

## **BAB III METODE**

### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan, dari bulan Maret hingga Juni 2023. Ekstraksi buah senduduk bulu, karakterisasi ekstrak buah senduduk bulu, pembuatan film, uji kinerja film, serta karakterisasi film sebagian besar dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Pendidikan Indonesia dan karakterisasi film terkait sifat mekanik dilakukan di Laboratorium Logam Institut Teknologi Bandung.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

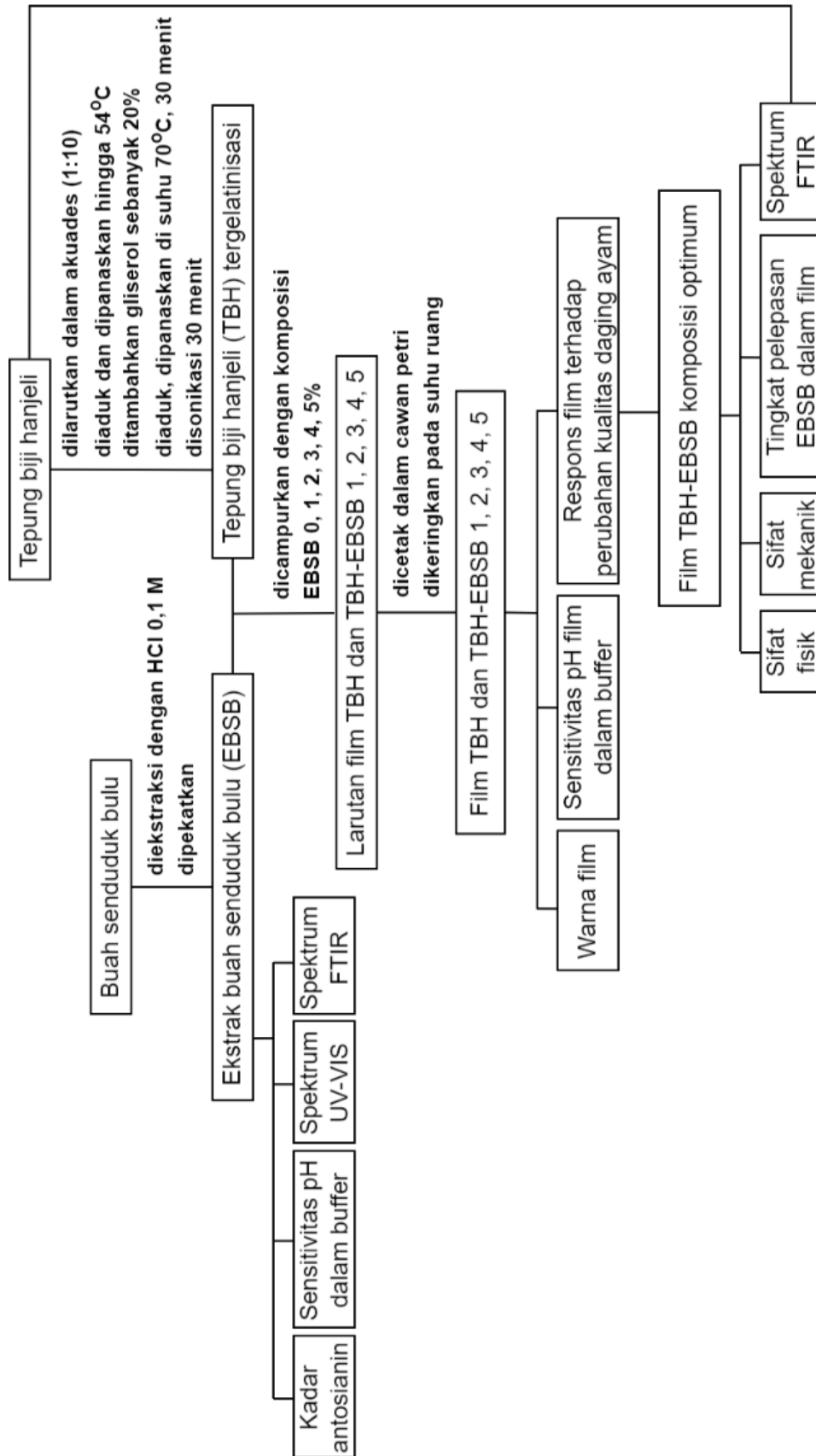
Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya spektrofotometer Ultraviolet-Visible (Shimadzu UV-2450), spektroskopi *Fourier-Transform Infrared* (Shimadzu), *Universal Testing Machine* (UTM) Instron 5985, rotavapor, oven, neraca analitik, *hotplate-magnetic stirrer*, *ultrasonic*, pH meter, mikrometer sekrup (Mitutoyo), alat gelas, dan lemari pendingin.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung biji hanjeli dan buah senduduk bulu yang dibeli dari toko *online*, gliserol, akuades, etanol 95%, asam klorida, asam asetat, buffer pH 1 - 12 (menggunakan kalium klorida, kalium hidrogen ptalat, natrium hidroksida, kalium dihidrogen fosfat, asam borat, natrium asetat, natrium karbonat), standar buffer pH 4, 7, 10, dan daging ayam.

### **3.3 Bagan Alir Penelitian**

Tahapan dalam penelitian ini ditunjukkan dalam bagan alir pada Gambar 3.1.



**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan tahapan prosedur yang dapat memberikan jawaban atas rumusan masalah penelitian. Maka, prosedur pada penelitian ini meliputi karakterisasi ekstrak buah senduduk bulu untuk mengetahui potensinya sebagai indikator perubahan pH dalam film, karakterisasi film berbasis tepung biji hanjeli dan ekstrak buah senduduk bulu untuk mengetahui potensinya sebagai film indikator, uji kinerja film berbasis tepung biji hanjeli dan ekstrak buah senduduk bulu (0 – 5%) dalam memberikan respons terhadap perubahan kualitas daging ayam sehingga dapat diketahui film dengan komposisi optimum, serta karakterisasi film indikator berbasis tepung biji hanjeli dan ekstrak buah senduduk bulu dengan komposisi optimum untuk mengetahui karakteristik film.

#### 3.4.1 Karakterisasi Ekstrak Buah Senduduk Bulu

Untuk memperoleh ekstrak buah senduduk bulu, buah senduduk bulu diekstraksi terlebih dahulu dengan mengacu pada prosedur ekstraksi buah senduduk bulu yang pernah dilakukan oleh Larasati et al. (2022) dengan modifikasi. Buah senduduk bulu diekstraksi menggunakan HCl 0,1 M dengan perbandingan sampel:pelarut 1:4 (g/mL) sambil dilakukan pengocokan selama 30 menit. Suspensi disaring kemudian filtratnya dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotavapor pada suhu 60 °C hingga 1/10 volume awal. Ekstrak pekat yang diperoleh selalu disimpan dalam wadah gelap pada suhu 4 °C ketika tidak digunakan.

Ekstrak buah senduduk bulu yang telah diperoleh, lalu dilakukan karakterisasi meliputi pengukuran kadar antosianin dalam ekstrak, pengujian sensitivitas pH ekstrak dalam buffer pH 1-12, serta pengukuran serapan ekstrak pada pH 1-12 menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

##### 3.4.1.1 Pengukuran Kadar Antosianin dalam Ekstrak

Kadar antosianin dalam ekstrak diukur menggunakan metode pH differensial dari AOAC 2005.02. Ekstrak buah senduduk bulu dilarutkan dalam buffer pH 1 dan 4,5 lalu masing-masing diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 dan 700 nm menggunakan

spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang didapatkan kemudian digunakan untuk menghitung kadar antosianin dengan persamaan berikut.

$$\text{Kadar antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

dimana  $A = (A_{520} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{520} - A_{700}) \text{ pH } 4,5$ ;  $MW = 449,2$  g/mol (berat molekul sianidin-3-glukosida);  $DF$  = faktor pengenceran;  $\epsilon = 26.900$  L/mol.cm (koefisien ekstingsi molar sianidin-3-glukosida);  $l$  = lebar kuvet (cm); dan 1000 = faktor untuk konversi dari g ke mg.

### 3.4.1.2 Pengujian Sensitivitas pH Ekstrak dalam Buffer

Pengujian sensitivitas pH ekstrak dilakukan dengan melarutkan 0,1 mL ekstrak buah senduduk bulu dalam 8 mL buffer pH 1 sampai 12 (Qin et al., 2019). Dimana, buffer pH 1 sampai 12 dibuat dengan memvariasikan volume bahan baku buffer seperti ditunjukkan pada Tabel 3.1 (Meelapsom et al., 2022).

**Tabel 3.1** Variasi volume bahan baku untuk pembuatan buffer pH 1-12 (Meelapsom et al., 2022)

Bahan Baku	Volume Bahan Baku (mL) untuk Setiap Buffer pH											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
KCl 0,2 M	50	50										
HCl 0,2 M	134	13										
C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub> 0,1 M			100	100	100							
HCl 0,1 M			44,6	0,2					11,4			
NaOH 0,1 M					45,2	11,2	58,2	93,4		21,4	45,4	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,1 M						100	100	100				
C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> 0,1 M									100			
NaHCO <sub>3</sub> 0,05 M										100	100	
KCl 0,2 M												50
NaOH 0,2 M												12
Akuades	16	137	55,4	99,8	54,8	88,8	41,8	6,6	88,6	78,6	54,6	138

### 3.4.1.3 Pengukuran Serapan Ekstrak pada Berbagai pH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak buah senduduk bulu yang dilarutkan dalam buffer pH 1 sampai 12 diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300 – 800 nm (Safitri, 2019).

### 3.4.2 Karakterisasi Film Tepung Biji Hanjeli-Ekstrak Buah Senduduk Bulu

Untuk memperoleh film tepung biji hanjeli-ekstrak buah senduduk bulu, film dibuat dengan mengacu pada metode yang pernah dilakukan oleh Anandito et al. (2012) dan Cheng et al. (2022) dengan modifikasi. Tepung biji hanjeli sebanyak 10 gram dilarutkan dalam akuades 100 ml dan dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai suhu gelatinisasi (54 °C). Setelah suhu gelatinisasi tercapai, larutan gliserol ditambahkan dengan konsentrasi 20% (v/b tepung biji hanjeli) dan dipanaskan pada suhu 70 °C selama 30 menit dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu campuran disonikasi selama 30 menit, lalu ditambahkan ekstrak buah senduduk bulu untuk mendapatkan konsentrasi akhir 0, 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (b/b). Larutan pembentuk film tersebut masing-masing dituangkan sebanyak 8 mL ke dalam cawan petri plastik berukuran 90 mm x 15 mm lalu dibiarkan kering pada suhu ruang selama 2 hari.

Film tepung biji hanjeli-ekstrak buah senduduk bulu dengan berbagai komposisi yang telah diperoleh, lalu dilakukan karakterisasi terkait tampilan warna film yang dihasilkan serta sensitivitasnya terhadap pH dari buffer.

#### 3.4.2.1 Pengukuran Warna Film

Film dengan konsentrasi ekstrak buah senduduk bulu sebanyak 0, 1, 2, 3, 4, dan 5% diletakkan di atas kertas putih untuk diambil gambar menggunakan kamera gawai. Warna film pada gambar yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak *imageJ* untuk mendapatkan nilai RGB (*Red Green Blue*). Nilai RGB selanjutnya dikonversi menjadi nilai parameter warna L, a, b melalui website <https://colorizer.org/> (Arief, 2019).

#### 3.4.2.2 Pengujian Sensitivitas pH Film dalam Buffer

Pengujian sensitivitas pH film dilakukan dengan cara merendam film (1,5 cm × 1,5 cm) dalam buffer pH 1 sampai 12 selama 1 menit. Kemudian, perubahan warna film didokumentasikan menggunakan kamera gawai (Wang et al., 2018).

#### 3.4.3 Uji Kinerja Film Tepung Biji Hanjeli-Ekstrak Buah Senduduk Bulu dalam Memberikan Respons terhadap Perubahan Kualitas Daging Ayam

Film dipotong sebesar 1,5 x 1,5 cm dan ditempelkan pada bagian atas wadah transparan yang berisi potongan daging ayam. Wadah transparan berisi daging ayam dan potongan film disimpan pada suhu  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  dan  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Pada suhu  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , setiap 6 jam sekali selama 24 jam, film difoto dan pH daging ayam diukur. Pada suhu  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , setiap 2 hari sekali selama 14 hari, film difoto dan pH daging ayam diukur (Nuroniya et al., 2022). Dalam setiap pengambilan foto, pengaturan dibuat seragam dengan kondisi cahaya dan latar belakang yang konsisten (Kuswandi, et al., 2013). Warna film dalam foto dianalisis menggunakan perangkat lunak *imageJ* untuk mendapatkan nilai RGB. Nilai RGB dari dua foto film yang akan diamati selanjutnya dikonversi menjadi nilai parameter warna L, a, b melalui website <https://colorizer.org/> (Arief, 2019), lalu dihitung sebagai nilai perbedaan warna ( $\Delta E$ ) melalui website <http://colormine.org/delta-e-calculator/>.

#### 3.4.4 Karakterisasi Film Tepung Biji Hanjeli-Ekstrak Buah Senduduk Bulu Komposisi Optimum

Hasil uji kinerja film terhadap perubahan kualitas daging ayam menunjukkan film tepung biji hanjeli-ekstrak buah senduduk bulu dengan komposisi optimum. Film dengan komposisi optimum tersebut dikarakterisasi lebih lanjut terkait pola spektrum FTIR yang dihasilkan, ukuran ketebalan, persentase kelarutan dan *swelling*, sifat mekanik (kekuatan tarik dan elongasi), serta tingkat pelepasan ekstrak di dalam film.

#### 3.4.4.1 Analisis Spektrum FTIR (*Fourier-Transform Infrared*) Film

Spektrum FTIR dari tepung biji hanjeli dan film diidentifikasi menggunakan Spektroskopi FTIR. Sampel dihancurkan dan dicampurkan dengan serbuk KBr, dihomogenkan dan dikompresi dengan *pellet press* hingga membentuk pelet. Kemudian pelet disimpan di antara 2 celah yang dilewati berkas sinar *infrared*, dan dianalisis spektrumnya pada rentang bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  (Zulfikar, 2020).

#### 3.4.4.2 Pengukuran Ketebalan Film

Ketebalan film diukur menggunakan mikrometer sekrup dengan rentang 0 – 25 mm. Pengukuran dilakukan pada sepuluh titik permukaan film secara acak, kemudian diambil nilai rata-ratanya sebagai hasil (Lim et al., 2021).

#### 3.4.4.3 Pengujian Kelarutan Film

Kelarutan film dalam air diuji berdasarkan metode yang pernah dilakukan oleh Pirsá (2020) dengan modifikasi. Film dipotong dengan ukuran  $1,5 \times 1,5$  cm kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam. Film yang sudah kering ditimbang untuk mendapatkan berat film awal ( $M_1$ ). Setelah itu, film dilarutkan dalam 40 mL akuades pada suhu ruang selama 24 jam. Potongan film yang tidak larut dipisahkan dan dikeringkan kembali menggunakan oven dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam, lalu ditimbang kembali untuk mendapatkan berat film akhir ( $M_2$ ). Kelarutan film dalam air dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Kelarutan film (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

#### 3.4.4.4 Pengujian *Swelling* (Penyerapan Air) Film

Pengujian *swelling* dilakukan berdasarkan metode yang dilaporkan oleh Sultan et al. (2021) dengan modifikasi. Film dipotong dengan ukuran  $1,5 \times 1,5$  cm kemudian ditimbang untuk mendapatkan berat film awal ( $M_1$ ). Selanjutnya film direndam dalam 15 mL akuades pada suhu

ruang selama 10 menit dan ditimbang untuk mendapatkan berat film akhir ( $M_2$ ). Kemampuan *swelling* dihitung berdasarkan persamaan berikut.

$$\text{Swelling film (\%)} = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100$$

#### 3.4.4.5 Pengujian Kekuatan Tarik dan Elongasi Film

Pengujian sifat mekanik meliputi kekuatan tarik dan elongasi dilakukan dengan mengikuti metode standar ASTM D882 (2010). Film berukuran  $7,5 \times 2,5$  cm dipasang pada alat *Universal Testing Machine* (UTM) Instron 5985 dengan kecepatan pengujian 2 mm/menit. Kekuatan tarik dan elongasi film dihitung dengan persamaan berikut.

$$\text{Kekuatan tarik (MPa)} = \frac{F}{x \times W}$$

$$\text{Elongasi (\%)} = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100$$

Dimana F adalah kekuatan regangan maksimum (N), x adalah ketebalan film (mm), dan W adalah lebar film (mm);  $\Delta L$  dan  $L_0$  masing-masing adalah perpanjangan dan panjang awal (mm) dari film.

#### 3.4.4.6 Pengujian Tingkat Pelepasan (*Release*) Ekstrak Buah Senduduk Bulu dalam Film

Penentuan tingkat pelepasan ekstrak buah senduduk bulu dari film mengikuti cara Sohany et al. (2021) dengan modifikasi. Film berukuran  $1,5 \times 1,5$  cm direndam dalam 10 mL akuades. Akuades yang digunakan untuk merendam film diukur absorbansinya pada 428 nm setiap satu jam sekali menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga nilai absorbansi konstan (Wu et al., 2021).