

Kode>Nama Rumpun Ilmu: 165 / Teknologi Pangan dan Gizi
Bidang Fokus : Bidang 1 Kemandirian Pangan



LAPORAN AKHIR

**PENGARUH EDIBLE COATING KITOSAN DENGAN
PENAMBAHAN ANTIOKSIDAN ALAMI TERHADAP
KUALITAS DAN UMUR SIMPAN FILLET IKAN: KAJIAN
PUSTAKA**

TIM PENGUSUL

Hermawan Seftiono, S.Si, M.Si [0319098605]

2021

UNIVERSITAS TRILOGI

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	2
TINJAUAN PUSTAKA	
<i>Edible Coating</i>	2
Kitosan	5
Antioksidan	7
Kualitas dan Umur Simpan <i>Fillet</i> Ikan	9
METODOLOGI	
Waktu dan Tempat	14
Metode Penelitian	14
Jenis dan Sumber Data	14
Teknik Pengumpulan Data	14
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Analisis Komposisi Kimia pada Antioksidan	16
Analisis Proksimat	18
Analisis Fisik	20
Perhitungan Susut Bobot	20
Analisis Tekstur	22
Analisis Warna	26
Analisis Kimia	28
Pengukuran pH	29
Analisis TVBN	31
Analisis TMA	33
Analisis PV	35
Analisis TBA	37
Analisis Amina Biogenik	39
Perhitungan Nilai K	41
Analisis Mikrobiologi	44
Analisis <i>Total Plate Count</i> (TPC)	44
Analisis <i>Psychrotropic Total Count</i> (PTC)	46
Evaluasi Sensori	48
KESIMPULAN DAN SARAN	
Kesimpulan	51
Saran	52

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Syarat mutu <i>edible coating</i>	3
Tabel 2 Karakteristik bahan penyusun <i>edible coating</i>	4
Tabel 3 Spesifikasi bakteri pembusuk pada ikan	13
Tabel 4 Spesifikasi jurnal yang digunakan	15
Tabel 5 Komposisi kimia pada antioksidan	16
Tabel 6 Karakteristik komponen antioksidan	17
Tabel 7 Hasil analisis proksimat ikan	19
Tabel 8 Perubahan perhitungan susut bobot pada <i>fillet</i> ikan	20
Tabel 9 Perubahan parameter <i>hardness</i> pada <i>fillet</i> ikan	23
Tabel 10 Perubahan parameter <i>springiness</i> pada <i>fillet</i> ikan	24
Tabel 11 Perubahan nilai °hue pada <i>fillet</i> ikan	26
Tabel 12 Perubahan pH pada <i>fillet</i> ikan	29
Tabel 13 Perubahan nilai TVBN pada <i>fillet</i> ikan	32
Tabel 14 Perubahan nilai TMA pada <i>fillet</i> ikan	34
Tabel 15 Perubahan nilai PV pada <i>fillet</i> ikan	36
Tabel 16 Perubahan nilai TBA pada <i>fillet</i> ikan	38
Tabel 17 Perubahan akumulasi kadar histamin pada <i>fillet</i> ikan	40
Tabel 18 Perubahan perhitungan nilai K pada <i>fillet</i> ikan	42
Tabel 19 Perubahan nilai TPC pada <i>fillet</i> ikan	44
Tabel 20 Perubahan nilai PTC pada <i>fillet</i> ikan	47
Tabel 21 Perubahan skor sensori pada <i>fillet</i> ikan	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Struktur kimia kitin	5
Gambar 2 Struktur kimia kitosan	6
Gambar 3 Mekanisme oksidasi lipid	8
Gambar 4 Grafik penurunan mutu produk pangan	10
Gambar 5 Tahap pembusukan pada ikan	13
Gambar 6 Pola perubahan perhitungan susut bobot pada <i>fillet</i> ikan	22
Gambar 7 Pola perubahan parameter <i>hardness</i> pada <i>fillet</i> ikan	24
Gambar 8 Pola perubahan parameter <i>springiness</i> pada <i>fillet</i> ikan	25
Gambar 9 Perubahan warna <i>fillet</i> ikan pada diagram °hue	27
Gambar 10 Perubahan warna pada <i>fillet</i> ikan	28
Gambar 11 Pola perubahan nilai pH pada <i>fillet</i> ikan	31
Gambar 12 Pola perubahan nilai TVBN pada <i>fillet</i> ikan	33
Gambar 13 Pola perubahan nilai TMA pada <i>fillet</i> ikan	35
Gambar 14 Pola perubahan nilai PV pada <i>fillet</i> ikan	37
Gambar 15 Pola perubahan nilai TBA pada <i>fillet</i> ikan	39
Gambar 16 Pola perubahan akumulasi kadar histamine pada <i>fillet</i> ikan	41
Gambar 17 Pola perubahan nilai K pada <i>fillet</i> ikan	43
Gambar 18 Pola perubahan nilai TPC pada <i>fillet</i> ikan	46
Gambar 19 Pola perubahan nilai PTC pada <i>fillet</i> ikan	48
Gambar 20 Pola perubahan skor sensori pada <i>fillet</i> ikan	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Spesifikasi metode analisis	66
Lampiran 2 Perubahan perhitungan susut bobot pada <i>fillet</i> ikan	68
Lampiran 3 Perubahan parameter <i>hardness</i> pada <i>fillet</i> ikan	69
Lampiran 4 Perubahan parameter <i>springiness</i> pada <i>fillet</i> ikan	70
Lampiran 5 Perubahan parameter <i>cohesiveness</i> pada <i>fillet</i> ikan	71
Lampiran 6 Perubahan parameter <i>chewiness</i> pada <i>fillet</i> ikan	72
Lampiran 7 Perubahan parameter <i>gumminess</i> pada <i>fillet</i> ikan	73
Lampiran 8 Perubahan parameter <i>resilience</i> pada <i>fillet</i> ikan	74
Lampiran 9 Perubahan warna pada <i>fillet</i> ikan	75
Lampiran 10 Perhitungan nilai °hue pada <i>fillet</i> ikan	79
Lampiran 11 Perubahan nilai pH pada <i>fillet</i> ikan	80
Lampiran 12 Perubahan nilai TVBN pada <i>fillet</i> ikan	82
Lampiran 13 Perubahan nilai TMA pada <i>fillet</i> ikan	85
Lampiran 14 Perubahan nilai PV pada <i>fillet</i> ikan	86
Lampiran 15 Perubahan nilai TBA pada <i>fillet</i> ikan	87
Lampiran 16 Perubahan kadar histamin pada <i>fillet</i> ikan	89
Lampiran 17 Perubahan perhitungan nilai K pada <i>fillet</i> ikan	90
Lampiran 18 Perubahan nilai <i>total plate count</i> (TPC) pada <i>fillet</i> ikan	91
Lampiran 19 Perubahan nilai <i>psychrotropic total count</i> (PTC) pada <i>fillet</i> ikan	94
Lampiran 20 Perubahan skor sensori pada <i>fillet</i> ikan	98
Lampiran 21 Hasil pengecekan plagiarisme	96

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kesadaran konsumen akan pentingnya mengonsumsi pangan berkualitas meliputi keamanan dan mutu produk sehingga terjadinya peningkatan angka konsumsi produk ikan (Angiolillo *et al.* 2018). Hal ini disebabkan produk ikan merupakan sumber protein, lemak, dan mikronutrien yang penting untuk pola gizi seimbang (Reverter *et al.* 2014). Tingginya sumber nutrisi ikan menyebabkan ikan mudah mengalami kerusakan dan penurunan kualitas yang lebih cepat dibandingkan komoditas pangan segar lainnya (Vieira *et al.* 2019).

Penurunan kualitas daging ikan disebabkan oleh degradasi protein, oksidasi lipid, dan pertumbuhan mikroorganisme (Gould & Russel 2006). Hal ini memicu terjadinya penurunan nilai nutrisi dan karakteristik sensori pada ikan yang jika berlangsung dalam jangka panjang akan membahayakan kesehatan dan keamanan bagi konsumen (Barbosa *et al.* 2013). Konsumen umumnya menyimpan ikan segar pada suhu 4 °C untuk mencegah penurunan kualitas ikan, namun metode penyimpanan menggunakan suhu rendah tidak sepenuhnya menghambat penurunan kualitas ikan. Hal ini menyebabkan diperlukannya pengembangan lebih lanjut mengenai metode penyimpanan pada ikan (Dehghani *et al.* 2018).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa kemasan memiliki peranan untuk menghambat penurunan kualitas ikan, salah satunya ialah kemasan *edible coating* (Soares *et al.* 2013). *Edible coating* dapat menjadi alternatif metode penyimpanan untuk mempertahankan kualitas ikan, memperpanjang umur simpan ikan, memenuhi permintaan konsumen akan kemasan alami, dan aman untuk dikonsumsi (Chaparro *et al.* 2015). Selain aman untuk dikonsumsi, kemampuan *edible coating* sebagai barier terhadap kelembaban, oksigen, aroma, serta meningkatkan kualitas dan umur simpan produk. Hal ini menjadi alasan utama digunakannya *edible coating* sebagai alternatif kemasan (Kong *et al.* 2010).

Edible coating merupakan biopolimer alami yang terbuat dari hidrokoloid, lipid, atau komposit di antara kedua bahan tersebut (Jeon *et al.* 2002). Bahan *edible coating* berbasis polisakarida yang terdiri atas beragam polimer telah

banyak digunakan dalam pengawetan bahan pangan, terutama kitosan dikarenakan memiliki aktivitas antimikroba yang sangat baik (Volpe *et al.* 2015).

Kitosan merupakan biopolimer yang terbuat dari cangkang *crustacea* dengan kemampuan pembentuk *film* yang sangat baik, serta aktivitas antimikroba yang kuat (Aider 2010; Duan *et al.* 2010). Kitosan juga memiliki afinitas dan kompatibilitas yang baik sehingga cocok diaplikasikan pada berbagai jenis ikan, (Kakei & Shahbazi 2016). Kekurangan kitosan yang bersifat oksidatif menyebabkan pengaplikasian pada produk tinggi asam lemak tidak jenuh menjadi kurang optimal (Feng *et al.* 2016).

Antioksidan berdasarkan jenisnya terbagi menjadi dua yaitu alami dan sintetis. Antioksidan alami umumnya berasal dari bahan nabati atau hasil ekstraksi dari bahan non-pangan (Kosar *et al.* 2007). Penambahan antioksidan alami ditujukan untuk menghambat terjadinya oksidasi pada produk pangan (Garcia *et al.* 2013). Beragam penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari *edible coating* kitosan yang dikombinasikan dengan antioksidan alami, hal ini ditujukan untuk mempertahankan kualitas ikan serta memperpanjang umur simpan dalam penyimpanan suhu rendah.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dan menganalisis data dari berbagai literatur untuk diperoleh antioksidan paling efektif pada *edible coating* kitosan terhadap parameter kualitas dan umur simpan *fillet* ikan.

TINJAUAN PUSTAKA

Edible Coating

Edible coating didefinisikan sebagai lapisan tipis yang dapat dikonsumsi dan digunakan sebagai kemasan primer produk pangan (Krochta *et al.* 2002). Tujuan utama penerapan *edible coating* mirip dengan pengemas berbahan sintetis yaitu sebagai kemasan primer pada produk (Hojin *et al.* 2007). *Edible coating* dapat mempertahankan kualitas produk, melindungi produk dari penurunan secara fisik, mikrobiologi, dan kimia (Carolina *et al.* 2016).

Menurut Fagundes *et al.* (2015) *edible coating* dapat meningkatkan struktural produk, sifat mekanis, dan penampilan produk. Selain itu *edible coating* berfungsi sebagai barier (O_2 dan CO_2), *carrier* (antioksidan dan antimikroba), serta mengatur perpindahan komponen larut air (Sabaghi *et al.* 2015). Penggunaan *edible coating* dapat mempertahankan pigmen dan komponen nutrisi pada produk (Martinon *et al.* 2014). Keutamaan fungsi *edible coating* ditujukan untuk meningkatkan kualitas produk, memperpanjang umur simpan, serta meningkatkan keamanan produk bagi konsumen (Dastiar & Netravali 2012).

Beberapa metode yang dapat diaplikasikan dalam pembuatan *edible coating* diantaranya metode penyemprotan, penuangan, dan pencelupan (Chiumarelli *et al.* 2012). Metode penyemprotan dilakukan dengan cara produk disemprotkan pada sisi satunya sehingga *edible coating* yang dihasilkan seragam. Metode penuangan dilakukan dengan dituangkan pada produk pangan yang akan dilapisi sehingga *edible coating* yang dihasilkan memiliki tekstur lebih halus dan permukaan yang datar. Metode pencelupan dilakukan dengan mencelupkan bahan pangan ke dalam larutan *coating*, metode ini cenderung diaplikasikan pada komoditas pangan segar seperti buah, sayur, daging, dan ikan (Janjarasskul *et al.* 2014; Tsai *et al.* 2002).

Efektivitas *edible coating* dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban relatif yang tepat, serta pH yang disesuaikan ketika proses pengeringan sehingga *edible coating* yang dihasilkan sesuai dengan syarat mutunya (Frazao *et al.* 2017; Rao & McClements 2012). Syarat mutu *edible coating* meliputi ketebalan, laju transmisi uap air, kuat tarik, persen pemanjangan, dan viskositas (Tabel 1).

Tabel 1 Syarat mutu *edible coating*

Karakteristik	Satuan	Persyaratan
Ketebalan	Mm	Maks. 0.25
Laju transmisi uap air	$g/m^2.jam$	Maks. 10
Kuat tarik	Mpa	Min. 3.92
Persen pemanjangan	%	Min. 5
Viskositas	cP	Maks. 600

Sumber: *Japanese Industrial Standard* (1975) diacu dalam SIRIM Standard MS 470:1992

Bahan penyusun *edible coating* perlu disesuaikan dengan spesifikasi produk, tipe produk, dan mekanisme kerusakan yang terjadi pada produk (Oliu *et al.* 2008). Bahan penyusun *edible coating* terbagi menjadi tiga diantaranya adalah hidrokoloid (polisakarida dan protein), lipid, dan komposit (Guerreiroa *et al.*

2015). Kelebihan dan kekurangan masing-masing bahan penyusun *edible coating* beserta contoh polimernya terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2 Karakteristik bahan penyusun *edible coating*

Bahan Penyusun	Kelebihan	Kekurangan	Polimer
Polisakarida	- o Barrier O₂ dan CO₂ yang efektif karena jaringan ikatan H₂ tertata dengan baik - o Sifat mekanis dan struktural produk meningkat	o Kurang baik dalam mengatur imigrasi uap air karena bersifat hidrofilik	Selulosa, pati, pektin, alginat, gum arab, kitosan, karagenan, & modifikasi pati lainnya
Protein	- o Pembentuk film yang sangat baik - o Efektif dalam kondisi kelembaban relatif yang rendah	o Sangat dipengaruhi oleh perubahan pH produk	Gelatin, zein, whey, protein kedelai, kasein, resin, kolagen, & gluten
Lipid	- o Barrier terhadap penguapan dan air yang sangat baik pada produk - o Penampilan produk menjadi lebih mengkilap	o Penggunaan dalam bentuk murni masih terbatas	Lilin, <i>bee wax</i> , gliserol, & asam lemak

Sumber: Hassan *et al.* (2018)

Bahan pembentuk *edible coating* hanya dapat dilarutkan dengan menggunakan air, hal ini ditujukan agar *edible coating* yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi (Sharma & Rao 2015). *Edible coating* cenderung ditambahkan aditif seperti *plasticizer*, antioksidan, dan antimikroba. Penambahan *edible coating* dengan aditif berperan untuk memodifikasi fungsionalitas dasar *coating* dan meningkatkan kualitas kemasan (Marchiore *et al.* 2017; Rodriguez *et al.* 2006). Peranan *edible coating* dapat menjamin keamanan dari produk yang akan dikonsumsi (Dhall 2013).

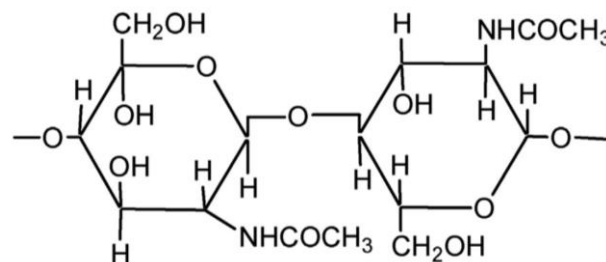
Pengaplikasian *edible coating* pada skala industri umumnya sebagai pelapis dari hasil sintesis lilin, poliester, minyak, resin, asam lemak, dan sukrosa (Pereda *et al.* 2011; Draget *et al.* 2005). Produk pangan yang menggunakan *edible coating* sebagai kemasan primer diantaranya selubung sosis dari kolagen, pelapis manisan dari lak serangga, pelapis permen dari gelatin, pelapis tablet obat berbahan dasar

protein jagung (*corn zein*), serta beberapa produk lain berbasis selulosa eter yang larut air (Gorrasi *et al.* 2016; Kilincek *et al.* 2009).

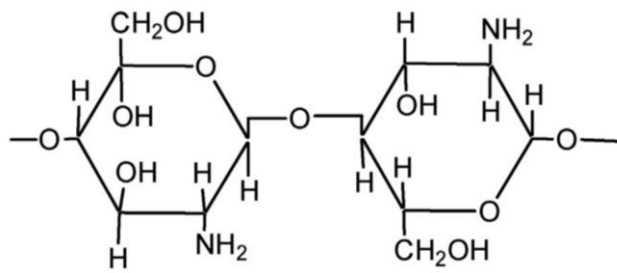
Penelitian mengenai pengaplikasian *edible coating* sudah banyak dilakukan dengan berbagai bahan penyusun dan komoditas pangan. Penelitian oleh Valero *et al.* (2013) menyatakan bahwa pengaplikasian *edible coating* alginat dengan konsentrasi 1% dan 3% dapat memperlambat penurunan susut bobot, perubahan warna, dan memperpanjang umur simpan buah plum 2 hingga 3 minggu pada suhu 20 °C. Penelitian lainnya oleh Ali *et al.* (2010) menyatakan bahwa *edible coating* berbasis gum arab dengan konsentrasi 10% dapat menghambat hilangnya kadar air, mempertahankan karakteristik sensori, dan memperpanjang umur simpan buah tomat hingga 2 minggu pada suhu 20 °C. Penelitian oleh Poverenov *et al.* (2014) mengemukakan pengaplikasian *edible coating* dari komposit kitosan dan gelatin dengan konsentrasi 2% dan 3% dapat memperpanjang umur simpan sayur paprika merah hingga 2 minggu tanpa menurunkan kualitasnya.

Kitosan

Kitosan merupakan turunan hasil proses deasetilasi kitin, sedangkan kitin merupakan biopolimer alami yang melimpah dan ditemukan pada cangkang *crustacea* (Entsar & Rabea 2003). Kitin tersusun atas β -N-asetil-D-glukosamin dan secara struktural kitin memiliki kemiripan dengan kitosan (Xiao *et al.* 2010). Kitosan tersusun atas β -(1-4)-2-deoksi-D-glukosa dan β -(1-4)-2-amino-D-glukosa (Vu *et al.* 2011). Perbedaan antara struktur kimia kitin (Gambar 1) dengan struktur kimia kitosan (Gambar 2) terletak di hidroksil sekunder pada atom kedua dari unit pengulangan gugus asetamin kitin yang digantikan dengan gugus amina (Gonzalez *et al.* 2011; Knorr 2005; Majeti & Kumar 2000).



Gambar 1 Struktur kimia kitin (Hassan *et al.* 2017)



Gambar 2 Struktur kimia kitosan (Hassan *et al.* 2017)

Kitosan dan kitin memiliki sifat kelarutan yang berbeda (Kumar 2000). Sifat kitin sangat sulit larut dalam beberapa pelarut organik dan air, serta memiliki reaktivitas kimia yang rendah. Sifat kitin yang sangat hidrofobik menyebabkan kitin lebih jarang digunakan pada industri dibandingkan dengan kitosan (Ansorena *et al.* 2011). Sifat kimia kitosan serupa dengan kitin, namun polimer poliamin kitosan berbentuk linear yang memiliki gugus amino aktif dan memiliki kemampuan pengkelat logam (Moreira *et al.* 2011; Cho *et al.* 2000).

Kitosan merupakan polimer pembentuk *film* yang sangat baik sehingga dapat berperan sebagai penstabil dan pengental (Pranoto *et al.* 2005). Faktor yang mempengaruhi sifat viskositas kitosan diantaranya adalah derajat deasetilasi, berat molekul, konsentrasi, nilai pH, jenis pelarut, kekuatan ion, dan suhu (Pierro *et al.* 2011; Kumar 2000). Kitosan juga memiliki permeabilitas (terhadap O₂ dan CO₂) dan sifat mekanik yang baik (Ruban 2009).

Sifat polikationik kitosan membuatnya memiliki aktivitas antimikroba yang kuat (Xing *et al.* 2010). Mekanisme antimikroba kitosan dikarenakan adanya tekanan elektrostatis antar gugus amino bermuatan positif (NH₂) kitosan berikatan dengan residu bermuatan negatif pada permukaan sel (Elsabee & Abdou 2013; Sagoo *et al.* 2002). Efektivitas aktivitas antimikroba pada kitosan dipengaruhi oleh derajat deasetilasi dan pH larutan yang rendah sehingga gugus amina meningkat dan efektivitas aktivitas dari mikroorganisme menurun (Muzzarelli 2002).

Kitosan juga memiliki sifat antimikroba, biodegradabel, biokompatibilitas, biofungsionalitas yang baik, dan tidak beracun sehingga memenuhi persyaratan bahan dasar pembuatan *coating* (Rafaat & Sahl 2009). Kekurangan dari kitosan ialah permeabilitasnya yang sangat tinggi terhadap uap air, namun hal ini dapat diperbaiki dengan memodifikasi larutan *coating* yang akan digunakan (Kristo *et al.* 2008; Tharanathan & Kittur 2003).

Penelitian mengenai penggunaan kitosan sebagai bahan dasar *edible coating* sudah banyak dilakukan dengan berbagai komoditas pangan terutama pada pangan segar. Penelitian oleh Qi *et al.* (2011) menyatakan bahwa *edible coating* kitosan dengan konsentrasi 1% menghambat reaksi *browning*, mempertahankan karakteristik sensori, dan memperpanjang umur simpan buah apel fuji hingga 2 minggu pada suhu 5 °C. Penelitian lainnya oleh Kanatt *et al.* (2013) mengemukakan penggunaan kitosan sebagai bahan *edible coating* dengan konsentrasi 2% dapat mempertahankan kualitas, menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dan memperpanjang umur simpan potongan daging sapi hingga 2 minggu pada suhu 0 °C.

Antioksidan

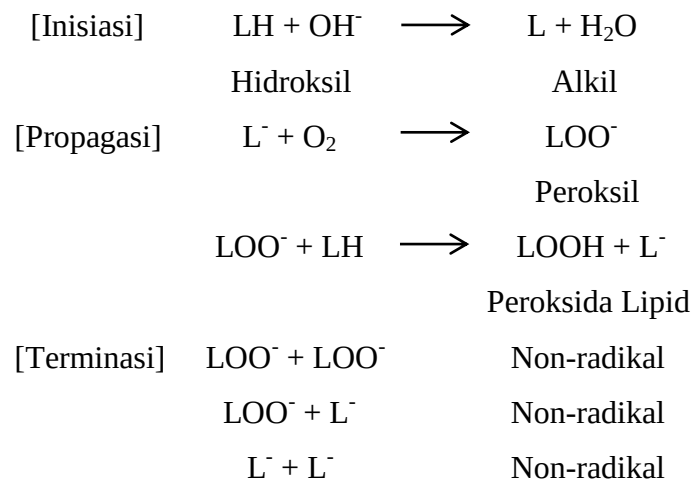
Antioksidan merupakan substansi pada bahan pangan yang digunakan dalam konsentrasi rendah jika dibandingkan dengan substransi lainnya (Brewer 2011). Antioksidan dapat ditambahkan dengan berbagai komponen serta berperan sebagai pengkelat ion logam (seperti antioksidan asam lipoat dan asam dihirolipoat) pada produk (Chantaro *et al.* 2008; Hery 2007). Antioksidan bekerja dengan melawan radikal bebas dan senyawa pembusuk sehingga dapat mencegah atau memperlambat terjadinya oksidasi (Shalaby & Azzam 2018).

Oksidasi adalah proses transfer elektron dari satu atom ke atom lainnya serta merupakan bagian terpenting dalam metabolisme dengan syarat adanya kehadiran O₂ (Wolfe & Liu 2003). Oksigen (O₂) merupakan elektron akseptor yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Kehadiran O₂ pada permukaan sel dapat dengan mudah mengoksidasi lipid. Oksidasi lipid merupakan proses oksidasi yang umum terjadi pada lipid dan disebabkan oleh beberapa radikal bebas (Ayala *et al.* 2014; Burits & Bucar 2000).

Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga molekul kurang stabil dan sangat reaktif (Miguel 2010). Susunan molekul radikal bebas mengakibatkan reaksi menjadi berbahaya dan merusak biomolekul dalam sel (Riccardo *et al.* 2013). Radikal bebas terdiri atas beragam jenis, salah satu susunan radikal bebas yang berbahaya dan sering dijumpai ialah *reactive oxygen species* (ROS). ROS terdiri atas

peroksinitrit (ONOO⁻), hidroksil (OH⁻), hidrogen peroksida (H₂O₂), asam hipoklorit (HOCL), oksida nitrit (NO⁻), singlet oksigen (¹O₂), dan superoksida (O₂) (Dasgupta & Klein 2014; Carocho & Ferreira 2013; Valko *et al.* 2007).

ROS umumnya akan menyebabkan terjadinya oksidasi lipid. Oksidasi lipid dimulai dengan molekul lipid pada sel membran berinteraksi dengan radikal bebas OH⁻ dan membentuk alkil. Alkil akan bereaksi dengan O₂ membentuk peroksil, kemudian peroksil bereaksi dengan molekul lipid lainnya lalu bergabung dengan peroksida lipid dan radikal bebas lainnya (Gambar 3). Produk terminasi dari peroksidasi lipid ialah malondialdehida (MDA) yang digunakan untuk mengukur tingkat radikal bebas pada sel (Jat 2016; Ayala *et al.* 2014; Klaus *et al.* 2011).



Gambar 3 Mekanisme oksidasi lipid (Jat 2016)

Selain oksidasi, penurunan kualitas lipid dalam produk pangan juga dapat disebabkan oleh proses fotooksidasi (Bozin *et al.* 2007). Fotooksidasi merupakan oksidasi yang disebabkan oleh ¹O₂ dengan bantuan lipoksigenase sehingga menghasilkan berbagai produk hasil seperti bilangan peroksida, aldehida, dan keton (Asif 2015; Shahidi 2000). Banyak produk yang terbentuk sebagai hasil oksidasi pada pangan, hal ini menyebabkan seluruh proses oksidasi harus dikontrol untuk melindungi kandungan lipid dari kerusakan dan *off-flavor*.

Industri pangan menggunakan antioksidan untuk mengontrol proses oksidasi, mencegah terjadinya penurunan kualitas produk, dan mempertahankan nilai gizinya. Antioksidan yang umum digunakan oleh industri pangan adalah antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxynisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *propyl gallate* (PG), dan *tert-butylhydroquinone* (TBHQ)

(Shalaby & Azzam 2018). Namun beberapa antioksidan sintetis sudah mulai dilarang di beberapa negara, seperti penggunaan BHA yang sudah dilarang di Jepang dan TBHQ yang sudah dilarang di Kanada (Esmaeili & Sonboli 2010). Pelarangan tersebut dikarenakan adanya efek karsinogenik sehingga menimbulkan keinginan untuk diganti dengan antioksidan alami (Asif 2015).

Antioksidan alami biasanya berasal dari bahan nabati dan tanaman herbal yang diekstraksi (Kosar *et al.* 2007). Kandungan antioksidan alami (vitamin dan enzim) yang digunakan harus disesuaikan dengan produk yang akan diaplikasikan (Fateme *et al.* 2012). Jenis antioksidan alami yang sering dimanfaatkan diantaranya senyawa fenolik, polifenol, fenilpropanoid, karotenoid, dan vitamin C (Azarakhsh *et al.* 2014; Ramalakshmi *et al.* 2008).

Penelitian mengenai penambahan antioksidan pada *edible coating* sudah banyak diteliti dan terus mengalami perkembangan dengan berbagai bahan penyusun pada beragam komoditas pangan. Penelitian oleh Sharma & Rao (2015) menyatakan bahwa penambahan asam sinamat 1% pada larutan *coating* xanthan gum 2.5% dapat menghambat reaksi *browning* dan memperpanjang umur simpan buah pir hingga 3 minggu (4 °C). Penelitian lainnya oleh Vital *et al.* (2016) mengemukakan penambahan *rosemary* dan *oregano essential oil* 0.1% pada larutan *coating* alginat dapat menghambat oksidasi lipid serta memperpanjang umur simpan potongan daging sapi hingga 3 minggu (4 °C).

Kualitas dan Umur Simpan *Fillet* Ikan

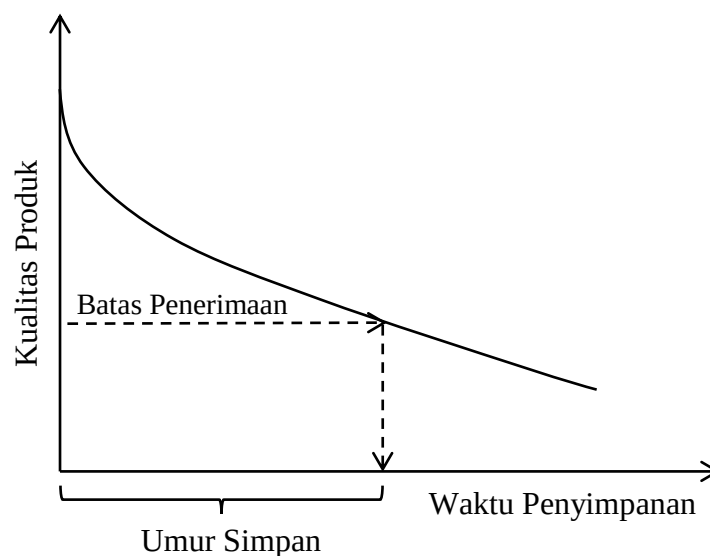
Kualitas produk memiliki banyak persepsi dalam istilah dan penjelasannya, namun umumnya dibagi menjadi dua aspek yaitu kualitas objektif dan kualitas subjektif. Kualitas objektif merupakan pengukuran pangan berdasarkan karakteristik fisiknya dan ditangani oleh industri, sedangkan kualitas subjektif merupakan pengukuran berdasarkan kualitas produk yang diterima dan dirasakan konsumen (Grunert 2005). Kualitas objektif mencakup parameter fisik, kimia, mikrobiologi, serta kontaminasi silang (Frewer *et al.* 2003).

Hubungan antar kedua aspek ini mengarah kepada kepentingan ekonomi dari kualitas produk pangan. Konsumen akan mengkaraktisasi produk dan menyimpulkan kualitas yang diinginkan dari cara produk tersebut dibuat (Gowen

et al. 2007). Kualitas akan menjadi parameter kompetitif bagi industri pangan. Semakin baik kualitas produk, penanganan, dan kondisi penyimpanan akan berpengaruh terhadap umur simpan yang lebih lama (Jevsnik *et al.* 2008).

Umur simpan merupakan konsep dari penggabungan aspek ekonomi, regulasi, dan kekhawatiran konsumen akan penurunan kualitas produk (Damen & Steenbekkers 2007). Umur simpan produk pangan juga merupakan aspek dinamis yang sesuai dengan produsen (Hough 2010). Umur simpan merupakan indikator penting bagi seluruh komoditas pangan termasuk pangan segar, bahan pangan, produk setengah jadi, dan produk jadi (Fiselier *et al.* 2010). Seluruh komoditas pangan memiliki umur simpannya masing-masing (Fu *et al.* 2009).

Umur simpan produk pangan didefinisikan sebagai jangka waktu terbatas setelah proses produksi untuk mempertahankan kualitas produk dalam kondisi yang sesuai dengan petunjuk penyimpanan produk (Guillet & Rodrigue 2009). Kualitas produk harus memenuhi persyaratan agar diterima untuk dikonsumsi. Hal ini dikarenakan setiap produk pangan akan mengalami penurunan kualitas setelah sejumlah waktu tertentu karena berbagai alasan (Shemy *et al.* 2015; Nicoli 2012). Kualitas produk berkorelasi dengan waktu penyimpanan sehingga dihasilkan batas penerimaan (Ellis & Man 2000). Batas penerimaan merupakan batas tertinggi penerimaan produk yang ditandai dengan titik temu antar kualitas produk dengan waktu penyimpanan tertentu (Gambar 4). Semakin rendah batas penerimaan menyebabkan semakin singkat umur simpan produk.



Gambar 4 Grafik penurunan mutu produk pangan (Nicoli 2012)

Salah satu produk pangan dengan batas penerimaan yang rendah ialah ikan. Kesegaran produk ikan merupakan indikator utama dalam penentuan kualitas ikan dan umur simpannya (Hough 2010). Umur simpan ikan dapat menjadi lebih singkat dikarenakan penanganan kondisi penyimpanan yang tidak tepat sehingga ikan mengalami pembusukan (Wu *et al.* 2014). Karakteristik intrinsik seperti jaringan otot yang mudah rusak dan aktivitas enzim endogen ikan menyebabkan kerentanan terhadap perubahan fisik, kimia, dan mikrobiologi (Cheng *et al.* 2015).

Pembusukan pada ikan segar dimulai sejak ikan memasuki fase *rigor mortis* yaitu setelah 12 jam ikan ditangkap dan berlangsung dengan cepat. Ikan akan kehilangan fleksibilitasnya dikarenakan terjadinya pelunakan otot-otot ikan (Huang *et al.* 2011). Selain itu akan terjadi penguraian berbagai komponen dan terbentuknya senyawa-senyawa baru berupa basa volatil (Khalafalla *et al.* 2015).

Pembentukan senyawa baru akan menyebabkan pembusukan pada ikan ditandai dengan perubahan warna, rasa, dan tekstur pada daging ikan (Green *et al.* 2010; Engvang & Nielsen 2001). Pembusukan pada ikan disebabkan oleh reaksi autolisis enzimatis, oksidasi lipid, dan pertumbuhan mikroorganisme (Itoh *et al.* 2012). Hal ini dapat dikontrol dengan metode penyimpanan suhu rendah sehingga proses pembusukan pada ikan dapat dihambat (Cheng *et al.* 2015).

Pembusukan akibat autolisis enzimatis terjadi karena adanya enzim proteolitik pada sistem pencernaan ikan dan mengakibatkan perubahan kimia dan biologis pada ikan sehingga molekul ikan mengalami perpecahan (Zhu *et al.* 2011). Selain itu proses autolisis menyebabkan tekstur ikan melunak, pecahnya dinding sel perut, dan keluarnya protein dan minyak (Ghaly *et al.* 2010). Autolisis enzimatis menurunkan kualitas tekstur pada tahap awal dikarenakan terbentuknya hipoksantin dan formaldehida. Autolisis enzimatis memproduksi senyawa yang merusak karakteristik sensori ikan, hal ini menunjukkan bahwa terjadinya degradasi protein akibat autolisis enzimatis dapat mempersingkat umur simpan dan kualitas produk ikan pada penyimpanan suhu rendah (Berkel *et al.* 2004).

Oksidasi lipid merupakan penyebab utama penurunan dan pembusukan pada spesies ikan dengan kandungan lemak yang tinggi. Mekanisme oksidasi lipid terdiri atas tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi (Gambar 3) dengan disebabkan adanya O₂ pada permukaan daging ikan (Jat 2016). Oksidasi lipid pada ikan

terjadi secara enzimatis dan non-enzimatis. Hidrolisis enzimatis disebabkan oleh enzim lipase sehingga terjadinya lipolisis, sedangkan non-enzimatis disebabkan oleh katalisis komponen hematin pada lemak yang memproduksi komponen peroksida. Komponen hematin merupakan pigmen kekuningan yang terbentuk akibat oksidasi lipid, hal ini menyebabkan teroksidasinya pigmen karotenoid dan perubahan jaringan lipid pada ikan (Opala *et al.* 2020; Pathare & Said 2013).

Bilangan peroksida terutama hidroperoksida merupakan produk primer dari oksidasi lipid pada tahap propagasi. Bilangan peroksida juga merupakan komponen yang stabil dan dapat digunakan untuk mengukur tingkat oksidasi lipid pada sampel (Barriuso & Astiasaran 2012). Hidroperoksida akan mengalami oksidasi lebih lanjut dan berubah menjadi produk sekunder dari oksidasi lipid pada tahap terminasi. Produk sekunder yang umum ditemukan ialah aldehida, keton, komponen hidroksil, dan polimer. Salah satu senyawa aldehida dari produk sekunder yang digunakan sebagai representatif untuk mengukur tingkat oksidasi lipid lebih lanjut adalah malonadialdehida (MDA) (Ghaly *et al.* 2010).

Pembusukan akibat mikroorganisme bergantung pada komposisi mikroflora pada ikan pasca penangkapan dan kondisi perairan ikan tinggal. Mikroflora ikan pada umumnya ialah *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Serratia*, dan *Micrococcus* (Gram & Huss 2000). Mikroflora yang termasuk ke dalam bakteri gram negatif dan bakteri fermentasi akan membuat ikan yang tidak diawetkan akan mengalami pembusukan (Emborg *et al.* 2005). Pembusukan akan ditandai dengan adanya komponen amina, amina biogenik, asam organik, sulfit, alkohol, aldehida, dan keton sehingga menyebabkan aroma yang busuk dan tengik (Dalgaard *et al.* 2006). Amina biogenik merupakan senyawa yang terdiri atas satu atau lebih gugus amina yang bersifat biogenik (Ladrat *et al.* 2006).

Bau amis dan tengik yang menyengat pada ikan dapat digunakan sebagai tolak ukur kerusakan akibat aktivitas mikroorganisme, yaitu dengan mengukur kandungan senyawa trimetilamin (TMA) pada ikan. TMA berasal dari penguraian trimetilamin oksida (TMAO) oleh bakteri pembusuk seperti bakteri *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, dan *Vibrio* spp. mendapat energi dengan menguraikan TMAO menjadi TMA sehingga menyebabkan munculnya aroma dan rasa seperti amonia (Tabel 3) (Barriuso & Astiasaran 2012).

Tabel 3 Spesifikasi bakteri pembusuk ikan

Spesifikasi bakteri pembusuk	Komponen pembusuk
<i>Shewanella putrefaciens</i>	TMA, H ₂ S, CH ₃ SH, (CH ₃) ₂ S, Hx
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	TMA, Hx
<i>Pseudomonas</i> spp.	Keton, aldehida, ester, non- H ₂ S sulfida
<i>Vibrionaceae</i>	TMA, H ₂ S
Bakteri aerobik	NH ₃ , asetat, butirat, asam propionat

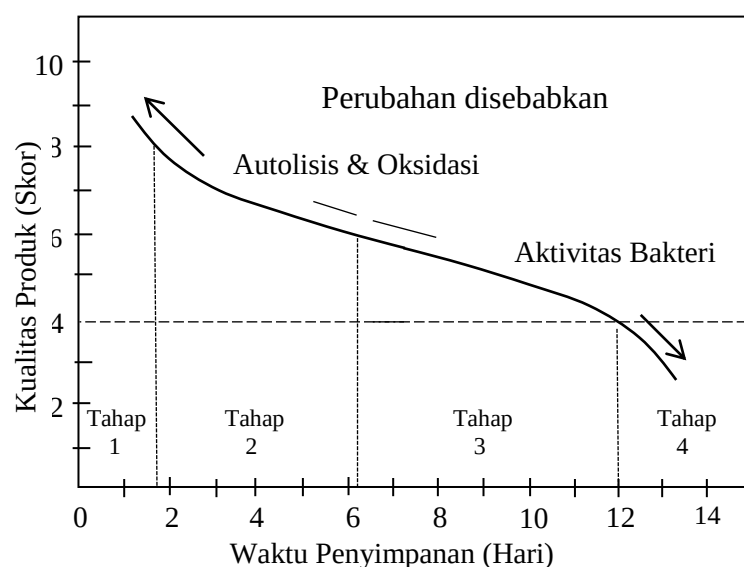
Keterangan:

TMA : Trimetilamin H₂S : Hidrogen sulfida
 CH₃SH : Methanethiol (CH₃)₂S: Dimetilsulfida
 Hx : Hipoksantin NH₃ : Amonia

Sumber: Barriuso & Astiasaran (2012)

Bakteri *Pseudomonas putrefaciens* dan bakteri pembusuk lainnya meningkat dengan cepat selama tahap awal pembusukan dan menghasilkan banyak enzim proteolitik dan hidrolitik. Ketika ikan masih hidup, ikan menggunakan TMAO sebagai osmoregulan untuk menghindari dehidrasi di lingkungan laut dan jaringan genangan air di air tawar (Gram & Dalgaard 2002). Osmoregulan merupakan senyawa yang digunakan untuk menjaga keseimbangan tubuh ikan dan mengatur keluar masuknya cairan selama ikan hidup (Barriuso & Astiasaran 2012)

Pembusukan oleh mikroorganisme bertanggung jawab atas kerusakan pada tahap 3 dan tahap 4 pembusukan pada ikan, sedangkan tahap 1 dan tahap 2 pembusukan ikan disebabkan oleh kerusakan autolisis enzimatik dan oksidasi (Gambar 5). Pembusukan ikan akan mencapai titik akhir pada waktu 14 hari setelah melewati keempat tahap pembusukan ikan.



Gambar 5 Tahap pembusukan pada ikan (Shawyer & Pizzali 2003)

METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian berupa seleksi jurnal, tabulasi data, analisis data, perbandingan data, dan pembahasan data dilaksanakan di Universitas Trilogi, Jakarta dimulai sejak bulan Mei hingga Juli 2020.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan ialah penelitian kualitatif dan kuantitatif dengan kajian pustaka. Penelitian ini ditujukan untuk mengembangkan konsep, membandingkan, dan menganalisa data terkait dengan literatur berupa buku, jurnal, dan tesis.

Jenis dan Sumber Data

Jenis data yang digunakan ialah data sekunder yang berasal dari jurnal. Jurnal yang dipilih merupakan jurnal internasional yang terindeks Scopus dengan rentang penerbitan dari tahun 2010 hingga 2020 sehingga hasil analisis yang dihasilkan merupakan data terbaru. Kebaruan hasil analisis diperlukan agar perbandingan data yang ditabulasi menjadi lebih relevan.

Berdasarkan seleksi jurnal yang dilakukan didapatkan dua puluh lima jurnal berbahasa inggris dengan dua puluh dua jurnal yang membahas hasil dari pengaruh *edible coating* kitosan dengan penambahan antioksidan pada kualitas dan umur simpan berbagai spesies *fillet* ikan, serta tiga jurnal tanpa penambahan antioksidan sebagai jurnal pembanding (Tabel 4).

Teknik Pengumpulan Data

Data diseleksi secara objektif dengan spesifikasi bahan *edible coating*, adanya penambahan antioksidan, metode penyimpanan, dan kategori komoditas pangan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan kajian pustaka yaitu mendeskripsikan, mengembangkan konsep, mentabulasi, dan membandingkan data dengan landasan teori yang sesuai. Pengkajian data dikategorikan menjadi

analisis komposisi kimia pada antioksidan, analisis proksimat, analisis fisik, analisis kimia, analisis mikrobiologi, dan evaluasi sensori.

Tabel 4 Spesifikasi jurnal yang digunakan

Referensi	Tahun	Studi	Antioksidan	Suhu Penyimpanan	Spesies Ikan
Souza <i>et al.</i>	2010	1	–	0 °C	Salmon
Ojagh <i>et al.</i>	2010	2	Minyak kayu manis (1.5%)	4 °C	Rainbow trout
Mohan <i>et al.</i>	2012	3	–	2 °C	Indian oil sardine
Li <i>et al.</i>	2012	4	Polifenol daun teh (0.2%) & ekstrak rosemary (0.2%)	4 °C	Yellow croaker
Li <i>et al.</i>	2013	5	Ekstrak biji anggur (0.2%) & polifenol daun teh (0.2%)	4 °C	Red drum
Cai <i>et al.</i>	2013	6	Ergotionin (0.3%)	4 °C	Japanese sea bass
Chamanara <i>et al.</i>	2013	7	Minyak esensial thyme (0.1%)	5 °C	Rainbow trout
Yang <i>et al.</i>	2014	8	Polietilnemin (1%) & minyak esensial thyme (1%)	4 °C	Northern snakehead
Qiu <i>et al.</i>	2014	9	Asam sitrat (0.5%) & ekstrak akar manis (1%)	4 °C	Japanese sea bass
Gao <i>et al.</i>	2014	10	Ekstrak rosemary (0.2%) & nisin (5%)	4 °C	Pompano
Zarei <i>et al.</i>	2015	11	Ekstrak kulit jeruk (0.2%) & pomegranat (0.2%)	4 °C	Silver carp
Wu <i>et al.</i>	2016	12	Asam galat (3%)	4 °C	Pacific mackerel
Li <i>et al.</i>	2016	13	Flavonoid daun hawthorn (0.1%)	4 °C	Flounder
Kooteinaie <i>et al.</i>	2016	14	Minyak esensial eukaliptus (1%) & α -tokoferol (0.04%)	4 °C	Silver carp
Moosavi <i>et al.</i>	2016	15	Minyak esensial lada hitam (1.5%)	4 °C	Common carp
Wu <i>et al.</i>	2016	16	Asam galat (3%)	4 °C	Silver pomfret
Mi & Li	2016	17	6-gingerol (0.5% & 1%)	4 °C	Red drum
Li <i>et al.</i>	2016	18	Minyak oregano (0.5%) & allicin (0.2%)	4 °C	Japanese sea bass
Yu <i>et al.</i>	2017	19	–	4 °C	Grass carp
Cai <i>et al.</i>	2017	20	Minyak esensial lemon (0.5%) & minyak esensial thyme (0.5%)	4 °C	Grass carp
Khodanazary <i>et al.</i>	2017	21	Ekstrak teh hijau (0.1%)	4 °C	Tiger tooth croaker
Li <i>et al.</i>	2018	22	Asam rosmarinat (0.2%, 0.3%, dan 0.4%)	4 °C	Half smooth tongue-sole
Fadiloglu & Coban	2018	23	Ekstrak buah sumac (1% dan 2%)	4 °C	Rainbow trout
Hassanzadeh <i>et al.</i>	2018	24	Ekstrak biji anggur (0.1%)	4 °C	Rainbow trout
Li <i>et al.</i>	2019	25	Asam rosmarinat (0.3%) & ϵ -polilisin (0.05%, 0.1%, 0.15%, dan 0.2%)	4 °C	Half smooth tongue-sole

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Komposisi Kimia pada Antioksidan

Identifikasi dan karakterisasi senyawa kimia antioksidan dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas dan spektrometer massa (GC-MS). Senyawa antioksidan yang dikarakterisasi hanya minyak esensial eukaliptus, α -tokoferol, serta minyak esensial lada hitam yaitu terdapat pada studi 14 dan studi 15 yang ditandai dengan keterangan persentase komposisi kimianya.

Antioksidan alami yang digunakan berasal dari antioksidan hasil ekstraksi dan antioksidan murni (Tabel 5). Antioksidan yang berasal dari hasil ekstraksi terdiri atas beberapa komposisi senyawa seperti minyak kayu manis, minyak biji anggur, ekstrak rosemari, flavonoid daun hawthorn, dan polifenol daun teh. Antioksidan murni ialah jenis antioksidan yang memiliki komposisi satu senyawa dengan konsentrasi 100% seperti α -tokoferol, nisin, dan ϵ -polilisin.

Tabel 5 Komposisi kimia pada antioksidan

Studi	Antioksidan	Komposisi Kimia	Keterangan
2	Minyak kayu manis	Cinnamaldehida, <i>eugenol</i> , asetat <i>eugenol</i> , dan asetat <i>cinnamyl</i>	Hasil ekstraksi
4	Polifenol daun teh	<i>Epigallocatechin</i> , <i>epicatechin gallate</i> , <i>epicatechin</i> , <i>catechin</i> , dan asam galat	Hasil ekstraksi
	Ekstrak rosemari	Asam rosmarinat, asam karnosik, dan flavonoid (lutiolin & apegenin)	Hasil ekstraksi
5	Ekstrak biji anggur	Asam galat (4-6 %) dan flavonoid	Hasil ekstraksi
	Polifenol daun teh	<i>Epigallocatechin</i> , <i>epicatechin gallate</i> , <i>epicatechin</i> , <i>catechin</i> , dan asam galat	Hasil ekstraksi
6	Ergotionin	Ergothionin	Murni
7	Minyak esensial thyme	<i>Thymol</i> , <i>carvacol</i> , γ - <i>terpinene</i> , dan ρ - <i>cymene</i>	Hasil ekstraksi
8	Polietilinemin	Polyethyleneimine	Murni
	Minyak esensial thyme	<i>Thymol</i> , <i>carvacol</i> , γ - <i>terpinene</i> , dan ρ - <i>cymene</i>	Hasil ekstraksi
9	Asam sitrat	Asam sitrat	Murni
	Ekstrak akar manis	<i>Hispaglabridin</i> , <i>chalcone</i> , <i>isoprenylchalcone</i> , dan flavon	Hasil ekstraksi
10	Ekstrak rosemari	Asam rosmarinat dan flavonoid	Hasil ekstraksi
	Nisin	Nisin	Murni
11	Ekstrak kulit jeruk	<i>Carveol</i> , <i>carvone</i> , dan <i>perillaldehyde</i>	Hasil ekstraksi
	Ekstrak kulit pomegranat	Tanin, asam galat, flavonoid, dan polifenol	Hasil ekstraksi
12	Asam galat	Asam galat	Murni
13	Flavonoid daun hawthorn	<i>Rutin</i> , <i>hyperoside</i> , dan <i>quercetin</i>	Hasil ekstraksi

Tabel 5 Lanjutan komposisi kimia pada antioksidan

Studi	Antioksidan	Komposisi Kimia	Keterangan
14	Minyak esensial eukaliptus	1,8- <i>cineol</i> (66.28%), <i>α-pinene</i> (12.31%), dan <i>limonene</i> (9.24%)	Hasil ekstraksi
	<i>α</i> -tokoferol	<i>α</i> -tokoferol	Murni
15	Minyak esensial lada hitam	<i>Carene</i> (20.54%), <i>caryophyllene</i> (18.33%), <i>limonene</i> (18%), dan <i>pinene</i> (17.76%)	Hasil ekstraksi
16	Asam galat	Asam galat	Murni
17	6-gingerol	6-gingerol	Murni
18	Minyak oregano	<i>Carvacol</i> , <i>γ-terpinene</i> , dan <i>p-cymene</i>	Hasil ekstraksi
	Allicin	Allicin	Murni
20	Minyak esensial lemon	<i>γ-terpinene</i> , <i>citral</i> , <i>limonene</i> , dan <i>linalool</i>	Hasil ekstraksi
	Minyak esensial thyme	<i>Thymol</i> , <i>carvacol</i> , <i>γ-terpinene</i> , dan <i>p-cymene</i>	Hasil ekstraksi
21	Ekstrak daun teh hijau	<i>Epigallocatechin gallate</i> dan flavanol	Hasil ekstraksi
22	Asam rosmarinat	Asam rosmarinat	Murni
23	Ekstrak buah sumac	Polifenol, asam galat, dan antosianin	Hasil ekstraksi
24	Ekstrak biji anggur	Asam galat (4-6 %) dan flavonoid	Hasil ekstraksi
25	Asam rosmarinat	Asam rosmarinat	Murni
	<i>ε</i> -polilisin	<i>ε</i> -polilisin	Murni

Aktivitas antioksidan yang kuat umumnya berasal dari senyawa fenol. Senyawa fenol dikelompokkan menjadi komponen fenol sederhana (fenolik) dan polifenolik (Kooteinaie *et al.* 2016). Komponen fenolik memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang lebih efektif yang disebabkan oleh senyawa tunggal dan karakteristiknya, jika dibandingkan dengan komponen polifenolik pada konsentrasi yang sama (Li *et al.* 2013; Cheynier 2012) (Tabel 6).

Tabel 6 Karakteristik komponen antioksidan

Komponen	Karakteristik	Turunan
Fenolik	○ Berperan sebagai pendonor hidrogen atau elektron yang sangat baik dan relatif stabil ○ Radikal fenoksi yang dibentuk oleh reaksi fenol dengan radikal lipid distabilkan oleh delokalisasi elektron tidak berpasangan di sekitar cincin aromatic	Tokoferol, terpena, asam galat, asam rosmarinat, dan asam fenolik lainnya
Polifenolik	○ Aktivitas antioksidan dengan mencegah terjadi kerusakan akibat ROS atau mencegah generasi ROS	Catechins, flavonol, flavanoid, flavones, antosianin, dan lainnya

Sumber: Cheynier (2012)

Berdasarkan komposisinya, ekstrak biji anggur dan minyak esensial thyme merupakan antioksidan yang lebih efektif dibandingkan dengan antioksidan hasil ekstraksi tanaman lainnya. Berdasarkan senyawanya, α -tokoferol dan asam galat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan antioksidan murni lainnya. Hal ini dikarenakan komposisi dari antioksidan tersebut termasuk ke dalam komponen fenolik (Moosavi *et al.* 2016).

Jenis antioksidan yang digunakan pada masing-masing studi telah melalui proses seleksi dan penyesuaian dengan sampel *fillet* ikan yang akan diaplikasikan. Jenis antioksidan diaplikasikan secara tunggal atau dikombinasikan, hal ini ditujukan untuk mengetahui efektifitas antioksidan pada *fillet* ikan. Konsentrasi antioksidan yang digunakan dipilih berdasarkan referensi dari hasil penelitian sebelumnya yaitu sebesar 0.1% hingga 5%. Pengaruh konsentrasi antioksidan pada tingkat auto-oksidasi bergantung pada struktur antioksidan, kondisi oksidasi, dan sifat sampel yang teroksidasi (Atassanova *et al.* 2011).

Analisis Proksimat

Analisis proksimat merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui komposisi makronutrien pada sampel bahan atau produk pangan dengan parameter yang terdiri atas analisis kadar air, kadar protein, kadar lemak, dan kadar abu. Setiap parameter memiliki metode analisis yang berbeda-beda seperti metode oven untuk kadar air dan kadar abu, metode Kjeldahl untuk kadar protein, serta metode soxhlet untuk kadar lemak (AOAC 2002).

Analisis proksimat dilakukan pada *fillet* ikan dengan tujuan mengetahui kandungan lemak dan protein pada spesies ikan. Komposisi lemak pada ikan akan menentukan proses oksidasi lipid, sedangkan komposisi protein akan menentukan proses degradasi protein yang akan terjadi selama penyimpanan.

Sebanyak sepuluh ikan yang dianalisis komposisi proksimatnya termasuk ke dalam kategori ikan berprotein dan berlemak tinggi dengan persentase yang berbeda-beda, hal ini disebabkan adanya perbedaan variasi spesies dari ikan. Kadar protein tertinggi diperoleh ikan *rainbow trout* pada studi 2 yaitu sebesar 23.21%, sedangkan kadar lemak tertinggi diperoleh ikan *pacific mackerel* pada studi 12 yaitu sebesar 16.38% (Tabel 7). Menurut Li *et al.* (2011) spesies ikan

dengan kadar protein 16 hingga 24% dikategorikan sebagai ikan berprotein tinggi, sedangkan kadar lemak sebesar 0.1 hingga 2.2% dikategorikan sebagai ikan berlemak tinggi. Semakin tinggi kadar protein dan lemak pada ikan menandakan semakin mudah mengalami degradasi protein dan oksidasi lipid selama penyimpanan, hal ini diakibatkan autolisis enzimatis dan pertumbuhan mikroorganisme (Frangos *et al.* 2010).

Adanya perbedaan kadar protein dan kadar lemak ikan satu spesies ikan yang sama yaitu terdapat pada ikan *rainbow trout* studi 2 (23.21% dan 2.20%), studi 23 (16.96% dan 6.77%), dan studi 24 (22.11% dan 2.10%). Perbedaan hasil proksimat pada spesies ikan yang sama dipengaruhi oleh perbedaan siklus kehidupan ikan (*spawning cycle*), musim penangkapan, jenis kelamin, usia ikan, pola makan, dan lingkungan ikan tinggal sehingga memiliki hasil analisis proksimat yang berbeda (Ojagh *et al.* 2010).

Ikan diklasifikasikan menjadi dua jenis berdasarkan lingkungan tempat tinggalnya yaitu ikan air laut dan ikan air tawar. Ikan air laut cenderung memiliki kadar lemak yang lebih tinggi dibandingkan ikan air tawar, hal ini disebabkan adanya perbedaan taraf trofik spesies ikan (Wu *et al.* 2016). Taraf trofik merupakan tingkat perairan ikan dalam ekosistem rantai makanan sehingga mempengaruhi pola makan ikan (Cai *et al.* 2013). Variasi komposisi proksimat dapat mengakibatkan perubahan karakteristik sensori ikan dan laju pertumbuhan mikroorganisme sehingga perlu diteliti lebih lanjut penyebab terjadinya kerusakan pada ikan (Li *et al.* 2016).

Tabel 7 Hasil analisis proksimat ikan

Studi	Spesies Ikan	Parameter Analisis Proksimat (%)			
		Kadar air	Kadar protein	Kadar lemak	Kadar abu
2	Rainbow trout	69.70	23.21	2.20	4.12
3	Indian oil sardine	75.20	16.90	6.80	1.40
4	Yellow croaker	66.82	18.01	13.15	1.17
5	Red drum	78.40	19.03	0.71	1.18
10	Pompano	68.42	17.27	10.31	1.83
12	Pasific mackerel	64.76	17.93	16.38	0.93
14	Silver carp	76.62	17.67	3.22	1.47
19	Grass carp	78.98	18.03	2.12	1.15
23	Rainbow trout	74.26	16.96	6.77	1.25
24	Rainbow trout	71.12	22.11	2.10	4.40

Analisis Fisik

Analisis fisik ditujukan untuk mengevaluasi kesegaran ikan berdasarkan karakteristik fisik *fillet* ikan yang digunakan. Analisis fisik yang dilakukan terdiri atas perhitungan susut bobot, analisis tekstur, dan analisis warna.

Perhitungan Susut Bobot

Susut bobot merupakan indikator penting untuk mengevaluasi kualitas ikan karena mempengaruhi tekstur, penampilan, dan umur simpannya (Alasavar *et al.* 2019). Penyusutan bobot juga dapat mempengaruhi nilai ekonomis ikan, hal ini disebabkan ikan dijual berdasarkan beratnya (Duan *et al.* 2010). Penyusutan bobot disebabkan oleh ter evaporasinya kadar air terikat pada daging sehingga menurunkan komposisi nutrisi dan struktur daging yang menjadi tidak elastis lagi.

Suhu penyimpanan dan penambahan konsentrasi antioksidan yang tepat diketahui dapat mempertahankan komposisi nutrisi *fillet* ikan secara signifikan selama penyimpanan (Yu *et al.* 2017). Perlakuan *coating* kitosan 2% (CH2) pada studi 3 menunjukkan hasil berbeda nyata dibandingkan perlakuan kontrol dimulai dari hari ke-4 yaitu sebesar 0.99% hingga hari ke-12 penyimpanan, hal ini dikarenakan kitosan berperan sebagai barrier terhadap O₂.

Penambahan asam rosmarinat 0.3% (CR2) dan 0.4% (CR3) pada studi 22 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) dimulai dari hari ke-12 yaitu sebesar 4.94% dan 4.88%. Perlakuan CR2 diketahui lebih efisien dibandingkan CR3 yang dibuktikan dengan hasil tidak berbeda nyata selama penyimpanan (Tabel 8). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat mempertahankan bobot *fillet* ikan.

Tabel 8 Perubahan perhitungan susut bobot pada *fillet* ikan

Perhitungan Susut Bobot (%)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
3 ^A	Indian oil sardine (2 °C)	–	Kontrol	0 ^a	2.81 ^b	8.82 ^d	–	–
			CH1	0 ^a	1.19 ^a	3.49 ^c	6.91 ^d	–
			CH2	0 ^a	0.99 ^a	2.52 ^b	6.69 ^c	–

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (A) Uji lanjut Duncan
 (a–d) Berbeda nyata (P < 0.05)

Tabel 8 Lanjutan perubahan perhitungan susut bobot pada *fillet* ikan

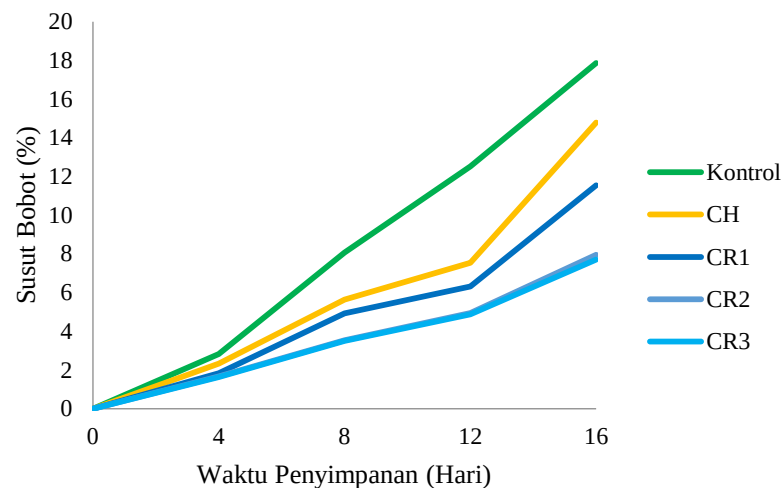
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Perhitungan Susut Bobot (%)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
19 ^A	Grass carp (4 °C)	–	Kontrol	0 ^a	4.93 ^b	7.53 ^c	9.83 ^d	12.91 ^e
			CH1	0 ^a	4.61 ^{ab}	5.24 ^b	7.25 ^c	9.71 ^d
			CH2	0 ^a	2.79 ^a	5.02 ^{ab}	5.17 ^b	6.97 ^c
22 ^A	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (R)	Kontrol	0 ^a	2.83 ^b	8.07 ^c	12.51 ^d	17.86 ^e
			CH	0 ^a	2.32 ^b	5.64 ^{bc}	7.54 ^c	14.78 ^d
			CR1	0 ^a	1.84 ^{ab}	4.92 ^b	6.31 ^{bc}	11.54 ^c
			CR2	0 ^a	1.67 ^a	3.54 ^{ab}	4.94 ^b	7.95 ^b
			CR3	0 ^a	1.64 ^a	3.50 ^{ab}	4.88 ^b	7.71 ^b

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (A) Uji lanjut Duncan
 (a–e) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Tingginya persentase susut bobot perlakuan kontrol disebabkan terjadinya denaturasi miosin pada ikan sehingga menurunkan kapasitas penahanan airnya (Ghaly *et al.* 2010). Miosin merupakan filamen penyusun protein miofibril pada ikan. Protein miofibril merupakan fraksi dari ikatan otot ikan yang dapat mengikat air pada daging ikan (Ladrat *et al.* 2006). Hal ini menyebabkan umur simpan ikan menjadi lebih singkat yang diakibatkan terjadinya proses oksidasi dan hidrolitik oleh aktivitas mikroorganisme.

Perlakuan kitosan 1% (CH) pada studi 22 mengalami penyusutan sebesar 15% dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang mencapai 18%, hal membuktikan bahwa kitosan berperan sebagai barier fisik untuk mencegah terjadinya penyusutan dan menyerap kembali air dari otot ikan (Yu *et al.* 2017). Perlakuan CR2 cenderung lebih efisien dikarenakan penggunaan konsentrasi asam rosmarinat yang lebih rendah yaitu sebesar 0.3% dibandingkan perlakuan CR3 (0.4%) dengan hasil yang tidak berbeda nyata.

Kombinasi kitosan 1% dengan asam rosmarinat 0.3% (CR2) dapat menghambat penyusutan bobot yang paling signifikan yaitu mencapai 8% selama 16 hari penyimpanan (Gambar 6). Hal ini disebabkan antioksidan dapat berperan sebagai penstabil pada permukaan *fillet* ikan sehingga mempertahankan nilai nutrisi ikan dan memperpanjang umur simpannya hingga 4 hari dibandingkan perlakuan kontrol (Li *et al.* 2018).



Gambar 6 Pola perubahan perhitungan susut bobot pada *fillet* ikan

Analisis Tekstur

Tekstur daging ikan merupakan indikator primer dalam penerimaan konsumen sehingga analisa tekstur diperlukan untuk mengevaluasi kualitas daging ikan. Tekstur ikan dipengaruhi oleh faktor biologis seperti kandungan lemak, kolagen, dan densitas serat daging. Parameter tekstur dapat berubah dikarenakan adanya reaksi enzimatik, reaksi kimia, dan pertumbuhan mikroorganisme akibat terjadinya proses *rigor mortis* pada ikan (Jain *et al.* 2007).

Kadar protein mempengaruhi proses pelunakan ikan, semakin tinggi kadar protein menyebabkan proses pelunakan yang terjadi berlangsung lebih cepat (Souza *et al.* 2010). Parameter *hardness* merupakan parameter utama guna mengetahui proses pelunakan yang terjadi akibat degradasi protein. Parameter *hardness* didefinisikan sebagai tekanan yang ditampilkan dalam *probe* pertama dengan kompresi maksimum mencapai 50% dari tinggi semula (Feng *et al.* 2012).

Perlakuan *coating* kitosan 2% (CH2) pada studi 3 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 2645 g/mm, sedangkan perlakuan kitosan 1% (CH1) tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol yaitu sebesar 2165 g/mm. Penambahan asam rosmarinat 0.3% (CR2) pada studi 22 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan *coating* kitosan 1% (CH) dimulai dari hari ke-8 yaitu sebesar 962 g/mm hingga hari ke-16 penyimpanan (Tabel 9). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat terjadinya pelunakan pada *fillet* ikan.

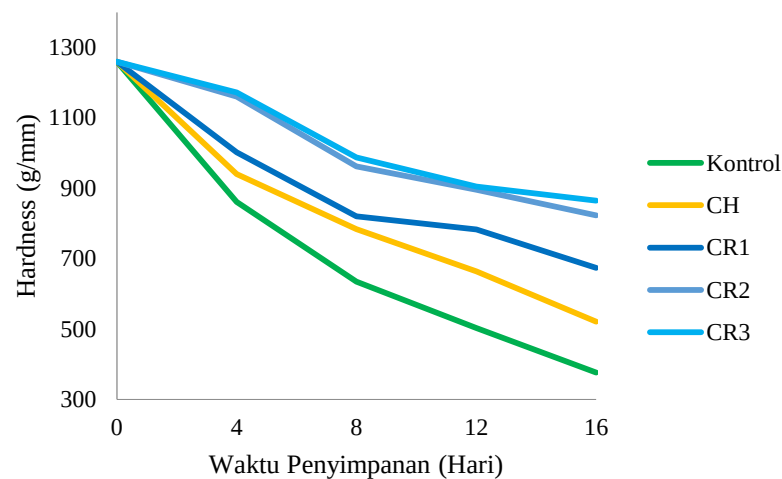
Tabel 9 Perubahan parameter *hardness* pada *fillet* ikan

Analisis <i>Hardness</i> (g/mm)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
3 ^A	Indian oil sardine (2 °C)	–	Kontrol	4730 ^a	2055 ^b	1075 ^c	–	–
			CH1	4730 ^a	2920 ^b	2165 ^{bc}	1330 ^c	–
			CH2	4730 ^a	3465 ^{ab}	2645 ^b	1870 ^b	–
5 ^B	Red drum (4 °C)	Ekstrak biji anggur (EA) atau polifenol daun teh (PT)	Kontrol	4367 ^a	3943 ^{ab}	3174 ^c	2823 ^d	2356 ^e
			CH + EA	4367 ^a	4069 ^{ab}	3567 ^b	3075 ^{bc}	2748 ^c
			CH + PT	4367 ^a	4152 ^a	3820 ^{ab}	3479 ^b	3012 ^{bc}
19 ^A	Grass carp (4 °C)	–	Kontrol	1066 ^a	507 ^b	357 ^c	287 ^e	228 ^f
			CH1	1036 ^a	530 ^{ab}	384 ^b	341 ^d	286 ^e
			CH2	1077 ^a	576 ^{ab}	421 ^b	356 ^c	299 ^d
22 ^A	Half smooth-tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (R)	Kontrol	1260 ^a	861 ^{bc}	635 ^c	503 ^d	376 ^e
			CH	1260 ^a	940 ^b	784 ^c	664 ^{cd}	521 ^d
			CR1	1260 ^a	1002 ^b	820 ^c	783 ^{cd}	674 ^d
			CR2	1260 ^a	1160 ^{ab}	962 ^b	896 ^{bc}	823 ^c
			CR3	1260 ^a	1172 ^{ab}	988 ^b	905 ^{bc}	865 ^c

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^B) Uji lanjut Tukey
 (^{a–f}) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Rendahnya nilai parameter *hardness* disebabkan terjadinya degradasi miosin oleh enzim proteolitik terutama enzim cathepins dan calpain. Substrat dari enzim cathepins ialah protein, sedangkan substrat dari enzim calpain ialah protein miofibril sehingga mengakibatkan pelebaran jaringan fibrosa otot dan pelunakan jaringan ikat (Ghaly *et al.* 2010). Perlakuan CH2 pada studi 3 secara signifikan menghambat terjadinya reaksi autolisis enzim proteolitik sehingga dapat mempertahankan sifat mekanis dan struktural *fillet* ikan.

Pola penurunan nilai *hardness* difokuskan pada studi 22, hal ini dikarenakan asam rosmarinat menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling baik (Gambar 7). Kombinasi *coating* kitosan 1% dengan asam rosmarinat 0.3% (CR2) menunjukkan hasil yang paling efisien yaitu sebesar 823 g/mm, hal ini disebabkan konsentrasi asam rosmarinat yang lebih rendah dan tidak berbeda nyata dengan penambahan asam rosmarinat 0.4% (CR3). Perlakuan CR2 secara signifikan dapat meningkatkan efektivitas kitosan dengan menstabilkan permukaan *fillet* ikan sehingga menghambat terjadinya pelunakan pada *fillet* ikan (Li *et al.* 2018).



Gambar 7 Pola perubahan parameter *hardness* pada *fillet* ikan

Fillet ikan cenderung kehilangan elastisitasnya selama penyimpanan sehingga perlu dilakukan pengukuran dengan parameter *springiness*. *Springiness* didefinisikan sebagai jarak *fillet* ikan dapat kembali ke tinggi semula antara akhir *probe* pertama dan awal *probe* kedua (Mohan *et al.* 2012). Rendahnya nilai *springiness* menandakan ikan telah kehilangan elastisitasnya akibat degradasi protein sehingga dapat memicu tumbuhnya mikroorganisme (Yang *et al.* 2014).

Perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) pada studi 8 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 0.79 mm, namun penambahan minyak esensial thyme 1% (CH + MT) juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Perlakuan CR2 dan CR3 pada studi 22 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-16 yaitu sebesar 0.72 mm dan 0.74 mm (Tabel 10). Hal ini menandakan kombinasi kitosan dengan antioksidan dapat mempertahankan elastisitas *fillet* ikan.

Tabel 10 Perubahan parameter *springiness* pada *fillet* ikan

Analisis <i>Springiness</i> (mm)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
g ^A	Northern snakehead (4 °C)	Polietilinemin (PEI) atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	1.30 ^a	0.54 ^b	0.44 ^c	–	–
			CH	1.30 ^a	0.84 ^{ab}	0.79 ^b	0.64 ^{bc}	–
			CH + PEI	1.30 ^a	0.87 ^{ab}	0.77 ^b	0.71 ^{bc}	–
			CH + MT	1.30 ^a	0.81 ^{ab}	0.75 ^b	0.68 ^{bc}	–

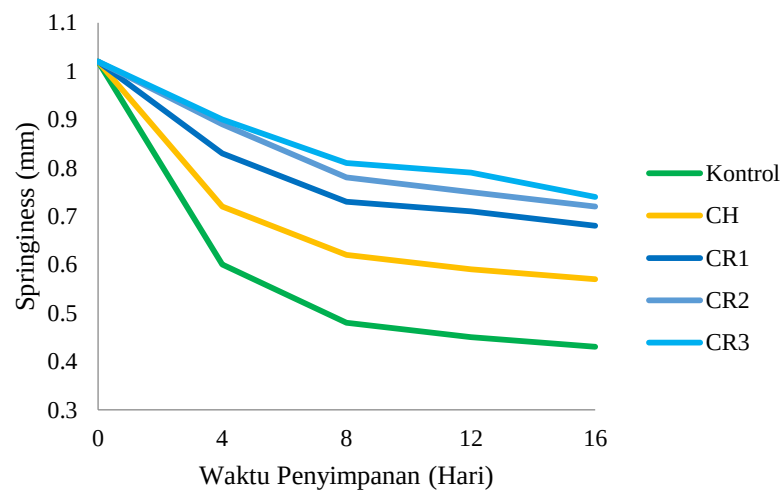
Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^{a-c}) Berbeda nyata (P < 0.05)

Tabel 10 Lanjutan perubahan parameter *springiness* pada *fillet* ikan

Analisis <i>Springiness</i> (mm)					Waktu Penyimpanan (Hari)				
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	0	4	8	12	16	
19 ^A	Grass carp (4 °C)	–	Kontrol	0.85 ^a	0.73 ^{ab}	0.74 ^{ab}	0.75 ^{ab}	0.70 ^b	
			CH1	0.89 ^a	0.74 ^{ab}	0.69 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.71 ^b	
			CH2	0.89 ^a	0.77 ^{ab}	0.76 ^{ab}	0.75 ^{ab}	0.72 ^{ab}	
21 ^A	Tiger tooth croaker (4 °C)	Ekstrak teh hijau (ETH)	Kontrol	2.25 ^a	2.13 ^{ab}	1.41 ^b	1.21 ^b	1.15 ^{bc}	
			CH	2.25 ^a	2.18 ^{ab}	2.18 ^{ab}	1.33 ^b	1.22 ^b	
			CH + ETH	2.25 ^a	2.23 ^{ab}	2.23 ^{ab}	1.55 ^{ab}	1.36 ^b	
22 ^A	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (R)	Kontrol	1.02 ^a	0.60 ^{ab}	0.48 ^b	0.45 ^b	0.43 ^c	
			CH	1.02 ^a	0.72 ^{ab}	0.62 ^{ab}	0.59 ^b	0.57 ^b	
			CR1	1.02 ^a	0.83 ^{ab}	0.73 ^{ab}	0.71 ^b	0.68 ^b	
			CR2	1.02 ^a	0.89 ^a	0.78 ^{ab}	0.75 ^{ab}	0.72 ^{ab}	
			CR3	1.02 ^a	0.90 ^a	0.81 ^{ab}	0.79 ^{ab}	0.74 ^{ab}	

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (A) Uji lanjut Duncan
 (a–c) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Perlakuan CH cenderung dapat memperlambat penurunan nilai *springiness*, hal ini membuktikan bahwa barrier kitosan dapat mempertahankan elastisitas dan mencegah terjadinya pelunakan pada *fillet* ikan (Cai *et al.* 2017). Perlakuan CR2 secara signifikan memperlambat laju penurunan nilai *springiness* yaitu sebesar 0.72 mm dibandingkan perlakuan kontrol yang mencapai 0.43 mm (Gambar 8). Hal ini disebabkan peranan antioksidan sebagai penstabil pada permukaan *fillet* ikan dan membantu meningkatkan efektivitas barrier kitosan (Yu *et al.* 2017).



Gambar 8 Pola perubahan parameter *springiness* pada *fillet* ikan

Analisis Warna

Penampilan produk merupakan indikator penting bagi konsumen, terutama dalam aspek penerimaan konsumen (Cai *et al.* 2013). Perubahan warna daging ikan disebabkan oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi struktur jaringan otot ikan dan konsentrasi pigmennya, sedangkan faktor eksternal diantaranya ialah terjadinya reaksi oksidasi lipid dan aktivitas mikroorganisme sehingga menghasilkan berbagai basa volatil (Obeid *et al.* 2018).

Berdasarkan warna pigmennya, daging ikan dikategorikan menjadi daging ikan berwarna putih dan merah yang dipengaruhi oleh konsentrasi mioglobin dan hemoglobinnya (Gines *et al.* 2004). Mioglobin dan hemoglobin merupakan protein berpigmentasi kuat yang berfungsi menyalurkan oksigen ke seluruh tubuh ikan. Mioglobin hanya berada pada otot ikan, sedangkan hemoglobin pada sel darah merah. Konsentrasi mioglobin dan hemoglobin ikan berdaging merah cenderung lebih tinggi dibandingkan ikan berdaging putih (Mohan *et al.* 2012).

Pengukuran warna digunakan sistem warna dengan nilai L*, a*, dan b*. Nilai L* menyatakan tingkat kecerahan, nilai a* menyatakan campuran kromatik hijau dan merah, dan nilai b* menyatakan campuran kromatik biru dan kuning (Kheng 2002). Nilai parameter L*, a*, dan b* akan dikonversikan menjadi nilai °hue. Nilai °hue yang berbeda disebabkan perbedaan spesies ikan yang dipengaruhi oleh konsentrasi mioglobin dan hemoglobinnya (Gines *et al.* 2004).

Perlakuan penambahan 6-gingerol 1% (CG2) pada studi 17 dapat menghambat penurunan nilai °hue yaitu sebesar 119.63° pada hari ke-16 dibandingkan dengan perlakuan kontrol (115.74°). Penambahan minyak esensial thyme 0.5% (CH + MT) pada studi 20 dapat mempertahankan nilai °hue yaitu sebesar 127.35° dibandingkan dengan kombinasi minyak esensial lemon dan thyme 0.5% (CH + MLT) yang mencapai nilai hue° sebesar 118.34° (Tabel 11).

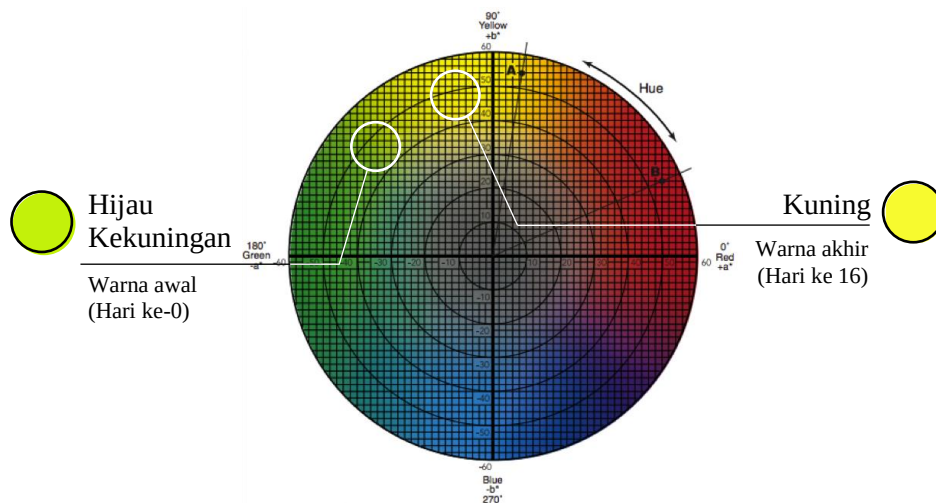
Tabel 11 Perubahan nilai °hue pada *fillet* ikan

Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Analisis Warna (°hue)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
6	Japanese sea bass (4 °C)	Ergotionin (EG)	Kontrol	235.82	236.39	233.16	225.02	213.71
			CH	245.62	245.49	250.91	225.02	209.95
			CH + EG	237.36	235.54	224.85	236.13	221.14

Tabel 11 Lanjutan perubahan nilai °hue pada *fillet* ikan

Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Analisis Warna (°hue)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
13	Flounder (4 °C)	Flavonoid daun hawthorn (FH)	Kontrol	234.77	242.51	241.03	151.68	128.34
			CH	234.77	228.55	234.41	230.78	229.92
			CH + FH	234.77	229.69	228.93	225.94	224.83
17	Red drum (4 °C)	6-gingerol (G)	Kontrol	137.52	121.05	119.01	119.35	115.74
			CG1	140.00	131.58	114.61	119.34	117.14
			CG2	140.90	125.23	132.94	129.35	119.63
20	Grass carp (4 °C)	Minyak esensial lemon (ML) dan/atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	142.18	111.06	105.97	107.04	96.34
			CH	132.07	110.02	109.61	108.31	98.92
			CH + MT	133.09	108.71	122.29	128.66	127.35
			CH + ML	121.40	108.69	110.40	116.03	115.80
			CH + MLT	127.70	127.07	118.64	113.09	118.34
21	Tiger tooth croaker (4 °C)	Ekstrak teh hijau (ETH)	Kontrol	250.00	225.40	257.56	250.64	234.24
			CH	250.00	254.44	250.59	250.12	242.10
			CH + ETH	250.00	253.08	253.40	252.88	250.34

Studi 6, 13, dan 21 menyatakan tidak adanya perubahan warna dikarenakan menggunakan ikan berdaging merah. Studi 17 dan 20 menggunakan ikan berdaging putih yang menunjukkan perubahan warna hijau kekuningan menjadi kuning (Gambar 9). Warna hijau kekuningan pada perlakuan kontrol studi 20 terbentuk dari nilai L* sebesar 57.23, nilai a* sebesar -0.73, dan nilai b* sebesar 2.73. Perubahan warna menjadi kuning terbentuk dari nilai L* sebesar 58.99, nilai a* sebesar -4.07, dan nilai b* sebesar 8.50 pada akhir penyimpanan (Lampiran 9).

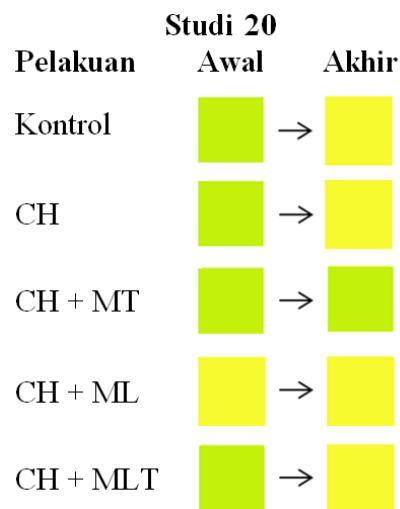


Gambar 9 Perubahan warna *fillet* ikan pada diagram °hue

Perubahan warna perlakuan kontrol *fillet* ikan diakibatkan terjadinya melanosis pada ikan. Melanosis merupakan reaksi autolisis enzim endogen dan auto-oksidasi hingga terbentuknya komponen hematin. Keberadaan komponen hematin menunjukkan bahwa tingkat oksidasi lipid dapat mempengaruhi nilai b^* sehingga mengakibatkan *fillet* menjadi berwarna kekuningan (Cai *et al.* 2016).

Perlakuan *coating* kitosan studi 17 dan 20 cenderung tidak mempertahankan warna *fillet* ikan, namun dapat menghambat peningkatan nilai $^{\circ}\text{hue}$. Hal ini disebabkan kitosan hanya berperan sebagai barier terhadap O_2 dan tidak secara signifikan menghambat pembentukan komponen hematin pada *fillet* ikan (Cai *et al.* 2017; Cai *et al.* 2016; Mi & Li 2016).

Penambahan minyak esensial lemon 0.5% (CH + ML) pada studi 20 mempengaruhi warna awal menjadi kuning diakibatkan daging yang terdenaturasi oleh asam dari lemon (Cai *et al.* 2017). Penambahan minyak esensial thyme 0.5% (CH + MT) dapat mempertahankan warna *fillet* ikan secara signifikan yang ditandai dengan warna hijau kekuningan, hal ini menunjukkan perlakuan CH + MT dapat meningkatkan efektivitas kitosan paling signifikan dibandingkan kombinasi dengan minyak esensial lemon 0.5% (CH + MLT) (Gambar 10).



Gambar 10 Perubahan nilai hue° pada *fillet* ikan

Analisis Kimia

Analisis kimia ditujukan untuk mengevaluasi kesegaran ikan berdasarkan senyawa kimia yang terbentuk selama penyimpanan. Analisis kimia yang dilakukan terdiri atas pengukuran pH, analisis *total volatile base nitrogen*

(TVBN), analisis trimetilamin (TMA), analisis *peroxide value* (PV), analisis 2-thiobarbituric acid (TBA), analisis amina biogenik, dan perhitungan nilai K.

Pengukuran pH

Pengukuran pH digunakan sebagai indikasi awal terhadap penurunan kualitas ikan selama penyimpanan. Nilai pH daging ikan bergantung pada proses *rigor mortis* ikan yang dipengaruhi oleh spesies ikan, pola makan, musim, tingkat kestresan ikan saat ditangkap, dan tipe jaringan otot ikan (Li *et al.* 2016). Nilai pH awal *fillet* ikan yang digunakan berkisar 6.04 hingga 6.95, menandakan ikan yang digunakan masih memiliki kualitas yang baik (Cheng *et al.* 2015).

Penambahan antioksidan berupa minyak esensial lada hitam 1.5% (CH + MLH) pada studi 15 menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu nilai pH sebesar 6.48 dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang mencapai pH sebesar 7.13 di hari ke-12. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol yaitu nilai pH sebesar 6.43 di hari ke-12 selama 16 hari penyimpanan (Tabel 12). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan antioksidan dapat mempertahankan nilai pH dari *fillet* ikan.

Tabel 12 Perubahan pH pada *fillet* ikan

Pengukuran pH								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
1 ^B	Salmon (0 °C)	–	Kontrol	6.60 ^a	6.53 ^a	6.62 ^a	6.83 ^b	7.05 ^c
			CH	6.60 ^a	6.43 ^{ab}	6.51 ^{ab}	6.64 ^b	6.85 ^b
4 ^A	Yellow croaker (4 °C)	Polifenol teh (PT) atau ekstrak rosemary (ER)	Kontrol	6.95 ^a	6.70 ^b	6.81 ^{bc}	7.06 ^c	7.18 ^d
			CH + PT	6.95 ^a	6.85 ^{ab}	6.65 ^b	6.97 ^{bc}	6.98 ^c
			CH + ER	6.95 ^a	6.87 ^{ab}	6.73 ^b	6.62 ^{bc}	6.94 ^c
14 ^A	Silver carp (4 °C)	Minyak esensial eukaliptus (ME) dan/atau α - tokoferol (α)	Kontrol	6.80 ^a	6.67 ^b	7.12 ^c	7.28 ^d	7.45 ^e
			CH	6.80 ^a	6.73 ^{ab}	7.06 ^b	7.20 ^c	7.35 ^d
			CH + ME	6.80 ^a	6.74 ^{ab}	6.96 ^{ab}	7.17 ^b	7.32 ^c
			CH + ME + α	6.80 ^a	6.76 ^{ab}	6.80 ^{ab}	7.06 ^b	7.14 ^b
15 ^A	Common carp (4 °C)	Minyak esensial lada hitam (MLH)	Kontrol	6.40 ^a	6.28 ^{ab}	6.64 ^b	7.13 ^c	7.42 ^d
			CH	6.38 ^a	6.26 ^{ab}	6.42 ^{ab}	6.63 ^b	6.87 ^c
			CH + MLH	6.41 ^a	6.24 ^{ab}	6.39 ^{ab}	6.48 ^{ab}	6.68 ^b

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^B) Uji lanjut Tukey
 (^{a–d}) Berbeda nyata (P < 0.05)

Tabel 12 Perubahan pH pada *fillet* ikan

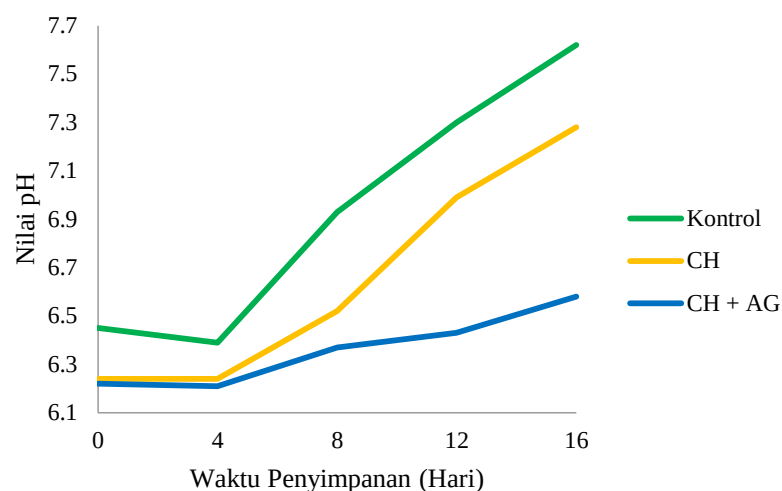
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Pengukuran pH				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	6.45 ^a	6.39 ^a	6.93 ^b	7.30 ^c	7.72 ^d
			CH	6.24 ^a	6.24 ^a	6.52 ^{ab}	6.99 ^c	7.28 ^c
			CH + AG	6.22 ^a	6.21 ^a	6.37 ^{ab}	6.43 ^b	6.18 ^b
24 ^B	Rainbow trout (4 °C)	Ekstrak biji anggur (EA)	Kontrol	6.73 ^a	6.35 ^b	7.13 ^c	8.78 ^d	–
			CH	6.05 ^b	5.96 ^{bc}	6.21 ^{bc}	7.06 ^c	7.31 ^d
			CH + EA	6.35 ^a	6.11 ^{ab}	6.62 ^b	6.82 ^{bc}	6.99 ^c

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^{a–d}) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Pola perubahan pH mengalami penurunan secara signifikan kemudian mengalami peningkatan kembali secara bertahap (Gambar 11). Penurunan nilai pH pada hari ke-4 dikarenakan ikan telah memasuki proses *rigor mortis* sehingga terjadinya pelepasan CO₂ pada *fillet* ikan dan terbentuknya asam laktat akibat aktivitas enzim glikolitik, sedangkan nilai pH perlakuan *coating* cenderung lebih rendah. Hal ini disebabkan kitosan menggunakan asam asetat 1% sebagai pelarut sehingga pH cenderung lebih rendah (Li *et al.* 2016).

Peningkatan pH *fillet* ikan secara bertahap dimulai dari hari ke-8 hingga akhir penyimpanan yang disebabkan terdegradasinya protein sehingga terbentuk senyawa basa volatil berupa amonia dan amina akibat terjadinya proses autolisis enzim proteolitik dan hasil metabolit dari aktivitas mikroorganisme (Bahmani *et al.* 2011). Perlakuan kontrol masing-masing studi cenderung memiliki nilai akhir pH tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya, hal ini disebabkan tingginya pembentukan senyawa basa volatil selama penyimpanan.

Perlakuan *coating* kitosan memiliki pH akhir yang lebih rendah disebabkan sifat antimikroba kitosan dapat menghambat autolisis enzimatik dan mencegah terbentuknya senyawa basa volatil. Kombinasi *coating* kitosan 1% dengan asam galat 3% (CH + AG) dengan pH sebesar 6.18 secara signifikan dapat menghambat pembentukan senyawa basa volatil dibandingkan perlakuan kontrol dengan pH mencapai 7.72 (Gambar 11). Hal ini disebabkan asam galat yang merupakan asam fenolik dapat meningkatkan efektivitas antimikroba kitosan dan menstabilkan permukaan *fillet* ikan sehingga memiliki nilai pH terendah (Manat *et al.* 2005).



Gambar 11 Pola perubahan pH pada *fillet* ikan

Analisis TVBN

Analisis *total volatile base nitrogen* (TVBN) digunakan sebagai indikator umum untuk mengukur kesegaran ikan. TVBN merupakan kumpulan senyawa amonia dan amina (termasuk amina primer, sekunder, dan tersier) yang dapat menyebabkan kerusakan *flavor* pada ikan (Souza *et al.* 2010). Umumnya ikan memiliki nilai TVBN yang meningkat secara linear ketika pembusukan berlangsung (Li *et al.* 2012). Batas penerimaan TVBN pada ikan sebesar 30 mgN/100g (Goncalves & Candido 2009).

Nilai awal TVBN pada *fillet* ikan berkisar 5.65 hingga 17.50 mgN/100g, hal ini dikarenakan ikan segar memiliki nilai TVBN berkisar 5 hingga 20 mgN/100g sehingga ikan yang digunakan masih dalam kualitas yang baik (Zarei *et al.* 2011). Perbedaan nilai awal TVBN dipengaruhi oleh komposisi proksimat yaitu kadar protein ikan. Semakin tinggi kadar protein akan menyebabkan proses degradasi yang terjadi menjadi lebih cepat sehingga terbentuknya nilai TVBN lebih tinggi.

Penambahan ekstrak kulit jeruk 0.2% (CH + KJ) dan ekstrak kulit pomegranat 0.2% (CH + KP) pada studi 11 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 21.31 mgN/100g dan 23.36 mgN/100g. Penambahan ekstrak buah sumac 2% (CS2) pada studi 23 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-4 yaitu sebesar 8.65 mgN/100g (Tabel 13). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat pembentukan senyawa basa volatil *fillet* ikan.

Tabel 13 Perubahan nilai TVBN pada *fillet* ikan

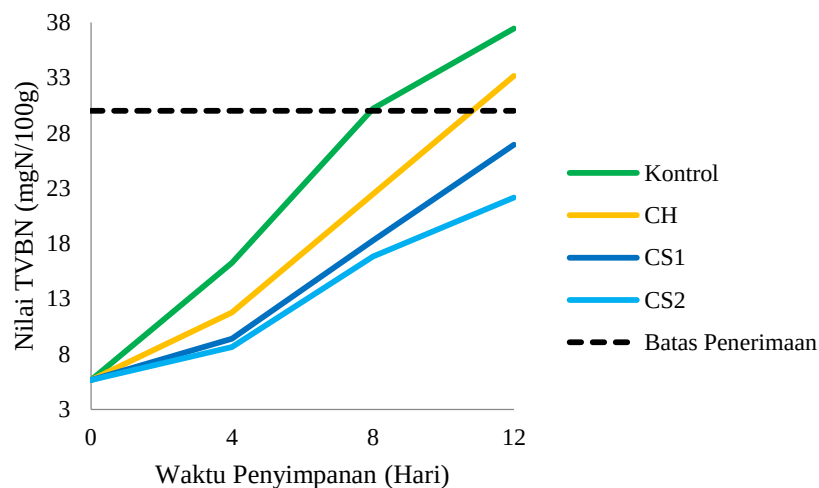
Analisis TVBN (mgN/100g)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
4 ^A	Yellow croaker (4 °C)	Polifenol daun teh (PT) atau ekstrak rosemary (ER)	Kontrol	11.85 ^a	14.40 ^b	18.33 ^c	26.31 ^d	37.20 ^e
			CH + PT	11.54 ^a	13.83 ^{ab}	16.26 ^b	16.42 ^c	23.96 ^d
			CH + ER	11.50 ^a	13.21 ^{ab}	15.92 ^b	15.60 ^{bc}	22.51 ^c
7 ^A	Rainbow trout (5 °C)	Minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	17.23 ^a	22.41 ^b	25.43 ^{bc}	31.25 ^d	37.16 ^e
			CH	17.50 ^a	19.82 ^{ab}	24.13 ^b	27.54 ^c	31.68 ^d
			CH + MT	17.41 ^a	18.66 ^{ab}	21.02 ^b	24.01 ^{bc}	26.69 ^c
11 ^A	Silver carp (4 °C)	Ekstrak kulit jeruk (KJ) atau pomegranat (KP)	Kontrol	13.60 ^a	30.25 ^b	57.16 ^d	71.34 ^e	–
			CH	12.82 ^a	19.32 ^b	22.72 ^c	39.33 ^d	–
			CH + KJ	11.40 ^a	18.71 ^b	21.31 ^{bc}	37.60 ^c	–
			CH + KP	11.64 ^a	19.85 ^b	23.36 ^{bc}	36.45 ^c	–
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	7.10 ^a	28.54 ^b	41.95 ^c	65.63 ^d	83.41 ^e
			CH	7.73 ^{ab}	14.67 ^b	25.66 ^{bc}	39.82 ^c	43.22 ^c
			CH + AG	7.51 ^a	11.36 ^{ab}	18.21 ^{ab}	22.75 ^b	25.19 ^b
23 ^A	Rainbow trout (4 °C)	Ekstrak buah sumac (S)	Kontrol	5.65 ^a	16.25 ^b	30.19 ^c	37.45 ^d	–
			CH	5.65 ^a	11.76 ^{ab}	22.46 ^b	33.17 ^c	–
			CS1	5.65 ^a	9.39 ^a	18.28 ^{ab}	26.92 ^b	–
			CS2	5.65 ^a	8.65 ^a	16.84 ^{ab}	22.15 ^b	–
25 ^A	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (AR) & ε-polilisin (P)	CH + AR	7.60 ^a	8.60 ^b	13.81 ^c	19.73 ^d	24.32 ^e
			CP1	7.60 ^a	7.23 ^{ab}	12.55 ^b	14.51 ^c	18.54 ^d
			CP2	7.60 ^a	6.51 ^{ab}	11.59 ^b	13.75 ^{bc}	14.52 ^c
			CP3	7.60 ^a	6.33 ^{ab}	11.03 ^b	13.06 ^b	13.75 ^b
			CP4	7.60 ^a	6.10 ^{ab}	10.89 ^b	12.72 ^b	12.30 ^b

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^{a–e}) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Perlakuan kontrol cenderung melewati batas penerimaan (5 mgN/100g) pada hari ke-8 hingga hari ke-12 penyimpanan. Pembentukan senyawa amonia disebabkan oleh deaminasi asam amino dan katabolit nukleotida, sedangkan senyawa amina terbentuk akibat reaksi autolisis enzim proteolitik dan hasil metabolit bakteri pembusuk (Idakwo *et al.* 2016). Hal ini menandakan terdegradasinya protein oleh enzim proteolitik ikan sehingga *fillet* ikan mengalami penurunan karakteristik sensori secara signifikan (Moosavi *et al.* 2016).

Perlakuan *coating* kitosan memiliki nilai TVBN lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol, hal ini disebabkan kitosan dapat mengurangi kapasitas bakteri

untuk melakukan deaminasi oksidatif (Volpe *et al.* 2015). Kombinasi *coating* kitosan dengan ekstrak buah sumac 2% (CS2) yaitu sebesar 22.15 mgN/100g secara signifikan sehingga menghambat pembentukan basa volatil dibandingkan perlakuan kontrol yang memiliki nilai TVBN mencapai 37.45 mgN/100g (Gambar 12). Hal ini disebabkan antioksidan dapat memperlambat aktivitas enzim proteolitik dalam mendeaminasi asam amino menjadi senyawa basa volatil dan menghambat tumbuhnya mikroorganisme (Hassanzadeh *et al.* 2018).



Gambar 12 Pola perubahan nilai TVBN pada *fillet* ikan

Analisis TMA

Analisis trimetilamin (TMA) merupakan indikator yang digunakan untuk mengukur kesegaran ikan dengan mengakumulasi senyawa TMA. Senyawa TMA merupakan senyawa turunan amina yang terbentuk akibat reaksi autolisis enzimatis dan hasil metabolit bakteri pembusuk, senyawa ini dapat menyebabkan bau amis dan menyengat pada ikan yang mengalami pembusukan (Gao *et al.* 2014). Batas penerimaan TMA lebih rendah dibandingkan TVBN yaitu sebesar 5 mgN/100g (Idakwo *et al.* 2016).

Nilai awal akumulasi TMA pada *fillet* ikan berkisar 0.14 hingga 0.91 mgN/100g, hal ini menandakan ikan yang digunakan memiliki kualitas yang baik (Li *et al.* 2018). Perbedaan nilai awal TMA dipengaruhi oleh kadar protein spesies ikan. Semakin tinggi kadar protein akan menyebabkan tingginya akumulasi TMA sehingga ikan mengalami pembusukan lebih cepat (Mohan *et al.* 2012).

Perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) pada studi 1 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-16 yaitu sebesar 5.10 mgN/100g. Penambahan asam rosmarinat 0.3% (CR2) dan 0.4% (CR3) pada studi 22 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dimulai dari hari ke-8 yaitu sebesar 0.52 mgN/100g dan 0.43 mgN/100g hingga 16 hari penyimpanan (Tabel 14). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat laju terbentuknya senyawa TMA pada *fillet* ikan.

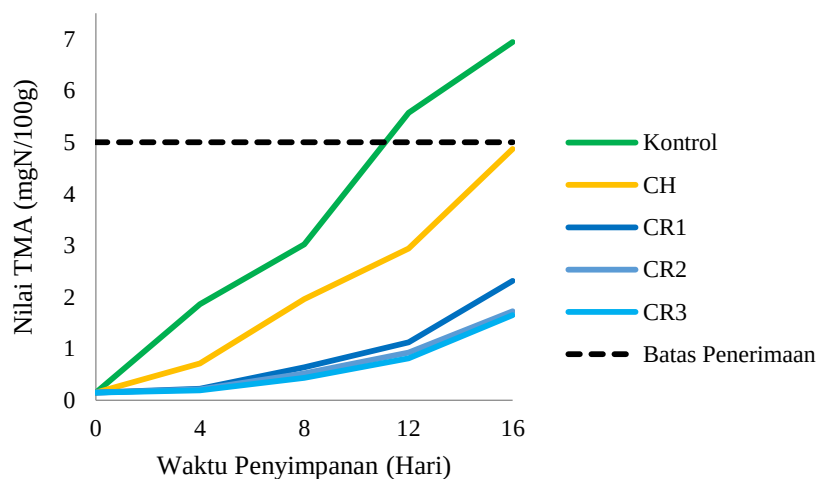
Tabel 14 Perubahan nilai TMA pada *fillet* ikan

Analisis TMA (mgN/100g)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
1 ^B	Salmon (0 °C)	–	Kontrol	0.87 ^a	1.39 ^{ab}	2.03 ^b	5.17 ^{bc}	6.26 ^c
			CH	0.91 ^a	1.33 ^{ab}	1.80 ^{ab}	4.63 ^b	5.10 ^b
10 ^B	Pompano (4 °C)	Ekstrak rosemary (ER) & nisin (N)	Kontrol	0.41 ^a	0.95 ^{ab}	3.12 ^b	5.80 ^c	7.25 ^d
			CH + ER + N	0.41 ^a	0.87 ^{ab}	1.67 ^b	2.18 ^{bc}	3.04 ^c
22 ^A	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (R)	Kontrol	0.15 ^a	1.86 ^b	3.02 ^c	5.57 ^d	6.94 ^e
			CH	0.15 ^a	0.71 ^{ab}	1.96 ^b	2.94 ^c	4.87 ^d
			CR1	0.15 ^a	0.22 ^{ab}	0.64 ^{ab}	1.12 ^{bc}	2.31 ^c
			CR2	0.15 ^a	0.21 ^{ab}	0.52 ^{ab}	0.92 ^b	1.72 ^b
			CR3	0.15 ^a	0.19 ^{ab}	0.43 ^{ab}	0.81 ^b	1.65 ^b
25 ^A	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Asam rosmarinat (AR) & ε-polilisin (P)	CH + AR	0.15 ^a	0.46 ^{ab}	1.72 ^b	2.25 ^c	3.24 ^d
			CP1	0.15 ^a	0.69 ^{ab}	1.12 ^{bc}	1.87 ^c	2.13 ^c
			CP2	0.15 ^a	0.67 ^{ab}	0.92 ^b	1.36 ^b	1.42 ^b
			CP3	0.15 ^a	0.65 ^b	0.86 ^b	1.28 ^b	1.39 ^b
			CP4	0.15 ^a	0.63 ^b	0.80 ^b	1.25 ^b	1.38 ^b
Keterangan: ^(A) Uji lanjut Duncan								
^(B) Uji lanjut Tukey								
^(a-e) Berbeda nyata (P < 0.05)								

Perlakuan kontrol cenderung mengalami peningkatan secara signifikan dan melewati batas penerimaan (5 mgN/100g) pada hari ke-12. Hal ini disebabkan terjadinya reaksi autolisis enzim proteolitik dan aktivitas bakteri pembusuk (seperti *Pseudomonas*) pada *fillet* ikan sehingga mendegradasi trimetilamin oksida (TMAO) menjadi TMA (Yu *et al.* 2017; Reza *et al.* 2009).

Perlakuan CH pada studi 22 menunjukkan akumulasi TMA lebih rendah yaitu sebesar 4.87 mgN/100g dibandingkan perlakuan kontrol yang memiliki nilai TMA mencapai 6.94 mgN/100g, hal ini disebabkan sifat antimikroba dari kitosan

menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan mengurangi akumulasi TMA. Kombinasi *coating* kitosan dengan asam rosmarinat 0.3% (CR2) pada studi 22 dapat menghambat peningkatan akumulasi TMA paling efisien, hal ini disebabkan konsentrasi asam rosmarinat yang lebih rendah dan hasil yang tidak berbeda nyata dengan penambahan asam rosmarinat 0.4% (CR3) (Gambar 13). Asam rosmarinat berperan efektif dalam meningkatkan aktivitas antimikroba kitosan sehingga degradasi TMAO menjadi TMA terhambat (Kong *et al.* 2010).



Gambar 13 Pola perubahan nilai TMA pada *fillet* ikan

Analisis PV

Analisis bilangan peroksida atau *peroxide value* (PV) merupakan indikator ketengikan oksidatif dengan mengukur bilangan peroksida (peroksida dan hidroperoksida) sebagai produk primer oksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh ganda dengan O_2 pada tahap propagasi. Bilangan peroksida tidak menyebabkan aroma tengik pada ikan, namun pembusukannya mengarah pada pembentukan berbagai produk sekunder oksidasi lipid (Gao *et al.* 2014).

Nilai awal PV *fillet* ikan berkisar 0.48 hingga 0.89 meq/kg, hal ini sesuai dengan pernyataan Ojagh *et al.* (2010) bahwa nilai PV dibawah 2 meq/kg menandakan kualitas ikan masih sangat baik. Perbedaan nilai awal PV dipengaruhi oleh kadar lemak dari spesies ikan, semakin tinggi kadar lemak akan mempengaruhi peningkatan nilai PV selama penyimpanan (Undeland *et al.* 2005).

Penambahan ergotionin 0.3% (CH + EG) pada studi 6 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 0.98

meq/kg, namun perlakuan kitosan 1% (CH) tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol pada hari ke-8 yaitu sebesar 1.62 meq/kg (Tabel 15). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat peningkatan bilangan peroksida pada *fillet* ikan.

Tabel 15 Perubahan nilai PV pada *fillet* ikan

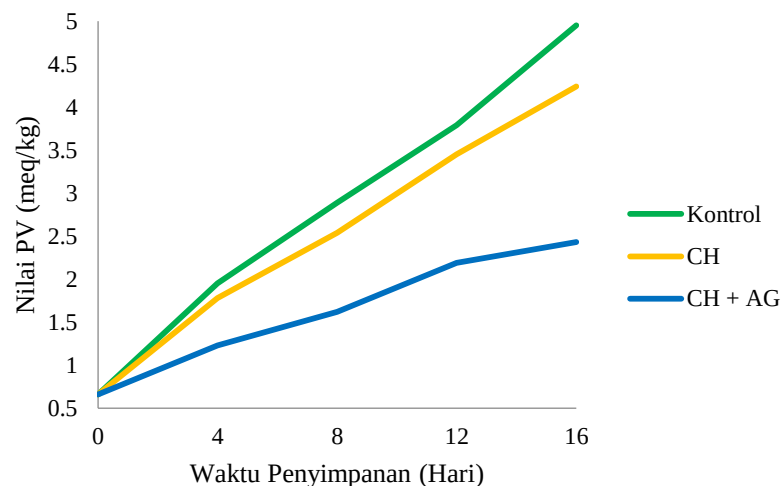
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Analisis PV (meq/kg)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
2 ^A	Rainbow trout (4 °C)	Minyak kayu manis (KM)	Kontrol	0.87 ^a	1.96 ^b	2.61 ^c	4.08 ^d	4.60 ^e
			CH	0.81 ^a	1.15 ^b	1.47 ^{bc}	3.90 ^c	4.23 ^d
			CH + KM	0.29 ^a	1.13 ^b	2.09 ^c	3.17 ^c	3.43 ^c
6 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Ergotionin (EG)	Kontrol	0.48 ^a	1.27 ^b	2.06 ^c	3.37 ^d	4.58 ^e
			CH	0.48 ^a	1.03 ^b	1.58 ^{bc}	2.14 ^c	3.62 ^d
			CH + EG	0.48 ^a	0.60 ^{ab}	0.98 ^b	1.74 ^{bc}	2.72 ^c
14 ^A	Silver carp (4 °C)	Minyak esensial eukaliptus (ME) dan/atau α -tokoferol (α)	Kontrol	0.89 ^a	2.07 ^b	3.60 ^c	4.25 ^d	6.21 ^e
			CH	0.89 ^a	1.42 ^{ab}	2.55 ^b	3.82 ^c	5.80 ^d
			CH + ME	0.89 ^a	1.26 ^{ab}	2.12 ^b	3.04 ^{bc}	4.62 ^c
			CH + ME + α	0.89 ^a	1.08 ^{ab}	1.99 ^{ab}	2.83 ^b	3.73 ^b
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	0.66 ^a	1.95 ^b	2.89 ^c	3.79 ^d	4.95 ^e
			CH	0.66 ^a	1.78 ^b	2.54 ^{bc}	3.45 ^c	4.24 ^d
			CH + AG	0.66 ^a	1.23 ^{ab}	1.62 ^b	2.19 ^b	2.43 ^c
18 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Minyak oregano (MO) & allicin (A)	Kontrol	0.51 ^a	1.53 ^b	2.79 ^c	3.54 ^d	4.63 ^e
			CH	0.51 ^a	1.16 ^b	1.83 ^{bc}	2.43 ^c	3.51 ^d
			CH + MO	0.51 ^a	1.04 ^{ab}	1.61 ^b	2.26 ^c	2.94 ^c
			CH + A	0.51 ^a	0.98 ^{ab}	1.42 ^b	2.01 ^{bc}	2.53 ^c

Keterangan: (^A) Uji lanjut Duncan
(^{a-e}) Berbeda nyata (P < 0.05)

Perlakuan kontrol cenderung mengalami peningkatan secara signifikan selama penyimpanan. Tingginya nilai PV menunjukkan bahwa oksidasi lipid telah melalui tahap propagasi, hal ini menyebabkan hidroperoksida akan teroksidasi lebih lanjut menjadi berbagai produk sekunder oksidasi lipid (Cai *et al.* 2013).

Perlakuan *coating* kitosan dibuktikan memiliki permeabilitas O₂ yang rendah. Kitosan berperan sebagai barrier terhadap O₂ pada permukaan *fillet* ikan sehingga dapat menghambat oksidasi lipid dan mengurangi pembentukan bilangan peroksida dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Selain itu, kitosan juga dapat menstabilkan kadar lipid pada *fillet* ikan (Kooteinaie *et al.* 2016).

Kombinasi *coating* kitosan 1% dengan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 yaitu sebesar 2.43 meq/kg secara signifikan meningkatkan efektivitas kitosan dan menghambat terjadinya tahap propagasi oksidasi lipid dibandingkan perlakuan kontrol yang memiliki nilai PV mencapai 4.95 meq/kg (Gambar 14). Asam galat berpengaruh terhadap pencegahan pembentukan bilangan peroksida, hal ini disebabkan antioksidan berperan sebagai pendonor atom hidrogen pada radikal bebas sehingga terbentuknya rantai yang lebih stabil (Wu *et al.* 2016).



Gambar 14 Pola perubahan nilai PV pada *fillet* ikan

Analisis TBA

Analisis *2-thiobarbituric acid* (TBA) merupakan indikator yang digunakan untuk mengevaluasi tingkat oksidasi lipid dengan mengukur senyawa malondialdehida (MDA) sebagai produk sekunder oksidasi lipid dari bilangan peroksida pada tahap terminasi. Keberadaan produk sekunder oksidasi lipid seperti aldehida dan keton menyebabkan bau tengik pada *fillet* ikan. Batas penerimaan nilai TBA ialah sebesar 1 mgMDA/kg (Jouki *et al.* 2014).

Nilai awal TBA *fillet* ikan berkisar 0.18 hingga 0.61 mgMDA/kg. Perbedaan nilai awal TBA disebabkan spesies ikan, kadar lemak, dan lingkungan ikan hidup (Chamanara *et al.* 2013). Semakin tinggi kadar lemak ikan akan menyebabkan mudah terjadinya proses oksidasi, sehingga menghasilkan MDA lebih tinggi dan ikan akan mengalami pembusukan lebih cepat (Wu *et al.* 2016).

Penambahan ekstrak biji anggur 0.1% (CH + EA) pada studi 24 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-12

yaitu sebesar 0.76 mgMDA/kg. Penambahan minyak esensial thyme 0.1% (CH + MT) pada studi 7 menunjukkan hasil berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-12 yaitu sebesar 0.35 mgMDA/kg (Tabel 16). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat peningkatan nilai TBA *fillet* ikan.

Tabel 16 Perubahan nilai TBA pada *fillet* ikan

Analisis TBA (mgMDA/kg)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
1 ^B	Salmon (0 °C)	–	Kontrol	0.29 ^a	0.38 ^{ab}	0.72 ^b	1.27 ^c	1.39 ^d
			CH	0.29 ^a	0.31 ^{ab}	0.52 ^b	0.85 ^{bc}	0.98 ^c
7 ^A	Rainbow trout (5 °C)	Minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	0.27 ^a	0.41 ^{ab}	0.60 ^b	0.85 ^c	1.30 ^d
			CH	0.24 ^a	0.28 ^a	0.37 ^{ab}	0.43 ^b	0.54 ^c
			CH + MT	0.19 ^a	0.21 ^a	0.23 ^{ab}	0.35 ^b	0.41 ^b
8 ^A	Northern snakehead (4 °C)	Polietilinin (PEI) atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	0.18 ^a	1.20 ^b	–	–	–
			CH	0.18 ^a	0.40 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.85 ^b	–
			CH + PEI	0.18 ^a	0.38 ^{ab}	0.64 ^{ab}	0.76 ^{ab}	–
			CH + MT	0.18 ^a	0.36 ^{ab}	0.59 ^{ab}	0.64 ^{ab}	–
9 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Asam sitrat (AS) atau ekstrak akar manis (AM)	Kontrol	0.43 ^a	0.57 ^{ab}	1.44 ^c	1.64 ^e	–
			CH	0.43 ^a	0.56 ^{ab}	1.06 ^b	1.33 ^d	–
			CH + AS	0.61 ^a	0.54 ^{ab}	0.93 ^{ab}	1.26 ^b	–
			CH + AM	0.42 ^a	0.46 ^{ab}	0.50 ^{ab}	1.10 ^b	–
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	0.21 ^a	0.93 ^b	1.40 ^c	1.78 ^d	1.93 ^e
			CH	0.21 ^a	0.54 ^{ab}	1.31 ^b	1.63 ^c	1.72 ^d
			CH + AG	0.21 ^a	0.27 ^a	0.57 ^{ab}	0.75 ^b	1.13 ^c
24 ^B	Half smooth tongue-sole (4 °C)	Ekstrak biji anggur (EA)	Kontrol	0.49 ^a	0.98 ^{ab}	1.31 ^b	1.62 ^c	1.83 ^d
			CH	0.37 ^a	0.53 ^{ab}	0.71 ^{ab}	0.83 ^b	0.97 ^c
			CH + EA	0.29 ^{ab}	0.42 ^{ab}	0.63 ^{ab}	0.76 ^{ab}	0.94 ^b

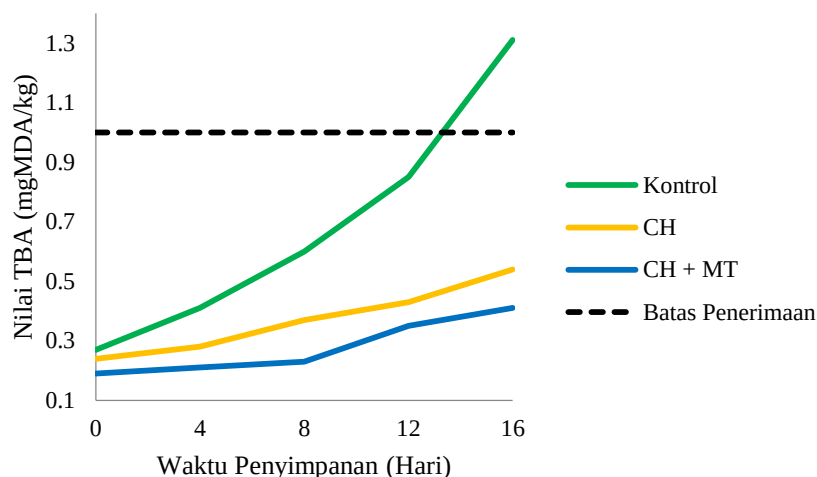
Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^B) Uji lanjut Tukey
 (^{a–e}) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Perlakuan kontrol cenderung mengalami peningkatan signifikan dan melewati batas penerimaan dimulai dari hari ke-4 pada studi 8 hingga hari ke-12 pada studi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa oksidasi lipid pada *fillet* ikan telah melalui tahap terminasi sehingga ikan telah mengalami pembusukan akibat terbentuknya senyawa MDA selama penyimpanan (Qiu *et al.* 2014).

Perlakuan *coating* kitosan menunjukkan nilai TBA yang lebih rendah, hal ini disebabkan kitosan memiliki aktivitas antioksidan dan berperan sebagai barier

permukaan *fillet* terhadap O₂ sehingga memperlambat difusi O₂ (Mellinas *et al.* 2016). Aktivitas antioksidan kitosan memiliki mekanisme gugus primer asam amino yang akan membentuk ikatan kovalen yang stabil dengan senyawa aldehida terutama MDA (Abdollahi *et al.* 2014).

Kombinasi *coating* kitosan dengan minyak esensial thyme 0.1% (CH + MT) yaitu sebesar 0.41 mgMDA/kg secara signifikan dapat menghambat pembentukan MDA dibandingkan perlakuan kontrol yang mencapai 1.31 mgMDA/kg (Gambar 15). Hal ini disebabkan antioksidan terutama minyak esensial thyme secara signifikan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari kitosan. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi lipid ialah dengan mencegah terjadinya pembentukan rantai radikal, pengikatan katalis ion logam transisi, dekomposisi bilangan peroksida, dan berinteraksi dengan radikal bebas (Li *et al.* 2019).



Gambar 15 Pola perubahan nilai TBA pada *fillet* ikan

Analisis Amina Biogenik

Analisis amina biogenik atau *biogenic amines* (BA) digunakan untuk mengevaluasi kesegaran ikan dan tingkat kerusakannya selama penyimpanan berlangsung. BA merupakan senyawa biogenik yang terdiri atas satu atau lebih gugus amina dan terbentuk akibat proses dekarboksilasi asam amino oleh mikroorganisme pembusuk (Bulushi *et al.* 2009). Histamin merupakan satu-satunya amina biogenik penyebab keracunan skombroid dan berpotensi berbahaya sehingga digunakan sebagai parameter utama dalam analisis amina biogenik (Hungerford 2010; Lehane & Olley 2000).

Nilai awal kadar histamin berkisar 0.14 hingga 6.05 mg/kg, perbedaan signifikan ini disebabkan spesies ikan yang berbeda. Pembentukan histamin pada awal penyimpanan disebabkan histidin yang terdekarboksilasi oleh enzim histidin dekarboksilase (Prester 2011). Histidin merupakan salah satu asam amino esensial yang berperan dalam sintesis protein, pemeliharaan sistem osmoregulasi, dan pembentukan serta perbaikan jaringan otot ikan (Prester *et al.* 2009).

Spesies ikan terbagi menjadi dua berdasarkan kadar histidinnya yaitu ikan tinggi histidin (berasal dari famili ikan *scombridae* dan *scomberesocidae*) dan ikan rendah histidin. Batas penerimaan akumulasi kadar histidin pada kedua kategori ikan yaitu sebesar 50 mg/kg untuk ikan tinggi histidin dan sebesar 10 mg/kg untuk ikan rendah histidin (Maintz & Novak 2007).

Penambahan antioksidan berupa ergotionin 0.3% (CH + EG) pada studi 6 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 0.22 mg/kg dan tidak melewati batas penerimaan (10 mg/kg) selama 16 hari penyimpanan. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 12 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 22.63 mg/kg (Tabel 17). Hal ini menandakan penambahan antioksidan dapat menghambat akumulasi kadar histamin *fillet* ikan.

Tabel 17 Perubahan akumulasi kadar histamin pada *fillet* ikan

Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Akumulasi Kadar Histamin (mg/kg)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
6 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Ergotionin (EG)	Kontrol	0.43 ^a	2.70 ^b	9.74 ^c	10.46 ^d	28.41 ^e
			CH	0.26 ^a	0.94 ^{ab}	1.37 ^b	2.79 ^c	4.21 ^d
			CH + EG	0.14 ^a	0.18 ^a	0.22 ^{ab}	2.17 ^b	3.52 ^c
12 ^A	Pasific mackerel (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	6.05 ^a	48.27 ^b	128.78 ^c	529.21 ^d	–
			CH	6.01 ^a	21.61 ^{ab}	29.87 ^b	67.97 ^c	–
			CH + AG	5.98 ^a	15.24 ^{ab}	22.63 ^{ab}	43.02 ^b	–

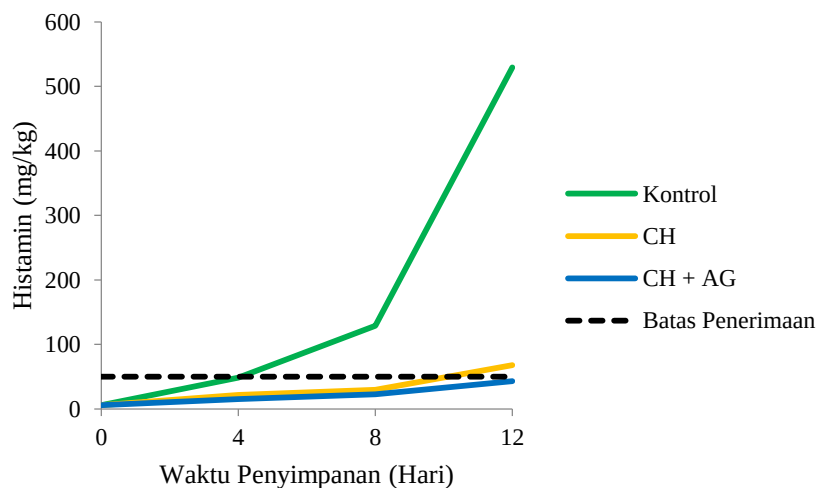
Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^{a–e}) Berbeda nyata (P < 0.05)

Perlakuan kontrol cenderung mengalami peningkatan kadar histamin yang paling signifikan. Histamin dengan kadar tinggi disebut juga sebagai skombrotoksin sehingga jika ikan dikonsumsi akan menyebabkan keracunan skombroid pada tubuh manusia (Jiang *et al.* 2013). Keracunan skombroid

disebabkan tubuh yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap senyawa histamin sehingga tidak dapat dicerna oleh metabolisme tubuh (Tortorella *et al.* 2014)

Perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) pada studi 6 membuktikan adanya pengurangan akumulasi histamin hingga 80% yang signifikan dan tidak melewati batas penerimaan (10 mg/kg) dibandingkan dengan perlakuan kontrol selama 16 hari penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kitosan menjadi barrier fisik yang baik sehingga dianggap efektif dalam menghambat pembentukan akumulasi kadar histamin pada *fillet* ikan rendah histidin (Cai *et al.* 2013).

Kombinasi *coating* kitosan dengan asam galat 3% (CH + AG) secara signifikan memiliki akumulasi kadar histamin terendah yaitu sebesar 43.02 mg/kg dibandingkan perlakuan kontrol yang mencapai 530 mg/kg (Gambar 16). Hal ini disebabkan adanya penghambatan lebih besar oleh asam galat terhadap pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim histidin dekarboksilase sehingga dapat mencegah terdekaboksilasinya histidin menjadi histamin. Penambahan antioksidan terutama asam galat sangat berpengaruh terhadap ikan tinggi histidin yaitu ikan *pacific mackerel* yang berasal dari famili *scrombridae* (Wu *et al.* 2016).



Gambar 16 Pola perubahan akumulasi kadar histamin pada *fillet* ikan

Perhitungan Nilai K

Nilai K digunakan sebagai indikator kesegaran ikan dengan pengukuran berdasarkan rasio (x100) dari produk adenosin trifosfat (ATP) dan produk turunannya (Wills *et al.* 2004). ATP terdegradasi menjadi adenosin difosfat

(ADP), adenosin monofosfat (AMP), inosin monofosfat (IMP), inosin (HxR) hingga hipoksantin (Hx) oleh enzim 5-nukleotidase (Souza *et al.* 2010). Perhitungan nilai K (%) dimulai dari ATP hingga Hx dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$K = \frac{(HxR + Hx)}{(ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx)} \times 100\%$$

Produk turunan ATP akan menghilang dengan cepat setelah terdegradasi menjadi IMP dalam waktu satu hingga tiga hari setelah ikan ditangkap dan akan terbentuk HxR dan Hx (Liu *et al.* 2010). Batas penerimaan nilai K sebesar 60%, hal ini menandakan bahwa IMP telah terdegradasi menjadi HxR dan Hx kemudian ikan telah memasuki proses *rigor mortis* dengan bantuan aktivitas mikroorganisme (Alasalvar *et al.* 2019). Nilai awal perhitungan nilai K berkisar 5.77% hingga 10.90% (dibawah 20%) sehingga menandakan ikan masih dalam kondisi segar (Souza *et al.* 2010).

Penambahan polietilinemin 1% (CH + PEI) pada studi 8 menunjukkan hasil yang berberda nyata yaitu sebesar 50.92% dibandingkan dengan perlakuan kontrol di hari ke-12 yang mencapai 61.75%. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu sebesar 26.03% dibandingkan dengan perlakuan kontrol di hari ke-12 yang mencapai 60.16% selama penyimpanan (Tabel 18). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat mempertahankan nilai K dari *fillet* ikan.

Tabel 18 Perubahan perhitungan nilai K pada *fillet* ikan

Perhitungan Nilai K (%)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
4 ^A	Yellow croaker (4 °C)	Polifenol daun teh (PT) atau ekstrak rosemary (ER)	Kontrol	8.41 ^a	20.55 ^b	30.73 ^c	42.60 ^d	69.51 ^e
			CH + PT	8.38 ^a	17.82 ^b	21.51 ^{bc}	28.34 ^c	35.31 ^d
			CH + ER	8.39 ^a	16.60 ^b	19.84 ^{bc}	25.12 ^c	34.22 ^d
8 ^A	Northern snake-head (4 °C)	Polietilemin (PEI) atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	5.77 ^a	62.71 ^c	–	–	–
			CH	5.77 ^a	28.55 ^{ab}	45.12 ^c	61.75 ^d	–
			CH + PEI	5.77 ^a	21.81 ^{ab}	35.16 ^b	50.92 ^c	–
			CH + MT	5.77 ^a	30.65 ^b	46.23 ^{bc}	55.36 ^c	–

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^{a-e}) Berbeda nyata (P < 0.05)

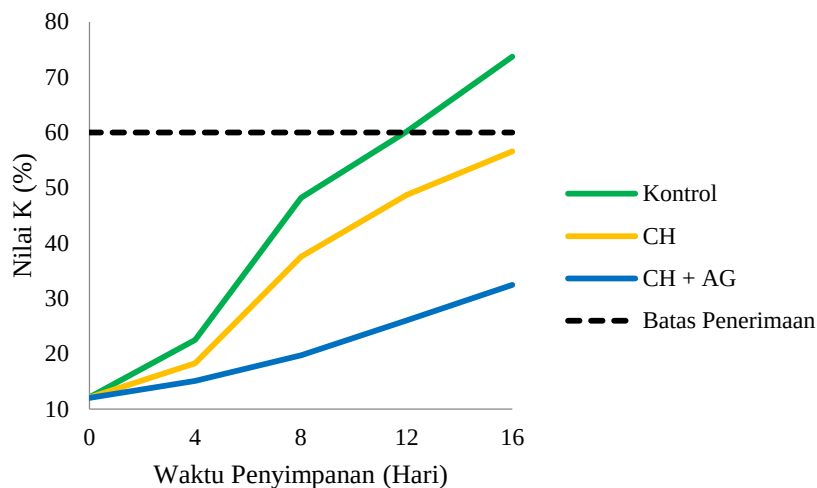
Tabel 18 Lanjutan perubahan perhitungan nilai K pada *fillet* ikan

Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Perhitungan Nilai K (%)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
10 ^B	Pompano (4 °C)	Ekstrak rosemary (ER) & nisin (N)	Kontrol	8.42 ^a	19.70 ^{ab}	31.34 ^b	51.49 ^c	62.50 ^d
			CH + ER + N	8.42 ^a	11.84 ^{ab}	17.83 ^{ab}	28.93 ^b	31.24 ^c
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	12.12 ^a	22.51 ^b	48.20 ^c	60.16 ^d	73.75 ^e
			CH	12.07 ^a	18.26 ^{ab}	27.57 ^b	48.73 ^c	56.61 ^d
			CH + AG	11.99 ^a	15.10 ^a	19.73 ^{ab}	26.03 ^b	32.45 ^c
19 ^A	Grass carp (2 °C)	–	Kontrol	8.69 ^a	22.86 ^{ab}	39.73 ^b	72.75 ^c	88.74 ^d
			CH1	9.04 ^a	28.50 ^b	45.12 ^{bc}	62.51 ^c	75.63 ^c
			CH2	10.90 ^a	25.67 ^b	38.25 ^b	53.71 ^{bc}	62.10 ^b
20 ^A	Grass carp (4 °C)	Minyak esensial lemon (ML) dan/atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	8.34 ^a	21.62 ^b	43.44 ^c	61.50 ^d	72.29 ^e
			CH	8.34 ^a	17.51 ^{ab}	26.50 ^b	44.32 ^c	51.61 ^d
			CH + MT	8.34 ^a	15.26 ^{ab}	21.62 ^b	35.37 ^c	40.35 ^c
			CH + ML	8.34 ^a	15.81 ^{ab}	25.36 ^b	41.82 ^c	47.30 ^c
			CH + MLT	8.34 ^a	12.42 ^a	20.47 ^{ab}	29.63 ^b	35.82 ^c

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (A) Uji lanjut Duncan
 (B) Uji lanjut Tukey
 (a-e) Berbeda nyata (P < 0.05)

Perlakuan kontrol cenderung melewati batas penerimaan yaitu sebesar 60% dimulai dari hari ke-12 hingga akhir penyimpanan, hal ini menandakan bahwa ATP, ADP, AMP, dan IMP telah terdegradasi menjadi HxR dan Hx oleh enzim 5-nukleotidase yang kemudian dipercepat dengan adanya aktivitas mikroorganisme pembusuk. Tingginya nilai K terutama pada perlakuan kontrol pada *fillet* ikan menunjukkan tingkat dekomposisi ATP dan produk turunannya yang lebih tinggi (Cheng *et al.* 2015).

Perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) pada studi 16 membuktikan bahwa kitosan dapat menghambat aktivitas enzim 5-nukleotidase dan mencegah terjadinya degradasi ATP selama 16 hari penyimpanan (Cai *et al.* 2017). Kombinasi *coating* kitosan 1% dengan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 menunjukkan nilai K yang signifikan yaitu sebesar 32.45% dibandingkan perlakuan kontrol yang mencapai 73.75%. Antioksidan terutama asam galat dapat meningkatkan efektivitas penghambatan terhadap enzim 5-nukleotidase dan aktivitas dari mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah terjadinya degradasi ATP, ADP, AMP, dan IMP menjadi HxR dan Hx (Gambar 17).



Gambar 17 Pola perubahan nilai K pada *fillet* ikan

Analisis Mikrobiologi

Analisis mikrobiologi ditujukan untuk mengevaluasi kesegaran ikan berdasarkan perhitungan mikroorganisme yang tumbuh dan berkembang selama penyimpanan. Analisis mikrobiologi yang dilakukan terdiri atas analisis *total plate count* (TPC) dan analisis *psychrotropic total count* (PTC).

Analisis Total Plate Count

Analisis *total plate count* (TPC) merupakan parameter mikrobiologi utama yang mengindikasikan kerusakan ikan akibat pertumbuhan bakteri mesofilik aerobik (Ojagh *et al.* 2010). Setelah terjadinya proses autolisis enzimatik, bakteri masuk ke dalam otot ikan dan menguraikan komposisi nutrisinya (Li *et al.* 2012). Nilai TPC mengalami peningkatan selama penyimpanan pada suhu 20 hingga 45 °C. Batas penerimaan nilai TPC sebesar $7 \log_{10}$ CFU/g (Kuley *et al.* 2016).

Nilai awal TPC berkisar 2.33 hingga $4.20 \log_{10}$ CFU/g dengan batas mikroorganisme sebesar $5.70 \log_{10}$ CFU/g, hal ini menunjukkan bahwa ikan masih dalam kualitas yang baik. Nilai awal TPC dipengaruhi oleh spesies ikan dan lingkungan ikan hidup (Kuley *et al.* 2016). Perbedaan spesies ikan akan berpengaruh terhadap komposisi proksimat ikan, sedangkan lingkungan ikan hidup dapat mempengaruhi pola makan ikan (Berizi *et al.* 2018).

Penambahan polifenol daun teh 0.2% (CH + PT) pada studi 5 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-12 yaitu sebesar

6.57 log₁₀ CFU/g. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 4.77 log₁₀ CFU/g (Tabel 19). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat pertumbuhan bakteri mesofilik pada *fillet* ikan.

Tabel 19 Perubahan nilai TPC pada *fillet* ikan

Analisis TPC (log ₁₀ CFU/g)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
2 ^A	Rainbow trout (4 °C)	Minyak kayu manis (KM)	Kontrol	3.86 ^a	4.23 ^{ab}	6.12 ^b	7.88 ^c	8.52 ^d
			CH	3.67 ^a	4.05 ^{ab}	4.90 ^{ab}	5.09 ^b	5.76 ^c
			CH + KM	3.51 ^a	3.81 ^a	3.94 ^a	4.13 ^{ab}	4.27 ^b
5 ^B	Red drum (4 °C)	Ekstrak biji anggur (EA) atau polifenol daun teh (PT)	Kontrol	3.92 ^a	4.94 ^b	6.31 ^c	7.48 ^d	8.31 ^e
			CH + EA	3.88 ^a	4.53 ^b	5.72 ^{bc}	6.80 ^c	7.45 ^d
			CH + PT	3.86 ^a	4.41 ^b	5.46 ^{bc}	6.57 ^c	6.83 ^c
11 ^A	Silver carp (4 °C)	Ekstrak kulit jeruk (KJ) & pomegranat (KP)	Kontrol	3.61 ^a	5.17 ^b	7.26 ^c	7.85 ^d	–
			CH	3.52 ^a	4.50 ^b	6.79 ^{bc}	7.16 ^c	–
			CH + KJ	3.39 ^a	4.15 ^{ab}	5.10 ^b	5.45 ^b	–
			CH + KP	3.40 ^a	4.16 ^{ab}	5.22 ^b	5.81 ^b	–
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	3.01 ^a	5.26 ^b	7.21 ^{cd}	7.82 ^d	8.13 ^e
			CH	2.99 ^a	4.57 ^b	5.26 ^c	6.63 ^d	7.27 ^d
			CH + AG	2.83 ^a	3.96 ^{ab}	4.77 ^b	5.91 ^{bc}	6.45 ^c
18 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Minyak oregano (O) & allicin (A)	Kontrol	3.25 ^a	4.39 ^b	6.28 ^c	6.61 ^{cd}	7.93 ^d
			CH	3.25 ^a	3.82 ^{ab}	4.62 ^b	5.29 ^{bc}	5.86 ^c
			CH + MO	3.25 ^a	3.75 ^{ab}	3.94 ^{ab}	4.72 ^b	5.34 ^b
			CH + A	3.25 ^a	3.79 ^{ab}	4.25 ^b	4.91 ^b	5.56 ^b

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (A) Uji lanjut Duncan
 (B) Uji lanjut Tukey
 (a–e) Berbeda nyata (P < 0.05)

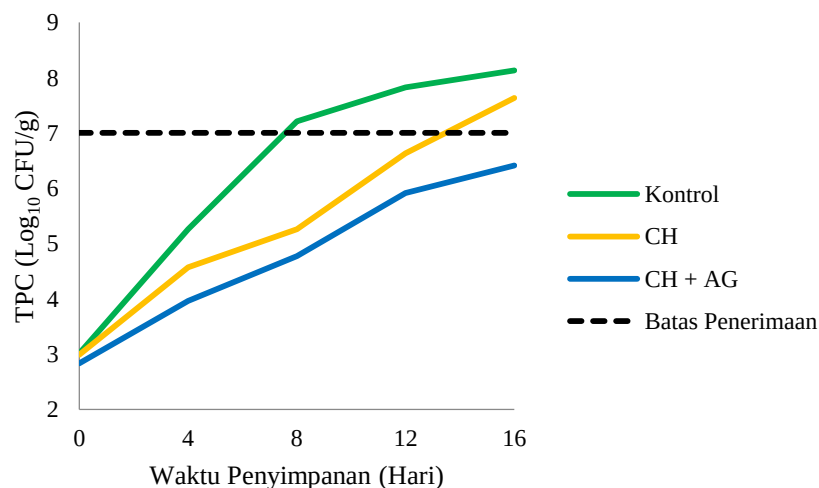
Perlakuan kontrol cenderung melewati batas penerimaan (7 log₁₀ CFU/g) pada hari ke-12 selama penyimpanan. Tingginya nilai TPC perlakuan kontrol disebabkan meningkatnya pertumbuhan bakteri mesofilik pada *fillet* ikan secara signifikan. Keberadaan bakteri pada otot ikan menyebabkan proses degradasi protein dan oksidasi lipid berlangsung dengan cepat (Ibrahim 2007). Bakteri mesofilik dominan yang menyebabkan penurunan kualitas pada daging ikan ialah bakteri *Escherichia coli* dan *Enterobacteriaceae* (Scherer *et al.* 2006).

Perlakuan *coating* kitosan memiliki nilai TPC yang lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol, hal ini disebabkan sifat antimikroba kitosan yang

sangat baik (Kostaki *et al.* 2009). Mekanisme antimikroba kitosan berupa interaksi muatan positif polimer kitosan dengan muatan negatif membran sel mikroorganisme sehingga membentuk lapisan kedap air di sekitar sel dan mencegah pengangkutan nutrisi mikroorganisme (Ojagh *et al.* 2010).

Berat molekul kitosan yang rendah hingga sedang dengan derajat destilasi lebih dari 80% akan memberikan penghambatan yang baik terhadap bakteri gram positif dan negatif (Qin *et al.* 2006). Berat molekul kitosan ialah berkisar 310 kDa hingga 450 kDa dengan derajat destilasi sebesar 85% menunjukkan aktivitas antimikroba kitosan yang optimal (Fadiloglu & Coban 2018).

Kombinasi *coating* kitosan dengan asam galat 3% (CH + AG) menunjukkan pengurangan bakteri mesofilik sebesar 6.45 log₁₀ CFU/g dibandingkan perlakuan kontrol yang mencapai 8.13 log₁₀ CFU/g, hal ini disebabkan peranan antioksidan dapat memperkuat sifat antimikroba kitosan dalam waktu yang lebih panjang (Gambar 18). Antioksidan berperan terhadap penghambatan pertumbuhan mikroorganisme yang berkaitan dengan komponen fenolik dan polifenolik. Kedua komponen ini dapat merusak sensitivitas bilayer fosfolipid dari membran sel sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan gangguan sistem enzim pada mikroorganisme (Dutta *et al.* 2009).



Gambar 18 Pola perubahan nilai TPC pada *fillet* ikan

Analisis *Psychrotrophic Total Count*

Analisis *psychrotrophic total count* (PTC) digunakan sebagai parameter mikrobiologi kedua yang mengindikasikan kerusakan ikan akibat pertumbuhan

bakteri psikofilik aerobik (Ojagh *et al.* 2010). Analisis PTC diperlukan karena suhu penyimpanan *fillet* ikan ialah suhu rendah yang berkisar 0 hingga 5 °C. Batas penerimaan nilai PTC sebesar 7 log₁₀ CFU/g (Kuley *et al.* 2016).

Nilai awal PTC berkisar 1.86 hingga 4.29 log₁₀ CFU/g, hal ini menunjukkan ikan yang digunakan masih dalam kondisi yang bagus (Chamanara *et al.* 2013). Perbedaan nilai awal PTC disebabkan adanya perbedaan spesies ikan dan pengaruh lingkungan ikan hidup (Zarei *et al.* 2015). Perbedaan spesies ikan akan mempengaruhi komposisi proksimat ikan, sedangkan perbedaan lingkungan ikan hidup akan mempengaruhi pola makan dari ikan.

Penambahan antioksidan berupa minyak esensial lada hitam 1.5% (CH + MLH) pada studi 15 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan *coating* kitosan 1% (CH) di hari ke-8 yaitu sebesar 4.89 log₁₀ CFU/g. Penambahan asam galat 3% (CH + AG) pada studi 16 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol di hari ke-8 yaitu sebesar 4.60 log₁₀ CFU/g (Tabel 20). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat menghambat pertumbuhan bakteri psikofilik pada *fillet* ikan.

Tabel 20 Perubahan nilai PTC pada *fillet* ikan

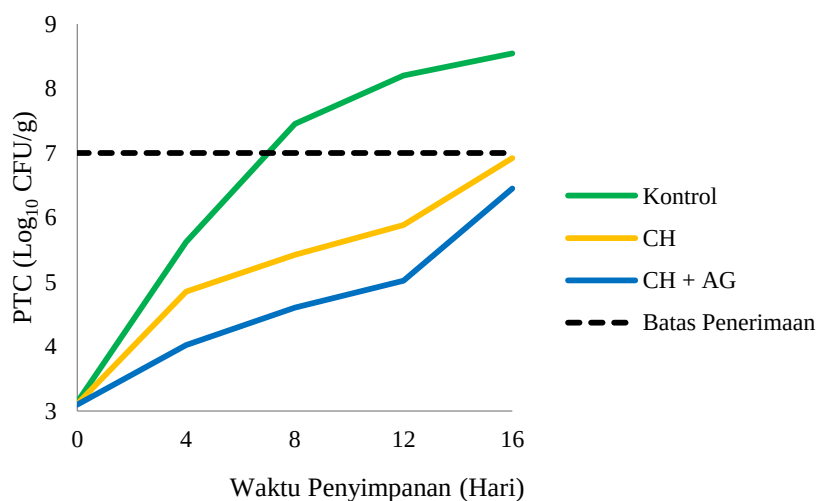
Analisis PTC (log ₁₀ CFU/g)								
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
6 ^A	Japanese sea bass (4 °C)	Ergothionin (ER)	Kontrol	1.81 ^a	2.90 ^b	3.74 ^{bc}	4.78 ^c	5.81 ^d
			CH	1.82 ^a	2.63 ^{ab}	3.34 ^b	3.90 ^{bc}	4.57 ^c
			CH + ER	1.85 ^a	2.52 ^{ab}	3.11 ^b	3.78 ^b	4.35 ^b
7 ^A	Rainbow trout (5 °C)	Minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	2.90 ^a	4.51 ^b	6.63 ^c	7.46 ^d	7.90 ^e
			CH	2.41 ^a	3.89 ^{ab}	5.57 ^b	6.53 ^c	6.72 ^d
			CH + MT	2.37 ^a	3.50 ^{ab}	5.18 ^b	5.59 ^{bc}	6.22 ^c
13 ^A	Flounder (4 °C)	Flavonoid daun hawthorn (FH)	Kontrol	3.50 ^a	4.16 ^{ab}	4.73 ^b	5.97 ^c	6.62 ^d
			CH	3.50 ^a	3.85 ^a	4.60 ^{ab}	5.61 ^{bc}	6.53 ^c
			CH + FH	3.50 ^a	3.67 ^a	3.90 ^{ab}	4.64 ^b	5.10 ^b
15 ^A	Common carp (4 °C)	Minyak esensial lada hitam (MLH)	Kontrol	4.20 ^a	5.84 ^b	7.58 ^c	8.82 ^d	9.46 ^e
			CH	4.29 ^a	5.64 ^b	6.23 ^{bc}	7.46 ^c	7.70 ^d
			CH + MLH	4.25 ^a	4.42 ^{ab}	4.89 ^b	5.20 ^c	5.55 ^c
16 ^A	Silver pomfret (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	3.14 ^a	5.62 ^b	7.45 ^c	8.20 ^d	8.54 ^e
			CH	3.11 ^a	4.85 ^b	5.42 ^{bc}	5.88 ^c	6.92 ^d
			CH + AG	3.10 ^a	4.02 ^{ab}	4.60 ^b	5.02 ^{bc}	6.45 ^c

Keterangan: (^A) Uji lanjut Duncan
(^{a-e}) Berbeda nyata (P < 0.05)

Perlakuan kontrol cenderung melewati batas penerimaan ($7 \log_{10}$ CFU/g) berkisar di hari ke-8 hingga hari ke-12 penyimpanan. Hal ini membuktikan bahwa bakteri psikrofilik memiliki ketahanan yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri mesofilik selama penyimpanan (Fadiloglu & Coban 2018).

Ketahanan bakteri psikrofilik akan penyimpanan suhu rendah disebabkan oleh struktur membran sel bakteri psikrofilik yang berbeda dengan komponen resisten terhadap suhu dingin (Ocano-Higuera *et al.* 2010; Ibrahim 2007). Salah satu bakteri psikrofilik dominan yang menyebabkan penurunan kualitas pada ikan ialah bakteri *Pseudomonas* spp. dengan menghasilkan berbagai senyawa pembusuk berupa amina dan keton (Barriuso & Astiasaran 2012).

Penggunaan kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri psikrofilik, hal ini disebabkan sifat antimikroba kitosan yang kuat dan berfungsi sebagai barier terhadap O_2 . Kombinasi *coating* kitosan 1% dan asam galat 3% (CH + AG) sebesar $6.45 \log_{10}$ CFU/g secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan bakteri psikrofilik (Gambar 19). Selain itu, penambahan antioksidan alami meningkatkan efektivitas sifat antimikroba kitosan dan mempertahankan kualitas *fillet* ikan pada suhu rendah (Pereira *et al.* 2010).



Gambar 19 Pola perubahan nilai PTC pada *fillet* ikan

Evaluasi Sensori

Evaluasi sensori merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kualitas ikan berdasarkan respon indera manusia (Fan *et al.* 2008). Metode evaluasi sensori yang digunakan ialah uji hedonik dengan dua tipe panelis (terlatih

dan semi-terlatih). Penilaian evaluasi sensori dilakukan pada lima parameter diantaranya penampilan, aroma, tekstur, warna, dan penerimaan keseluruhan panelis terhadap sampel *fillet* ikan selama penyimpanan.

Kelima parameter sensori diolah menjadi skor sensori secara keseluruhan berkisar dari 1 (sangat tidak suka) hingga 9 (sangat suka) dilakukan oleh panelis terlatih. Batas penerimaan skor sensori ialah mencapai 4, jika berada dibawah 4 maka ikan tidak layak untuk dikonsumsi (Cheng *et al.* 2015).

Nilai awal skor sensori menunjukkan skor yang tinggi, hal ini menandakan bahwa karakteristik sensori pada *fillet* ikan masih sesuai dengan kriteria ikan segar dan layak untuk dikonsumsi. Kriteria ikan segar memiliki permukaan yang mengkilap, warna yang cerah, tekstur yang lembut dan kenyal, serta aroma segar dan tidak menyengat (Nielsen & Hyldig 2004).

Penambahan 6-gingerol 2% (CG2) pada studi 17 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dimulai dari hari ke-4 yaitu sebesar 7.84. Penambahan polifenol daun teh 0.2% (CH + PT) pada studi 5 dengan perlakuan kontrol juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata di hari ke-4 yaitu sebesar 7.38 hingga 16 hari penyimpanan (Tabel 21). Hal ini menandakan bahwa penambahan antioksidan dapat mempertahankan skor sensori dari *fillet* ikan.

Tabel 21 Perubahan skor sensori pada *fillet* ikan

Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Evaluasi Sensori (Skor)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
3 ^A	Indian oil sardine (2 °C)	–	Kontrol	8.96 ^a	7.12 ^b	3.52 ^d	–	–
			CH1	8.90 ^a	8.04 ^{ab}	5.32 ^{bc}	3.47 ^d	–
			CH2	8.83 ^a	8.57 ^a	6.64 ^b	4.33 ^c	–
5 ^B	Red drum (4 °C)	Ekstrak biji anggur (EA) atau polifenol daun teh (PT)	Kontrol	9.00 ^a	7.02 ^b	3.90 ^c	3.10 ^d	2.51 ^e
			CH + EA	8.43 ^a	7.51 ^{ab}	6.02 ^b	5.26 ^{bc}	4.03 ^c
			CH + PT	8.42 ^a	7.38 ^a	6.89 ^b	6.13 ^{bc}	4.87 ^c
8 ^A	Northern snake-head (4 °C)	Polietilinemin (PEI) atau minyak esensial thyme (MT)	Kontrol	9.00 ^a	4.57 ^c	–	–	–
			CH	9.00 ^a	7.60 ^b	6.04 ^{bc}	–	–
			CH + PEI	9.00 ^a	7.68 ^b	6.43 ^{bc}	–	–
			CH + MT	9.00 ^a	7.83 ^b	5.51 ^c	–	–

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
^(A) Uji lanjut Duncan
^(B) Uji lanjut Tukey
^(a–f) Berbeda nyata (P < 0.05)

Tabel 21 Lanjutan perubahan skor sensori pada *fillet* ikan

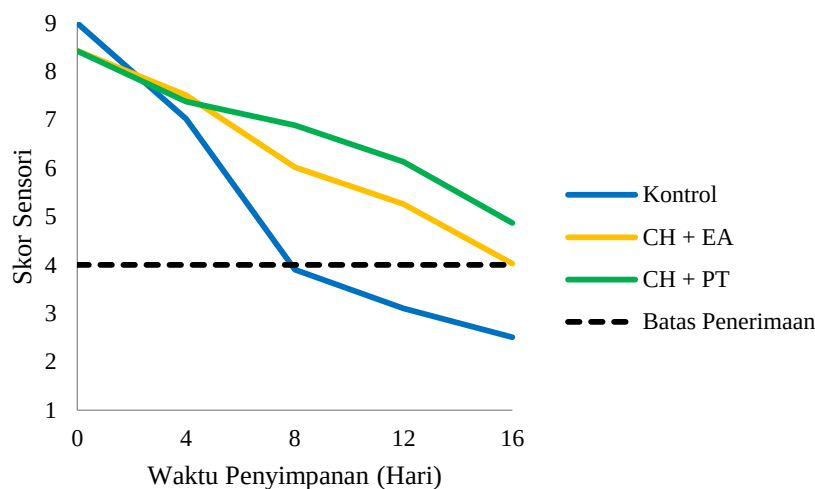
Studi	Spesies Ikan	Antioksidan	Perlakuan	Evaluasi Sensori (Skor)				
				Waktu Penyimpanan (Hari)				
				0	4	8	12	16
12 ^A	Pasific mackerel (4 °C)	Asam galat (AG)	Kontrol	7.30 ^a	5.91 ^b	–	–	–
			CH	7.27 ^a	6.68 ^{ab}	4.81 ^b	3.34 ^d	–
			CH + AG	7.23 ^a	6.32 ^{ab}	5.59 ^b	4.38 ^c	–
17 ^A	Red drum (4 °C)	6-gingerol (G)	Kontrol	9.00 ^a	5.80 ^c	2.43 ^d	1.96 ^e	1.79 ^f
			CG1	8.52 ^a	6.93 ^b	5.02 ^c	4.61 ^d	4.03 ^e
			CG2	8.46 ^a	7.84 ^{ab}	5.38 ^b	4.95 ^c	4.48 ^d
23 ^A	Rainbow trout (4 °C)	Ekstrak buah sumac (S)	Kontrol	8.82 ^a	5.94 ^b	3.77 ^d	1.73 ^e	–
			CH	8.92 ^a	6.22 ^b	4.63 ^c	3.46 ^d	–
			CS1	9.17 ^a	7.94 ^{ab}	5.43 ^b	4.61 ^c	–
			CS2	9.13 ^a	8.08 ^{ab}	6.57 ^b	5.14 ^b	–

Keterangan: (–) Tidak dianalisis
 (^A) Uji lanjut Duncan
 (^B) Uji lanjut Tukey
 (^{a–f}) Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Perlakuan kontrol cenderung melewati batas penerimaan di hari ke-8 selama penyimpanan, hal ini menandakan bahwa karakteristik sensori *fillet* ikan sudah tidak dapat diterima oleh panelis. Rendahnya akumulasi skor sensori ditandai dengan permukaan ikan berlendir, tekstur melunak, berwarna kuning kusam, dan aroma amis serta tengik yang menyengat. Penurunan skor sensori dimulai dengan munculnya aroma amis dan tengik kemudian diikuti oleh warna daging ikan yang berubah menjadi kekuningan dan kusam. Hal ini disebabkan terjadinya degradasi protein, oksidasi lipid, pertumbuhan mikroorganisme, dan penguraian nukleotida sehingga tidak layak untuk dikonsumsi (Li *et al.* 2012).

Penggunaan kitosan 1% sebagai *coating* (CH) pada studi 3 menunjukkan skor sensori yang lebih rendah di hari ke-0 dibandingkan perlakuan kontrol, hal ini disebabkan *coating* kitosan cenderung mempengaruhi tekstur dan warna dari *fillet* ikan. Perlakuan CH menunjukkan skor sensori yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada akhir penyimpanan yaitu dari hari ke-4 hingga ke-12. Hal ini disebabkan *coating* kitosan memiliki sifat antimikroba yang sangat baik dan barrier fisik sehingga dapat menghambat reaksi enzimatik, pertumbuhan mikroorganisme, dan mempertahankan karakteristik sensori *fillet* ikan selama penyimpanan (Fadiloglu & Coban 2018).

Penambahan antioksidan berupa polifenol daun teh 0.2% dengan *coating* kitosan 1% (CH + PT) memiliki akumulasi skor sensori tertinggi yaitu sebesar 4.87 dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang mencapai skor 2.51 (Gambar 20). Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan berupa polifenol daun teh dapat mempertahankan karakteristik sensori *fillet* ikan terutama pada parameter penerimaan keseluruhan panelis secara signifikan (Wu *et al.* 2016). Aktivitas antimikroba kitosan dapat diperkuat dengan adanya penambahan antioksidan alami (Khodanazary *et al.* 2017).



Gambar 20 Pola perubahan skor sensori pada *fillet* ikan

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kemampuan kitosan sebagai bahan *edible coating* dengan penambahan antioksidan alami secara signifikan dapat menghambat terjadinya degradasi protein, oksidasi lipid, pertumbuhan mikroorganisme, dan penguraian nukleotida pada berbagai *fillet* ikan. Selain itu juga dapat mencegah terbentuknya basa volatil dan amina biogenik, serta mempertahankan karakteristik sensorinya selama 12 hingga 16 hari penyimpanan pada suhu rendah (4 °C).

Jenis antioksidan yang paling efektif digunakan ialah asam rosmarinat (0.3%), polifenol daun teh (0.2%), dan asam galat (3%). Asam rosmarinat (0.3%) berperan signifikan dalam mempertahankan parameter fisik *fillet* ikan terutama pada perhitungan susut bobot dan analisis tekstur. Polifenol daun teh (0.2%)

sebagai antioksidan secara signifikan dapat mempertahankan karakteristik sensori dari *fillet* ikan. Asam galat (3%) dibuktikan berperan signifikan dalam mempertahankan parameter kimia dan mikrobiologi *fillet* ikan terutama pada analisis *peroxide value* (PV) dan analisis *total plate count* (TPC).

Berdasarkan pengkajian parameter fisik, kimia, mikrobiologi, dan evaluasi sensori penambahan asam galat pada konsentrasi 3% dengan larutan *coating* kitosan 1% oleh Li *et al.* (2016) dan Wu *et al.* (2016) secara signifikan dapat mempertahankan kualitas dari *fillet* ikan, memperpanjang umur simpannya hingga 6 hari penyimpanan suhu rendah, serta berpotensi untuk diaplikasikan pada rentang komoditas pangan yang lebih luas.

Saran

Diperlukannya pengkajian lebih lanjut mengenai pengaplikasian *edible coating* kitosan dengan penambahan antioksidan yang berasal dari rempah Indonesia pada berbagai *fillet* ikan. Diperlukannya pengkajian mendalam mengenai penerapan *edible coating* pada berbagai *fillet* ikan tropis.