



**PENGARUH PENAMBAHAN KITOSAN TERHADAP
CEMARAN MIKROBIOLOGIS PADA ABON PINDANG
TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

*The Effect of Chitosan on Microbial Contamination in Brined
Mackerel Tuna (*Euthynnus affinis*) Floss*

**Purwaningtyas Kusumaningsih¹, Ni Made Ria Sanistya Kusuma², Luh Eka Rahayu
Ambarawati³, Chissanti Banimema⁴**

^{1,2,3,4}Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura

Jl. Raya Padang Luwih, Tegaljaya Dalung, Kec. Kuta Utara, Kab. Badung Bali 80361,
Indonesia

e-mail: purwak.05@undhirabali.ac.id

DOI: 10.33830/fsj.v2i1.3138.2022

Diterima: 14 Mei 2022, Diperbaiki: 11 Juli 2022, Disetujui: 05 Ags 2022

ABSTRACT

*The processing of pindang tongkol becomes floss is a food technology to aim in extending the shelf life. The addition of chitosan inside the floss is to prevent the development of *Vibrio sp.*, *Proteus sp.* and *Pseudomonas sp.* These bacteria live in high-salt environments such as brined mackerel product. The aim of this study was to examine the effect of chitosan to the quantity of *Vibrio sp.*, *Proteus sp.* and *Pseudomonas sp.* in brined mackerel processing. In this study, were tested on samples of pindang tongkol, pindang floss without chitosan and pindang floss contains of 50 mg of chitosan. The total plate count (TPC) of pindang tongkol was reported to numerus to count (TNTC). TPC of floss without chitosan and floss contains chitosan, were less than 2.5×10^2 colonies/ml (g). This value was qualify to the Indonesian National Standard (SNI) 7690.1:2013 and these result indicate that the processing of brined mackerel into floss and the addition of chitosan can reduce bacterial contamination. Identification of bacteria were using Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) media, gram staining and API 20E kit. The bacteria from pindang tongkol was identified as *Proteus vulgaris*, while *Pseudomonas luteola* was from floss without chitosan. The addition of 50 mg of chitosan in floss was proven to prevent the development of halophilic bacteria such as *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, and *Pseudomonas sp.**

Keywords : *chitosan, gram negative bacterial, brined mackerel (*Euthynnus affinis*), brined mackerel floss.*

ABSTRAK

Pengolahan ikan pindang menjadi abon merupakan teknologi pangan bertujuan memperpanjang masa simpan. Penambahan kitosan pada abon berfungsi untuk mencegah berkembangnya bakteri *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* Bakteri-bakteri ini hidup di lingkungan berkadar garam tinggi, seperti pada produk ikan pindang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efek penambahan kitosan terhadap kuantitas *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* pada olahan ikan pindang tongkol. Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap sampel ikan pindang tongkol, abon tanpa kitosan dan abon dengan penambahan 50 mg kitosan. *Total plate count* (TPC) pada ikan pindang dilaporkan terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). TPC pada abon tanpa kitosan dan abon berkitosan adalah kurang dari $2,5 \times 10^2$ koloni/ml (g). Nilai ini memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) 7690.1:2013 dan hasil ini menunjukkan bahwa pengolahan ikan pindang tongkol menjadi abon serta penambahan kitosan dapat mengurangi cemaran bakteri. Identifikasi bakteri menggunakan media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS), pengecatan gram dan kit API 20E. Bakteri yang teridentifikasi pada ikan pindang adalah *Proteus vulgaris*, sedangkan *Pseudomonas luteola* teridentifikasi pada abon tanpa kitosan. Penambahan kitosan 50 mg didalam abon terbukti mencegah perkembangan bakteri halofilik seperti *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.*

Kata Kunci : abon pindang, bakteri gram negatif, kitosan, pindang tongkol (*Euthynnus affinis*).

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai Negara yang kaya akan berbagai macam jenis ikan. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2020, produksi perikanan laut di seluruh Indonesia berkisar 840.785,37 ton. Salah satunya adalah ikan tongkol yang merupakan ikan pelagis, banyak ditemukan di perairan hangat Indonesia termasuk perairan di sekitar pulau Bali. Nilai produksi tangkapan ikan tongkol di Indonesia pada tahun 2019 mencapai 503.564 ton. Sedangkan Provinsi Bali sendiri pada tahun 2019, tangkapan ikan tongkol adalah sebanyak 17.321 ton (BPS, 2022). Dibandingkan dengan jumlah tangkapan ikan lainnya seperti cakalang dan tuna, tongkol menempati posisi pertama. Permintaan yang terus meningkat dan tidak adanya batasan penangkapan mengakibatkan terjadinya kelebihan penangkapan. Penangkapan ikan tongkol yang berlebih sebagian diolah menjadi pindang sebagai upaya membantu mengatasi pembusukan ikan.

Pindang juga menjadi produk olahan hasil perikanan unggulan di Provinsi Bali (Hidayat et al., 2020; Permathasari et al., 2021). Olahan pindang dari ikan tongkol sangat digemari oleh masyarakat Bali dan merupakan bahan pangan utama yang dikonsumsi sehari-hari. Pengolahan ikan pindang di Bali tersebar di delapan

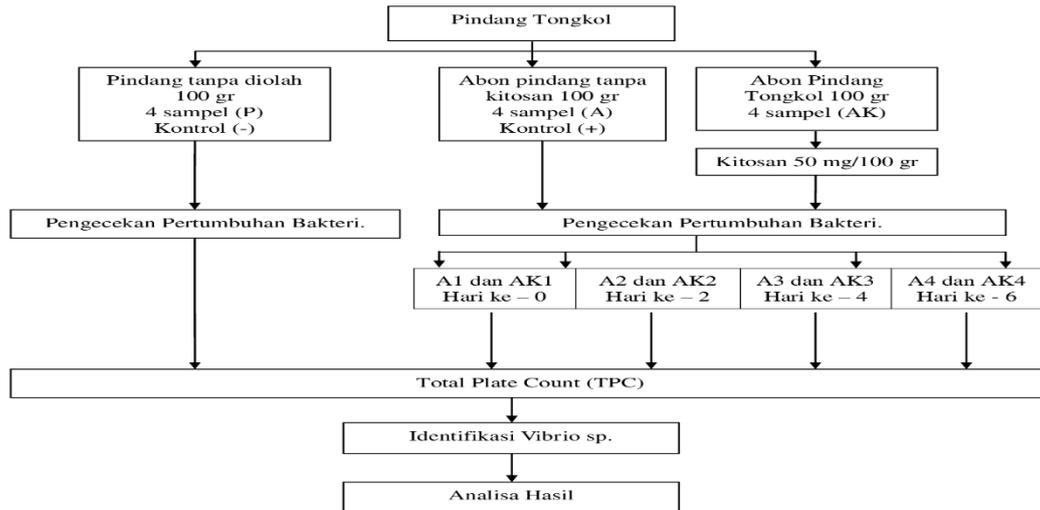
Kabupaten/Kota yaitu, Jember, Tabanan, Badung, Gianyar, Klungkung, Karangasem, Buleleng dan Denpasar (Anom et al., 2017; Sari dan Nuraini, 2020). Pengolahan ikan pindang masih dilakukan secara tradisional. Selama proses pengawetan, garam yang digunakan adalah garam krosok atau krotok. Garam jenis ini kurang higienis, warnanya coklat dan bercampur kotoran. Proses selama pendistribusian dari tempat pengolahan sampai ke penjual dan konsumen tidak ada perlakuan khusus, yang menjamin mutu ikan pindang bebas dari kontaminasi bakteri. Sumber bakteri dapat berasal dari bahan mentah seperti ikan tongkol, air yang digunakan untuk merebus, tempat pengolahan, lingkungan, individu yang terlibat didalamnya, transportasi dan faktor lainnya. Ikan pindang mengandung air dan protein tinggi yang baik untuk media pertumbuhan bakteri (Thaheer et al., 2015; Pandit dan Permatananda, 2019). Selain itu, kandungan garam dalam ikan pindang dapat memungkinkan adanya pertumbuhan bakteri halofilik. Salah satunya adalah bakteri *Vibrio sp.*, yang dapat bertahan pada suhu tinggi dan hidup di dalam lingkungan berkadar garam tinggi. Bakteri *Vibrio sp.* dapat menyebabkan penyakit pencernaan yaitu diare, gastroenteritis dan septikemia (Baker-Austin et al., 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Pramono et al., (2015), telah menemukan bakteri *Vibrio sp.* pada kuliner olahan pindang tongkol di wilayah timur Kota Surabaya. Maka dari itu perlu peningkatan pelayanan kepada wisatawan yang berhubungan dengan gizi pariwisata, berupa penjaminan hygiene sanitasi kuliner khas daerah (Widyastana et al., 2015). Untuk mengatasi permasalahan tersebut, ikan pindang perlu pengolahan lebih lanjut, salah satunya dijadikan abon, sehingga memiliki umur simpan lebih lama dan bernilai ekonomis. Namun perlu dipikirkan kemungkinan terjadinya perkembangan bakteri halofilik pada ikan pindang tongkol yang akan diolah menjadi abon. Salah satu bahan pengawet yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah kitosan. Kitosan merupakan pengawet berbahan alami dan aman bagi kesehatan. Kitosan dapat menghambat perkembangan bakteri gram negatif, gram positif dan jamur yang dapat menyebabkan makanan mudah busuk (Widyastana et al., 2015). Pada penelitian produk sosis ikan, penggunaan kitosan dengan konsentrasi 1.5% mampu menurunkan tingkat kontaminasi mikroba yang disimpan dalam suhu 4°C selama 28 hari (Tayel, 2016). Menurut Siddique et al. (2020), telah ditemukan bahwa aplikasi 0,5-1% kitosan pada pembuatan teri asin dapat menurunkan

kontaminasi bakteri selama masa penyimpanan 8 minggu. Daya hambat kitosan dapat dilihat dari konsentrasi kitosan, derajat deasetilasi, dan jenis bakteri yang dihambat (Wittriansyah et al., 2019). Tujuan penambahan kitosan dalam pengolahan abon dari bahan ikan pindang tongkol adalah untuk mengatasi pencemaran bakteri psikofilik dan halofilik seperti dan *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* yang dapat berkembang pada pindang yang dijual pada suhu antara 10-30°C. Pencemaran yang terjadi selama proses pembuatan pindang yang disebabkan penanganan yang tidak bersih (Koffi-Nevry dan Koussémon, 2012; Ndahawali, 2016), sehingga ikan pindang tongkol yang diolah menjadi abon, menjadi aman untuk dikonsumsi dan tahan lama. Pada penelitian ini, penambahan 50 mg kitosan pada proses pembuatan abon ikan pindang tongkol (*Euthynnus affinis*) bertujuan untuk menekan pertumbuhan atau membunuh bakteri *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* sehingga abon tahan disimpan pada suhu ruang 20-25°C serta menjadikan kitosan sebagai alternatif bahan pengawet pada produk abon ikan pindang tongkol.

METODE

Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan kitosan sebesar 50 mg terhadap kontaminasi bakteri halophilik pada ikan pindang tongkol sebelum diolah menjadi abon. Cemaran mikroba diambil dari data hasil *total plate count* (TPC) dua kelompok sampel perlakuan yaitu abon dengan penambahan kitosan dan abon tanpa kitosan. Ikan pindang tongkol tanpa diolah digunakan sebagai kontrol negatif. Identifikasi cemaran bakteri diteruskan dengan deteksi cemaran *Vibrio sp.* dan bakteri halofilik lainnya. Bakteri halofilik dipilih sebagai fokus penekanan tingkat cemaran bakteri pada ikan pindang tongkol sebelum diolah menjadi abon (Siddique et al., 2020). Desain penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Desain Penelitian

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga bulan Agustus 2019, sampel ikan pindang tongkol diperoleh di Pasar Tradisional yang berada di wilayah Kota Denpasar dan Kabupaten Badung. Pengolahan abon pindang tongkol dilakukan di Laboratorium Kitchen Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali.

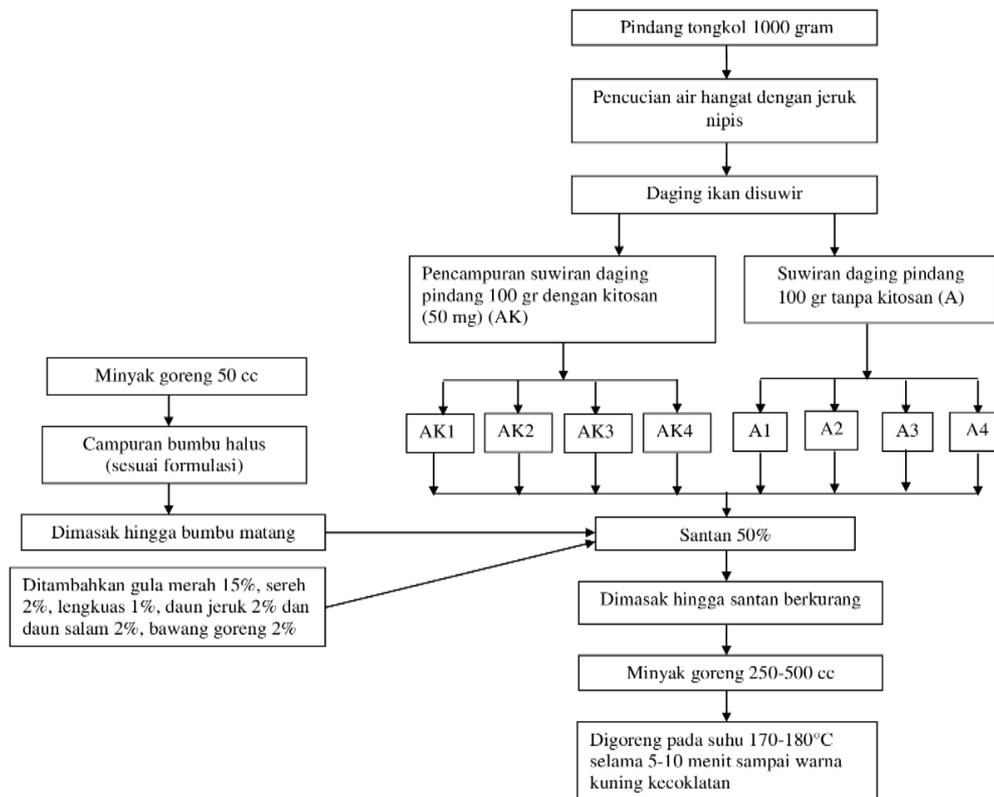
Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi mikropipet (*Socorex*), inkubator (*Memmert*), labu ukur (*Pirex*), tabung reaksi (*Pirex*), rak tabung reaksi, Bunsen, ose, mikroskop (*Olympus*), kaca preparat, timbangan digital (*AND*), cawan petri *disposable* (*Onelab*), tip, pinset (*Onemed*), dan lain-lain. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah alkohol 96%, alkohol 70%, larutan NaCl, media NA (*Nutrient Agar*), media TSB (*Tryptic Soy Broth*), Medium TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*), aluminium foil, spiritus, aquades dan bahan utama yaitu pindang tongkol (kontrol positif), abon pindang tanpa kitosan (kontrol negatif) dan abon pindang tongkol dengan kitosan.

Cara Kerja

- a. Pengolahan Abon Pindang Tongkol

Prosedur pengolahan abon pindang tongkol dilakukan pertama dengan menimbang pindang seberat 1000 gram. Kemudian pindang dicuci dengan air hangat yang telah dicampur air perasan jeruk nipis. Daging pindang disuwir, selanjutnya dibagi menjadi delapan bagian dengan masing-masing seberat 100 gram. Empat bagian dicampur dengan 50 mg kitosan secara merata dan didiamkan selama 15 menit sebelum dicampur santan dan digoreng dengan bumbu. Empat bagian lainnya diolah dengan cara yang sama namun tanpa pemberian 50 mg kitosan (Anwar et al., 2018, dengan modifikasi). Secara skematis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Alir Pengolahan Abon

b. Kultur Bakteri

Kultur bakteri dalam penelitian ini menggunakan dua metode yaitu metode seri pengenceran dalam larutan NaCl fisiologis 0.9% yang ditanam dalam media NA. Pada metode kedua, kultur bakteri diperkaya dalam media TSB sebelum ditanam pada media TCBS (Riana et al., 2021, dengan modifikasi).

Kultur bakteri melalui tahap pengenceran dengan mengambil masing-masing sampel pindang tongkol (P), abon pindang tongkol tanpa kitosan (A) dan abon pindang tongkol dengan kitosan (AK) ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^0 yang sudah berisi NaCl sebanyak 9 ml sebagai larutan induk. Sebanyak 1 ml dari larutan induk diencerkan ke dalam tabung reaksi 10^{-1} dan pengenceran dilakukan hingga seri 10^{-2} . Selanjutnya seri pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} diambil sebanyak 10 mikroliter dan ditanam pada media NA. Penanaman sampel menggunakan metode *spread* dan diratakan dengan *glass cells spreaders* pada cawan agar NA, selanjutnya sampel diletakkan ke dalam alat inkubasi 37°C selama 24 jam.

Kultur bakteri menggunakan media pengayaan dengan mengambil masing-masing sampel pindang tongkol, abon pindang tongkol tanpa kitosan dan abon pindang tongkol dengan kitosan ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml media TSB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya sebanyak 10 mikroliter ditanam pada cawan agar TCBS dengan metode *spread*.

c. *Total Plate Count*

Penghitungan *total plate count* menggunakan metode BSN (2006):

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

N = jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml
 $\sum c$ = jumlah koloni pada semua cawan petri yang dihitung
 n_1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n_2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d = pengenceran pertama yang dihitung

Sampel ditimbang masing-masing 1 gr, kemudian dihomogenkan pada larutan NaCl 9 ml. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-2} , dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} , dimasukkan ke tabung kedua berisi 9 ml NaCl. Sebanyak 1 ml cairan diambil dari masing-masing pengenceran dan ditanam pada media *Nutrient Agar* (NA), diratakan di permukaan media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penghitungan koloni bakteri yang tumbuh dilakukan di hari berikutnya.

d. Isolasi dan Subkultur Bakteri *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.*

Media yang telah dikultur pada media TSB dan diinkubasi dikeluarkan, kemudian alat dan media TCBS disiapkan. Penanaman menggunakan ose dicelupkan pada media dan ditanam di media TCBS dengan metode *streak plate*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *Single* koloni pada media yang tumbuh, diambil kemudian di subkultur di media TCBS yang baru menggunakan metode *streak plate* kemudian diinkubasi selama 24 jam (A Al-Shamahy, 2019).

e. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri *Vibrio sp.*, *Proteus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* berdasarkan ciri-ciri morfologi, pengecatan gram serta diperkuat dengan analisis API 20E. Mikroskop slide ditetaskan dengan aquades kemudian *single* koloni yang tumbuh pada media TCBS diambil dan di ratakan pada mikroskop slide yang telah berisi aquades, didiamkan hingga kering. Setelah kering dilanjutkan dengan pengecatan gram. Kristal violet ditetaskan pada kedua sisi, didiamkan selama 1-3 menit, disiram dengan air mengalir. Larutan logam ditetaskan pada kedua sisi, didiamkan selama 0,5 - 1 menit, disiram dengan air mengalir. Alkohol 96% ditetaskan pada kedua sisi, didiamkan 0,25 – 0,5 menit, disiram dengan air mengalir. Air tuchsin ditetaskan pada kedua sisi, didiamkan 1-2 menit, disiram dengan air mengalir. Kemudian didiamkan hingga kering dan diamati menggunakan mikroskop. Koloni bakteri dilanjutkan dengan analisis API 20E untuk mendukung identifikasi secara biokimia (A Al-Shamahy, 2019).

f. Analisis Data

Pada penelitian ini pengolahan abon dibuat dengan 2 perlakuan dengan menggunakan kitosan berkonsentrasi 50 mg sebagai pengawet dan tanpa kitosan. Selanjutnya dilakukan observasi terhadap cemaran bakteri dengan parameter *total plate count* (TPC) antara 2 kelompok perlakuan dan kontrol yaitu pindang tanpa diolah dengan *time series design* pada hari ke-2, ke-4, ke-6 dan ke-8, dengan masing-masing dilakukan dua kali pengulangan. Kultur bakteri menggunakan dua cawan petri setiap seri pengenceran. Data yang diperoleh dari dua kelompok perlakuan dan control, dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) 16 *independent T-test* dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Hardianto et al., 2012, dengan modifikasi).

HASIL PEMBAHASAN

A. Uji *Total Plate Count* (TPC)

Hasil analisis *total plate count* mikroba pada sampel pindang tongkol, abon pindang tongkol dan abon pindang tongkol dengan penambahan kitosan diuji cemaran mikroba setiap 2 hari sekali hingga hari ke-8. Penghitungan *Total Plate Count* (TPC) cemaran mikroba berdasarkan BSN (2006).

Pindang tongkol yang diolah menjadi abon dengan penambahan kitosan diberi label AK, kontrol positif abon pindang tongkol tanpa penambahan kitosan, diberi label A. Sedangkan kontrol negatif digunakan pindang tongkol yang tidak diolah dengan label P. Keterangan dapat dilihat pada Tabel 1. Pada penelitian ini, dilakukan perbandingan antara abon berkitosan dengan tanpa kitosan untuk mengetahui apakah terjadi perbedaan yang berarti atau signifikan terhadap pertumbuhan bakteri. Sebab diketahui teknik penggorengan dengan suhu tinggi mampu mengurangi kandungan air sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri (Hermanto, 2020). Sedangkan kitosan, selain memiliki kemampuan mengikat molekul air, diketahui dapat menghambat sintesis enzim bakteri yang menyebabkan kematian bakteri (Liu et al., 2022). Pindang tongkol dipakai sebagai pembanding tingkat terhadap cemaran bakteri sebelum diolah menjadi abon.

Penghitungan TPC dilakukan interval setiap 2 hari hingga hari ke-8. Setiap sampel dimasak terpisah dengan ditimbang berat 100 gr suwiran daging pindang ditambahkan 50 mg kitosan sebanyak 4 sampel. Abon tanpa kitosan diolah dan dibagi menjadi 4 sampel, masing-masing 100 gr sebagai sampel positif. Pindang yang dibeli adalah pindang tongkol (*Euthynnus affinis*) baru, dibagi menjadi 4 sampel, sebagai kontrol negatif. Total semua 12 sampel, dan akan diperiksa sesuai metode “*time series design*”.

Tabel 1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri pada Sampel

Kode Sampel	Hari ke-2		Hari ke-4		Hari ke-6		Hari ke-8		Ket.
	Jumlah koloni		Jumlah koloni		Jumlah koloni		Jumlah koloni		
	10 ⁻¹	10 ⁻²							
AK	1	18	0	2	0	1	0	2	
Kontrol (+) A	1	9	1	1	4	0	0	7	<25 koloni
Kontrol (-) P	TBUD	dihitung pengenceran awal							

Keterangan: abon dengan kitosan (AK); kontrol (+) abon tanpa kitosan (A); kontrol (-) pindang tongkol (P)

Pada Tabel 1 di atas, dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada pindang tongkol terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Sedangkan pada olahan abon dengan kitosan dan abon tanpa kitosan, jumlah koloni yang tumbuh di tiap cawan dengan pengenceran yang sama, dibawah 25 koloni, sehingga hasil analisis TPC sampel AK dan A lebih kecil dari $2,5 \times 10^2$ koloni/ml mengikuti metode penghitungan BSN (2006).

Tabel 2. *Total Plate Count* Bakteri Sampel

Kode Sampel	TPC (cfu/ml)			
	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6	Hari ke-8
AK	158*	16,6*	8,3*	16,6*
A	83,3*	16,6*	33,3*	58,3*

Keterangan: abon dengan kitosan (AK); abon tanpa kitosan (A); Tanda (*) jumlah koloni yang tumbuh < 25

Hasil uji TPC sampel ikan pindang tongkol (P) menunjukkan koloni yang tumbuh lebih dari 250 koloni (< 250) atau di atas 1.0×10^5 koloni/g, melebihi batas maksimum yang ditentukan dalam BSN (2017) untuk produk ikan pindang. Hasil ini menunjukkan bahwa pindang tersebut tidak layak dikonsumsi dan perlu pengolahan lebih lanjut untuk menekan cemaran bakteri. Bakteri yang mampu bertahan pada pindang dapat berupa bakteri yang tahan pada kadar garam yang tinggi atau disebut bakteri halofilik. Karena ikan pindang dibuat dari ikan laut yang hidup di lingkungan dengan kadar garam yang tinggi dan proses pemindangan menggunakan garam sebagai pengawet (Pandit, 2016). Fatuni et al., (2016) menemukan bakteri *Proteus vulgaris* yang berkembang setelah 32 jam pada penyimpanan pindang bandeng pada suhu 21°C dan berperan dalam pembentukan histamin. Bakteri pada pindang mampu bertahan meskipun melewati perebusan dengan suhu tinggi adalah bakteri golongan termofilik yang mampu hidup di atas suhu 45-88°C (Firliani et al., 2015). Teknik pemindangan secara umum menggunakan penggaraman dengan kadar 5-20%, suhu 60-70°C selama 1-8 jam perebusan (Novianti et al., 2017). Cemaran bakteri dapat berasal dari ikan sebagai bahan pindang, air perebusan atau garam yang digunakan (Sipahutar et al., 2017).

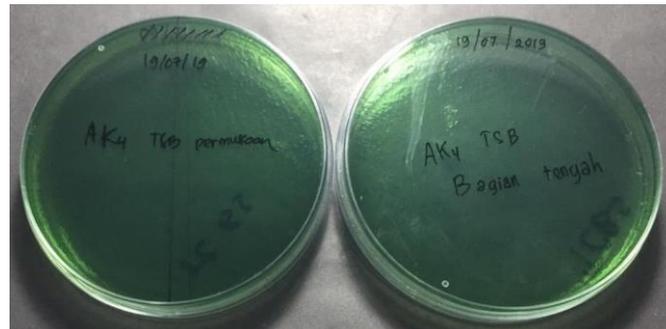
Ikan pindang tongkol yang telah diolah menjadi abon baik dengan penambahan kitosan dan tanpa kitosan, nilai TPC tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($0,961 > 0,05$) terhadap jumlah koloni yang tumbuh pada kedua perlakuan. Pada penelitian ini, pada tiap cawan pengenceran, koloni bakteri yang tumbuh dibawah 25 koloni dan sesuai penghitungan BSN (2006). Sehingga olahan abon aman untuk dikonsumsi karena memenuhi standar SNI 7690.1:2013 yaitu persyaratan nilai TPC abon ikan maksimal 5.0×10^4 koloni/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa cemaran bakteri dapat ditekan dengan mengolah ikan pindang tongkol menjadi abon atau ditambahkan kitosan dalam proses pengolahan. Karena pengolahan abon menggunakan suhu panas mampu membunuh bakteri psikofilik dan mesofilik yang hidup pada suhu $20^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$ saat digoreng pada suhu 200°C (Dewi et al., 2012). Pada penelitian ini abon diolah dengan metode *deep frying* dimana campuran bumbu, santan, dan daging pindang tongkol yang hampir kering digoreng di dalam minyak panas. Selama penggorengan dengan suhu tinggi, air akan menguap dalam bentukan *bubbling* digantikan oleh minyak. Kadar air yang berkurang mengakibatkan aktivitas air (a_w) dalam bahan pangan ikut menurun. Air merupakan komponen nutrisi utama bagi bakteri untuk berkembang (Renol et al., 2020). Proses penggorengan menyebabkan penurunan kadar air sehingga meningkatkan umur simpan. Bakteri memerlukan waktu untuk penyesuaian di lingkungan yang baru, sehingga laju perkembangan bakteri melambat (Dewi et al., 2012).

Jumlah TPC antar perlakuan pada Tabel 2 menggunakan SPSS diperoleh nilai T_{hitung} sebesar 0,047 dan nilai T_{tabel} sebesar 2,447. Karena nilai $T_{hitung} < T_{tabel}$ maka aplikasi kitosan sebagai pengawet dalam olahan abon pindang tongkol tidak memberikan banyak perbedaan terhadap tingkat cemaran bakteri, dibandingkan abon tanpa kitosan. Meskipun demikian penggunaan kitosan tetap memberikan dampak positif untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri halofilik pada olahan ikan yang menggunakan garam dengan konsentrasi tinggi. Pencemaran bakteri *Vibrio sp.*, dan *Pseudomonas sp.*, telah dilaporkan oleh Ghaned et al., (2019) dan Narzary et al., (2021) dalam olahan fermentasi ikan asin di berbagai negara. Suseno et al., (2015) membuktikan bahwa penambahan kitosan saat proses pembuatan ikan asin, mampu memperpanjang umur simpan menjadi sebulan lebih

lama dibandingkan hanya menggunakan garam yang bertahan selama 2 bulan. Sebagai pengawet, selain memiliki kemampuan dalam mengikat molekul air, kitosan juga bekerja dengan menghambat pembentukan mRNA dan sintesis protein bakteri (Gafri et al., 2019). Beberapa penelitian telah menguji daya hambat kitosan terhadap *Vibrio cholera* dan bakteri lainnya seperti *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae sp.*, *Enterobacter gergoviae* dan *Citrobacter amalonaticus* pada produk perikanan (Aisyah et al., 2017; Sari et al., 2020).

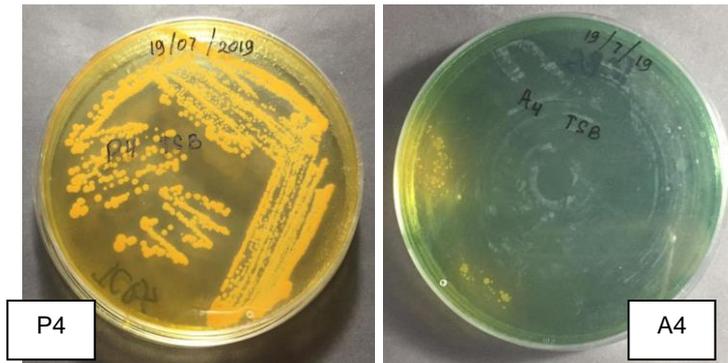
B. Isolasi Bakteri *Vibrio sp.*

Identifikasi *Vibrio sp.* dari ketiga sampel pindang tongkol, abon dan abon kitosan, pada hari ke-8 penyimpanan, sebelumnya diperkaya pada media *triptic soy broth* (TSB) sebelum ditumbuhkan pada media selektif TCBS. Pada media TCBS yang berasal dari sampel abon dengan penambahan kitosan (AK4) pada hari ke-8 tidak tumbuh koloni dapat dilihat pada Gambar 3.



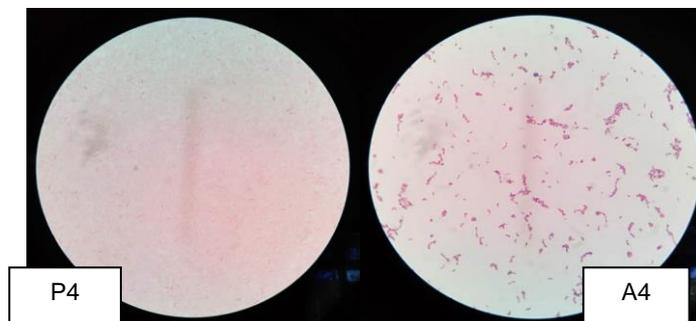
Gambar 3. Media TCBS sampel abon berkitosan (AK4) tidak tumbuh koloni bakteri

Koloni yang tumbuh pada media TCBS berasal dari sampel pindang tongkol (P4) hari ke-8 dan abon pindang tongkol (A4) pada hari ke-8. Koloni yang tumbuh memiliki beberapa sifat morfologi koloni berupa warna koloni kuning, bentuk koloni *circular*, tepi koloni *entire*, elevasi koloni *flat*, ukuran dari koloni *moderate*, tampilan koloni berkilau, *optical* koloni *opaque* dan tekstur dari koloni lembut dapat dilihat pada Gambar 4. Prosedur selanjutnya adalah dilakukan pembuatan subkultur dengan mengambil satu koloni yang dicurigai sebagai *Vibrio sp.* berdasarkan karakteristik morfologi ke media TCBS.



Gambar 4. Karakteristik warna koloni bakteri sampel ikan pindang tongkol (P4) dan abon tanpa kitosan (A4) pada media TCBS

Pada pengecatan gram dari koloni subkultur sampel P4 dan A4 diperoleh hasil kedua bakteri merupakan bakteri gram negatif (Gambar 5), mengarah pada bakteri *Vibrio sp.*, akan tetapi bentuk morfologi bakteri dari kedua koloni terlihat berbeda. Pengecatan gram dapat dipakai sebagai identifikasi golongan gram bakteri dan morfologi sel bakteri. Penampakan sel bakteri koloni sampel P4 berbentuk batang dan berflagela sedangkan bentuk sel bakteri koloni sampel A4 menyerupai batang pendek hampir seperti *coccus*.



Gambar 5. Pengecatan gram koloni bakteri sampel pindang (P) dan abon tanpa kitosan (A)

Berdasarkan hasil tersebut identifikasi dilanjutkan dengan pemeriksaan menggunakan kit API 20E, khusus untuk identifikasi bakteri gram negatif. Bakteri yang teridentifikasi dari sampel pindang tongkol (P4) adalah *Proteus vulgaris* dan pada sampel abon tanpa kitosan (A4) terdapat bakteri *Pseudomonas luteola*. *Proteus Vulgaris* dan *Pseudomonas luteola* termasuk dalam golongan bakteri halofilik.

Koloni bakteri yang tumbuh pada media TCBS dari sampel pindang tongkol (P4) dan abon pindang tongkol (A4) berwarna kuning. Koloni berwarna kuning

menunjukkan koloni mampu memfermentasi sukrosa serta mampu menurunkan pH pada media TCBS dan menghambat pertumbuhan bakteri non target. Natrium yang terkandung dalam media TCBS diperuntukkan bakteri golongan halofilik (Hikmawati et al., 2019). Pada media TCBS yang berasal dari abon kitosan tidak ada satupun koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini membuktikan bahwa kitosan pada abon efektif sebagai anti-bakteri dalam menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* (Mohammad El-Aidie, 2018).

Mustapha et al., (2013), menjelaskan bakteri genus *Vibrio sp.* memiliki ciri-ciri antara lain berbentuk batang pendek, bersifat gram negatif, memiliki flagel, tidak berspora, tidak memiliki kapsul, berkembang biak dengan pembelahan biner dan bersifat fakultatif aerob, serta tumbuh pada medium selektif TCBS dengan koloni berwarna kekuningan, orange atau hijau. Pewarnaan gram juga menunjukkan positif keduanya golongan gram negatif, mengarah pada bakteri *Vibrio sp.* Lapisan dinding peptidoglikan bakteri gram negatif relatif tipis dibandingkan bakteri gram positif, penyerapan warna kristal violet pada lapisan lipid dengan mudah luruh setelah dibilas alkohol 96%.

Dari hasil pengamatan, ditemukan perbedaan pada bentuk koloni. Pada sampel pindang tongkol (P), koloni berbentuk batang dan berflagela sedangkan sampel abon pindang tongkol (A) batang pendek hampir menyerupai *coccus* berantai. Hasil analisis menggunakan kit API 20E mengidentifikasi bakteri sebagai *Proteus vulgaris* pada sampel ikan pindang tongkol dan *Pseudomonas luteola* pada sampel abon ikan pindang tanpa kitosan.

Fatuni et al., (2014), menemukan bahwa *Proteus vulgaris*, yang merupakan bakteri mesofilik, dapat tumbuh pada jam ke-32 sebagai bakteri pembusuk pembentuk histamin pada pindang bandeng yang disimpan pada suhu 21°C. Sedangkan pada penelitian ini, bakteri *Proteus vulgaris* juga ditemukan pada sampel pindang tongkol yang telah disimpan selama 8 hari dalam suhu ruang berkisar 20°C-25°C. *Proteus vulgaris* bersifat zoonosis karena dapat menyebabkan penyakit pada manusia. *Proteus vulgaris* ditemukan pada saluran pencernaan manusia. Bakteri ini bersifat patogen yang menyebabkan infeksi pada saluran kandung kemih (Drzewiecka, 2016). Penelitian lain yang dilakukan oleh Dib et al., (2013), menemukan juga *Proteus*

vulgaris tumbuh pada media TCBS selain *Vibrio sp.* dari sampel makanan laut di Algeria, Afrika Utara.

Vibrio sp. dan *Pseudomonas sp.* secara umum ditemukan pada ikan yang hidup di laut dengan kadar garam tinggi atau olahan makanan laut yang dimasak setengah matang. Kedua bakteri ini termasuk bakteri yang tahan terhadap suhu panas sehingga dapat saja ditemukan pada olahan pindang tongkol yang direbus dibawah suhu 100°C. Namun pada penelitian ini, koloni yang tumbuh pada media TCBS tidak teridentifikasi sebagai *Vibrio sp.* melainkan *Pseudomonas luteola* pada sampel abon ikan pindang tanpa kitosan.

Pada penelitian Chen et al., (2012) ditemukan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media TCBS dari sampel air sungai tidak semua adalah *Vibrio sp.* setelah melakukan identifikasi menggunakan metode PCR. Bakteri yang dapat tumbuh selain *Vibrio* salah satunya adalah bakteri *Pseudomonas sp.* karena termasuk bakteri halofilik dan bakteri psikrofil penyebab kebusukan pada ikan. Pencemaran *Pseudomonas luteola* pada olahan abon tanpa kitosan dapat bersumber dari bahan pindang yang tercemar dari lingkungan. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit pada ikan dan menyerang organ hati dan ginjal biasanya pada lingkungan habitat ikan sudah tercemar logam berat (Setyawan et al., 2015) Bakteri ini terdapat di tanah, air dan lingkungan yang lembab (Çiçek et al., 2016), dan termasuk bakteri termofilik yang mampu bertahan pada suhu diatas 50°C karena memiliki enzim protease (Mahmudah et al., 2016). Perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang asal perairan ikan tongkol yang digunakan sebagai bahan pindangan dan isolasi bakteri *Pseudomonas luteola* dari perairan asal ikan tongkol, sehingga diketahui apakah terdapat pencemaran logam berat dan berasal dari mana logam berat yang ditemukan.

Bakteri *Proteus vulgaris* dan *Pseudomonas luteola* memang dapat tumbuh pada media TCBS karena keduanya adalah bakteri halofilik, tetapi pertumbuhannya lambat. Apabila tumbuh *Proteus vulgaris*, koloni berwarna kuning tetapi tidak mampu memfermentasi sukrosa yang membuat agar di sekitar koloni bakteri tetap hijau. *Pseudomonas sp.* yang kemungkinan tumbuh berupa koloni transparan. Oleh karena itu, identifikasi lebih lanjut perlu dilakukan menggunakan metode yang lebih spesifik mengarah pada bakteri yang dikehendaki.

Pada penelitian ini, bakteri yang berhasil diidentifikasi dari media TCBS

adalah *Proteus vulgaris* pada sampel ikan pindang tongkol dan *Pseudomonas luteola* pada sampel abon pindang tanpa kitosan. Pada sampel abon dengan kitosan tidak tumbuh koloni bakteri sehingga dapat disimpulkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.*, *Proteus vulgaris*, dan *Pseudomonas luteola*. Perbedaan spesies bakteri yang ditemukan pada ikan pindang dan abon tanpa kitosan dapat disebabkan perubahan kelembaban, aktivitas air dan konsentrasi garam selama proses pengolahan ikan pindang dan saat ikan pindang diolah menjadi abon (Vasconi et al., 2017). Ikan pindang yang digunakan sebagai sampel berupa pindang utuh yang masih lengkap dengan kulit, insang dan saluran pencernaan. *Proteus vulgaris* sangat umum ditemukan pada ketiga bagian tubuh ikan tersebut. Kontaminasi bisa terjadi akibat pencucian ikan tongkol tidak benar-benar bersih atau merembesnya cairan usus selama proses pemindangan dan menyebar ke bagian daging ikan (Visciano et al., 2020). Seperti yang telah dilaporkan oleh Hwang et al., (2020), diperlukan konsentrasi garam lebih dari 6% untuk dapat menghambat perkembangan *Proteus spp.* dalam proses pengawetan ikan dengan air garam. Kemungkinan sampel ikan pindang pada penelitian ini, direbus dengan garam berkonsentrasi dibawah 6%. *Pseudomonas luteola* ditemukan berkembang didalam produk abon tanpa kitosan, dapat disebabkan ketika pengolahan, terjadi kontaminasi dari peralatan masak yang digunakan. Shayeghi et al., (2020), menemukan bakteri *Pseudomonas* sebesar 2.11% dari hasil isolasi pada peralatan dapur yang memungkinkan terjadinya penularan infeksi bakteri. Bakteri golongan *Pseudomonas spp.*, memiliki karakteristik tahan terhadap suhu panas karena memiliki enzim lipolitik dan proteolitik yang tidak mengalami denaturasi pada suhu tinggi (Watson et al., 2021), sehingga mampu bertahan meskipun melalui proses penggorengan. Berdasarkan hasil tersebut, olahan abon ikan pindang tongkol dengan penambahan kitosan 50 mg mampu membunuh *Proteus vulgaris* yang terdapat pada ikan pindang tongkol dan menghambat pertumbuhan *Pseudomonas luteola* pada abon. Hasil ini menegaskan bahwa kitosan memiliki pengaruh dalam menekan ketiga pertumbuhan bakteri patogen tersebut (Shanmugam et al., 2016) pada olahan abon pindang tongkol. Kemampuan kitosan berikatan dengan lipopolisakarida (LPS) dinding sel dan *deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) bakteri *Proteus vulgaris* dan *Pseudomonas luteola* mengakibatkan kematian pada bakteri tersebut. Penggunaan kitosan sebagai antibakteri dapat ditambahkan sebagai pengawet untuk

memperpanjang umur simpan abon ikan pindang tongkol.

KESIMPULAN

Pengolahan ikan pindang tongkol (*Euthynnus affinis*) menjadi abon dapat menurunkan tingkat cemaran bakteri yang memenuhi standar SNI 7690.1:2013 dan layak untuk dikonsumsi. Penambahan kitosan dengan konsentrasi 50 mg dalam pengolahan 100 gr ikan pindang tongkol menjadi abon dapat membunuh bakteri *Vibrio sp.*, dan *Proteus vulgaris* dan menekan pertumbuhan *Pseudomonas luteola*.

DAFTAR PUSTAKA

- A Al-Shamahy, H. (2019). Detection of Vibrios in the Aquatic Environment and the Sewage System by Culture Method in Selected Areas in Yemen. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 3(6), 564–568. <https://doi.org/10.34297/ajbsr.2019.03.000739>.
- Aisyah, S., Agustiana, Adawyah, R., & Candra. (2017). Daya Hambat Kitosan Dari Cangkang Limbah Budidaya Kepiting “ Soka ” Terhadap 4 Isolat Bakteri Pembentuk Histamin Pada Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Fish Scientiae*, 7(1), 18–31.
- Anom, D. G., Sri Budhi, M. K., & Saskara, I. A. N. (2017). Penentu Kesejahteraan pengusaha “Pemindangan” di Kabupaten Tabanan. *Jurnal Ekonomi Kuantitatif Terapan*, 10(1), 85–94. <https://doi.org/10.24843/jekt.2017.v10.i01.p09>.
- Anwar, C., Irhami, & Kemalawaty, M. (2018). Pengaruh Jenis Ikan dan Metode Pemasakan terhadap Mutu Abon Ikan. *Jurnal Fishtech*, 7(2), 138–147. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v7i2.5679>.
- Badan Standardisasi Nasional. (2006). Standardisasi Nasional Indonesia No. 01-2332.3-2006. Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan. Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. (2009). Standardisasi Nasional Indonesia No. 7388:2009. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. (2013). Standardisasi Nasional Indonesia No. 7690.1:2013. Abon ikan – Bagian 1 : Spesifikasi. Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. (2017). Standardisasi Nasional Indonesia No. 2717:2017. Iakn Pindang. Jakarta.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F., & Martinez-, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1–19.
- BPS. (2022). Statistik Produksi Perikanan Laut yang Dijual di TPI 2018-2020 Provinsi Bali. [Online] Available at: <https://www.bps.go.id/indicator/56/496/1/produksi-perikanan-laut-yang-dijual-di-tpi.html> [Accessed 10 Juli 2022].
- Chen, M., Li, H., Ma, Y., Shi, Y., Fu, Y., Zheng, T., Zheng, S., & Chen, B. (2012). [Composition and distribution of TCBS bacteria groups from sediments of Jiulong River estuary]. *Wei Sheng Wu Xue Bao = Acta Microbiologica Sinica*, 52(5), 637–644.
- Çiçek, M., Hasçelik, G., Müştak, H. K., Diker, K. S., & Şener, B. (2016). Accurate Diagnosis of *Pseudomonas luteola* in Routine Microbiology Laboratory: On the Occasion of Two Isolates. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 50(4), 621–624.

<https://doi.org/10.5578/mb.27618>.

- Dewi, E. N., Parmawati, M., & Ibrahim, R. (2012). Kualitas Abon Ikan Tongkol (*Euthynnus Affinis Cantor*) yang Diproses Secara *Deep Frying* dan *Pan Frying* Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar. *Prosiding Seminar Nasional Ke-II*, 59–67.
- Dib, A. L., Chahed, A., Elgroud, R., Kabouia, R., Lakhdara, N., Bouazi, O., & García, M. E. (2013). Evaluation of the contamination of sea products by *Vibrio* and other bacteria in the eastern coast of Algeria. *Archives of Applied Science Research*, 5(3), 66–73. <http://scholarsresearchlibrary.com/aasr-vol5-iss3/AASR-2013-5-3-66-73.pdf>.
- Drzewiecka, D. (2016). Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. *Microbial Ecology*, 72(4), 741–758. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6>
- Fatuni, Y. S., Suwandi, R., & Jacob, A. M. (2014). Identification on Histamine Content and Histamin-Forming Bacteria of Boiled Badeng Slender Tuna. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(2), 112–118. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i2.8698>.
- Firliani, W., Agustien, A., & Febria, A. (2015). Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral Characterization of Thermophilic Bacteria in Producing Neutral Protease Enzymes. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(1), 9–14.
- Gafri, H. F. S., Mohamed Zuki, F., Aroua, M. K., & Hashim, N. A. (2019). Mechanism of bacterial adhesion on ultrafiltration membrane modified by natural antimicrobial polymers (chitosan) and combination with activated carbon (PAC). *Reviews in Chemical Engineering*, 35(3), 421–443. <https://doi.org/10.1515/revce-2017-0006>.
- Ghaned, N., Samaha, I., & Nossair, M. (2019). Incidence of Some Pathogenic Bacteria in Smoked and Salted Fish Products. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 60(2), 104–109. <https://doi.org/10.5455/ajvs.265362>.
- Hardianto, Suarjana, I. G. K., & Rudyanto, M. D. (2012). Pengaruh Suhu Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Telur Ayam Kampung Ditinjau Dari Angka Lempeng Total Bakteri. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(1), 71–84.
- Hermanto, K. P. (2020). Analisis Penerapan Standarisasi Produksi Pangan Olahan yang Baik pada Industri Rumah Tangga Pembuatan Abon Ikan Tuna di Kecamatan Penyileukan Kelurahan Cipadung Kulon Kota Bandung. *Jurnal Akuatek*, 1(2), 118–125.
- Hidayat, R., Maimun, M., & Sukarno, S. (2020). Analisis Mutu Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan Teknik Pengolahan Oven Steam. *Jurnal Fishtech*, 9(1), 21–33. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v9i1.11003>.
- Hikmawati, F., Susilowati, A., & Setyaningsih, R. (2019). Deteksi Jumlah dan Uji Patogenitas *Vibrio* spp . pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dikawasan Wisata Pantai Yogyakarta. *J Pros Sem Nas Masy Biodiv Indo*, 5(2), 334–339. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050234>.
- Koffi-Nevry, R., & Koussémon, M. (2012). Microbiological Composition, Processing and Consumer's Characteristics of Adjuevan, a Traditional Ivorian Fermented Fish. *Tropicultura*, 30(1), 9–14.
- Liu, T., Li, J., Tang, Q., Qiu, P., Gou, D., & Zhao, J. (2022). Chitosan-Based Materials : An Overview of Potential. *Journal Foods*, 11(1490), 1–18.

- Mahmudah, R., Baharudin, M., & Sappawali. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31–42.
- Mohammad El-Aidie, S. A.-A. (2018). a Review on Chitosan: Ecofriendly Multiple Potential Applications in the Food Industry. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*, 1(1), 1–14. <https://doi.org/10.31632/ijalsr.2018v01i01.001>.
- Mustapha, S., Mustapha, E. M., & Nozha, C. (2013). *Vibrio Alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases Thèse de Doctorat View project Vitamine D View project *Vibrio Alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. *International Journal of Science and Technology*, 2(4), 302–309. <https://www.researchgate.net/publication/236214804>.
- Narzary, Y., Das, S., Goyal, A. K., Lam, S. S., Sarma, H., & Sharma, D. (2021). Fermented fish products in South and Southeast Asian cuisine: indigenous technology processes, nutrient composition, and cultural significance. *Journal of Ethnic Foods*, 8(33), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s42779-021-00109-0>.
- Ndahawali, D. H. (2016). Mikroorganisme Penyebab Kerusakan Pada Ikan Dan Hasil Perikanan Lainnya. *Pojok Ilmiah*, 13(2), 17–21.
- Novianti, S. D., Sulistiyani, & Hanani, Y. (2017). Hubungan Antara Pengendalian Titik Kritis Pengolahan Terhadap Keberadaan Bakteri *E.coli* Pindang Ikan Layang Di Desa Tasikagung Kabupaten Rembang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 5(5), 881–890.
- Pandit, I. G. S., & Permatananda, P. A. N. K. (2019). Improving Hygiene and Sanitation Behavior among Pemandang Workers in Kusamba Village Through Direct Training and Demonstration Plot. *Proceedings of International Conference of Social Science*, 1–8. <https://doi.org/10.4108/eai.21-9-2018.2281191>.
- Pandit, S. I. G. (2016). *Teknologi Pemandangan Ikan Tongkol*. 1–58.
- Permathasari, D. P. R., Restu, W., & Pratiwi, M. A. (2021). Pengelolaan Perikanan Tongkol dengan Pendekatan Ekosistem melalui Penilaian Status Domain Sumber Daya Ikan pada Musim Barat yang Didaratkan di Pantai Segara Kusamba, Bali. *Jurnal Pengelolaan Perikanan Tropis*, 05(2), 91–99. <http://journal.ipb.ac.id/jurnalppt>.
- Renol, Finarti, Akbar, M., & Wahyudi, D. (2020). Mutu Kimia Dan Organoleptik Abon Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) Pada Berbagai Lama Penggorengan. *KAUDERNI: Journal of Fisheries, Marine and Aquatic Science*, 2(1), 82–89. <https://doi.org/10.47384/kauderni.v2i1.31>.
- Riana, F., Junaedi, A. S., & Zainuri, M. (2021). Analisis Kelimpahan Bakteri Pada Ikan, Substrat, Air Serta Es yang Digunakan Pada Pengoperasian Minitrawl di Perairan Pamekasan. *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(3), 353–363. <https://doi.org/10.14710/jkt.v24i3.11725>.
- Sari, D. A. M., & Nuraini, Y. (2020). Manajemen Usaha Pengolahan Ikan Pindang Di Poklahsar Pindang Panjul Segara Kabupaten Tabanan Provinsi Bali. *Jurnal Penyuluhan Perikanan Dan Kelautan*, 14(3), 237–249. <https://doi.org/10.33378/jppik.v14i3.213>.
- Sari, R. S., Baehaki, A., Lestari, S. D., Arafah, E., & Guttifera. (2020). Aktivitas Antibakteri Kitosan Monosakarida Kompleks Sebagai Penghambat Bakteri Patogen Pada Olahan Produk Perikanan. *Masyarakat Pengolahan Hasil*

- Perikanan Indonesia*, 23(3), 542–547.
- Setyawan, A. C., Sukenda, & Nuryati, S. (2015). Status Kesehatan Ikan Sidat (*Anguilla sp.*) Pada Perairan Umum Dan Wadah Pemeliharaan Sementara. *Riset Akuakultur*, 10(1), 69–77.
- Shanmugam, A., Kathiresan, K., & Nayak, L. (2016). Preparation, characterization and antibacterial activity of chitosan and phosphorylated chitosan from cuttlebone of *Sepia kobeensis* (Hoyle, 1885). *Biotechnology Reports*, 9(2016), 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.10.007>.
- Siddique, F., Arshad, M., Hassan, W., Shah, Z. H., & Akhtar, U. (2020). A review on Chitosan : As a potent fish preservative. *International Journal of Biosciences*, 16(4), 90–101. <https://doi.org/10.12692/ijb/16.4.90-101>.
- Sipahutar, Y. H., Masengi, S., & Wenang, V. (2017). Kajian Penerapan Good Manufacturing Practices dan Sanitation Standard Operation Procedure pada Produk Pindang Air Garam Ikan Tongkol (*Euthynnus Affinis*) dalam Upaya Meningkatkan Keamanan Pangan di Kabupaten Kendal, Jawa Tengah. *Prosiding Simposium Nasional Ikan Dan Perikanan*, 1063–1075.
- Suseno, S. H., Suptijah, P., Esminingtyas, R., Sofyana, N. T., Hayati, S., & Saraswati. (2015). Making chitosan edible coating from marine invertebrates waste and its application as natural preservative in salted fish processing. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 12(1), 15–24.
- Tayel, A. (2016). Microbial Chitosan as a Biopreservative for Fish Sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93(Pt A), 41–46.
- Thaheer, H., Hasibuan, S., & Mumpuni, F. S. (2015). Model Resiko Keamanan Pangan Produk Pindang Pada UMKM Pengolahan Ikan Rakyat. *Jurnal PASTI*, 9(3), 275–285. <http://publikasi.mercubuana.ac.id/index.php/pasti/article/view/491/432>.
- Widyastana, W. Y., Kawuri, R., & Dalem, A. A. G. R. (2015). Keberadaan Bakteri Patogen *Vibrio cholerae* Pada Beberapa Hasil Perikanan Yang Dijual di Pasar Tradisional Kota Denpasar. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 2(1), 16–22. <https://doi.org/10.24843/METAMORFOSA.2015.v02.i01.p03>.
- Witriansyah, K., Soedihono, S., & Satriawan3, D. (2019). Aplikasi Kitosan *Emerita sp.* Sebagai Bahan Pengawet Alternatif pada Ikan Belanak (*Mugil cephalus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 11(1), 34–42. <https://doi.org/10.20473/jipk.v11i1.12458>.