

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. WVTR (*Water Vapor Transmission Rate*)

Menurut Gontard dkk. (1992) fungsi utama film adalah menghambat transfer uap air antara bahan makanan yang dikemas dengan lingkungan sekitarnya atau menurut Labuza dan Hyman (2005) untuk memperlambat difusi air antara dua lingkungan.

*Water Vapor Transmission Rate* (WVTR) atau sering juga disebut *Moisture Vapor Transmission Rate* (MVTR) adalah metode untuk mengukur jumlah uap air yang dapat melewati lapisan kemasan. Satuan unit yang umum dipakai untuk metode ini adalah  $\text{g H}_2\text{O}/\text{m}^2/8 \text{ jam}$  (berapa banyak (gram) uap air yang lewat dalam satuan meter persegi dalam 8 jam). Semakin tinggi nilai WVTR maka permeabilitas kemasan juga tinggi, maka semakin banyak uap air yang keluar dari dalam atau masuk ke dalam kemasan (Bayu, 2007). *Edible film* yang baik harus tidak mudah dilewati oleh uap air atau memiliki nilai laju transmisi uap air yang rendah. Film yang baik adalah film yang memiliki WVTR seminimal mungkin. Pengujian WVTR dilakukan dengan metode cawan.

Hasil analisis sidik ragam terhadap uji WVTR (Lampiran 3a) menunjukkan tidak ada interaksi pada kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan konsentrasi minyak atsiri. Hasil rerata pengujian WVTR dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata harian hasil uji WVTR (g H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/8 jam)

Perlakuan	Minyak Atsiri					Rerata
	Lemon			Daun Sirih		
	0% (M0)	2% (M1)	3% (M2)	0,1% (M3)	0,2% (M4)	
CMC 1% (C1)	31.40	28.86	28.48	24.10	23.40	27.25a
CMC 1,5% (C2)	22.50	26.04	24.73	24.13	22.41	23.96b
Rerata	26.95a	27.45a	26.61a	24.12b	22.90b	(-)

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antar rerata perlakuan CMC. Rerata perlakuan CMC konsentrasi 1% (C1) lebih tinggi dibanding dengan rerata perlakuan CMC konsentrasi 1,5% (C2). Hal tersebut diduga bahwa CMC dengan konsentrasi 1,5% memiliki kerapatan yang tinggi sehingga bisa menahan laju uap air dan CMC dengan konsentrasi 1% memiliki kerapatan yang lebih rendah sehingga mudah dilalui oleh uap air. CMC dengan konsentrasi 1,5% memiliki padatan terlarut yang lebih banyak ketika proses pembuatan dan pencetakan *edible film* daripada CMC dengan konsentrasi 1%.

Padatan terlarut CMC yang banyak akan membentuk ikatan hidrogen yang lebih kuat, sehingga menghasilkan struktur *edible film* yang kompak (Polnaya et al., 2006; Xu et al., 2005). Struktur *edible film* yang kompak dapat menghambat difusi uap air melalui *edible film* (Rachel dkk., 2012). Menurut Dyah dkk (2013) tingginya konsentrasi suatu bahan *edible film* akan meningkatkan jumlah polimer pembentuk film dan total padatan sehingga akan terbentuk *edible film* yang tebal. Peningkatan jumlah polimer akan memperkecil rongga dalam gel yang terbentuk, semakin tebal dan rapat matriks film yang terbentuk dapat mengurangi laju uap air karena sulit ditembus oleh uap air. Penelitian yang dilakukan oleh Rachel dkk (2012) menggunakan CMC dengan konsentrasi antara 0%, 0,25% dan 0,5%

dikombinasikan dengan Pati Ubi Jalar 2,5%, 3,5% dan 4,5% menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari CMC memiliki kecenderungan menurunnya nilai WVTR *edible film*.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antar rerata perlakuan minyak atsiri. Rerata perlakuan CMC minyak atsiri 0% (M0) lebih tinggi dibanding dengan rerata perlakuan CMC minyak atsiri daun sirih pada berbagai konsentrasi (M3 dan M4). Hal ini diduga karena *edible film* CMC yang mengandung minyak atsiri daun sirih mempunyai ketahanan terhadap uap air yang lebih baik dibandingkan *edible film* kontrol (CMC saja). CMC yang bersifat hidrofilik dapat menghasilkan *edible film* dengan ketahanan uap air yang sangat rendah sehingga laju transmisi uap air tinggi. Sifat hidrofilik disebabkan struktur kimia didominasi dengan gugus hidroksil (OH) yang mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan air (Paramawati 2001).

Kester dan Fennema (1986) menyatakan polimer dengan gugus hidrofilik yang tinggi akan menghasilkan film yang rentan terhadap uap air, sebaliknya polimer dengan gugus hidrofobik tinggi akan menghasilkan film dengan ketahanan yang baik terhadap uap air. Minyak atsiri dapat meningkatkan sifat hidrofobik film *edible film* CMC, sehingga ketahanan film edibel terhadap uap air semakin meningkat dengan semakin banyaknya minyak atsiri dalam *edible film* CMC. Penelitian Miksusanti (2008) menunjukkan perlakuan penambahan minyak atsiri temu kunci berpengaruh nyata terhadap transmisi uap air *edible film* dimana peningkatan konsentrasi minyak atsiri menyebabkan penurunan nilai transmisi uap air yang berhubungan paralel dengan polaritas lemak. Minyak atsiri temu kunci mempunyai ketahanan yang baik terhadap transmisi uap air karena mempunyai

gugus non polar yang bersifat menolak molekul air sehingga mempersulit transmisi uap air (Fennema *et al.*1994).

Sedangkan pada rerata perlakuan CMC minyak atsiri 0% dan CMC minyak atsiri lemon 2% dan 3% tidak terdapat beda nyata. Hal ini diduga karena konsentrasi minyak atsiri lemon yang digunakan sangat tinggi yaitu 2% dan 3% sehingga sulit berasosiasi atau berikatan dengan molekul CMC. Penggabungan *essensial oil citrus* ke dalam *film* gelatin kulit ikan dapat langsung mempengaruhi sifat mekanik, permeabilitas uap air, warna, dan transparansi edible film. *Essential lemon oil* dengan konsentrasi 50% dari hidrokoloid berpotensi meningkatkan fleksibilitas dan permeabilitas uap air (Tongnuanchan *et al.*, 2012). Konsentrasi minyak atsiri lemon yang digunakan merupakan 2% dan 3%, 50% dari konsentrasi CMC yaitu 1% dan 1,5% sehingga molekul minyak atsiri tak dapat berikatan sempurna dengan molekul CMC dan terdapat rongga pada edible film sehingga uap air yang menembus edible film lebih banyak.

### **B. Kekuatan Tarik (*Tensile Strength*)**

Kekuatan tarik (*Tensile Strength*) merupakan sifat mekanik yang penting bagi *edible film*. Kekuatan tarik adalah tegangan maksimum yang bisa ditahan oleh sebuah bahan ketika diregangkan atau ditarik, sebelum bahan tersebut patah (Faqih, 2016). *Edible film* dengan kekuatan tarik dan pemanjangan yang tinggi akan mampu melindungi produk yang dikemasnya dari gangguan mekanis dengan baik (Azka., dkk 2015). Pengujian Kekuatan Tarik bertujuan untuk mengetahui besarnya gaya yang dicapai untuk mencapai tarikan maksimum pada setiap satuan luas area *edible film* untuk meregang (Krochta, 1997). Pengujian Kekuatan Tarik dilakukan menggunakan alat *Instron Universal Testing Machine (UTI)*. Cara

pengujian yaitu dengan memotong *edible film* dengan ukuran 12 cm x 5 mm, lalu dijepit secara horisontal pada alat UTI untuk ditarik dan dilakukan analisa yang hasilnya langsung terlihat di komputer. Hasil analisis sidik ragam terhadap uji Kekuatan Tarik (Lampiran 2b) menunjukkan bahwa ada interaksi pada kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan konsentrasi minyak atsiri. Hasil rerata pengujian Kekuatan Tarik disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rerata harian hasil uji kekuatan tarik (MPa)

Perlakuan	Minyak Atsiri					Rerata
	Lemon			Daun Sirih		
	0% (B1)	2% (B2)	3% (B3)	0,1% (B4)	0,2% (B5)	
CMC 1% (A1)	0.31413d e	0.21947 e	0.24863 e	0.52593 c	0.37927cd e	0.3374 9
CMC 1,5% (A2)	0.56217c	0.4672c d	0.3048d e	0.85987 b	1.2201a	0.6828 3
Rerata	0.43815	0.34333	0.27672	0.6929	0.79968	(+)

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat beda nyata pada tiap perlakuan CMC pada berbagai konsentrasi minyak atsiri. Perlakuan CMC 1,5% dengan penambahan minyak atsiri daun sirih 0,2% (C2M4) memiliki kekuatan tarik lebih tinggi dibanding dengan perlakuan lainnya. Terdapat beda nyata antar perlakuan CMC 1% minyak atsiri 0,2% (C1M4) dan CMC 1,5% minyak atsiri daun sirih 0,2% (C2M4). Meningkatnya konsentrasi CMC berpengaruh terhadap peningkatan nilai kekuatan tarik. Sama seperti pada uji WVTR, hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan suatu *edible film*, maka akan meningkatkan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk sehingga membentuk *edible film* yang lebih tegar. Semakin banyak konsentrasi CMC untuk *edible film* maka akan semakin banyak dan kuat molekul CMC yang berikatan, sehingga CMC tidak akan mudah

rusak/putus ketika ditarik (Polnaya *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Rachel dkk (2012) menggunakan CMC dengan konsentrasi antara 0%, 0,25% dan 0,5% dikombinasikan dengan Pati Ubi Jalar 2,5%, 3,5% dan 4,5% menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari CMC maka memiliki nilai kekuatan tarik yang semakin besar.

Pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa terdapat beda nyata pada perlakuan CMC tanpa minyak atsiri dan CMC dengan penambahan minyak atsiri berbagai konsentrasi. Perlakuan CMC 1,5% dengan penambahan minyak atsiri daun sirih 0,2% (C2M4) memiliki kekuatan tarik lebih tinggi dibanding dengan perlakuan CMC 1,5% tanpa minyak atsiri (C2M0). Hal tersebut diduga karena minyak atsiri daun sirih mengandung senyawa metil eter, senyawa turunan dari eter yang dapat berasosiasi dengan CMC. Minyak atsiri daun sirih tersusun atas beberapa komponen kimia yang digolongkan sebagai senyawa fenol dan senyawa selain fenol. Senyawa-senyawa fenol penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari kavikol dan eugenol dengan berbagai kombinasi fenol seperti alil pirokatekol, kavibetol, karvakrol, metil eugenol, sineol, dan estragol. Senyawa kimia selain fenol terdiri dari kadinen, kariofilen terpen, terpinen, menthon, sesquiterpen, dan metil eter (Dharma, 1985). Senyawa metil eter yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih mampu berasosiasi dengan CMC.

Glicksman and Robert di dalam Furia (1972) mengemukakan bahwa pada dasarnya pembuatan CMC dapat dilakukan dengan reaksi yang sederhana dan konvensional, selulosa murni direaksikan dengan larutan sodium hidroksida. Alkali selulosa yang terbentuk bereaksi dengan sodium monokloroasetat atau asam monokloroasetat membentuk karboksimetil selulosa. Reaksi ini menghasilkan

produk NaCMC dan NaCl. Hal yang serupa dikemukakan Sjostrom (1981) bahwa CMC dibuat dari selulosa alkali dengan natrium monokloroasetat sebagai pereaksi.

Pembentukan karboksimetil selulosa (CMC) ini dikenal dengan Williamson etherification. Menurut sintesis eter Williamson yang lazim ( $RO^- + RX \rightarrow ROR + X^-$ ),  $RO^-$  merupakan alkoksi yang harus dibuat dengan NaOH yang lebih kuat untuk menghasilkan ion alkoksida. Eter merupakan senyawa karbon yang mempunyai gugus  $-O-$  atau gugus alkoksi ( $-OR$ ). Efek induktif dari oksigen-oksigen yang elektronegatif pada karbon-karbon yang berdekatan membuat setiap gugus hidroksil lebih asam daripada suatu gugus hidroksil dalam alkohol biasa. Konfigurasi pada karbon anomerik dari suatu glikosida tidak berubah dalam reaksi karboksimetilasi ini (Fessenden dan Fessenden 1986). Gaya tarik-menarik antara sesama rantai selulosa pada daerah kristalin disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen pada gugus hidroksilnya. Gaya ini cukup kuat untuk dapat mencegah selulosa larut dalam air. Struktur selulosa tersusun atas daerah kristalin yang dihubungkan oleh daerah amorf (nirbentuk). Perubahan struktur kristalin menjadi nirbentuk dapat terjadi. Persentase gugus hidroksil yang dapat menerima gugus pereaksi lainnya bergantung pada ukuran molekul pereaksi dan derajat kristalinitas selulosa. Secara umum daerah kristalin pada selulosa mencapai 60-70% dan 30-40% merupakan bagian nirbentuk. Karakteristik dari eter selulosa bermacam-macam, contohnya kelarutannya di dalam pelarut organik atau air tergantung oleh jenis senyawa eter dan derajat substitusi dari senyawa eter dengan gugus hidroksil pada selulosa (Baker 2007).

CMC merupakan eter polimer selulosa linier dan berupa senyawa anion yang bersifat biodegradable, tidak berbau, tidak berwarna, tidak beracun, butiran

atau bubuk yang larut dalam air, memiliki rentang pH sebesar 6,5 sampai 8,0 dan stabil pada rentang pH 2 - 10, serta transparan (R. Jayakumar *et al.*, 2010). Senyawa metil eter pada minyak atsiri daun sirih mampu berasosiasi dengan CMC karena CMC dibentuk dengan reaksi eterifikasi Na-selulosa oleh natrium monokloroasetat. Pengikatan minyak atsiri oleh CMC membentuk edible film yang kompak dan memiliki ikatan yang banyak sehingga tidak mudah putus ketika diberikan gaya tarik. Senyawa eter dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa lain yang mengandung gugus -OH, seperti air, alkohol, fenol, dan senyawa dengan gugus amina.

Hasil pengujian kekuatan tarik tertinggi adalah pada perlakuan CMC 1,5% dengan minyak atsiri daun sirih 0,2% yaitu 1,22 MPa, sedangkan Kekuatan Tarik terendah adalah pada perlakuan CMC 1% dengan minyak atsiri lemon 2% yaitu 0,31 MPa. Penelitian yang dilakukan oleh Babak *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa CMC dengan konsentrasi 1% memiliki nilai kekuatan tarik sebesar 0,34 Mpa. Sara *et al.*, (2011) menyatakan bahwa CMC sebesar 1% dengan penambahan gliserol sebanyak 0,4 gram menunjukkan nilai kekuatan tarik sebesar 0,24 MPa. Perlakuan CMC 1% dengan penambahan minyak atsiri daun sirih 0,1% dan 0,2% yaitu berturut-turut 0,53 MPa dan 0,38 MPa, perlakuan tersebut memberikan nilai kekuatan tarik yang lebih baik dibandingkan dengan penelitian Babak *et al.*, (2011) dan Sara *et al.*, (2011). Laxmikant *et al.*, (2004) menyebutkan bahwa CMC 1% yang dikombinasikan dengan alginat 1% memiliki nilai kekuatan tarik sebesar 9,42 Mpa, sedangkan CMC 1,5% yang dikombinasikan dengan alginat 1% memiliki kekuatan tarik sebesar 10,59 MPa. Hal tersebut menunjukkan bahwa CMC yang



dikombinasikan dengan bahan *edible film* lain memiliki nilai kekuatan tarik lebih tinggi.

Kekuatan tarik *edible film* menunjukkan kekuatan matriks film menahan gaya tarik yang diberikan. Kekuatan tarik yang tinggi menunjukkan ikatan antar molekul dalam film makin tinggi sehingga air yang terdifusi ke dalam molekul CMC akan makin kecil. Menurunnya interaksi molekul air dengan CMC akan menurunkan kelarutan film yang dihasilkan. Laju transmisi uap air (WVTR) yang makin rendah dipengaruhi oleh kekuatan film yang makin meningkat. Kekuatan film dapat dilihat dari nilai kekuatan tarik film tersebut. Menurut Kester dan Fennema (1986), kekuatan kohesif antar polimer akan menurunkan fleksibilitas dan permeabilitas film terhadap gas dan air.

### **C. Pemanjangan (Elongasi)**

Pemanjangan (*Elongation*) adalah presentase perubahan panjang *edible film* pada saat ditarik sampai putus (Krochta, 1997). Pemanjangan sama pentingnya dengan kekuatan tarik, di mana presentase pemanjangan yang tinggi akan mampu melindungi produk yang dikemasnya dari gangguan mekanis dengan baik (Azka., dkk 2015). Pengujian Pemanjangan dilakukan bersama dengan pengujian Kekuatan Tarik menggunakan alat *Instron Universal Testing Machine (UTI)*. Hasil analisis sidik ragam terhadap uji Pemanjangan (Lampiran 2c) menunjukkan bahwa ada beda nyata atau interaksi pada kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan konsentrasi minyak atsiri. Hasil rerata pengujian elongasi disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Rerata harian hasil uji pemanjangan (%)

Perlakuan	Minyak Atsiri					Rerata
	Lemon			Daun Sirih		
	0% (M0)	2% (M1)	3% (M2)	0,1% (M3)	0,2% (M4)	
CMC 1% (C1)	156.7e	185de	250.6b	206.7cd	176.7de	195.13
CMC 1,5% (C2)	208.8cd	231.1bc	184de	177.2de	311.3a	222.47
Rerata	182.7	208.05	217.29	191.96	244	(+)

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%

Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat beda nyata pada tiap perlakuan CMC pada berbagai konsentrasi minyak atsiri. CMC dengan konsentrasi 1,5% minyak atsiri daun sirih 0,2% (C2M4) memberikan persen pemanjangan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penggunaan CMC dalam jumlah yang lebih besar menyebabkan kemampuan mengikat air yang lebih baik sehingga memberikan matrik gel yang dapat meningkatkan persen pemanjangan dari *edible film* karena CMC memiliki gel *strength* yang tinggi. Purwatiningsih (2007) menyatakan bahwa penambahan CMC menyebabkan gel semakin elastis sehingga dengan semakin elastisnya gel maka nilai persen pemanjangan juga semakin tinggi. Hasil uji lanjut yang dilakukan yaitu uji BNT (beda nyata terkecil) menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian CMC memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai persen pemanjangan.

Penelitian yang dilakukan oleh Babak *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa CMC dengan konsentrasi 1% memiliki nilai persen pemanjangan sebesar 2,01%. Sara *et. al.*, menyatakan bahwa CMC sebesar 1% dengan penambahan gliserol sebanyak 4% menunjukkan nilai persen pemanjangan sebesar 0,26%. Laxnikant *et. al.*, (2014) menyebutkan bahwa CMC 1% yang dikombinasikan dengan alginat 1%

memiliki nilai persen pemanjangan sebesar 1,02%, sedangkan CMC 1,5% yang dikombinasikan dengan alginat 1% memiliki nilai persen pemanjangan sebesar 1,32%. Pada perlakuan CMC 1% dikombinasikan dengan minyak atsiri lemon 3% menunjukkan nilai persen pemanjangan sebesar 250,6%. Perlakuan tersebut memberikan nilai persen pemanjangan yang lebih baik dari penelitian Babak *et. al.*, (2011) dan Sara *et. al.*, (2011). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri dapat meningkatkan nilai persen pemanjangan *edible film* CMC.

Gliserol yang digunakan dalam penelitian memiliki konsentrasi yang sama pada tiap perlakuan yaitu 1,5% sehingga perbedaan presentase pemanjangan kemungkinan disebabkan oleh perbedaan konsentrasi CMC dan minyak atsiri. Kombinasi perlakuan yang memiliki persentase pemanjangan tertinggi adalah pada konsentrasi CMC 1,5% dengan minyak atsiri daun sirih 0,2%. CMC secara alami mempunyai ikatan hidrogen. Menurut Paramawati (2001) ikatan hidrogen merupakan ikatan yang paling lemah. Dengan demikian adanya minyak atsiri daun sirih pada *edible film* CMC dapat membuat antar rantai polimer lebih renggang dibandingkan *edible film* kontrol (CMC saja) sehingga mampu menahan peregangan lebih lanjut dari alat ukur. Menurut Mulia dkk (2016) molekul minyak atsiri dapat memberikan ruang celah-celah rongga atau terpisah dari molekul CMC, sehingga membuat kerapatan pada *edible film* CMC menjadi berkurang. Kerapatan yang berkurang membuat *edible film* CMC lebih renggang dan lebih fleksibel.

Hal ini diduga bahwa minyak atsiri sebagian besar terdiri dari persenyawaan hidrokarbon isosiklik yang mengandung 10, 15 sampai 40 atom C yang disebut terpen atau terpenoid serta golongan hidrokarbon yang mengikat oksigen seperti alkohol dan fenol. Menurut Eikman dalam Heyne 1987 sirih

mengandung minyak atsiri daun sirih sepertiganya adalah fenol. Adanya senyawa fenol menyebabkan aktivitas pengikatan oksigen lebih tinggi, sehingga terikatnya oksigen oleh molekul minyak atsiri membuat kerapatan molekul edible film CMC berkurang dan bersifat lebih fleksibel sehingga terjadi peningkatan persen pemanjangan.

#### **D. Kemampuan Degradasi (Biodegradabilitas)**

*Biodegradable film* yang dihasilkan memiliki sifat hidrofilik, karena cenderung menyerap uap air di sekitar film. CMC menambah sifat hidrofil *edible film* yang dihasilkan. Akibatnya *edible film* mempunyai tingkat kelembaban yang tinggi. *Edible film* yang baik yakni yang memiliki sifat mekanik yang kuat, selain itu juga ramah lingkungan (tingkat biodegradabilitasnya tinggi).

Uji Kemampuan degradasi dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sampel *edible film* sampai mengalami degradasi. Pengujian Kemampuan Degradasi yang dipilih dengan menggunakan tanah sebagai pembantu proses degradasi atau yang disebut dengan teknik *soil burial test* (Ulfa, 2016). Sampel berukuran 5 x 5 cm diukur luas awalnya menggunakan *leaf area meter*. Sampel yang telah diukur kemudian dikubur didalam tanah. Pengamatan terhadap sampel dilakukan dalam rentang waktu seminggu setelah penguburan yaitu dengan cara menghitung sisa *edible film* yang tidak terurai oleh tanah menggunakan leaf area meter. CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) merupakan eter polimer linier dan berupa senyawa yang memiliki sifat biodegradable tinggi karena berasal dari bahan alami yaitu selulosa kayu, tidak berbau, tidak berwarna, tidak beracun dan butiran atau bubuk yang larut dalam air (Glicksman 1972). Hasil analisis sidik ragam terhadap uji Kemampuan Degradasi (Lampiran 2d) menunjukkan bahwa tidak ada

beda nyata atau tidak ada interaksi pada kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan konsentrasi minyak atsiri. Hasil rerata pengujian Kemampuan Degradasi disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Hasil Pengujian Kemampuan Degradasi (%)

Perlakuan	Minyak Atsiri					Rerata
	Lemon			Daun Sirih		
	0% (M0)	2% (M1)	3% (M2)	0,1% (M3)	0,2% (M4)	
CMC 1% (A1)	100	100	100	100	100	100a
CMC 1,5% (A2)	100	98.67	98.67	97.33	96	98.13b
Rerata	100a	99.33ab	99.33ab	98.67ab	98b	(-)

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%

Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antar rerata perlakuan CMC. CMC konsentrasi 1% memiliki kemampuan degradasi lebih tinggi dibandingkan dengan CMC konsentrasi 1,5%. Pada dasarnya CMC merupakan eter polimer linier dan berupa senyawa yang memiliki sifat *biodegradable* tinggi karena berasal dari bahan alami yaitu selulosa kayu, penelitian yang dilakukan oleh Yeti dkk (2016) menunjukkan bahwa CMC sebanyak 5% memiliki kemampuan terdegradasi sebesar 100% daripada CMC dengan konsentrasi 10% yang hanya memiliki kemampuan terdegradasi sebesar 75,57%. Hal tersebut membuktikan bahwa semakin rendah konsentrasi CMC maka kemampuan terdegradasinya juga akan semakin meningkat.

Uji biodegradabilitas pada sampel plastik yang telah ditambah CMC membuktikan bahwa dengan penambahan CMC, sampel plastik lebih cepat terdegradasi. Sampel dengan penambahan CMC 20% memiliki tingkat biodegradabilitas yang tinggi (cepat terdegradasi). Hal tersebut diakibatkan oleh

adanya CMC dalam campuran plastik, CMC memiliki gugus hidroksil dan gugus karboksilat yang memungkinkan untuk digunakan mengikat uap air di sekitar film plastik.

Tabel 4 juga menunjukkan bahwa rerata perlakuan CMC tanpa minyak atsiri berbeda nyata dengan rerata perlakuan CMC dikombinasikan dengan minyak atsiri daun sirih 0,2%. Kemampuan degradasi yang rendah dikarenakan konsentrasi CMC yang tinggi dan penambahan minyak atsiri daun sirih yang berfungsi sebagai antimikroba sehingga proses penguraian *edible film* di tanah menjadi lambat. Minyak atsiri dari daun sirih mengandung 30% fenol dan beberapa derivatnya. Mekanisme fenol sebagai agen anti bakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Fenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim dan menyebabkan kebocoran sel (Heyne, 1987).

Ghunter (1990) menyebutkan bahwa minyak atsiri yang berasal ekstrak tumbuhan memiliki beragam senyawa yang berbeda-beda dapat menghambat perkembangan mikrobia. Hal tersebut berhubungan dengan Tabel 4 yang menunjukkan bahwa perlakuan dengan kemampuan degradasi tertinggi adalah CMC 1% tanpa minyak atsiri. Kombinasi perlakuan tersebut memiliki presentase kemampuan degradasi yang paling besar karena penggunaan konsentrasi CMC yang rendah yaitu 1% dan tanpa penambahan minyak atsiri, sehingga menjadikan perlakuan tersebut dapat terurai oleh organisme pengurai dalam tanah dengan cepat.

Tidak adanya beda nyata pada pengujian Kemampuan Degradasi kemungkinan disebabkan karena selisih konsentrasi penggunaan CMC dan minyak atsiri yang tidak terlalu signifikan. Dapat diketahui dari Tabel 4 bahwa semua perlakuan memiliki nilai Kemampuan Degradasi yang masih tergolong tinggi, meskipun terdapat perlakuan yang memiliki tingkat degradasi yang relatif lebih rendah dari perlakuan kontrol.

### **E. Kelarutan Air**

Kelarutan film diukur untuk menunjukkan integritas film dalam lingkungan cair dan film dengan kelarutan lebih tinggi menunjukkan bahwa ketahanan film terhadap air lebih rendah (Gnanasambandam dkk., 1997) serta menunjukkan sifat hidrofilik film tersebut (Handa dkk., 1999)

Ketahanan dalam air (*water resistance*) merupakan sifat film yang penting untuk penerapannya sebagai pelindung makanan. Jika aktivitas air tinggi atau film harus kontak dengan air selama proses pengolahan makanan yang dikemasnya (misalnya untuk menghindari pencairan produk yang dibekukan), film harus seminimal mungkin larut dalam air. Sebaliknya, *edible film* dengan kelarutan dalam air yang tinggi dikehendaki, misalnya pada pemanfaatannya bila dilarutkan dalam air atau dalam makanan panas (Gontard dkk., 1992). Hal yang sama dikemukakan Stuchell dan Krochta (1994), jika penerapan *edible film* pada makanan yang berkadar air tinggi, dikehendaki film yang tidak larut dalam air, tetapi jika dalam penggunaan diinginkan sebagai pengemas yang layak dimakan maka dikehendaki kelarutan yang tinggi

Persentase kelarutan *edible coating* adalah persentase bagian film yang terlarut dalam air setelah perendaman selama 24 jam. Menurut Sri dkk. (2013) Tata

cara mengetahui kelarutan air pada *edible coating* adalah sebagai berikut, sampel dipotong dengan ukuran 3x3 cm, diletakkan dalam cawan alumunium yang terlebih dahulu sudah dikeringkan dan ditimbang beratnya. Sampel *edible coating* dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C, selama 30 menit. Timbang berat sampel kering sebagai berat kering awal, kemudian sampel direndam selama 24 jam dalam aquades 50 ml. Setelah 24 jam, sampel yang tidak terlarut diangkat dan dikeringkan dalam oven selama 2 jam dengan suhu 100°C, kemudian ditimbang lagi berat sampel kering sebagai berat sampel setelah perendaman.

Uji Kelarutan Air berfungsi untuk mengetahui seberapa banyak dan cepat *edible film* terlarut dalam air (Sri dkk., 2013). Hasil analisis sidik ragam terhadap uji Kelarutan Air (Lampiran 2e) menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata atau tidak ada interaksi pada kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan konsentrasi minyak atsiri. Hasil rerata pengujian Kelarutan Air disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Rerata harian hasil uji kelarutan air (%)

Perlakuan	Minyak Atsiri					Rerata
	Lemon			Daun Sirih		
	0% (M0)	2% (M1)	3% (M2)	0,1% (M3)	0,2% (M4)	
CMC 1% (A1)	100	100	100	100	100	100a
CMC 1,5% (A2)	100	100	100	100	100	100a
Rerata	100a	100a	100a	100a	100a	(-)

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%

Tabel 5 menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata pada setiap perlakuan atau rerata perlakuan CMC dan minyak atsiri. Tabel 5 menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki presentase kelarutan air yang baik, hal ini diduga karena ikatan antar molekul CMC lebih renggang sehingga molekul air mudah berasosiasi dengan



molekul CMC. Hal tersebut juga dikarenakan CMC yang dipakai untuk membuat *edible film* merupakan CMC yang memiliki nilai DS sebesar 0,7 atau sekitar 7 gugus *Carboxymethyl* per 10 unit anhidroglukosa, sehingga dapat dengan mudah terlarut dalam air meskipun ada perbedaan konsentrasi CMC yaitu 1% dan 1,5% (Netty, 2010).

Sodium karboksimetil selulosa merupakan polisakarida yang mempunyai rantai panjang, linear, anionik, dan larut dalam air (Keller, 1986; Biswal dan Singh, 2004). Karboksimetil selulosa dalam bentuk asamnya tidak dapat larut dalam air (Coffey dkk., 1995).

Struktur CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) merupakan rantai polimer yang terdiri dari unit molekul selulosa. Setiap unit anhidroglukosa memiliki tiga gugus hidroksil dan beberapa atom Hidrogen dari gugus hidroksil tersebut disubstitusi oleh *carboxymethyl*. Gugus hidroksil yang tergantikan dikenal dengan derajat penggantian (*degree of substitution*) disingkat DS. Jumlah gugus hidroksil yang tergantikan atau nilai DS mempengaruhi sifat kekentalan dan sifat kelarutan CMC dalam air. CMC dengan nilai DS kurang dari 0,3 hanya larut dalam larutan alkali sedangkan harga DS sama dengan atau lebih dari 0,4 dapat larut dalam air (Arrum, 2005). Netty (2010) menyatakan bahwa CMC yang sering digunakan untuk pembuatan *edible film* adalah yang memiliki nilai DS sebesar 0,7 atau sekitar 7 gugus *Carboxymethyl* per 10 unit anhidroglukosa karena memiliki sifat sebagai zat pengental cukup baik. pH CMC menjadi pertimbangan dalam penggunaannya, seperti dijelaskan oleh Imersion (1992) jika pH di bawah 1, larutan menjadi tidak homogen karena terbentuk endapan, sehingga untuk penggunaan di bidang industri, khususnya industri makanan, disarankan sifat CMC tidak terlalu asam. Dijelaskan

selanjutnya bahwa larutan CMC 1% biasanya mempunyai pH 7,0 – 8,5 dan pada rentang 5 – 9 tidak terlalu berpengaruh terhadap viskositas CMC. Pada pH kurang dari 3 viskositas CMC bertambah karena terbentuknya gel yang sedikit larut, sedang pada pH di atas 10 viskositas CMC sedikit berkurang. CMC merupakan molekul polimer berantai panjang dan karakteristiknya bergantung pada panjang rantai atau derajat polimerisasi (DP). Nilai DS dan nilai DP ditentukan oleh berat molekul polimer, dengan bertambah besar berat molekul CMC maka sifatnya sebagai zat pengental semakin meningkat (Netty, 2010).

#### **F. Warna**

Selama tahapan kehidupannya, produk hortikultura akan mengalami perubahan visual seiring dengan prosesnya. Perubahan visual menjadi salah satu indikator untuk menentukan tahapan apa yang telah terjadi dan dilalui oleh produk hortikultura. Perubahan visual yang terjadi dapat berupa perubahan warna, munculnya bercak hitam, sampai struktur dan kelunakannya.

Perubahan yang paling mudah dan sering diamati adalah warna. Pada buah klimakterik, perubahan warna lebih cepat terjadi, hal ini berhubungan dengan pola respirasi dan produksi etilen yang tinggi. Ketersediaan gas O<sub>2</sub> mempengaruhi kecepatan perubahan warnanya. Perubahan warna fresh cut apel juga disebabkan oleh perubahan pH buah akibat kebocoran asam organik dari vakuola. Kebocoran asam organik artinya membran vakuola tidak lagi kuat dan permeabel sehingga pertukaran zat mudah terjadi. Salah satu yang menyebabkan berkurangnya permeabilitas membran sel adalah produksi hormone etilen. Etilen mempengaruhi permeabilitas membran, sehingga permeabilitas sel menjadi besar, hal tersebut mengakibatkan proses pelunakan dinding sel yang merupakan komponen struktural

yang mengelilingi setiap sel tanaman sehingga metabolisme respirasi lebih cepat (Herkovitz *et al.*, 2010; Zaharah *et al.*, 2013 dalam Arif *et al.*, 2014:39). Produksi etilen dipengaruhi oleh ketersediaan O<sub>2</sub> dan dihambat oleh CO<sub>2</sub>. Lingkungan yang menyediakan cukup O<sub>2</sub> akan menyebabkan produksi etilen lancar, sementara itu lingkungan dengan sedikit O<sub>2</sub> akan menghambat produksi etilen. Prinsip inilah yang digunakan dalam penanganan udara terkendali, yaitu membatasi gas O<sub>2</sub> dan mempertinggi gas CO<sub>2</sub> (Burg, 1973).

Perubahan warna *fresh-cut* apel pada berbagai skor warna dinyatakan dalam hari. Adapun rerata hasil uji organoleptik warna disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6. Scoring perubahan warna pada *fresh-cut* apel

Perlakuan	3	6	9	12	15
	Score	Score	Score	Score	Score
C1M0	3,8	3,6	3,5	3,5	3
C2M0	3,8	3,6	3,5	3,5	2,8
C1M1	4	3,8	3,6	3,5	3
C1M2	4	3,8	3,6	3,3	2,8
C1M3	3	3	3	3	2,3
C1M4	3	3	3	3	2,3
C2M1	4	3,8	3,6	3,3	3
C2M2	4	3,8	3,6	3,1	2,8
C2M3	3	3	3	3	2
C2M4	3	3	3	3	2,1

Keterangan:

- C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%
- C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
- C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%
- C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 3%
- C1M3 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C1M4 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,2 %
- C2M1 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
- C2M2 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 3%
- C2M3 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C2M4 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,2%

Berdasarkan Tabel 10 menunjukkan bahwa pada hari ke-3 sampai dengan hari ke-15 *score* yang diberikan oleh panelis pada tiap perlakuan mengalami penurunan *score*.

Indikator warna ditentukan oleh *score* dan persentase panelis yang memberikan *score*. *Score* terbaik berturut-turut yaitu 4 yang menunjukkan sangat suka, 3 yang berarti suka, 2 yang berarti agak suka, dan 1 yang menunjukkan tidak suka. Pada hari ke-3 sampai hari ke-9 masih terdapat *score* 4 pada uji organoleptik warna. Hal ini dikarenakan kesegaran warna dari *fresh-cut* masih dalam kondisi bagus dan belum mengalami banyak *browning* pada kulit buah.

*Score* terendah sejak hari ke-3 sampai hari ke-15 terdapat pada perlakuan CMC yang dikombinasikan dengan minyak atsiri daun sirih. Perlakuan tersebut adalah perlakuan C1M3, C1M4, C2M3, dan C2M4. Tingkat kesukaan panelis terhadap *fresh-cut* yang dilapisi CMC dengan penambahan minyak atsiri daun sirih berkurang karena perubahan warna menjadi merah kecoklatan. Warna ini mungkin diakibatkan oleh senyawa fenol dalam minyak atsiri daun sirih. Menurut Eikman dalam Heyne (1987) daun sirih mengandung minyak atsiri yang sepertiganya adalah fenol. Senyawa fenol ini dapat mengalami pencoklatan enzimatis (Winarno, 1984).

Kemungkinan lain terjadinya warna coklat karena adanya kontak langsung dengan air. Menurut Kirk dan Othmer (1951) minyak atsiri mengandung ester (R-COOR) seperti asam asetat, butirrat, siglat, salisilat, dan benzoat. Ester dari asam benzoat terdapat dalam ekstrak daun sirih. Thorpe (1951) dalam Ketaren (1985) menyatakan bahwa proses hidrolisa terjadi dalam minyak atsiri yang mengandung ester. Proses hidrolisa ester merupakan pemisahan gugus OR dari gugus *acyl* dalam molekul ester, sehingga terbentuk asam bebas dan alkohol. Ester akan terhidrolisa

secara sempurna dengan adanya air, dan asam sebagai katalisator. Terjadinya warna merah kecoklatan pada permukaan *fresh-cut* karena minyak atsiri yang ada pada daun sirih mengalami hidrolisa akibat terjadi kontak langsung dengan air yang ada pada dinding sel *fresh-cut* dan kondisi minyak atsiri daun sirih yang cenderung asam.

### G. Uji Mikrobiologi

Salah satu metode untuk menentukan jumlah mikroorganisme pada buah apel, yaitu dengan pengukuran total mikrobia (*Total Plate Count*) menggunakan alat *colony counter*. Uji mikrobiologi merupakan salah satu yang dapat dijadikan parameter dalam penyimpanan buah apel manalagi. Mikrobia yang diamati pada penelitian ini adalah bakteri. Media yang digunakan untuk pertumbuhan mikrobia adalah NA (*Nutrient Agar*) dengan seri pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  yang diperoleh berdasarkan uji pendahuluan. Peningkatan jumlah mikrobia menandakan bahwa mutu buah mulai menurun.

Tabel 7. Total mikroba pada fresh-cut apel

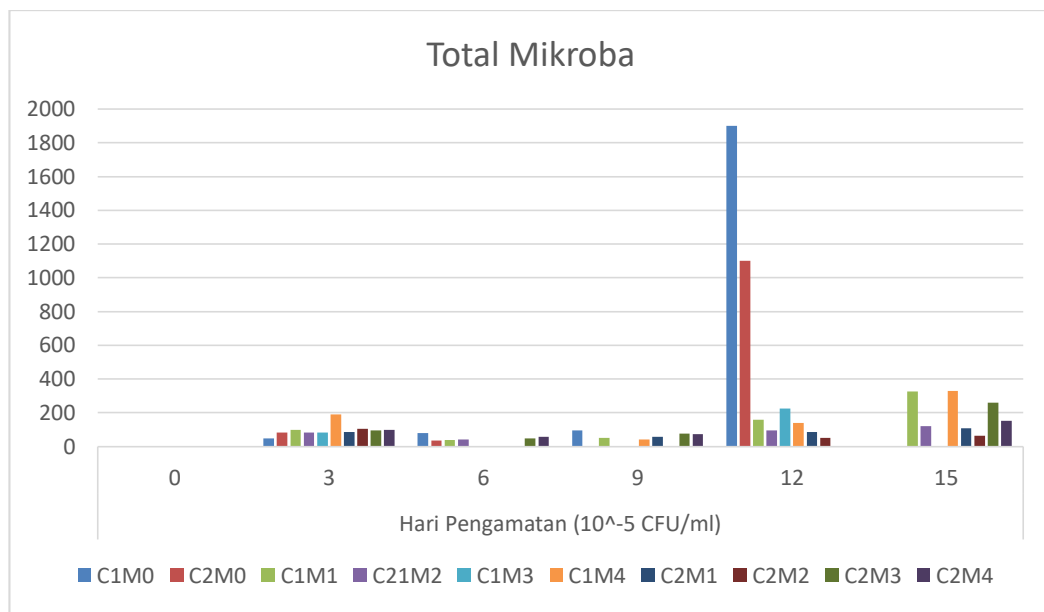
Perlakuan	Hari Pengamatan ( $10^{-5}$ CFU/ml)					
	0	3	6	9	12	15
C1M0	0	48.5	78	95	1900	Spreader
C2M0	0	81.5	36.5	Spreader	1100	Spreader
C1M1	0	98.5	37	51	159	326
C1M2	0	83	41	0	95	121.5
C1M3	0	81	0	Spreader	224	Spreader
C1M4	0	191	0	42	139.5	330
C2M1	0	87	0	56	87	109
C2M2	0	105	0	0	51	62
C2M3	0	95	49	77	Spreader	259.5
C2M4	0	98.5	57	71.5	Spreader	153

Keterangan:

- C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%
- C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
- C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%
- C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 3%
- C1M3 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%

C1M4	: CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,2 %
C2M1	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
C2M2	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 3%
C2M3	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
C2M4	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,2%

Berikut histogram populasi bakteri dalam  $10^{-5}$  selama 15 hari pengamatan.



Gambar 1. Histogram populasi bakteri (CFU/ml) buah apel manalagi

Berdasarkan histogram populasi bakteri pada gambar 6 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan total bakteri setiap hari pengamatan hingga hari ke-15 penyimpanan. Kenaikan populasi bakteri tertinggi terjadi pada hari ke-3 penyimpanan yaitu perlakuan CMC 1% dengan penambahan minyak atsiri daun sirih 0,2% dibandingkan hari lainnya. Pada umumnya, semua perlakuan menunjukkan jumlah populasi bakteri yang cenderung meningkat pada hari ke-3. Hal tersebut diduga bahwa minyak atsiri yang ditambahkan pada *coating* CMC belum mulai berasosiasi pada kulit buah sehingga belum mampu menekan pertumbuhan bakteri penyimpanan.

Hasil keseluruhan dari populasi bakteri mengalami fluktuasi setiap harinya. Namun fluktuasi populasi bakteri tertinggi terjadi pada perlakuan kontrol yaitu

CMC 1% dan CMC 1,5% tanpa minyak atsiri. Tingkat pertumbuhan bakteri yang relatif sama terjadi pada perlakuan pelapisan CMC 1% dan 1,5% pada minyak atsiri daun sirih. Pada perlakuan CMC 1,5% tanpa minyak atsiri, ditemukan spreader pada hari ke-9 dan ke-15. Pada perlakuan CMC 1% tanpa minyak atsiri ditemukan spreader pada hari ke-15. Pada perlakuan CMC 1% dan minyak atsiri daun sirih 0,2% ditemukan spreader pada hari ke-9 dan ke-15. Sedangkan pada perlakuan CMC 1,5% dan minyak atsiri 0,1% dan 0,2% ditemukan spreader pada hari ke-12. Spreader adalah kolono bakteri yang jumlahnya melebihi 300 koloni atau menutupi lebih dari setengah cawan petri.

Pada perlakuan penambahan minyak atsiri lemon di berbagai konsentrasi CMC tidak ditemukan adanya spreader. Hal ini menandakan bahwa populasi dan pertumbuhan bakteri pada perlakuan tersebut dapat dihambat. Selain mampu menghambat populasi bakteri, pada perlakuan tersebut juga mampu menghambat pertumbuhan populasi *bakteri* hingga hari ke-15 penyimpanan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rojas *et al.*, (2009) bahwa sifat hidrofobik pada *essential oil* mampu melewati membran sel mikrobial dan masuk mitokondria, mengganggu struktur internal dan rendering membran lebih *permeable*.

Aktivitas senyawa anti-bakteri dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu menghambat pertumbuhan bakteri melalui reaksi dengan membran sel dan menginaktivasi enzim-enzim *essential* atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa *tannin* dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik kemudian dari ikatan tersebut akan terjadi denaturasi dan akhirnya metabolisme sel terganggu sehingga membunuh sel bakteri (Ummah dan Sa'adah, 2010).

Saat terjadinya kerusakan membran sitoplasma, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan membran sitoplasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri terhambat bahkan sampai kematian. Kerusakan pada membran sitoplasma mencegah masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan untuk menghasilkan energi (Muhlison, 2010).

Minyak atsiri lemon telah berhasil dimanfaatkan sebagai antimikroba mereka pada kedua bakteri gram negatif positif dan Gram (Espina *et al*, 2011;. Fisher & Phillips, 2006; Gutierrez *et al*, 2009;. Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Pakis Andez-Lopez, & Perez Alvarez, 2008).

Penelitian Chao *et al.*, (2008), minyak atsiri jeruk lemon (*Citrus limon* (L) Burm. f) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kadar hambat minimum minyak atsiri jeruk lemon sebesar 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , kadar bunuh minimumnya sebesar 4  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , sedangkan zona hambat pertumbuhan pada paper disk dengan metode agar disk difusi sebesar  $23,0 \pm 0,25$  mm pada konsentrasi 32  $\mu\text{L}/\text{disk}$  (Upadhyay *et al.*, 2010).

Menurut A. Perdonesa, L. Sánchez-González, A. Chiralta, M. Vargas (2012), *edible coating* kitosan yang dikombinasikan dengan minyak atsiri lemon dengan konsentrasi 3% dapat menjadi metode alternatif yang dapat digunakan untuk memperpanjang umur simpan strawberry.