

BAB III

METODE PENELITIAN

Pada bab ini akan dibahas mengenai metode penelitian meliputi waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan penelitian, bagan alir percobaan, serta prosedur percobaan.

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Proses penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Juli 2025 di Laboratorium Preparasi Kimia Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) KST Prof. Samaun Samadikun, Cisitu, Bandung, Jawa Barat

3.2 Alat dan Bahan

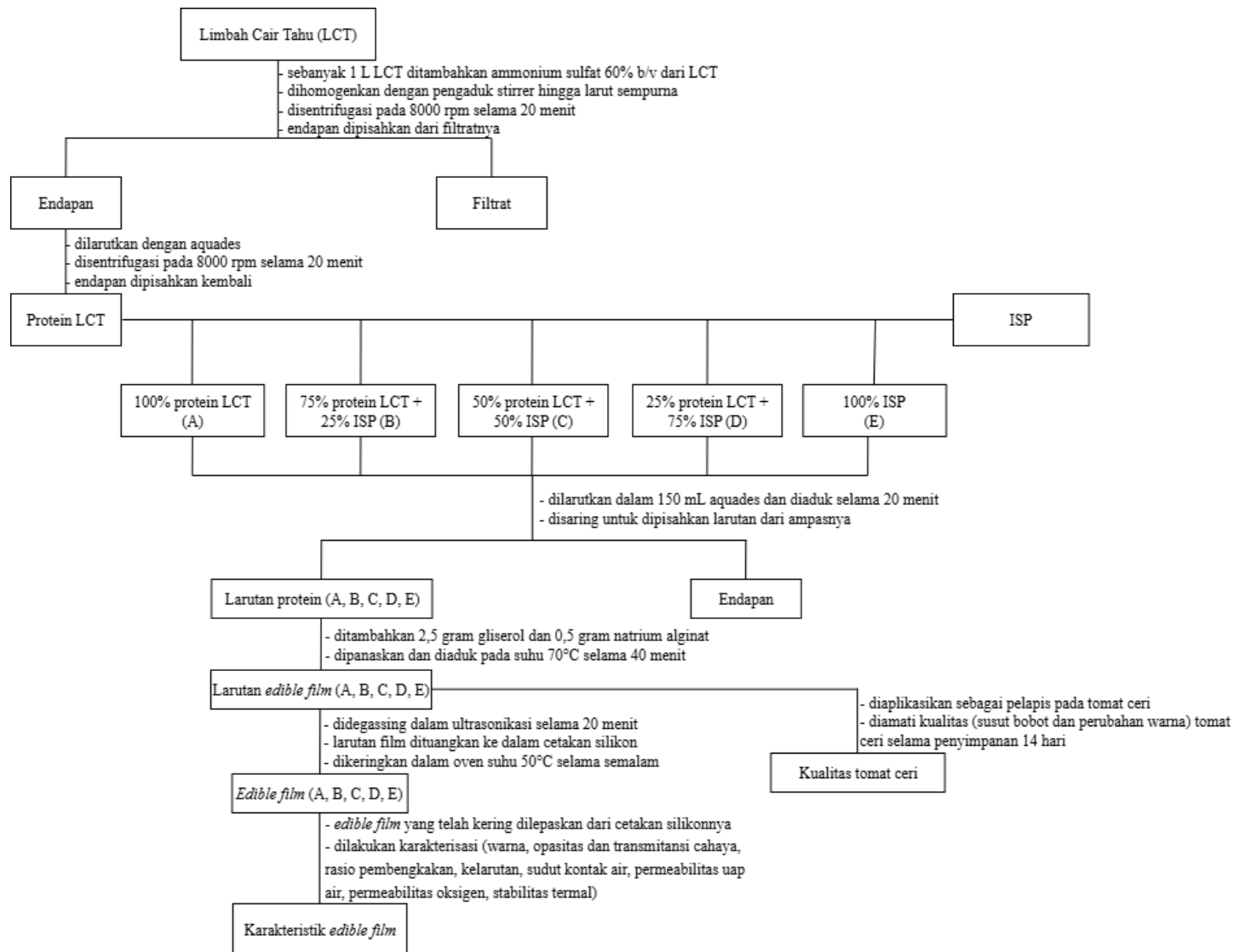
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain jerigen, berbagai alat gelas, cetakan silikon, wadah plastik, plastik klip, neraca analitik Ohaus Pioneer PA214C, *stirrer hot plate* Thermo Fisher Scientific, sentrifus Hermle Z 36 HK, mikropipet Finnpiette, COD *thermoblock* PF-IM 50150-08 Transmit G9, *waterbath* Memmert 854 Schwabach, vorteks Scientific Industries G560, spektrofotometer UV-Vis Lovibond PC Spectro II, *Particle Size Analyzer* Malvern, alat elektroforesis protein Bio-Rad, oven Memmert, *ultrasonic bath* Elma S 60 H, desikator, *syringe*, spektrofotometer UV-Vis Agilent, TG-DSC Themys One.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi limbah cair tahu dari PT Tahu Barokah Kabupaten Bandung Barat, isolat protein kedelai Para Agro, aquades, amonium sulfat Merck, sodium dodesil sulfat Sigma Aldrich, bovine serum albumin Sigma Aldrich, lowry A (Na_2CO_3) Sigma Aldrich, lowry B₁ ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) Sigma Aldrich, lowry B₂ (NaK-tartarat) Merck, Folin Ciocalteu 20% Merck, tris-base Sigma Aldrich, glisin Merck, β -merkapt etanol Sigma Aldrich, akrilamida/bis-akrilamida Sigma Aldrich, tetrametiletilendiamin Sigma Aldrich, ammonium persulfat Merck, commasie brilliant blue Himedia, metanol Merck, asam asetat glasial Merck, HCl Merck, NaOH Merck, natrium tetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) Merck, o-ftalaldehid Himedia, ditiotreitol Himedia, etanol Merck, bromfenol biru Sigma Aldrich, natrium alginat, gliserol Vivantis, asam linoleat Sigma Aldrich.

3.3 Bagan Alir Percobaan



Gambar 3.1 Bagan Alir Percobaan

Fitri Amalia Solihah, 2025

LIMBAH CAIR TAHU (LCT) SEBAGAI SUMBER PROTEIN PADA PEMBUATAN EDIBLE FILM UNTUK PELAPIS TOMAT CERI (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4 Prosedur Percobaan

3.4.1 Isolasi Protein Limbah Cair Tahu

Pengendapan limbah cair tahu dilakukan dengan metode penggaraman (*salting out*). Pertama-tama disiapkan sebanyak 1 L limbah cair tahu, ditambahkan padatan ammonium sulfat sebanyak 60% b/v dari LCT, lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga larut. Larutan selanjutnya disimpan dalam suhu 4°C selama 24 jam. Lalu larutan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rcf atau 8000 rpm, suhu 4°C, selama 20 menit. Endapan kemudian dicuci dengan aquades lalu disentrifugasi kembali pada kondisi yang sama. Kemudian endapan limbah cair tahu yang diperoleh dipisahkan dari supernatannya, dikumpulkan, dan ditimbang. Endapan kemudian dilarutkan dengan aquades untuk dianalisis karakteristiknya.

3.4.2 Pembuatan *Edible Film*

Edible film dibuat sesuai metode (Chen dkk., 2022) dengan beberapa modifikasi. Dibuat sejumlah 5 varian *edible film*: 100% protein LCT (A); 75% protein LCT dan 25% ISP (B), 50% protein LCT dan 50% ISP (C), 25% protein LCT dan 75% ISP (D), 100% ISP (E). Semua variasi dilarutkan dalam 150 mL aquades dan diaduk selama 20 menit. Selanjutnya larutan disaring untuk dipisahkan dari ampasnya, ditambahkan 2,5 gram gliserol dan 0,5 gram natrium alginat. Larutan dipanaskan dan diaduk pada suhu 70°C selama 40 menit. Setelah homogen, larutan di-*degassing* dalam ultrasonikasi selama 20 menit. Larutan dituangkan ke dalam cetakan silikon dan dikeringkan pada oven 50°C semalam. *Edible film* yang telah kering kemudian dilepaskan dari cetakan silikonnya.

3.4.3 Karakterisasi *Edible Film*

Karakteristik *edible film* yang dianalisis meliputi warna, opasitas dan transmitansi cahaya, rasio pembengkakan, kelarutan, sudut kontak air, permeabilitas uap air, permeabilitas oksigen, stabilitas termal (analisis DSC dan TGA).

3.4.4.1 Warna

Kertas putih diletakkan di tempat dengan pencahayaan baik dan diambil gambarnya sebagai koreksi. *Edible film* diletakkan di tempat dengan pencahayaan yang konsisten dan diambil gambarnya. Gambar yang telah diambil kemudian dibuat grid 4x4 dan diambil nilai warna RGB pada masing-masing kotak dengan perangkat lunak ImageJ. Dihitung rata-rata nilai RGB dan dikoreksi dengan nilai RGB warna putih. Nilai RGB yang diperoleh dikonversi ke nilai L^* , a^* , b^* dengan perangkat lunak Colormine. *Browning index* dihitung dengan persamaan:

$$Browning\ index = \frac{[100(X-0,31)]}{0,172}$$

$$X = \frac{(a^* + 1,75L^*)}{(5,645L^* + a^* - 3,02b^*)}$$

3.4.4.2 Opasitas dan Transmittansi Cahaya

Opasitas diukur sesuai metode (Tan dkk., 2025). *Film* dipotong seukuran satu sisi kuvet dan ditempelkan di atasnya. Absorbansi diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm, digunakan udara sebagai referensi. Opasitas dihitung dengan persamaan:

$$\text{Opasitas} = \frac{A_{600}}{d}$$

A_{600} : absorbansi *film* pada panjang gelombang 600 nm

d : ketebalan *film* (mm)

Transmittansi diukur sesuai metode (Zhang dkk. 2021) dengan spektrofotometer UV-Vis. *Film* dipotong seukuran satu sisi kuvet dan ditempatkan di dalam kuvet, kemudian transmittansi cahaya diukur pada rentang panjang gelombang 200-800 nm, udara sebagai referensi.

3.4.4.3 Rasio Pembengkakan

Edible film direndam dengan 25 mL air deionisasi setelah ditimbang. *Edible film* lalu diangkat, dan air yang ada di permukaannya dikeringkan dengan kertas saring dan ditimbang (Zhang dkk., 2021). Rasio pembengkakan dihitung sebagai berikut:

$$RP = \frac{(m_s - m_i)}{m_i} \times 100\%$$

m_s : massa *edible film* setelah direndam

m_i : massa *edible film* awal

3.4.4.4 Kelarutan

Kelarutan *edible film* dianalisis mengikuti metode (Tan dkk., 2025) dengan beberapa modifikasi. *Edible film* dipotong menjadi ukuran 1x1 cm² dan dikeringkan pada oven suhu 50°C selama 24 jam. Selanjutnya *edible film* didinginkan dalam desikator dan ditimbang massanya. *Edible film* kemudian ditempatkan dalam gelas kimia lalu ditambahkan 10 mL aquades dan diaduk dengan kecepatan 250 rpm selama 24 jam. Larutan kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit. Endapan dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 24 jam, selanjutnya didinginkan dan ditimbang massanya. Kelarutan dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kelarutan} = \frac{(W_0 - W_1)}{W_1} \times 100\%$$

W_0 : massa *edible film* awal (gram)

W_1 : massa *edible film* akhir (gram)

3.4.4.5 Penentuan Sudut Kontak Air

Penentuan sudut kontak dilakukan dengan metode (Tan dkk., 2025) dengan modifikasi. *Edible film* ditempelkan pada preparat dan setetes aquades ditambahkan ke permukaan *film*, lalu diambil gambarnya. Gambar yang diperoleh kemudian dianalisis dengan perangkat lunak ImageJ untuk diperoleh nilai sudut kontak airnya. Nilai rata-rata dianggap sebagai sudut kontak akhir yang terukur. Sudut kontak air dihitung dengan persamaan:

$$\text{Sudut kontak air} = \frac{SK_{kiri} + SK_{kanan}}{2}$$

SK_{kiri} : sudut kontak kiri

SK_{kanan} : sudut kontak kanan

3.4.4.6 Permeabilitas Uap Air

Analisis laju transmisi uap air mengikuti metode (Ahammed dkk., 2021). *Edible film* dipotong menjadi ukuran 4x4 cm². Tabung falcon diisi dengan 10 mL aquades dan *edible film* digunakan untuk menutup dan menyegel mulut tabung. Massa awal sistem (tabung + aquades + *edible film*) ditimbang, kemudian sistem ditempatkan dalam desikator yang telah diisi silika gel anhidrat. Massa sistem diamati dalam interval waktu 24 jam selama 72 jam dalam desikator. Kemiringan setiap garis dihitung melalui regresi linier ($R^2 > 0,99$) antara perubahan berat terhadap waktu. Laju transmisi uap air (*Water Vapor Transmission Rate/WVTR*) dihitung terlebih dahulu sebagai berikut:

$$WVTR = \frac{\text{slope}}{\text{luas area edible film}}$$

Permeabilitas uap air (*Water Vapor Permeability/WVP*) kemudian dihitung dengan persamaan:

$$WVP = \frac{WVTR \times d}{PA_1 - PA_2}$$

d : ketebalan *edible film*

PA_1 : tekanan uap parsial di permukaan luar *edible film* dalam desikator

PA_2 : tekanan uap parsial pada permukaan dalam *edible film*

3.4.4.7 Permeabilitas Oksigen

Pengukuran permeabilitas oksigen mengikuti metode (Chang dkk., 2019). *Edible film* dipotong menjadi ukuran 4x4 cm². Tabung falcon diisi dengan 5 mL asam linoleat dan *edible film* digunakan untuk menutup dan menyegel mulut tabung. Massa awal sistem (tabung + aquades + *edible film*) ditimbang, kemudian sistem ditempatkan pada suhu ruang. Massa sistem diamati dalam interval waktu 24 jam selama 120 jam. Kemiringan setiap garis dihitung melalui

regresi linier ($R^2 > 0,99$) antara perubahan berat terhadap waktu. Laju transmisi oksigen (*Oxygen Transmission Rate/OTR*) dihitung terlebih dahulu sebagai berikut:

$$OTR = \frac{slope}{luas\ area\ edible\ film}$$

Permeabilitas oksigen (*Oxygen Permeability/OP*) kemudian dihitung dengan persamaan:

$$OP = \frac{OTR \times d}{PA_1 - PA_2}$$

d : ketebalan *edible film*

PA₁ : tekanan uap parsial di permukaan luar *edible film*

PA₂ : tekanan uap parsial pada permukaan dalam *edible film* (0 Pa setelah kesetimbangan)

3.4.4.8 Stabilitas Termal

Analisis stabilitas termal *edible film* dilakukan dengan instrumen *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dan *Thermogravimetric Analysis* (TGA) mengikuti (Zhang dkk., 2021). Sampel *edible film* sebanyak 3 mg dianalisis pada kisaran 30-200°C dengan laju pemanasan 10°C/menit dalam atmosfer nitrogen (20 ml/menit).

3.4.4 Aplikasi Pelapis pada Tomat Ceri

Aplikasi pelapis pada tomat ceri mengikuti metode (Roshandel-hesari dkk., 2022) dengan beberapa modifikasi. Tomat ceri dicuci dengan aquades lalu dibiarkan kering. Tomat ceri dilapisi dengan larutan *edible film* dengan dicelupkan selama 3 menit dan dibiarkan kering pada suhu ruang. Tomat ceri yang tidak dilapisi larutan *edible film* digunakan sebagai kontrol. Tomat ceri disimpan pada suhu 20°C selama 14 hari dan diamati perubahannya setiap 2 hari.

3.4.5.1 Susut Bobot Tomat Ceri

Susut bobot tomat ceri dianalisis mengikuti metode (Roshandel-hesari dkk., 2022). Massa tomat ceri ditimbang setiap 2 hari selama 14 hari penyimpanan. Susut bobot tomat ceri dihitung dengan persamaan:

$$Susut\ bobot = \frac{(m_0 - m)}{m_0} \times 100\%$$

m₀: massa tomat ceri hari ke-0 (gram)

m: massa tomat ceri hari ke-x (gram)

3.4.5.2 Perubahan Warna Tomat Ceri

Tomat ceri diletakkan di tempat dengan pencahayaan konsisten dan diambil gambarnya. Gambar kemudian dicari nilai warna RGB dengan bantuan perangkat lunak ImageJ. Dihitung rata-rata nilai RGB dan dikoreksi dengan nilai RGB warna putih. Selanjutnya nilai RGB yang diperoleh dikonversi ke nilai L*, a*, b* dengan bantuan perangkat lunak Colormine.