

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PENAMBAHAN PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus*
DENGAN KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP KUALITAS *EDIBLE FILM*
BERBAHAN *Eucheuma spinosum* DAN *Sargassum cristaefolium***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**AYU RAESHYA AULEA
NIM. 125080301111027**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**



**PENGARUH PENAMBAHAN PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus*
DENGAN KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP KUALITAS *EDIBLE FILM*
BERBAHAN *Eucheuma spinosum* DAN *Sargassum cristaefolium***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**AYU RAESHYA AULEA
NIM. 125080301111027**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus* DENGAN KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP KUALITAS *EDIBLE FILM* BERBAHAN *Eucheuma spinosum* DAN *Sargassum cristaefolium*

Oleh :

AYU RAESHYA AULEA
NIM. 125080301111027

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 07 Oktober 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Penguji I



(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 19 OCT 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes)
NIP. 19611022 198802 2 001
Tanggal: 19 OCT 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II



(Eko Waluyo, S.Pi, M.Sc)
NIP. 19800424 200501 1 001
Tanggal: 19 OCT 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Aming Wilufeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 19 OCT 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan laporan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 7 Oktober 2016

Mahasiswa

Ayu Raeshya Aulea



UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini, penulis tak lupa mengucapkan rasa syukur kepada Allah S.W.T dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bantuan serta dukungan dari semua pihak yang telah banyak membantu, kepada:

1. Bapak G. Kade Adiatmika dan Ibu Siti Umi Kalsum tercinta yang selalu memberikan dukungan, doa dan semangatnya hingga laporan skripsi ini selesai.
2. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku dosen pembimbing I dan Bapak Eko Waluyo, S.Pi, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang dengan sangat sabar memberikan bimbingan, petunjuk dan pengarahan dalam penelitian hingga penyusunan laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku dosen penguji I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahannya untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
4. Adek sasa, Om Yono, Tante Erna, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan dan mendoakan supaya diberikan kelancaran dalam pengerjakan laporan skripsi ini.
5. Spesial buat teman satu tim skripsi Faridha Miftahul Zulaikha dan Irma Emiliana yang sudah mau menerima kekurangan saya, mau mendengarkan keluh kesah selama penelitian hingga penyusunan laporan dan tetap kompak hingga akhir.
6. Anne Mumtaza Putri, Aqni Dwi Sertiani, Melinda Dwi Pribuana, Nur Ina Annis'ul, Irama Dramawanti teman dari semester 1 yang sudah membantu dan mendukung serta mendoakan dari penelitian hingga laporan skripsi ini selesai, serta selalu bersedia mendengarkan keluhan hati saya.
7. Ken Audia P, Dwi Septi Handayani, Mei Rismawati dan teman kos Joyosuko 6A yang selalu bersedia mendengarkan curhatan hati dan keluh kesah selama penelitian hingga penyusunan laporan skripsi serta dukungannya.
8. Hafidoh Riefnikawati dan Dewi Khusnah Amalia teman dari semester 1 yang sudah mendoakan supaya diberikan kelancaran dalam pengerjaan laporan skripsi ini.
9. Andik Pujiyanto dan Rizqi Akbar Ega P yang sudah membantu saya dalam pengerjaan penyusunan laporan skripsi.
10. Terima kasih buat seluruh keluarga THP 2012 yang tidak disebutkan satu persatu untuk dukungan, bantuan, dan doa. Semoga kita semua sukses kedepannya.

Malang, Oktober 2016

Penulis.

RINGKASAN

AYU RAESHYA AULEA Pengaruh Penambahan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Konsentrasi Berbeda terhadap Kualitas *Edible Film* Berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes** dan **Eko Waluyo., S.Pi, M.Sc**).

Edible film dapat didefinisikan sebagai kemasan primer yang terbuat dari komponen yang dapat dimakan. Komponen *edible film* dan *coating* terdiri dari 3 kategori yaitu hidrokoloid, lipid, dan komposit. Rumput laut *eucheuma spinosum* merupakan kelompok hidrokoloid yang dapat dijadikan bahan dalam pembuatan *edible film*. Selain jenis *Eucheuma spinosum* terdapat jenis rumput lain yang juga memiliki nilai ekonomis, dan jarang untuk digunakan atau dimanfaatkan yaitu rumput laut jenis *Sargassum cristaefolium*, dimana *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu rumput laut yang sangat potensial sedangkan pemanfaatannya masih belum banyak dilakukan.

Memanfaatkan rumput laut segar guna menambah nilai ekonomis dengan mengolahnya menjadi bahan baku *edible film* yang bersifat langsung dapat dimakan juga dapat digabungkan dengan komponen lain yang dapat menambah nilai fungsional dari produk tersebut seperti *edible film* berprobiotik. *Lactobacillus acidophilus* termasuk spesies yang tergolong bakteri probiotik. Genus *Lactobacillus* termasuk probiotik yang sering digunakan baik dalam produk makanan, minuman, obat maupun produk farmasi yang lain dan dikenal sebagai bakteri asam laktat (BAL) karena kemampuannya menghasilkan asam laktat.

Permasalahan pada penelitian ini adalah apakah pengaruh penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kualitas yang dihasilkan pada *edible film* berbahan campuran *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kualitas dari *edible film* dengan penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) konsentrasi yang berbeda.

Metode pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode ini dilakukan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada obyek penelitian untuk mengetahui akibatnya di dalam variabel terikat

Hasil penggunaan konsentrasi terbaik pada penelitian ini yaitu pada perlakuan A1 sebesar 5%. Hasil tiap uji dari perlakuan terbaik (A1) meliputi kadar air sebesar 13,70%, transmisi uap air sebesar 4,97 g/m²h, ketebalan 83,52 μ m, elongasi sebesar 8,05%, kuat tarik sebesar 1,40 Mpa, kelarutan sebesar 57,89%, dan total BAL sebesar 8,23 log cfu/g. Dari hasil perhitungan menggunakan ANOVA dan uji lanjut Duncan $\alpha=0,05$ sebesar 95% menunjukkan bahwa H₀ ditolak artinya penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda pada *edible film* memberikan pengaruh terhadap kualitas *edible film* yang dihasilkan.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi berbeda pada *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* berpengaruh terhadap kualitas *edible film*. Penggunaan konsentrasi terbaik pada penelitian ini yaitu pada perlakuan A1 sebesar 5%. Hasil tiap uji dari perlakuan terbaik (A1) meliputi kadar air sebesar 13,70%, transmisi uap air sebesar 4,97 g/m²h, ketebalan 83,52 μ m, elongasi sebesar 8,05%, kuat tarik sebesar 1,40 Mpa, kelarutan sebesar 57,89%, dan total BAL sebesar 8,23 log cfu/g.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Penambahan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Kualitas *Edible Film* Berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*. Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pendahuluan pada bab 1, tinjauan pustaka pada bab 2, metodologi pada bab 3, hasil dan pembahasan pada bab 4, kesimpulan pada bab 5, serta lampiran. Dalam pembuatan laporan ini, penulis mengambil referensi-referensi baik dari buku, internet maupun artikel serta jurnal untuk dijadikan tinjauan pustaka yang dapat mendukung penyusunan laporan ini.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Oktober 2016

Ayu Raeshya Aulea

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMAKASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis	5
1.6 Waktu dan Tempat	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rumput Laut	6
2.1.1 <i>Eucheuma spinosum</i>	7
2.1.2 <i>Sargassum cristaefolium</i>	9
2.2 <i>Edible Film</i>	12
2.3 Manfaat <i>Edible Film</i>	13
2.4 Probiotik	14
2.5 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	16
2.6 Pengujian <i>Edible Film</i>	17
2.6.1 Kadar Air	17
2.6.2 Ketebalan	18
2.6.3 Transmisi Uap Air	19
2.6.4 <i>Tensile Strenght</i> (Kuat Tarik)	19
2.6.5 <i>Elongasi</i>	20
2.6.6 Viabilitas <i>L. Acidophilus</i>	21
2.6.7 <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) <i>Edible Film</i>	21
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	23
3.1.1 Alat	23
3.1.2 Bahan	24
3.2 Metode Penelitian.....	24
3.3 Tahap Penelitian	25
3.3.1 Penelitian Pendahuluan	25
3.3.2 Prosedur Penelitian Pendahuluan	26
3.3.3 Penelitian Utama	27
3.3.4 Prosedur Penelitian Utama	29
3.4 Prosedur Analisis Parameter Uji.....	30
3.4.1 Analis Kadar Air	30
3.4.2 Analisis Kelarutan Air	31

3.4.3 Ketebalan	31
3.4.4 Transmisi Uap Air	32
3.4.5 <i>Tensile Strength</i> dan <i>Elongasi</i>	32
3.4.6 Pengujian Total BAL <i>Lactobacillus acidophilus</i>	32
3.4.7 Analisa SEM (<i>Scanning Electron Microscope</i>) <i>Edible Film</i>	33
3.4.8 Pengujian FTIR (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Karakteristik Bahan Baku	36
4.1.1 Rumput Laut	36
4.1.2 <i>Eucheuma spinosum</i>	36
4.1.3 <i>Sargassum cristaefolium</i>	38
4.1.4 <i>Eucheuma spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i>	40
4.2 Penelitian Pendahuluan	41
4.2.1 Kadar Air	42
4.2.2 Elongasi (Perpanjangan)	44
4.2.3 Kuat Tarik (<i>Tensile Strength</i>)	45
4.2.4 Ketebalan (<i>Thickness</i>)	47
4.2.5 Transmisi Uap Air	49
4.3 Penelitian Utama	50
4.3.1 Kadar Air	52
4.3.2 Transmisi Uap Air	53
4.3.3 Ketebalan	55
4.3.4 Kelarutan	57
4.3.5 Kuat Tarik	59
4.3.6 Elongasi	61
4.3.7 Total BAL (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	63
4.4 Perlakuan Terbaik Penelitian Utama	65
4.5 Analisis Permukaan <i>Edible Film</i> dengan SEM (<i>Scanning Electron Microscope</i>) dari Perlakuan Terpilih	67
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN	79

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Titik leleh (°C), Titik Beku (°C), Kekuatan gel (gram cm ⁻²) dan Viskositas (cps) Karaginan <i>E. spinosum</i>	8
2. Standart <i>Edible Film</i>	13
3. Formulasi <i>Edible Film</i> Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma spinosum</i> dan <i>Sargassum cristefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan.....	26
4. Rancangan Penelitian Utama	29
5. Gugus fungsi spektrum infra merah pada <i>Eucheuma spinosum</i>	38
6. Gugus fungsi <i>Eucheuma spinosum</i> dibandingkan dengan literatur	38
7. Gugus fungsi spektrum infra merah pada <i>Sargassum cristaefolium</i>	40
8. Gugus Fungsi <i>Sargassum cristaefolium</i> dibandingkan dengan literatur	40
9. Gugus fungsi pada <i>Eucheuma spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i>	41
10. Hasil penelitian Pendahuluan.....	42
11. Hasil uji kualitas <i>edible film</i> dengan konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> yang berbeda.....	52
12. Hasil pengujian <i>edible film</i> perlakuan terbaik dan standar <i>edible film</i>	66



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Eucheuma spinosum</i>	7
2. <i>Sargassum cristaefolium</i>	10
3. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	17
4. Spektra IR dari <i>Eucheuma spinosum</i>	37
5. Spektra IR dari <i>Sargassum cristaefolium</i>	39
6. Nilai Kadar Air <i>edible film</i> pada penelitian pendahuluan.....	43
7. Hasil elongasi <i>edible film</i> pada penelitian pendahuluan	44
8. Hasil kuat tarik <i>edible film</i> pada penelitian pendahuluan	46
9. Hasil ketebalan <i>edible film</i> pada penelitian pendahuluan	48
10. Hasil laju transmisi uap air <i>edible film</i> pada penelitian pendahuluan	49
11. Laju transmisi uap air <i>edible film</i> dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	52
12. Uji ketebalan <i>edible film</i> dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	54
13. Uji kelarutan <i>edible film</i> dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	56
14. Hasil kuat tarik <i>edible film</i> dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	58
15. Hasil elongasi <i>edible film</i> berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	60
16. Kadar air <i>edible film</i> dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	62
17. Total BAL (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) dalam berbagai konsentrasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	64
18. Mikrostruktur <i>edible film</i> berbahan <i>Euchemua spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Konsentrasi Probiotik <i>Lactobacillus acidophilus</i> 5% dengan perbesaran 500x (a), 1000x (b), dan 1500x (c).	68
19. Penampang <i>Edible Film Alginate</i> dengan penambahan <i>Lactobacillus paracasei</i> dengan Perbesaran 5.000X (Leonard <i>et al.</i> , 2014)	69
20. Penampang <i>Edible Film</i> berbahan kefir dengan penambahan bakteri asam laktat dengan Perbesaran 1.000X (Piermaria <i>et al.</i> , 2015)	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Pembuatan <i>Edible Film</i> dari Rumput Laut Segar (sol) pada Penelitian Pendahuluan	79
2. Skema Kerja Pembuatan <i>Edible Film</i> dari Rumput Laut Segar (sol) pada Penelitian Utama dengan Penambahan Probiotik	80
3. Prosedur Analisa Kadar Air (AOAC 1995).....	81
4. Prosedur Uji Kelarutan air (Dick <i>et al.</i> , 2015)	82
5. Prosedur Uji Ketebalan (Soukoulis <i>e al.</i> , 2015).....	83
6. Prosedur Uji Kuat Tarik dan Elongasi (Soukoulis <i>et al.</i> , 2015)	84
7. Prosedur Uji Transmisi Uap Air (Antoniou <i>et al.</i> , 2014)	85
8. Pengujian Total BAL (Bakteri Asam Laktat) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Soukoulis <i>et al.</i> , 2015).....	86
9. Prosedur Uji <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	87
10. Prosedur Uji SEM (<i>Scanning Electron Microscope</i>)	88
11. Analisis (ANOVA) Kadar Air <i>Edible Film</i> Campuran Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan	90
12. Analisis (ANOVA) Elongasi <i>Edible Film</i> Campuran Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan	92
13. Analisis (ANOVA) Kuat Tarik <i>Edible Film</i> Campuran Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan	94
14. Analisis (ANOVA) Ketebalan <i>Edible Film</i> Campuran Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan	96
15 Analisis (ANOVA) Transmisi Uap Air <i>Edible Film</i> Campuran Rumput Laut Segar Jenis <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> pada Penelitian Pendahuluan	98
16. Analisis (ANOVA) Kadar Air <i>Edible Film</i> <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Penambahan <i>Lactobacillus acidophilus</i> konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama	100
17. Analisis (ANOVA) Transmisi Uap Air <i>Edible Film</i> <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Penambahan <i>Lactobacillus acidophilus</i> konsentrasi berbeda pada Penelitian	102
18. Analisis (ANOVA) Ketebalan <i>Edible Film</i> <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Penambahan <i>Lactobacillus acidophilus</i> konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama	104
19. Analisis (ANOVA) Kelarutan <i>Edible Film</i> <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Penambahan <i>Lactobacillus acidophilus</i> konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama	107
20. Analisis (ANOVA) Kuat Tarik <i>Edible Film</i> <i>Eucheuma Spinosum</i> dan <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Penambahan <i>Lactobacillus acidophilus</i> konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama	109



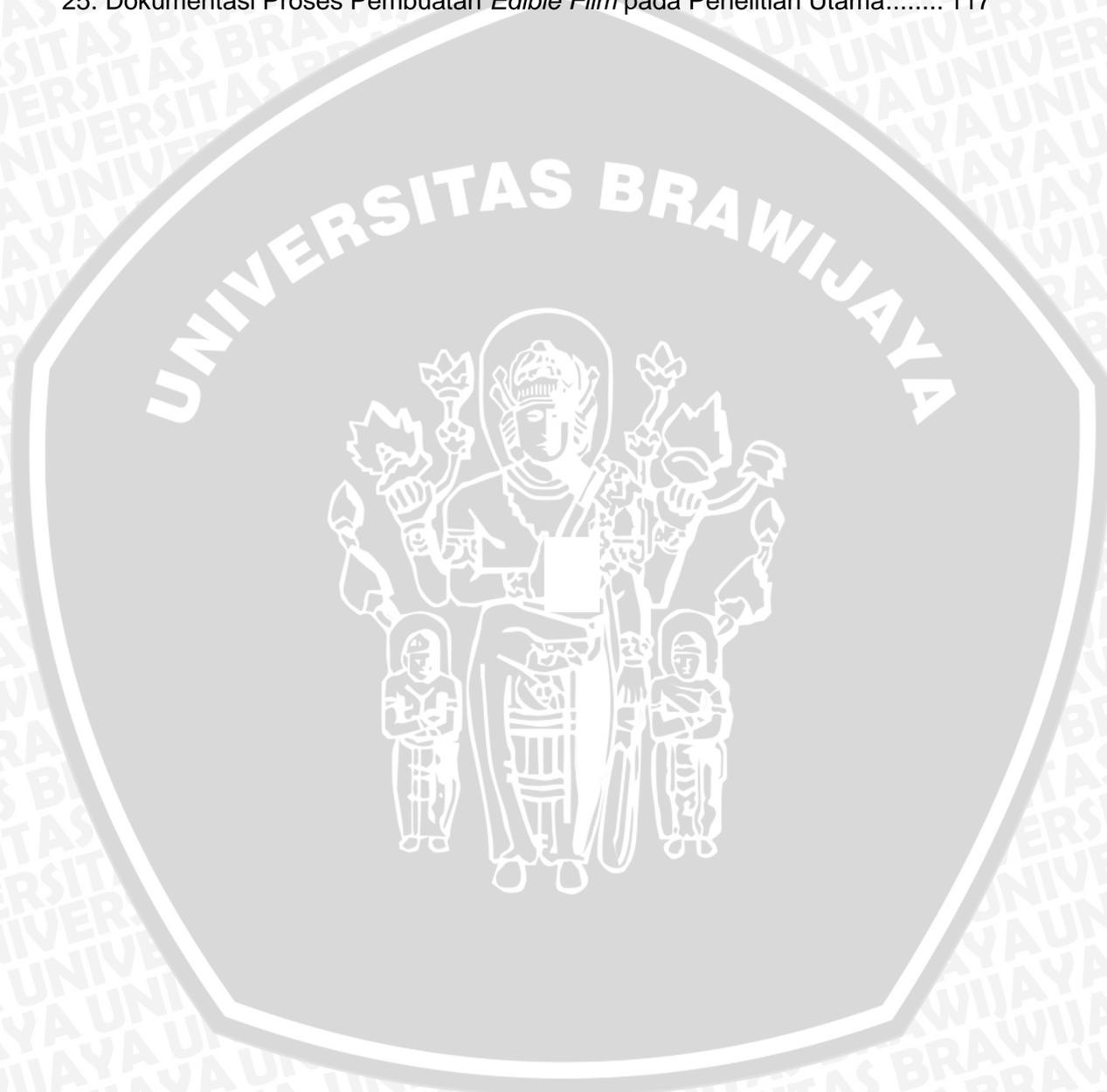
21. Analisis (ANOVA) Elongasi *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama 111

22. Analisis (ANOVA) Total BAL *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama 113

23. Dokumentasi Hasil *Edible Film* pada Penelitian Pendahuluan 115

24. Dokumentasi Hasil *Edible Film* pada Penelitian Utama..... 116

25. Dokumentasi Proses Pembuatan *Edible Film* pada Penelitian Utama..... 117



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Edible film dapat didefinisikan sebagai kemasan primer yang terbuat dari komponen yang dapat dimakan. Lapisan tipis yang dapat langsung dikonsumsi dapat juga diaplikasikan pada makanan dengan melapisi makanan tanpa mengubah bahan asli dari makanan tersebut (Galus dan Justyna., 2015). Sifat dapat dimakan dan biodegradasi adalah karakteristik yang paling menguntungkan dari *edible film*. Sifat ini dapat dicapai jika komponen *film* bahan biopolimer, plastik, dan bahan tambahan lainnya menjadi bahan *food grade* (Kafrani *et al.*, 2016). Perkembangan *film* dan *edible film* yang digunakan untuk kemasan makanan telah banyak diterima dalam beberapa tahun terakhir karena keprihatinan tentang pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh bahan nonbiodegradabel (Bravin *et al.*, 2006).

Komponen penyusun *edible film* menurut Donhowe dan Fennema (1994), terdiri dari 3 kategori yaitu hidrokoloid, lipid, dan komposit. Hidrokoloid sesuai dipadukan dengan protein, turunan selulosa, alginat, pektin, dan polisakarida lainnya. Hidrokoloid dapat dijumpai pada tanaman rumput laut. Rumput laut *Eucheuma spinosum* merupakan kelompok hidrokoloid yang dapat dijadikan bahan dalam pembuatan *edible film*. *Eucheuma spinosum* merupakan rumput laut penghasil iota karaginan yang terdapat dalam dinding sel atau matriks intraseluler rumput laut. *Eucheuma spinosum* dapat membentuk gel, karena dapat membentuk struktur *double helix* pada saat larutan mengalami pendinginan (Chaidir, 2006). Selain jenis *Eucheuma spinosum*, terdapat jenis lain yang juga memiliki nilai ekonomis, dan jarang untuk digunakan atau dimanfaatkan yaitu rumput laut jenis *Sargassum cristaefolium* dimana menurut

Kusumaningrum *et al.*, (2007) bahwa *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu rumput laut yang sangat potensial sedangkan pemanfaatannya masih belum banyak dilakukan. *Sargassum cristaefolium* merupakan rumput laut coklat yang mengandung alginat pada dinding selnya (Kafrani *et al.*, 2016). Dalam rumput laut coklat, alginat merupakan komponen kunci dari sel dinding rumput laut dan juga muncul dalam matriks antar ruang. Adanya alginat karena muncul dalam spesies rumput laut yang paling coklat, tetapi jumlahnya bervariasi sebesar 20 % - 27 %. Secara fisika dan kimia alginat merupakan senyawa polimer yang bersifat koloid, membentuk gel, bersifat hidrofilik. Alginat juga diketahui memiliki kemampuan berikatan dengan senyawa *polyvalen* yang memiliki viskositas yang lebih baik dengan kekuatan gel yang lebih baik pula (Knudsen *et al.*, 2015). Selain mengandung alginat, *Sargassum cristaefolium* juga mengandung nilai gizi seperti protein, abu dan mineral, vitamin A, vitamin C, dan lemak (Handayani, 2014).

Memanfaatkan rumput laut segar guna menambah nilai ekonomis dengan mengolahnya menjadi bahan baku *edible film* yang bersifat langsung dapat dimakan juga dapat digabungkan dengan komponen lain yang dapat menambah nilai fungsional dari produk tersebut seperti *edible film* berprobiotik. Menurut Sievert dan Pomeranz (1989), probiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang tidak dapat dicerna oleh usus manusia, tetapi dapat digunakan untuk mendorong pertumbuhan bakteri probiotik dalam usus besar sehingga dapat membantu meningkatkan kesehatan. Dilihat dari fungsi penambahan probiotik, Soukoulis *et al.*, (2014) melaporkan bahwa pertumbuhan dari segmen makanan, probiotik telah luar biasa menjadi dominan. Pengaplikasiannya pada makanan selama dekade terakhir ini berupa produk susu yaitu *yogurt*, es krim, keju dan susu, jus dan minuman dan juga formulasi bayi. Fu (2011), mengatakan bahwa kondisi pengolahan selama masa proses produksi bisa mengakibatkan kerugian

yang signifikan dari kelangsungan hidup probiotik karena proses pemanasan, mekanik atau tekanan osmotik yang diinduksi secara seluler.

Lactobacillus acidophilus termasuk spesies yang tergolong bakteri probiotik. Genus *Lactobacillus* termasuk probiotik yang sering digunakan baik dalam produk makanan, minuman, obat maupun produk farmasi yang lain dan dikenal sebagai bakteri asam laktat (BAL) karena kemampuannya menghasilkan asam laktat (Rosiana *et al.*, 2008). Baru-baru ini penggabungan bakteri asam laktat atau probiotik untuk produk *film* dan *coating* adalah untuk pelapisan buah-buah segar, dan *Lactobacillus* tergabung dalam *sodium-caseinate film* untuk mengontrol *Listeria monocytogenes* dalam media kultur dan daging sapi segar (Tapia *et al.*, 2007). Pengaplikasian bakteri probiotik ke dalam *edible film* sebelumnya telah dilakukan oleh Lacey *et al* (2012), dengan judul "Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to Edible Coating and Films" dengan bahan pembuatan *film* menggunakan gelatin. Penelitian dengan penggunaan bahan rumput laut diharapkan dapat memiliki nilai fungsional dari produk, memperbaiki kualitas dari *edible film* serta dapat memperbaiki nilai gizi suatu produk yang dilapisinya dan memberikan dampak yang positif bagi kesehatan konsumen terutama anak-anak dimasa pertumbuhannya.

Derivat rumput laut seperti karaginan dan alginat sudah banyak diteliti sifat mekaniknya sebagai bahan baku *edible film*. Namun, kemungkinan untuk membentuk *edible film* menggunakan kombinasi beberapa rumput laut tanpa diekstraksi belum pernah dilakukan. *Edible film* dengan bahan baku rumput laut ini akan membuat persiapan bahan lebih mudah dan murah, karena tidak perlu mengekstraksi karaginan maupun alginat terlebih dahulu (Siah *et al.*, 2015).

Kualitas *edible film* yang baik diharapkan dapat sebagai pembawa bahan tambahan pangan (antioksidan, antimikrobia dan *flavor*), dapat berperan sebagai

penghambat selektif untuk mencegah *transport* uap air, gas-gas dan zat terlarut ke bagian dalam sistem pangan heterogen serta dapat dikonsumsi bersama bahan pangan yang dikemas atau dilapisinya. Oleh sebab itu *edible film* diharuskan memiliki karakteristik fisika yang baik, meliputi sifat fisik dan mekanik terbaik didasarkan pada nilai kekuatan renggang putus, perpanjangan, transmisi uap air dan nilai ketebalan (Handito, 2011). Tidak hanya itu, kualitas *edible film* juga diukur berdasarkan nilai organoleptik dari produk. *Edible film* yang baik dapat disukai dan diterima di masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah pengaruh penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kualitas dari *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kualitas dari *edible film* berbahan rumput laut dengan penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) konsentrasi yang berbeda.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengembangan teknologi pembuatan *edible film* berbahan campuran rumput laut jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* sebagai bahan pembuatan *edible film* dengan penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*).

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : Diduga penggunaan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kualitas *edible film*.

H_1 : Diduga penggunaan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap kualitas *edible film*.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Agustus 2016 di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Material Fisika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Teknik Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumpaut Laut

Rumpaut laut merupakan *makro algae* yang termasuk dalam divisi *Thallophyta*, yaitu tumbuhan yang mempunyai sktruktur kerangka tubuh yang terdiri dari batang/*thalus* dan tidak memiliki daun serta akar. Jenis rumpaut laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia adalah *Gracilaria*, *Gelidium*, *Euceuma*, *Hypnea*, *Sargasum* dan *Tubrinaria* (Warta, 2013). Rumpaut laut yaitu saat ini disinyalir sebagai makanan nabati masa depan, karena tidak hanya bersaing dengan tanaman pangan lainnya, rumpaut laut juga menawarkan nutrisi utama yang baik termasuk karbohidrat, protein, dan mineral (Cardoso *et al.*, 2015).

Rumpaut laut memiliki kandungan nutrisi yang cukup lengkap antara lain air (27,8%), protein (5,4%), karbohidrat (33,3%), lemak (8,6%), serat kasar (3%), dan abu (22,25%). Selain kandungan gizi yang baik, rumpaut laut juga mengandung senyawa hidrokoid seperti karaginan, agar, dan alginat. Ketiga senyawa hidrokoid tersebut memiliki nilai ekonomis yang tinggi, mengingat manfaatnya yang demikian luas sehingga pengemulsi dan pengental dalam industri makanan, kosmetik, obat-obatan, tekstil dan lain-lain (Widyastuti, 2010).

Rumpaut laut (*sea weeds*) atau yang biasa juga disebut ganggang (*algae*) merupakan tumbuhan berklorofil dimana seluruh bagian tanaman dapat menyerupai akar, batang, daun atau buah semuanya disebut *thalus* (Hudha, 2012). Rumpaut laut atau *sea weeds* merupakan komoditi hasil laut yang melimpah di Indonesia (Listiyana, 2014). Jenis rumpaut laut yang potensial dan banyak dijumpai di perairan Indonesia adalah *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* yang dapat menghasilkan karaginan.

2.1.1 *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum adalah salah satu jenis rumput laut dari kelas Rhodophyceae (ganggang merah). Gambar dari rumput laut *Eucheuma spinosum* dapat di lihat pada gambar 1. Menurut Atmadja *et al.*, (1996), *Eucheuma spinosum* dikenal dengan nama ilmiah *Eucheuma muricatum* dan *Eucheuma denticulatum* merupakan penghasil utama iota karaginan. Ciri fisik *Eucheuma spinosum* mempunyai bentuk *thallus* bulat tegak, dengan ukuran panjang 5-30 cm, transparan, warna coklat kekuningan sampai merah kekuningan. Permukaan *thallus* tertutup oleh tonjolan yang berbentuk seperti duri-duri runcing yang tidak beraturan, duri tersebut ada yang memanjang seolah berbentuk seperti cabang. Tanaman tegak karena percabangannya yang rimbun dapat membentuk rumpun. Percabangan *thallus* tumbuh pada bagian yang tua ataupun muda tidak beraturan. Di daerah Cirebon, Solor, Selat Sunda dikenal sebagai rambu kasang, di Madura dikenal sebagai bulung agar, dan di Pulau Seribu dikenal sebagai agar patah tulang. Klasifikasi *Eucheuma spinosum* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Rhodophyta
Kelas : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Famili : Solieriaceae
Genus : *Eucheuma*
Spesies : *Eucheuma spinosum*



Gambar 1. *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum merupakan *algae* makro bentik yang dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan tepung agar-agar, karaginan, dan alginat.

Bahan baku tersebut dimanfaatkan dalam industri tekstil, kosmetik, dan makanan. Luasnya pemanfaatan hasil olahan rumput laut dalam berbagai industri, mengakibatkan peningkatan kebutuhan *Eucheuma spinosum*. Budidaya *Eucheuma spinosum* yang sudah dilakukan oleh pembudidaya adalah menggunakan metode rakit apung (*floating raft method*), metode lepas dasar (*off bottom method*) dan metode rawai (*log line method*) (Farnani *et al.*, 2013).

Eucheuma spinosum merupakan rumput laut penghasil iota karaginan yang terdapat dalam dinding sel atau matriks intraseluler rumput laut. *Eucheuma spinosum* dapat membentuk gel, karena dapat membentuk struktur *double helix* pada saat larutan mengalami pendinginan (Chaidir, 2006).

Tabel 1. Titik leleh ($^{\circ}\text{C}$), titik beku ($^{\circ}\text{C}$), kekuatan gel (gram cm^{-2}) dan viskositas (cps) karaginan *E. spinosum*.

Sifat Fisik	Hasil
Titik leleh ($^{\circ}\text{C}$)	123,11
Titik beku ($^{\circ}\text{C}$)	50,88
Kekuatan gel (gram cm^{-2})	401,77
Viskositas (cps)	21,37

Sumber: (Widyastuti, 2010)

Karaginan bersifat kompleks, larut dalam air, berantai linier, dan sulfat galaktan. Senyawa ini terdiri atas sejumlah unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa yang berikatan dengan gugus sulfat atau tidak dengan ikatan α 1,3-D-galaktosa dan β 1,4-3,6-anhidrogalaktosa (Diharmi *et al.*, 2011). Semua jenis karaginan larut dalam air panas. Kappa dan iota karaginan larut dalam air dingin dan larutan garam natrium. Sedangkan di dalam larutan garam kation lain seperti K^+ dan Ca^{2+} , kedua jenis karaginan ini tidak dapat larut namun hanya dapat mengembang. Larutan kappa dan iota karaginan bersifat *irreversible* yaitu jika larutan dipanaskan kembali, maka gel yang terbentuk akan mencair kembali. Pembentukan gel terjadi karena terbentuknya struktur salur ganda dan terjadi pengikatan silang rantai-rantai polimer sehingga membentuk suatu jala tiga

dimensi bersambungan yang akan menangkap air di dalamnya dan membentuk struktur kuta dan kaku. Gel ini memiliki sifat seperti padatan, khususnya sifat elastis dan kekakuan (Kasim, 2013).

Larutan karaginan viskositasnya akan menurun jika pHnya dibawah 4,3. Iota karaginan dapat digunakan sebagai pembentukan gel pada pH rendah, tetapi tidak mudah terhidrolisis. Penurunan pH menyebabkan terjadinya hidrolisis dari ikatan glikosidik yang mengakibatkan kehilangan viskositas. Viskositas suatu hidrokoid dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi karaginan, temperatur, jenis karaginan, berat molekul dan adanya molekul-molekul lain. Jika konsentrasi karaginan meningkat, viskositas juga akan meningkat. Pembentukan gel dipengaruhi oleh jenis dan tipe karaginan, konsentrasi, adanya ion-ion serta pelarut yang menghambat pembentukan hidrokolid (Prasetyowati *et al.*, 2008).

2.1.2 *Sargassum cristaefolium*

Kata algae (ganggang) berasal dari bahan latin, alga yang berarti gulma laut. Istilah alga laut biasanya dikenal dalam dunia ilmu pengetahuan, sedangkan dunia perdagangan dikenal sebagai rumput laut (Indriani, 1992). Alga cokelat *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu marga *Sargassum* yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae. Ada 150 jenis marga *Sargassum* yang dapat dijumpai di daerah tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin. Habitat *Sargassum* tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5-1,0 m (Nizzamudin, 1970). Alga *Sargassum cristaefolium* atau alga cokelat merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae. *Sargassum cristaefolium* mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Bachtiar *et al.*, 2012)

Rumput laut cokelat adalah kelompok alga yang secara umum berwarna cokelat atau pirang. Warna tersebut tidak berubah walaupun alga ini mati atau kekeringan. Namun pada beberapa jenis misal pada *Sargassum*, warnanya akan

sedikit berubah menjadi hijau kebiru-biruan apabila mati kekeringan (Atmadja, 1996). Gambar dari *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada gambar 2. Jenis-jenis sargassum yang dikenal di Indonesia ada 12 *cristaefolium* species, yaitu: *A. Duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. bunderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquafolium*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Kadi, 2008). Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut Putri (2011), adalah sebagai berikut:

Divisi : Thallophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucalus
Famili : Sargassaceae
Genus : Sargassum
Cristaefolium species : *Sargassum cristaefolium*



Gambar 2. *Sargassum cristaefolium*

Khusus untuk *cristaefolium* species dari marga *sargassum* ciri-ciri umumnya yaitu: bentuk *thallus* umumnya selendris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara, panjangnya mencapai 7 meter, warna *thallus* umumnya cokelat (Kriswiyanto dan Danarto, 2007). Daerah paparan terumbu merupakan bagian habitat algae *Sargassum*. Di perairan Indonesia paparan

terumbu ada yang bertanggung terumbu dan tidak bertanggung terumbu di daerah perairan tubir bagian dalam. Rumput laut *Sargassum* telah lama dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat. Sebagai sumber gizi, rumput laut memiliki kandungan karbohidrat (gula atau *vegetable-gum*), protein, sedikit lemak, dan abu yang sebagian besar merupakan senyawa garam natrium dan kalium (Wulandari, 2015).

Sargassum cristaefolium merupakan rumput laut coklat yang mengandung alginat pada dinding selnya (Kafrani *et al.*, 2016). Alginat sebenarnya merupakan komponen utama dari getah ganggang coklat dan merupakan senyawa penting dalam dinding sel. Secara kimia alginat merupakan polimer murni dari asam uronat yang tersusun dalam bentuk rantai linier yang panjang. Alginat dalam pemanfaatannya berupa garam alginat dan garam ini larut dalam air. Alginat dalam pasarannya sebagian besar berupa natrium alginat, yaitu suatu garam alginat yang larut dalam air. Jenis alginat lain yang larut dalam air ialah kalium atau amonium alginat. Sedangkan, alginat yang tidak larut dalam air adalah kalsium alginat dan asam alginat dan derivat atau produk turunan yang terpenting adalah *propylene glycol* alginat (Zailanie *et al.*, 2001).

Alginat merupakan salah satu jenis bahan hidrokolid polisakarida yang dapat difungsikan sebagai bahan pembuatan *edible film* karena bersifat kaku, dapat dimakan dan dapat diperbaharui. *Edible film* yang dibuat dari bahan hidrokolid polisakarida seperti alginat memiliki beberapa kelebihan, antara lain baik untuk melindungi produk terhadap oksigen, karbondioksida dan lipid, meningkatkan kesatuan struktural produk, dan memiliki sifat mekanis yang diinginkan. Sedangkan kekurangannya, kurang bagus dalam mengatur migrasi uap air dan dipengaruhi oleh perubahan pH (Murdinah *et al.*, 2007).

Rendemen maksimum yang diperoleh pada suhu ekstraksi 60°C, suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan struktur alginat terdegradasi. Semakin tinggi suhu ekstraksi, maka semakin banyak alginat yang dapat terlarut. Alginat yang terdapat dalam rumput laut berbentuk asam alginat yang sulit larut dalam air. Pada proses ekstraksi, asam alginat diubah menjadi natrium alginat yang memiliki sifat dapat larut dalam air. Semakin tinggi suhu ekstraksi maka konversi akan semakin tinggi, sehingga lebih banyak asam alginat yang dapat diubah menjadi natrium alginat (Jayanudin *et al.*, 2014). Kualitas dari alginat juga dapat ditentukan dari viskositasnya, semakin tinggi viskositas maka kualitasnya semakin baik. Faktor yang mempengaruhi viskositas alginat adalah konsentrasi pelarut, suhu dan waktu ekstraksi (Pamungkas, 2013). Jika yang digunakan rumput laut dengan panjang *thallus* yang kecil akan dihasilkan Na-alginat dengan viskositas yang rendah, sedangkan bila digunakan rumput laut dengan *thallus* yang panjang akan dihasilkan viskositas yang tinggi. Kekentalan larutan alginat akan menurun akibat pemanasan yang terlalu lama. Pada pemanasan yang terlalu lama akan berakibat terjadinya degradasi molekul dan selanjutnya mengakibatkan penurunan kekentalan (Darmawan *et al.*, 2006).

2.2 Edible film

Edible film adalah lapisan tipis dan kontinu terbuat dari bahan-bahan yang dapat dimakan, dibentuk melapisi komponen makanan (*coating*) atau diletakkan diantara komponen makanan (*film*) yang berfungsi sebagai *barrier* terhadap transfer massa (misalnya kelembaban, oksigen, lipid, cahaya dan zat terlarut), dan sebagai *carrier* bahan makanan dan bahan tambahan, serta untuk meningkatkan penanganan suatu makanan (Murdinah *et al.*, 2007). *Edible film* adalah sebuah lapisan tipis dari bahan yang dapat langsung dimakan atau bisa digunakan sebagai bahan pelapis makanan atau dapat dibentuk lapisan tipis dan

diaplikasikan untuk pembungkus makanan tanpa merubah bentuk asli atau metode dari pengolahan makanan tersebut (Galus dan Justyna, 2015).

Penggunaan *edible film* untuk pengemasan produk-produk pangan seperti sosis, buah-buahan dan sayuran segar dapat memperlambat penurunan mutu, karena *edible film* dapat berfungsi sebagai penahan difusi gas oksigen, karbondioksida dan uap air serta komponen flavor, sehingga mampu menciptakan kondisi atmosfer internal yang sesuai dengan kebutuhan produk yang dikemas (Sinaga *et al.*, 2013).

Bahan pembentuk *edible film* dan *coating* dibagi menjadi tiga kategori, yaitu hidrokoloid seperti protein, turunan selulosa, alginat, karaginan, pektin, pati, polisakarida lain, lipida seperti lilin (*wax*), asil gliserol, asam lemak (asam palmitat, asam stearat), dan kombinasinya (komposit). Komposit mengandung komponen lipida dan hidrokoloid (Handito, 2011).

Tabel 2. Standart *edible film*

Grade	Tensile Strength (N/cm ²)	Elongasi (%)	Transmisi Uap Air (g/cm ² .jam)
1	20 min	1000 min	0,1 maks
2	15 min	700 min	0,15 maks
3	10 min	300 min	0,2 maks
4	7,0 min	100 min	0,3 maks
5	5,0 min	70 min	0,5 maks
6	4,0 min	50 min	0,7 maks
7	3,0	30 min	1,0 maks
8	2,0	20 min	1,5 maks
9	1,5	10 min	2,0 maks
10	1,0	5 min	2,5 maks
11	0,7	-	3,0 maks
12	0,5	-	4,0 maks
13	0,3	-	5,0 maks
14	0,2	-	10,0 maks
15	0,1	-	20,0 maks

Sumber : (SNI, 2002)

2.3 Manfaat *edible film*

Edible film dan *coating* dapat berfungsi sebagai pembawa bahan tambahan pangan (antioksidan, antimikrobia, dan flavor), dapat berperan sebagai

penghambat selektif untuk mencegah pertukaran uap air, gas-gas, dan zat terlarut ke bagian dalam sistem pangan yang heterogen, dan dapat dikonsumsi bersama bahan pangan yang dikemas atau dilapisinya (Handito, 2011). Lapisan *edible film* berfungsi untuk melindungi produk dari kerusakan mekanis dengan mengurangi transmisi uap air, aroma dan lemak dari bahan pangan yang dikemas. Komponen penyusun *edible* ini terdiri dari berbagai jenis bahan alami yang mudah didapat, yaitu hidrokoloid, lipid dan komposit. Bahan-bahan ini sangat baik digunakan sebagai penghambat perpindahan gas, meningkatkan kekuatan struktur dan menghambat penyerapan zat-zat volatil sehingga efektif untuk mencegah oksidasi lemak pada produk pangan. Disamping itu, keuntungan penggunaan *edible film* ketika diterapkan pada produk antara lain adalah melindungi produk selama masa simpan, meningkatkan penampakan asli produk, dapat langsung dimakan dan aman dikonsumsi (Alsuhehri, 2011). Konsep menggunakan *edible film* adalah untuk mengurangi hilangnya kelembapan, reaksi kimia yang merugikan, pembusukan, dan kontaminasi mikroba. Selain itu, *edible film* dapat digunakan untuk pelepasan terkontrol aditif makanan, dan juga efektif sebagai bentuk perawatan setelah panen buah (Kafrani *et al.*, 2016).

Kelebihan *edible film* yang dibuat dari hidrokoloid diantaranya memiliki kemampuan yang baik untuk melindungi produk terhadap oksigen, karbondioksida dan lipida serta memiliki sifat mekanis yang diinginkan dan meningkatkan kesatuan struktur produk. Kelemahannya, *film* dari karbohidrat kurang bagus digunakan untuk mengatur migrasi uap air, sementara *film* dari protein sangat dipengaruhi oleh perubahan pH (Zaidar *et al.*, 2013)

2.4 Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah cukup akan memberikan manfaat kesehatan bagi yang

mengkonsumsinya. Mikroorganisme probiotik memberikan manfaat terhadap kesehatan manusia, melindungi dari infeksi bakteri enterik, menurunkan kejadian dan durasi diare, *necrotizing enterocolitis* (NEC) dan *inflammatory bowel disease* (Emmawati *et al.*, 2015). Ditambahkan oleh Manin (2010), probiotik didefinisikan sebagai organisme yang memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroba dalam usus.

Probiotik dapat berupa bakteri, jamur atau ragi. Tapi yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Tidak semua bakteri baik dapat dijadikan sebagai probiotik, salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL). Pada mulanya, bakteri asam laktat terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus*. Namun demikian, beberapa genus baru masuk kedalam kelompok bakteri asam laktat menurut revisi taksonomi terakhir. Genus *Streptococcus* mencakup *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Vagococcus*. Secara umum bakteri probiotik hidup di dalam saluran pencernaan dan bermutualisme dengan tubuh inangnya, hidup pada pH 2-4, tidak mengakibatkan hal yang negatif pada tubuh, tidak patogen, umumnya tidak membentuk kristaefoliumora, *saccharolytic*, umumnya anaerob, tidak mengganggu ekosistem tubuh, hidup dan tumbuh di dalam usus (Mutmainnah *et al.*, 2013).

Yang dimaksud probiotik menurut Anggriani *et al* (2012) adalah yang tersusun oleh biakan mikroba atau pakan alami mikrocristaefoliumokip yang bersifat menguntungkan dan memberikan dampak bagi peningkatan keseimbangan mikroba saluran usus hewan inang. Dalam aplikasinya di dunia perikanan, probiotik sebagai agen pengurai dapat digunakan baik secara langsung dengan ditebarkan ke air atau melalui perantaran makanan hidup (*live food*). Proses kerja dari bakteri probiotik yaitu dengan menghasilkan enzim-enzim yang berfungsi untuk mempercepat proses dari pencernaan ikan. Noland dan

Aryana (2012), menambahkan bahwa salah satu bakteri probiotik yang paling efektif adalah *Lactobacillus acidophilus*.

2.5 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai pada saluran gastro intestinal baik pada manusia maupun hewan. Pada usus halus, jumlahnya dapat mencapai 10^6 - 10^7 sel/g. Sedangkan pada usus besar jumlahnya berkisar antara 10^{10} - 10^{11} sel/g (Manin, 2010). Menurut Hardiningsih *et al* (2006) *Lactobacillus* termasuk golongan bakteri asam laktat yang sering dijumpai pada makanan fermentasi, produk olahan ikan, daging, susu, dari sari buah-buahan. Sifat yang menguntungkan dari bakteri *Lactobacillus* dalam bentuk probiotik adalah dapat digunakan untuk mendukung peningkatan kesehatan. Bakteri tersebut berperan sebagai flora normal dalam sistem pencernaan. Fungsinya adalah untuk menjaga keseimbangan asam dan basa sehingga pH dalam molon instan.

Menurut Hassan (2006), beberapa *cristaefoliumesies* *Lactobacillus* telah banyak diisolasi dari saluran usus halus manusia dan hewan. Beberapa diantaranya adalah *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, dan *Lactobacillus fermentum*. Dari beberapa *cristaefoliumesies* tersebut diatas, *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat yang paling dominan dan paling banyak dipelajari. Hingga kini, telah berhasil diperoleh enam galur *Lactobacillus acidophilus*, yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus cricristaefoliumatus*, *Lactobacillus amylovarus*, *Lactobacillus gillinaru*, *Lactobacillus gasseri*, dan *Lactobacillus Johnsonii*. Ditambahkan oleh Triana *et al* (2007), bahwa *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu dari delapan genera umum bakteri asam laktat. *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh dengan baik

tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun.

Lactobacillus acidophilus dapat mati dengan pemanasan, embun dan cahaya matahari langsung. *Lactobacillus acidophilus* memproduksi asam laktat (dapat menghambat pertumbuhan jamur) seperti antibiotik alami dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Shigella*, *Salmonella faecalis* dan *E.coli*. berdasarkan penelitian, *Lactobacillus acidophilus* efektif dalam mengurangi intoleransi laktosa, memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan mengurangi kadar kolesterol. *Lactobacillus acidophilus* hidup sepanjang saluran pencernaan dan terdapat dalam jumlah yang sangat banyak pada usus halus (Maryana, 2014). *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Lactobacillus acidophilus*
(Google Image, 2016)

2.6 Pengujian *Edible film*

2.6.1 Transmisi Uap Air

Salah satu sifat edible film yang sangat penting agar dapat berfungsi dengan baik sebagai pelapis makanan adalah permeabilitas uap air (*water vapor permeability*). *Water vapor permeability* (WVP) adalah kemampuan dari film

untuk menahan laju uap air yang menembusnya. Permeabilitas film dipengaruhi oleh beda konsentrasi antara satu sisi dengan sisi yang lain. Semakin besar beda konsentrasi maka transfer *massa* yang terjadi semakin cepat. Selain itu permeabilitas juga dipengaruhi oleh tebal dari film (Wirawan *et al.*, 2012). Sifat-sifat *barrier edible film* terhadap uap air dan gas ditentukan dengan mengukur transmisi uap air/ gas atau permean yang melewati film uji. Besarnya kecepatan transmisi gas dan uap air melalui *edible film* dipengaruhi oleh gaya pendorong (*driving force*) kondisi bahan dan lingkungan (Lastriyanto *et al.*, 2007).

Penentuan laju transmisi uap air (*Water Vapor Permeability /MVP*) menurut Embuscado dan Huber (2009), pada *edible film* sangat bergantung pada kondisi pengukuran, seperti suhu dan gradien tekanan uap air. Pelapis biomaterial seperti pada makanan, memiliki ciri-ciri bentuk tidak teratur dan kandungan air tinggi yang menyulitkan pengukuran MVP. Ketebalan sangat mempengaruhi *transcristaefoliumort* uap air yang melalui matriks film, maka sangatlah penting untuk mempertimbangkan ketebalan *film* dalam perhitungan MVP.

2.6.2 Ketebalan

Edible film kering dengan struktur bahan tipis sering digunakan pada atau antara lapisan komponen makanan. Pelapis ini memiliki ketebalan biasanya antara 50-250 μm dapat digunakan untuk membungkus produk atau membuat kantong dan tas. Beberapa *film* dapat diwujudkan dalam bentuk lembaran dilaminasi (Pascall dan Lin, 2013).

Ketebalan *edible film* menurut Amaliya dan Putri (2014), diukur dengan menggunakan mikrometer pada lima tempat yang berbeda. Kemudian hasil pengukuran dirata-rata sebagai hasil ketebalan *edible film*. Ketebalan dinyatakan dalam mm sedangkan mikrometer yang digunakan memiliki ketelitian 0,01mm.

2.6.3 Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Kadar air juga salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa pada bahan pangan. Kadar air dalam bahan pangan ikut menentukan kesegaran dan daya awet bahan pangan tersebut, kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Winarno, 1997).

Pengujian kadar air menurut Sudarmadji *et al* (2003) adalah sebagai berikut, sampel seberat 3 gram dimasukkan ke dalam cawan alumunium. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 4-6 jam. Setelah itu sampel yang kering ditimbang lalu dihitung berat konstannya dan didapatkan hasil kadar air.

Adapun rumus perhitungan kadar air menurut Sudarmadji *et al* (2003) adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{bobot awal} - \text{bobot akhir})}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

2.6.4 Tensile Strength (Kuat Tarik)

Kuat tarik atau kuat renggang putus (*tensile strength*) merupakan tarikan maksimum yang dapat tetap bertahan sebelum putus. Pengukuran *tensile strength* untuk mengetahui besarnya gaya yang dicapai untuk mencapai tarikan maksimum pada setiap satuan luas area *film* untuk merenggang atau memanjang (Krochta dan Mulder, 1997). Semakin tebal *edible film* menurut Safitri (2014), akan menyebabkan semakin tinggi gaya tariknya. Semakin banyak ikatan hidrogen yang terdapat dalam *edible film* mengakibatkan ikatan kimianya akan semakin kuat. Ikatan kimia yang semakin kuat memerlukan energi yang

besar untuk memutuskan ikatan tersebut, sehingga untuk mencapai tarikan maksimum memerlukan gaya yang besar pula.

Proses pengujian kekuatan tarik menurut Setiani *et al* (2013), dilakukan dengan menggunakan alat *Mesdan Lab strength* tipe *Tensolab* 5000. Pengujian dilakukan dengan cara ujung sampel dijepit mesin penguji *tensile*. Selanjutnya dilakukan pencatatan ketebalan dan panjang awal sampel. Tombol *start* pada komputer ditekan kemudian alat akan menarik sampel dengan kecepatan 100 mm/menit sampai sampel putus. Kekuatan tarik bioplastik dihitung dengan

persamaan berikut :

$$\tau = \frac{F_{\max}}{A}$$

keterangan τ : Kekuatan tarik (Mpa)

F_{\max} : Tegangan maksimum (N)

A : Luas penampang melintang (nm²)

2.6.5 Elongasi

Persentasi pemanjangan merupakan persen pertambahan panjang materi biofilm yang diukur mulai dari panjang awal pada saat mengalami penarikan hingga putus. Kuat tarik menunjukkan nilai maksimum gaya yang diproduksi jika dilakukan uji tarik. Semakin tinggi gaya yang diproduksi maka kekuatan tariknya akan semakin besar (Herliany *et al.*, 2013).

Persen pemanjangan menurut Murdinah *et al* (2007), merupakan persentase perubahan panjang *film* pada saat *film* ditarik. Perubahan panjang tersebut dapat dilihat pada saat *film* sobek. Ditambahkan oleh Rofikah *et al* (2014), persen elongasi merupakan perubahan panjang maksimum pada saat terjadi peregangan hingga sampel *film* terputus. Perubahan panjang dapat dilihat pada *film* yang robek, semakin banyak tepung tapioka yang digunakan, maka semakin menurun elongasi yang dihasilkan.

2.6.6 Viabilitas *Lactobacillus Acidophilus*

Viabilitas menurut Shah (2007), umumnya dinilai sebagai CFU/g harus dipertahankan pada tingkat yang dapat memberikan efek kesehatan. Meskipun beberapa penurunan tingkat viabilitas secara umum dari waktu ke waktu, formulasi awal harus menjamin bahwa tingkat viabilitas tidak turun dibawah apa yang ditunjukkan pada standart. Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^6 CFU/g.

Uji viabilitas menurut Triana *et al* (2006), dilakukan segera setelah proses enkapsulasi dan setelah disimpan selama dua minggu pada suhu 5°C dan 37°C . Viabilitas sel dihitung segera menggunakan TPC pada pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} . Penghitungan koloni dilakukan setelah 36-48 jam masa inkubasi pada suhu kamar.

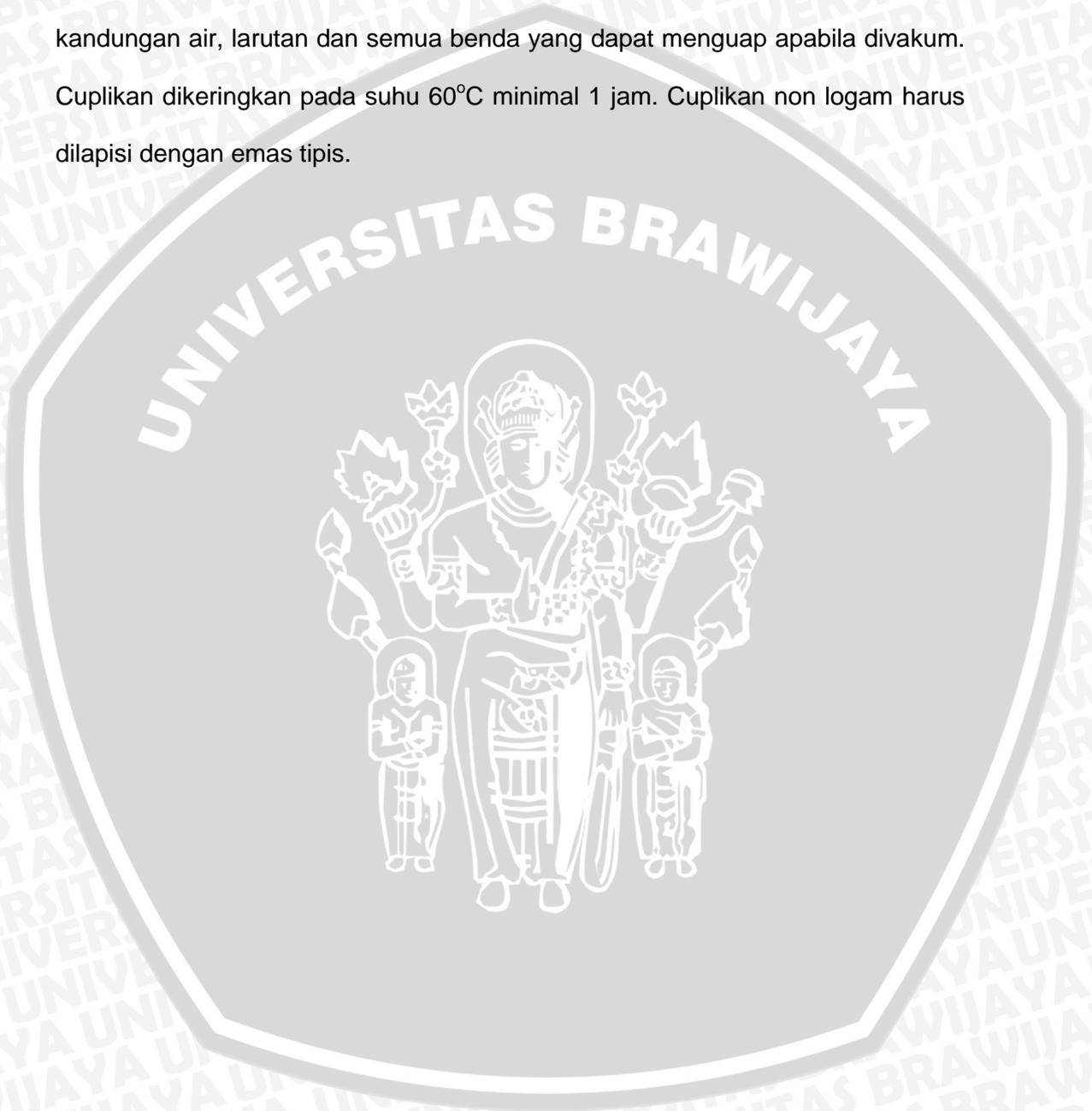
Perhitungan TPC menurut Fardiaz (1989), adalah sebagai berikut:

$$\text{TPC (koloni/mL)} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

2.6.7 Scanning Electron Microscopy (SEM) Edible Film

Penggunaan *scanning electron microscopy* (SEM) untuk menguji struktur dari permukaan suatu benda dikarenakan jauh lebih mudah untuk mempelajari struktur permukaan ini secara langsung. Penggunaan berkas sinar elektron yang difokuskan kesuatu titik dengan diameter sekitar 100 Å dan digunakan untuk melihat permukaan dalam suatu layar. Elektron-elektron dari benda yang diuji, difokuskan dengan suatu elektroda elektrostatis pada suatu alat pemantul yang dimiringkan. Sinar yang dihasilkan diteruskan melalui suatu pipa sinar pantulan kesuatu alat pembesar foto dan sinyal yang dapat digunakan untuk memodulasi terangnya suatu titik osiloskop yang melalui suatu layar dengan adanya persesuaian dengan berkas sinar elektron pada permukaan benda uji.

Menurut Gunawan dan Citra (2009), cuplikan yang akan dianalisis dalam kolom SEM perlu dipersiapkan dahulu, walaupun telah ada jenis SEM yang tidak memerlukan penyepuhan (*coating*) cuplikan. Tahap persiapan cuplikan, antara lain pelet dipotong menggunakan gergaji intan. Dibersihkan seluruh kandungan air, larutan dan semua benda yang dapat menguap apabila divakum. Cuplikan dikeringkan pada suhu 60°C minimal 1 jam. Cuplikan non logam harus dilapisi dengan emas tipis.



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari pembuatan *edible film* dalam bentuk segar, pada saat penambahan bakteri serta peralatan yang digunakan pada saat analisis pengujian.

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat proses penelitian dan alat analisa. Alat untuk proses penelitian dibedakan menjadi 3 bagian yaitu alat proses pembuatan sol (rumput laut segar), alat pembuatan kultur bakteri dan alat proses pembuatan *edible film*. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan sol (rumput laut segar) antara lain yaitu beaker glass 250mL, timbangan digital, baskom, gelas ukur 100mL. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan kultur bakteri antara lain : cawan petri, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer 250mL, autoklaf, incase, pipet volume 100mL. Sedangkan Alat yang digunakan dalam pembuatan *edible film* antara lain: beaker glass 250mL, gelas ukur 100mL, erlenmeyer 250mL, timbangan digital, spatula, magnetic stirer, hotplate, oven, nampan.

Alat-alat yang digunakan untuk uji *tensile strength* dan perpanjangan antara lain penggaris, *cutter* dan alat uji *Imada Force Measuement* tipe ZP-200N. Alat yang digunakan untuk uji ketebalan antara lain : *micrometer digimetic* seri TT210. Alat yang digunakan untuk uji transmisi uap air antara lain beaker glass 50mL, penggaris, gunting, desikator, *silica gel*, timbangan digital, *washing bottle*, dan nampan. Alat yang digunakan untuk uji kadar air antara lain botol timbang, oven, gunting, timbangan analitik, *crushable tank*, desikator. Alat yang digunakan untuk pengujian FTIR antara lain *spektrofotometri Shimadzu IR*

Prestige-21. Alat untuk pengujian total BAL antara lain :bunsen, cawan petri, autoklaf, colony counter, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet serologis 1mL, mortal dan alu, spatula, timbangan analitik. Alat pengujian kelarutan air antara lain: oven, timbangan analitik, botol timbang. Alat yang digunakan dalam pengujian SEM antara lain *Emisi Scanning Electron Microscopy (FE-SEM,s-4700, Hitachi, Tokyo, Japan)* dengan percepatan tegangan 5.0 kV.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan penelitian yang digunakan terdiri dari bahan pembuatan *edible film* rumput laut segar, *edible film* dengan penambahan kultur bakteri, dan bahan uji. Bahan yang digunakan dalam pembuatan *edible film* dalam bentuk segar adalah rumput laut jenis *Eucheuma spinosum*, *Sargassum cristaefolium*, *aquadest*, *tissue*, gliserol dan kertas label. Bahan pembuatan *edible film* dengan penambahan kultur bakteri antara lain: campuran rumput laut jenis *Eucheuma spinosum*, *Sargassum cristaefolium* dalam bentuk segar, bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan kepadatan bakteri 10^9 , gliserol, kertas label, *tissue*, *aquadest*. Sedangkan bahan untuk pengujian antara lain: *silica gel*, *aquadest*, *tissue*, kertas label, media MRSA, Na fisiologis.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode ini dilakukan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada obyek penelitian untuk mengetahui akibatnya didalam variabel terikat. Variabel bebas yang ada pada penelitian ini adalah konsentrasi bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) yang berbeda. Variabel terikat dari penelitian ini yaitu kualitas *edible film* yang dibuat dengan menggunakan rumput laut segar jenis *Eucheuma spinosum*, dan *Sargassum cristaefolium*.

3.3 Tahap Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan perlu dilakukan untuk mendapatkan acuan pada penelitian utama, agar data hasil yang diperoleh dapat valid. Penelitian pendahuluan yang dilakukan meliputi eksperimen untuk menentukan konsentrasi campuran bahan yang terbaik guna penelitian utama. Perlakuan pada penelitian adalah perbandingan dua jenis rumput laut dalam bentuk segar yaitu rumput laut jenis *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristefolium*. Pada penelitian ini menggunakan variabel A sebagai variabel bagi rumput laut segar. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2% dari volume air. Selain itu penambahan konsentrasi dari gliserol sebagai *plasticizer* yaitu 1%. Penelitian ini selanjutnya membuat *edible film* berbahan campuran *Eucheuma spinosum*, dan *Sargassum cristaefolium* dengan 5 perbandingan yang berbeda dengan 4 kali ulangan. Pengulangan sebanyak 4 kali didapatkan dari rumus berikut ini:

$$(n - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$4 (r - 1) \geq 15$$

$$4r - 3 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 3$$

$$r \geq \frac{18}{4}$$

$$r \geq 4,5 \approx 4 \text{ kali ulangan}$$

Keterangan:

n: perlakuan

r: ulangan

Tabel 3. Formulasi *Edible film* Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan.

Konsentrasi Perbandingan <i>E. spinosum</i> – <i>Sargassum</i>	Ulangan			
	1	2	3	4
A ₁ (4:0)	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁
A ₂ (0:4)	A ₂	A ₂	A ₂	A ₂
A ₃ (2:2)	A ₃	A ₃	A ₃	A ₃
A ₄ (1:3)	A ₄	A ₄	A ₄	A ₄
A ₅ (3:1)	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅

Sedangkan rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. RAL menurut Sasrosupadi (2000), adalah rancangan yang digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau *homogen*, sehingga banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium, rumah kaca dan peternakan.

3.3.2 Prosedur Penelitian Pendahuluan

Prosedur kerja penelitian pendahuluan dilakukan dengan beberapa langkah sebagai berikut:

1. Pembuatan sol rumput laut

Pembuatan *edible film* dari rumput laut segar (sol) menurut Hardoko (2008) yang telah dimodifikasi yaitu *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dari petani dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pasir, lumut, dan kotoran lain yang menempel pada rumput laut dengan menggunakan sikat gigi. Setelah itu rumput laut yang sudah bersih dijemur dibawah sinar matahari sampai kering. Ditimbang rumput laut kering sebanyak 2g dengan perbandingan campuran *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (25% : 75%), (50% : 50%), dan (75% : 25%). Campuran rumput laut direndam dalam 97mL *aquadest* sampai teksturnya dapat dipatahkan dengan jari lalu diblender sampai membentuk sol. Setelah itu dilakukan proses penghalusan menggunakan blender dengan kecepatan tinggi selama 15 detik sesuai metode dari Dewi *et al* (2010).

Proporsi masing-masing perlakuan menggunakan kombinasi bahan *Eucheuma spinosum*, *Sargassum cristaefolium* sebanyak 2% (w/v). Perlakuan ini sesuai dengan penelitian Rodriquest *et al* (2006) yang menyatakan dengan menggunakan proporsi 2% (w/v) sudah dapat terbentuk *edible film*. Persentase minimal bahan pada satu perlakuan adalah sebesar 0,5% (w/v). Hal ini ditunjang oleh pernyataan McHugh (2003) bahwa konsentrasi rumput laut sedikitnya 0,5% (w/v) dalam air agar dapat membentuk gel yang apabila dikeringkan dapat membentuk *edible film*

2. Pembuatan *edible film*

Pembuatan *edible film* dari rumput laut segar menurut Wan *et al* (2015), yang telah dimodifikasi setelah sol terbentuk, kemudian ditambah gliserol sebagai *plasticizer* kemudian dipanaskan di dalam *waterbath* dengan suhu 80°C selama 30 menit. Lalu dicetak dalam nampan plastik dan dilakukan pengovenan pada suhu 45°C selama 24 jam.

3. Pengujian *edible film*

Edible film yang sudah terbentuk kemudian diuji kadar air, transmisi uap air, ketebalan, *tensile strenght*, *elongasi*.

4. Pemilihan *edible film*

Kemudian dipilih sampel dengan perlakuan terbaik berdasarkan uji dan kenampakan dari *edible film*.

3.3.3 Penelitian Utama

Penelitian utama ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan konsentrasi penambahan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) pada *edible film* berbahan rumput laut segar (sol), sehingga diketahui kualitas dari *edible film*. Formulasi penambahan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus* pada penelitian utama didasarkan dari penelitian terdahulu dan hasil terbaik pada

penelitian Quryani (2014). Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan jumlah variabel bebas sebanyak satu yaitu konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* yang kemudian diuji lanjut Duncan. Model umum untuk RAL menurut Sasrosupadi (2000), adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}; i = 1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, t$$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Data hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan *Analisis of Variance* (ANOVA). Kemudian hasilnya dari analisis keragaman (sidik ragam) yang menunjukkan adanya pengaruh nyata/sangat nyata, lalu dilanjutkan dengan perhitungan uji lanjut Duncan.

Jumlah ulangan pada penelitian utama dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$(n - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$5 (r - 1) \geq 15$$

$$r \geq 3,8 \approx 4 \text{ kali ulangan}$$

Keterangan:

n: perlakuan

r: ulangan

Dari hasil perhitungan, maka dapat diketahui bahwa jumlah ulangan pada penelitian utama sebanyak 4 kali ulangan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada

Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Penelitian Utama

Perlakuan (A)	Ulangan				Total	Rerata
	1	2	3	4		
A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁		
A ₂	A ₂	A ₂	A ₂	A ₂		
A ₃	A ₃	A ₃	A ₃	A ₃		
A ₄	A ₄	A ₄	A ₄	A ₄		
A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅		
A ₆	A ₆	A ₆	A ₆	A ₆		

Keterangan:

A₁ : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol

A₂ : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol

A₃ : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol

A₄ : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol

A₅ : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol

A₆ : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

3.3.4 Prosedur Penelitian Utama

Prosedur kerja penelitian pendahuluan dilakukan dengan beberapa langkah sebagai berikut:

1. Prosedur pembuatan Kultur Bakteri

Prosedur pembuatan kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* didasarkan pada metode penelitian Setijawati *et al* (2011) yaitu pertama kultur *starter* kering ditumbuhkan dalam 10 mL medium MRSB steril, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian digoreskan pada media. Selanjutnya ditumbuhkan kembali dalam 10 mL medium MRSB steril, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian dihitung kepadatan jumlah bakteri dengan OD pada 620 nm menggunakan spektrofotometri.

2. Prosedur Pembuatan *Edible Film*

Prosedur dalam pembuatan *edible film* dari sol rumput laut segar didasarkan dari metode penelitian Irfandi (2014), yang telah dimodifikasi yaitu pertama rumput laut kering ditimbang sebanyak konsentrasi (*Euचेuma spinosum* 1,5% : *Sargassum cristaefolium* 0,5%), kemudian direndam dalam

aquades sebanyak \pm 97% selama 8 jam hingga tekstur rumput laut dapat dipatahkan dengan jari. Setelah itu dilakukan proses penghalusan menggunakan blender dengan kecepatan tinggi selama 15 detik sesuai dari penelitian Dewi *et al* (2010). Kemudian ditambahkan gliserol sebanyak 1% sebagai *plasticizer* sesuai dari penelitian Wan *et al* (2015). Kemudian sesuai penelitian Lacey *et al* (2012) dilakukan proses pemanasan menggunakan *waterbath* dengan suhu 80°C selama 30 menit hingga homogen. Kemudian suhu diturunkan hingga 45°C dan ditambahkan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi pada masing-masing perlakuan yaitu 5%, 6% , 7%, 8%, 9%, dan 10% . Setelah itu larutan dicetak pada *plat palstic* dan dikeringkan pada oven dengan suhu 45°C selama 24 jam.

3. Kemudian dilakukan uji karakteristik *edible film* antaranya *tensile strength*, uji elongasi, uji ketebalan, uji transmisi uap air, uji kadar air, kelarutan air dan uji viabilitas.
4. Dilakukan analisa sidik ragam (ANOVA) dan jika beda nyata dilakukan uji lanjut *Duncan* menggunakan aplikasi SPSS 16.0.
5. Pemilihan perlakuan terpilih.
6. Dilakukan uji SEM.

3.4 Prosedur Analisis Parameter Uji

3.4.1 Pengujian *Tensile strength* dan Elongasi (Soukoulis *et al.*, 2016)

Analisis kuat tarik (*tensile strenght*) dan % elongasi dilakukan menggunakan alat Imada *Force Measurement* tipe ZP-200N. *Edible film* ini dipotong-potong berbentuk persegi panjang 20 – 80 mm diletakkan pada grip dimana jarak pemisahannya berukuran 50mm. Pada tes tarik, beban yang dimiliki seberat \pm 5kg dengan kecepatan 1mm/detik. Rumus untuk menghitung *tensile strength* dan elongasi *edible film* adalah sebagai berikut:

$$\text{Kuat tarik} = \frac{F_{\max}}{A}$$

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

Dimana:

F_{\max} : gaya saat putus (N)

A : ketebalan (mm)

L : panjang film saat putus

L_0 : panjang awal

3.4.2 Analisis Kelarutan air (*Water Solubility*) (Dick et al,2015)

Kadar air dari masing-masing sampel pada pengujian kadar air yang telah kering kemudian ditimbang dan dianggap sebagai (W_i) . Sampel *edible film* ditambahkan aquades sebanyak 30 mL aquades, Kemudian dilakukan perendaman selama 24 jam pada suhu 25°C. lalu dilanjutkan dengan *centrifuge* pada kecepatan 150 rpm selama 10 menit. Kemudian residu (padatan tak larut) dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Kemudian ditimbang berat bahan akhir (W_f). Kelarutan air dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kelarutan air (\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$

3.4.3 Ketebalan (Soukoulis et al., 2016)

Pengukuran ketebalan *edible film* dilakukan dengan menggunakan alat mikrometer yang memiliki ketelitian sensitivitas 0,001mm. Pengukuran dilakukan pada beberapa titik pada *film*. Kemudian untuk menghitung ketebalan *edible film* dilakukan perhitungan rata-rata dari beberapa titik yang dilakukan pengukuran.

3.4.4 Analisis Laju Transmisi Uap Air (Antoniou *et al.*,2014)

Analisa laju transmisi uap air pada *edible film* dengan penambahan bakteri probiotik ditentukan secara gravimetri berdasarkan metode ASTM E96 (ASTM, 1995) dengan beberapa modifikasi. Sampel pada *edible film* dipotong persegi (4cm x 4cm) dan ketebalan rata-rata diukur. Sampel *edible film* dimasukkan dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan *aquadest* sebanyak 10mL. Setelah itu *edible film* dimasukkan dalam desikator yang berisi silika gel. Berat *beaker glass* diamati selama 24 jam.

$$WVP = \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{waktu} \times \text{luas permukaan}}$$

3.4.5 Analisis Kadar Air (AOAC 1995)

Disiapkan sampel film dengan ukuran 3x2 cm, kemudian dikeringkan pada suhu 105°C dalam oven, selanjutnya dianalisis secara gravimetrik selama 24 jam. Kadar air ini dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{bobot awal}-\text{bobot akhir})}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

3.4.6 Pengujian Total BAL (SNI, 2006)

Sebanyak 1g *edible film* yang mengandung bakteri probiotik diencerkan dalam 9mL Na Fisiologis dan diinkubasi selama 1 jam dengan suhu 37°C dan setiap pengenceran dilakukan secara bertingkat. Kemudian ditumbuhkan pada media MRS Agar dan disimpan pada suhu 37°C selama 72 jam dalam kondisi anaerob. Kemudian dilakukan perhitungan bakteri dan total jumlah bakteri dinyatakan dalam log koloni unit per gram (log CFU/g). Perhitungan total BAL menurut SNI (2006), dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Total BAL (N)} = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dimana: N = Jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per g
 ΣC = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
 n_1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n_2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d = pengenceran pertama yang dihitung

3.4.7 Analisa SEM (*Scanning Electron Microscope*) Edible film

Analisis SEM (*Scanning Electron Microscope*) bertujuan untuk mengetahui karakteristik permukaan mikrostruktur pada sampel *edible film*. Analisis ini menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) TM 3000 Hitachi with Swift ED 3000 X-Ray Microanalysis. Alat ini memiliki akselerasi tegangan 5K- 15K, ukuran maksimum sampel yang digunakan sebesar 70mm dengan ketebalan maksimum 50mm. Ketebalan gambar $\pm 50\mu\text{m}$ (15kv mode: $D=4,5\text{mm}$), memiliki sensitivitas detector tinggi dengan ukuran gambar 1280x960 pixels (maksimum) dan 640x480 (minimum), dengan display data berupa *micro marker, no file* dan keterangan. Alat ini dapat digunakan pembesaran sampai 30.000X. Selain itu juga memiliki *auto* pengaturan pendaran sinar dan *auto focus adjustment* secara otomatis dengan frekuensi 50/60 HZ. Alat ini juga disertai AC 100-240 V (min 90/max250 V).

Prosedur perlakuan pengujian SEM pertama adalah sambungkan alat dengan sumber listrik, kemudian nyalakan saklar yang berada disamping alat (SEM) dan dibiarkan selama 30 menit untuk pemanasan alat. Selanjutnya set sampel pada spesimen *holder*. Kemudian tekan tombol EVAC/AIR untuk memasukkan udara pada ruang spesimen. Setelah itu lampu LED (AIR yang berkedip dan berwarna kuning) untuk menunjukkan bahwa udara sudah masuk pada *camber* spesimen maka lampu LED AIR akan menyala konstan dan tidak berkedip lagi. Kemudian ditarik *handle* pada tempat sampel dan sampel diletakkan pada tempat *holder* yang tersedia. Selanjutnya tutup kembali bagian

tersebut dan tekan tombol EVAC/AIR untuk proses pemvakuman dan tunggu sampai lampu LED air berwarna biru dan tidak berkedip lagi. Kemudian diklik *icon software* SEM pada laptop dan diklik *icon start* untuk memulai proses observasi pada sampel. Setelah itu disimpan hasil observasi dan analisisnya dan diklik *stop* untuk menghentikan proses observasi sampel. Tekan tombol EVAC/AIR untuk memasukkan udara pada ruang spesimen. Lampu LED (yang berkedip dan berwarna kuning) untuk mengakhiri proses *vacum* sampel. Kemudian ditarik *handle* pada tempat sampel dan sampel dikeluarkan dari *camber*, kemudian dimatikan SEM dengan menekan tombol on/off dan dicabut kabel SEM dari sumber listrik.

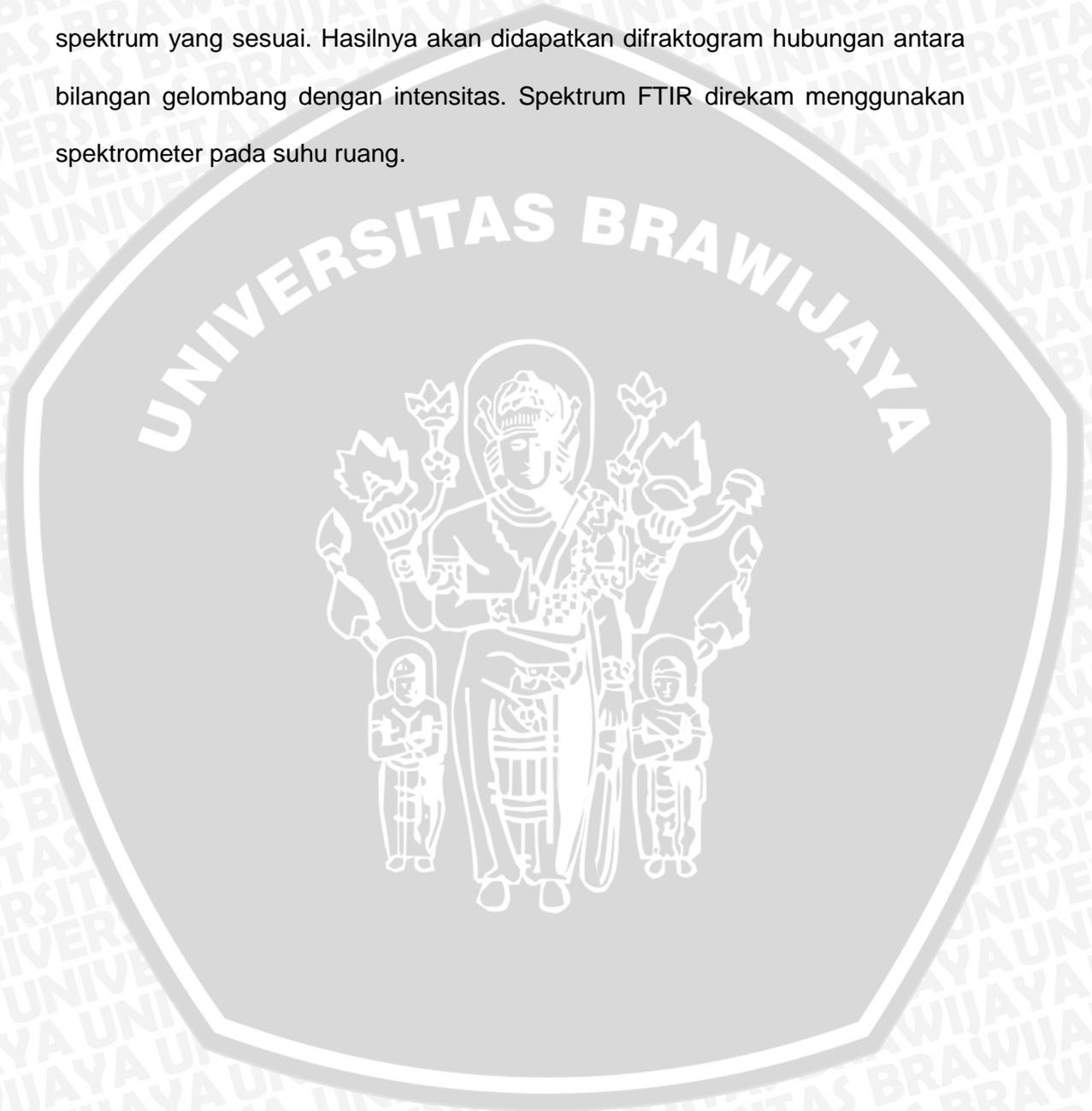
3.4.8 Pengujian FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) (Perez et al., 2015)

FTIR metode spektroskopi mungkin menjadi alternatif yang efektif untuk implementasi ASTM klasik karena pemanfaatannya memungkinkan pengembangan metodologi analisis yang cepat dan bersih, hanya perlu beberapa jumlah sampel dan tidak memerlukan penggunaan reagen ekstensif (Lee et al., 2009). Analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) menurut Perez et al (2015), dimana spektrum dalam *film* diperoleh dengan menggunakan FTIR spektrofotometer Shimadzu IR Prestige-21 dengan catatan atenuasi total reflektansi (ATR). Pengukuran tercatat pada kisaran pemindaian $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

Inti spektroskopi FTIR ialah interferometer Michelson, alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungannya. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel untuk fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah

yang dihasilkan kemudian diplot untuk intensitas fungsi energi bilangan gelombang (cm^{-1}) atau panjang gelombang (μm).

Analisa gugus fungsi dengan FTIR pada bahan-bahan *edible film* dilakukan dengan, sampel ditempatkan ke dalam *set holder*, kemudian dicari spektrum yang sesuai. Hasilnya akan didapatkan difraktogram hubungan antara bilangan gelombang dengan intensitas. Spektrum FTIR direkam menggunakan spektrometer pada suhu ruang.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bahan Baku

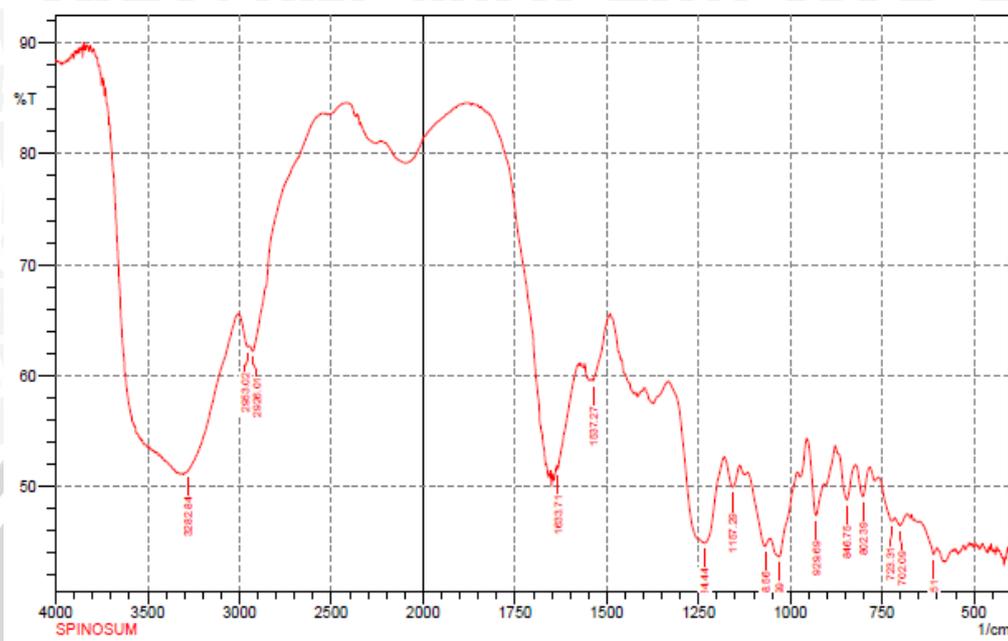
4.1.1 Rumput Laut

Bahan baku utama yang digunakan dalam pembuatan *edible film* ini adalah rumput laut jenis *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* yang berasal dari perairan daerah Madura, Jawa Timur. Umur panen rumput laut yang digunakan yaitu $\pm 40-45$ hari. Rumput laut tersebut digunakan sebagai bahan baku pada proses pembuatan *edible film* dalam bentuk sol. Pengolahan rumput laut menjadi produk kering dan produk basah siap olah dan siap makan masih sangat sedikit jumlahnya. Derivat rumput laut seperti karaginan dan alginat sudah banyak diteliti sifat mekaniknya sebagai bahan baku *edible film*. Namun, kemungkinan untuk membentuk *edible film* menggunakan kombinasi beberapa rumput laut tanpa diekstraksi belum pernah dilakukan. *Edible film* dengan bahan baku rumput laut ini akan membuat persiapan bahan lebih mudah dan murah, karena tidak perlu mengekstraksi karaginan maupun alginat terlebih dahulu (Siah *et al.*, 2015). Pembuatan *edible film* dengan sol rumput laut ini merupakan salah satu cara untuk mengolah produksi rumput laut yang melimpah dan penanganan pasca panen dengan teknologi pemanfaatan yang mudah pengaplikasiannya oleh nelayan. Hidrokoloid dapat diperoleh dari rumput laut dalam bentuk sol tanpa mengalami proses pengolahan yang rumit, murah, mudah dan kandungan nutrisinya tetap terjaga. Trowulan (2005), mengatakan bahwa sol rumput laut dan karaginan sama-sama mempunyai kemampuan dalam membentuk gel.

4.1.2 *Eucheuma spinosum*

Salah satu bahan baku pembuatan *edible film* yaitu *Eucheuma spinosum*. Jenis dari rumput laut *Eucheuma spinosum* telah melalui uji FTIR untuk

mengetahui gugus fungsional yang terkandung didalamnya. Hasil analisa uji FTIR untuk *Eucheuma spinosum* dapat dilihat pada **gambar 4**.



Gambar 4. Spektra IR dari *Eucheuma spinosum* menggunakan FTIR

Dari **gambar 4** menunjukkan bahwa hasil spektra infra merah dengan sampel *Eucheuma spinosum* pada bilangan gelombang 675-995 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-H) yaitu alkena. Pada bilangan gelombang 690-900 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-H) yaitu cincin aromatik. Pada gelombang 1050-1300 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karboksil (C-O) yaitu alkohol/ eter/ asam karboksilat/ ester yang biasanya muncul pada gelombang tersebut. Pada bilangan gelombang 1180-1360 cm^{-1} menunjukkan adanya (C-N) yaitu amida. Puncak bilangan gelombang 1300-1370 dan 1500-1570 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus NO_2 senyawa-senyawa nitro. Puncak bilangan gelombang 1340-1470 cm^{-1} dan 2850-2970 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-H) yaitu alkana yang biasanya muncul pada bilangan gelombang tersebut. Bilangan gelombang 1500-1600 cm^{-1} menunjukkan gugus (C=C) yaitu cincin aromatik. Bilangan gelombang 1610-1680 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C=C)

yaitu alkena. Puncak bilangan gelombang 3200-3600 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (O-H) yaitu alkohol dengan ikatan *hydrogen* atau fenol.

Tabel 5. Gugus fungsi spektrum infra merah pada *Eucheuma spinosum*

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
675-995	C-H alkena
690-900	C-H
1050-1300	C-O
1180-1360	C-N amida
1300-1370	NO_2
1340-1470	C-H alkana
1500-1600	C=C
1610-1680	C=C alkena
3200-3600	O-H alkohol

Gugus fungsi pada spektrum FTIR *Eucheuma spinosum* pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Diharmi *et al* (2011) yang dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Gugus Fungsi *Eucheuma spinosum* dibandingkan dengan Literatur

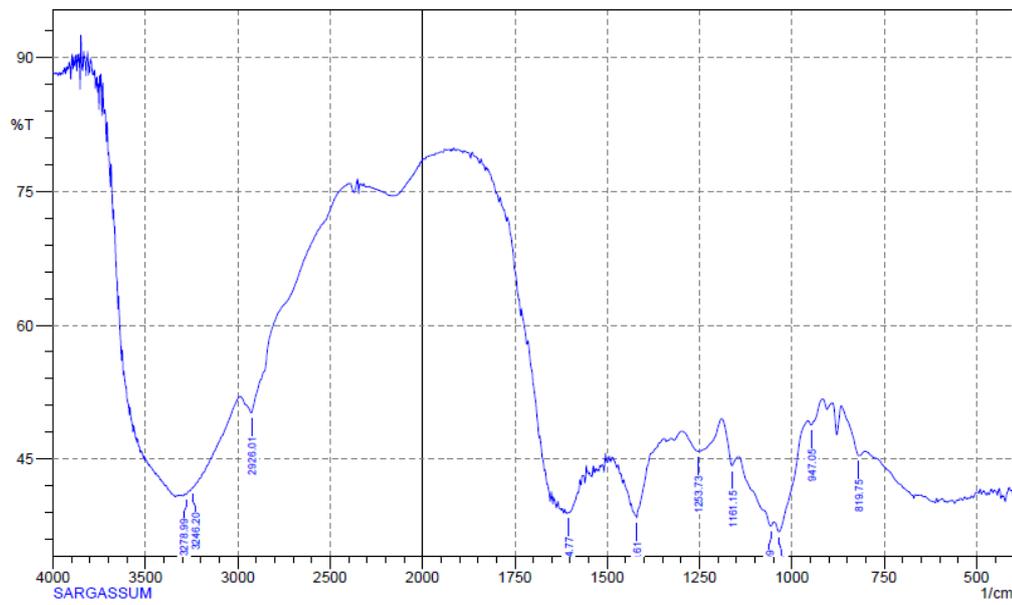
Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})*	Bilangan Gelombang (cm^{-1})**
C-O 3,6 anhidrogalaktoza	1050-1300	1070
O-H Alkohol ikatan <i>hydrogen</i> /fenol	3200-3600	3201,83

Keterangan : *) : *Eucheuma spinosum* hasil penelitian

**): Diharmi *et al* (2011)

4.1.3 *Sargassum cristaefolium*

Jenis rumput laut *Sargassum cristaefolium* juga melalui uji FTIR untuk mengetahui gugus fungsional yang terkandung didalamnya. Hasil dari analisa uji FTIR untuk rumput laut jenis *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada **gambar 5**.



Gambar 5. Spektra IR dari *Sargassum cristaefolium* menggunakan FTIR

Dari gambar 5. menunjukkan bahwa hasil spektra infra merah dengan sampel *Sargassum cristaefolium* pada bilangan gelombang 675-995 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-H) yaitu alkena. Pada bilangan gelombang 690-900 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-H) yaitu cincin aromatik. Pada bilangan gelombang 1050-1300 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-O) alkohol/ eter/ asam karboksilat/ ster. Pada bilangan gelombang 1180-1360 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-N) yaitu amina/amida. Pada bilangan gelombang 1340-1470 dan 2850-2970 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C-N) yaitu alkana. Pada bilangan gelombang 1500-1600 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (C=C) yaitu cincin aromatik. Pada bilangan gelombang 3200-3600 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus (O-H) yaitu alkohol ikatan *hydrogen* fenol.

Tabel 7. Gugus fungsi spektrum infra merah pada *Sargassum cristaefolium*.

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
675-995	C-H alkena
690-900	C-H
1050-1300	C-O
1180-1360	C-N amida
1340-1470	C-H alkana
1500-1600	C=C
3200-3600	O-H alkohol

Gugus fungsi pada spektrum FTIR *Sargassum cristaefolium* pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kannan (2014) yang dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8 Gugus Fungsi *Sargassum cristaefolium* dibandingkan dengan Literatur

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)*	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹ **
C-H cincin aromatik	690-900	877
C=C cincin aromatik	1500-1600	1558
O-H	3200-3600	3371

Keterangan : *) : *Sargassum cristaefolium* hasil penelitian
 **): Kannan (2014)

4.1.4 *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*

FTIR yang telah dianalisa pada masing-masing bahan selanjutnya dianalisa gugus fungsi antara kedua bahannya. Hasil FTIR antara *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* menunjukkan adanya gugus fungsi yang sama. Gugus fungsi tersebut dapat dilihat pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Gugus Fungsi pada *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*

Bilangan Gelombang <i>Eucheuma spinosum</i>	Bilangan Gelombang <i>Sargassum cristaefolium</i>	Gugus Fungsi
1157	1161	C-O alkohol /eter /asam karboksilat/ eter
1234,44	1253,73	C-O alkohol /eter /asam karboksilat/ eter
2926,01	2926,01	C-H alkana
3282	3278	O-H Alkohol ikatan <i>hydrogen</i> /fenol

Dari tabel 9. menunjukkan bahwa adanya gugus fungsi yang sama. Gugus C-O pada *Eucheuma spinosum* ditunjukkan dengan bilangan gelombang 1157 dan 1234,44 sedangkan pada *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan dengan bilangan gelombang 1161 dan 1253,73. Gugus C-H pada *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan dengan bilangan gelombang 2926,01. Gugus O-H pada *Eucheuma spinosum* ditunjukkan dengan bilangan gelombang 3282 sedangkan pada *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan dengan bilangan gelombang 3278. Hasil analisa tersebut menyatakan bahwa ada kemungkinan interaksi antara *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* yang terjadi pada gugus fungsi yang sama.

4.2 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui komposisi perbandingan terbaik pada pembuatan *edible film* konsentrasi antara *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang selanjutnya akan digunakan pada penelitian utama. Berdasarkan hasil analisis ANOVA kemudian dilakukan analisis uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) diperoleh perbandingan konsentrasi yang tepat. Hasil setiap uji kualitas *edible film* dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Elongation (%)	Tensile Strength (MPa)	Ketebalan (μm)	Transmisi Uap Air ($\text{g/m}^2\text{jam}$)	Kadar Air (%)
A1	7,35 \pm 0,20 ^c	3,36 \pm 0,19 ^c	95,22 \pm 0,62 ^d	60,17 \pm 0,45 ^c	28,23 \pm 0,57 ^d
A2	-	-	-	-	-
A3	4,77 \pm 0,24 ^b	4,82 \pm 1,24 ^b	89,94 \pm 0,69 ^c	40,10 \pm 0,20 ^a	26,96 \pm 0,61 ^c
A4	3,22 \pm 0,15 ^a	5,28 \pm 0,16 ^a	71,08 \pm 0,55 ^a	39,84 \pm 0,34 ^a	24,22 \pm 0,51 ^b
A5	7,16 \pm 0,19 ^c	5,21 \pm 0,11 ^c	84,92 \pm 0,66 ^b	55,47 \pm 0,42 ^b	22,97 \pm 0,66 ^a

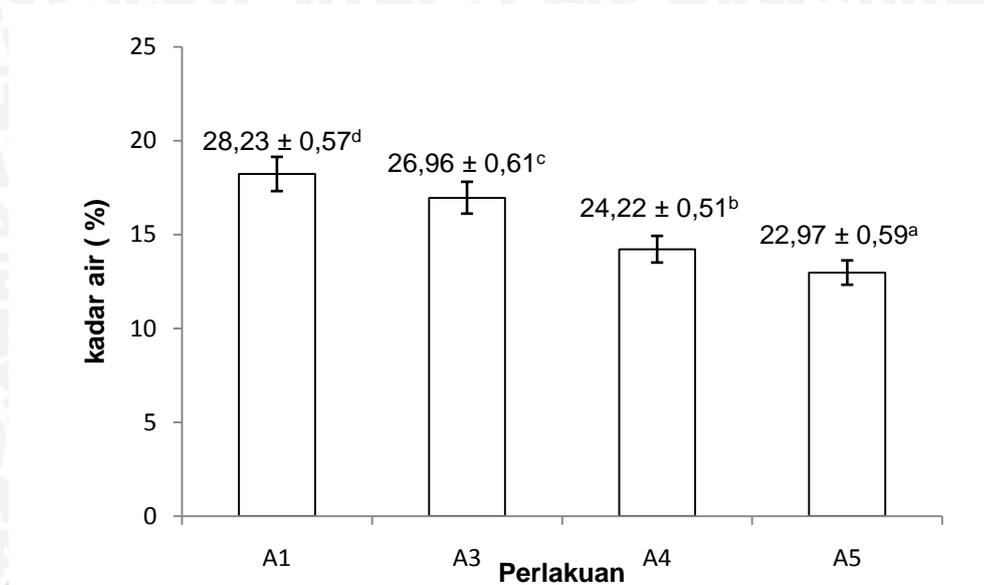
Keterangan: (a,b) huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan antara formulasi ($p < 0,05$).

(-) hasil tidak dapat diuji lanjut karena tidak dapat berbentuk film

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa perlakuan A5 dengan konsentrasi *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* 3:1 (1,5 gram *Eucheuma spinosum* : 0,5 gram *Sargassum cristaefolium*) digunakan sebagai acuan pada pelaksanaan penelitian utama.

4.2.1 Kadar Air

Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang berbeda terhadap nilai kadar air (Lampiran 11) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil uji transmisi uap air dapat dilihat pada **gambar 6**.



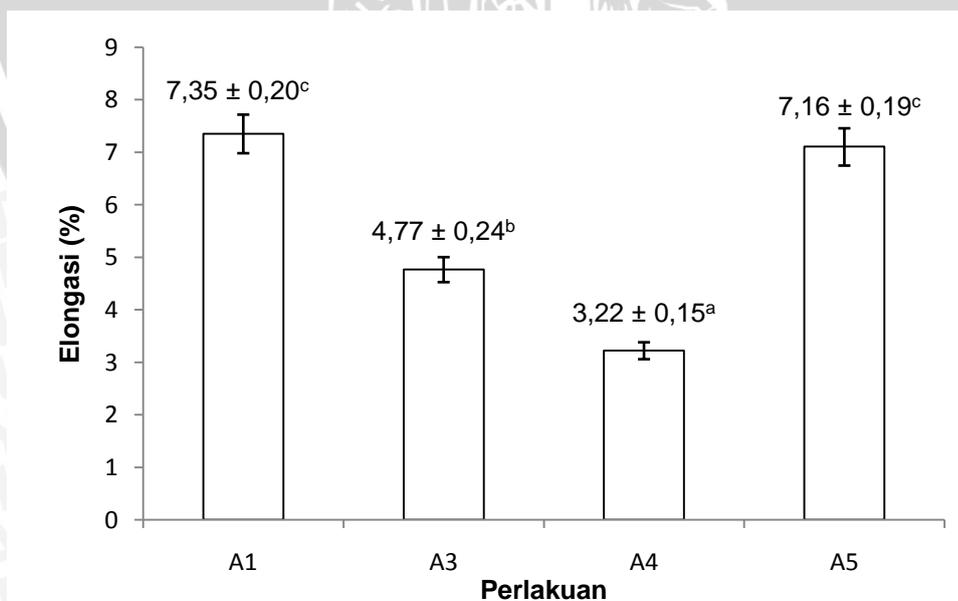
Gambar 6. Nilai kadar air pada penelitian pendahuluan

Gambar 6. menunjukkan nilai kadar air tertinggi sebesar 28,23 pada perlakuan A1 dengan konsentrasi *Euचेuma spinosum*:*Sargassum cristaefolium* yaitu 4:0 (2 gram *Euचेuma spinosum* : 0 gram *Sargassum cristaefolium*). Sedangkan nilai kadar air terendah sebesar 22,97 pada perlakuan A5 dengan perbandingan konsentrasi *Euचेuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 3:1 (1,5 gram *Euचेuma spinosum* : 0,5 gram *Sargassum cristaefolium*). Dari **gambar 6**, dapat disimpulkan bahwa perbandingan *Euचेuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan konsentrasi yang berbeda dapat berpengaruh terhadap nilai kadar air *edible film Euचेuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*. Dengan adanya penambahan *Sargassum cristaefolium* pada bahan pembuatan *edible film* diduga dapat memutuskan rantai *helix* karena adanya garam guluronat yang terdapat pada *Sargassum cristaefolium*. Hal ini sesuai dengan pendapat Paula *et al* (2015) yang menyatakan bahwa adanya garam akan mempengaruhi tingkat gelasi, karena garam tersebut akan merusak kumparan *helix* sehingga menurunkan kadar gelasi. Ditambahkan oleh Zailanie *et al* (2001), bahwa pada *Sargassum* sp. terdapat garam guluronat yang mana senyawa tersebut sifatnya dapat mengental. Hal ini mengakibatkan air

yang terdapat pada *edible film* akan terperangkap oleh gliserol sehingga akan meningkatkan nilai kadar air. Sudaryati *et al* (2010), mengatakan bahwa gliserol merupakan jenis *plasticizer* yang bersifat hidrofilik sehingga mempunyai kemampuan mengikat air. Keberadaan adanya gugus hidrofilik dalam matriks *edible film* menyebabkan air terikat sehingga kadar air akan cenderung tinggi. Perlakuan A5 digunakan sebagai dasar perbandingan bahan pada penelitian utama karena memiliki nilai kadar air yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Winarno, 1997).

4.2.2 Elongasi (Pemanjangan)

Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang berbeda terhadap nilai elongasi (Lampiran 12) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil uji elongasi (pemanjangan) dapat dilihat pada **gambar 7**.

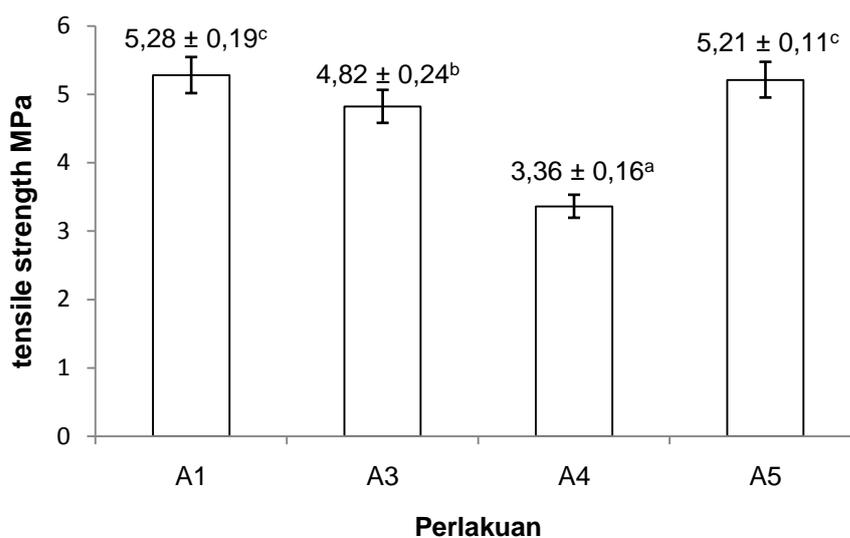


Gambar 7. Hasil elongasi *edible film* pada penelitian pendahuluan

Gambar 7. menunjukkan hasil elongasi *edible film* tertinggi yaitu sebesar 7,35 pada perlakuan A1 dengan perbandingan konsentrasi *Eucheuma spinosum*:*Sargassum cristaefolium* yaitu 4:0 (2 gram *Eucheuma spinosum* : 0 gram *Sargassum cristaefolium*). Sedangkan hasil elongasi *edible film* terendah yaitu sebesar 3,22 pada perlakuan A4 dengan perbandingan konsentrasi *Eucheuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 1:3 (0,5 gram *Eucheuma spinosum* : 1 gram *Sargassum cristaefolium*). Berdasarkan hasil yang diperoleh, disimpulkan bahwa perbandingan konsentrasi dari *Eucheuma spinosum* dan *sargassum cristaefolium* dapat mempengaruhi hasil elongasi dari *edible film*. Elongasi yang tinggi didapat karena adanya struktur rantai heliks yang kompak pada *Eucheuma spinosum* sebelum ditambahkan oleh *Sargassum cristaefolium*, hal ini diduga karena adanya garam guluronat yang terdapat pada *Sargassum cristaefolium* yang mampu memecah rantai *helix*. Hal ini sesuai dengan pendapat Paula *et al* (2015) yang menyatakan bahwa adanya garam akan mempengaruhi tingkat gelasi, karena garam tersebut akan merusak kumparan *helix* sehingga menurunkan kadar gelasi. Perbandingan konsentrasi pada perlakuan A5 digunakan sebagai dasar pada penelitian utama, karena memiliki nilai elongasi yang cukup tinggi ketika kedua bahan di campurkan. Yulianti dan Ginting (2012), mengatakan bahwa semakin besar nilai pemanjangan, maka semakin baik *edible film* karena lebih elastis dan tidak mudah sobek.

4.2.3 Kuat Tarik (*Tensile Strength*)

Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang berbeda terhadap nilai kuat tarik (Lampiran 13) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil uji kuat tarik (*tensile strength*) dapat dilihat pada **gambar 8**.



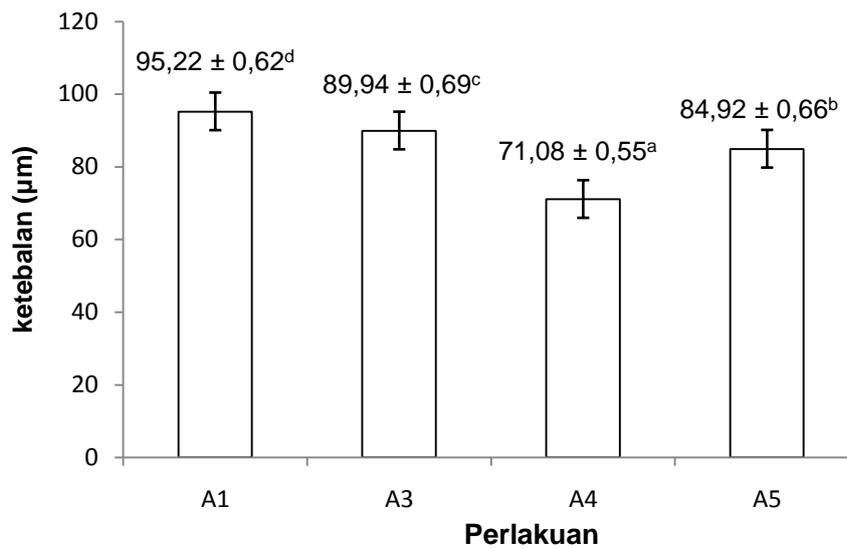
Gambar 8. Hasil kuat tarik *edible film* pada penelitian pendahuluan

Gambar 8. menunjukkan hasil dari uji *tensile strength edible film* hasil tertinggi yaitu sebesar 5,28 MPa pada perlakuan A4 dengan perbandingan konsentrasi *Eucheuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 1:3 (0,5 gram *Eucheuma spinosum* : 1,5 gram *Sargassum cristaefolium*). Sedangkan hasil terendah untuk uji *tensile strength* yaitu sebesar 3,36 Mpa pada perlakuan A1 dengan perbandingan konsentrasi *Eucheuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 1:3 (2 gram *Eucheuma spinosum* : 0 gram *Sargassum cristaefolium*). Berdasarkan hasil yang didapat, maka disimpulkan bahwa perbandingan konsentrasi dari *Eucheuma spinosum* dan *sargassum cristaefolium* dapat mempengaruhi hasil dari *tensile strength edible film*. Semakin tinggi konsentrasi kandungan *Sargassum cristaefolium* maka semakin tinggi nilai dari *tensile strength*. Hal ini diduga karena pemecahan rantai *helix* oleh garam yang dimiliki oleh *Sargassum cristaefolium* memicu penarikan partikel-partikel air kedalam matrik *edble film*, selain itu juga terdapat gliserol yang bersifat hidrofilik, tidak hanya secara langsung berinteraksi dengan kelompok polimer tetapi juga membuat jarak spasial antara rantai polimer, sehingga kuat tarik semakin menurun. Hal ini sesuai dengan Paula *et al* (2015) yang menyatakan bahwa

adanya garam akan mempengaruhi tingkat gelasi, karena garam tersebut akan merusak kumparan *helix* sehingga menurunkan kadar gelasi. Ditambahkan oleh Santacruz *et al* (2015) mengatakan bahwa efektivitas dari gliserol untuk mengurangi kekuatan tarik karena konsentrasi kelompok hidroksil pada konsentrasi yang sama dengan sifat hidrofilik, sehingga meningkatkan jarak spasia; antara rantai polimer dan sebagai hasilnya kekuatan tarik menurun. Kekuatan tarik berbanding terbalik dengan ketebalan *edible film* yang dihasilkan. Kekuatan tarik menurun dengan meningkatnya ketebalan *edible film*. Ketebalan film berbanding lurus dengan pemanjangan saat pemutusan *edible film*. Pemanjangan pada saat putus yang dihasilkan semakin meningkat dengan meningkatnya ketebalan. Semakin bertambahnya ketebalan *edible film* yang dihasilkan akan meningkatkan pemanjangan pada saat putus (Sinaga *et al.*, 2013).

4.2.4 Ketebalan (*Thickness*)

Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang berbeda terhadap nilai ketebalan (Lampiran 14) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil uji ketebalan (*thickness*) dapat dilihat pada **gambar 9**.

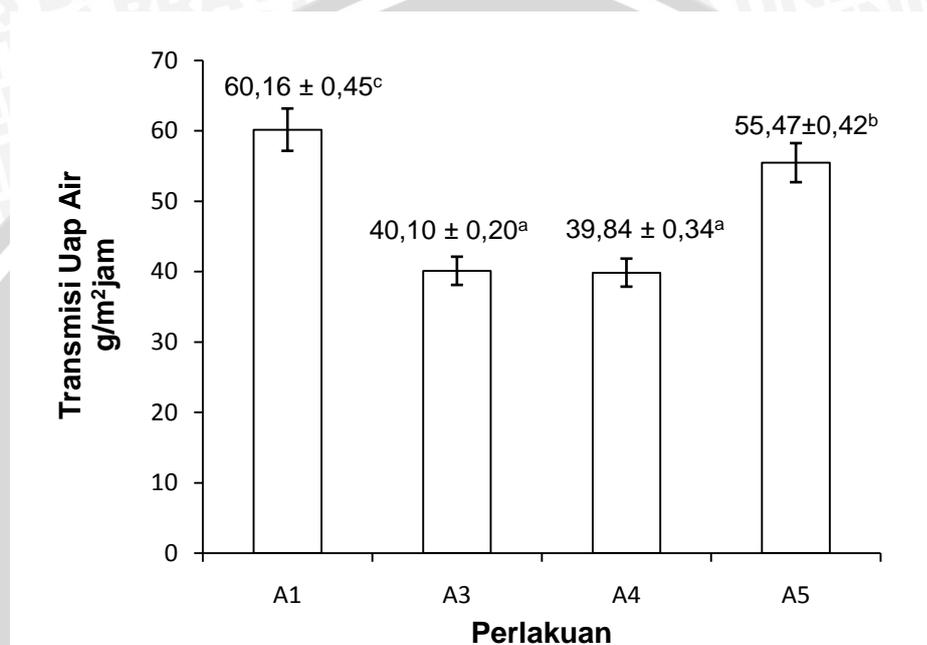


Gambar 9. Hasil ketebalan edible film pada penelitian pendahuluan

Gambar 9. menunjukkan hasil dari uji ketebalan edible film tertinggi yaitu sebesar 95,22 pada perlakuan A1 dengan perbandingan konsentrasi *Euचेuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 4:0 (2 gram *Euचेuma spinosum* : 0 gram *Sargassum cristaefolium*). Sedangkan hasil terendah untuk uji ketebalan yaitu sebesar 71,08 pada perlakuan A4 dengan perbandingan konsentrasi *Euचेuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 1:3 (0,5 gram *Euचेuma spinosum* : 1 gram *Sargassum cristaefolium*). Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa perbandingan konsentrasi *Euचेuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yang berbeda dapat mempengaruhi hasil dari ketebalan edible film. Semakin rendah konsentrasi *Sargassum cristaefolium* maka semakin rendah pula ketebalan edible film. Namun data tersebut masih masuk kedalam standar ketebalan edible film pada pengujian yang dilakukan Pascall dan Lin (2013) yaitu sebesar 50-250 µm. Ketebalan yang berbeda diduga dipengaruhi oleh plat pencetak yang tidak seragam dan luas penampang cetakan yang tidak seragam pula.

4.2.5 Transmisi Uap Air

Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi *Eucheuma spinosum* dengan *Sargassum cristaefolium* yang berbeda terhadap nilai transmisi uap air (Lampiran 15) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil uji transmisi uap air dapat dilihat pada **gambar 10**.



Gambar 10. Hasil Laju transmisi uap air *edible film* pada penelitian pendahuluan

Gambar 10. menunjukkan nilai transmisi uap air tertinggi sebesar 60,16 pada perlakuan A1 dengan konsentrasi *Eucheuma spinosum*:*Sargassum cristaefolium* yaitu 4:0 (2 gram *Eucheuma spinosum* : 0 gram *Sargassum cristaefolium*). Sedangkan nilai transmisi uap air terendah sebesar 39,84 pada perlakuan A4 dengan perbandingan konsentrasi *Eucheuma spinosum* : *Sargassum cristaefolium* yaitu 1:3 (0,5 gram *Eucheuma spinosum* : 1,5 gram *Sargassum cristaefolium*). Dari gambar 10, dapat disimpulkan bahwa perbandingan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan konsentrasi yang berbeda dapat berpengaruh terhadap nilai transmisi uap air *edible film*. Hasil tertinggi didapat oleh *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum*

dengan konsentrasi 100%. Dengan penambahan konsentrasi *Sargassum cristaefolium* dapat mempengaruhi penurunan hasil dari parameter transmisi uap air. Namun berdasarkan standar yang dikeluarkan oleh JIS (1975), mengatakan maksimal ketebalan *edible film* adalah 10. Dengan ini hasil yang didapat masih jauh dari standar yang dikeluarkan oleh JIS (*Japanese Industrial Standart*). Hal ini diduga karena jumlah *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* yang ditambahkan akan memperluas daerah matriks *edible film* yang mengakibatkan laju transmisi uap air akan meningkat. Handito (2011), menyebutkan bahwa semakin banyak jumlah material bahan yang ditambahkan bersifat hidrofilik dalam matriks *film*, maka akan memperluas daerah permukaan *film* yang dapat digunakan untuk *transfer* uap air sehingga laju transmisi uap airnya menjadi tinggi.

4.3 Penelitian Utama

Penelitian utama bertujuan untuk membandingkan pengaruh pemberian probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kualitas yang dihasilkan *edible film*. Berdasarkan hasil ANOVA dan uji lanjut Lanjut Duncan dengan menggunakan aplikasi SPSS 16.0. hasil setiap uji kualitas *edible film* dapat dilihat pada **tabel 11**.

Tabel 11. Hasil uji kualitas *edible film* dengan konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* yang berbeda.

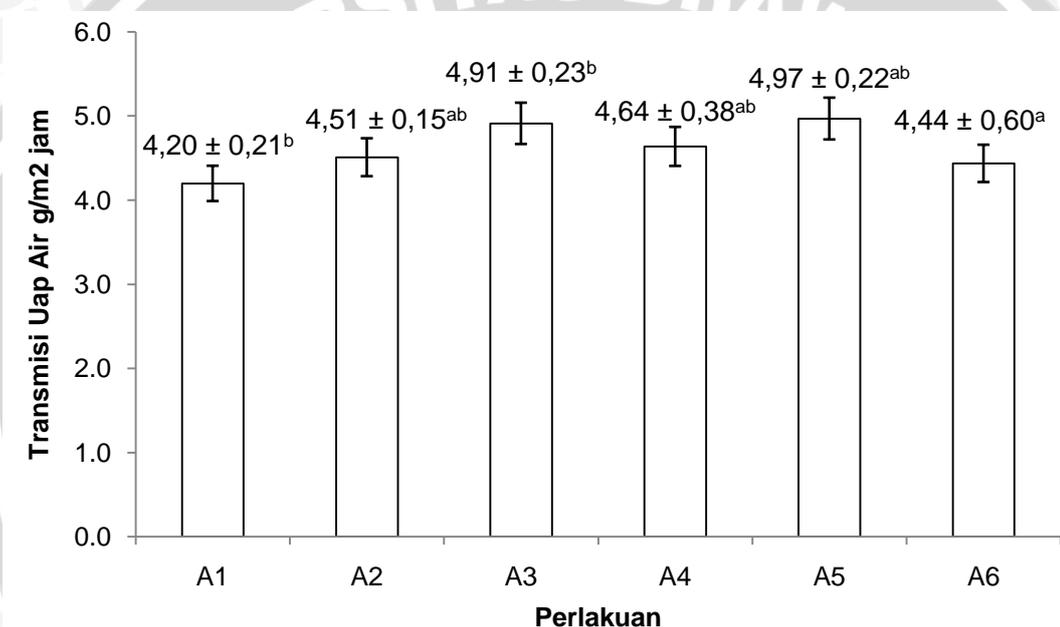
Perlakuan	Elongasi (%)	Kuat tarik (Mpa)	Ketebalan (μm)	Transmisi Uap Air ($\text{g}/\text{m}^2/\text{jam}$)	Kelarutan (%)	Viabilitas (%)	Kadar Air (%)
A1	8,05 \pm 0,89 ^c	1,40 \pm 0,53 ^c	83,51 \pm 1,02 ^a	4,97 \pm 0,21 ^b	57,98 \pm 0,70 ^d	8,23 \pm 0,20 ^b	13,70 \pm 0,44 ^a
A2	7,17 \pm 0,74 ^{bc}	1,30 \pm 0,59 ^{bc}	89,56 \pm 1,35 ^b	4,64 \pm 0,15 ^{ab}	53,89 \pm 0,76 ^b	8,17 \pm 0,48 ^a	15,00 \pm 0,40 ^b
A3	7,30 \pm 1,72 ^{bc}	1,03 \pm 0,19 ^{abc}	89,98 \pm 1,53 ^b	4,91 \pm 0,23 ^b	55,62 \pm 0,64 ^c	8,32 \pm 0,14 ^{ab}	15,78 \pm 0,41 ^c
A4	6,95 \pm 0,72 ^{bc}	0,98 \pm 0,14 ^{abc}	104,68 \pm 1,94 ^c	4,51 \pm 0,38 ^{ab}	52,57 \pm 1,12 ^{ab}	8,46 \pm 0,07 ^{bc}	18,19 \pm 0,33 ^d
A5	6,42 \pm 0,70 ^{ab}	0,76 \pm 0,24 ^{ab}	104,83 \pm 1,48 ^c	4,44 \pm 0,22 ^{ab}	52,23 \pm 1,10 ^a	8,54 \pm 0,09 ^c	18,66 \pm 0,45 ^d
A6	5,02 \pm 0,76 ^a	0,55 \pm 0,08 ^a	115,59 \pm 1,90 ^d	4,12 \pm 0,60 ^a	52,17 \pm 1,17 ^a	8,35 \pm 0,03 ^{ab}	20,96 \pm 0,36 ^e

Keterangan: huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan antara formulasi ($p < 0,05$).

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa hasil uji kadar air terbaik pada perlakuan A1 yaitu sebesar 13,702%. Hasil uji transmisi uap air terbaik ada pada perlakuan A6 yaitu sebesar 4,38g/m²/jam. Hasil uji ketebalan terbaik ada pada perlakuan A6 yaitu sebesar 115,59 μm . Hasil uji kuat tarik terbaik ada pada perlakuan A1 yaitu sebesar 1,33Mpa. Pada uji elongasi perlakuan terbaik ada pada perlakuan A1 yaitu sebesar 8,05% dan pada uji viabilitas terbaik pada perlakuan A5 sebesar 8,45Log cfu/g. Hasil uji kelarutan terbaik A1 yaitu sebesar 57,98%.

4.3.1 Transmisi Uap Air

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai transmisi uap air *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 17) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Penambahan konsentrasi probiotik juga memberikan interaksi yang nyata pada tiap perlakuan ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap transmisi uap air *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Laju transmisi uap air *edible film* dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

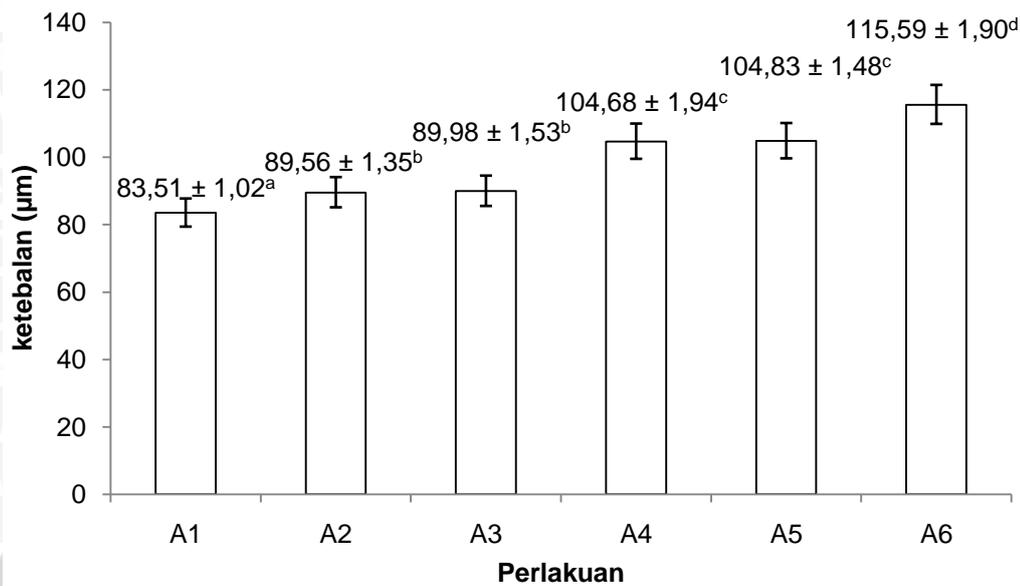
Gambar 11. menunjukkan nilai dari laju transmisi uap air terbaik sebesar 4,12 g/m² jam pada perlakuan A6 dengan konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* 10%. Hasil analisis dengan penegasan pada grafik ini menjelaskan bahwa adanya pengaruh nyata penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap laju transmisi uap air *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium*. Hasil yang menurun ini diduga karena penambahan probiotik berpengaruh terhadap pembentukan matriks *edible film*. Kanmani dan

Lim (2013) mengatakan bahwa sel probiotik dapat mempengaruhi pembentukan sel polimer sebagai partikel yang putus. Ditambahkan oleh Soukoulis *et al.* (2016) mengatakan bahwa penggunaan gliserol juga mempengaruhi laju transmisi uap air pada *edible film* karena dapat menghambat kemampuan berinteraksi antara polimer hidrofilik yang ada pada bahan melalui ikatan hidrogen. Hasil yang didapat sudah masuk kedalam standart *edible film* yang dikeluarkan oleh JIS (*Japanese Industrial Standart*) (1975), yaitu maksimal 7 g/m²h. Park *et al* (2002), mengungkapkan bahwa semakin banyak matriks yang terkandung di dalamnya menyebabkan *film* semakin tebal dan menurunkan laju transmisi uap air.

Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa pelakuan perbedaan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* tidak saling berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan.

4.3.2 Ketebalan

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai ketebalan *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 18) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi probiotik yang berbeda juga memberikan interaksi yang berbeda tiap perlakuannya ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap ketebalan *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Uji ketebalan edible film dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

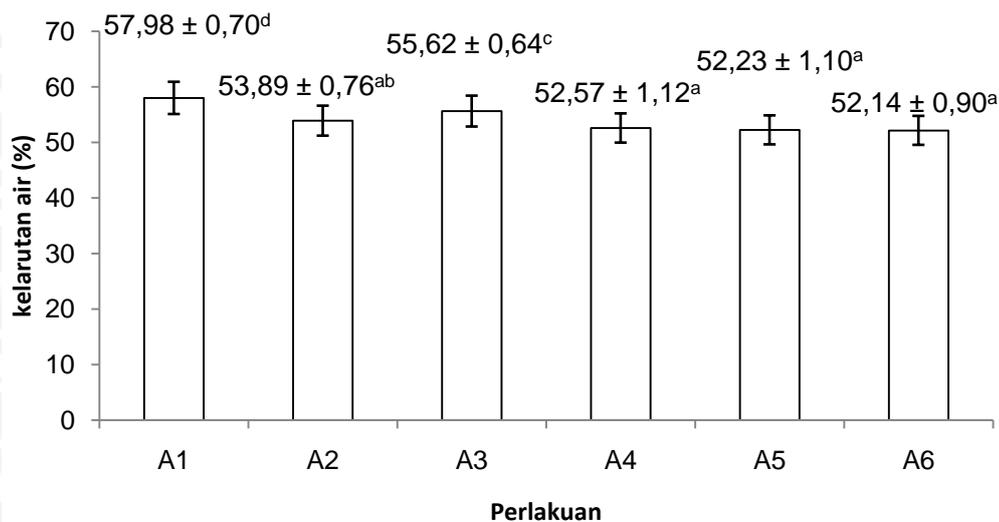
Gambar 12. menunjukkan hasil dari uji ketebalan terbaik sebesar 115,59µm pada perlakuan A6 dengan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 10%. Hasil analisis dari grafik diatas menunjukkan adanya beda nyata, maka dapat disimpulkan bahwa penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap ketebalan edible film. Semakin tebal edible film diduga karena semakin banyaknya komponen hidrofilik yang terdapat pada bahan, kemudian terdapat gliserol didalam bahan yang memiliki kemampuan mengikat air dan membantu mempertahankan air dalam matriks film. Hal ini sesuai dengan Santacrus *et al* (2015) dimana karena penggunaan gliserol dibandingkan dengan glukosa lain sebagai *plasticizer* meningkatkan ketebalan matriks film karena gliserol bersifat hidrofilik yang dapat membantu mempertahankan air di dalam matriks. Ketebalan akan mempengaruhi permeabilitas dari edible film, semakin besar nilai ketebalan atau semakin tinggi nilai ketebalan maka akan semakin kecil nilai permeabilitas dan akan semakin baik melindungi bahan. Tamaela dan Lewerissa (2007),

mengungkapkan bahwa ketebalan merupakan parameter penting yang berpengaruh terhadap penggunaan *film* dalam pembentukan produk yang dikemasnya. Standar ketebalan *edible film* menurut JIS (1975), maksimal sebesar 250 μm .

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa tiap perlakuan memberikan pengaruh yang beda nyata. Namun ada beberapa perlakuan yang tidak beda nyata yaitu perlakuan A1 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, A2 dan A3 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan A4 dan A5 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan dan perlakuan A6 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan. Namun hasil konsisten mengalami kenaikan.

4.3.3 Kelarutan

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai kelarutan *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 19) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Perbedaan konsentrasi juga memberikan pengaruh yang beda nyata terhadap interaksi antara tiap perlakuannya ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap kelarutan *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Uji kelarutan *edible film* dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

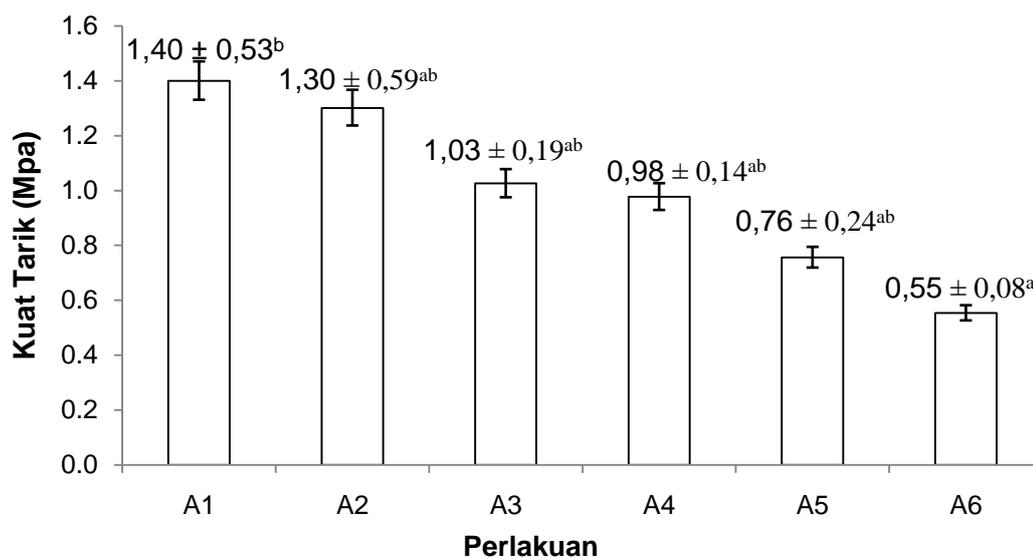
Gambar 13. menunjukkan hasil dari uji kelarutan terbaik sebesar 57,98% pada perlakuan A1 dengan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 5%. Dari grafik diatas menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata untuk uji kelarutan pada tiap perlakuannya. Hal ini diduga karena pengaruh banyaknya komponen matriks *film* yang bersifat hidrofilik dan terlebih terdapat gliserol dalam campuran bahan yang dapat mengurangi interaksi antara molekul biopolimer dan meningkatkan kalarutan karena sifat hidrofilik sehingga menghasilkan lebih banyak air terikat masuk kedalam matrik. Hal ini sesuai dengan Dick *et al* (2015) menyatakan bahwa gliserol dalam *film* dapat mengurangi interaksi antar molekul biopolimer dan meningkatkan kelarutan karena sifat hidroflik yang menghasilkan lebih banyak air tertarik masuk kedalam matriks polimer dan menciptakan daerah lebih luas dengan jarak-jarak rantai yang lebih besar. Semua hasil dari uji kelarutan masuk ke dalam standar *range edible film* oleh Dick *et al* (2015) yaitu berkisar antara 52-84%. Pelissari *et al* (2013) mengatakan bahwa kelarutan yang diinginkan tergantung pada orientasi pengaplikasiannya. Semakin tinggi kelarutan dapat berakibat baik maupun buruk,

jika terlalu larut akan mengurangi daya resisten terhadap air, namun jika kelarutan tinggi dapat menguntungkan dari segi pengaplikasian misalnya sebagai pembawa zat bioaktif, jika akan segera dikonsumsi dapat mencair, selain itu juga menguntungkan dari segi serat pangannya. Feris (2008), mengungkapkan bahwa uji kelarutan yang menentukan adalah sifat hidrofilik dari bahan dan didukung oleh proses pengadukan secara mekanis yang dapat mempercepat kelarutan film dalam air.

Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa perlakuan A1 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan A3 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, A4 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan A2 berpengaruh nyata namun memiliki kemiripan data dengan perlakuan A4, A5 dan A6, dan perlakuan A5 dan A6 memiliki kemiripan dan berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan.

4.3.4 Kuat Tarik

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai kuat tarik *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 20) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh nyata dan terdapat interaksi nyata pada tiap perlakuan ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap kuat tarik *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 14**.



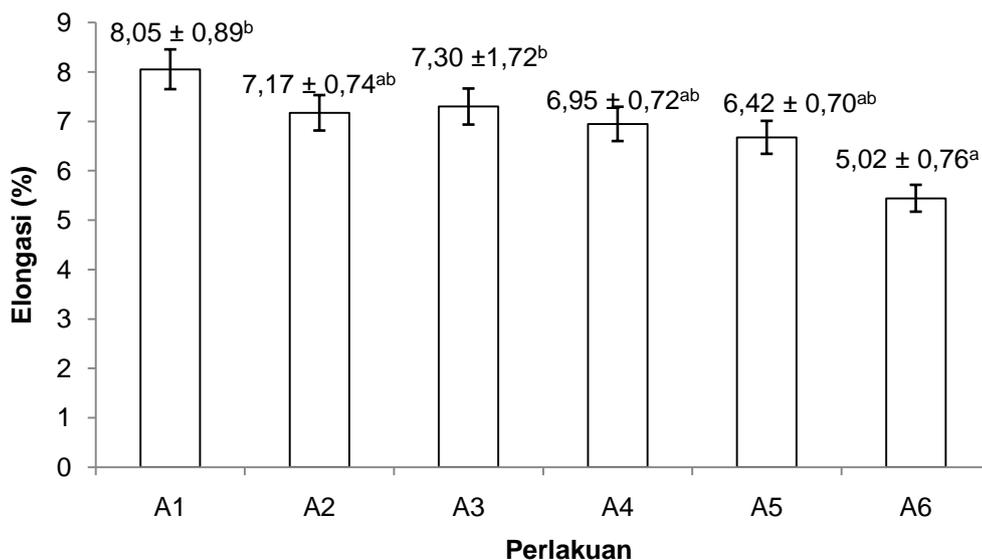
Gambar 14. Hasil kuat tarik *edible film* dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Gambar 14. menunjukkan hasil dari uji kuat tarik terbaik sebesar 1,40Mpa pada perlakuan A1 dengan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 5%. Hasil analisa kuat tarik tersebut menunjukkan perbedaan sangat nyata, berkisar antara 0,55Mpa hingga 1,40Mpa. Dari hasil tersebut data signifikan menurun. Semakin banyak konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* yang ditambahkan akan menurunkan hasil dari kuat tarik. Hal ini diduga karena semakin banyak komponen yang bersifat hidrofilik dalam matrik *edible film* dimana dipicu dengan adanya penambahan gliserol didalamnya yang sifatnya dapat meningkatkan rantai polimer yang membuat *film* merenggang dan kurang fleksibel. Hal ini sesuai dengan Hassan dan Norziah (2011) yang mengatakan bahwa efek gliserol yang digunakan untuk mengatasi kerapuhan *film* yang dihasilkan dari gaya antar molekul tinggi dengan meningkatkan mobilitas rantai polimer yang membuat *film* merenggang dan kurang fleksibel. Hasil yang diperoleh sesuai dengan standart *edible film* yang dikeluarkan oleh JIS (*Japanese Industrial Standart*) (1975) yaitu minimal 0,05Mpa.

Secara keseluruhan dari uraian diatas, dapat disimpulkan bahwa semakin banyak konsentrasi yang ditambahkan maka semakin rendah kuat tarik yang dihasilkan. Berdasarkan hasil analisa uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa perlakuan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh beda nyata. Perlakuan A1 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan A2, A3, A4 dan A5 memiliki kemiripan data dan memberikan pengaruh beda nyata terhadap semua perlakuan, namun memiliki kemiripan data terhadap perlakuan A1 dan A6. Perlakuan A6 memiliki pengaruh nyata dengan semua perlakuan.

4.3.5 Elongasi

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai elongasi *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 21) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi probiotik yang ditambahkan memberikan interaksi yang berbeda nyata pada tiap perlakuan ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap elongasi *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Hasil elongasi *edible film* dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Gambar 15. menunjukkan hasil dari uji elongasi terbaik sebesar 8,05% pada perlakuan A1 dengan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 5%. Data grafik tersebut dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh nyata terhadap perbedaan hasil dari grafik tersebut. Namun nilai tersebut masih jauh dibandingkan dengan standar yang dikeluarkan oleh JIS (*Japanese Industrial Standart*) yaitu min 70%. Hasil yang didapatkan masih kurang dibandingkan dengan literatur, diduga karena bahan yang digunakan yaitu *Sargassum cristaefolium* yang memiliki asam alginat pada dinding-dinding selnya yang bersifat sukar larut dalam air, sehingga mengakibatkan nilai elongasi kurang jika dibandingkan literatur. Hal ini sesuai dengan Jayanudin *et al* (2014) menyebutkan bahwa alginat yang terdapat dalam rumput laut berbentuk asam alginat yang sulit larut dalam air. Pada proses ekstraksi, asam alginat diubah menjadi natrium alginat yang memiliki sifat dapat larut dalam air. Data tersebut cenderung menurun pada tiap perlakuan. Menurunnya nilai pemanjangan pada penelitian ini diduga karena penambahan probiotik yang dapat menurunkan sifat

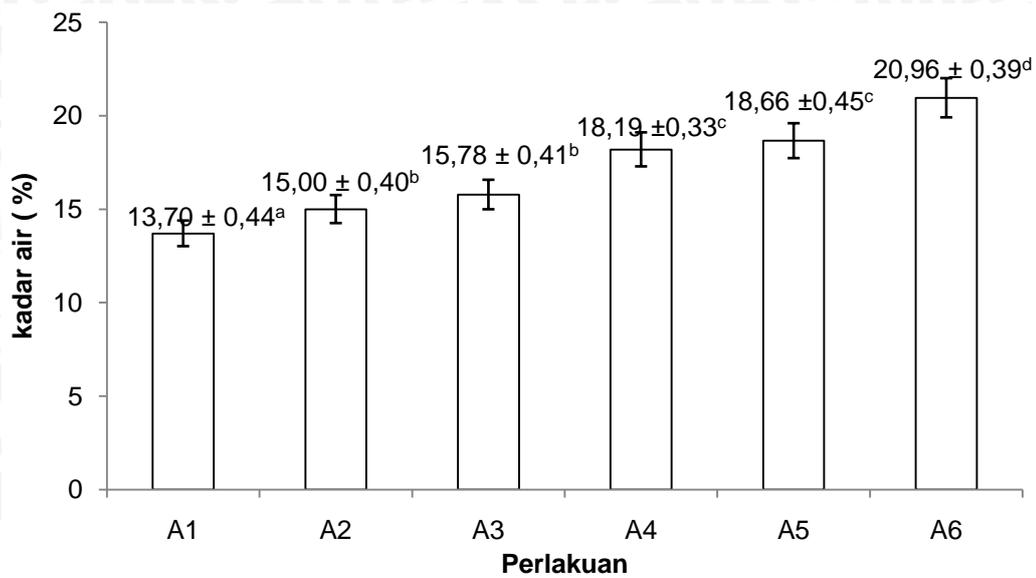
gelasi yang berpengaruh terhadap penurunan jumlah pembentukan polimer terhadap matriks film. Bauza *et al* (2015), bahwa penambahan kultur *Lactobacillus* sp. meningkatkan nilai perpanjangan yang lebih tinggi karena kultur berinteraksi dengan molekul hidrofilik yang menghasilkan pori-pori sehingga mengikat air tambahan pada *film*. Handito (2011), menyebutkan bahwa semakin tebal *edible film* maka akan menurunkan nilai perpanjangan.

Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi probiotik berbeda nyata. Perlakuan A1 dan A3 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan. Sedangkan perlakuan A2, A4, A5 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan namun memiliki kemiripan data dengan perlakuan A1, A3 dan A6. Perlakuan A6 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan.

4.3.6 Kadar Air

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap nilai kadar air *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sragassum cristaefolium* (Lampiran 16) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi probiotik juga memberikan pengaruh nyata dan ada interaksi nyata pada tiap perlakuan ($p < 0,05$). Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap kadar air *edible film* dapat dilihat pada

Gambar 16.



Gambar 16. Kadar air *edible film* dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Gambar 16. menunjukkan hasil dari uji kadar air terbaik ada pada perlakuan A1 yaitu 13,70% dengan konsentrasi penambahan bakteri probiotik sebesar 5%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi yang berbeda dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas kadar air *edible film*. Semakin tinggi konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus*, maka semakin tinggi pula kadar air yang dihasilkan. Dan sebaliknya, semakin rendah konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus*, maka kadar air *edible film* juga semakin rendah. Hal ini dikarenakan probiotik *Lactobacillus acidophilus* yang ditambahkan pada pembuatan *edible film* dalam bentuk cair. Tingginya nilai kadar air ini disebabkan karena konsentrasi probiotik yang semakin tinggi, hal ini diduga karena perbedaan konsentrasi probiotik akan menurunkan sifat gelasi, sehingga berpengaruh terhadap jumlah polimer dalam matriks pembentukan *edible film*. Hal ini didukung oleh Bauza *et al* (2015), bahwa penambahan kultur *Lactobacillus* sp. meningkatkan kadar air yang lebih tinggi karena kultur berinteraksi dengan molekul hidrofilik yang menghasilkan pori-pori sehingga

mengikat air tambahan pada *film* dan juga meningkatkan ketebalan pada *film*. Untuk seluruh perlakuan dengan hasil berkisar antara 13,70-20,96% sudah memenuhi standar pada penelitian Zaidar *et al* (2013), yaitu kadar air sebesar 39%. Hal ini dipengaruhi oleh pengeringan dalam suhu dan waktu yang lama pada waktu yang sama. Ditambahkan oleh Setiani *et al* (2013), faktor lain yang mempengaruhi yaitu kelembapan udara sekitar yang berkaitan dengan tempat penyimpanan bahan, sifat dan jenis bahan maupun perlakuan yang telah dialami oleh bahan tersebut.

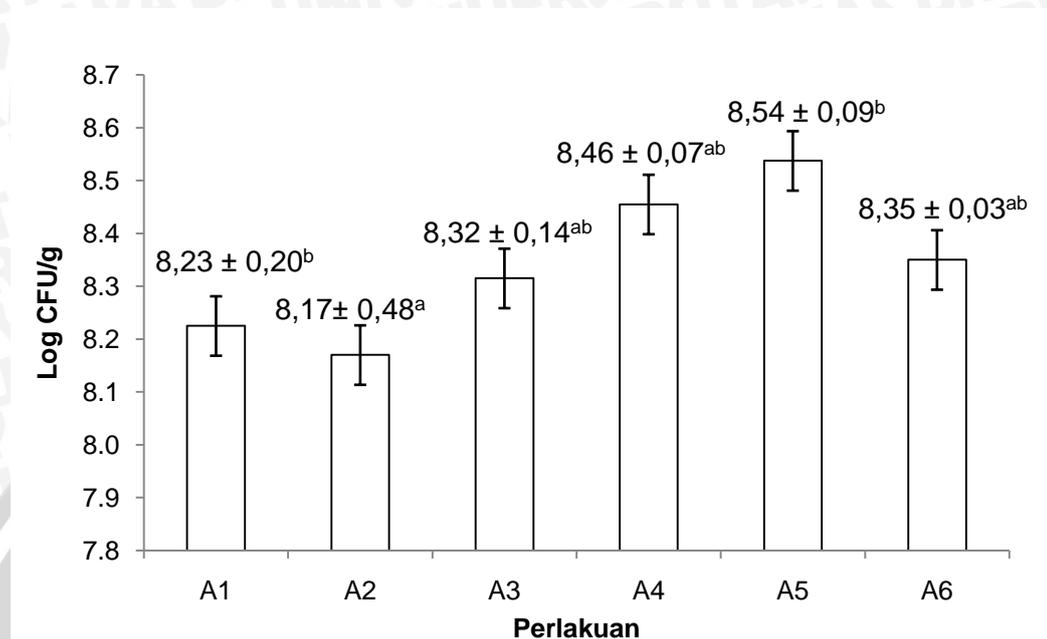
Kadar air erat hubungannya dengan sifat mekanik *edible film*. Molekul air diserap oleh rantai polimer dari *film* yang menghasilkan perubahan pada sifat mekanik seperti *tensile strength*, persen elongasi, dan *modulus young*. Semakin tinggi kandungan air pada *film* menjadikan bahan lebih lunak, dan mengakibatkan penurunan *tensile strength* dan *modulus young*, sementara persen elongasi mengalami kenaikan (Loredo *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil analisa uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa setiap perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh beda nyata yang signifikan. Hampir seluruh perlakuan berbeda nyata, namun tidak dengan perlakuan A4 dan A5 yang tidak berbeda nyata satu sama lain, karena memiliki notasi yang sama.

4.3.7 Total BAL (*Lactobacillus acidophilus*)

Analisis sidik ragam pengaruh penambahan konsentrasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap total BAL (*Lactobacillus acidophilus*) *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* (Lampiran 22) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi probiotik yang ditambahkan memberikan interaksi yang berbeda nyata pada tiap perlakuan ($p < 0,05$).

Pengaruh penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap total BAL *edible film* dapat dilihat pada **Gambar 17**.



Gambar 17. Total BAL (*Lactobacillus acidophilus*) dalam berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Gambar 17. menunjukkan bahwa hasil total BAL berkisar antara 8,17 Log cfu/g sampai 8,54 Log cfu/g. Berdasarkan penelitian Soukoulis *et al* (2014) bahwa Total BAL pada *edible film* sebesar 0,71-0,75 Log cfu/g, maka nilai hasil pada penelitian ini lebih tinggi dari standar yang ditetapkan oleh Soukoulis. Hal ini diduga karena penggunaan bahan yang digunakan bersifat higroskopis, sehingga dapat menjadi substrat bagi pertumbuhan *Lactobacillus achidophilus*. Hal ini sesuai dengan Wang *et al* (2006) melaporkan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat jenis *Bifidobacterium* dalam media yang terdapat *Sargassum* sp. lebih tinggi dibandingkan pada media yang diperkaya dengan prebiotik komersial. Ditambahkan oleh Setijawati *et al* (2012), yang menyatakan bahwa kekuatan gel yang semakin tinggi akan memberikan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* makin besar. Selain itu, hasil uji total BAL tinggi diduga karena

penggunaan suhu pengeringan yang optimum untuk pertumbuhan probiotik yaitu 45°C. Moir (2001), mengatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat yang tumbuh baik pada suhu mesofilik yaitu antara 20-45°C.

Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Duncan, maka dapat diindikasikan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi probiotik berbeda nyata. Perlakuan A1 dan A2 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan. Perlakuan A3, A4 dan A6 berpengaruh nyata dengan semua perlakuan namun memiliki kemiripan data dengan perlakuan A1, A2 dan A5. Perlakuan A5 berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan.

4.4 Perlakuan Terbaik Penelitian Utama

Pemilihan perlakuan terbaik pada kualitas *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi yang berbeda dilakukan dengan membandingkan nilai setiap perlakuan. Perlakuan dengan nilai tertinggi merupakan perlakuan terbaik ditentukan oleh beberapa parameter antara lain karakteristik kimia (kadar air), biologi (viabilitas), dan karakteristik fisika (elongasi, transmisi uap air, kuat tarik dan kelarutan). Perlakuan perbandingan bahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* ditambahkan konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* terhadap karakteristik *edible film* yang terpilih selanjutnya dibandingkan dengan standar *edible film* dari JIS (*Japane Industrial Standart*) (1975).

Perlakuan terpilih pada penelitian kualitas *edible film* dengan penambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda berbahan rumput laut segar *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* yaitu: uji kadar air diambil nilai terendah yaitu 13,70% pada perlakuan A1 dengan konsentrasi probiotik 5%. Uji transmisi uap air diambil nilai terendah sebesar 4,12 g/m²jam pada perlakuan A6 dengan konsentrasi penambahan 10%. Uji ketebalan diambil

nilai terendah yaitu 83,52 μ m yaitu perlakuan A1 dengan penambahan konsentrasi 5%. Uji kelarutan diambil nilai tertinggi sebesar 57,98% pada perlakuan A1 dengan penambahan konsentrasi probiotik sebesar 5%. Uji kuat tarik diambil nilai tertinggi sebesar 1,40Mpa pada perlakuan A1 dengan penambahan konsentrasi 5%. Uji elongasi diambil nilai tertinggi yaitu 8,05% pada perlakuan A1 dengan penambahan konsentrasi probiotik sebesar 5%. Uji total BAL (*Lactobacillus acidophilus*) diambil nilai tertinggi sebesar 8,54 Log CFU/g pada perlakuan A5 dengan konsentrasi penambahan 9%.

Berdasarkan hasil analisa terhadap karakteristik *edible film*, perlakuan yang cenderung memiliki nilai tiap uji lebih baik atau memenuhi nilai yang diharapkan yaitu pada perlakuan A1 dengan konsentrasi penambahan 5% (5mL). Dengan hasil nilai tiap uji dapat dilihat pada **Tabel 12**.

Tabel 12. Hasil pengujian *edible film* perlakuan terbaik dan standar *edible film*.

No	Parameter	<i>Edible film</i>	Standar <i>edible film</i>
1	Kadar air	13,70%	39%
2	Transmisi uap air	4,97 g/m ² h	Maks 7 g/m ² h*
3	Ketebalan	83,52 μ m	Maks 250 μ m*
4	Elongasi	8,05%	Min 70%*
5	Kuat tarik	1,40 MPa	Min 0.05 MPa*
6	Kelarutan	57,89%	52-84%***
7	Total BAL	8,23 log cfu/g	0,71-0,75 log cfu/g****

Keterangan :

* standar *edible film* dari JIS (*Japanes Industrial Standart*) (1975).

** hasil penelitian Zaidar *et al* (2013) pada Pembuatan *Edible Film* dari Campuran Tepung Rumput Laut (*Euchepeuma Sp*), dengan Gliserol dan Kitosan.

*** hasil penelitian Dick *et al* (2015) pada *Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerolconcentration on its physicochemical and mechanical properties*

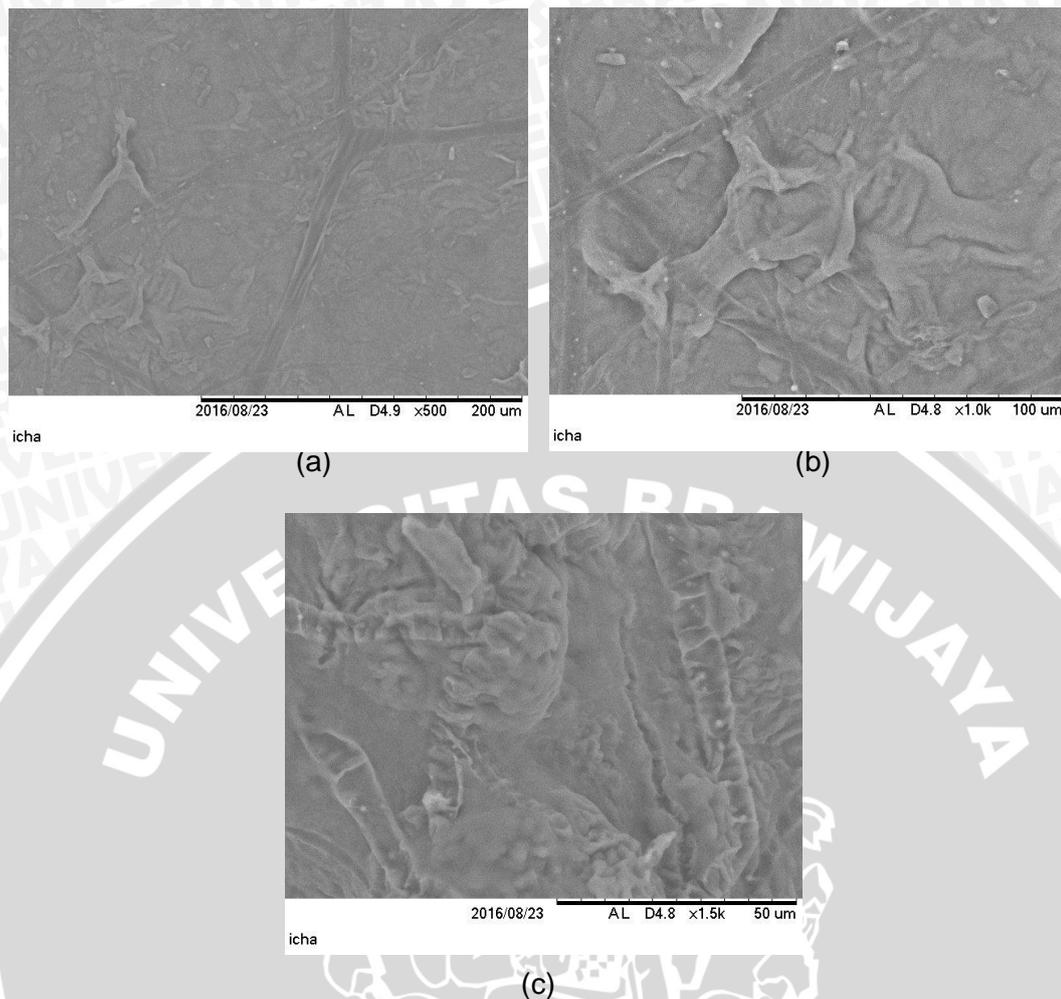
**** hasil penelitian Soukoulis *et al* (2014) pada *Stability of Lactobacillus rhamnosus GG in prebiotic edible films*.

Tabel 12. menunjukkan terdapat beberapa parameter dari *edible film* perlakuan terbaik yang memenuhi standar *edible film*, tetapi ada pula yang tidak memenuhi standar dari *edible film*.

4.5 Analisis Permukaan *Edible film* dengan SEM (*Scanning Electron Microscope*) dari Perlakuan Terpilih

Analisa SEM (*Scanning Electronic Microscope*) pada *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan berbagai konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* bertujuan untuk mengetahui mikrostruktur dari *edible film*. Menurut Zaidar *et al* (2013), uji SEM dilakukan untuk melihat kompatibilitas campuran bahan penyusun serta menunjukkan morfologi permukaan dari *film*. Hasil proses pembuatan *edible film* dilakukan dengan pengujian struktur dengan SEM karena analisis ini berfungsi untuk menentukan bentuk serta perubahan dari suatu bahan. Berdasarkan analisa uji SEM, diperoleh hasil mikrostruktur *edible film* yang ditunjukkan pada **Gambar 18**.

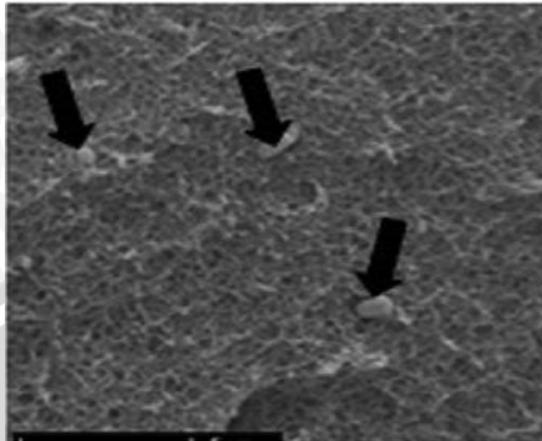




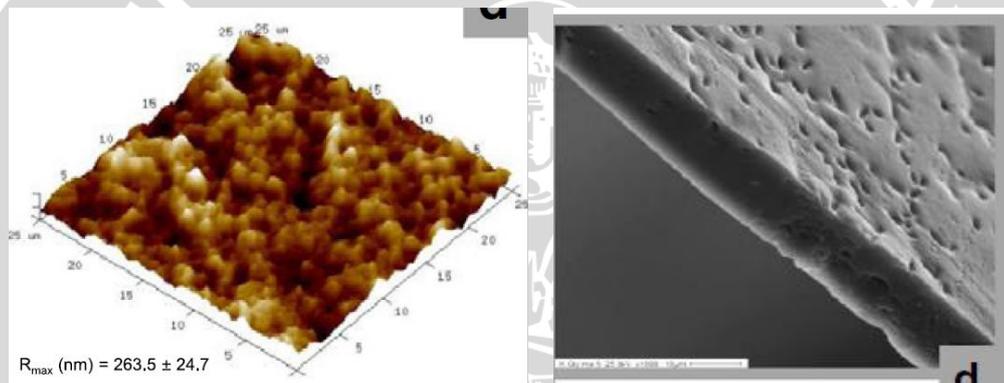
Gambar 18. Mikrostruktur *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Konsentrasi Probiotik *Lactobacillus acidophilus* 5% dengan perbesaran 500x (a), 1000x (b), dan 1500x (c).

Hasil analisis morfologi menunjukkan permukaan yang kasar, kurang rata dan sedikit berongga dan strukturnya kurang kompak, hal ini disebabkan karena penambahan *Sargassum* dan pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus* yang kurang homogen dan tidak terlarut dengan sempurna karena semua partikelnya yang masih besar. Struktur *edible film* yang tidak rapat dapat menyebabkan air yang terperangkap pada bahan semakin banyak dan menyebabkan nilai kadar air meningkat. Bentuk kasar pada *edible film* menurut Sutono dan Yudi (2013), disebabkan adanya peningkatan ikatan senyawa fenol

dengan protein melalui ikatan kovalen dan non-kovalen. Perbandingan *edible film* dengan literatur dapat dilihat pada gambar 19 dan 20



Gambar 19. Penampang *Edible Film Alginate* dengan penambahan *Lactobacillus paracasei* dengan Perbesaran 5.000X (Leonard *et al.*, 2014)



Gambar 20. Penampang *Edible Film* berbahan kefiran dengan penambahan bakteri asam laktat dengan Perbesaran 1.000X (Piermaria *et al.*, 2015)

Penelitian yang dilakukan Leonard *et al* (2014), menyatakan bahwa gel yang dihasilkan kurang padat dan bisa memfasilitasi pelepasan senyawa antimikroba, aktivitas mikroorganisme menunjukkan bahwa gel jaringan bukanlah faktor pembatas bagi pembebasan antimikroba agen. Analisis mikrostruktur yang dilakukan Piermaria *et al* (2015), menyatakan bahwa *film* kefiran relatif kurang kompak dan kurang seragam ketika mikroorganisme yang disertakan.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dengan konsentrasi berbeda pada *edible film* berbahan *Eucheuma spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* berpengaruh terhadap kualitas *edible film*. Penggunaan konsentrasi terbaik pada penelitian ini yaitu pada perlakuan A1 sebesar 5%. Hasil tiap uji dari perlakuan terbaik (A1) meliputi kadar air sebesar 13,70%, transmisi uap air sebesar 4,97g/m²h, ketebalan 83,52μm, elongasi sebesar 8,05%, kuat tarik sebesar 1,40Mpa, kelarutan sebesar 57,89%, dan total BAL sebesar 8,23 log cfu/g.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk pembuatan *edible film* dengan formulasi bahan lain, sehingga didapatkan *edible film* yang sesuai dengan standar yang ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsuhendra, R., dan Santoso, A. I. 2011. *Pengaruh Penggunaan Edible Coating terhadap Susut Bobot, Ph, dan Karakteristik Organoleptik Buah Potong pada Penyajian Hidangan Dessert*. Universitas Negeri Jakarta. Jakarta.
- Anggriani R., Iskandar dan Taufiqurrohman A. 2012. Efektivitas Penambahan Bacillus sp. Hasil Isolasi dari Saluran Pencernaan Ikan Patin pada Pakan Komersial Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(3): 75-83.
- Amaliya, R. R., dan Putri. 2014. Karakterisasi Edible Film dari Pati Jagung dengan Penambahan Filtrat Kunyit Putih sebagai Antibakteri. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3): 43-53.
- Antoniou, J., Fei L., Hamid, M., Haroon J., an Fang, Z. 2014. Physicochemical and Thermomechanical Characterization of Tara Gum Edible Films: Effect of Polyols as Plasticizers. *Carbohydrate polymers*. 111(2014): 359-365.
- AOAC. 1995. *Official Methods Of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Benjamin Franklin Station. Washington.
- Atmadja, W. S., Kadi, A., Sulistijo., Rahmaniari, S. 1996. *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Arifin, F., Nurhidayati, L., Syarmalina., dan Rensy. 2009. *Formulasi Edible Film Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Antihalitosis*. Kongres Ilmiah ISFI XVII: 1-12.
- Bauza, S. C., Beriztain, E., Mani-Lopez, E., Palou., dan Lopez-Malo, A. 2015. Antimicrobial Activity and Physical Properties of Protein Films Added with Cell-Free Supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Control*. 62(2015): 44-51.
- Bravin, B., Peressini, D., dan Sensidoni, A. 2006. Development and Application Of Polysaccharide-Lipid Edible Coating to Extend Shelf-Life of Dry Bakery Products. *Journal of Food Engineering*. 76(3): 280-290.
- Cardoso, S. M., Olivia, R. P., Ana M. L. S., Diana, C. G. A. P., dan Artur, M. S. S. 2015. Seaweeds as Preventive Agents for Cardiovascular Diseases: From Nutrients to Functional Foods. *Mar. Drugs*. 13(11): 6838-6865.
- Darmawan, M., Tazwir., dan Nurul, H. 2006. Pengaruh Perendaman Rumput Laut Coklat Segar dalam Berbagai Larutan terhadap Mutu Natrium Alginat. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 9(1): 26-38.

- Dick, M., Tania, M. H. C., Ahmed, G., Muriel, S., Alessandro, D. O. R., dan Simone, H. F. 2015. Edible Film Production from Chia Seed Mucilage: Effect of Glycerol Concentration on its Physicochemical and Mechanical Properties. *Journal Carbohydrate Polymers*. 130: 198-205.
- Diharmi, A., Dedi, F., Nuri, A., dan Endang, S. H. 2011. Karakteristik Karaginan Hasil Isolasi *Eucheuma spinosum* (Alga merah) dari Perairan Sumenep Madura. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 19(1): 117-124.
- Donhowe, I. G., dan fennema, O. 1994. *Edible Films and Coatings: Characteristics, Formation, Definitions, and Testing Methods*. Technomic Publish Co INC. USA.
- Embuscado, M. E., dan Huber, K. C. 2009. *Edible Films and Coatings for Food Applications Springer*. New York.
- Emmawati, A., Betty, S. L. S. J., Lilis, N., dan Dahrul, S. 2015. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi Sebagai Probiotik. *Agritech*. 35(2): 146-155.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi: Bogor.
- Farnani, Y. H., Cokrowati, N., dan Farida, N. 2013. Pengaruh Kedalaman Tanam Terhadap Pertumbuhan *Eucheuma spinosum* pada Budidaya dengan Metode Rawai. *Jurnal Kelautan*. 6(1): 75-86.
- Feris, F dan Chairil, A. 2008. *Potensi Limbah Padat Cair Industri Tepung Tapioka sebagai Bahan Baku Film Plastik Biodegradable*. Logika. Yogyakarta.
- Fu, N., dan Chen, X. D. 2011. Towards a Maximal Cell Survival in Convective Thermal Drying Process. *Food Research International*. 44(2011): 306-312.
- Galus, S dan Justyna, K. 2015. Food Applications of Emulsion-based Edible Films and Coating. *Journal Trends in Food Science and Technology*. 45(2015): 273-283
- Gunawan, B., dan Citra, D. A. 2014. Karakterisasi Spektrofotometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Etylen Glycol (PEG). *Jurnal Keteknik Kimia*. 1(2): 1-7.
- Handito, D. 2011. Pengaruh Konsentrasi Karagenan Terhadap Sifat Fisik dan Mekanik Edible Film. *Jurnal Agroteksos*. 21(2-3): 151-157.
- Hardiningsih, R., Napitupulu, R. N. R., dan Yulinery, T. 2006. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *Jurnal Biodiversitas*. 7(1): 15-17.
- Hardoko. 2008. Pengaruh Konsumsi Gel dan Larutan Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Terhadap Hiperkolesterolemia Darah Tikus Wistar. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 19(2): 97-104.

- Harmayani, E., Ngatirah, E., Rahayu S. dan Utami T. 2001. Ketahanan dan Total Plate Count Probiotik Bakteri Asam Laktat Selama Proses Pembuatan Kutru Kering dengan Metode Freeze dan Spray Drying. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 12(2): 126-133.
- Hassan, A. A. A., dan Norziah, M. H. 2012. Starch-Gelatin Edible Films: Water Vapor Permeability and Mechanical Properties as Affected by Plasticizers. *Food Hydrocolloids*. 26(2012): 106-117.
- Hassan, Z. H. 2006. Isolasi Lactobacillus Bakteri Asam Laktat dari Feces dan Organ Saluran Pencernaan Ayam. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 3(2006): 735-738.
- Herliany, N. E., Santoso, J., dan Salamah, E. 2013. Karakteristik Biofilm Berbahan Dasar Karaginan. *Jurnal Akuatika*. 4(1): 10-20.
- Hudha, M. I., Sepdwiyanti, R., dan Dian, S, S. 2012. Ekstraksi Karaginan dari Rumpun Laut (*Euclima spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*. 1(1): 17-20.
- Huri, D dan Nisa F. C. 2014. Pengaruh Konsentrasi Gliserol dan Ekstrak Ampas Kulit Apel Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Edible Film. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(2): 1-8.
- Indriani, H dan Sumiarsih, W. 1992. *Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumpun Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Japanese Industrial Standard. 1975. *Japanese Standards Association*: Japan.
- Jayanudin., Ayu, Z., dan Feni, N. 2014. Pengaruh Suhu Rasio Pelarut Ekstraksi terhadap Rendemen dan Viskositas Natrium Alginat dari Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum sp*). *Jurnal Integrasi Proses*. 5(1): 51-55.
- Kadi, A dan Atmadja W. S. 2008. *Rumpun Laut, Jenis, Reproduksi, Produksi, Budidaya dan Pasca Panen*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseologi. LIPI: Jakarta.
- Kafrani, E. T., Hajar, S., dan Mahdieh, M. B. 2016. Development of Edible Film and Coatings from Alginates and Carrageenans. *Journal Carbohydrate Polymers*. 137(2016): 360-374
- Kanmani, P. Dan Lim, S. T. 2013. Development and Characterization of Novel Probiotic Residing Pullulan Starch Edible Films. *Journal Food Chemistry*. 141 (2): 1041-1049.
- Kannan, S. 2014. FT-IR and EDS analysis of the Seaweed *Sargassum wightii* (brown algae) and *Gracilaria corticata* (red algae). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(4): 341-351.
- Kasim, S. 2013. Rendemen Karaginan Yang Diperoleh Dari Rumpun Laut Jenis *Euclima spinosum* Asal Kota Bau-Bau. *Majalah farmasi dan Farmakologi*, 17(1): 1-8.

- Kriswiyanto, E. A., dan Danarto Y. C. 2007. Model Kesetimbangan Adsorpsi Cr dengan Rumput Laut. *Ekullibrium*. 6(2): 47-52.
- Krochta J, M., dan Mulder J. 1997. *Edible Coating and Film to Improve Food Quality*. Technomic publishing co. INC. Lancaster.
- Kusumaningrum, I., Rini, B. H., dan Sri, H. 2007. Pengaruh Perasan *Sargassum cristaefolium* dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L) Merill). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 15(2): 17-23.
- Lacey, A. M. L. D., Caballero, M. E. L., Estaca, G. J., Guullen, M. C. G., dan Montero, P. 2012. Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* Incorporated to Edible Coating and Films. *Innovatine Food Science and Emerging Technologies*. 16(2012): 277-282.
- Lastriyanto, A., Bambang, D. A., Sumardi, H. S., Nur, K., La Choviiya, H., dan Mochamad, B. H. 2007. Penentuan Koefisien Permeabilitas Film Edible Terhadap Transmisi Uap Air, Gas O₂ dan Gas CO₂. *Jurnal Tekonologi Pertanian*. 8(3): 182-187.
- Lee, V. S., Panthip, T., Patrinee, T., Sukon, P., Piyarat, N., dan Jeerayut, C. 2009. FTIR and Chemometric Tools for the Classification of Thai Wines. *Maejo International Journal of Science and Technology*. 3(3): 446-456.
- Leonard, L., Olfa, B., Christine, A., Elodie, N., Aline, B., Adem, G., Pascal, D., Jeannine, L., Remi, S., dan Nadia, O. 2014. Preservation of Viability and Anti-Listeria Activity of Lactic Acid Bacteria, *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus paracasei*, Entrapped in Gelling Matrices of Alginate or Alginate/Caseinate. *Food Control*. 47(2015): 7-19.
- Listiyana, D. 2014. Substitusi Tepung Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) pada Pembuatan Ekado Sebagai Alternatif Makanan Tinggi Yodium Pada Anak Sekolah. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang.
- Lopez, M. A., Saul R. C., Norma P. S. B., Jose de J. O., Paul B. Z. F., dan Silvia E. B. 2013. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. *Molecules*. 18(11): 13735-13753.
- Loredo, R. Y. A., Adriana, I., Eduardo, M., Carlos, A. G., Gonzalo, V. 2015. Effect of Equilibrium Moisture Content on Barrier, Mechanical and Thermal Properties of Chitosan Films. *Journal of Food Chemistry*. 196(2016): 560-566.
- Manin, F. 2010. Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari Saluran Pencernaan Ayam Buras Asal Lahan Gambut sebagai Sumber Probiotik. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 8(5): 221-228.
- Maryana, D. 2014. Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Jumlah Bakteri dan Keasaman Whey Fermentasi dengan Menggunakan Kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Hassanuddin. Makassar.

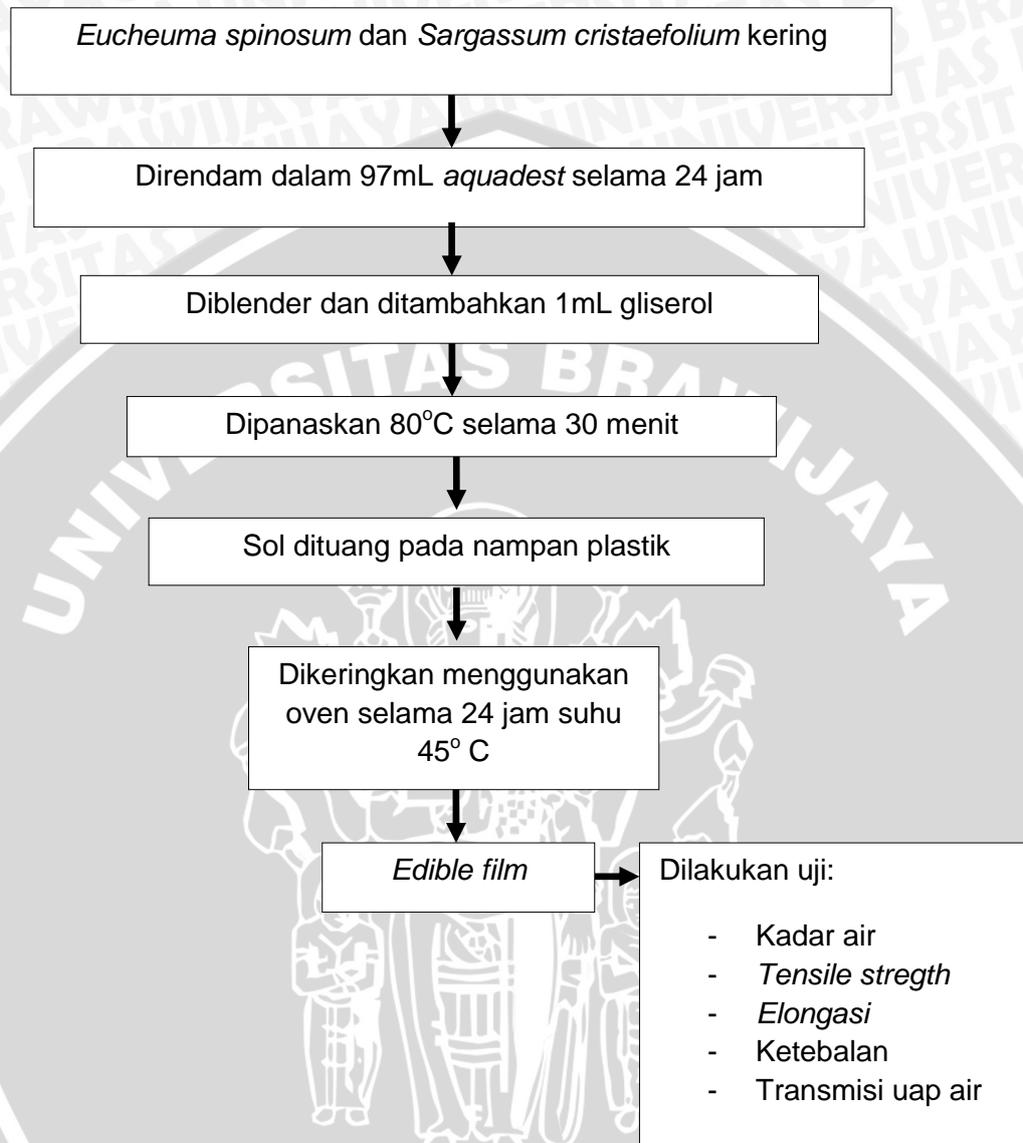
- McHugh. 2003. *A Guide To The Seaweed Industry*. FAO Fisheries Technical Paper: Australia.
- Moir, C. J. 2001. *Spoilage of Processed Foods: Causes and Diagnoses*. AIFST Inc. (NSW Branch): Australia. P: 341-347.
- Murdinah, D., Muhamad, F., dan Dina. 2007. Karakteristik Edible Film dari Komposit Alginat, Gluten dan Lilin Lebah (Beeswax). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2(1): 19-26.
- Mutmainah, H., Risco, B. G., Natsir, D., Zaraswati, D. 2013. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Probiotik dan Saluran Pencernaan Ayam Kampung *Gallus domesticus*. *Jurnal Sains*. 1(1): 1-9.
- Noland, E dan Aryana, K. J. 2012. Influence of Micro-Encapsulated Probiotic *Lactobacillus acidophilus* R0052 on The Characteristics of Plain Yogurt. *Advances in Microbiology*. 2(1): 364-367.
- Ouwehand, A.C., Tolkko, S., dan Salminen, S. 2001. The Effect of Digestive Enzymes on the Adhesion of Probiotic Bacteria In Vitro. *JFS: Food Microbiology and Safety*. 66(6): 856-860.
- Pamungkas, T. A., dan Sunaryo, A. R. 2013. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Kualitas Natrium Alginat Rumput Laut *Sargassum* .sp. *Journal Of Marine Research*. 2(3): 19-27.
- Pan, H., Jiang, B., Chen, J., dan Jin, Z. 2014. Blend-Modification of Soy Protein/Lauric Acid Edible Films Using Polysaccharides. *Food Chemistry*. 151(2014): 1-6.
- Pascall, M. A dan Lin, S. J. 2013. The Application of Edible Polymeric Films and Coating in The Food Industry. *Journal Food Process Techno*. 4(2): 1-2.
- Paula, G. A., Norma, M. B., Benevides, A. P., Cunha, A. V. D. O., Alaides, M. B. P., Joao, P. S. M., Henriette, M. C., dan Azeredo. 2014. Development and Characterization of Edible Film from Mixtures of k-carrageenan, i-carrageenan, and alginate. *Food Hydrocolloids*. 47(2014): 140-145.
- Pawignya, H., Dyah, T. R., Boan, T. V. H., dan Novie, V. 2015. Pembuatan Edible Film dari Karaginen Rumput Laut *Euचेuma cottoni* untuk Mengawetkan Buah Nanas. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Keunggulan" Yogyakarta*, 18 Maret 2015: B9-1– B9-7.
- Perez, L. M., Piccirilli, G. N., Delorenzi, N. H., dan Verdini, R. A. 2015. Effect of Different Combinations of Glycerol and/or Trehalose on Physical and Structural Properties of Whey Protein Concentrate-Based Edible Films. *Food Hydrocolloids*. 56(2015): 352-359.
- Piermaria, J., Diosma, G., Aquino, C., Garrote, G., dan Abraham, A. 2015. Edible Kefiran Films as for Probiotic Microorganisms. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 32(2015): 193-199.

- Prasetyowati., Corrine, J. A., dan Devy, A. 2008. Pembuatan Tepung Karaginan dari Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) berdasarkan Perbedaan Metode Pengendapan. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(15): 27-33.
- Putri, K. H. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum sp.*) sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rodriguez, M. Javier O, Khalid Z, Juan I. M. 2006. Combined Effect Of Plasticizers And Surfactants On The Physical Properties Of Starch Based Edible Films. *Food Research International Journal*. 39(8): 840-846.
- Rofikah., Winarni, P., dan Woro, S. 2014. Pemanfaatan Pektin Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn) untuk Pembuatan Edible Film. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 3(1): 17-21.
- Rosiana, A. D., Noor, E., Isnaeni, N. S. 2008. Pengaruh Asam-Asam Organik Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus casei* (Bakteri Asam Laktat). *Majalah Farmasi Airlangga*. 6(2): 53-56.
- Safitri, I. T., dan Purwadi. 2014. Karakteristik Sifat Fisis Fisiko-Mekanis Edible Film Komposit dengan Rasio Protein Whey dan Tepung Porang (*Amorphopallus oncophyllus*) yang berbeda. *Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University, Malang*.
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., dan Castro, M. 2015. Edible Films Based On Starch And Chitosan. Effect Of Starch Source And Concentration, Plasticizer, Surfactant's Hydrophobic Tail And Mechanical Treatment. *Journal of Food Hydrocolloids*. 49(2015): 89-94.
- Sastropuadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Bidang Pertanian*. Kanisius: Yogyakarta. 102.
- Setiani, W., Sudiarti, T., dan Rahmidar, L. 2013. Preparasi dan Karakteristik Edible Film dari Poliblend Pati Sukun-Kitosan. *Jurnal Velensi*. 3(2): 100-109.
- Setijawati, D., Wijana S., Aulaniam., dan Santoso, I. 2011. Viabilitas, dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *Eucheuma cottoni*. *Jurnal Teknologi Pangan*. 1(2): 1-7.
- Shah N,P. 2007. Fuctional Cultures and Health Benefits. *International Dairy Journal*. 17(11): 1262-1277.
- Siah, W. M., Aminah, A., dan Ishak, A. 2015. Edible films from seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *International Food Research Journal*. 22(6): 2230-2236.
- Sievert, D dan Pomeranz, Y. 1989. Enzyme Resistant Starch I. Characterisation and Evaluation by Enzymatic, Thermoanalytical, Microscopic Methods. *Cereal Chemistry*. 66(4): 342-347.

- Sinaga, L. L., Melisa, S. R dan Mersa, S. S. 2013. Karakteristik Edible Film dari Ekstrak Kacang Kedelai dengan Penambahan Tepung Tapioka dan Gliserol sebagai Bahan Pengemas Makanan. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 2(4): 12-16.
- SNI, 2002. *Film PVC untuk Kemasan Makanan*. Badan Standarisasi Nasional. Nomor 01-6682-2002.
- Soto, M., Vazquez, M. A., de Vega, A., Vilarino, J. M., Fernandez, G., de Vicente, M. E. S. 2015. Methane Potential and Anaerobic Treatment Feasibility of *Sargassum muticum*. *Bioresource Technology*. 189(2015): 53-61.
- Soukoulis, C., Solmaz, B. J., Lina, Y., Christopher, P., dan Ian, D. F. 2014. Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Prebiotic Edible Film. *Food Chemistry*. 159(2014): 302-308.
- Soukoulis, C., Poonam, S., William, M., Christopher, P., Ian, D. F. 2016. Compositional and Physicochemical Factors Governing the Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG Embedded in Starch Protein Based Edible Films. *Food Hydrocolloids*. 52(2016): 876-887.
- Standar Nasional Indonesia. 2006. *Cara Uji Mikrobiologi- Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. SNI 01-2323.3-2006.
- Staroszczyk, H., Katarzyna, S., Julia, W., Anna, W. P., dan Ilona, K. 2014. Interactions of Fish Gelatin and Chitosan in Uncrosslinked and Crosslinked with EDC Films: FT-IR Study. *Spectrochimia Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 177(2014): 707-712.
- Sudarmadji, S., Haryono, B dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Sudaryati, H. P., Mulyani, T. S., dan Hansyah, E. R. 2010. Sifat Fisik dan Mekanis Edible Film dari Tepung Porang (*Amorphopallus oncophyllus*) dan Karboksimetil Selulosa. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 11(3): 196-201.
- Suparmi dan A. Sahri. 2009. Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Sultan Agung*. 44(118): 95-116.
- Sutono, D dan Yudi, P. 2013. Ekstrak Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*) sebagai Cross Linking Agent pada Pembentukan Edible Film Gelatin Kulit Ikan Nila Hitam (*Oreochromis mossambicus*). *Agritech*. 33(2): 168-175.
- Tamaela, P dan Lewerissa S. 2007. Karakteristik Edible Film dari Karagenan. *Jurnal Ichthyos*. 7(1): 27-30.
- Tapia, M. S., Rojas-Grau, M. A., Rodrigues, F. J., Ramirez, J., Carmona, A., dan Martin, B. O. 2007. Alginate and Gellan-based Edible Films for Probiotic Coating on Fresh-Cut Fruits. *Journal of Food Science*. 72(4): 190-196.

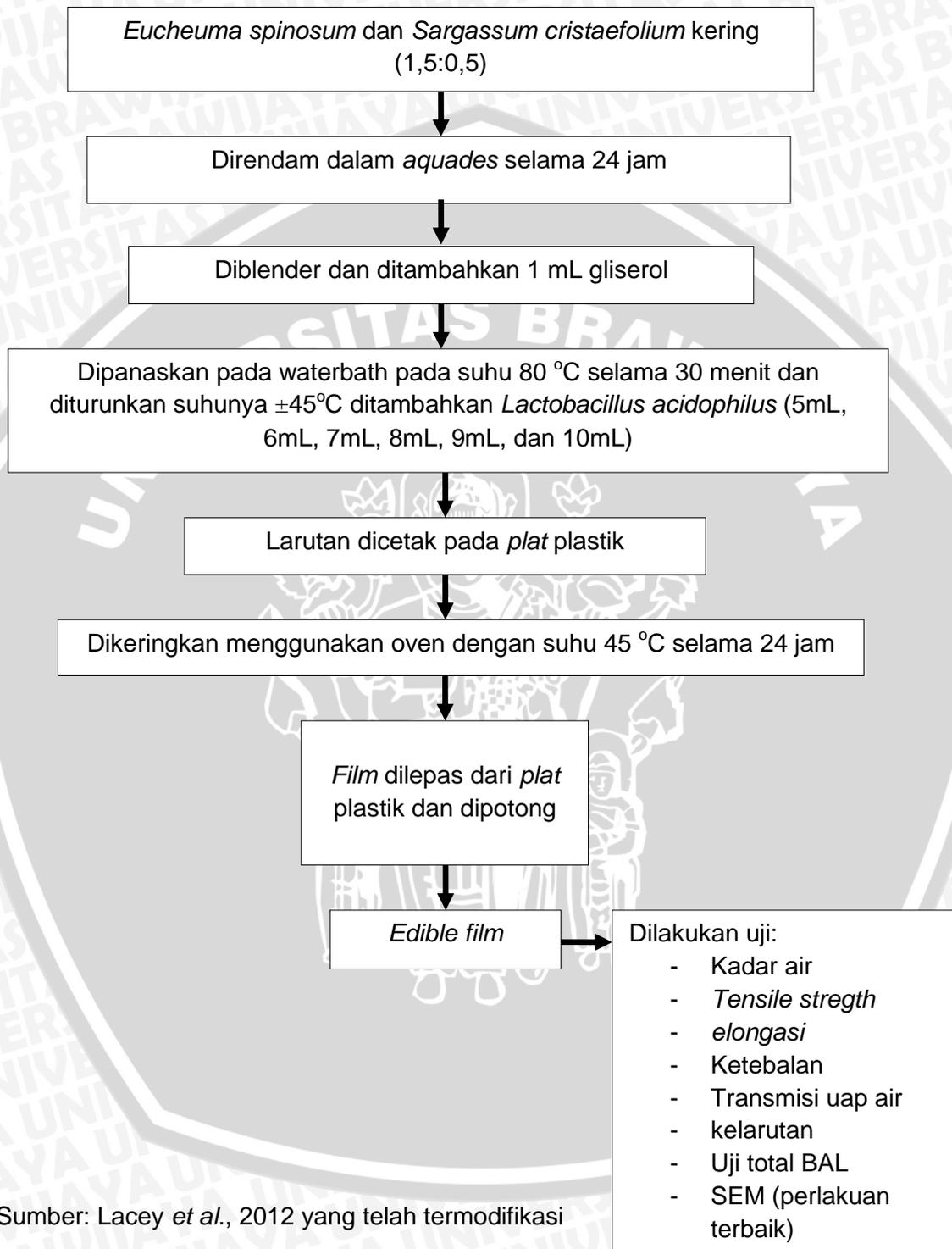
- Triana E., Eko Y., Noik N. 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. *Mar 8 Terenkapsulasi. Biodiversitas*. 7(2): 114-117.
- Triana, E dan Nurhidayat N. 2007. Seleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16s RNA. *Biota*. 12(1): 55-60.
- Trowulan E. 2005. Pengaruh Jenis Rumput Laut (*Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum*) dan Variasi Konsentrasi Gelatin Terhadap Kualitas Permen Jelly. *UB. Malang*.
- Tutupary, F. W. O. 2013. Analisis Usaha Budidaya Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) di Perairan Pulau Takuwo Kecamatan Tobelo Timur. *Agrobisnis*. 1(2): 1-10.
- Wan, J., Liu, C., Liu, W., Zongtai, T., Wu, W., dan Tan, H. 2015. Optimatimization of Instan Edible Films based o Diatary Fiber Processed with Dynamic High Pressure Microfluidization for Barrier Properties and Water Solubility. *Journal Food Science and Technology*. 60(1): 603-608.
- Wang, Y. C., Yu, R. C., dan Chou, C. C. 2004. Viability of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Fermented Soymilk After Drying, Subsequent Rehydration and Storage. *International Journal of Microbiology*. 93(2004): 209-207.
- Warkoyo, B. R., Djagal, W. M., dan Joko, N. W. K. 2014. Sifat Fisik, Mekanik, dan Barrier Edible Film Berbasis Pati Umbi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*) yang Diinkorporasi dengan Kalium Sorbat. *Jurnal Agritech*. 34(1): 2-5.
- Warta Ekspor. 2013. *Rumput Laut Indonesia*. Ditjen PEN/MJL/004/9/2013 September.
- Widyastuti, S. 2010. Sifat Fisik dan Kimiawi Karagenan yang Diekstrak dari Rumput Laut *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum* pada Umur Panen yang Berbeda. *Agroteksos*. 20(1): 41-50.
- Winarno, F. G., Fardiaz, S, Fardiaz, D. 1997. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta: PT Gramedia.
- Wirawan, S. K., Agus, P., dan Ernie. 2012. Pengaruh Plasticizer pada Karakteristik Edible Film dari Pektin. *Reaktor*. 14(1): 61-67.
- Yulianti, R dan Ginting E. 2012. Perbedaan Karakteristik Fisik Edible Film dari Umbi-umbian yang Dibuat dengan Penambahan Plasticizer. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 31 (2): 131-137.
- Zaidar E., Bulan R., Alvian Z., Taurina, S. R. S., dan Lestari, D. A. 2013. Pembuatan Edible Film dari Campuran Tepung Rumput Laut (*Eucheuma* sp) dengan Gliserol dan Kitosan. *FMIPA USU*. 2(2): 125-130.
- Zailanie, K., Tri, S dan Simon, B. W. 2001. Ekstraksi Pemurnian Alginat dari *Sargassum filipendula* Kajian dari Bagian Tanaman, Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Isopropanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(1): 10-27.

Lampiran 1. Skema Kerja Pembuatan *Edible Film* dari Rumput Laut Segar (sol) pada Penelitian Pendahuluan



Sumber: Hardoko (2008) yang telah termodifikasi.

Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan *Edible Film* dari Rumput Laut Segar (sol) pada Penelitian Utama dengan Penambahan Probiotik



Sumber: Lacey *et al.*, 2012 yang telah termodifikasi

Lampiran 3. Prosedur Analisa Kadar Air (AOAC 1995)

Prinsip penentuan kadar air adalah menguapkan air dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampel berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Prosedur penentuan kadar air adalah sebagai berikut:

1. Sampel dipotong dengan ukuran 3x2 cm dimasukkan pada botol timbang yang telah diketahui beratnya.
2. Botol timbang tersebut dimasukkan dalam oven dengan suhu 105° C selama 24 jam atau hingga diperoleh berat konstan.
3. Sampel tersebut kemudian dikeluarkan dari oven dan dimasukkan ke dalam desikator dan segera ditimbang setelah mencapai suhu kamar.
4. Kehilangan berat tersebut dihitung sebagai persentase kandungan air dan dihitung dengan rumus:

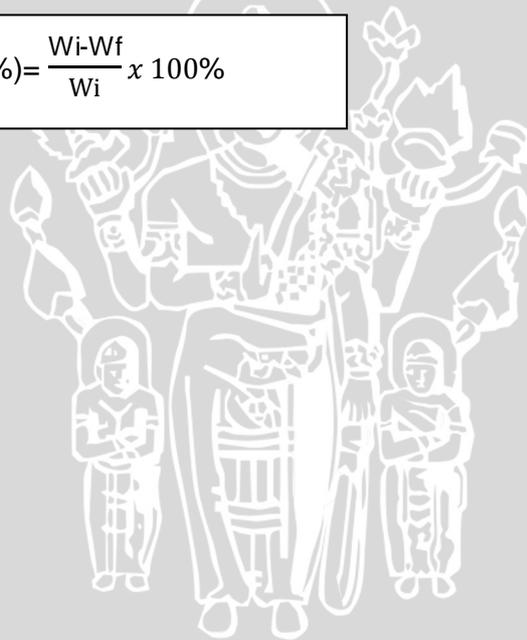
$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{bobot awal} - \text{bobot akhir})}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

Lampiran 4. Prosedur Uji Kelarutan air (Dick *et al.*, 2015)

Prosedur Uji Ketebalan dapat dilakukan dengan cara :

1. Kadar air dari masing-masing sampel kemudian di timbang sebagai (W_i)
2. Kemudian ditambahkan *aquadest* dan direndam selama 24 jam pada suhu 25°C.
3. Lalu, sampel di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-10 menit.
4. Kemudian sampel di saring menggunakan kertas saring. Pada bagian yang tidak larut dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam.
5. Kemudian ditimbang berat bahan akhir (W_f).
6. Kelarutan air dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kelarutan air (\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$



Lampiran 5. Prosedur Uji Ketebalan (Soukoulis e al., 2015)

Prosedur Uji Ketebalan dapat dilakukan dengan cara :

1. Sampel diukur dengan menggunakan mikrometer pada 3 tempat yang berbeda.
2. Kemudian hasil pengukuran dirata-rata sebagai hasil ketebalan film.
3. Ketebalan dinyatakan dalam mm sedangkan mikrometer yang digunakan memiliki ketelitian 0,01 mm.
4. Ketebalan dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Ketebalan} = \frac{\text{Tebal atas} + \text{tebal tengah} + \text{tebal bawah}}{3}$$



Lampiran 6. Prosedur Uji Kuat Tarik dan Elongasi (Soukoulis et al., 2015)

Prosedur Uji Kuat Tarik dapat dilakukan dengan cara :

1. Kuat tarik diukur dengan menggunakan *Tensile Strength and Elongation Tester Industries* model IMADA ZP 50N.
2. Sebelum dilakukan pengukuran, *film* dipotong-potong berbentuk persegi panjang 20 – 80 mm diletakkan pada grip dimana jarak pemisahannya berukuran 50mm.
3. Pada tes tarik, beban yang dimiliki seberat ± 5 kg dengan kecepatan 1mm/detik.
4. Kuat tarik ditentukan berdasarkan beban maksimum pada saat *film* pecah.

$$\text{Kuat tarik} = \frac{F_{\max}}{A}$$

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

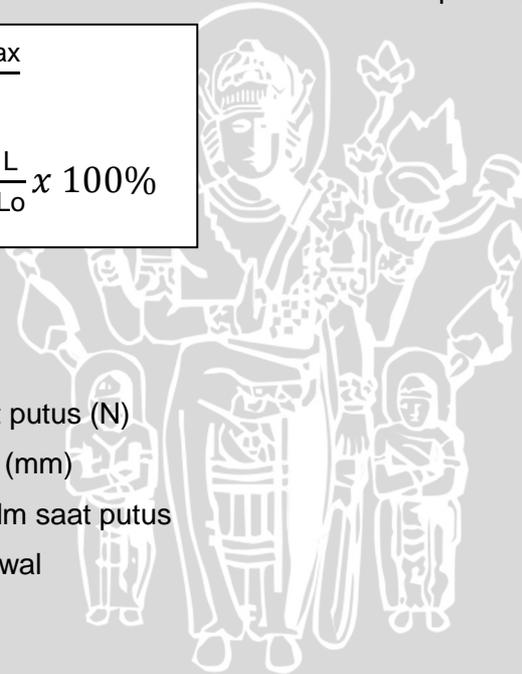
Keterangan:

F_{\max} : gaya saat putus (N)

A : ketebalan (mm)

L : panjang film saat putus

L_0 : panjang awal



Lampiran 7. Prosedur Uji Transmisi Uap Air (Antoniou et al., 2014)

Prosedur Uji Transmisi Uap Air dapat dilakukan dengan cara :

1. *Edible film* yang akan diuji dipotong 4 x 4 cm
2. Kemudian wadah 1 diisi 10mL aquades dan ditempatkan di wadah *beaker glass*.
3. Setelah itu *edible film* dimasukkan dalam desikator yang berisi silika gel
Sebelumnya silika gel dikeringkan pada suhu 180°C selama 3 jam.
4. Pengukuran dilakukan setelah penyimpanan pada jam ke 24 jam.
5. Transmisi uap air dihitung dengan rumus:

$$WVP = \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{waktu} \times \text{luas permukaan}}$$



Lampiran 8. Pengujian Total BAL (Bakteri Asam Laktat) *Lactobacillus acidophilus* (SNI, 200).

1. Sebanyak 1 gram *edible film* yang mengandung bakteri probiotik diencerkan dalam 9 mL PBS steril dan diinkubasi selama 1 jam dengan suhu 37°C.
2. Dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10⁸.
3. Kemudian ditumbuhkan pada media MRSA dan disimpan pada suhu 37°C selama 72 jam dalam kondisi anaerob.
4. Kemudian dilakukan perhitungan bakteri dan total jumlah bakteri dinyatakan dalam log koloni unit per gram (log CFU/g).



Lampiran 9. Prosedur Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Prosedur Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dapat dilakukan dengan cara :

1. *On*-kan sumber arus listrik. *On*-kan alat, *on*-kan alat computer.
2. Klik ganda *shortcut*.
3. Tunggu beberapa saat sampai keluar “dialog box”, kemudian klik *ok*.

Dilayar akan muncul sebuah menu.

4. Pada menu “*instrument*” klik FTIR 8400.
5. Untuk memulai pengukuran klik “*BKG start*” dilayar akan muncul spektra, dan tunggu sampai spektra menghilang.
6. Pengukuran sampel dilakukan dengan menempatkan sampel siap ukur pada tempat sampel dari alat interfotometer. Ulangi langkah 4 kemudian isi dialog *box* dengan identitas sampel kemudian klik “*sample start*”. Tunggu sampai diperoleh spektra.
7. Untuk memunculkan harga bilangan gelombang klik “*Peak table*” pada menu “*Calc*”, tentukan *treshold* dan noise level untuk mengatur pemunculan harga bilangan gelombang, Kemudian didapatkan hasil.

Lampiran 10. Prosedur Uji *Scanning Electronic Magnetic* (SEM)**SOP SEM-EDS**

Merk: FEI type Inspect S50, EDAX AMETEK

1. Preparasi Sampel

- 1) Sampel harus kering (tidak mengandung air dan lemak)
- 2) Sampel diletakkan pada holder yang sudah diberi *double side carbon tape*
- 3) Sampel diletakkan pada alat **sputter coater** (merk Emitech SC7620) untuk di lapisi dengan Au-Pd (terutama untuk sampel yang tidak konduktif seperti sampel organik, polimer, keramik, dll).

2. Mengoperasikan Mesin SEM

- 1) Menyalakan mesin SEM dengan menekan tombol 
- 2) Masukkan sampel ke dalam *Chamber SEM*
- 3) Menyalakan Komputer SEM
- 4) Tekan tombol menu **xT Microscope Server**  pada komputer
- 5) Tekan tombol **start** pada menu xT Microscope Server 
- 6) xTM Log On (masukkan username dan Password)
- 7) Apabila muncul **xTM:stage information**, maka ketik **YES** (*Home stage Procedure*)
- 8) Tekan tombol **pump**  (*High Vac* atau *LoVac*). Apabila sudah vacuum maka akan muncul indikator  disebelah kanan bawah
- 9) Apabila SEM akan digunakan, maka tekan tombol  sampai berwarna hijau 

3. Mengoperasikan Mesin SEM-EDS

- 1) Menyalakan komputer EDS
- 2) Pilih menu **EDAX Genesis**  pada komputer
- 3) Pilih menu **Maps/Line** pada EDAX Genesis
- 4) Pilih Amp Time  sampai nilai dead time (DT) disebelah kiri bawah bernilai antara 20-40%
- 5) Pilih menu  untuk mengatur waktu yang diinginkan
- 6) Pilih menu  untuk menyambungkan Hasil SEM dengan EDS
- 7) Pilih menu  untuk memunculkan *peak* unsur dari sampel yang di SEM-EDS
- 8) Pilih menu  untuk memunculkan unsur-unsur yang telah terdeteksi
- 9) Pilih menu  untuk mencocokkan spektrum yang diperoleh dengan teori
- 10) Tekan tombol  untuk memunculkan persentase dari unsur-unsur yang telah diperoleh
- 11) Tekan tombol  untuk menyimpan hasil SEM-EDS dengan format file .spc (untuk spektrum) dan .tif (untuk gambar)
- 12) Tekan tombol  untuk melihat hasil SEM-EDS dengan format microsoft word.

4. Mengakhiri Proses SEM-EDS

- 1) Tekan tombol  untuk keluar dari menu EDAX Genesis
- 2) Tekan tombol  pada menu menu xT Microscope control
- 3) Buka tabung Gas N₂ UHP (dengan memutar berlawanan dengan arah jarum jam)
- 4) Tekan tombol  Vert
- 5) Mengambil sampel didalam *chamber* SEM
- 6) Apabila sudah selesai, tekan tombol **Stop UI**→**Stop**→**exit xT microscope server**

*) Keterangan:

- Voltage yang digunakan tergantung dengan perbesaran yang diinginkan
- Perbesaran untuk EDS harus disesuaikan dengan nilai DT (20-40%)
- Alat SEM akan dimatikan jika tidak digunakan minimal 10 hari



Lampiran 11. Analisis (ANOVA) Kadar Air *Edible Film* Campuran Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan

1. Data Kadar Air

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Air

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	27,41	28,61	28,24	28,65	112,91	28,23	0,57
A3	27,19	26,49	26,45	27,72	107,85	26,96	0,61
A4	24,86	24,09	24,28	23,64	96,87	24,22	0,50
A5	22,18	23,58	23,25	22,88	91,90	22,97	0,60
Total	79,47	79,19	78,96	80,01	409,52	102,38	

Keterangan:

- A₁ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (2 g : 0 g)
 A₂ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0 g : 2 g)
 A₃ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1 g : 1 g)
 A₄ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0,5 g : 1,5 g)
 A₅ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1,5 g : 0,5 g)

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis

H₀ : T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = 0 atau A = B = C = D

H₁ : paling sedikit ada sepasang T₁ yang tidak sama atau paling sedikit

ada sepasang nilai tengah yang tidak sama.

3. Jumlah Kuadrat (JK)

- FK = 8385,49
 JKT = 2170,57
 JKP = 2166,63
 JKG = 3,94

4. Analysis of Variance (ANOVA)

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	3	2166,632	722,211	2201,2375	3,49	5,95
Galat	12	3,937	0,3281			
Total	15	2170,569				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{5\%}$, maka terima H_1 berbeda nyata

5. Menghitung BNT 5%

$$= R_a \text{ (db galat)} \times \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{Ulangan}}$$

$$= 3,49 \times \sqrt{\frac{0,3281}{4}} = 0,99$$

6. Notasi BNT 5%

Tabel 3. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Kadar Air	A5	A4	A3	A1	Notasi
	22,97	24,22	26,96	28,23	
A5(22,97)	-	-	-	-	a
A4(24,22)	1,24*	-	-	-	b
A3(26,96)	3,99*	2,75*	-	-	c
A1(28,23)	5,25*	4,01*	1,26*	-	d

7. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji analisis BNT 5%, maka dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan A1, A3, A4, A5 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Lampiran 12. Analisis (ANOVA) Elongasi *Edible Film* Campuran Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan

1. Data Elongasi

Tabel 1. Hasil Analisis Elongasi

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	7,43	7,36	7,56	7,08	29,417	7,35	0,20
A3	4,48	4,72	4,81	5,06	19,074	4,77	0,24
A4	3,14	3,44	3,11	3,20	12,893	3,22	0,15
A5	7,25	6,87	7,04	7,26	28,424	7,11	0,19
Total	22,299	22,392	22,519	22,599	89,808	22,45	

Keterangan:

A₁ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (2 g : 0 g)

A₂ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0 g : 2 g)

A₃ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1 g : 1 g)

A₄ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0,5 g : 1,5 g)

A₅ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1,5 g : 0,5 g)

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis

H₀ : T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = 0 atau A = B = C = D

H₁ : paling sedikit ada sepasang T₁ yang tidak sama atau paling sedikit

ada sepasang nilai tengah yang tidak sama.

3. Jumlah Kuadrat (JK)

FK = 504,090609

JKT = 47,206

JKP = 46,7390098

JKG = 0,46668567

4. Analysis of Variance (ANOVA)

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	3	46,73901	15,57967	400,60377	3,49	5,95
Galat	12	0,467	0,0388905			
Total	15	47,2057				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{5\%}$, maka terima H_1 berbeda nyata.

5. Menghitung BNT 5%

$$= R_a (db \text{ galat}) \times \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{Ulangan}}$$

$$= 3,49 \times \sqrt{\frac{0,03889}{4}} = 1,09$$

6. Notasi BNT 5%

Tabel 3. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Kadar Air	A4	A3	A5	A1	Notasi
	3,22	4,77	7,11	7,35	
A4(3,22)	-	-	-	-	a
A3(4,77)	1,55*	-	-	-	b
A5(7,11)	3,89*	2,34*	-	-	c
A1(7,35)	4,13*	2,58*	0,24	-	c

7. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji analisis BNT 5%, maka dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan A1, A5 menunjukkan potensi yang sama, dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan A3 dan A4.

Lampiran 13. Analisis (ANOVA) Kuat Tarik *Edible Film* Campuran Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan

1. Data Kuat Tarik

Tabel 1. Hasil Analisis Kuat Tarik

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	5,37	5,15	5,09	5,51	21,120	5,28	0,195
A3	4,62	5,05	4,61	5,01	19,290	4,82	0,240
A4	3,29	3,50	3,17	3,49	13,450	3,36	0,161
A5	5,35	5,24	5,12	5,14	20,850	5,21	0,106
Total	18,63	18,94	17,99	19,15	74,71	18,68	

Keterangan:

- A₁ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (2 g : 0 g)
 A₂ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0 g : 2 g)
 A₃ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1 g : 1 g)
 A₄ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0,5 g : 1,5 g)
 A₅ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1,5 g : 0,5 g)

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis

H₀ : T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = 0 atau A = B = C = D

H₁ : paling sedikit ada sepasang T₁ yang tidak sama atau paling sedikit ada sepasang nilai tengah yang tidak sama.

3. Jumlah Kuadrat (JK)

FK =	348,85
JKT =	9,99
JKP =	9,60
JKG =	0,40

4. Analysis of Variance (ANOVA)

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum*

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	3	9,5968687	3,1989562	96,4449	3,49	5,95
Galat	12	0,398	0,0331688			
Total	15	9,9948937				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{5\%}$, maka terima H_1 berbeda nyata.

5. Menghitung BNT 5%

$$= R_a (db \text{ galat}) \times \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{Ulangan}}$$

$$= 3,49 \times \sqrt{\frac{0,03316}{4}} = 0,32$$

6. Notasi BNT 5%

Tabel 3. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Kadar Air	A4	A3	A5	A1	Notasi
	3,36	4,48	5,21	5,28	
A4(3,36)	-	-	-	-	a
A3(4,84)	1,46*	-	-	-	b
A5(5,21)	1,85*	0,39*	-	-	c
A1(5,28)	1,92*	0,8*	0,07	-	c

7. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji analisis BNT 5%, maka dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan A1, A5 menunjukkan potensi yang sama, dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan A3 dan A4.

Lampiran 14. Analisis (ANOVA) Ketebalan *Edible Film* Campuran Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan

1. Data Ketebalan

Tabel 1. Hasil Analisis Ketebalan

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	94,33	95,67	95,23	95,63	380,87	95,22	0,62
A3	90,27	88,91	90,35	90,25	359,78	89,94	0,69
A4	70,73	71,87	71,07	70,67	284,33	71,08	0,55
A5	85,50	84,20	84,53	85,47	339,70	84,92	0,66
Total	340,83	340,65	341,18	342,01	1364,68		

Keterangan:

- A₁ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (2 g : 0 g)
 A₂ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0 g : 2 g)
 A₃ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1 g : 1 g)
 A₄ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0,5 g : 1,5 g)
 A₅ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1,5 g : 0,5 g)

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis

H₀ : T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = 0 atau A = B = C = D

H₁ : paling sedikit ada sepasang T₁ yang tidak sama atau paling sedikit ada sepasang nilai tengah yang tidak sama.

3. Jumlah Kuadrat (JK)

FK =	116396,14
JKT =	1293,47
JKP =	1288,68
JKG =	4,80

4. Analysis of Variance (ANOVA)

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum*

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	3	1288,6759	429,558634	1074,267651	3,49	5,95
Galat	12	4,7983	0,399861835			
Total	15	1293,4742				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{5\%}$, maka terima H_1 berbeda nyata.

5. Menghitung BNT 5%

$$= R_a (db \text{ galat}) \times \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{Ulangan}}$$

$$= 3,49 \times \sqrt{\frac{0,40}{4}} = 1,10$$

6. Notasi BNT 5%

Tabel 3. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Kadar Air	A3	A5	A3	A1	Notasi
	71,08	84,92	89,94	95,22	
A3(71,08)	-	-	-	-	a
A5(84,92)	13,84*	-	-	-	b
A3(89,94)	18,86*	5,02*	-	-	c
A1(95,22)	24,14*	10,3*	5,28*	-	d

7. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji analisis BNT 5%, maka dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan A1, A3, A4, A5 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Lampiran 15. Analisis (ANOVA) Transmisi Uap Air *Edible Film* Campuran Rumput Laut Segar Jenis *Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* pada Penelitian Pendahuluan

1. Data Transmisi Uap Air

Tabel 1. Hasil Analisis Transmisi Uap Air

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	60,54	60,26	60,32	59,51	240,63	60,16	0,45
A3	39,94	40,29	40,27	39,92	160,42	40,10	0,20
A4	40,14	39,53	39,58	40,13	159,37	39,84	0,34
A5	55,21	55,17	56,08	55,42	221,87	55,47	0,42
Total	195,82	195,24	196,25	194,98	782,29		

Keterangan:

- A₁ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (2 g : 0 g)
- A₂ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0 g : 2 g)
- A₃ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1 g : 1 g)
- A₄ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (0,5 g : 1,5 g)
- A₅ : Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum* (1,5 g : 0,5 g)

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis

H₀ : T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = 0 atau A = B = C = D

H₁ : paling sedikit ada sepasang T₁ yang tidak sama atau paling sedikit

ada sepasang nilai tengah yang tidak sama.

3. Jumlah Kuadrat (JK)

- FK = 38248,70
- JKT = 1318,55
- JKP = 1316,95
- JKG = 1,60



4. Analysis of Variance (ANOVA)

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Konsentrasi *E. spinosum* : *Sargassum*

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	3	1316,95128	438,984	3294,4	3,490294821	5,95
Galat	12	1,5990	0,13325			
Total	15	1318,5503				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{5\%}$, maka terima H_1 berbeda nyata.

5. Menghitung BNT 5%

$$= R_a (\text{db galat}) \times \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{Ulangan}}$$

$$= 3,49 \times \sqrt{\frac{0,1332}{4}} = 0,63$$

6. Notasi BNT 5%

Tabel 3. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Kadar Air	A4	A3	A5	A1	Notasi
	39,84	40,10	55,49	60,01	
A4(39,84)	-	-	-	-	a
A3(40,10)	0,26	-	-	-	a
A5(55,49)	15,65*	15,39*	-	-	b
A1(60,01)	20,32*	20,06*	4,67*	-	c

8. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji analisis BNT 5%, maka dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan A3, A4 menunjukkan potensi yang sama, dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan A1 dan A5.

Lampiran 16. Analisis (ANOVA) Kadar Air *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	13,37	14,33	13,43	13,68	54,81	13,70	0,44
A2	14,55	15,32	14,79	15,35	60,01	15,00	0,40
A3	15,90	15,70	15,27	16,25	63,12	15,78	0,41
A4	17,85	18,47	18,49	17,97	72,78	18,19	0,33
A5	19,28	18,35	18,71	18,31	74,64	18,66	0,45
A6	21,23	20,58	20,71	21,30	83,82	20,96	0,36
Total	102,18	102,74	101,39	102,86	409,17	102,29	

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Kadar Air dalam Satuan%

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	13.7025	.43935	.21967	13.0034	14.4016	13.37	14.33
A2	4	15.0025	.39643	.19822	14.3717	15.6333	14.55	15.35
A3	4	15.7800	.40898	.20449	15.1292	16.4308	15.27	16.25
A4	4	18.1950	.33282	.16641	17.6654	18.7246	17.85	18.49
A5	4	18.6625	.44925	.22462	17.9476	19.3774	18.31	19.28
A6	4	20.7050	.38957	.19479	20.0851	21.3249	20.30	21.23
Total	24	17.0079	2.46742	.50366	15.9660	18.0498	13.37	21.23

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Kadar Air dalam Satuan %

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.074	5	18	.995

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Kadar Air dalam Satuan %	A1	.270	4	.	.849	4	.224
	A2	.288	4	.	.863	4	.272
	A3	.299	4	.	.846	4	.213
	A4	.296	4	.	.823	4	.151
	A5	.257	4	.	.872	4	.305
	A6	.245	4	.	.959	4	.773

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Kadar Air dalam Satuan %

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	137.082	5	27.416	167.546	.000
Within Groups	2.945	18	.164		
Total	140.027	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 167,54 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Kadar Air dalam Satuan %

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	
Duncan ^a A1	4	13.7025					
A2	4		15.0025				
A3	4			15.7800			
A4	4				18.1950		
A5	4					18.6625	
A6	4						20.7050
Sig.		1.000	1.000	1.000	.120	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 17. Analisis (ANOVA) Transmisi Uap Air *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rerata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	5,03	4,76	4,84	5,24	19,87	4,97	0,21
A2	4,30	4,60	4,85	4,60	18,35	4,64	0,15
A3	4,65	5,14	4,80	5,06	19,64	4,91	0,23
A4	4,10	4,55	5,00	4,39	18,03	4,51	0,38
A5	4,11	4,58	4,76	4,59	18,04	4,44	0,22
A6	4,41	4,43	3,86	4,83	17,53	4,12	0,60
Total	26,59	28,06	28,12	28,70	111,46		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Transmisi Uap Air dalam Satuan
g/m²jam

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	4.9675	.21407	.10703	4.6269	5.3081	4.76	5.24
A2	4	4.6375	.14930	.07465	4.3999	4.8751	4.50	4.85
A3	4	4.9125	.22736	.11368	4.5507	5.2743	4.65	5.14
A4	4	4.5100	.37603	.18802	3.9116	5.1084	4.10	5.00
A5	4	4.4350	.22457	.11229	4.0777	4.7923	4.11	4.59
A6	4	4.1075	.60091	.30045	3.1513	5.0637	3.43	4.83
Total	24	4.5950	.42043	.08582	4.4175	4.7725	3.43	5.24

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Transmisi Uap Air dalam Satuan g/m²jam

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.432	5	18	.075

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Transmisi Uap A1		.224	4	.	.951	4	.719
Air dalam Satuan g/m ² jam	A2	.349	4	.	.865	4	.279
	A3	.242	4	.	.931	4	.601
	A4	.208	4	.	.981	4	.909
	A5	.294	4	.	.809	4	.119
	A6	.160	4	.	.993	4	.971

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Transmisi Uap Air dalam Satuan g/m²jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.047	5	.409	3.652	.019
Within Groups	2.018	18	.112		
Total	4.066	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 3,65 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Transmisi Uap Air dalam Satuan g/m²jam

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Duncan ^a	A6	4	4.1075	
	A5	4	4.4350	4.4350
	A4	4	4.5100	4.5100
	A2	4	4.6375	4.6375
	A3	4		4.9125
	A1	4		4.9675
Sig.			.053	.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 18. Analisis (ANOVA) Ketebalan *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	82,10	83,60	84,50	83,86	334,06	83,52	1,02
A2	88,40	89,10	91,50	89,23	358,23	89,56	1,35
A3	90,10	91,30	90,70	87,80	359,90	89,98	1,53
A4	103,70	106,40	102,43	106,20	418,73	104,68	1,94
A5	105,27	103,10	106,60	104,36	419,33	104,83	1,48
A6	117,30	113,50	114,46	117,10	462,36	115,59	1,90
Total	586,87	587,00	590,19	588,55	2352,61		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Ketebalan dalam Satuan
µm

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	83.5150	1.01632	.50816	81.8978	85.1322	82.10	84.50
A2	4	89.5575	1.34532	.67266	87.4168	91.6982	88.40	91.50
A3	4	89.9750	1.53052	.76526	87.5396	92.4104	87.80	91.30
A4	4	1.0468E2	1.94008	.97004	101.5954	107.7696	102.43	106.40
A5	4	1.0483E2	1.47651	.73826	102.4830	107.1820	103.10	106.60
A6	4	1.1559E2	1.90168	.95084	112.5640	118.6160	113.50	117.30
Total	24	98.0254	11.47621	2.34257	93.1794	102.8714	82.10	117.30

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Ketebalan dalam Satuan μm

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.179	5	18	.358

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Ketebalan dalam Satuan μm	A1	.283	4	.	.925	4	.563
	A2	.346	4	.	.853	4	.236
	A3	.283	4	.	.893	4	.398
	A4	.283	4	.	.876	4	.320
	A5	.134	4	.	1.000	4	.999
	A6	.286	4	.	.858	4	.253

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Ketebalan dalam Satuan μm

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2984.939	5	596.988	242.914	.000
Within Groups	44.237	18	2.458		
Total	3029.176	23			

Keterangan:

$F_{\text{hitung}} = 242,91 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Ketebalan dalam Satuan μm

		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
Duncan ^a					
A1	4	83.5150			
A2	4		89.5575		
A3	4		89.9750		
A4	4			1.0468E2	
A5	4			1.0483E2	
A6	4				1.1559E2
Sig.		1.000	.711	.894	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 19. Analisis (ANOVA) Kelarutan *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	57,89	58,98	57,33	57,74	231,94	57,98	0,704
A2	53,26	54,81	54,21	53,28	215,57	53,89	0,756
A3	56,43	55,40	55,72	54,91	222,46	55,62	0,636
A4	53,62	51,59	51,62	53,46	210,29	52,57	1,117
A5	53,78	52,09	51,89	51,18	208,94	52,23	1,101
A6	50,99	52,14	53,18	52,26	208,57	52,14	0,900
Total	325,97	325,02	323,96	322,82	1297,77		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Kelarutan dalam Satuan %

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	57.9850	.70430	.35215	56.8643	59.1057	57.33	58.98
A2	4	53.8900	.75670	.37835	52.6859	55.0941	53.26	54.81
A3	4	55.6150	.63731	.31866	54.6009	56.6291	54.91	56.43
A4	4	52.5725	1.11915	.55957	50.7917	54.3533	51.59	53.62
A5	4	52.2350	1.10153	.55076	50.4822	53.9878	51.18	53.78
A6	4	52.1425	.89786	.44893	50.7138	53.5712	50.99	53.18
Total	24	54.0733	2.30808	.47114	53.0987	55.0480	50.99	58.98

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Kelarutan dalam Satuan %

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.768	5	18	.585

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Kelarutan dalam Satuan %	A1	.304	4	.	.903	4	.444
	A2	.290	4	.	.866	4	.284
	A3	.185	4	.	.989	4	.953
	A4	.303	4	.	.770	4	.059
	A5	.302	4	.	.910	4	.483
	A6	.249	4	.	.962	4	.790

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Kelarutan dalam Satuan %

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	108.286	5	21.657	27.375	.000
Within Groups	14.240	18	.791		
Total	122.527	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 27,375 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Kelarutan dalam Satuan %

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	
Duncan ^a	A6	4	52.1425			
	A5	4	52.2350			
	A4	4	52.5725	52.5725		
	A2	4		53.8900		
	A3	4			55.6150	
	A1	4				57.9850
Sig.			.527	.051	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 20. Analisis (ANOVA) Kuat Tarik *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	0,72	1,26	1,89	1,73	5,60	1,40	0,526
A2	0,97	0,84	1,26	2,14	5,21	1,30	0,586
A3	0,80	0,94	1,24	1,12	4,10	1,03	0,194
A4	0,95	1,14	1,01	0,80	3,91	0,98	0,141
A5	1,04	0,62	0,86	0,51	3,03	0,76	0,240
A6	0,49	0,66	0,49	0,57	2,21	0,55	0,078
Total	4,97	5,46	6,75	6,87	24,06		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Kuat Tarik dalam Satuan MPa

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	1.4000	.52631	.26315	.5625	2.2375	.72	1.89
A2	4	1.3025	.58528	.29264	.3712	2.2338	.84	2.14
A3	4	1.0250	.19416	.09708	.7160	1.3340	.80	1.24
A4	4	.9750	.14107	.07053	.7505	1.1995	.80	1.14
A5	4	.7575	.23838	.11919	.3782	1.1368	.51	1.04
A6	4	.5525	.08098	.04049	.4236	.6814	.49	.66
Total	24	1.0021	.43081	.08794	.8202	1.1840	.49	2.14

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Kuat Tarik dalam Satuan MPa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.147	5	18	.033

Tests of Normality

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Kuat Tarik dalam Satuan MPa	A1	.235	4	.	.937	4	.634
	A2	.279	4	.	.863	4	.271
	A3	.188	4	.	.977	4	.882
	A4	.180	4	.	.994	4	.979
	A5	.218	4	.	.958	4	.768
	A6	.280	4	.	.861	4	.263

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Kuat Tarik dalam Satuan MPa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.047	5	.409	3.317	.027
Within Groups	2.222	18	.123		
Total	4.269	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 3,317 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Kuat Tarik dalam Satuan MPa

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	A6	4	.5525		
	A5	4	.7575	.7575	
	A4	4	.9750	.9750	.9750
	A3	4	1.0250	1.0250	1.0250
	A2	4		1.3025	1.3025
	A1	4			1.4000
	Sig.		.096	.057	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 21. Analisis (ANOVA) Elongasi *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	8,81	8,52	8,09	6,79	32,21	8,05	0,89
A2	8,18	7,27	6,56	6,68	28,69	7,17	0,74
A3	7,14	6,14	9,78	6,13	29,19	7,30	1,72
A4	7,80	7,14	6,07	6,77	27,79	6,95	0,72
A5	6,52	5,91	7,38	5,89	25,70	6,42	0,70
A6	4,75	5,04	6,04	4,23	20,06	5,02	0,76
Total	43,21	40,03	43,90	36,50	163,63		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Elongasi dalam Satuan %

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1	4	8.0525	.89213	.44606	6.6329	9.4721	6.79	8.81
A2	4	7.1725	.73988	.36994	5.9952	8.3498	6.56	8.18
A3	4	7.2975	1.72148	.86074	4.5582	10.0368	6.13	9.78
A4	4	6.9450	.72233	.36117	5.7956	8.0944	6.07	7.80
A5	4	6.4250	.70059	.35030	5.3102	7.5398	5.89	7.38
A6	4	5.0150	.76107	.38054	3.8040	6.2260	4.23	6.04
Total	24	6.8179	1.30050	.26546	6.2688	7.3671	4.23	9.78

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Elongasi dalam Satuan %

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.077	5	18	.406

Tests of Normality

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Elongasi dalam Satuan %	A1	.267	4	.	.893	4	.395
	A2	.247	4	.	.894	4	.401
	A3	.286	4	.	.805	4	.111
	A4	.154	4	.	.999	4	.997
	A5	.269	4	.	.860	4	.261
	A6	.237	4	.	.961	4	.785

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Elongasi dalam Satuan %

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21.204	5	4.241	4.314	.009
Within Groups	17.696	18	.983		
Total	38.900	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 4,314 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Elongasi dalam Satuan %

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	A6	4	5.0150		
	A5	4	6.4250	6.4250	
	A4	4		6.9450	6.9450
	A2	4		7.1725	7.1725
	A3	4		7.2975	7.2975
	A1	4			8.0525
Sig.			.060	.268	.163

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 22. Analisis (ANOVA) Total BAL *Edible Film Eucheuma Spinosum* dan *Sargassum cristaefolium* dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* konsentrasi berbeda pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan				Total Perlakuan	Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
A1	8,51	8,04	8,20	8,15	32,900	8,23	0,201
A2	8,21	8,10	8,18	8,19	32,680	8,17	0,048
A3	8,52	8,20	8,28	8,26	33,260	8,32	0,141
A4	8,53	8,37	8,49	8,43	33,820	8,46	0,070
A5	8,56	8,40	8,58	8,61	34,150	8,54	0,094
A6	8,49	8,11	8,17	8,39	25,050	8,29	0,179
Total	50,82	41,11	49,90	50,03	191,860		

Keterangan:

- A1 : Konsentrasi probiotik 5% terhadap 95% bahan sol
- A2 : Konsentrasi probiotik 6% terhadap 94% bahan sol
- A3 : Konsentrasi probiotik 7% terhadap 93% bahan sol
- A4 : Konsentrasi probiotik 8% terhadap 92% bahan sol
- A5 : Konsentrasi probiotik 9% terhadap 91% bahan sol
- A6 : Konsentrasi probiotik 10% terhadap 90% bahan sol

Descriptives

Hasil Total Bakteri Probiotik dalam Satuan Log

CFU/g

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
A1	4	8.2250	.20141	.10071	7.9045	8.5455	8.04	8.51
A2	4	8.1700	.04830	.02415	8.0931	8.2469	8.10	8.21
A3	4	8.3150	.14083	.07042	8.0909	8.5391	8.20	8.52
A4	4	8.4550	.07000	.03500	8.3436	8.5664	8.37	8.53
A5	4	8.5375	.09394	.04697	8.3880	8.6870	8.40	8.61
A6	4	8.2900	.17963	.08981	8.0042	8.5758	8.11	8.49
Total	24	8.3321	.17627	.03598	8.2577	8.4065	8.04	8.61

Test of Homogeneity of Variances

Hasil Total Bakteri Probiotik dalam Satuan Log CFU/g

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.091	5	18	.114

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Total Bakteri	A1	.299	4	.	.902	4	.441
Probiotik dalam Satuan Log CFU/g	A2	.332	4	.	.853	4	.235
	A3	.348	4	.	.838	4	.189
	A4	.191	4	.	.979	4	.894
	A5	.345	4	.	.823	4	.151
	A6	.253	4	.	.904	4	.449

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Hasil Total Bakteri Probiotik dalam Satuan Log CFU/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.388	5	.078	4.287	.010
Within Groups	.326	18	.018		
Total	.715	23			

Keterangan:

$F_{hitung} = 4,287 > F_{5\%} = 3,27 \rightarrow$ maka H_1 diterima pada taraf nyata 5%.

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan

Hasil Total Bakteri Probiotik dalam Satuan Log CFU/g

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a				
A2	4	8.1700		
A1	4	8.2250		
A6	4	8.2900	8.2900	
A3	4	8.3150	8.3150	
A4	4		8.4550	8.4550
A5	4			8.5375
Sig.		.178	.117	.398

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 23. Dokumentasi Hasil *Edible Film* pada Penelitian Pendahuluan



Sampel A1



Sampel A2



Sampel A3



Sampel A4



Sampel A5

Lampiran 24. Dokumentasi Hasil *Edible Film* pada Penelitian Utama



Sampel A1



Sampel A2



Sampel A3



Sampel A4



Sampel A5



Sampel 6

Lampiran 24. Dokumentasi Proses Pembuatan *Edible Film* pada Penelitian Utama



Eucheuma spinosum dan *Sargassum cristaefolium* kering (1,5:0,5)



Direndam dalam *Aquadest* selama 24 jam



Dipanaskan pada waterbath pada suhu 80°C selama ±30 menit dan diturunkan suhunya menjadi 45°C lalu ditambahkan *Lactobacillus acidophilus* (5mL, 6mL, 7mL, 8mL, 9mL, dan



Ditambahkan 1 mL gliserol



Diblender



Larutan dicetak pada *plat* plastik



Dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 45 °C selama 24 jam



Film dilepas dari *plat* plastik