

BAB III METODE PENELITIAN

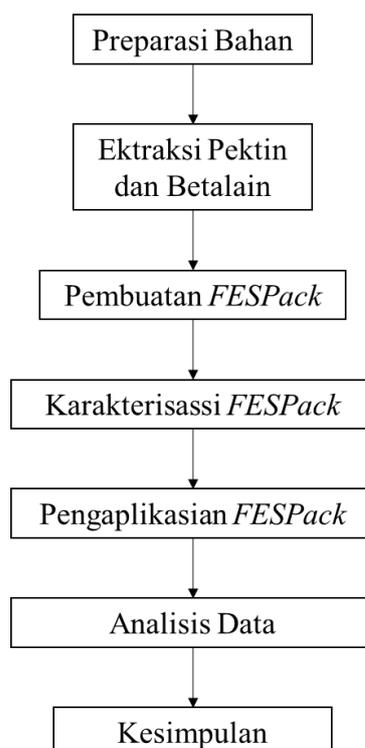
3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *Food Edible Smart packaging*, yaitu bit dari pasar lokal, gliserol sebagai *plasticizer*, asam sitrat, NaOH, HCl, kertas saring kasar, etanol 98%, akuades, kertas saring Whatman No.1, dan larutan buffer dengan rentang pH 2-12.

3.2 Alat

Dalam penelitian menggunakan beberapa alat, yaitu blender, oven, gelas beaker, corong buhner, kain nilon, saringan 80 mesh, *hotplate*, *magnetic stirrer*, mortar dan alu, sentrifugasi, pH meter, cawan petri, *homogenizer* (UltraTurrax IKA, T25), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2450), FTIR, neraca analitik, sekrup mikrometer, desikator, dan botol vial.

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

3.4 Preparasi Bahan

Bit merah (*Beta vulgaris L. var. conditiva*) dicuci menggunakan air, dikupas kulitnya dan dipotong. Potongan buah bit dimasukkan dalam blender (Miyako Juice Extractor JE 607) dengan penambahan air 1 : 1. Jus dan ampas dipisahkan menggunakan saringan. Ampas akan diekstraksi untuk memperoleh pektin dan jus akan diekstraksi untuk memperoleh pewarna betalain.

3.5 Ekstraksi Pektin dari Bit

Ekstraksi pektin dari buah bit dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh (Fissore et al., 2010) dan (Ridhay, 2019). Ampas bit digunakan dalam isolasi pektin sebagai pengganti pulp bit. Ampas bit dicuci sebanyak dua kali menggunakan akuades, dikeringkan selama 2 jam pada suhu 85°C menggunakan oven, digiling dan disaring hingga membentuk bubuk bit. Bubuk bit ditimbang sebanyak 10 gram, ditambahkan 500 mL asam sitrat 7%. Ekstraksi pektin dilakukan selama 120 menit pada suhu 90°C-95°C. Hasil ekstraksi disaring dengan kain saring dalam keadaan panas. Filtrat hasil penyaringan didinginkan dan diendapkan dengan menambahkan etanol 96% dengan perbandingan volume 1:1,5 sambil diaduk sehingga terbentuk endapan, dan diendapkan selama 24 jam. Endapan dipisahkan dari larutannya dengan cara disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Dilakukan pencucian endapan dengan menggunakan etanol secara berulang-ulang, dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam.

3.6 Ekstraksi Betalain dari Bit

Betalain diekstraksi mengikuti metode yang dilakukan oleh (Faridah et al., 2015) dengan modifikasi. Jus bit diekstraksi menggunakan akuades dengan perbandingan jus bit : akuades adalah 1 : 10. Larutan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan disaring dengan kertas saring whatman.

3.7 Ekstraksi Antosianin

Antosianin diekstraksi mengikuti metode yang dilakukan oleh (Amalia et al., 2021). Ekstraksi dimulai dengan mencuci ubi ungu dan kemudian dipotong-

potong kecil. Potongan ubi ungu direndam dalam akuades dengan ubi ungu : akuades (1 : 3, w/v) pada suhu 90°C selama 10 menit. Setelah direndam, larutan ekstrak didinginkan sampai suhu ruang dan disaring. Hasil dari penyaringan didiamkan dalam lemari pendingin dalam keadaan tertutup dari cahaya.

3.8 Pembuatan *Food Edible Smart Packaging (FESPack)*

Pembuatan *FESPack* dilakukan dengan memadukan metode yang dilakukan oleh (Guo et al., 2021) dan (Ardiyansyah et al., 2018). Sebanyak 3 gram pektin dilarutkan dalam 70 mL akuades. Larutan pektin dipanaskan pada suhu 40°C selama 30 menit diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 300 rpm dan ditambahkan gliserol (50% w/w pektin).

Kemudian larutan tersebut didinginkan dalam suhu ruang. Setelah dingin, larutan diukur pH nya. Ditambahkan buffer NaOH jika pHnya tidak 2,8. Setelah pHnya sesuai, larutan dipanaskan kembali sampai 50°C selama 15 menit. Ditambahkan campuran betalain dan antosianin sebanyak 30 mL dengan berbagai perbandingan (Tabel 3.1) dan diaduk selama 10 menit. Saat masih panas, larutan dituangkan ke dalam cawan petri (diameter: 90 mm) sebanyak 25-30 mL. Film dikeringkan selama 24 jam pada suhu 30°C dan disimpan dalam desikator.

Tabel 3.1 Variansi Perbandingan Betalain dan Antosianin

No.	Kode	Keterangan
1.	B1	Betalain 100%
2.	B1A1	Betalain : Antosianin = 1 : 1
3.	B1A2	Betalain : Antosianin = 1 : 2
4.	B2A3	Betalain : Antosianin = 2 : 3
5.	B1A3	Betalain : Antosianin = 2 : 1
6.	B2A1	Betalain : Antosianin = 1 : 3
7.	B2A2	Betalain : Antosianin = 2 : 2

3.9 Pengujian pada *Food Edible Smart Packaging (FESPack)*

3.9.1 Uji Stabilitas Warna Ekstrak

Uji stabilitas zat warna dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh (Ardiyansyah et al., 2018) untuk mengetahui kestabilan betalain dalam berbagai kondisi. Ekstrak betalain ditambahkan larutan buffer dengan berbagai pH (2,-8). Larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-2450 dengan Panjang gelombang 200-800 nm.

3.9.2 Identifikasi Pektin Menggunakan FTIR

Ditimbang serbuk kering KBr sebanyak 0,3 gram. Timbang 0,015 gram pektin. Pektin dan serbuk KBr dicampurkan dan dikompresi dalam pellet press dengan kompresi hidrolitik berkekuatan 10 torr yang dihubungkan dengan pompa vakum. Pelet campuran KBr dan sampel diletakkan diantara 2 celah yang dilewati berkas sinar inframerah. Diatur spektranya pada rentang Panjang gelombang 4000 – 400 cm^{-1} , kemudian dianalisis dengan spektra FT-IR ((Ridhay, 2019).

3.9.3 Analisis Kadar Metoksil

Pektin kering yang diperoleh dianalisis kandungan metoksil. Analisis dilakukan dengan cara melarutkan 0,5 gram pektin kering dengan 100 ml akuades. Ditambahkan 6 tetes fenofitalin, dititrasi dengan 0,1 N NaOH. Titik ekivalen ditandai dengan perubahan warna dari putih kecokelatan sampai ke merah muda. Volume NaOH yang dibutuhkan dicatat (V) (Ridhay, 2019).

3.9.4 Uji Ketebalan

Ketebalan film diukur menggunakan pengukur sekrup mikrometer 0 hingga 25 mm. Ketebalan diukur pada 5 titik pada film secara acak. Hasil yang didapatkan dirata-ratakan yang selanjutnya digunakan sebagai nilai ketebalan film.

3.9.5 Uji *Swelling Indeks*

Uji Swelling Indeks dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh (Susmitha et al., 2021) dengan sedikit modifikasi. Film-film tersebut dipotong

kecil-kecil (2 cm × 2 cm), dikeringkan pada $105 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam dan beratnya (W_0) pada awalnya. Film kering selanjutnya direndam dalam 15 mL air suling selama 2 menit pada 25°C . Kemudian, sampel yang membengkak diseka dengan kertas saring untuk menghilangkan kelebihan cairan dan ditimbang (W_1). Jumlah air yang diserap dihitung menggunakan persamaan (3):

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

di mana, SI adalah persentase indeks pembengkakan dan W_0 dan W_1 adalah bobot sampel kering dan basah. Setiap pengukuran dilakukan dalam rangkap tiga.

3.9.6 Uji Kelarutan Film dalam Air

Kelarutan film dalam air ditentukan dengan metode yang dilaporkan oleh (Kurek et al., 2018). Kelarutan didefinisikan oleh kandungan bahan kering yang terlarut setelah perendaman 24 jam dalam air suling. Tiga lembar dari setiap film (diameter 2 cm) dipotong dengan ukuran 2 x 2 cm dan dikeringkan dengan berat konstan dalam oven pada 105°C untuk menentukan kandungan bahan kering awal (W_i). *Edible film* direndam dalam 30 mL air suling pada suhu 25°C Setelah 24 jam perendaman. potongan film dikeluarkan dan dikeringkan dengan berat konstan dalam oven pada suhu 105°C untuk menentukan berat akhir (W_f) bahan kering yang tidak terlarut dalam air. Kelarutan film (FS, %) dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$FS (\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \cdot 100\%$$

3.9.7 Uji Respons Warna terhadap pH

Respons warna terhadap perubahan pH diukur mengikuti penelitian sebelumnya oleh (Weston et al., 2020) dengan sedikit modifikasi. Untuk menunjukkan kemampuan film *FESPack* dalam membedakan antara daging ayam segar dan basi, pH susu disesuaikan dengan penambahan asam laktat untuk memperoleh larutan susu pada pH 7; 6,0; 5,5; 5,0; 4,5; dan 4,0 untuk mewakili susu segar, susu basi dan susu busuk. Film kemudian direndam dalam 5 mL larutan susu dan didiamkan selama 10 menit, Perubahan warna dipantau

menggunakan ponsel kamera (J6 2018, Samsung, Korea) dan direkap sebagai standar perubahan warna pada *Smart Packaging*.

3.9.8 Uji Efektivitas pada Kesegaran Daging Ayam

FESPack dipotong dengan ukuran 2 x 2 cm dan disimpan dalam tempat plastik dengan daging ayam berukuran 6 x 3 cm. daging ayam disimpan dalam dua suhu yaitu suhu ruangan ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dan suhu pendingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$). pada suhu ruang, daging ayam diamati perubahan warna *Edible film*, pH daging ayam dan susut bobot daging ayam setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Pada suhu pendingin, daging ayam diamati setiap hari selama 8 hari.

3.9.9 Pengukuran pH pada Daging Ayam

Sampel daging ayam seberat 2 g ditambahkan 18 mL air destilasi, dihaluskan dan dihomogen. Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter perlu dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan buffer pH 4 dan 7. Setelah dikalibrasi pH larutan diukur dengan cara mencelupkan elektroda ke dalam larutan sampai diperoleh pembacaan yang stabil.