



Pengaruh Pelapisan Kitosan-Nisin terhadap Kualitas Ikan Sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) selama Masa Penyimpanan pada Suhu Rendah

Triana Kusumaningsih*, Tri Martini, Tika Diah Utami

Riset Grup Food and Medicinal Chemistry, Prodi Kimia, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36 A, Kentingan Surakarta 57126 telp. (0271) 663375

* Corresponding author

E-mail: [triana.kusumaningsih@staff.uns.ac.id](mailto: triana.kusumaningsih@staff.uns.ac.id)

DOI: 10.20961/alchemy.15.2.33892.251-271

Received 15 August 2019, Accepted 27 September 2019, Published 30 September 2019

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai preparasi dan karakterisasi pelapisan kitosan nisin terhadap kualitas ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) selama penyimpanan pada suhu rendah. Penyimpanan dilakukan selama 8 hari pada suhu 5 ± 2 °C. Nisin sebanyak (0, 2, 4, 6 dan 8 g) ditambahkan ke dalam larutan kitosan 1% (b/v), sehingga diperoleh lima larutan pelapis, yaitu kitosan 1,0% dan kitosan-nisin: 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8% (b/v). Pelapis kitosan-nisin optimal diketahui melalui pengamatan terhadap perubahan fisik daging. Tebal lapisan kitosan-nisin diamati menggunakan analisis SEM. Parameter yang diukur selama penyimpanan adalah nilai pH, nilai jumlah cemaran mikroba dengan metode *Total Plate Count* (TPC), kadar air, kadar lemak dan kadar protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan perubahan fisik selama penyimpanan, konsentrasi kitosan-nisin sebesar 0,6% (b/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mempertahankan kualitas ikan sidat. Tebal lapisan kitosan-nisin adalah (0,529 – 0,554) mm. Ikan sidat terlapis kitosan-nisin mengalami penurunan kadar proksimat (air, lemak dan protein), peningkatan nilai pH dan jumlah cemaran mikroba yang lebih rendah dibandingkan ikan tanpa pelapisan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pelapisan kitosan-nisin pada ikan sidat dapat mempertahankan kualitas ikan sidat selama penyimpanan pada suhu rendah.

Kata kunci: ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*), kitosan, nisin, pelapisan.

ABSTRACT

Effect of Chitosan-Nisin Coating on Quality of Eel (*Anguilla bicolor bicolor*) during the Storage Period at Low Temperature. The research of the preparation and characterization of chitosan-nisin as a coating layer on the eel (*Anguilla bicolor bicolor*) were studied. The quality of the eels after coating was observed during storage at low temperatures. The storage was carried out for 8 days at a temperature of 5 ± 2 °C. A various mass of nisin as much as (0, 2, 4, 6 dan 8 g) was added to 1% (b/v) chitosan solution, thus five coating solutions were obtained, namely 1.0% chitosan and chitosan-nisin 0,2; 0,4; 0,6 and 0,8% (w/v), respectively. The optimalization of chitosan-nisin coating was known through the observation of the physical changes of meat. The thickness of chitosan-nisin layer was observed using scanning electron microscopy (SEM) analysis. The parameters measured during storage are pH value, the amount of microbial contamination using the total plate count (TPC) method, water content, fat content and protein content. The results showed that based on the physical changes during storage, the concentration of chitosan-nisin of 0.6% (w/v) was the optimal concentration to maintain the quality of eel. The thickness of the chitosan-nisin layer was observed of 0.529 – 0.554 mm. Chitosan-nisin coated eel decreased proximate levels (water, fat and protein), increased pH value and lower amount of microbial contamination compared to fish without coating.

These phenomena show that the chitosan-nisin coating can maintain the quality of eel during storage at low temperatures.

Keywords: chitosan, coating, nisin, shortfin eel (*Anguilla bicolor bicolor*).

LATAR BELAKANG

Ikan sidat mempunyai nilai jual tinggi dengan permintaan pasar internasional mencapai 300.000 ton/tahun, merupakan peluang besar bagi Indonesia untuk membudidayakan ikan sidat sebagai komoditas ekspor. Beberapa metode penyimpanan ikan pasca-panen antara lain penyimpanan dingin (Özogul *et al.*, 2006), modifikasi atmosfer terkendali (Ruiz-Capillas *et al.*, 2001; Arkoudelos *et al.*, 2007), penyimpanan tekanan tinggi (Erkan *et al.*, 2010; Otero *et al.*, 2017), iradiasi (Cozzo-Siqueira *et al.*, 2003), pengawetan kimiawi, dan teknik pelapisan yaitu *edible film* atau *edible coating* (Mohan *et al.*, 2012). Metode penyimpanan dingin dirasa kurang maksimal karena beberapa jenis bakteri patogen maupun bakteri pembusuk masih dapat tumbuh dan berkembang pada suhu rendah sekalipun (Arkoudelos *et al.*, 2007), sedangkan pengawetan kimiawi mulai dihindari karena berpotensi berdampak buruk bagi kesehatan.

Teknik pelapisan secara langsung (*edible coating*) yang dikombinasikan dengan penyimpanan dingin merupakan salah satu alternatif penyimpanan dan pengawetan yang lebih efektif. Penyimpanan dingin dapat menghambat aktivitas enzim dan pertumbuhan bakteri (Ghaly *et al.*, 2010), serta dengan adanya lapisan yang menyelimuti permukaan tubuh ikan, kontak antara ikan dengan oksigen dari lingkungan menjadi lebih terbatas, sehingga reaksi oksidatif dapat dihambat (Yanar *et al.*, 2013). Selain itu, material *edible coating* juga dapat berperan sebagai pembawa (*carrier*) berbagai macam zat tambahan fungsional yang dapat meningkatkan kemampuan pelapis dalam menjaga kualitas dan kesegaran ikan (Salgado *et al.*, 2015).

Kitosan merupakan material *edible coating* berbasis polisakarida yang paling sering digunakan karena mampu membentuk film dengan baik, murah, bersifat non-toksik dan *biodegradable* (Dutta *et al.*, 2004). Keberhasilan *edible coating* kitosan telah dibuktikan pada ikan salmon (*Salmo salar*), sarden (*Sardinella longiceps*), dan sidat Eropa (*Anguilla anguilla*). Penggunaan *edible coating* kitosan dapat meningkatkan daya tahan simpan ikan salmon dan ikan sarden selama 3 hari, sedangkan untuk ikan sidat eropa mengalami peningkatan daya simpan selama 6 hari dibandingkan kontrol yaitu tanpa *edible coating* kitosan (Souza *et al.*, 2010; Küçükgülmez *et al.*, 2012; Mohan *et al.*, 2012). Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa kemampuan antibakteri kitosan terbatas pada

bakteri Gram-negatif, dan kurang efektif pada kelompok bakteri Gram-positif (Killay, 2013; Damayanti *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan modifikasi untuk meningkatkan aktivitas antibakteri dari film kitosan.

Penambahan bakteriosin diketahui efektif untuk meningkatkan kemampuan pelapis kitosan. Beberapa kelebihan penggunaan bakteriosin yaitu aman (Cleveland *et al.*, 2001), stabil terhadap panas dan mudah tergradasi oleh enzim proteolitik di saluran pencernaan (Janjarasskul *and* Krochta, 2010). Salah satu bakteriosin yang dapat digunakan adalah nisin.

Nisin merupakan peptida yang tersusun atas 34 jenis asam amino yang dihasilkan oleh bakteri *Lactococcus lactis* subsp (Sanjurjo *et al.*, 2006). Gugus-gugus aktif pada nisin, seperti $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}$, $-\text{C}=\text{O}$, dan $-\text{OH}$ dapat berinteraksi secara hidrogen maupun kovalen dengan gugus aktif pada kitosan (Pranoto *et al.*, 2005), yang menyebabkan terikatnya nisin pada polimer kitosan. Beberapa penelitian menunjukkan efektivitas nisin pada konsentrasi 0,6 % (b/v) sebagai antibakteri pada bakteri Gram-positif lebih besar dibandingkan bakteri Gram-negatif (Sanjurjo *et al.*, 2006; Adhikari *et al.*, 2012). Penambahan nisin pada kitosan akan menambah gugus-gugus aktif dalam lapisan, sehingga menghasilkan spektrum penghambatan bakteri yang lebih luas (Pranoto *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2015; Neetoo, 2016).

Oleh karena itu, preparasi dan karakterisasi pelapisan kitosan-nisin terhadap kualitas ikan sidat (*anguilla bicolor bicolor*) selama masa penyimpanan pada suhu rendah perlu dipelajari untuk mendapatkan *edible film* kitosan yang dapat memperpanjang umur simpan ikan sidat.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Ikan Sidat

Ikan sidat diperoleh dari UNAGI UNS, Banjarsari, Surakarta, umur (8–9) bulan dengan berat (200–250) gram.

Pembuatan Edible Film Kitosan-Nisin

Kitosan seberat 10 gram dilarutkan ke dalam 1000 mL asam asetat 1% (v/v) sehingga diperoleh larutan kitosan konsentrasi 1% (b/v) (dilabeli sebagai CS). Empat jenis larutan kitosan 1% lainnya dibuat dengan cara yang sama. Sebanyak 2, 4, 6, dan 8 gram nisin ditambahkan ke dalam empat jenis larutan kitosan 1%, sehingga diperoleh larutan kitosan-nisin dengan variasi konsentrasi nisin, yaitu larutan kitosan 1% dengan 0,2% nisin (b/v) (CS-N1), larutan kitosan 1% dengan 0,4% nisin (b/v) (CS-N2), larutan kitosan 1%

dengan 0,6% nisin (b/v) (CS-N3), dan larutan kitosan 1% dengan 0,8% nisin (b/v) (CS-N4).

Penentuan Kondisi Optimum Edible Film

Ikan sidat dimasukkan ke dalam akuades (kontrol), CS, CS-N1, CS-N2, CS-N3, dan CS-N4 selama satu menit hingga tercelup seluruhnya. Ikan diangkat, dikeringkan pada suhu ruang dan disimpan dalam Poli Etilen *sterile bag* pada lemari pendingin bagian *fresh room* ($t = 5 \pm 2$ °C). Pengamatan fisik sampel dilakukan setiap hari selama 10 hari dengan mengamati perubahan warna dan tekstur. Sampel yang mengalami *discoloration* paling lambat dipilih untuk analisis selanjutnya.

Pelapisan Ikan Sidat dan Penyimpanan Sampel

Pelapisan ikan sidat menggunakan kitosan-nisin mengacu penelitian Guohua *et al.* (2016) dengan modifikasi. Ikan sidat disortir berdasarkan persamaan ukuran dengan berat yang seragam. Ikan sidat yang terpilih kemudian dicuci dengan akuades untuk menghilangkan lendir ikan kemudian dibagi menjadi tiga kelompok. Ikan sidat dicelupkan pada akuades (kontrol), kitosan, dan kitosan-nisin optimum selama satu menit. Selanjutnya, ikan dikeringkan pada suhu ruang selama 10 menit dan dibungkus menggunakan PE *sterile bag*.

Sebagian dari ikan sidat digunakan untuk pengujian 0 hari, sebagiannya lagi disimpan setelah di-*treatment* dengan akuades (kontrol), kitosan, dan kitosan-nisin. Selanjutnya, sampel ikan sidat setelah *treatment* disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 5 ± 2 °C. Pengamatan fisik sampel dilakukan setiap hari selama 10 hari dengan mengamati perubahan warna dan tekstur. Pada hari ke-2, 4, 6, dan 8, masing-masing sampel diambil untuk dilakukan pengujian. Ikan sidat yang telah terlapis kitosan-nisin kemudian dipreparasi menjadi bentuk potongan tipis melintang hingga diperoleh sampel berupa daging dan permukaan terluar ikan sidat. Selanjutnya, dilakukan karakterisasi menggunakan SEM untuk mengetahui ketebalan lapisan yang terbentuk pada permukaan terluar ikan sidat.

Pengujian Sampel

Analisis Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan metode gravimetri berdasarkan SNI-01-2354.2-2006.

Analisis pH

Analisis pH dilakukan berdasarkan penelitian Özogul *et al.* (2005), Arkoudelos *et al.* (2007), Küçükgülmez *et al.* (2012) dan Ozogul *et al.* (2014). Sebanyak 10 gram

homogenat ikan sidat dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh didiamkan selama 30 menit dan diukur pH nya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dalam larutan buffer pH. Pengukuran dilakukan secara duplo.

Analisis Kadar Lemak

Analisis kadar lemak menggunakan metode ekstraksi Soxhlet. Sebanyak 2 gram sampel yang telah dihomogenkan (homogenat) dibungkus menggunakan kertas saring yang sebelumnya telah diketahui beratnya. Kloroform sebanyak 250 mL dituangkan ke dalam labu alas bulat. Sampel homogenat kemudian diekstraksi dengan *extractor soxhlet* pada suhu 60 °C selama 8 jam. Kertas saring berisi sampel yang telah diekstraksi selanjutnya dioven pada suhu 105 °C hingga kering untuk menghilangkan sisa kloroform dan uap air. Sampel kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga konstan. Pengukuran dilakukan secara duplo.

Analisis Kadar Protein

Pengujian kadar protein dalam ikan sidat selama masa penyimpanan dilakukan berdasarkan AOAC (1970).

Analisis Cemaran Mikroba

Metode pengujian cemaran mikroba *Total Plate Count* (TPC) dalam sampel ikan sidat dilakukan berdasarkan SNI 2897: 2008.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Konsentrasi Kitosan-Nisin Optimum

Selama masa penyimpanan terjadi perubahan warna baik pada ikan sidat kontrol, terlapisi kitosan, maupun terlapisi kitosan-nisin. Laju perubahan warna daging sebanding dengan aktivitas pembusukan. Selama 10 hari pengamatan, ikan sidat pada seluruh perlakuan mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan. Semakin lama waktu penyimpanan, intensitas warna semakin tinggi hingga menjadi kehitaman. Ikan sidat tanpa pelapisan mengalami kemunduran mutu pada hari ke-4. Adapun ikan sidat yang dilapisi kitosan-nisin pada berbagai variasi menunjukkan warna yang lebih stabil atau dapat dikatakan tidak mengalami perubahan warna dari hari ke hari, dibandingkan kelompok control. Hal ini menunjukkan bahwa pelapisan kitosan-nisin dapat menghambat aktivitas mikroba dan laju oksidasi penyebab perubahan warna, karena adanya aktifitas mikroba menyebabkan warna ikan menjadi kecoklatan (Chaijan *and* Panpipat, 2009; Wu *et al.*, 2017). Waktu penyimpanan dimana daging mulai mengalami *discoloration* ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan warna daging ikan sidat kontrol, terlapis kitosan dan kitosan-nisin

Perlakuan penyimpanan	Hari mulai terjadi <i>discoloration</i>
Kontrol	4
Kitosan	6
Kitosan-nisin 0,2%	6
Kitosan-nisin 0,4%	7
Kitosan-nisin 0,6%	9
Kitosan-nisin 0,8%	9

Berdasarkan Tabel 1, secara umum *discoloration* semakin melambat dengan semakin banyaknya konsentrasi nisin yang ditambahkan. Hal ini disebabkan karena meningkatnya situs-situs aktif dari nisin yang berperan dalam mekanisme antibakteri, sehingga *discoloration* daging ikan sidat dapat dihambat hingga hari ke-9 melalui penggunaan kitosan-nisin 0,6% dan 0,8%. Apabila dilihat dari sifat antibakteri, seharusnya penambahan nisin sebesar 0,8% memberikan efek antibakteri yang lebih besar dibandingkan nisin 0,6%, seperti hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Sanjurjo *et al.* (2006) dan Ku and Song (2007). Akan tetapi, hasil pengamatan mengindikasikan bahwa keduanya memiliki profil *discoloration* yang hampir sama. Hal ini disebabkan karena matriks polimer kitosan memiliki kapasitas maksimum dalam membawa atau mengikat nisin sebagai bahan aktifnya (Pranoto *et al.*, 2005). Perbedaan *discoloration* pada kitosan-nisin 0,6% dan 0,8% hampir sama, dimungkinkan bahwa kapasitas nisin maksimal yang dapat terikat pada kitosan dicapai pada konsentrasi 0,6%. Oleh karena itu, konsentrasi kitosan-nisin 0,6% ditetapkan sebagai konsentrasi optimum untuk pelapisan ikan sidat. Hasil ini didukung dengan penelitian Pranoto *et al.* (2005) dan Ku and Song (2007), dimana penambahan nisin yang semakin besar pada film kitosan, tidak selalu memberikan efek penghambatan yang lebih baik terhadap bakteri *S. aureus*, *L. monocytogenes*, dan *B. cereus*. Penambahan 0,6% nisin dalam kitosan juga dilakukan oleh Guohua *et al.* (2016) dan memberikan efek paling baik dalam menghambat laju kerusakan *Pseudosciaena crocea*.

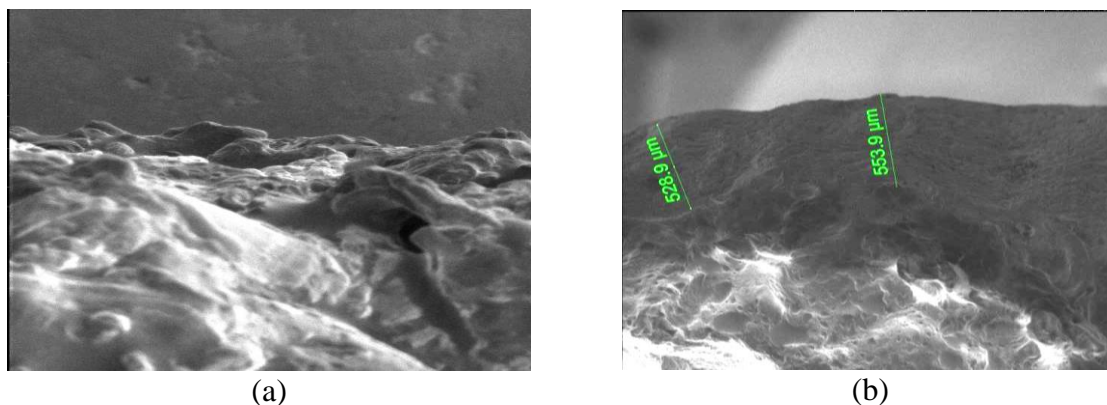
Karakterisasi Pelapisan Kitosan-Nisin pada Ikan Sidat

Ketebalan Lapisan

Penampang lintang permukaan ikan sebelum dan sesudah terlapis kitosan-nisin ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil analisis SEM, permukaan ikan sidat terlihat sangat heterogen dan kasar (100x, a). Setelah proses pelapisan, morfologi permukaan ikan sidat masih sama, namun terdapat bagian tambahan dengan karakteristik rapat dan teratur (60x, b). Hal ini mengindikasikan terbentuknya lapisan kitosan-nisin pada bagian terluar

tubuh ikan sidat. Pada penelitian ini, ketebalan lapisan kitosan-nisin sebesar (0,529 – 0,554) mm. Hal ini sesuai dengan penelitian Soares *et al.* (2016) dimana ketebalan lapisan kitosan pada salmon bervariasi antara (0,36 – 1,41) mm.

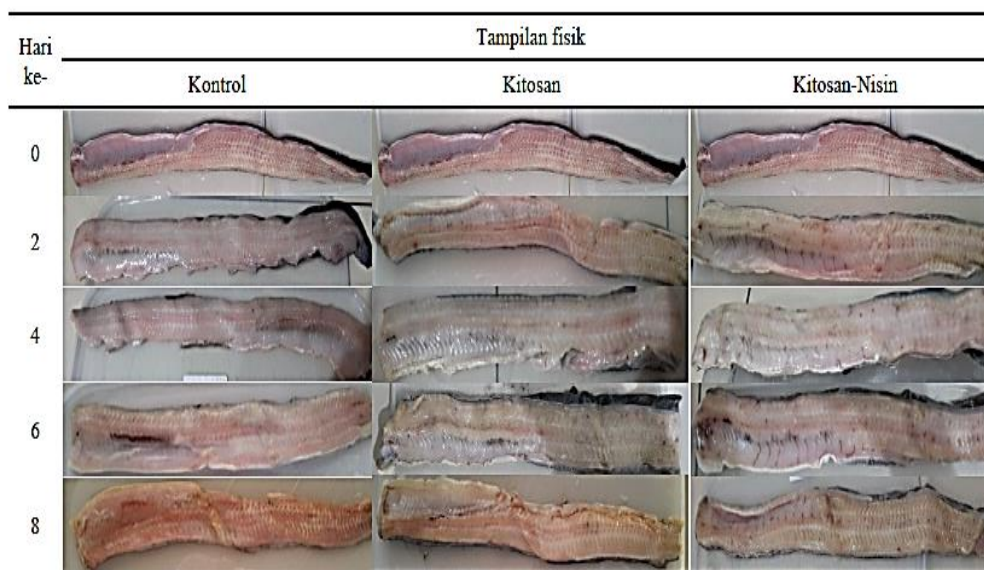
Terbentuknya lapisan pada permukaan ikan sidat menunjukkan adanya kesesuaian polaritas antara matriks ikan sidat dengan kitosan-nisin, yang memicu terjadinya interaksi melalui gaya adhesi (Souza *et al.*, 2010). Interaksi ini menyebabkan kitosan dan nisin dapat menempel. Lapisan rapat dan teratur dari kitosan-nisin pada Gambar 1(b) disebabkan karena tingginya kohesivitas polimer kitosan yang didominasi oleh interaksi hidrogen baik secara intermolekuler maupun intramolekuler (Janjarasskul and Krochta, 2010). Adanya lapisan kitosan-nisin berfungsi sebagai *barrier* antara ikan sidat dengan oksigen, bakteri, ataupun pengotor lain di lingkungan.



Gambar 1. Morfologi ikan sidat (a) dan ikan sidat terlapis kitosan-nisin (b)

Perubahan Fisik selama Penyimpanan

Perbandingan tampilan fisik dari ikan sidat kontrol, terlapis kitosan, dan terlapis kitosan-nisin selama masa penyimpanan pada suhu rendah ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan tampilan fisik filet ikan sidat.

Perubahan warna daging ikan sidat pada seluruh perlakuan semakin meningkat intensitasnya seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Hal ini diduga adanya peningkatan kadar metmioglobin yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme dan proses oksidasi oksimioglobin akibat masih terdapatnya kandungan O₂ pada ruang kemasan yang dapat berdifusi ke dalam tubuh ikan sidat sehingga memicu terjadinya oksidasi. Oksidasi oksimioglobin menghasilkan senyawa metmioglobin yang berwarna kecoklatan.

Pelunakan tekstur ikan sidat terjadi karena aktivitas enzim katepsin dan protease endogen pada protein miofibril. Pelunakan tekstur pada ikan sidat dipercepat dengan adanya aktivitas mikroorganisme dalam merombak protein (Mohan *et al.*, 2012).

Perubahan fisik ikan sidat selama penyimpanan disertai dengan munculnya bau busuk yang diduga berasal dari pelepasan senyawa metabolit hasil perombakan bakteri (Mohan *et al.*, 2012). Mikroorganisme proteolitik menguraikan protein ikan sidat menjadi asam amino, amin, amonia, dan hidrogen sulfide, yang memicu munculnya bau busuk.

Secara umum, laju perubahan warna pada ikan sidat kontrol lebih besar dibandingkan ikan sidat yang terlapis kitosan dan kitosan-nisin. Perbedaan tersebut teramati dengan jelas pada hari ke-8 penyimpanan, dimana kontrol berwarna kuning kecoklatan, sampel terlapis kitosan menunjukkan warna kekuningan yang tipis, sedangkan sampel terlapis kitosan-nisin tidak mengalami perubahan warna yang signifikan dibandingkan hari pengamatan sebelumnya (hari ke-6). Ikan sidat terlapis kitosan maupun kitosan-nisin mengalami proses pembusukan lebih lambat. Hal ini membuktikan bahwa pelapisan kitosan maupun kitosan-nisin dapat menurunkan laju pembusukan ikan sidat.

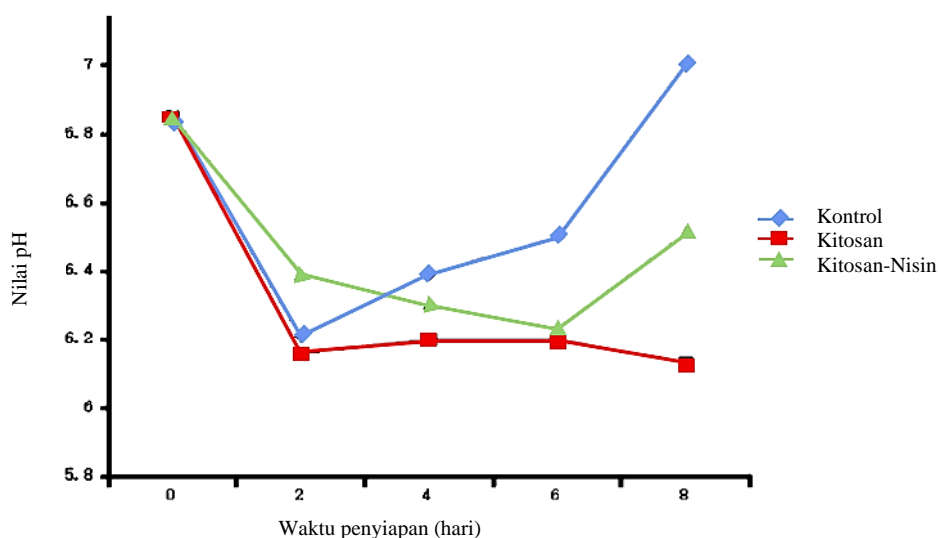
Tingkat Keasaman/ pH

Hasil pengukuran pH ditampilkan pada Tabel 3. Nilai pH awal dari ikan sidat dalam penelitian ini adalah 6,85 sesuai dengan yang disampaikan oleh Simeonidou dalam Arkoudelos *et al.* (2007) bahwa nilai pH *post-mortem* pada ikan bervariasi dari 6,0 - 7,1 tergantung dari spesies, musim penangkapan, dan jenis pakan.

Perubahan pH ikan sidat dari seluruh perlakuan selama proses penyimpanan ditunjukkan pada Gambar 3. Selama masa penyimpanan, nilai pH ikan sidat tanpa perlakuan maupun ikan sidat dengan pelapisan mengalami fluktuasi.

Tabel 2. Perbandingan Nilai pH Awal Ikan Sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dengan Beberapa Jenis Ikan

Spesies	Nilai pH awal	Referensi
<i>Anguilla bicolor bicolor</i>	6,85	Dalam penelitian ini
<i>Anguilla anguilla</i>	6,09	Özogul <i>et al.</i> (2005); Arkoudelos <i>et al.</i> (2007); Ozogul <i>et al.</i> (2014)
	6,30	
	6,40	
<i>Carassius auratus</i>	6,61	Li <i>et al.</i> (2012)
<i>Sardinella longiceps</i>	6,14	Mohan <i>et al.</i> (2012)
<i>Tilapia guineensis</i>	6,81	Obemeata and Christopher (2012)
<i>Salmo salar</i>	6,27	Soares <i>et al.</i> (2013)
<i>Pseudosciaena crocea</i>	6,96	Guohua <i>et al.</i> (2016)
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	6,80	Kootenaie <i>et al.</i> (2016)

**Gambar 3.** Perubahan nilai pH filet ikan sidat selama penyimpanan

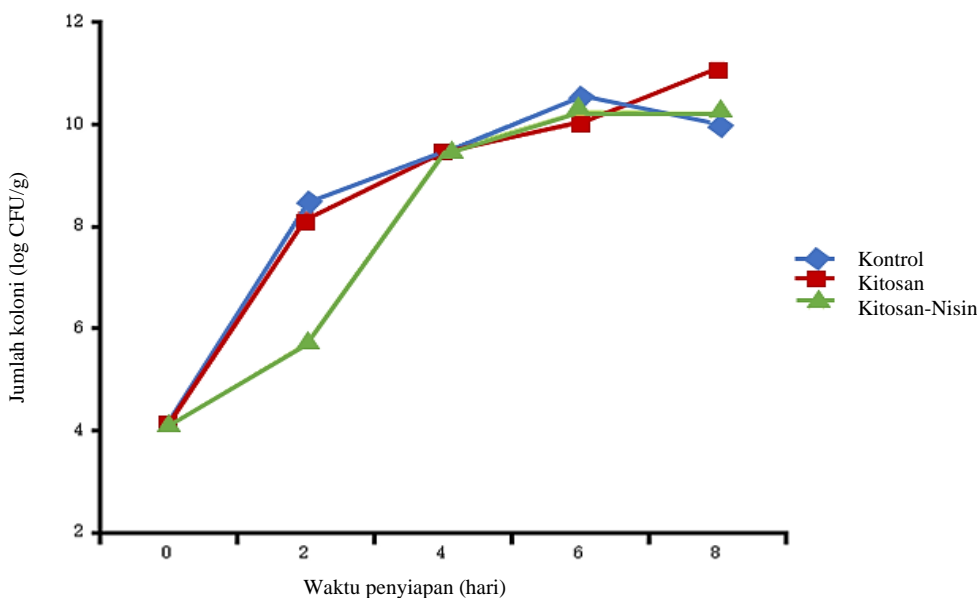
Ikan sidat kontrol mengalami penurunan nilai pH pada hari kedua dan meningkat hingga pH 7,00 pada akhir penyimpanan. Ikan sidat terlapis kitosan relatif mempertahankan pH pada kondisi asam hingga akhir masa simpan setelah mengalami penurunan pada hari kedua. Pada akhir penyimpanan, nilai pH ikan sidat terlapis kitosan sebesar 6,13. Sementara itu, pelapisan kitosan-nisin menyebabkan penurunan nilai pH ikan sidat terjadi hingga hari ke-6 dan mengalami kenaikan menjadi 6,51 pada akhir masa simpan. Walaupun memiliki perbedaan *trend* perubahan pH, namun secara umum, nilai pH dari kontrol lebih tinggi dibandingkan ikan sidat terlapis kitosan dan kitosan-nisin.

Ikan sidat tanpa pelapisan mengalami kenaikan nilai pH secara tajam yang menunjukkan tingginya aktivitas mikroorganismenya. Adanya lapisan kitosan dan kitosan-nisin yang berfungsi sebagai *barrier* dan antibakteri yang menekan konsentrasi dan aktivitas mikroorganismenya menyebabkan akumulasi senyawa basa oleh proses penguraian protein menjadi lebih lambat. Hal ini diindikasikan dengan melambatnya laju kenaikan

nilai pH pada ikan sidat yang terlapis kitosan dan kitosan-nisin. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mohan *et al.* (2012) pada ikan sarden (*Sardinella longiceps*) dan Souza *et al.* (2010) pada ikan salmon (*Salmo salar*), dimana laju kenaikan nilai pH ikan terlapis kitosan menjadi lebih lambat akibat berkurangnya pembentukan senyawa trimetilamin dan TVB-N secara signifikan. Penambahan nisin efektif dalam mengurangi akumulasi senyawa basa akibat degradasi protein, seperti yang dilaporkan oleh Guohua *et al.* (2016) pada ikan Corvina kuning besar (*Pseudosciaena crocea*). Penurunan degradasi protein diindikasikan dengan melambatnya laju kenaikan nilai TVB-N selama penyimpanan, sehingga laju kenaikan nilai pH dapat dikontrol.

Jumlah Cemarannya Mikroba

Perubahan nilai cemaran mikroba ikan sidat kontrol, terlapis kitosan, dan kitosan-nisin ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Perubahan total koloni bakteri selama waktu penyimpanan

Jumlah cemaran mikroba awal pada setiap ikan berbeda tergantung kondisi lingkungan dimana ikan tersebut hidup dan cara penanganan pasca-panennya (higienitas). Nilai cemaran mikroba awal ikan sidat segar dalam penelitian ini adalah $4,11 \log_{10} \text{CFU/g}$. Nilai cemaran mikroba ini masih berada di bawah ambang batas Standar mutu dari Badan Standarisasi Nasional (BSN), yaitu $5 \times 10^5 \text{CFU/g}$ ($5,7 \log_{10} \text{CFU/g}$).

Pada awal masa penyimpanan, kenaikan jumlah cemaran mikroba yang lebih lambat pada ikan sidat terlapis kitosan mengindikasikan aktivitas dan pertumbuhan bakteri berhasil ditekan oleh kitosan. Interaksi elektrostatis yang kuat antara gugus amina terprotonasi dari kitosan dengan membran fosfolipid bakteri yang bermuatan negatif menyebabkan terganggunya stabilitas membran yang berujung pada kematian sel (Liu *et*

al., 2004). Akan tetapi, penurunan jumlah cemaran mikroba oleh lapisan kitosan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap kontrol yaitu sebesar (8,48-8,15) \log_{10} CFU/g pada hari ke-2 penyimpanan. Hasil ini diduga karena susunan mikroflora pada ikan sidat tidak hanya didominasi oleh bakteri Gram-negatif saja, akan tetapi terdapat pula sejumlah bakteri Gram-positif dalam jumlah yang besar. Oleh karena itu, penggunaan kitosan secara individual kurang dapat mempertahankan kualitas ikan sidat secara mikrobiologi, mengingat efek antibakteri kitosan lebih efektif terhadap bakteri Gram-negatif dan kurang sensitif terhadap bakteri Gram-positif (Damayanti *et al.*, 2016).

Pelapisan kitosan-nisin terbukti mampu mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme lebih baik dibandingkan kitosan. Hal ini disebabkan adanya efek sinergis antibakteri dari material pelapis dan bahan aktifnya. Pengikatan nisin oleh kitosan menyebabkan munculnya sisi aktif antibakteri baru yang didonorkan oleh nisin. Sintesis dinding sel bakteri terhambat akibat pengikatan bagian pirofosfat oleh ujung-N dan pembentukan pori pada membran sel oleh ujung-C nisin. Hal ini menyebabkan terjadinya lisis yang memicu kematian sel bakteri Gram-positif (Brötz *and* Sahl, 2000), diindikasikan dengan penurunan konsentrasi total bakteri pada ikan sidat sebesar (8,15-5,73) \log_{10} CFU/g pada hari ke-2 penyimpanan.

Penurunan konsentrasi bakteri secara signifikan oleh material pelapis kitosan-nisin hanya terjadi pada awal penyimpanan saja. Pada hari ke-4 hingga akhir penyimpanan, pelapisan kitosan-nisin tidak memberikan perbedaan yang signifikan dengan kontrol. Hal ini dimungkinkan terjadi karena material pelapis kitosan-nisin telah kehilangan sifat antibakterinya karena berinteraksi dengan berbagai senyawa dalam ikan sidat maupun senyawa hasil metabolisme bakteri.

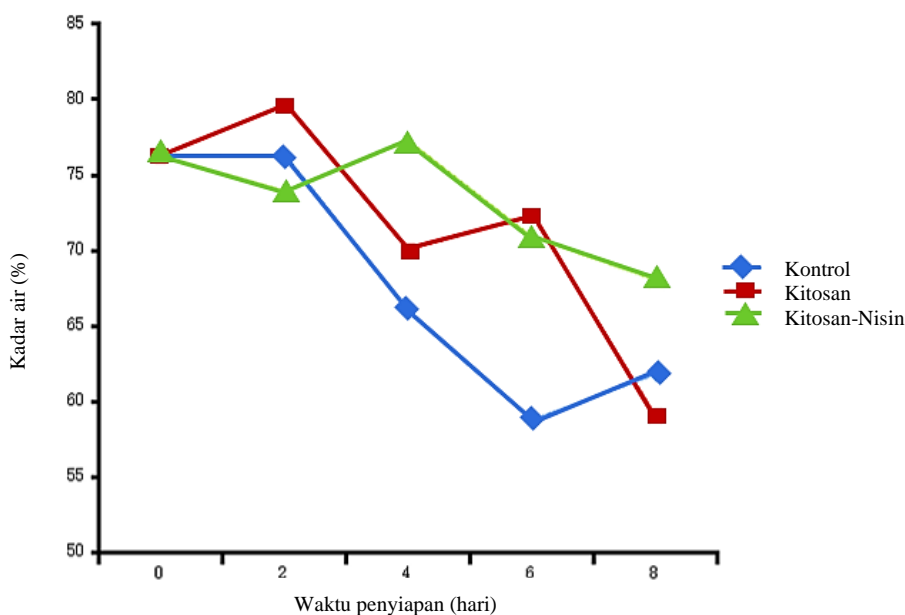
Analisis proksimat

Kadar proksimat menunjukkan kualitas gizi suatu bahan pangan. Kandungan proksimat dalam ikan dapat digunakan sebagai panduan untuk mengetahui kestabilan ikan selama masa penyimpanan (Huss, 1988; Mohan *et al.*, 2012).

Kadar air

Air merupakan bagian terbesar dari kandungan proksimat suatu bahan pangan. Kadar air ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dalam penelitian ini sebesar $76,2 \pm 0,45\%$. Perubahan kadar air ikan sidat selama penyimpanan dalam lemari es ditampilkan pada Gambar 5. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ikan sidat pada seluruh perlakuan memiliki *trend* perubahan kadar air yang sama, cenderung mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Terjadinya penurunan kadar air dari seluruh sampel

menunjukkan adanya aktivitas bakteri dalam merombak jaringan ikat pada otot ikan. Berdasarkan Gambar 5, sampel tanpa perlakuan (kontrol) mengalami penurunan kadar air paling besar dibandingkan sampel perlakuan (pelapisan kitosan dan kitosan-nisin). Hal ini mengindikasikan tingginya aktivitas perombakan jaringan ikat oleh aktivitas mikroorganisme, sesuai dengan hasil uji jumlah cemaran mikroba (Gambar 4). Perombakan jaringan ikat dan denaturasi miosin menyebabkan berkurangnya kemampuan otot ikan dalam mengikat air, sehingga terjadilah dehidrasi (Mohan *et al.*, 2012; Damayanti *et al.*, 2016). Penurunan kadar air paling kecil terjadi pada ikan sidat terlapis kitosan-nisin. Hal ini membuktikan bahwa penekanan aktivitas mikroorganisme melalui penambahan nisin dapat menurunkan laju pelepasan kadar air pada ikan sidat.



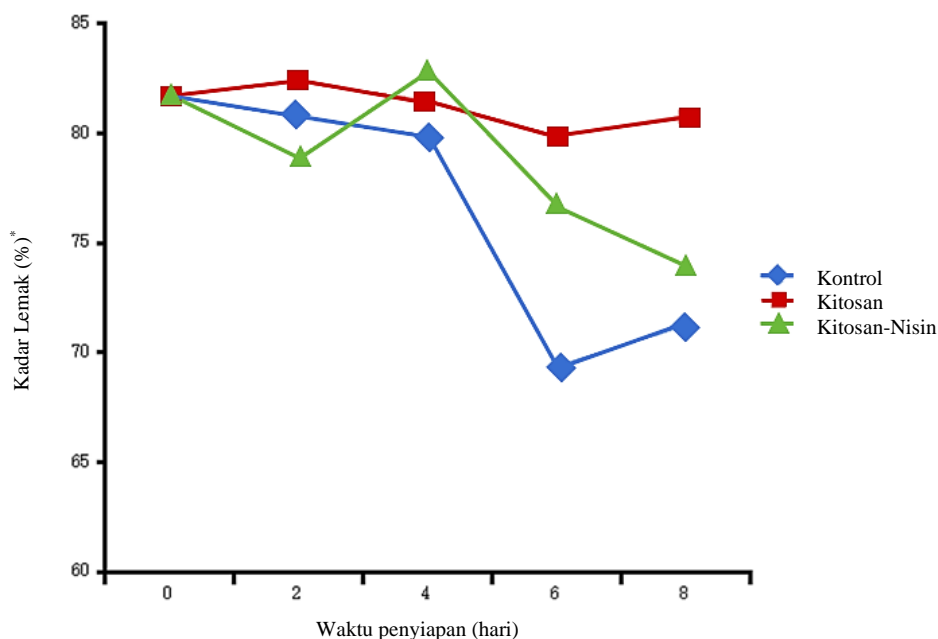
Gambar 5. Perubahan kadar air filet ikan sidat selama waktu penyimpanan

Pelepasan air juga dihambat oleh adanya peran lapisan kitosan-nisin sebagai *barrier*. Terbentuknya *barrier* pada permukaan ikan sidat menyebabkan transfer air keluar menuju lingkungan (transpirasi) menjadi terhambat karena lapisan memiliki nilai permeabilitas terhadap uap air. Walaupun permeabilitas lapisan kitosan dilaporkan relatif tinggi terhadap uap air karena sifat hidrofiliknya (Dehghani *et al.*, 2018), akan tetapi akibat sifat tersebut lapisan kitosan dapat bertindak sebagai *moisture-sacrificing agents*. Melalui sifat tersebut, pelapis mengalami penguapan terlebih dulu sebelum akhirnya dehidrasi terjadi pada produk. Hal inilah yang menyebabkan ikan sidat terlapis kitosan-nisin dapat mempertahankan kadar airnya, sesuai dengan hasil penelitian Guohua *et al.* (2016) pada ikan Corvina kuning besar (*Pseudosciaena croacea*).

Selama penyimpanan, kadar air tidak selalu menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan, seperti kontrol yang mengalami peningkatan kadar air pada hari ke-8, sampel terlapis kitosan pada hari penyimpanan ke-2 dan 6, serta sampel terlapis kitosan-nisin pada hari ke-4 masa simpan. Terjadinya peningkatan kadar air diduga karena proses denaturasi protein yang menghasilkan air sebagai produk sampingnya. Selain itu, aktivitas bakteri dalam menguraikan komponen-komponen daging ikan juga dapat membebaskan air (Kusuma *et al.*, 2017).

Kadar Lemak

Perubahan kadar lemak ikan sidat selama penyimpanan ditampilkan pada Gambar 6. Ikan sidat tanpa perlakuan (kontrol) secara signifikan mengalami penurunan kadar lemak paling besar dari $81,70 \pm 0,80\%$ menjadi $69,35 \pm 0,45\%$ pada hari ke-6 dan meningkat menjadi $71,28 \pm 2,13\%$ pada akhir masa penyimpanan. Ikan sidat terlapis kitosan mengalami perubahan kadar lemak yang berfluktuatif namun cenderung stabil dengan kadar sebesar $80,78 \pm 0,43\%$ pada akhir penyimpanan. Sementara itu, ikan sidat terlapis kitosan-nisin mengalami peningkatan kadar lemak pada hari ke-4 menjadi $82,83 \pm 0,03\%$ yang kemudian terus menurun hingga akhir masa simpan.



Gambar 6. Perubahan kadar lemak pada filet ikan sidat selama waktu penyimpanan

Penurunan kadar lemak selama penyimpanan mengindikasikan terjadinya proses oksidasi yang menyebabkan terbentuknya aldehid, asam-asam lemak bebas, keton, dan peroksida (Obemeata *and* Christopher, 2012; Al-Ghanim, 2016). Penurunan kadar lemak terbesar dalam penelitian ini dialami oleh ikan sidat kontrol, berkorelasi positif dengan hasil pengujian kadar air. Semakin besar penurunan kadar air, semakin besar pula

penurunan kadar lemaknya karena pengurangan air digunakan untuk melakukan reaksi hidrolisis lemak. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel tanpa pelapisan mengalami reaksi oksidasi dan hidrolisis yang lebih tinggi. Oksidasi disebabkan karena tidak ada yang menghambat proses masuknya oksigen dari ruang kemasan menuju ke tubuh ikan sidat. Akibatnya, proses oksidasi lemak terjadi secara cepat. Selain itu, penurunan kadar lemak diduga turut dipercepat oleh aktivitas mikroorganisme lipolitik karena tidak adanya perlindungan dari pelapis maupun senyawa yang mampu menekan aktivitas bakteri.

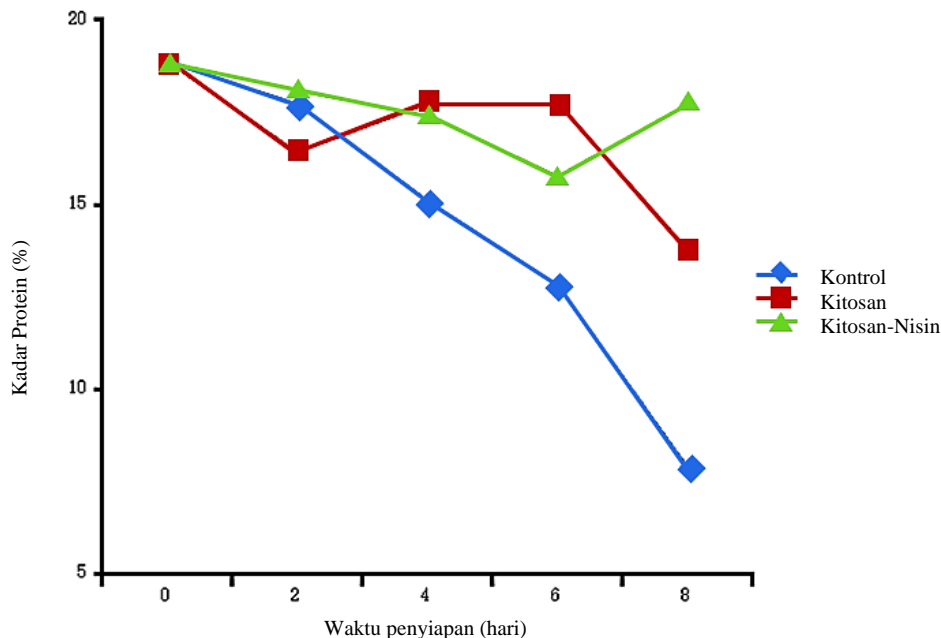
Pada ikan sidat terlapis kitosan-nisin, kadar lemak mengalami penurunan yang lebih besar dibandingkan sampel terlapis kitosan (Gambar 6). Hal ini diduga disebabkan berkurangnya sifat antioksidan kitosan serta sifat alamiah nisin yang bukan termasuk antioksidan untuk menghentikan reaksi radikal berantai pada tahap terminasi (Ayala *et al.*, 2014). Penurunan sifat antioksidan kitosan dimungkinkan terjadi karena berkurangnya situs aktif kitosan yang berperan dalam mekanisme antioksidan akibat terhalangi oleh nisin. Seperti yang dijelaskan oleh Wang *et al.* (2005), pembentukan kompleks kitosan-logam terjadi pada situs $-NH_2$ dan $-OH$. Ketika nisin ditambahkan, terbentuk ikatan amida antara kitosan dan nisin pada situs karboksilat ($-COOH$) nisin dengan situs amina ($-NH_2$) kitosan (Zhu *et al.*, 2015). Oleh karena itu, terjadi penurunan sifat antioksidan karena sebagian situs amina pada kitosan digunakan untuk mengikat nisin yang menyebabkan berkurangnya situs pengompleks logam Fe. Selain itu, proses difusi nisin ke dalam matriks ikan sidat selama penyimpanan menyebabkan terbentuknya pori atau lubang pada lapisan kitosan yang memicu peningkatan permeabilitas lapisan terhadap gas-gas di udara terutama gas O_2 .

Kadar Protein

Kadar protein ikan sidat dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan pengukuran nitrogen total, dengan menggunakan metode Kjeldahl. Ikan sidat segar yang digunakan dalam penelitian ini mengandung protein sebesar 18,85%. Kandungan protein ikan sidat dalam penelitian ini sedikit berbeda dengan jenis ikan sidat lainnya, yaitu *Anguilla anguilla*. Ozogul *et al.* (2005) melaporkan kandungan protein dalam *Anguilla anguilla* sebesar 17,5%. Perbedaan kadar protein pada ikan erat kaitannya dengan spesies, serta jenis dan jumlah pakan yang diterima ikan tersebut. Hal ini didukung oleh penelitian dari Adeosun *et al.* (2014) yang menemukan adanya perbedaan kadar protein dari *Clarias gariepinus* yang tumbuh di alam liar dengan *Clarias gariepinus* yang dibudidayakan. Hasil ini mengindikasikan asupan nutrisi yang cukup meningkatkan kualitas nutrisi, terutama protein pada ikan tersebut.

Perubahan kadar protein ikan sidat kontrol, terlapis kitosan, dan terlapis kitosan-nisin selama 8 hari masa penyimpanan ditampilkan pada Gambar 8. Ikan sidat tanpa perlakuan (kontrol) secara signifikan mengalami penurunan kadar protein paling besar dari 18,85% menjadi 7,87% pada akhir masa simpan. Ikan sidat terlapis kitosan mengalami perubahan kadar protein yang berfluktuatif dengan kadar protein sebesar 13,78% pada akhir penyimpanan. Sementara itu, ikan sidat yang dilapisi dengan kitosan-nisin mengalami penurunan kadar protein hingga hari ke-6 penyimpanan sebesar 15,76% kemudian kembali meningkat menjadi 17,73% pada akhir masa simpan. Hasil ini mengindikasikan adanya korelasi positif antara protein dengan kadar air ikan sidat, dimana semakin banyak protein yang mengalami kerusakan semakin besar pula penurunan kadar air (Gambar 5) akibat berkurangnya kekuatan otot ikan dalam menahan air yang ada.

Penurunan kadar protein selama penyimpanan menunjukkan terjadinya perombakan atau degradasi protein oleh bakteri proteolitik yang menghasilkan asam-asam amino dan produk-produk volatil seperti trimetilamin (TMA), hidrogen sulfida, dan amonia yang terakumulasi sebagai *total volatile base nitrogen* (TVB-N). Sampel kontrol mengalami penurunan kadar protein paling besar disebabkan karena tingginya populasi bakteri dalam ikan tersebut (Gambar 7), yang menyebabkan proses degradasi protein terjadi secara cepat.



Gambar 7. Grafik perubahan kadar protein filet ikan sidat selama waktu penyimpanan

Degradasi protein pada sampel terlapis kitosan dan kitosan-nisin dapat dihambat karena peran dari kitosan maupun kitosan-nisin sebagai *barrier* dan senyawa antibakteri. Selama penyimpanan, kadar protein tidak selalu menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan, seperti sampel terlapis kitosan pada hari penyimpanan ke-4 dan 6,

serta sampel terlapis kitosan-nisin pada hari ke-8 masa simpan. Terjadinya peningkatan kadar protein diduga karena masih terakumulasinya produk degradasi protein seperti asam-asam amino dan sebagian produk volatil yang belum teruapkan. Penggunaan metode Kjeldahl menyebabkan perhitungan protein didasarkan pada kadar nitrogen total, sehingga senyawa-senyawa hasil degradasi tersebut ikut dihitung karena memiliki kandungan atom N. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya peningkatan kadar protein.

Daya Tahan Simpan

Pada dasarnya, tujuan utama dari proses penanganan dan pengawetan ikan adalah untuk memperlambat kerusakan dan memperpanjang daya simpannya. Perkiraan daya simpan sangat berguna untuk mengetahui batas keamanan dan kelayakan konsumsi serta merencanakan proses pendistribusian bahan pangan tersebut. Salah satu parameter yang dapat digunakan untuk memperkirakan daya tahan simpan ikan adalah status mikrobiologi, yaitu berdasarkan jumlah cemaran mikroorganisme di dalamnya. Jumlah dan jenis mikroorganisme dapat menentukan kualitas mutu bahan pangan tersebut.

Walaupun pelapisan kitosan-nisin mampu memperpanjang masa simpan ikan sidat 2 kali lebih lama dibandingkan kontrol, namun hasil ini kurang memuaskan jika dibandingkan dengan pelapisan kitosan-nisin pada jenis ikan lain seperti ikan Corvina kuning besar (*Pseudosciaena croacea*), Corvina kuning kecil (*Peudosciaena polyactis*), dan ikan Tuna (*Thunnus albacares*). Perbandingan daya tahan simpan berbagai jenis ikan menggunakan pelapisan kitosan-nisin ditampilkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Daya Tahan Simpan Beberapa Jenis Ikan yang Diberi Perlakuan Kitosan-Nisin.

Spesies	Suhu penyimpanan (°C)	Perlakuan tambahan	Daya simpan (hari)			Sumber
			Kontrol	Kitosan-nisin	Perpanjangan	
<i>Anguilla bicolor bicolor</i>	5 ± 2	Pengemasan dalam plastik PE	1-2	3-4	2-3	Penelitian ini
<i>Pseudosciaena croacea</i>	4	Pengemasan dalam plastik PE	6-7	10-12	4-6	Guohua <i>et al.</i> (2016)
<i>Peudosciaena polyactis</i>	-3	Mikrokapsulasi dan pengemasan dalam plastik PE	21	30	9	Wu <i>et al.</i> (2017)
<i>Thunnus albacares</i>	4	Pengemasan vakum	21	28	7	Neeto (2016)

Tabel 3 menunjukkan bahwa pelapisan kitosan-nisin memberikan pengaruh yang berbeda pada jenis ikan yang berbeda. Hal ini mengindikasikan bahwa efektivitas

pengawetan sangat tergantung pada kandungan nutrisi ikan tersebut. Kandungan nutrisi yang tinggi merupakan media yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri.

Faktor lain yang turut berpengaruh terhadap ketahanan simpan adalah suhu dan kondisi pengemasan. Pada penelitian ini digunakan suhu penyimpanan 5 ± 2 °C pada *fresh room* lemari pendingin, dimana pada rentang suhu tersebut beberapa bakteri masih dapat hidup, walaupun pertumbuhannya terhambat. Beberapa mikroorganisme tetap tumbuh secara lambat, seperti misalnya *Vibrio* spp. dan *Cladosporium cladosporiades* yang mulai dapat tumbuh pada suhu -5 °C (Jay *et al.*, 2005).

Selain itu, Arkoudelos *et al.* (2007) menemukan bahwa pertumbuhan bakteri pembusuk seperti *Shewanella* spp., *Pseudomonas* spp., dan *Enterobacteriaceae* tetap tumbuh pada filet *Anguilla anguilla* yang disimpan dalam kondisi kemasan udara atmosferik lebih cepat dibandingkan kondisi kemasan vakum dan atmosfer termodifikasi atau *modified atmosphere packaging* (MAP) pada suhu 0 °C. Pengurangan konsentrasi oksigen (O₂) dalam pengemas dapat menaikkan daya tahan simpan ikan.

Selain ketiga faktor di atas, kondisi lingkungan dan cara penanganan pasca-panen cukup berkontribusi dalam menentukan tingkat kontaminasi sampel. Komposisi mikroflora pada ikan yang digunakan sangat tergantung dari kandungan mikroba yang terdapat dalam air tempat ikan tersebut hidup (Ghaly *et al.*, 2010). Hal ini didukung dengan hasil uji jumlah cemaran mikroba awal dari filet ikan sidat sebesar 4,11 log₁₀ CFU/g. Walaupun masih berada di bawah batas kelayakan, namun angka tersebut dapat dikategorikan cukup tinggi bagi ikan segar. Semakin tinggi nilai jumlah cemaran mikroba awal dari ikan, semakin cepat pula ikan mengalami pembusukan.

KESIMPULAN

Pelapisan kitosan-nisin pada ikan sidat dapat dilakukan dengan baik, dengan tebal lapisan kitosan-nisin adalah (0,529–0,554) mm. Konsentrasi kitosan-nisin sebesar 0,6% (b/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mempertahankan kualitas ikan sidat. Ikan sidat terlapis kitosan-nisin mengalami penurunan kadar proksimat (air, lemak dan protein), peningkatan nilai pH dan jumlah cemaran mikroba yang lebih rendah dibandingkan ikan tanpa pelapisan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pelapisan kitosan-nisin dapat mempertahankan kualitas ikan sidat selama penyimpanan pada suhu rendah (5 ± 2 °C).

DAFTAR PUSTAKA

- Adeosun, O., Olukunle, O., and Akande, G.R., 2014. Proximate Composition and Quality Aspects of Iced Wild and Pond-Raised African Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 6(3), 32-38.
- Adhikari, M.D., Das, G., and Ramesh, A., 2012. Retention of Nisin Activity at Elevated pH in an Organic Acid Complex and Gold Nanoparticle Composite. *Chemical Communications* 48, 8928-8930.
- Al-Ghanim, K.A., 2016. Effect of Different Storage Temperature on Chemical Composition and Sensory Attributes of the Flesh of *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus*. *Pakistan Journal of Zoology* 48(2), 305-310.
- Arkoudelos, J., Stamatis, N., and Samaras, F., 2007. Quality Attributes of Farmed Eel (*Anguilla anguilla*) Stored under Air, Vacuum and Modified Atmosphere Packaging at 0 °C. *Food Microbiology* 24, 728-735.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., and Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014: 1-31.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia SNI 01-2354.3-2006 Cara Uji Kimia-Bagian 3: Penentuan Kadar Lemak Total pada Produk Perikanan.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia SNI-01-2354.2-2006 Cara Uji Kimia-Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan.
- Brötz, H., and Sahl, H., 2000. New Insights into the Mechanism of Action of Lantibiotics-diverse Biological Effects by Binding to the Same Molecular Target. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46, 1-6.
- Chaijan, M., and Panpipat, W., 2009. Post Harvest Discoloration of Dark-Fleshed Fish Muscle: A Review. *Walailak Journal of Science & Technology* 6(2), 149-166.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., and Chikindas, M.L., 2001. Bacteriocins: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. *International Journal of Food Microbiology* 71, 1-20.
- Cozzo-Siqueira, A., Oetterer, M., and Gallo, C. R., 2003. Effects of Irradiation and Refrigeration on the Nutrients and Shelf-Life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 12(1), 85-101.
- Damayanti, W., Rochima, E., and Hasan, Z., 2016. Aplikasi Kitosan sebagai Antibakteri pada Filet Patin selama Penyimpanan Suhu Rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3) 321-328.
- Dehghani, S., Hosseini, S.V., and Regenstein, J.M., 2018. Edible Films and Coatings in Seafood Preservation: A Review. *Food Chemistry* 240, 505-513.
- Dutta, P.K., Dutta, J., and Tripathi, V.S., 2004. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. *Journal of Scientific & Industrial Research* 63, 20-31.
- Erkan, N., Uretener, G., and Alpas, H., 2010. Effect of High Pressure (HP) on the Quality and Shelf Life of Red Mullet (*Mullus surmelutus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11, 259-264.

- Ghaly, A.E., Dave, D., Budge, S., and Brooks, M.S., 2010. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences* 7(7), 859-877.
- Guohua, H., Yuanyuan, G., Hailin, F., Jian, L., and Jianfeng, Z., 2016. Effects of Chitosan Combined with Nisin Treatment on Storage Quality of Large Yellow Croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Chemistry* 203, 276-282.
- Huss, H.H., 1988. *Fresh Fish: Quality and Quality Changes*. FAO Fisheries Series No. 29. Rome: FAO.
- Janjarasskul, T., and Krochta, J.M., 2010. Edible Packaging Materials. *Annual Review of Food Science and Technology* 1, 415-448.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., and Golden, D.A., 2005. *Modern Food Microbiology, 7th Ed.* Springer Science and Business Media, New York.
- Killay, A., 2013. Kitosan sebagai Anti Bakteri pada Bahan Pangan yang Aman dan Tidak Berbahaya (Review). *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura*, 200-205.
- Kootenaie, F.V., Ariani, P., Shurmasti, D.K., and Nemati, M., 2016. Effect of Chitosan Edible Coating Enriched with *Eucalyptus* Essential Oil and α -Tocopherol on Silver Carp Fillets Quality during Refrigerated Storage. *Journal of Food Safety* ISSN 1745-4565: 1-8.
- Ku, K., and Song, K. B., 2007. Physical Properties of Nisin-Incorporated Gelatin and Corn Zein Films and Antimicrobial Activity Against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 17(3), 520-523.
- Küçükgülmez, A., Yanar, Y., Gerçek, G., Gülnaz, O., and Celik, M., 2012. Effects of Chitosan on Color, Sensory and Microbiological Properties of European Eel (*Anguilla Anguilla*) Fillets during Refrigerated Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. ISSN 1745-4549.
- Kusuma, A. A., Dewi, E. N. & Wijayanti, I., 2017. Perbedaan Jumlah Nutrisi yang Hilang pada Bandeng Beku Non Cabut Duri dan Cabut Duri selama Penyimpanan Suhu Rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 209(1): 153-163.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X., and Zhao, J., 2012. Shelf-life Extension of Crucian Carp (*Carassius auratus*) using Natural Preservatives during Chilled Storage. *Food Chemistry* 135, 140-145.
- Liu, H., Du, Y., Wang, X., and Sun, L., 2004. Chitosan Kills Bacteria through Cell Membrane Damage. *International Journal of Food Microbiology* 95, 147-155.
- Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V., and Gopal, T.K.S., 2012. Effect of Chitosan Edible Coating in the Quality of Double Filleted Indian Oil Sardine (*Sardinella longiceps*) during Chilled Storage. *Food Hydrocolloids* 26, 167-174.
- Neetoo, H., 2016. Synergistic Antimicrobial Effect of Chitosan with Nisin and Sodium Lactate, Sodium Diacetate, or Potassium Sorbate as Edible Coatings against *Listeria monocytogenes* and Bacterial Flora of Cooked Tuna Loins. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences* 4(6), 303-311.
- Obemeata, O., and Christopher, N., 2012. Organoleptic Assessment and Proximate Analysis of Stored *Tilapia guineensis*. *Annual Review & Research in Biology* 2(2), 46-52.

- Otero, L., Pérez-Mateos, M., and López-Caballero, M.E., 2017. Hyperbaric Cold Storage Versus Conventional Refrigeration for Extending the Shelf-Life of Hake Loins. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 41, 19-25.
- Özogul, I., Polat, A., Özogul, Y., Boga, E.K., Ozogul, F., and Ayas, D., 2014. Effects of Laurel and Myrtle Extracts on the Sensory, Chemical and Microbiological Properties of Vacuum-Packed and Refrigerated European Eel (*Anguilla anguilla*) Fillets. *International Journal of Food Science & Technology* 49, 847-853.
- Özogul, Y., Özogul, F., and Gokbulut, C., 2006. Quality Assessment of Wild European Eel (*Anguilla anguilla*) Stored in Ice. *Food Chemistry* 95, 458-465.
- Özogul, Y., Ozyurt, G., Özogul, F., Kuley, E., and Polat, A., 2005. Freshness Assesment of European Eel (*Anguilla anguilla*) by Sensory, Chemical and Microbial Methods. *Food Chemistry* 92, 745-751.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K., and Salokhe, V.M., 2005. Enhancing Antimicrobial Activity of Chitosan Films by Incorporating Garlic Oil, Potassium Sorbate and Nisin. *LWT* 38, 859-865.
- Ruiz-Capillas, C., Morales, J., and Moral, A., 2001. Combination of Bulk Storage in Controlled and Modified Atmospheres with Modified Atmosphere Packaging System for Chilled whole Gutted Hake. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 551-558.
- Salgado, P.R., Ortiz, C.M., Musso, Y.S., Giorgio, L.D., and Mauri, A.N., 2015. Edible Films and Coatings Containing Bioactives. *Current Opinion in Food Science* 5, 89-92.
- Sanjurjo, K., Flores, S., Gerchenson, L., and Jagus, R., 2006. Study of the Performance of Nisin Supported in Edible Films. *Food Research International* 39, 749-754.
- Soares, N.M., Fernandes, T. A., and Vicente, A.A., 2016. Effect of Variables on the Thickness of an Edible Coating Applied on Frozen Fish – Establishment of the Concept of Safe Dipping Time. *Journal of Food Engineering* 171, 111-118.
- Soares, N.M., Mendes, T.S., and Vicente, A.A., 2013. Effect of Chitosan-based Solutions Applied as Edible Coatings and Water Glazing on Frozen Salmon Preservation – A Pilot-scale Study. *Journal of Food Engineering* 119, 316-323.
- Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Ruiz, H.A., Martins, J.T., Casariego, A., Teixeira, J.A., and Vicente, A.A., 2010. Effect of Chitosan-Based Coatings on the Shelf Life of Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 11456-11462.
- Wang, X., Du, Y., Fan, L., Liu, H. & Hu, Y., 2005. Chitosan-Metal Complexes as Antimicrobial Agent: Synthesis, Characterization and Structure-Activity Study. *Polymer Bulletin*, 55: 105-113.
- Wu, T., Wu, C., Fang, Z., Ma, X., Chen, S., and Hu, Y., 2017. Effect of Chitosan Microcapsules Loades with Nisin on the Preservation of Small Yellow Croaker. *Food Control* 79, 317-324.
- Yanar, Y., Küçükgülmez, A., Gökçin, M., Gelibolu, S., and Dikel, Ç., 2013. Antioxidant Effects of Chitosan in European Eel (*Anguilla anguilla* L.) Fillets during Refrigerated Storage. *CyTA-Journal of Food* 11(4), 328-333.

Zhu, X., Wu, H., Yang, J., Tong, J., Yi, J., Hu, Z., Hu, J., Wang, T. and Fan, L., 2015. Antibacterial activity of chitosan grafting nisin: Preparation and characterization. *Reactive and Functional Polymers* 91: 71-76.