

KARBOKSIMETIL KITOSAN MEMPERPANJANG DAYA SIMPAN FILET NILA MERAH YANG DISIMPAN PADA SUHU RENDAH

*Atikah Nur Farida, Amir Husni**, dan *Indun Dewi Puspita*
Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

Submitted: 24-07-2018; Revised:02-09-2018; Accepted: 15-10-2018

ABSTRACT

Chitosan has been known as an antibacterial agent which is biodegradable, biocompatible but insoluble in water. Modification into carboxymethyl chitosan was done in order to increase solubility in water without changing its bioactivity so application as an antibacterial agent is allowed. The objectives of this research were to determine carboxymethyl chitosan as an antibacterial agents on shelf life of red tilapia fillet at low temperature. Carboxymethyl chitosan was made by reacting chitosan compound with monochloroacetid acid at 90°C for 3 hours. Samples of fresh red tilapia fillet soaked in a solutions carboxymethyl chitosan with a concentration of 0%, 2%, 3% and 4% for 60 minutes, then stored at low temperature 5°C for 12 days. The parameter observed every 4 days were Total Plate Count (TPC), Total Volatile Base (TVB), pH and scoring test. The result showed that the different concentration of carboxymethyl chitosan yielded the significant effect ($P < 0,05$) on TPC, TVB, pH, and appearance of the red Nile fillet, but does not affect smell and texture score. The treatment 3% of carboxymethyl chitosan was the best treatment in maintaining shelf life of red Nile fillet stored at low temperature up to 8 days of storage.

Keywords: *Carboxymethyl chitosan; Low temperature; Red tilapia fillet; Monochloroacetid acid; Shelf life.*

ABSTRAK

Kitosan memiliki aktivitas antibakteri, *biodegradable*, dan biokompatibel, tetapi tidak larut dalam air. Modifikasi kitosan menjadi karboksimetil kitosan diharapkan mampu meningkatkan kelarutan dalam air tanpa mengubah bioaktivitas sehingga memungkinkan aplikasi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pemberian karboksimetil kitosan sebagai bahan antibakteri terhadap daya simpan filet nila merah yang disimpan pada suhu dingin. Karboksimetil kitosan dibuat dengan cara mereaksikan senyawa kitosan dengan asam monokloroasetat pada suhu 90°C selama tiga jam. Sampel filet nila merah segar direndam dalam larutan karboksimetil kitosan dengan konsentrasi 0%; 2%; 3% dan 4% selama 60 menit, kemudian disimpan pada suhu dingin 5°C selama 12 hari. Parameter yang diamati tiap empat hari yaitu *Total Plate Count (TPC)*, *Total Volatile Base (TVB)*, pH dan uji skoring. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi karboksimetil kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai TPC, TVB, pH, dan kenampakan filet nila merah, tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap skor bau dan tekstur. Penggunaan karboksimetil kitosan 3% merupakan perlakuan terbaik dalam mempertahankan kesegaran filet nila merah yang disimpan pada suhu dingin sampai hari ke-8 penyimpanan.

Kata Kunci: *Asam monokloroasetat; Daya simpan; Filet nila merah; Karboksimetil kitosan; Suhu dingin.*

*Corresponding author: a-husni@ugm.ac.id

Copyright©2019 THE AUTHOR(S). This article is distributed under a Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International license. Jurnal Teknosains is published by the Graduate School of Universitas Gadjah Mada.

PENGANTAR

Nila merah merupakan ikan yang mudah tumbuh, memiliki warna yang menarik, dagingnya enak dan mempunyai kandungan gizi yang tinggi (Nurjanah dkk., 2004). Nila merah, merupakan bahan pangan yang mudah sekali mengalami kerusakan. Kerusakan ini dapat terjadi secara biokimia maupun mikrobiologi. Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha untuk meningkatkan daya simpan dan daya awet hasil perikanan melalui proses pengolahan dan pengawetan yang salah satunya dengan cara penyimpanan dingin. Penyimpanan dingin selain dapat menghambat aktivitas mikrobia dan enzim juga dapat mempertahankan sifat-sifat asli ikan segar. Akan tetapi, penyimpanan dingin masih memiliki keterbatasan, yaitu umur simpan daging yang masih relatif pendek (Riyanto dkk., 2012). Penyimpanan ikan pada suhu 15-20°C dapat mempertahankan mutu berkisar dua hari, dan pada suhu 5°C tahan selama 5-6 hari, sedangkan suhu 0°C dapat mencapai 9-14 hari (Diyantoro, 2007). Liviawaty & Afrianto (2010) mengungkapkan bahwa nila yang disimpan pada suhu 5°C memiliki daya simpan berkisar 5 hari.

Penyebab utama kerusakan ikan selama penyimpanan dingin adalah adanya aktivitas dan pertumbuhan bakteri psikotropik yang dapat menimbulkan berbagai macam bau dan kerusakan fisik (Husni dkk., 2014). Hal tersebut membutuhkan teknik penanganan lain agar dapat mempertahankan daya simpan produk perikanan, salah satunya dengan penambahan bahan pengawet alami. Salah satu bahan yang berpotensi sebagai pengawet alami adalah kitosan. Kitosan merupakan turunan kitin yang diperoleh dari deasetilasi kitin dan merupakan polimer karbohidrat alami yang ditemukan dalam kerangka krustasea seperti udang, lobster, rajungan, kepiting, serangga, jamur dan ragi, serta exoskeleton dari zooplankton laut termasuk karang dan *jellyfish*. Kitosan sebagai biomaterial cocok untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada banyak bidang karena kitosan bersifat *biocompatible* dan *biodegradable*.

Masalah yang ada pada penggunaan senyawa kitosan adalah tingkat kelarutannya.

Kitosan hanya larut dalam asam dan kelarutannya menurun seiring dengan kenaikan pH (Koide, 1998). Memodifikasi struktur kimia kitosan diharapkan dapat menghasilkan senyawa turunan kitosan yang mempunyai kelarutan lebih baik sehingga dapat memperluas aplikasi kitosan. Salah satu modifikasi gugus pada kitosan adalah penggantian gugus hidroksil dengan gugus karboksilat menjadi karboksimetil kitosan (Saputro dan Mahardiani, 2011). Basmal dkk. (2007) mengungkapkan bahwa karboksimetil kitosan dapat meningkatkan kelarutan dan juga rendemen. Patale dan Patravale (2011) menyatakan bahwa bertambahnya muatan elektrik kitosan menyebabkan kitosan lebih mudah larut air sehingga juga meningkatkan aktivitas lainnya seperti antimikrobia.

Aplikasi karboksimetil kitosan terhadap bakso ikan patin telah dilakukan oleh Condروطutri (2009) untuk meningkatkan daya simpan bakso ikan patin pada suhu kamar, tetapi penggunaannya dalam meningkatkan daya simpan filet nila merah belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan dalam mempertahankan mutu mikrobiologi (TPC), kimiawi (TVB dan pH), dan organoleptik (skoring) filet nila merah yang disimpan pada suhu rendah.

Metode

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian berlangsung dari Februari - Oktober 2017. Pengambilan limbah kulit udang dilakukan di rumah makan Udang-Udang 45 Kotagede, Yogyakarta. Pengambilan nila merah berasal dari pembudidaya ikan Moro Seneng, Babarsari, Yogyakarta. Penyimpanan sampel, preparasi bahan, pembuatan karboksimetil kitosan, pembuatan filet nila dan uji skoring dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Ikan, Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pengujian aktivitas antibakteri dan Pengujian mutu filet nila dilakukan di Laboratorium Mutu dan Keamanan Pangan Hasil Perikanan, Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada,

Yogyakarta. Pengujian FTIR (*Fourier Transformed Infra Red*) dilakukan di Laboratorium Organik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain gelas beker (Iwaki Pyrex, Indonesia), gelas ukur (Iwaki Pyrex, Indonesia), kertas label, plastik klip (C-tik 20x11 cm), magnetik stirrer (Labnet Accuplate Hotplate Strer PC-420 D, Mexico), kompor listrik (Maspion, Japan), pipet ukur (Precicolor HBG, Germany), termometer, pH meter (PH-009 I), cawan petridish (Normax, Portugal), cawan conway, kertas saring, oven (Eyela Natural Oven NDO-451SD, Japan), loyang, saringan (Sanpo, Japan), baskom, timbangan (Simadzu BX-320D, Japan), bunsen, kapas, autoklaf (YXQ 602), blender (Philips, Holland), *refrigerator* (Toshiba, Japan), *bluetip* (Axygen, USA), mikropipet (Rainin, China), *vortex* (Barnstead Thermolyne 37600 Mixer, USA), pinset, *paperdisc* (Advantec, Japan), botol kaca 500 ml, jangka sorong, tabung reaksi (Iwaki Pyrex, Indonesia), jarum inokulasi, inkubator (Isuzu Incubator, SSJ-115 Japan), dan spektrofotometer (Thermo Spectronic Genesys 20, USA).

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat *Staphylococcus aureus* (FNCC 0047) dan *Escherichia coli* (FNCC 0091) dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan (PAU UGM, Yogyakarta), aquades, HCl teknis, NaOH teknis, HCl (p.a) (Mallinckrodt, USA), NaOH (p.a) (Merck, Germany), etanol (p.a) (Merck, Germany), isopropanol (p.a) (Merck, Germany), asam monokloroasetat (Sigma Aldrich, Germany), Medium TSB (Oxoid, England), NaClO (Bayclin), Metanol 70%, asam asetat glasial (Merck, Germany), amoxilin (Indo Farma, Indonesia), medium NA (Merck, Germany), TCA 7% (Merck, Germany), asam borat (Merck, Germany), H_3BO_3 (Merck, Germany), dan K_2CO_3 jenuh (Merck, Germany).

Preparasi Bahan

Pengambilan limbah kulit udang dilakukan di rumah makan Udang-Udang

45 Kotagede, Yogyakarta. Kulit udang yang diperoleh dibersihkan dengan cara dicuci dengan air mengalir, kemudian direbus selama 1 jam. Kulit udang ditiriskan, lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu $100^{\circ}C$ selama 2 jam hingga kering. Kulit udang kemudian dikecilkan ukurannya menggunakan mesin *grinder* hingga lolos saringan berukuran 40 mesh (Putra dkk., 2013).

Pembuatan Kitosan

Kitosan diperoleh melalui empat tahap yaitu demineralisasi, deproteinasi, dekolorisasi, dan deasetilasi. Demineralisasi menggunakan HCl 2N dengan perbandingan cangkang:HCl sebesar 1:20 (w/v) dan diaduk dengan kecepatan 800 rpm selama 180 menit pada suhu ruang. Cangkang hasil demineralisasi kemudian dikeringkan pada suhu $50^{\circ}C$ semalaman. Selanjutnya dilakukan proses deproteinasi menggunakan NaOH 3,5% dengan perbandingan cangkang:NaOH sebesar 1:15 (w/v) yang diaduk dengan kecepatan 800 rpm pada suhu $75^{\circ}C$ selama 120 menit. Hasil dari proses deproteinasi dan demineralisasi adalah kitin. Dekolorisasi dilakukan setelahnya menggunakan 0,315 % (v/v) NaClO, dengan perbandingan kitin:NaClO sebesar 1:15 (w/v) diaduk dengan kecepatan 600 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Cangkang kemudian dikeringkan kembali pada suhu $50^{\circ}C$ semalaman. Kitin yang diperoleh kemudian dilanjutkan pada proses deasetilasi untuk menghasilkan kitosan. Deasetilasi dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 50%, dengan perbandingan kitin:NaOH sebesar 1:20 (w/v) yang diaduk dengan kecepatan 800 rpm selama tiga jam pada suhu $100^{\circ}C$. Kitosan dikeringkan pada suhu $50^{\circ}C$ selama 12 jam.

Pelarutan Kitosan

Kitosan dilarutkan dalam asam asetat 1% dengan perbandingan kitosan: asam asetat sebesar 1:1 dan diaduk selama dua jam kemudian disaring. Kitosan dikeringkan pada suhu $50^{\circ}C$ semalaman (Benhabiles dkk, 2012). Tang dkk. (2007) mengungkapkan kitosan lebih mudah larut dalam asam asetat satu hingga dua persen dan membentuk suatu garam ammonia asetat.

Pembuatan Karboksimetil Kitosan

Sebanyak 20 gram kitosan dilarutkan dalam 200 ml isopropil alkohol dan diaduk pada suhu kamar hingga rata. Selanjutnya ditambahkan total 50,4 ml NaOH 10M dalam enam kali penambahan setiap empat menit sambil diaduk, larutan terus diaduk hingga 45 menit. Kemudian ditambahkan asam monokloroasetat sebanyak 24 gram dalam 20 menit. Proses esterifikasi dilakukan pada suhu 90°C selama tiga jam. Proses selanjutnya adalah penambahan akuades dingin 17 ml kemudian diatur hingga pH tujuh dengan asam asetat glasial. Setelah pH netral larutan disaring dan padatan dicuci dengan methanol 70% dengan perbandingan 1:15. Selanjutnya dilakukan penyaringan kedua dengan methanol anhidrat dengan perbandingan yang sama. Padatan diambil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C semalaman (Putra dkk., 2013). Karboksimetil kitosan yang masih padat kemudian diblender menjadi serbuk halus dan disaring menggunakan saringan 40 mesh.

Pengukuran Rendemen

Rendemen transformasi kitosan menjadi karboksimetil kitosan ditentukan berdasarkan persentase berat KMK yang dihasilkan terhadap berat kitosan yang diperoleh. Rendemen karboksimetil kitosan dihitung berdasarkan perbandingan antara berat KMK dengan berat kitosan menggunakan rumus yang mengacu pada Zahiruddin dkk. (2008):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat KMK}}{\text{Berat Kitosan}} \times 100\%$$

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian antimikroba pada karboksimetil kitosan dilakukan pada bakteri Gram positif *S.aureus* dan Gram negatif *E.coli* menggunakan *disc diffusion test* mengacu pada metode Kucukgulmez dkk. (2012). Pengujian antibakteri terdiri dari tahap persiapan dan tahap pengujian. Tahap persiapan yaitu pembuatan medium TSB dan NA. Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ditumbuhkan pada medium TSB yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Medium NA steril dituang pada petridish masing-masing 15 ml dan disimpan didalam

refrigerator selama 24 jam. Sebanyak 100 µl kultur bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dituang pada medium NA dan diratakan dengan driglaski. Sampel yang digunakan adalah antibiotik komersil amoxilin (mengandung amoxilin 500 mg) dengan konsentrasi 2% sebagai kontrol positif, akuades sebagai kontrol negatif, dan karboksimetil kitosan 2%. Kontrol positif dan karboksimetil kitosandilarutkan dalam akuades steril untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan. Tahap pengujian yaitu enam mm *paperdisc* pada medium NA yang telah mengandung bakteri target ditetesi 20 µl larutan karboksimetil kitosan, kontrol positif, dan negatif, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Kemampuan aktivitas antimikroba dihitung dengan mengukur diameter zona jernih yang terbentuk.

Pembuatan Filet Nila Merah

Nila merah segar (200-250 g/ekor) diperoleh dari pembudidaya ikan Moro Seneng, Babarsari, Yogyakarta. Ikan dicuci, dibuang bagian sisik, kepala, ekor, sirip, usus dan bagian dalam lainnya. Kedua sisi tubuh ikan dipotong melintang dari bagian punggung sampai ekor untuk memperoleh lempengan daging. Daging selanjutnya dipisahkan dari tulang dan kulit (*skinless*) (Riyanto dkk, 2012).

Penyimpanan Filet pada Suhu Dingin dengan Pemberian Perlakuan Konsentrasi

Penyimpanan filet nila pada suhu dingin dengan pemberian perlakuan dengan metode yang digunakan oleh Sathivel (2005). Serbuk karboksimetil kitosan ditimbang dan dibuat konsentrasi 2%, 3%, dan 4% dengan cara dilarutkan dalam akuades menggunakan *magnetic stirrer* selama satu jam, sedangkan kontrol (0%) merupakan filet tanpa perendaman. Filet nila distandarisasi dengan berat 200 gram, kemudian direndam dalam larutan karboksimetil kitosan yang telah disiapkan sesuai dengan perlakuan berbagai konsentrasi (0, 2, 3, dan 4%). Perendaman filet dan KMK dilakukan dengan perbandingan 1:1 (w/v), direndam selama 60 menit pada suhu kamar, kemudian ditiriskan selama dua

menit. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali. Filet yang telah direndam dan ditiriskan, kemudian dimasukkan dalam plastik klip HDPE dan disimpan dalam rak-rak *chilling room* (*Cold storage* Departemen Perikanan UGM) pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$ selama 12 hari dengan pengamatan hari ke- 0, 4, 8 dan 12. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati meliputi uji mikrobiologi yaitu uji Total Plate Count (BSN, 2006a), kimiawi yaitu TVB (AOAC, 1995) dan pH (AOAC, 1990), dan uji organoleptik (BSN, 2006b).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) menggunakan SPSS 20. Sebelum dilakukan uji ANOVA perlu dilakukan uji asumsi ANOVA. Apabila data menunjukkan tidak berdistribusi normal atau varian tidak homogen maka data harus ditransformasikan. Apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji beda nyata dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf $\alpha 0,05$. Uji skoring parameter kenampakan, tekstur, dan bau menggunakan uji Kruskal Wallis yang bertujuan untuk mengetahui apakah antara perlakuan berbeda nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen transformasi kitosan menjadi karboksimetil kitosan ditentukan berdasarkan persentase berat KMK yang dihasilkan dibagi berat kitosan yang diperoleh. Berat akhir KMK sebesar 37,12 gram dibagi dengan berat kitosan 20 gram sehingga diperoleh rendemen akhir KMK sebesar 185,60% yang menunjukkan rendemen yang meningkat. Peningkatan jumlah rendemen dapat disebabkan oleh jumlah substitusi atom H^+ yang terdapat pada kitosan dengan gugus CH_2COO^- dari asam monokloroasetat semakin meningkat. Semakin tinggi suhu maka reaksi yang terjadi juga semakin banyak sehingga substitusi yang terjadi juga semakin besar dan berpengaruh pada hasil rendemen akhir (Putra dkk., 2013). Selain itu, peningkatan rendemen tersebut

disebabkan karena tingginya konsentrasi NaOH yang digunakan, maka semakin banyak alkali kitosan yang dihasilkan sehingga semakin banyak pula kitosan yang tersubstitusi gugus karboksimetil yang dapat meningkatkan rendemen KMK yang dihasilkan (Rahmawati dan Iskandar, 2014).

Aktivitas Antibakteri Karboksimetil Kitosan

Hasil pengujian menunjukkan larutan karboksimetil kitosan 2% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Diameter zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Dengan melakukan uji antibakteri karboksimetil kitosan terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* yang menunjukkan diameter zona hambat lebih besar yaitu 8,10 dan 8,13 mm (Putra dkk., 2013). Hal tersebut dapat disebabkan oleh nilai DD yang lebih tinggi yaitu sebesar 91,22%, sedangkan nilai DD dalam penelitian ini adalah sebesar 84,73%. Semakin besar derajat deasetilasi menyebabkan semakin banyaknya gugus asetil yang terlepas atau semakin banyaknya gugus aktif amida bebas ($-\text{NH}_2$) yang terdapat dalam molekul kitosan yang memberikan efek antimikrobia karena dapat membentuk polikation yang memiliki afinitas yang kuat terhadap sel bakteri (Rabea dkk., 2003). Muzarelli dan Peter (1997) juga mengungkapkan bahwa semakin besar derajat deasetilasi, maka kitosan semakin aktif karena banyaknya gugus amina yang menggantikan gugus asetil. Gugus amina lebih reaktif dibandingkan gugus asetil karena adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen dalam struktur kitosan.

Penggunaan karboksimetil kitosan sebagai antibakteri untuk Gram positif dan negatif cukup efektif. Davis (2000) mengklasifikasikan daya hambat antibakteri di mana daya hambat sebesar 10-20 mm memiliki daya hambat yang kuat terhadap bakteri. Sedangkan daya hambat yang sangat kuat sebesar > 20 mm dan antara 5-10 mm adalah daya hambat sedang. Antibiotik tergolong antibakteri yang memiliki daya hambat kuat, sedangkan karboksimetil kitosan memiliki daya hambat yang lemah. Pengujian

aktivitas antibakteri KMK telah dilakukan pada penelitian Condroputri (2009) menggunakan uji MIC, yang menunjukkan bahwa KMK konsentrasi minimum 1% bersifat menghambat bakteri dan tidak membunuh bakteri *S.aureus*.

Tabel 1
Diameter zona hambat karboksimetil kitosan terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

Sampel uji	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
KMK 2%	4,7 ± 0,3 ^a	4,2 ± 0,6 ^a
Amoxilin	14,4 ± 1,9 ^b	15,4 ± 3,8 ^b
Akuades steril	0	0

Keterangan: KMK = Karboksimetil Kitosan; notasi huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata antar sampel (Farida, 2018)

Menurut penelitian yang dilakukan Davis (2000), kekuatan daya antibakteri sangat kuat apabila zona hambat lebih besar dari 20 mm, kuat 10-20 mm, sedang 5-10 dan lemah kurang dari 5 mm. Nilai zona hambat KMK 2% terhadap *E.coli* dan *S.aureus* sebesar 4,7 dan 4,2 mm, sehingga dapat dikatakan KMK 2% memiliki daya hambat yang lemah karena zona hambatnya kurang dari 5 mm. Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan KMK 2% mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Condroputri (2009) di mana konsentrasi minimum KMK untuk menghambat bakteri adalah 1%, tetapi belum dapat membunuh bakteri *S.aureus*, sehingga perlu dilakukan pengujian menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi terhadap bakteri *S.aureus*. Hasil menunjukkan bahwa KMK 2% dapat menghambat bakteri yang memiliki daya hambat tergolong lemah. Selain itu, pengujian antibakteri menggunakan KMK 2% sebagai konsentrasi terkecil dalam penelitian ini dan sebagai konsentrasi yang mewakili untuk dibandingkan dengan kontrol positif (antibiotik) dan negatif (akuades).

Eschericia coli merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki lipopolisakarida pada bagian *outer membrane*. Lipopolisakarida memiliki muatan negatif, sehingga akan

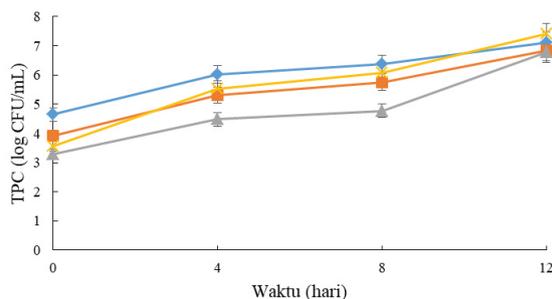
berikatan dengan NH₃⁺ glukosamin KMK. Interaksi tersebut akan menyebabkan kerusakan membran luar sel dan keluarnya konstituen intraselular bakteri. Pada karboksimetil kitosan, muatan positif dari kelompok C-2 berinteraksi dengan komponen anion dari kandungan lipopolisakarida, protein pada permukaan bakteri. Interaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan struktur terluar membran dan keluarnya protein dari dalam sel (Helander dkk., 2001). Kitosan derivatif dengan BM rendah dapat masuk ke dalam bagian intraseluler sel, tercampur dengan DNA sehingga penulisan DNA menjadi berubah (Du dkk., 2006).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki kepekaan terhadap senyawa antibakteri lebih tinggi dibandingkan Gram negatif karena adanya perbedaan struktur dinding sel. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Struktur dinding sel mikroba Gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel. KMK memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara mengganggu penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Lamothe dkk., 2009). Dinding sel bakteri *S. aureus* mengandung asam teikoat sekitar 40%. Terdapat dua jenis asam teikoat yaitu asam teikoat dinding sel yang secara kovalen berikatan dengan peptidoglikan dan asam teikoat membran (lipoteikoat) yang secara kovalen berikatan dengan glikolipid membran. Asam teikoat dan asam lipoteikoat menempel di atas lapisan peptidoglikan dikarenakan keduanya bermuatan negatif (Nester, 2004), sehingga muatan negatif dari kedua jenis asam teikoat tersebut diduga dapat berikatan dengan muatan positif pada KMK.

Total Plate Count (TPC)

Berdasarkan hasil pengujian mikrobiologi, nilai TPC filet nila merah yang direndam

karboksimetil kitosan selama penyimpanan dingin dapat dilihat pada Gambar 1. Menurut SNI 01-4103.1-2006, nilai TPC maksimal pada filet beku segar yaitu $5,0 \times 10^5$ CFU/mL (BSN, 2006^a).



Gambar 1

Pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan (◆: 0%; ■: 2%; ▲: 3%; ✕: 4%) terhadap nilai TPC (log CFU/mL) filet nila merah selama penyimpanan suhu 5°C (Farida, 2018)

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan pada hari ke 0 nilai TPC semua perlakuan berkisar $3,3-4,64 \times 10^5$ CFU/mL yang berarti filet masih segar dan layak konsumsi, kemudian mengalami peningkatan sampai pengamatan hari terakhir. Nilai TPC hari ke-0, 4, 8, dan 12 memiliki beda nyata antar perlakuan ($p < 0,05$). Pada hari ke-0 semua konsentrasi masih layak konsumsi. Hari ke-4 semua perlakuan mengalami kenaikan nilai TPC di mana konsentrasi 0%, 2%, dan 4% sudah tidak layak konsumsi karena memiliki nilai melebihi batas mutu ($5,0 \times 10^5$ CFU/mL) yaitu berturut-turut 6×10^5 CFU/mL; $5,3 \times 10^5$ CFU/mL; dan $5,5 \times 10^5$ CFU/mL, sedangkan konsentrasi 3% masih layak konsumsi dengan nilai TPC $4,4 \times 10^5$ CFU/mL. Pada hari ke-8 hanya konsentrasi 3% yang masih layak konsumsi yaitu memiliki nilai $4,7 \times 10^5$ CFU/mL. Hari ke-12 menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki nilai melebihi batas mutu TPC. Konsentrasi 0%, 2%, 3% dan 4% memiliki nilai TPC berturut-turut $7,1 \times 10^6$ CFU/mL, $6,8 \times 10^6$ CFU/mL, $6,7 \times 10^6$ CFU/mL, dan $7,4 \times 10^6$ CFU/mL. Konsentrasi 4% pada hari ke-12 memiliki nilai TPC yang paling tinggi dibandingkan konsentrasi yang lebih rendah maupun tanpa perlakuan. Hal ini bisa disebabkan mutu bahan baku awal ikan nila

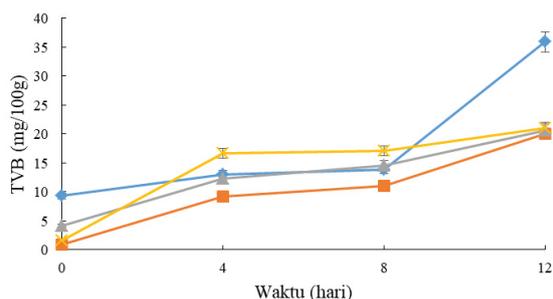
merah sudah rendah, sehingga mempengaruhi hasil TPC pada hari berikutnya.

Peningkatan kandungan bakteri total pada filet nila merah dikarenakan daging ikan merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan bakteri yang menyebabkan bakteri dapat tumbuh pada daging ikan (Munandar dkk., 2009). Di sisi lain, jumlah bakteri pada perlakuan KMK lebih rendah dibanding tanpa perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan karboksimetil kitosan dapat menghambat aktivitas bakteriostatik yang meningkat pada filet nila merah. KMK tidak membunuh bakteri, tetapi menghambat pertumbuhan bakteri, di mana semakin lama waktu penyimpanan menunjukkan aktivitas bakteri semakin tinggi. Aktivitas antibakteri KMK terjadi karena adanya sifat polikation yang dapat mengganggu membran sel bakteri yang bermuatan negatif (Helander dkk., 2001). Hal tersebut sebanding dengan uji antibakteri dalam penelitian ini bahwa KMK menghambat bakteri atau bersifat bakteriostatik bahwa KMK dapat menghambat aktivitas bakteri selama delapan hari, tetapi semakin lama waktu penyimpanan maka aktivitas bakteri semakin tinggi. Berdasarkan mutu TPC, penelitian ini sebanding dengan filet nila merah yang direndam ekstrak *Padina* sp. (Husni dkk., 2014) dan *Turbinaria conoides* (Perdana, 2016) yang masih layak dikonsumsi sampai hari ke-8 penyimpanan. Akan tetapi, masih lebih rendah dibandingkan ekstrak *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) yang masih layak konsumsi sampai hari ke-10. Berdasarkan hasil sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa pemberian perlakuan karboksimetil kitosan memberikan pengaruh terhadap nilai TPC filet nila merah pada semua hari pengamatan ($p < 0,05$). Perlakuan terbaik adalah perlakuan 3% karena dapat mempertahankan nilai TPC di bawah batas standar sampai hari ke-8 penyimpanan.

Total Volatile Base (TVB)

Berdasarkan hasil pengujian kimia, nilai TVB filet nila merah yang direndam karboksimetil kitosan selama penyimpanan dingin dapat dilihat pada Gambar 2. Menurut

SNI 01-4103.1-2006, nilai TVB maksimal pada filet beku segar yaitu 20 mg/100g (BSN, 2006^a).



Gambar 2

Pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan (◆: 0%; ■: 2%; ▲: 3%; ×: 4%) terhadap nilai TVB (mg/100g) filet nila merah selama penyimpanan suhu 5°C (Farida, 2018)

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa hari ke-0 semua perlakuan memiliki nilai TVB yang masih rendah yang berarti filet nila merah masih dalam kondisi segar. Hal ini dikarenakan ikan dari pembudidaya dalam kondisi hidup dan kemudian langsung dilakukan proses pembuatan filet. Seiring dengan lamanya penyimpanan, nilai TVB mengalami peningkatan sampai hari ke-12. Perlakuan tanpa perendaman (kontrol) memiliki nilai TVB tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan perendaman KMK. Dergal dkk. (2013) mengungkapkan bahwa nila merah yang disimpan pada suhu 4°C selama 5 hari memiliki nilai TVB $37,89 \pm 0,43$ mg/100g. Hal tersebut menunjukkan perlakuan perendaman memberi pengaruh terhadap nilai TVB, di mana semakin lama penyimpanan maka nilai TVB cenderung meningkat karena aktivitas enzim pengurai mulai bekerja.

Nilai TVB pada hari ke-4 mengalami peningkatan, tetapi semua perlakuan masih dikatakan layak konsumsi karena nilainya tidak melebihi batas standar. Pada hari ke-8 mengalami kenaikan nilai TVB yang tidak berbeda nyata dengan hari ke-4 dan masih dikatakan layak konsumsi. Pada hari ke-12 perlakuan konsentrasi 0% dan 4% sudah melebihi batas standar yaitu 35 mg/100g

dan 21 mg/100g. Konsentrasi 2% dan 3% memiliki nilai TVB yang mencapai batas maksimal yaitu 20 mg/100g, sehingga hari ke-12 merupakan batas maksimal layak konsumsi pada konsentrasi tersebut. Hal tersebut terjadi dimungkinkan karena antibakteri pada karboksimetil kitosan dapat menghambat aktivitas bakteri pembusuk yang terdapat pada filet nila merah. Menurut Santoso dkk., (1999), peningkatan kandungan TVB pada daging ikan selama penyimpanan karena adanya degradasi protein dan derivatnya oleh mikroorganisme yang menghasilkan basa mudah menguap seperti Trimethylamine (TMA), amoniak, dan H₂S.

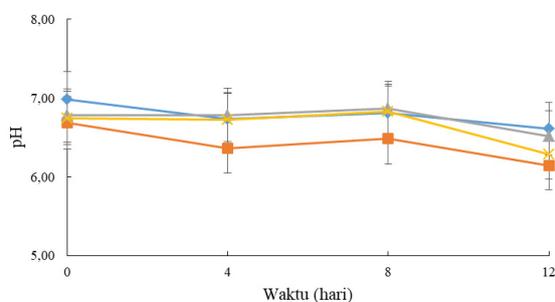
Konsentrasi 2% dan 3% merupakan nilai TVB terbaik yang masih layak konsumsi sampai hari ke-12. Berdasarkan mutu TVB, hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan ekstrak *Padina* sp. (Husni dkk., 2014), *Turbinaria conoides* (Perdana, 2016) dan *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) yang masih layak dikonsumsi sampai hari ke-8. Perlakuan penggunaan karboksimetil kitosan memiliki kandungan TVB paling rendah, sedangkan tanpa perlakuan memiliki kandungan TVB tertinggi. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian karboksimetil kitosan memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai TVB filet nila merah hari ke-0, 4, 8 dan 12. Analisis DMRT menunjukkan hari ke-4 dan 12 nilai TVB konsentrasi 2% dan 3% tidak berbeda nyata. Konsentrasi 2% dan 3% merupakan perlakuan terbaik karena dapat mempertahankan nilai TVB sampai hari ke-12 penyimpanan.

pH

Nilai pH filet nila merah yang diberi perlakuan perendaman karboksimetil kitosan dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan pH filet nila merah yang disimpan pada suhu rendah masih stabil pada awal penyimpanan berkisar 6,68-6,98, tetapi filet dengan perlakuan memiliki pH sedikit lebih rendah dibandingkan tanpa perlakuan. Hal tersebut dikarenakan larutan karboksimetil kitosan yang mengandung

**ATIKAH NUR FARIDA, AMIR HUSNI, DAN INDUN DEWI PUSPITA ❖ KARBOKSIMETIL
KITOSAN MEMPERPANJANG DAYA SIMPAN FILET NILA MERAH YANG....**

asam monokloroasetat yang merupakan asam lemah. Semakin banyak penambahan KMK maka nilai pH semakin rendah. Pada hari ke-4 semua perlakuan mengalami penurunan pH yaitu perlakuan 0%, 2%, 3% dan 4% berturut-turut 6,73, 6,36, 6,78, 6,73. Penurunan pH ini disebabkan mulai terbentuknya asam laktat hasil reaksi pemecahan glikogen oleh enzim yang terdapat pada daging nila. Pada hari ke-8 nilai pH semua perlakuan cenderung naik, nilai pH perlakuan 0%, 2%, 3%, dan 4% berturut-turut 6,81, 6,49, 6,87, dan 6,83. Hal



tersebut menunjukkan adanya aktivitas enzim proteolitik yang terdapat pada jaringan daging ikan yang menghasilkan amonia (Santoso dkk., 1999).

Gambar 3

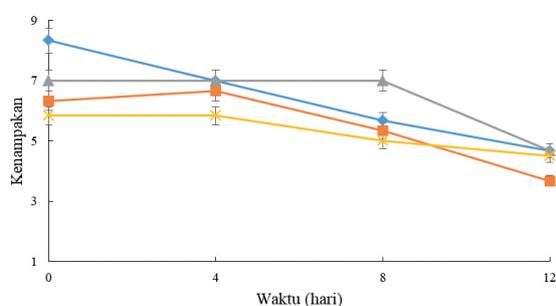
Pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan (◆: 0%; ■: 2%; ▲: 3%; ×: 4%) terhadap nilai pH filet nila merah selama penyimpanan suhu 5°C (Farida, 2018)

Hari ke-12 nilai pH semua perlakuan cenderung menurun, perlakuan 0%, 2%, 3% dan 4% berturut-turut 6,61, 6,14, 6,51 dan 6,29. Menurut Wally dkk. (2015) batas pH maksimum ikan yang masih segar yaitu 6,8-7,0. Konsentrasi 3% merupakan nilai pH terbaik yang masih layak konsumsi sampai hari ke-8. Berdasarkan parameter pH, penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) dan *Padina* sp. (Husni dkk., 2014) yang layak konsumsi sampai hari ke-10 (Suptijah dkk., 2008) mengungkapkan bahwa perlakuan menggunakan senyawa antibakteri dapat menghambat aktivitas bakteri sehingga penguraian protein oleh bakteri menjadi terhambat dan peningkatan

kandungan nitrogen non- protein yang dapat menyebabkan akumulasi basa juga ikut terhambat. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian karboksimetil kitosan memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai pH filet nila merah hari ke-0, 4, 8 dan 12. Analisis DMRT menunjukkan nilai pH konsentrasi 0% dan 3% tidak berbeda nyata.

Skor Kenampakan

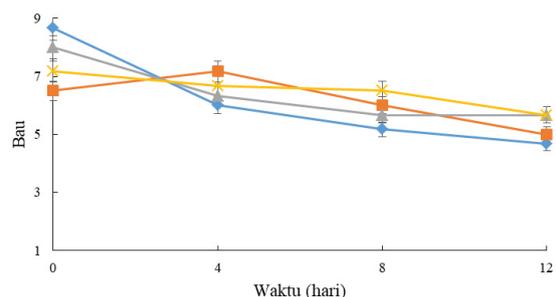
Berdasarkan hasil pengujian organoleptik, skor kenampakan filet nila merah yang diberi perlakuan perendaman karboksimetil kitosan dapat dilihat pada Gambar 5. Menurut SNI 01-4103.1-2006 (BSN, 2006^a), nilai organoleptik filet nila minimal 7. Pada hari ke-0 perlakuan 0% dan 3% memiliki nilai sesuai kelayakan SNI yaitu rata-rata 8,3 dan 7. Perlakuan 2% dan 4% nilainya di bawah standar SNI yaitu 6,3 dan 5,8. Pada hari ke-4, perlakuan yang sesuai SNI adalah perlakuan 0% dan 3% dengan skor tujuh. Hari kedelapan menunjukkan hanya konsentrasi 3% yang masih sesuai standar yaitu tujuh. Hari ke-12 menunjukkan semua perlakuan skor kenampakannya menurun dan tidak sesuai standar yaitu nilainya berkisar 3,6-4,6. Perlakuan terbaik adalah perlakuan konsentrasi 3% karena dapat mempertahankan kenampakan sampai delapan hari, dengan spesifikasi kenampakan syatan daging utuh, bersih, putih susu kurang cemerlang, linea lateralis berwarna merah kurang cerah (BSN, 2006^a). Konsentrasi 3% memiliki skor kenampakan terbaik yang masih layak konsumsi sampai hari kedelapan. Berdasarkan skor kenampakan, hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan ekstrak *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) dan *Padina* sp. (Husni dkk., 2014) yang masih layak konsumsi sampai hari kedelapan dan keempat. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian karboksimetil kitosan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kenampakan filet nila merah hari ke-0, 4, 8 dan 12 ($p > 0,05$). Analisis DMRT menunjukkan hari ke-0 dan 4 tidak berbeda nyata.



Gambar 4

Pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan (♦: 0%; ■: 2%; ▲: 3%; ×: 4%) terhadap skor kenampakan filet nila merah selama penyimpanan suhu 5°C (Farida, 2018)

Skor Bau



Gambar 5

Pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan (♦: 0%; ■: 2%; ▲: 3%; ×: 4%) terhadap skor bau filet nila merah selama penyimpanan suhu 5°C (Farida, 2018)

Gambar 6 menunjukkan skor bau filet yang fluktuatif dari hari ke-0 sampai hari ke-12. Hari ke-0 pada perlakuan 0%, 3% dan 4% memiliki skor bau sesuai standar yaitu 8,6, 8, dan 7,1. Pada hari keempat hanya perlakuan 2% yang memiliki skor sesuai standar SNI, sedangkan perlakuan lainnya berkisar 6-6,6. Konsentrasi 2% hari ke-0 tidak sesuai standar, tetapi pada hari ke-4 skornya naik menjadi 7,1 dengan spesifikasi bau segar, spesifik jenis, agak sedikit bau lumpur. Hari kedelapan sampai hari ke-12 semua perlakuan memiliki nilai di bawah 7, sehingga tidak sesuai standar. Berdasarkan skor bau, hasil penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan ekstrak *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) yang masih layak konsumsi sampai hari keenam. Hal tersebut dapat disebabkan

bau asam yang berasal dari karboksimetil kitosan, dimana KMK mengandung asam monokloroasetat yang bersifat asam lemah. Menurut Suptijah dkk., (2008) proses pembusukan pada daging dapat menghasilkan senyawa volatil yang menghasilkan bau busuk pada ikan. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian karboksimetil kitosan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap bau filet nila merah hari ke-0, 4, 8 dan 12 ($p>0,05$). Analisis DMRT menunjukkan hari ke-4 dan 8 serta hari ke-8 dan 12 tidak berbeda nyata.

SKOR TEKSTUR

Gambar 7 menunjukkan skor tekstur filet nila yang fluktuatif dari hari ke-0 sampai hari ke-12. Hari ke-0 tekstur filet nila perlakuan 0%, 2% dan 3% masih layak dengan skor 7-8 dengan spesifikasi padat, kompak dan agak elastis. Pengamatan hari ke-4 sampai hari ke-12 secara keseluruhan tekstur dikatakan tidak layak. Pada hari ke-4 skor tekstur berkisar 5-6,8, sedangkan hari ke-8 berkisar 5,1-6,3, dan hari ke-12 berkisar 3,6-4,6. Berdasarkan skor tekstur, hasil penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan ekstrak *Gracilaria* sp. (Husni dkk., 2013) dan *Padina* sp. (Husni dkk., 2014) yang masih layak konsumsi sampai hari ke-6. Menurut Suptijah dkk., (2008) proses pembusukan yang terjadi pada ikan menyebabkan tekstur tidak kompak dan menjadi lunak yang disebabkan proses autolisis pada ikan yang menimbulkan perubahan pada daging. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian karboksimetil kitosan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap tekstur filet nila merah hari ke-0, 4, 8 dan 12 ($p>0,05$). Analisis DMRT menunjukkan hari ke-4 dan 8 tidak berbeda nyata. Nilai organoleptik keseluruhan filet nila merah paling tinggi terdapat pada perlakuan 3%.

SIMPULAN

Karboksimetil kitosan memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Pemberian perlakuan karboksimetil kitosan 3% merupakan perlakuan terbaik

dalam mempertahankan daya simpan filet nila merah pada suhu 5°C sampai hari ke-8 berdasarkan parameter TPC, TVB, pH, dan skor kenampakan.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1990. *Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*. Washington DC.: Association of Official Analytical Chemist.
- AOAC. 1995. *Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*, Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- Basmal, J., Prasetyo, dan A., Fawzya, Y.N.. 2007. Pengaruh Suhu Eterifikasi Terhadap Kualitas Dan Kuantitas Kitosan Larut Air Yang Dibuat Dari Cangkang Rajungan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 2(2): 99-106.
- Benhabiles, M.S., dan Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, dan M.F.A., Mameri, N. 2012. Antibacterial Activity of Chitin, Chitosan, and its Oligomers Prepared from Shrimp Shell Waste. *Journal Food Hydrocolloids* 29: 48-56.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2006a. Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan. SNI-01-2332.3-2006. Standar Nasional Indonesia (SNI).
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2006b. Filet Nila (*Tilapia* sp.) Beku-Bagian 1: Spesifikasi. SNI 01- 4103.1-2006. Standar Nasional Indonesia (SNI).
- Condroputri, S.D. 2009. Pengaruh Penggunaan N,O Karboksimetil Kitosan Dalam Memperpanjang Umur Simpan Bakso Patin Pada Penyimpanan Suhu Kamar. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Davis, S. 2000. Antibacterial Activity of Extracts of Six Macroalgae from the Northeastern Brazilian Coast. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:311-313.
- Dergal, N.B., Ayad, S.M.E.A.A., Degand, G., Douny, C., Brose, F., Daube, G., Rodrigues, A., dan Scippo, M.L. 2013. Microbial, Biochemical, and Sensorial Quality Assessment of Algerian Farmed Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Stored at 4°C and 30°C, *African Journal of Food Science* 7(12): 498-507.
- Diyantoro. 2007. Pengaruh Lama Penyimpanan Yang Berbeda Dalam Campuran Air Laut dan Es Terhadap Kemunduran Mutu Kesegaran Ikan Nila. <http://elibrary.ub.ac.id/handle/123456789/24788>.
- Du, Y., Sun, L., Fan, L., Chen, X., Yang, J. 2006. Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity of Quaternized Carboxymethyl Chitosan and Application as Pulp-Cap. *Carbohydrate Polymers* 46:1796-1804.
- Farida, A.N. 2018. Pengaruh Konsentrasi Karboksimetil Kitosan terhadap Daya Simpan Filet Nila Merah yang Disimpan pada Suhu Rendah. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Helander, I.M., Numiaho, E.L., Ahvenainen, R., Rohoades, dan J., Roller, S. 2001. Chitosan Disrupts the Barrier Properties of the Outer Membrane of Gram Negative Bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 71: 235-244.
- Husni, A., Ustadi, dan Wijaya, H. 2013. Penggunaan Ekstrak Rumpun Laut *Gracilaria* sp. untuk Peningkatan Daya Simpan Filet Nila Merah yang Disimpan pada Suhu Dingin. *Journal of Biological Sciences* 13(7): 640-644.

- Husni, A., dan Ustadi, Hakim, A. 2014. Penggunaan ekstrak rumput laut *Padina* sp. untuk peningkatan daya simpan filet nila merah yang disimpan pada suhu dingin. *Agritech* 34 (3): 239-246.
- Koev, S.T., Dykstra, P.H., Luo, X., Rubloff, G.W., Bentley, W.E., Payne, G.F., dan Ghodssi, R. 2010. Chitosan: An Integrative Biomaterial for Lab-on-a-Chip Devices. *Lab on a Chip* 10: 3026 - 3042.
- Koide, M.D. 1998. Chitin-chitosan: properties, benefits, and risk. *Nutrition Research* 18: 1091-1101
- Kucukgulmez, A.O.G., Celik, M., Yanar, dan Y., Kadak, A.E., Gercek, G. 2012. Antimicrobial Activity of the Chitosan Extracted from *Metapenaeus Stebbingi* Shell Wastes. *Journal of Polymers and the Environment* 20:431-437.
- Lamothe, R.G., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., dan Malouin, F. 2009. Plant Antimicrobial Agents and their Effects on Plant and Human Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences* 10:3400-3419.
- Munandar, A., Nurjannah, dan Nurilmala, M. 2009. Kemunduran Mutu Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) pada Penyimpanan Suhu Rendah dengan Perlakuan Cara Kematian dan Penyiangan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 12 (2): 88-101.
- Muzarelli, R.A.A., dan Peter, M.G. 1997. Chitosan Handbook. UK: European Chitin Society.
- Nester, G. 2004. Microbiology: A Human Perspective, 4thed. USA: Mac Graw Hill Companies..
- Nurjanah, I.S., Sukarno, dan Muldani, M. 2004. Kemunduran Mutu Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.) Selama Penyimpanan pada Suhu Ruang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 7: 37-43.
- Patale, R.L., dan Patravale, V.B. 2011. O, N-Varboxymethyl Chitosan-Zinc Complex: A Novel Chitosan Complex with Enhanced Antimicrobial Activity. *Carbohydrate Polymers* 85: 105-110.
- Perdana, I.A. 2016. Pengaruh Penggunaan Ekstrak *Turbinaria conoides* Terhadap Daya Simpan Filet Ikan Nila Merah Yang Disimpan Pada Suhu Rendah. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Putra, M.M.P., Putra, dan P., Husni, A. 2013. Pengaruh Suhu Eterifikasi pada Proses Pembuatan Karboksi Metil Kitosan terhadap Sifat Kelarutannya. *Seminar Nasional Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia V*, Semarang, 18-19 Oktober 2013.
- Rahmawati, H., dan Iskandar, D. 2014. Sintesis Karboksimetil Kitosan terhadap Pengaruh Konsentrasi Natrium Hidroksida dan Rasio Kitosan dengan Asam Monokloroasetat. *Jurnal Teknologi Technoscintia* 6(2): 145- 155.
- Rabea, E.E., Badawy, M.E.T., dan Stevens, C.V., Smagghe, G., Steurbout, W. 2003. Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *Biomacromolecules* 4: 1457-1465.
- Riyanto, R., Endang, S.H., dan Supriyadi. 2012. Prediksi Umur Simpan Filet Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang Dikemas Secara Vakum dengan Kantong Plastik HDPE. *Jurnal Pendidikan Biologi Perikanan* 7(2): 105-116.
- Santoso, J., Nurjanah, Sukarno, dan Sinaga, S.R. 1999. Kemunduran Mutu Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.) Selama Penyimpanan pada Suhu Chilling. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 6: 1-4.

**ATIKAH NUR FARIDA, AMIR HUSNI, DAN INDUN DEWI PUSPITA ❖ KARBOKSIMETIL
KITOSAN MEMPERPANJANG DAYA SIMPAN FILET NILA MERAH....**

- Saputro, A.N.C., dan Mahardiani, L. 2011. Sintesis Senyawa Turunan Kitosan "Chitosan Modified Carboxymethyl (CS-MCM)" dan Aplikasinya sebagai Agen Perbaikan Mutu Kertas Daur Ulang. *Jurnal Ekosains* 3: 47-54.
- Sathivel, S. 2005. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Onchornycus Gorbuscha*) Filets During Frozen Storage. *Journal of Food Science* 70: 455-459.
- Suptijah, P., Gushagia, Y., dan Sukarsa, D.R. 2008. Kajian Efek Daya Hambat Kitosan terhadap Kemunduran Mutu Fillet Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 89-101.
- Wally, E., Mentang, F., dan Montolalu, R.I. 2015. Kajian Mutu Kimiawi Ikan Cakalang (*Katsuwonus Pelamis L.*) Ssap (Fufu) Selama Penyimpanan Suhu Ruang dan Suhu Dingin. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* 3(1): 7-12.
- Zahiruddin, W., Ariesta, A., dan Salamah, E. 2008. Karakteristik Mutu dan Kelarutan Kitosan dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 25-29.