

PENGARUH KOMBINASI PLASTICIZER TERHADAP KARAKTERISTIK *EDIBLE* FILM DARI KARAGENAN DAN LILIN LEBAH

(The Effect of Plasticizer Combination on Characteristics of Edible Film from Carrageenan and Beeswax)

Nok Afifah, Enny Sholichah, Novita Indrianti dan Doddy A. Darmajana

Pusat Pengembangan Teknologi Tepat Guna - LIPI, Jl. K.S. Tubun No. 5 Subang, 41213, Indonesia

e-mail: syabiljafa2008@gmail.com

Naskah diterima 21 Maret 2018, revisi akhir 24 Mei 2018 dan disetujui untuk diterbitkan 25 Mei 2018

ABSTRAK. *Edible film (lembaran tipis dapat dimakan) berbasis karagenan-lilin lebah telah dibuat dengan menggunakan dua jenis plasticizer (bahan pemlastis) yaitu gliserol dan gula. Gliserol pada konsentrasi tetap 1% dikombinasikan dengan gula (fruktosa, glukosa dan sukrosa) masing-masing pada tiga level konsentrasi yaitu 0,5%, 1% dan 1,5% b/v_t. Edible film mempunyai kadar air, ketebalan, kuat tarik, elongasi dan kecepatan transmisi uap air masing-masing sebesar 13,69-14,91%, 0,059-0,102 mm, 12,62-32,40 MPa, 13,34-43,57% dan 17,65-25,38 g/m²/24 jam. Kenaikan konsentrasi plasticizer menghasilkan kenaikan kadar air, ketebalan, elongasi dan kecepatan transmisi uap air namun menurunkan kuat tariknya. Semua edible film menunjukkan sifat warna yang baik dengan lightness antara 84,45-85,61 sedangkan edible film dengan plasticizer gliserol-sukrosa memperlihatkan lightness paling rendah. Hasil scanning electron microscopy menunjukkan bahwa edible film yang diberi perlakuan Plasticizer gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa memiliki permukaan yang lebih homogen dan halus daripada edible film kontrol dan edible film dengan plasticizer gliserol-sukrosa.*

Kata kunci: *edible film, fruktosa, glukosa, plasticizer, sukrosa*

ABSTRACT. *Edible film based on beeswax and carrageenan has been made using two types of plasticizers namely glycerol and sugar. Glycerol at a fixed concentration of 1% was combined with sugar (fructose, glucose and sucrose) each at three concentration levels of 0.5%, 1% and 1.5% w /v_t. Edible film has water content, thickness, tensile strength, elongation and vapor transmission rate respectively 13.69-14.91%, 0.059-0.102 mm, 12.62-32.40 MPa, 13.34-43.57% and 17.65-25.38 g/m²/24 hours. The enhancement in plasticizer concentration resulted increasement of moisture content, thickness, elongation and water vapor transmission rate but decreased its tensile strength. All edible films showed lightness in range 84.45-85.61. Edible films with glycerol-sucrose plasticizer showed the lowest lightness. The scanning electron microscopy results indicated that edible films treated with plasticizer glycerol-fructose and glycerol-glucose have more homogeneous and smoother surface than edible control films and edible films with a glycerol-sucrose plasticizer.*

Keywords: *edible film, fructose, glucose, plasticizer, sucrose*

1. PENDAHULUAN

Pengemas yang dapat dimakan (*edible packaging*) dapat berupa *edible film* dan *edible coating*. *Edible film* merupakan bahan pengemas yang telah dibentuk terlebih dahulu berupa lapisan

tipis (film) sebelum digunakan untuk mengemas produk pangan sedangkan *edible coating* berupa pengemas yang dibentuk langsung pada produk pangan, biasanya dengan merendam produk dalam larutan *edible* (Falguera *et al.*, 2011). Pada

umumnya *edible coating* dibuat dari zat hidrofilik seperti protein dan polisakarida, memiliki sifat mekanik dan penghalang yang baik terhadap transfer gas, senyawa aroma dan lemak. *Coating* berbasis polisakarida termasuk karagenan memiliki sifat yang baik sebagai penghalang gas (Pavlath & Orts, 2009). Karagenan berasal dari rumput laut merah dan merupakan campuran kompleks dari beberapa polisakarida (Lacroix & Tien, 2005). Film karagenan dibuat melalui gelasi selama pengeringan moderat (Karbowiak *et al.*, 2007). Di sisi lain, film hidrokoloid memiliki permabilitas uap air yang rendah karena sifat hidrofilik polisakarida (Pavlath & Orts, 2009). Untuk mengatasi gangguan tersebut, sifat hidrofobik lipid, seperti lilin lebah atau *carnauba wax* digunakan karena mempunyai sifat penghalang air yang baik (Morillon *et al.*, 2002). Namun, mereka tidak berperan untuk melawan kehilangan air. Penggunaan kedua kelompok komponen tersebut (komposit) memungkinkan untuk mengembangkan sifat-sifat yang tepat dari film. Dalam prakteknya komponen lipid dan biopolimer digabungkan dengan menggunakan pengemulsi atau teknologi laminasi (Yang & Paulson, 2000).

Bahan pemlastis (*plasticizer*) ditambahkan untuk meningkatkan sifat mekanik pelapis. *Plasticizer* mencegah retak film selama penanganan dan penyimpanan (Vieira *et al.*, 2011). *Plasticizer* yang paling banyak digunakan adalah gliserol dan sorbitol. Beberapa *plasticizer* lain seperti sukrosa, fruktosa, glukosa dan manosa merupakan pemanis karbohidrat yang memberikan rasa lebih enak pada makanan (Zhang & Han, 2006). Menurut Kokoszka & Lenart (2007), kemampuan *plasticizer* untuk mengurangi interaksi polimer tergantung pada konsentrasi, tipe polimer dan jenis *plasticizer* (ukuran molekul, konfigurasi molekul, jumlah gugus hidroksil bebas dan kompatibilitas *plasticizer* dengan polimer). Oleh karena itu, untuk setiap polimer, jenis dan konsentrasi optimum *plasticizer* harus ditentukan untuk keberhasilan penggunaannya dalam berbagai kondisi.

Banyak penelitian telah dilaporkan tentang pengaruh penambahan *plasticizer* gliserol dan sorbitol pada berbagai pati dari sumber yang berbeda dalam pembuatan *biodegradable* atau *edible film* (Rodríguez *et al.*, 2006; Mikkonen *et al.*, 2009; Sanyang *et al.*, 2015). Zhang & Han (2006) menyatakan bahwa gula dapat digunakan sebagai *plasticizer* pada gel pati menghasilkan film dengan permeabilitas uap air (WVP/*water vapour permeability*) yang lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan poliol. Sukrosa, merupakan disakarida, dapat dipecah menjadi campuran 1:1 dari *dextrose* (glukosa) dan *levulose* (fruktosa), yang dikenal sebagai gula inversi (Winarno, 2004). Gula inversi memiliki kecenderungan lebih rendah untuk mengkristal, bila dibandingkan dengan sukrosa dan juga dianggap sebagai produk murah. Gula ini sering digunakan dalam industri makanan untuk mengurangi kristalisasi sukrosa dalam larutan viskositas tinggi dibandingkan dengan larutan yang hanya mengandung sukrosa saja (Veiga-Santos *et al.*, 2007).

Penambahan sukrosa ke dalam film pati singkong meningkatkan elongasi film pati-xanthan gum meskipun kristalisasi terjadi selama penyimpanan dan mengubah material yang lentur menjadi rapuh (Veiga-Santos *et al.*, 2005). Oleh karena itu, penggunaan glukosa sebagai *plasticizer* dapat mencegah kristalisasi sukrosa dan menghindari kerapuhan film. Sifat fisik *edible film* dari otot mantel cumi-cumi *Todarodes pacificus* yang diberi berbagai jenis *plasticizer* (gliserol, sorbitol, glukosa dan fruktosa) telah dipelajari oleh Leerahawong *et al.* (2011). Penelitian-penelitian tersebut menggambarkan pengaruh *plasticizer* secara individual terhadap karakteristik *edible film*.

Ketika beberapa *plasticizer* digunakan dalam matriks film, interaksi yang kuat dapat terjadi antara *plasticizer* yang dapat meningkatkan sifat fungsional tertentu dari film (Adhikari *et al.*, 2010). Kombinasi 1:1 dari gliserol-sorbitol sebagai *plasticizer* untuk film pati jagung ditemukan lebih stabil daripada menggunakan gliserol dan sorbitol secara terpisah (Krogars *et al.*, 2003). Hasil yang

sama juga dilaporkan Sanyang *et al.*, (2015) dimana film dengan *plasticizer* campuran gliserol-sorbitol memperlihatkan stabilitas termal dan sifat tarik yang lebih baik dibandingkan penggunaan *plasticizer* secara individual pada film dari pati aren. Campuran *plasticizer* gliserol dan poliol berberat molekul tinggi seperti xylitol, sorbitol dan maltitol dapat digunakan untuk memplastisasi pati jagung (Qiao *et al.*, 2011). Peningkatan berat molekul dan campuran poliol memberikan peningkatan yang signifikan dari stabilitas termal dan kekuatan mekanik komposit pati jagung. Namun, penelitian tentang pengaruh kombinasi gliserol dengan gula terhadap sifat fisikokimia *edible* film belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan *plasticizer* dari kombinasi gliserol dengan gula (sukrosa, glukosa dan fruktosa) pada konsentrasi yang berbeda untuk memperbaiki sifat-sifat *edible* film berbasis karagenan dan *beeswax* menggunakan metode pencetakan larutan.

2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah karagenan, gliserol, glukosa, fruktosa, *beeswax* dan tween 80 diperoleh dari Brataco (Bandung-Indonesia), gula pasir produksi PT. Sweet Indolampung diperoleh dari toserba Yogya. Peralatan yang digunakan berupa mikrometer, oven, botol timbang, *colorimeter* NH₃ dan SEM (*scanning electron microscopy*) merk Hitachi SU3500.

Pembuatan *edible* film mengikuti metode yang dilaporkan Tamaela and Sherly (2008) dan Velickova *et al.* (2013) dengan sedikit modifikasi. Sembilan formulasi *edible* film disiapkan dengan melarutkan karagenan (2%, b/v_i) dalam air distilasi. Lelehan *beeswax* (0,1%, b/v_i), gliserol (1%, b/v_i) dan sukrosa/glukosa/fruktosa (divariasikan pada konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5%, b/v_i) ditambahkan dalam larutan karagenan. Untuk sukrosa sebelumnya dilarutkan dahulu dalam aquades. Larutan selanjutnya dipanaskan dan diaduk selama kurang

lebih 10 menit pada temperatur 70-80°C. Sebanyak 85 mL larutan film selanjutnya dituangkan dalam plat akrilik 20x20 cm². Larutan dalam plat dibiarkan mendingin dan kemudian dikeringkan dalam oven temperatur 50°C selama 24 jam. Film dilepas dari plat dan disimpan dalam ruangan bersuhu 25°C selama 1 minggu untuk dianalisa. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Analisis data menggunakan program statistik SPSS 13.

Deskripsi Analisa

Kadar air film ditentukan secara gravimetri dengan mengeringkan sebanyak 2 g serpihan film dalam oven bersirkulasi udara pada temperatur 105°C sampai berat sampel konstan. Sampel dianalisa secara duplikasi dan hasilnya dinyatakan dalam gram air teruapkan per 100 g film yang dikeringkan.

Ketebalan film diukur menggunakan mikrometer manual (Mitutoyo) dengan ketelitian 0,001 mm pada enam titik yang berbeda dan nilai ketebalan diukur dari rata-rata ketebalan. Semua sampel film diprekondisikan pada temperatur 26-27°C dan kelembaban relatif (RH) 50-55% minimal 48 jam sebelum dianalisis lebih lanjut (Rhim & Wang, 2013).

Kuat tarik dan persentase pemanjangan (elongasi) diukur dengan menggunakan *Universal Testing Machine* sesuai metode standar ASTM D 882 yang dilengkapi dengan *load cell* 0,5 kN. Lembaran film dipotong dengan ukuran 10 cm x 2,5 cm. Mesin diatur dengan jarak awal antar penjepit 50 mm dan kecepatan 50 mm/menit (Rhim & Wang, 2013). Pengujian dilakukan dengan cara ujung sampel dijepit mesin penguji kemudian alat akan menarik sampel sampai sampel putus. Nilai gaya maksimum untuk memotong film yang diukur dapat dilihat pada display alat. Kuat tarik ditentukan berdasarkan beban maksimum pada saat film pecah. Luas penampang melintang didapatkan dari hasil perkalian panjang awal sampel dengan ketebalan awal sampel. Uji kekuatan tarik dilakukan pada tiga sampel *edible* film yang kemudian dihitung rata-ratanya. Kekuatan tarik dihitung dengan Persamaan 1, dimana $\tau =$

Kekuatan tarik (Mpa), F_{\max} = gaya kuat tarik (N) dan A = luas penampang melintang (m^2).

$$\tau = \frac{F_{\max}}{A} \dots \dots \dots (1)$$

Persentase pemanjangan (*elongation at break*) didasarkan atas pemanjangan film saat film putus. Pengukuran perpanjangan putus dilakukan dengan cara yang sama dengan pengujian kuat tarik. Perpanjangan dinyatakan dalam persentase, dihitung dengan menggunakan Persamaan 2, dimana L = panjang regangan saat putus (mm) dan L_0 = panjang awal (mm).

$$\text{Elongasi (\%)} = \frac{L}{L_0} \times 100\% \dots \dots (2)$$

Water Vapor Transmission Rate (WVTR) film ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri sesuai dengan metode ASTM E 96-95. Film direkatkan pada gelas timbang berdiameter 5 cm yang berisi 10 g silika gel. Selanjutnya gelas timbang ditempatkan dalam desikator yang dikontrol kondisinya pada RH 50-55% temperatur 27-28 °C. RH dalam gelas selalu lebih rendah daripada diluar gelas, transmisi uap air ditentukan dengan menimbang gelas timbang setiap 24 jam selama 7 hari. *Slope* (perubahan berat setiap interval waktu) dihitung untuk menentukan nilai WVTR menggunakan Persamaan 3 (Rhim & Wang, 2013).

$$WVTR = \frac{\text{slope}}{\text{luas sampel}} \left(\frac{g}{m^2 \cdot \text{hari}} \right) \dots \dots (3)$$

Warna film ditentukan dengan *colorimeter* NH_3 yang dikalibrasi dengan lempeng standar putih. Pengukuran menggunakan skala CIE Lab dengan parameter L (*lightness*), a (merah-hijau) dan b (kuning-biru). Tes dilakukan dengan menempatkan sampel film diatas lempeng standar putih. Sampel dianalisis dalam tiga kali pengulangan. Perbedaan warna (ΔE) dihitung menggunakan Persamaan 4, yang mana L_s , a_s , dan b_s adalah standar CIE Lab untuk standar putih yang digunakan sebagai latar pengukuran.

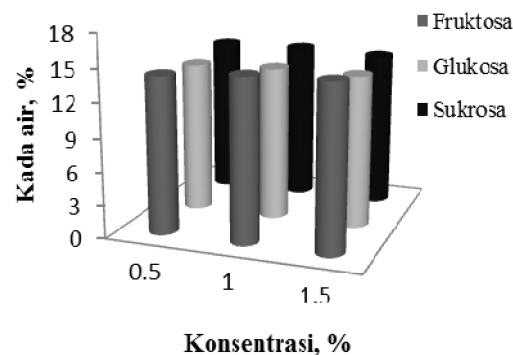
$$\Delta E = \sqrt{(L - L_s)^2 + (a - a_s)^2 + (b - b_s)^2} \dots (4)$$

Morfologi permukaan film dianalisis menggunakan SEM dengan percepatan tegangan 5 kV. Sebelum analisis, semua sampel ditempatkan pada potongan aluminium. Sampel ditempatkan dalam SEM, selanjutnya gambaran topografi film diamati pada perbesaran 1500 kali.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air

Penentuan kadar air memberikan informasi tentang jumlah air dalam film. Kadar air film pada berbagai perlakuan diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar air *edible* film pada berbagai jenis dan konsentrasi *plasticizer*

Hasil uji statistik menunjukkan perlakuan jenis *plasticizer* gliserol-sukrosa berbeda nyata dengan *plasticizer* gliserol-fruktosa pada konsentrasi *plasticizer* 1% dan 1,5% pada taraf signifikansi 5%. Kadar air *edible* film terendah dan tertinggi masing-masing diperoleh pada perlakuan gliserol-glukosa 0,5% dengan kadar air 13,69% dan perlakuan gliserol-fruktosa 1,5% dengan kadar air 14,91%, sedangkan *edible* film kontrol (film dengan mono *plasticizer* yaitu gliserol) mempunyai kadar air 13,65%. Keberadaan air di film tergantung pada konsentrasi *plasticizer* karena sifat hidrofiliknya yang dapat mempertahankan air dalam matriks film. Kadar air film kontrol (mono *plasticizer*) lebih kecil dibandingkan kadar air film untuk semua perlakuan (2 jenis *plasticizer*). Dalam penelitian ini, secara umum terlihat bahwa dengan kenaikan konsentrasi *plasticizer* akan meningkatkan kadar air film dan hasil yang sama juga

dilaporkan oleh Farhan and Hani (2017). Menurut Cerqueira *et al.* (2012), semakin tinggi konsentrasi *plasticizer* maka adsorpsi molekul air meningkat, terutama disebabkan oleh kecenderungan *plasticizer* untuk membentuk ikatan hidrogen.

Kadar air *edible* film yang dihasilkan dalam penelitian ini lebih rendah dari *edible* film berbasis karagenan yang dilaporkan penelitian lain. Veiga-Santos *et al.* (2007) menghasilkan *edible* film dengan kadar air antara 13,1% dan 18% untuk film yang mengandung *plasticizer* sukrosa dan antara 13,2% dan 18,4% untuk film dengan *plasticizer* gula inversi. Farhan & Hani (2017) melaporkan hasil yang hampir sama dengan penelitian ini, *edible* film dari *semi-refined* kappa-karagenan dengan *plasticizer* mono gliserol (konsentrasi 20%, 25% dan 30%) mempunyai kadar air antara 9,8% sampai 14,5%. Martins *et al.* (2012) melaporkan kadar air yang lebih tinggi yaitu 19,28% untuk *edible* film dari kappa-karagenan dengan *plasticizer* 30% gliserol. Kadar air yang lebih tinggi sebesar 20,15% juga dilaporkan oleh Shojaee-Aliabadi *et al.* (2014) untuk *edible* film dari kappa-karagenan dengan *plasticizer* 50% gliserol. Rhim & Wang (2013) juga melaporkan kadar air yang lebih tinggi yaitu 16,26% untuk film dari karagenan dengan *plasticizer* gliserol 30% (b/b karagenan).

Ketebalan, Kuat Tarik dan Elongasi

Ketebalan film akan berpengaruh terhadap sifat mekanik film seperti kuat tarik dan laju transmisi uap airnya, juga

mempengaruhi kenampakan, rasa atau tekstur produk saat digunakan untuk mengemas produk makanan (Yulianti & Ginting, 2012). Tabel 1 menunjukkan nilai ketebalan, kuat tarik dan elongasi *edible* film untuk semua perlakuan.

Hasil uji statistik perlakuan konsentrasi *plasticizer* menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap ketebalan *edible* film terutama pada konsentrasi *plasticizer* 1,5%. *Plasticizer* gliserol-sukrosa menghasilkan film dengan ketebalan yang berbeda dibandingkan *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa. Ketebalan *edible* film terendah diperoleh pada perlakuan gliserol-fruktosa 0,5% yaitu 0,059 mm dan tertinggi pada perlakuan gliserol-sukrosa 1,5% yaitu 0,102 mm sedangkan *edible* film kontrol mempunyai ketebalan 0,045 mm. Ketebalan *edible* film biasanya kurang dari 0,3 mm (Pavlath & Orts, 2009). Hasil penelitian Veiga-Santos *et al.* (2007) menunjukkan ketebalan film dengan *plasticizer* sukrosa antara 0,04 mm dan 0,12 mm dan untuk film dengan *plasticizer* gula inversi antara 0,04 mm dan 0,11 mm.

Pada semua perlakuan jenis *plasticizer*, peningkatan konsentrasi *plasticizer* meningkatkan ketebalan film. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi *plasticizer* maka total padatan dalam larutan juga meningkat. Peningkatan jumlah total padatan dalam larutan menyebabkan ketebalan dari *edible* film semakin meningkat. Jongjareonrak *et al.* (2006) menambahkan bahwa jarak interstisial antara rantai polimer dalam

Tabel 1. Ketebalan, kuat tarik dan elongasi *edible* film (mm) pada berbagai jenis dan konsentrasi *plasticizer*

| Jenis <i>Plasticizer</i> | Ketebalan (mm) | | | Kuat Tarik (mPa) | | | Elongasi (%) | | |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|
| | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | |
| | 0,5% | 1,0% | 1,5% | 0,5% | 1,0% | 1,5% | 0,5% | 1,0% | 1,5% |
| Gliserol-Fruktosa | 0,059 ^{aA} | 0,075 ^{bA} | 0,088 ^{cA} | 24,13 ^{aA} | 19,62 ^{bA} | 19,22 ^{bA} | 30,95 ^{aA} | 37,65 ^{bA} | 43,57 ^{cA} |
| Gliserol-Glukosa | 0,062 ^{aA} | 0,077 ^{bA} | 0,080 ^{bA} | 32,40 ^{aA} | 18,72 ^{bA} | 17,46 ^{bB} | 13,34 ^{aB} | 24,76 ^{bB} | 21,91 ^{bB} |
| Gliserol-Sukrosa | 0,074 ^{aB} | 0,081 ^{aA} | 0,102 ^{bB} | 24,07 ^{aA} | 12,62 ^{bB} | 12,95 ^{bC} | 20,07 ^{abC} | 24,53 ^{aB} | 18,57 ^{bB} |

Keterangan : Huruf kecil yang sama dalam baris dan huruf kapital yang sama dalam kolom mengindikasikan tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan ($p > 0,05$)

matriks film meningkat karena terdispersinya molekul *plasticizer* dalam matriks film yang dapat berkontribusi pada peningkatan ketebalan film. Pada konsentrasi *plasticizer* yang sama, sukrosa menghasilkan film paling tebal dimungkinkan karena terbentuknya kristal pada permukaan film.

Kuat tarik menunjukkan gaya untuk mencapai tarikan maksimum pada setiap satuan luas area film untuk merenggang atau memanjang. Berdasarkan uji Duncan pada taraf signifikansi 5% terlihat bahwa kuat tarik film pada konsentrasi *plasticizer* 0,5% berbeda nyata dengan kuat tarik film pada konsentrasi *plasticizer* 1% dan 1,5%. Jenis *plasticizer* memberikan perbedaan yang nyata terhadap kuat tarik terutama pada konsentrasi *plasticizer* 1,5%. Kuat tarik terbesar diperoleh pada film dengan *plasticizer* gliserol-glukosa 0,5% sebesar 32,40 MPa dan kuat tarik terkecil pada perlakuan *plasticizer* gliserol-sukrosa 1,5% sebesar 12,95 MPa. *Edible* film kontrol dengan *mono plasticizer* yaitu gliserol mempunyai kuat tarik sebesar 25,97 MPa.

Kuat tarik semua perlakuan terlihat lebih kecil dibandingkan kuat tarik kontrol. Berdasarkan Tabel 1, peningkatan konsentrasi *plasticizer* menurunkan kuat tarik film. Hal yang sama juga dilaporkan untuk *edible* film berbasis pati oleh Rodríguez *et al.* (2006) dan Sanyang *et al.* (2015). Hal ini dapat dijelaskan melalui peranan *plasticizer* dalam mengurangi daya tarik intermolekul yang kuat antara rantai polisakarida (termasuk pati dan karagenan) dan mempromosikan pembentukan ikatan hidrogen antara molekul *plasticizer* dan polisakarida sehingga akan mengurangi kekuatan tarik film dengan melemahkan ikatan hidrogen antara rantai polisakarida.

Elongasi menunjukkan kemampuan film untuk rusak sebelum akhirnya putus. Parameter ini membantu untuk menentukan fleksibilitas dan kemuluran film. Fleksibilitas film yang diinginkan tergantung pada tujuan aplikasinya, transportasi, penanganan dan penyimpanan makanan kemasan (Sanyang *et al.*, 2015). Uji Duncan pada taraf signifikansi 5% memperlihatkan bahwa pada jenis

plasticizer gliserol-fruktosa memberikan nilai elongasi yang berbeda nyata untuk semua perlakuan konsentrasi *plasticizer* namun pada jenis *plasticizer* gliserol-sukrosa tidak menunjukkan perbedaan nyata. Jenis *plasticizer* memberikan perbedaan yang nyata terhadap elongasi terutama pada konsentrasi *plasticizer* 0,5%. Elongasi terbesar diperoleh pada film dengan *plasticizer* gliserol-fruktosa 1,5% sebesar 43,57% dan elongasi terkecil pada perlakuan *plasticizer* gliserol-glukosa 0,5% sebesar 13,34%. *Edible* film kontrol dengan *plasticizer* gliserol mempunyai nilai elongasi sebesar 10,00%.

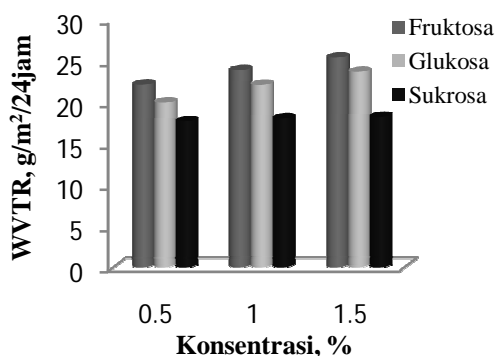
Nilai elongasi kontrol terlihat paling kecil dibandingkan nilai elongasi untuk semua perlakuan. Tabel 1 memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi *plasticizer* menaikkan elongasi film. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Sanyang *et al.* (2015) dan Veiga-Santos *et al.* (2007). Masuknya molekul *plasticizer* dalam matriks polimer melalui ikatan hidrogen kemungkinan mengganggu struktur polimer dan mengubahnya menjadi sebuah struktur fleksibel yang tidak teratur yang dapat dilihat sebagai restrukturisasi dalam matriks polimer dengan peningkatan mobilitas rantai sehingga mengurangi resistensi terhadap tekanan yang diterima dan meningkatkan kemampuan regang (elongasi) film. Pada konsentrasi yang sama terlihat bahwa *plasticizer* gliserol-sukrosa menghasilkan film dengan kuat tarik dan elongasi yang lebih kecil dibandingkan film dengan *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa. Perbedaan komposisi, ukuran, struktur dan bentuk *plasticizer* mempengaruhi kemampuan fungsi mereka dalam jaringan film yang selanjutnya akan menentukan distribusi dan interaksi mereka dengan jaringan karagenan dalam film tersebut (Jongjareonrak *et al.*, 2006; Farhan & Hani, 2017). Veiga-Santos *et al.* (2005) melaporkan bahwa penambahan sukrosa ke dalam film pati akan meningkatkan elongasi meskipun kristalisasi terjadi selama penyimpanan dan mengubah material yang lentur menjadi rapuh.

Savadekar *et al.* (2012) menunjukkan bahwa kuat tarik dan

elongasi film dari karagenan dengan *plasticizer* gliserol 10% (b/b karagenan) masing-masing sebesar 25 MPa dan 13%. Martins *et al.* (2012) melaporkan kuat tarik dan elongasi film dari karagenan-*locust bean gum* dengan *plasticizer* gliserol 30% (b/b polisakarida) sebesar 19,95 MPa dan 16,18%. Film berbasis karagenan dan *plasticizer* gliserol 30% (b/b karagenan) juga dibuat oleh Rhim & Wang (2013) yang menghasilkan film dengan kuat tarik dan elongasi sebesar 70,12 MPa dan 10,76%.

Water Vapor Transmission Rate (WVTR)

Salah satu sifat penting kemasan makanan adalah kemampuannya untuk menahan atau meminimalkan transfer air antara makanan dan lingkungan sekitarnya. Oleh karena itu, WVTR bahan kemasan harus dibuat serendah mungkin. Pengaruh jenis dan konsentrasi *plasticizer* terhadap WVTR dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Nilai WVTR *edible* film pada berbagai jenis dan konsentrasi *plasticizer*

Hasil uji Duncan pada taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa nilai WVTR untuk perlakuan jenis *plasticizer* gliserol-sukrosa berbeda nyata dengan jenis *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa pada konsentrasi *plasticizer* 0,5% dan 1,5%. Perlakuan konsentrasi *plasticizer* tidak berbeda nyata untuk berbagai jenis *plasticizer*. Perlakuan kontrol dengan *mono plasticizer* (gliserol) menghasilkan film dengan nilai WVTR sebesar 11,32 g/mm²/hari. Nilai WVTR terendah dihasilkan pada perlakuan gliserol-sukrosa 0,5% dengan nilai WVTR

17,65 g/mm²/hari dan tertinggi diperoleh pada perlakuan gliserol-fruktosa 1,5% dengan nilai WVTR 25,38 g/mm²/hari.

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa untuk semua jenis *plasticizer*, peningkatan konsentrasi *plasticizer* meningkatkan nilai WVTR. Khazaei *et al.* (2014) melaporkan bahwa peningkatan WVTR dapat dikaitkan dengan sifat hidrofilik dari *plasticizer*. Kecenderungan ini dapat dijelaskan dengan adanya modifikasi struktur jaringan polimer di mana jaringan menjadi kurang padat. Peningkatan konsentrasi *plasticizer* yang hidrofilik menyebabkan reorganisasi jaringan polisakarida dan terjadi peningkatan volume bebas dan gerakan segmental yang memungkinkan molekul air berdifusi lebih mudah dan memberikan WVTR lebih tinggi. Hasil serupa ditunjukkan oleh Sanyang *et al.* (2015) yang menjelaskan kenaikan transmisi uap air karena kenaikan konsentrasi *plasticizer* disebabkan oleh kuatnya interaksi molekul pati-pati yang dominan pada konsentrasi *plasticizer* yang lebih rendah menghasilkan jaringan dan struktur pati yang padat dan lebih kompak sehingga nilai WVTR semakin rendah. Kenaikan lebih lanjut dari konsentrasi *plasticizer* menyebabkan mobilitas dan fleksibilitas rantai jaringan pati karena modifikasi struktural interaksi molekul pati-pati ke jaringan longgar. Akibatnya, matriks film menjadi kurang padat dan nilai WVTR mereka akhirnya meningkat.

Warna

Warna *edible* film dapat berpengaruh terhadap kenampakan/penampilan produk yang dikemas. Semakin cerah warnanya maka semakin bagus kenampakan produk yang dikemas. Warna *edible* film pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Semua film yang dihasilkan memperlihatkan sifat warna yang baik yang ditunjukkan dengan nilai *lightness* (L) yang tinggi antara 84,45-85,61. Jenis *plasticizer* menunjukkan nilai “b” yang berbeda nyata pada taraf 5% baik untuk jenis *plasticizer* maupun konsentrasi *plasticizer*. Konsentrasi *plasticizer* sebesar

Tabel 2. Warna *edible* film pada berbagai jenis dan konsentrasi *plasticizer*

| Jenis <i>Plasticizer</i> | Lightness (L) | | | a (merah-hijau) | | | b (kuning-biru) | | | Delta E | | |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|
| | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | | Konsentrasi <i>Plasticizer</i> | | |
| | 0,5 % | 1,0 % | 1,5 % | 0,5 % | 1,0% | 1,5% | 0,5% | 1,0% | 1,5% | 0,5 % | 1,0 % | 1,5 % |
| Gliserol-Fruktosa | 85,10 ^{aB} | 85,00 ^{aA} | 85,35 ^{bA} | 0,03 ^{aB} | 0,03 ^{aB} | 0,04 ^{aA} | 3,19 ^{bB} | 3,06 ^{aB} | 3,29 ^{cB} | 12,26 ^{bB} | 12,35 ^{bB} | 12,02 ^{aA} |
| Gliserol-Glukosa | 85,32 ^{aB} | 85,61 ^{bB} | 85,30 ^{aA} | -0,02 ^{aA} | -0,03 ^{aA} | 0,04 ^{bA} | 2,92 ^{bA} | 2,80 ^{aA} | 3,20 ^{cA} | 12,02 ^{bA} | 11,72 ^{aA} | 12,06 ^{bA} |
| Gliserol-Sukrosa | 84,89 ^{bA} | 84,90 ^{bA} | 84,45 ^{aB} | 0,08 ^{aC} | 0,06 ^{aB} | 0,15 ^{bB} | 3,35 ^{bC} | 3,18 ^{aC} | 3,46 ^{bC} | 12,49 ^{aC} | 12,46 ^{aB} | 12,94 ^{bB} |

Keterangan : Huruf kecil yang sama dalam baris dan huruf kapital yang sama dalam kolom pada mengindikasikan tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan ($p > 0,05$).

1,5% memberikan nilai “L”, “a”, “b” dan “ΔE” yang berbeda nyata pada taraf 5% dibandingkan konsentrasi *plasticizer* 0,5% dan 1% untuk jenis *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-sukrosa. Film dengan *plasticizer* gliserol-sukrosa menunjukkan *lightness* yang lebih rendah dan nilai “a”, “b” dan “ΔE” lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain termasuk dengan kontrol. Terbentuknya kristal gula pada permukaan film menyebabkan transparansi film menjadi berkurang sehingga *lightness* juga berkurang. Hasil yang sama dilaporkan oleh Farhan & Hani (2017) yang menjelaskan bahwa perbedaan transparansi film berkaitan dengan mobilitas rantai polimer dan jarak antar molekul dalam matriks karagenan dengan *plasticizer* yang mempengaruhi permeabilitas cahaya melalui film karagenan.

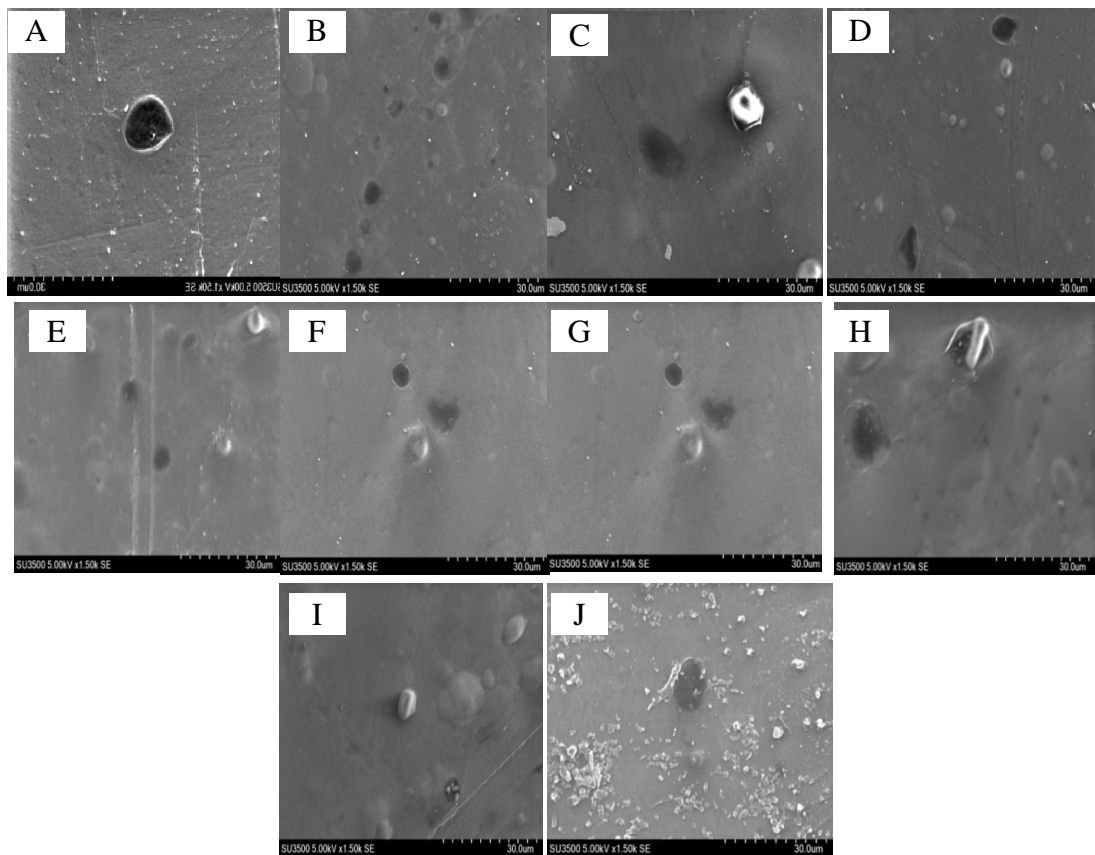
Morfologi

Morfologi permukaan film yang dihasilkan oleh SEM (Gambar 3) menunjukkan bahwa jenis *plasticizer* mempengaruhi matriks film. Mostafavi *et al.* (2016) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara orientasi molekular bahan penyusun film dengan karakteristik fisikokimia film yang dapat dilihat dari mikrostruktur film. Analisis SEM menunjukkan bahwa penambahan *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa dalam film menyebabkan perubahan susunan struktural permukaan film dan menghasilkan permukaan yang relatif kompak dan seragam dibandingkan dengan permukaan film kontrol yang hanya menggunakan *plasticizer* gliserol.

Pada film dengan perlakuan gliserol-sukrosa terlihat permukaan film yang tidak rata dan terlihat ada butiran-butiran yang dimungkinkan kristal sukrosa yang muncul kembali setelah pengeringan dan penyimpan film. Pembentukan kristal bisa timbul dari penataan ulang molekul gula yang terikat secara acak (Nindjin *et al.*, 2015).

Gambar 3 juga memperlihatkan adanya pori-pori pada permukaan film. Pori-pori ini kemungkinan terbentuk karena gelembung udara yang terperangkap dalam film sehingga proses *degassing* sangat diperlukan untuk memperbaiki film. Adanya *beeswax* yang tak tercampur sempurna dengan matriks karagenan juga akan membentuk bulatan-bulatan lemak.

Hasil penelitian Saberi *et al.* (2017) memperlihatkan hasil yang sama dengan penelitian ini bahwa berat molekul *plasticizer* mempengaruhi morfologi permukaan film. Semakin kecil berat molekul suatu *plasticizer* maka matriks film menjadi lebih kompak dan homogen. Berat molekul gliserol, glukosa, fruktosa, dan sukrosa berturut-turut sebesar 92,09 g/mol, 180,16 g/mol, 180,16 g/mol dan 342,30 g/mol. Qiao *et al.* (2011) melaporkan efek penambahan campuran poliol (gliserol-sorbitol) lebih unggul dibandingkan gliserol saja yang ditunjukkan dari morfologi seragam tanpa butiran pati yang tersisa. Hasil SEM dalam penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan jaringan film dengan penambahan kombinasi *plasticizer* yang selanjutnya dapat meningkatkan fleksibilitas film dengan



Gambar 3. Morfologi *edible* film pada berbagai jenis dan konsentrasi *plasticizer*. A=kontrol; B=Fruktosa 0,5%; C=Fruktosa 1,0%; D=Fruktosa 1,5%; E=Glukosa 0,5%; F=Glukosa 1,0%; G=Glukosa 1,5%; H=Sukrosa 0,5%; I=Sukrosa 1,0%; J=Sukrosa 1,5%

memperbaiki sifat mekaniknya. Hasil ini sesuai dengan nilai elongasi film seperti terlihat pada Tabel 1.

4. KESIMPULAN

Edible film komposit berbasis karagenan-beeswax dengan *plasticizer* kombinasi gliserol dan gula mempunyai kadar air 13,69-14,91%, ketebalan 0,059-0,102 mm, kuat tarik 12,62-32,40 MPa, elongasi 13,34-43,57%, kecepatan transmisi uap air 17,65-25,38 g/m²/24 jam dan *lightness* 84,45-85,61. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penambahan dua jenis *plasticizer* yaitu kombinasi gliserol dengan fruktosa, glukosa atau sukrosa meningkatkan ketebalan dan elongasi meskipun kuat tarik menurun dan laju transmisi uap airnya meningkat. Film dengan *plasticizer* gliserol-sukrosa memberikan pengaruh lebih baik dalam hal laju transmisi uap air namun kurang baik

dalam hal kuat tarik dan elongasi, terlebih lagi pada konsentrasi diatas 1% (w/v_t) terjadi pertumbuhan kristal gula selama penyimpanan. Semua film yang dihasilkan memperlihatkan sifat warna yang baik yang ditunjukkan dengan nilai *lightness* (L) yang tinggi dimana film dengan *plasticizer* gliserol-sukrosa mempunyai *lightness* yang paling rendah. Analisis morfologi film menunjukkan bahwa penambahan *plasticizer* gliserol-fruktosa dan gliserol-glukosa dalam film menghasilkan permukaan film yang relatif kompak dan seragam dibandingkan dengan permukaan film kontrol yang hanya menggunakan *plasticizer* gliserol dan film dengan *plasticizer* gliserol-sukrosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada tim penelitian “Pengembangan *Edible* Film Berbasis Pati Umbi Lokal

sebagai Bahan Pengemas Produk Olahan Buah-Buahan” dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia yang telah mendanai kegiatan penelitian ini serta kepada PPTTG-LIPI yang telah menyediakan sarana dan prasana dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, B., Chaudhary, D.S., Clerfeuille, E. (2010). Effect of plasticizers on the moisture migration behavior of low-amylose starch films during drying. *Dry. Technol.*, 28, 468-480. <https://doi.org/10.1080/07373931003613593>.
- Cerqueira, M.A., Souza, B.W.S., Teixeira, J.A. & Vicente, A.A. (2012). Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films-A comparative study. *Food Hydrocoll*, 27, 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.07.007>.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jiménez, A., Muñoz, J.A. & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Sci. Technol.*, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>.
- Farhan, A. & Hani, N.M. (2017). Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Hydrocoll*, 64, 48-58. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.034>.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Tanaka, M. (2006). Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. *Eur. Food Res. Technol.*, 222, 229-235. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0004-3>.
- Karbowiak, T., Debeaufort, F. Voilley, A. (2007). Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. *Food Hydrocoll*, 21, 879-888. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.07.017>.
- Khazaei, N., Esmaili, M., Djomeh, Z.E., Ghasemlou, M. & Jouki, M. (2014). Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. *Carbohydr. Polym.*, 102, 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.062>.
- Kokoszka, S. & Lenart, A. (2007). Edible coatings-formation, characteristics and use-a review. *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 57, 399-404.
- Krogars, K., Heinämäki, J., Karjalainen, M., Niskanen, A., Leskelä, M. & Yliruusi, J. (2003). Enhanced stability of rubbery amylose-rich maize starch films plasticized with a combination of sorbitol and glycerol. *Int. J. Pharm.*, 251, 205-208. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00585-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00585-9).
- Lacroix, M., Tien, C. & Le. (2005). Edible films and coatings from non-starch polysaccharides. *Innov. Food Packag.*, Overview 0-12. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-311632-1.50052-8>.
- Leerahawong, A., Tanaka, M., Okazaki, E. & Osako, K. (2011). Effects of plasticizer type and concentration on the physicochemical properties of edible film from squid *Todarodes pacificus* mantle muscle. *Fish. Sci.*, 77, 1061-1068. <https://doi.org/10.1007/s12562-011-0398-8>.
- Martins, J.T., Cerqueira, M.A., Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C., Souza, B.W.S. & Vicente, A.A. (2012). Synergistic effects between κ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. *Food Hydrocoll*, 29, 280-289. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.004>.
- Mikkonen, K.S., Heikkinen, S., Soovre, A., Peura, M., Serimaa, R., Talja, R.A., Helén, H., Hyvönen, L., & Tenkanen, M. (2009). Films from Oat Spelt Arabinoxylan Plasticized with Glycerol and Sorbitol. *J. Appl. Polym. Sci.*, 114, 457-466. <https://doi.org/10.1002/app.30513>.
- Morillon, V., Debeaufort, F. & Blond, G. (2002). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Factors Affecting

- the Moisture Permeability of Lipid-Based Edible Films: A Review Factors Affecting the Moisture Permeability of Lipid-Based Edible Films: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 37-41. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.818933>.
- Mostafavi, F.S., Kadkhodaei, R., Emadzadeh, B. & Koocheki, A. (2016). Preparation and characterization of tragacanth-locust bean gum edible blend films. *Carbohydr. Polym.*, 139, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.069>.
- Nindjin, C., Beyrer, M. & Amani, G.N. (2015). Effects of sucrose and vegetable oil on properties of native cassava (*Manihot esculenta* CRANTZ) starch-based edible films. *African J. Food Agric. Nutr. Dev.*, 15, 9905-9921.
- Pavlat, A.E., & Orts, W. (2009). Edible films and coatings: why, what and how?, in: Embuscado, M.E., Huber, K. (Ed.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer, 1-23. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1>.
- Qiao, X., Tang, Z. & Sun, K. (2011). Plasticization of corn starch by polyol mixtures. *Carbohydr. Polym.*, 83, 659-664. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.035>.
- Rhim, J.W. & Wang, L.F. (2013). Mechanical and water barrier properties of agar/ κ -carrageenan/konjac glucomannan ternary blend biohydrogel films. *Carbohydr. Polym.*, 96, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.083>.
- Rodríguez, M., Osés, J., Ziani, K. & Maté, J.I. (2006). Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Res. Int.*, 39, 840-846. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.04.002>.
- Saberi, B., Chockchaisawasdee, S., Golding, J.B., Scarlett, C.J. & Stathopoulos, C.E. (2017). Physical and mechanical properties of a new edible film made of pea starch and guar gum as affected by glycols, sugars and polyols. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104, 345-359. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.051>.
- Sanyang, M.L., Sapuan, S.M., Jawaid, M., Ishak, M.R., Sahari, J., Engineering, G., Products, F. & Resources, N. (2015). Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm. *Polymers*, 7(6), 1106-1124. <https://doi.org/10.3390/polym7061106>.
- Savadekar, N.R., Karande, V.S., Vigneshwaran, N., Bharimalla, A.K. & Mhaske, S.T. (2012). Preparation of nano cellulose fibers and its application in kappa-carrageenan based film. *Int. J. Biol. Macromol.*, 51, 1008-1013. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.014>.
- Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M.A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S.M. & Khaksar, R. (2014). Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydr. Polym.*, 101, 582-591. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.070>.
- Tamela, P. & Sherly, D.A.N. (2008). Karakteristik Edible Film dari Karaginan. *Ichthyos LIPI*, 7, 27-30.
- Veiga-Santos, P., Oliveira, L.M., Cereda, M.P., Alves, A.J. & Scamparini, A.R.P. (2005). Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: Effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 19, 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.07.006>.
- Veiga-Santos, P., Oliveira, L.M., Cereda, M.P. & Scamparini, A.R.P. (2007). Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch-gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. *Food Chem.*, 103, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.048>.
- Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V.D. & Moldão-Martins, M. (2013). Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh

- strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT-Food Sci. Technol.*, 52, 80-92.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.004>.
- Vieira, M.G.A., Da Silva, M.A., Dos Santos, L.O. & Beppu, M.M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *Eur. Polym. J.*, 47, 254-263.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>.
- Winarno, F.G. (2004). *Kimia Pangan dan Gizi*. 11th ed. Jakarta: Gramedia.
- Yang, L. & Paulson, A.T. (2000). Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Res. Int.*, 33, 571-578.
[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00093-4).
- Yulianti, R. & Ginting, E. (2012). Perbedaan karakteristik fisik edible film dari umbi-umbian yang dibuat dengan penambahan plasticizer. *Balai Penelit. Tanam. Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*, 31, 131-136.
- Zhang, Y. & Han, J.H. (2006). Mechanical and Thermal Characteristics of Pea Starch Films Plasticized with Monosaccharides and Polyols. *J. Food Sci.*, 71, E109–E118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08891.x>.