (2018) menunjukkan Indonesia sebagai pengeksport rumput laut mentah terbesar di dunia dengan volume ekspor mencapai 205,76 ribu ton. Dengan demikian, pengembangan industri rumput laut dari hulu ke hilir menjadi sangat strategis untuk memperkuat perekonomian nasional melalui peningkatan nilai tambah produk (BSN, 2021; FAO, 2022). Selain nilai ekonominya, rumput laut juga dikenal memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai sumber antioksidan alami yang efektif melawan radikal bebas yang berpotensi merusak sel tubuh manusia dan menyebabkan berbagai penyakit degeneratif.

Dalam konteks penelitian, *Eucheuma cottonii* sebagai salah satu jenis rumput laut merah telah banyak dieksplorasi, khususnya terkait aktivitas antioksidannya. Analisis kandungan mengungkap adanya senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid, serta nutrisi penting berupa protein, karbohidrat, dan mineral (Maharany et al., 2017; Rizki et al., 2023). Safia et al. (2020) juga melaporkan bahwa *Eucheuma cottonii* merupakan sumber vitamin A, B1, B2, B6, B12, dan C, serta mineral seperti kalium, kalsium, natrium, besi, dan iodium yang berperan meningkatkan nilai gizi. Potensi *Eucheuma cottonii* tidak hanya sebagai sumber nutrisi dan antioksidan tetapi juga sebagai bahan dasar pembuatan bioplastik ramah lingkungan. Kandungan karbohidrat seperti agar-agar dan alginat yang tinggi menjadikannya bahan ideal untuk bioplastik biodegradable yang menawarkan solusi berkelanjutan terhadap masalah limbah plastik, khususnya di sektor kemasan makanan (Syafitri et al., 2022).

Permasalahan lingkungan akibat akumulasi limbah plastik yang sulit terdegradasi terutama dari kemasan makanan sintetis menjadi isu global yang cukup serius (KLHK, 2020). Plastisitas, kekuatan, dan efektivitas plastik konvensional untuk melindungi makanan dari oksigen, uap air, dan gas menjadikannya pilihan utama dalam kemasan, adapun dampak negatif berupa pencemaran dan penumpukan limbah plastik mendorong pencarian alternatif yang lebih ramah lingkungan (Firmansyah et al., 2021). Salah satu inovasi potensial adalah pengembangan *edible film*, yaitu lapisan tipis yang dapat dimakan dan digunakan sebagai kemasan makanan. Keunggulan *edible film* meliputi kemampuannya sebagai kemasan yang dapat dikonsumsi bersamaan dengan makanan, tanpa mencemari lingkungan, serta peningkatan kualitas



Selain itu, *edible film* juga dapat berfungsi sebagai suplemen nutrisi, aroma, dan agen antimikroba serta antioksidan yang memperpanjang daya simpan (Milla & Aprillia, 2020).

Edible film biasanya dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan ramah lingkungan seperti protein, polisakarida, dan lemak. Polisakarida yang umum digunakan meliputi derivat selulosa, pektin, pati, kitosan, serta ekstrak rumput laut (Krochta et al., 1997; Mehdizadeh et al., 2012). Dalam penelitian ini, gelatin digunakan

sebagai bahan dasar pembuatan *edible film*. Gelatin adalah polimer alami yang dihasilkan dari hidrolisis kolagen, yang umumnya diperoleh dari kulit, tulang, atau jaringan ikat hewan. Sebagai protein, gelatin memiliki sifat termoreversibel yang memungkinkan gelatin larut dalam air panas dan membentuk gel saat dingin. Selain itu, gelatin memiliki karakteristik transparan, fleksibel, dan biodegradable, sehingga menjadi pilihan ideal sebagai bahan utama dalam pembuatan *edible film*.

Gelatin yang dikombinasikan dengan antioksidan alami, seperti ekstrak tanaman yang kaya polifenol, dapat memberikan perlindungan terhadap oksidasi sekaligus meningkatkan manfaat kesehatan dari produk makanan yang dilapisi *edible film* tersebut (Jatmiko et al., 2022). Antioksidan berperan melindungi tubuh dari efek merugikan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron dan menghentikan reaksi radikal bebas (Sadeli, 2016). Senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan antara lain polifenol, senyawa fenolik, dan flavonoid (Yanuarti et al., 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk melindungi tubuh manusia dari dampak negatif radikal bebas dengan cara menyuplai elektron, mengikat, dan menghentikan reaksi yang melibatkan radikal bebas (Sadeli, 2016). Senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan antara lain polifenol (Fitriana, 2024), senyawa fenolik, dan flavonoid (Yanuarti, Nurjanah, Anwar, dan Hidayat, 2017). Oleh karena itu, metode maserasi menggunakan pelarut polar dipilih dalam penelitian ini untuk memisahkan dan mengekstrak senyawa aktif dari rumput laut merah (Fitriana, 2024). Daun kelor juga menjadi sumber antioksidan berkualitas tinggi yang kaya akan berbagai senyawa bioaktif untuk melawan radikal bebas. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antioksidan signifikan yang berkontribusi pada peningkatan sistem kekebalan tubuh dan pencegahan penyakit degeneratif akibat stres oksidatif (Fitriana, 2024).

Selain rumput laut, daun kelor juga dikenal sebagai sumber antioksidan berkualitas tinggi yang kaya akan berbagai senyawa bioaktif yang mampu melawan radikal bebas. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dan berkontribusi secara positif pada peningkatan sistem kekebalan tubuh serta pencegahan penyakit degeneratif yang disebabkan oleh stres oksidatif (Fitriana, 2024).

Edible film merupakan lapisan tipis yang dapat dimakan yang terbuat dari bahan-bahan alami seperti gelatin dan karagenan yang berfungsi sebagai pembungkus makanan. Pengembangan *edible film* bertujuan untuk meningkatkan karakteristik fisik dan nilai tambah produk melalui penambahan bahan bioaktif, khususnya antioksidan alami. Rumput laut merah *Eucheuma cottonii* merupakan sumber gelatin dan karagenan yang potensial, sedangkan daun kelor (*Moringa oleifera* sp.) kaya akan senyawa antioksidan. Kombinasi ekstrak dari kedua sumber ini diharapkan dapat menghasilkan *edible film* yang tidak hanya ramah lingkungan tetapi juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Penelitian sebelumnya telah banyak membahas potensi rumput laut dan daun kelor secara terpisah sebagai sumber antioksidan dan bahan bioplastik. Namun, terdapat kesenjangan penelitian terkait formulasi optimal *edible film* berbasis gelatin rumput laut yang diperkaya dengan karagenan ekstrak daun kelor, serta evaluasi karakteristik fisik, mekanik, dan aktivitas antioksidannya secara komprehensif.



1 menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut polar, fabrikasi iriasi konsentrasi ekstrak, uji karakteristik film (transparansi, kekuatan tarik, lisis aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Diharapkan hasil memberikan kontribusi baru dalam pengembangan kemasan makanan yang memperluas pemanfaatan sumber daya alam Sulawesi Selatan.

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana proses ekstraksi dan pemurnian polisakarida karagenan dengan penambahan serbuk daun kelor menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dapat memengaruhi kualitas dan karakteristik?
2. bagaimana karakteristik karagenan kelor (KK) pada kondisi optimum hasil ekstraksi dengan metode RSM?
3. bagaimana aktivitas antioksidan karagenan kelor pada kondisi optimum?
4. bagaimana proses optimasi formulasi *edible film* berbasis gelatin rumput laut dengan penambahan karagenan kelor?
5. bagaimana karakteristik formulasi *edible film* pada kondisi optimum hasil optimasi metode RSM?
6. bagaimana aktivitas antioksidan formulasi *edible film* pada kondisi optimum?
7. bagaimana pengaruh penambahan karagenan kelor terhadap karakteristik fisik, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri pada *edible film* berbasis gelatin rumput laut dan gelatin sapi?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Melakukan optimasi proses ekstraksi dan pemurnian polisakarida karagenan dengan penambahan serbuk daun kelor menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM)
2. mengkarakterisasi karagenan kelor hasil ekstraksi pada kondisi optimum melalui analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar karbohidrat, serta struktur kimia menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).
3. menentukan aktivitas antioksidan karagenan kelor berdasarkan persen inhibisi radikal bebas.
4. melakukan optimasi formulasi *edible film* berbasis gelatin dengan penambahan karagenan kelor.
5. mengkarakterisasi formulasi *edible film* hasil optimasi pada kondisi optimum meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar karbohidrat, serta analisis struktur kimia menggunakan FTIR.
6. menentukan aktivitas antioksidan formulasi *edible film* berdasarkan persen inhibisi radikal bebas.
7. mengevaluasi sifat fungsional *edible film* yang meliputi aktivitas antioksidan, aktivitas antibakteri, ketebalan, daya serap air, elongasi, kuat tarik dan sifat termal melalui berbagai metode uji, termasuk FTIR, SEM-EDS, XRD, PSA dan TGA.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai informasi karakteristik dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kelor dan *edible film* berbahan dasar rumput laut dengan fortifikasi ekstrak daun kelor, untuk memperoleh alternatif pengemas yang alami dan aman dengan penambahan antioksidan serta untuk mengurangi pencemaran lingkungan dengan menyediakan alternatif plastik yang bersifat



imber Laut

Optimized using
trial version
www.balesio.com

Gelatin merupakan produk protein yang banyak digunakan dalam industri pangan dan farmasi, biasanya diperoleh dari tulang atau kulit hewan seperti sapi dan babi. Namun, adanya isu keberlanjutan dan alergi mendorong pencarian sumber alternatif yang ramah lingkungan dan aman secara kultural. *Eucheuma cottonii*, sejenis rumput laut merah, muncul sebagai salah satu sumber alternatif potensial untuk ekstraksi gelatin karena kandungan polisakarida dan protein yang tinggi yang dapat dimanfaatkan secara efektif dalam berbagai aplikasi (Patil et al., 2023). Selain wgelatin, rumput laut ini juga kaya akan karagenan yang berperan sebagai bahan pengental dan pembentuk film pada produk edible (Wahyuni et al., 2022).

Metode sintesis gelatin dari *Eucheuma cottonii* melibatkan proses ekstraksi protein dengan pengaturan suhu dan pH yang ketat guna memaksimalkan yield dan kualitas gelatin yang dihasilkan. Pengaturan ini sangat krusial untuk mendapatkan gelatin dengan sifat fisik dan kimia yang memenuhi standar industri, seperti kemampuan gel dan kompatibilitas biokompatibel (Zainuddin et al., 2024). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa teknik optimasi kondisi ekstraksi menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dapat meningkatkan efisiensi proses dan kualitas gelatin yang dihasilkan dari rumput laut ini (Li et al., 2023).

Selain potensi di industri pangan, gelatin dan karagenan dari *Eucheuma cottonii* juga menunjukkan aplikasi dalam bidang farmasi, khususnya dalam pembuatan kapsul obat yang biodegradable dan ramah lingkungan. Studi tahun 2019 dan 2023 menyoroti produksi kapsul berbasis karagenan dari rumput laut dengan berbagai variasi komposisi dan suhu pemrosesan untuk mengatur laju pelepasan obat secara optimal (Nasution et al., 2019; Fatmawati et al., 2023). Hal ini membuka peluang besar bagi pengembangan produk farmasi yang lebih sustainable dan aman bagi pasien.

1.5.2 Karagenan dari Tumbuhan

Karagenan adalah polisakarida alami yang secara tradisional diekstrak dari red algae (rumput laut merah), namun penelitian dalam dekade terakhir juga telah mengidentifikasi potensi ekstraksi karagenan dari berbagai sumber tumbuhan darat yang mengandung polisakarida sejenis. Karagenan dikenal karena kemampuannya membentuk gel, serta sifat pengental dan penstabil yang menjadikannya bahan fungsional utama dalam industri makanan dan farmasi (Semeraro et al., 2023). Selain itu, inovasi dalam pengembangan biomaterial berkelanjutan berbasis karagenan semakin digalakkan untuk aplikasi pengemasan dan rekayasa jaringan (Sathiyajyothi et al., 2022).

Dalam konteks pertanian, karagenan yang diaplikasikan secara eksogen terbukti sebagai biostimulan yang efektif untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman. Penelitian menunjukkan bahwa aplikasi karagenan, terutama λ -karragenan, mampu meningkatkan metabolisme tanaman, penyerapan nutrisi, serta merangsang resistensi tanaman terhadap patogen, yang sangat penting dalam menghadapi tantangan perubahan iklim (Zueva et al., 2022; Vishwakarma et al., 2021). Hal ini menunjukkan bahwa karagenan dapat berperan dalam sistem pertanian berkelanjutan sebagai agen pemacu alami.

Selain fungsi sebagai biostimulan, karagenan juga bertindak sebagai bio-elicitor yang merangsang respons pertahanan tanaman dengan mengaktifkan jalur imun tanaman terhadap serangan organisme pengganggu. Penggunaan karagenan pada tanaman telah terbukti



tanaman terhadap stres biotik dan abiotik serta menjamin kestabilan produksi yang sulit (Wang et al., 2021). Pemanfaatan sifat ini dapat mengurangi penggunaan pestisida kimia yang merusak ekosistem.

Industri global terus meningkat terutama di industri makanan dan kosmetik, dengan karagenan yang dominan karena sifat gelnya yang kuat dan serbaguna. Penelitian pengembangan karagenan berbasis tumbuhan sebagai alternatif yang berkelanjutan, mengarah pada diversifikasi aplikasi dan penurunan

jejak karbon produk-produk berbasis karagenan (Chauhan et al., 2024; Prasad et al., 2023). Dinamika pasar ini memperkuat posisi karagenan sebagai bahan dasar penting di berbagai sektor industri.

1.5.3 Gliserol sebagai Plasticizer dalam *edible film*

Edible film yang berbasis pati umumnya memiliki kekuatan mekanik yang rendah, sehingga perlu dilakukan penambahan bahan tambahan untuk meningkatkan performanya. Penambahan plastisizer dapat memperbaiki sifat-sifat *edible film*, menjadikannya lebih elastis, fleksibel, dan kurang rentan terhadap keretakan. Sorbitol dan gliserol merupakan jenis plastisizer yang sering digunakan dalam proses pembuatan *edible film*. Kedua plastisizer ini berfungsi untuk mengurangi ikatan hidrogen internal, yang pada gilirannya meningkatkan jarak antar molekul dalam film. Penggunaan gliserol memberikan tingkat kelarutan yang lebih baik dibandingkan sorbitol dalam *edible film* berbasis pati, sementara sorbitol cenderung menghasilkan film dengan kekuatan tarik dan elongasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan gliserol (Pramudita et al., 2023).

1.5.4 Daun Kelor

Kelor adalah tanaman yang menawarkan berbagai manfaat, baik sebagai bahan makanan maupun sebagai obat. Daun kelor dikenal memiliki beberapa khasiat, termasuk sebagai stimulan untuk jantung dan sistem sirkulasi, antitumor, antihipertensi, penurun kadar kolesterol, antioksidan, serta memiliki sifat antidiabetik, antibakteri, dan antijamur. Tanaman ini mengandung beragam senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, dan tanin. Selain itu, kelor juga kaya akan berbagai nutrisi yang termasuk dalam komponen proksimat, seperti karbohidrat, protein, lemak, dan serat pangan (Yunita et al., 2022).

1.5.5 Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida linear alami dengan sifat polikationik yang berasal dari kitin. Senyawa ini memiliki kelarutan yang rendah dalam larutan netral maupun basa. Kitosan dikenal sebagai biomaterial multifungsi karena memiliki berbagai keunggulan, seperti tidak beracun, memiliki tingkat alergenitas yang rendah, serta bersifat biokompatibel dan biodegradable (Cheung dkk., 2015). Kitosan, yang diperoleh melalui proses deasetilasi kitin, juga dikenal sebagai Beta-1,4-2 amino-2-doksi-D-glukosa. Struktur kitosan memiliki tingkat reaktivitas kimia yang tinggi, dengan gugus fungsi utama yang terdiri atas asam amino, gugus hidroksi primer, dan gugus hidroksi sekunder (Rosida dkk., 2018).

Kitosan tidak dapat larut dalam air maupun dalam pelarut organik pada umumnya. Namun, senyawa ini mudah larut dalam larutan asam dengan pH di bawah 6,3. Larutan kitosan dalam air memiliki viskositas yang tinggi, bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah. Kitosan dengan derajat deasetilasi (DD) 55-70% dikategorikan sebagai kitosan dengan tingkat deasetilasi rendah dan hampir tidak larut dalam air. Sementara itu, kitosan dengan DD 70-85% memiliki kelarutan sebagian dalam air, DD 85-96% menunjukkan kelarutan yang baik dalam air, dan DD 95-100% termasuk dalam kategori deasetilasi sangat tinggi, yang sulit untuk diperoleh (Lv, 2016).



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor kering, rumput laut kering (*Eucheuma cottonii*), NaOH 0,1 M, BSA (*Bovine Serum Albumin*), larutan Lowry A (*folin ciocalteu* dan akuades dengan perbandingan 1 : 1), akuades, larutan Lowry B (Na_2CO_3 2% dalam NaOH 0,1 N, Na-K-Tartrat 2% dan CuSO_4 1% dengan perbandingan 100 : 1 : 1, Gliserol (sebagai plasticizer), Gelatin Sapi, CMC, KOH 15%, metanol p.a, etanol 96%, CH_3COOH 1%, kitosan, kertas saring, pereaksi DNS, air panas, KBr, ABTS (2,2' -azino-bis (3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulphonic acid), akuades steril, kalium persulfat, asam askorbat, kloramfenikol, pelarut DMSO, kertas cakram, media nutrisi, lapisan tipis logam emas.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Timbangan analitik (ohaus), Blender atau penggiling, oven, pengaduk magnetik (magnetic stirrer), tabung reaksi, rak tabung, gelas kimia 50 mL, mikropipet, sikat tabung, vortex (*Maxi Mixx II*), spatula, stopwatch, labu semprot, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780), pH meter, water bath, saringan atau kain muslin, pelat casting (cetakan untuk membuat film), oven pengering, SEM-EDS (hitachi), cawan petri ukuran 10 x 10 cm, cawan porselen, desikator (Shimadzu), *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) (Shimadzu), beaker, dan labu erlenmeyer, NKT-N9 Nano Particle sizer analyzer, hot plate stirrer, gelas kimia 500 mL, thermometer, corong, spatula, tanur, gelas kimia 100 mL, inkubator, vortex, pipet skala, pH meter 208, digital viscometer, batang pengaduk, labu ukur 10 mL, labu ukur 25 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 100 mL, aluminium foil, jangka sorong, gunting, instrument Universal Tensile Machine MCT-2150, difraktometer sinar-X (Rigaku), TGA STA7300.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Pangan, Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang, Laboratorium Terpadu, Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Laboratorium Forensik Polda Sulsel, Laboratorium Kimia Dasar ini dimulai pada bulan Desember 2024 sampai Mei 2025.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Proses Ekstraksi dan Pemurnian Polisakarida Karagenan dengan Penambahan Serbuk Daun Kelor

Proses ekstraksi dan pemurnian polisakarida karagenan dengan penambahan serbuk daun kelor dimulai dengan tahap preparasi bahan ekstraksi. Pada tahap ini, serbuk rumput laut *Eucheuma cottonii* yang sudah kering serta serbuk daun kelor ditimbang secara akurat berdasarkan persentase yang telah dirancang dalam desain eksperimen. Kedua bahan ini kemudian dicampur



di NaOH 15% yang berfungsi sebagai medium ekstraksi. Larutan alkali ini akan membantu melarutkan polisakarida karagenan sekaligus memecah rumput laut, sehingga senyawa bioaktif dari daun kelor dapat terdifusi secara efisien (Syafitri et al., 2022).

Durasi bahan yang telah dipersiapkan diekstraksi dengan pemanasan pada waktu yang bervariasi sesuai desain eksperimen. Waktu pemanasan diatur untuk ekstraksi polisakarida karagenan dan pelepasan senyawa bioaktif dari daun kelor. Pemanasan ini mendorong pelepasan polisakarida dari jaringan

rumput laut dan meningkatkan ekstraksi senyawa fenolik dari daun kelor, namun perlu diperhatikan agar waktu tidak terlalu lama sehingga mencegah degradasi molekul polisakarida (Rahman et al., 2015; Bhernama et al., 2020).

Setelah proses ekstraksi, larutan hasil ekstraksi disaring menggunakan kain atau kertas saring untuk memisahkan sisa padatan. Filtrat yang diperoleh kemudian dicampur dengan alkohol etanol 96% dengan perbandingan 3:1 untuk mengendapkan polisakarida. Proses presipitasi menggunakan etanol ini dimaksudkan untuk mengonsentrasikan polisakarida karagenan dengan menariknya keluar dari larutan sehingga dapat dipisahkan secara efektif sebelum dikeringkan (Syafitri et al., 2022).

Tahap akhir dari proses ini adalah pengeringan endapan polisakarida yang mengandung ekstrak daun kelor menggunakan oven pada suhu 100°C selama 5 jam. Pengeringan ini bertujuan menghilangkan sisa pelarut dan air agar diperoleh polisakarida kering yang siap digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin *edible film* (Bhernama et al., 2020).

Sesudah polisakarida kering diperoleh, dilakukan pengukuran nilai *rendamen* untuk mengetahui efisiensi ekstraksi polisakarida karagenan dengan penambahan daun kelor. Nilai *rendamen* menunjukkan persentase hasil polisakarida dibandingkan dengan berat bahan awal rumput laut. Formula yang digunakan adalah:

$$\text{Berat rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat polisakarida yang diperoleh (g)}}{\text{Berat bahan baku rumput laut kering (g)}} \times 100\%$$

Nilai *rendamen* ini menjadi parameter utama dalam evaluasi hasil ekstraksi dan optimasi proses (Syafitri et al., 2022).

2.4.2 Desain Eksperimen dan Analisis Data Optimasi Ekstraksi Polisakarida Karagenan dengan Penambahan Serbuk Daun Kelor

Pengaturan variabel proses dilakukan berdasarkan rancangan eksperimen *Response Surface Methodology* (RSM) untuk memperoleh kondisi optimal konsentrasi karagenan, konsentrasi daun kelor, dan waktu ekstraksi (Rizal et al., 2015). Data nilai *rendamen* yang diperoleh digunakan sebagai respons dalam analisis statistik menggunakan perangkat lunak RSM (misalnya Design Expert atau Minitab). Melalui analisis ini diperoleh model matematis dan grafik 3D yang menggambarkan interaksi antar variabel dan kondisi optimal untuk *rendemen* polisakarida maksimal.

Desain respon dilakukan dengan menggunakan metode Box-Behnken Design (BBD) yang dijalankan dalam program minitab versi 20. Variabel independent yaitu konsentrasi karagenan (X₁), konsentrasi serbuk daun kelor (X₂), waktu (X₃) (Tabel 1), terdapat 15 titik percobaan. Penentuan variabel bebas berdasarkan faktor-faktor yang berpotensi mempengaruhi respons,

Tabel 1. Penentuan variabel independen dan kode perlakuan pada penelitian

Variabel Independen	Simbol	Range	Dan	Level
Konsentrasi Karagenan	X ₁	-1	0	+1
		1	8	15
Skrub Daun Kelor	X ₂	0	5	10
		30	75	120



al yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan persamaan polinomial orde asikan dengan menggunakan persamaan (2).

$$Y_n = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \varepsilon$$

keterangan :

Y_n = estimasi variabel dependen (respon)

β_0 = variabel independen

X_i, X_j = range dan level variabel independen

β_i = variabel independent linier

β_{ii} = variabel independent akurat

β = interaksi

ε = random error

2.4.3 Uji Karakterisasi Serbuk Karagenan dan Kelor

Uji Kadar Air. Prosedur pengujian kadar air pada sampel dilakukan berdasarkan metode yang dirujuk oleh *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2015). Cawan porselen dikeringkan dahulu dalam oven pada suhu 105 °C selama 60 menit. Cawan porselen yang sudah kering dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga menunjukkan berat yang konstan. Selanjutnya sampel sebanyak 1-2 gram dimasukkan ke dalam cawan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 150 °C selama 3 jam. Cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Pekerjaan tersebut diulangi hingga diperoleh berat yang konstan. Kadar air dihitung menggunakan persamaan.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A= berat cawan kosong (g)

B= berat cawan + sampel awal (g)

C= berat cawan + sampel kering (g)

Uji Kadar Abu. Prosedur pengujian kadar abu pada sampel dilakukan berdasarkan metode yang dirujuk oleh *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2015). Cawan porselen dikeringkan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 105 °C selama satu jam. Setelah dikeringkan, cawan dipindahkan ke dalam desikator selama 15 menit untuk didinginkan, kemudian ditimbang. Proses ini diulangi hingga diperoleh berat yang tetap. Selanjutnya, sebanyak 1 gram sampel ditimbang, dimasukkan ke dalam cawan porselen, lalu dibakar di atas kompor listrik hingga tidak lagi mengeluarkan asap. Setelah itu, cawan beserta sampel dimasukkan ke dalam tanur pengabuan pada suhu 600 °C selama 6 jam. Setelah proses pengabuan selesai, cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit untuk didinginkan, kemudian ditimbang hingga diperoleh berat yang konstan. Kadar abu kemudian dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$



ng (g)

mpel awal (g)

mpel kering (g)

Uji Protein Terlarut dengan Metode (Lowry). Disiapkan larutan standar (0,02 mg/mL; 0,04 mg/mL; 0,08 mg/mL; 0,16 mg/mL; dan 0,32 mg/mL), larutan sampel Karkel (FP 50) dan larutan blanko yang telah dibuat. Kemudian dipipet larutan sampel gelatin FP 50 sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda lalu dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 2,75 mL pereaksi Lowry B ke dalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan 0,25 mL pereaksi Lowry A ke dalam tabung reaksi, lalu dihomogenkan dan didiamkan kembali selama 30 menit. Diukur absorbansi dari masing-masing larutan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Ramadan et al., 2020).

Uji Karbohidrat. Disiapkan larutan standar (0,01 mg/mL; 0,02 mg/mL; 0,04 mg/mL; 0,08 mg/mL; dan 0,16 mg/mL) larutan sampel (FP 50) dan larutan blanko yang telah dibuat. Kemudian dipipet larutan sampel FP 50 sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda lalu ditambahkan larutan DNS sebanyak 1 mL dan dihomogenkan. Kemudian dipanaskan dalam waterbath mendidih selama 15 menit dan didinginkan dalam waterbath berisi air es. Diukur absorbansi dari masing-masing larutan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Galung., 2021).

Uji pH. Analisis pH dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh GMIA (2013). Sebanyak 1,5% (b/v) sampel gelatin dilarutkan dalam akuades di dalam gelas piala berkapasitas 100 mL. Larutan tersebut dipanaskan pada suhu 60°C hingga larut secara sempurna. Setelah itu, larutan didinginkan hingga mencapai suhu 25°C, lalu tingkat keasamannya diukur menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi sebelumnya.

Uji Viskositas. Analisis viskositas dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Widyartini et al. (2016). Sampel dengan konsentrasi 1,5% dipanaskan menggunakan magnetic stirrer sambil diaduk hingga mencapai suhu 80°C, kemudian didinginkan hingga suhu 55°C. Pengukuran viskositas dilakukan dengan Viscosimeter Brookfield, di mana larutan sampel terus diaduk menggunakan spindle nomor 2 pada kecepatan 60 rpm hingga diperoleh nilai viskositas yang stabil dalam satuan centipoise (cP) (Widyartini et al., 2016).

Uji FTIR. Analisis spektrum FTIR sampel dilakukan menggunakan alat *fourier transform infrared spectroscopy* FTIR Spectrometers SHIMADZU. Pengukuran dilakukan pada daerah spektra 4000-500 cm⁻¹ data yang diperoleh dianalisis menggunakan software Omnic 8.1 (Hromis dkk., 2015).

2.4.4 Optimasi Karagenan Kelor, Kitosan dan Gelatin Sapi.

Prosedur optimasi formulasi dimulai dengan pembuatan rancangan eksperimen menggunakan perangkat lunak Minitab versi 2.1 dengan pendekatan Response Surface Methodology (RSM) metode Box-Behnken (Nurmiah et al., 2013). Dalam penelitian ini, variabel bebas yang dimanipulasi meliputi konsentrasi campuran polisakarida dari gelatin rumput laut *Eucheima cottonii*



kelor, konsentrasi kitosan, konsentrasi gelatin sapi, serta waktu ekstraksi. Untuk mengevaluasi pengaruhnya terhadap rendemen total polisakarida yang akan sebagai bahan utama formulasi *edible film*.

Disusun pada tiga level (-1, 0, +1) dengan rentang yang telah ditentukan bahan dan waktu ekstraksi. Pengaturan variabel ini bertujuan mendapatkan untuk menghasilkan polisakarida berkualitas dengan rendemen maksimal. Nilai maksimum dimasukkan ke dalam program Minitab RSM *Box-Behnken Design*

untuk diacak. Setelah dilakukan pengacakan kombinasi didapatkan 27 perlakuan yang akan dianalisis dan respon yang diukur dan dioptimasi adalah rendemen hasil optimasi. Berikut data dari 27 perlakuan RSM.

Tabel 2. Penentuan variabel independen dan kode perlakuan pada penelitian

Variabel Independen	Simbol	Range	Dan	Level
		-1	0	+1
Konsentrasi Karkel		1	8	15
Konsentrasi Gelatin Sapi	X ₂	0	7,5	15
Konsentrasi Kitosan	X ₃	0	7,5	15
Waktu	X ₄	30	75	120

Data eksperimental yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan persamaan polinomial orde dua yang direpresentasikan dengan menggunakan persamaan (2).

$$Y_n = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \varepsilon$$

keterangan :

Y_n estimasi variabel dependen (respon)

β₀= variabel independen

X_i, X_j= range dan level variabel independen

β_i= variabel independent linier

β_{ii}= variabel independent akurat

β= interaksi

ε= random error

Larutan kitosan dibuat dengan melarutkan 10 gram kitosan dalam 200 mL asam asetat 1% dan dihomogenkan selama 2 jam. Larutan gelatin sapi disiapkan dengan melarutkan 10 gram gelatin dalam 100 mL air panas, kemudian dihomogenkan selama 30 menit. Larutan polisakarida yang merupakan campuran gelatin rumput laut dan ekstrak daun kelor disiapkan dengan menimbang 10 gram serbuk campuran dan melarutkannya dalam 100 mL air, dihomogenkan larutan sempurna.



an kitosan dan gelatin dicampurkan dan diaduk secara merata selama 10 karida karagenan dan daun kelor yang sudah siap kemudian ditambahkan tersebut, diikuti dengan pemanasan pada suhu 50-60°C selama waktu iasi antara 30 hingga 120 menit sesuai desain eksperimen.

aksi, larutan didinginkan dan disaring untuk memisahkan residu padatan. si kemudian dikeringkan menggunakan metode freeze-dry atau oven suhu

rendah hingga berat konstan tercapai. Hasil kering polisakarida ini digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan *edible film*. Rendemen total polisakarida dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Kering Setelah Ekstraksi (g)}}{\text{Berat Bahan Mentah (g)}} \times 100\%$$

2.4.5 Pembuatan Larutan Stok ABTS (2,2' -azino-bis (3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulphonic acid))

Larutan ABTS dibuat dengan melarutkan 0,0071 gram serbuk ABTS ke dalam 5 mL akuades steril. Kemudian, 0,0035 gram kalium persulfat dilarutkan dalam 5 mL akuades hingga larut sepenuhnya. Kedua larutan ini dicampur dalam wadah steril, lalu volumenya ditambah hingga 25 mL menggunakan metanol p.a. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 12-16 jam dalam kondisi gelap untuk memastikan pembentukan radikal bebas ABTS. Setelah proses inkubasi, larutan ABTS diencerkan dengan metanol hingga absorbansi mencapai sekitar 0,7 pada panjang gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan ini kemudian digunakan sebagai reagen kerja dalam pengujian aktivitas antioksidan. (Lee et al., 2004).

2.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS untuk Asam Askorbat 500 ppm

Pembuatan Larutan Asam Askorbat 500 ppm. Asam askorbat 500 ppm ditimbang sebanyak 0,005 g. Lalu dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya dicukupkan volume dengan metanol p.a sehingga diperoleh larutan asam askorbat 500 ppm.

Pembuatan Larutan Asam Askorbat 5 ppm. Larutan asam askorbat 500 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya dicukupkan volume dengan metanol p.a sehingga diperoleh larutan asam askorbat 5 ppm.

Pembuatan Larutan Deret Asam Askorbat. Larutan asam askorbat 5 ppm dipipet masing-masing 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL; 0,8 mL; dan 1,6 mL ke dalam masing-masing tabung, sehingga diperoleh deret konsentrasi asam askorbat 0,2 ppm; 0,4 ppm; 0,8 ppm; 1,6 ppm; dan 3,2 ppm. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan ABTS, dicukupkan hingga volume total 2,5 mL, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Setelah itu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 744 nm.

Pembuatan Larutan Kontrol. Dipipet 0,5 mL ABTS ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL metanol p.a. Lalu dihomogenkan menggunakan vortex. **Pembuatan Larutan Blanko.** Dipipet 2,5 mL metanol p.a ke dalam tabung reaksi. Lalu dihomogenkan menggunakan vortex.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat. Larutan deret asam askorbat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 744 nm. Nilai persen inhibisi (%) diperoleh dari rumus persentase inhibisi:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100$$



Antioksidan Metode ABTS

Kontrol. Dipipet 0,5 mL ABTS lalu ditambahkan 2 mL metanol p.a ke dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.

Pembuatan Larutan Induk Karkel 5000 ppm. Karkel ditimbang sebanyak 0,25 gram. Kemudian, dilarutkan dengan menggunakan akuades hingga 50 mL dalam labu ukur. Dihomogenkan dan dihasilkan larutan induk 5000 ppm.

Pembuatan Larutan Deret Sampel Karkel. Larutan sampel 5000 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL; 0,8 mL; dan 1,6 mL ke dalam masing-masing tabung sehingga diperoleh deret konsentrasi sampel 200 ppm; 400 ppm; 800 ppm; 1600 ppm; dan 3200 ppm. Selanjutnya, reagen ABTS ditambahkan ke dalam masing-masing tabung sebanyak 0,5 mL, dicukupkan hingga volume total 2,5 mL, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 743 nm. Nilai persen inhibisi (%) diperoleh dari rumus persentase inhibisi:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100$$

2.4.8 Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan Blanko. Dipipet 2,5 mL metanol p.a ke dalam tabung reaksi. Lalu dihomogenkan menggunakan vortex.

Pembuatan Larutan Induk Karkel+gelatin+kitosan 5000 ppm. Karkel+gelatin+kitosan ditimbang sebanyak 0,25 gram. Kemudian, dilarutkan dengan menggunakan akuades hingga 50 mL dalam labu ukur. Dihomogenkan dan dihasilkan larutan induk 5000 ppm.

Pembuatan Larutan Deret Sampel Karkel+gelatin+kitosan. Larutan sampel 5000 ppm dipipet sebanyak 0,125 mL; 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; dan 2 mL ke dalam masing-masing tabung sehingga diperoleh deret konsentrasi sampel 250 ppm; 500 ppm; 1000 ppm; 2000 ppm; dan 4000 ppm. Selanjutnya, reagen ABTS ditambahkan ke dalam masing-masing tabung sebanyak 0,5 mL. Selanjutnya dicukupkan volumenya hingga total volume 2,5 mL dengan metanol p.a, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 743 nm. Nilai persen inhibisi (%) diperoleh dari rumus persentase inhibisi:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

2.4.9 Sintesis *Edible Film* Berbasis Gelatin Rumput Laut

Pembuatan *edible film* dilakukan dengan memanfaatkan gelatin sebagai matriks utama, yang kemudian difortifikasi dengan ekstrak karagenan kelor (KK) untuk meningkatkan sifat fungsionalnya. Dalam penelitian ini, *edible film* dibuat dalam tiga variasi dengan konsentrasi karagenan kelor sebesar 0%, 3%, dan 5%. Sebanyak 45 mL, 42 mL, dan 40 mL larutan gelatin dipanaskan menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 85°C. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL cmc untuk konsentrasi 3% dan 5 mL gliserol untuk konsentrasi 0% dan 5%, diikuti dengan penambahan ekstrak KK sebanyak 3 mL dan 5 mL, lalu larutan diaduk selama 30 menit. Setelah pencampuran selesai, larutan dituangkan ke dalam cawan petri dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah *edible film* mengering, penyimpanan dilakukan dalam am (Modifikasi dari Supeni et al., 2015).



Pembuatan *edible film* dilakukan dengan memanfaatkan gelatin sebagai matriks utama, yang kemudian difortifikasi dengan ekstrak karagenan kelor (KK) untuk meningkatkan sifat fungsionalnya. Dalam penelitian ini, *edible film* dibuat dalam tiga variasi dengan konsentrasi karagenan kelor sebesar 0%, 3%, dan 5%. Sebanyak 45 mL, 42 mL, dan 40 mL larutan gelatin dipanaskan menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 50°C. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL cmc untuk konsentrasi 3% dan 5 mL gliserol untuk konsentrasi 0% dan 5%, diikuti dengan penambahan ekstrak KK sebanyak 3 mL dan 5 mL, lalu larutan diaduk selama 30 menit. Setelah pencampuran selesai, larutan dituangkan ke dalam cawan petri dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah *edible film* mengering, penyimpanan dilakukan dalam desikator selama 48 jam (Modifikasi dari Supeni et al., 2015).

2.4.11 Uji Mekanik *Edible Film*

Uji Ketebalan. Uji ketebalan dilakukan menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm (Rusli et al., 2017). Nilai ketebalan yang didapat merupakan rata-rata dari pengukuran pada 5 titik berbeda.

$$\text{Ketebalan} = \frac{\text{Titik 1} + \text{titik 2}}{\text{Jumlah titik}} \times 100\%$$

Uji kuat tarik. Pengujian kuat tarik dilakukan dengan cara sampel dipotong dengan ukuran 5×2 cm. Pengukuran kuat tarik sampel dilakukan dengan menggunakan instrument *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).

Uji Elongasi/Mulur. Pengujian kuat tarik dilakukan dengan cara sampel dipotong dengan ukuran 5×2 cm. Pengukuran kuat tarik sampel dilakukan dengan menggunakan instrument *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).

2.4.12 Uji Aktivitas Antibakteri (Arifin et al., 2013)

Metode difusi cakram digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dengan membandingkan tiga konsentrasi sampel film pangan sebesar 0%, 3%, dan 5%. Kloramfenikol (kontrol positif) digunakan dengan konsentrasi yang sama sebagai pembanding, dan pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Kertas cakram direndam dalam larutan uji hingga penyerapan optimal.

Media nutrisi kemudian dipanaskan hingga mencair kemudian didinginkan hingga ±40°C sebelum dituang ke cawan petri steril. Setelah pemadatan media, 50 µL biakan bakteri diinokulasikan ke permukaan agar menggunakan teknik spread plate dengan spatula steril. Kertas cakram yang telah mengandung sampel kemudian ditempatkan di atas media menggunakan pinset steril dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam.



zona hambat di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong. n dihitung dengan mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona diameter cakram dan zona hambatan pelarut (jika ada). Zona hambat gevaluasi efektivitas antibakteri dari sampel *edible film* (Arifin et al., 2013;

2.4.13 Uji Karakteristik *Edible Film*

Uji FTIR. Analisis FTIR pada sampel *Edible film* dilakukan menggunakan spektrometer *Fourier Transform Infrared (FTIR) Shimadzu 820 IPC* dengan rentang pengukuran $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$. Pengambilan data spektra dilakukan menggunakan detektor DLATGS yang dilengkapi dengan sistem optik interferometer Michelson. Proses akuisisi data dikendalikan melalui perangkat lunak Omnic 8.1 untuk mengkonversi sinyal interferogram menjadi spektrum absorbansi (Park et al., 2024). **Uji SEM-EDS.** Uji ini bertujuan untuk menganalisis morfologi dan komposisi unsur pada permukaan *edible film*. Sampel *Edible film* dipasang pada set holder dengan menggunakan perekat ganda untuk memastikan stabilitas selama pengamatan. Selanjutnya, sampel dilapisi dengan lapisan tipis logam emas melalui metode sputtering dalam kondisi vakum untuk meningkatkan konduktivitas listriknya. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam ruang SEM, dan observasi topografi permukaan dilakukan pada berbagai tingkat perbesaran, yaitu $2000\times$, $5000\times$, $8000\times$, dan $10.000\times$, untuk mendapatkan detail morfologi permukaan film. Analisis ini memberikan informasi mengenai struktur fisik serta distribusi partikel pada permukaan *edible film*, yang penting untuk mengevaluasi sifat mekanik dan fungsional material. Prosedur ini mengikuti teknik standar SEM-EDS seperti yang dijelaskan oleh Goldstein et al. (2018), yang merupakan metode umum untuk karakterisasi material berbasis polimer dan bioplastik.

Uji XRD. Analisis XRD pada sampel dilakukan dengan memanfaatkan alat difraktometer sinar-X. Pengukuran difraktogram dilakukan pada sudut difraksi 2θ dari 0° hingga 100° dengan kecepatan pemindaian sebesar $2^\circ/\text{mm}$ (Modifikasi Tan et al., 2024).

Uji TGA. Analisis termogravimetri (TGA) adalah salah satu metode dalam analisis termal yang digunakan untuk mengukur kehilangan massa sampel selama pemanasan. TGA komersial dapat menganalisis suhu hingga lebih dari 1000°C . Massa yang hilang selama proses ini dapat dikategorikan sebagai komponen volatil, seperti kelembaban yang terperangkap, sisa pelarut, atau aditif dengan massa molekul rendah dan oligomer yang biasanya menguap pada suhu sekitar 300°C .

Sampel sebanyak 2 mg dihaluskan dan dimasukkan ke dalam cawan alumina (crucible), lalu dimasukkan ke dalam perangkat TGA dengan medium nitrogen dan aliran gas 20 ml/menit. Sampel dikondisikan terlebih dahulu pada temperatur suhu ruangan. Kemudian sampel dipanaskan dengan laju pemanasan $10^\circ\text{C}/\text{menit}$ hingga mencapai temperatur yang diinginkan dan dikondisikan secara isothermal selama 30 menit. Penurunan massa selama proses pemanasan dicatat secara otomatis oleh komputer untuk diolah dan diinterpretasikan lebih lanjut (Prasetyo et al., 2024).

Uji PSA. *Particulate Size Analyzer (PSA)* digunakan untuk mengukur distribusi ukuran nanopartikel (Ibrahim dan Ledyastuti, 2023). Sampel dimasukkan ke dalam kuvet. Kuvet yang telah diisi dengan sampel dimasukkan ke dalam *sample holder* lalu dianalisis menggunakan instrumen PSA (Nalawati et al., 2021).

Uji TGA. Sebanyak 2 mg sampel dihancurkan hingga halus dan dimasukkan ke dalam cawan alumina (crucible), kemudian ditempatkan ke dalam alat TGA dengan aliran gas nitrogen sebesar

terlebih dahulu dikondisikan pada suhu ruang. Setelah itu, pemanasan cepat 10°C per menit hingga mencapai suhu target, lalu dijaga selama 30 menit. Perubahan massa selama pemanasan dicatat secara komputer untuk dianalisis dan ditafsirkan lebih lanjut (Prasetyo et al., 2024).

