

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGGA
SEBAGAI PENGAWET ALAMI
TERHADAP MASA SIMPAN FILET NILA PADA SUHU RENDAH**

Muhammad Aulia Rahman Santoso, Evi Liviawaty dan Eddy Afrianto

Universitas Padjadjaran

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui masa simpan filet nila dengan pemberian ekstrak daun mangga pada konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah bakteri filet nila selama penyimpanan pada suhu rendah. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan 5 perlakuan secara duplo. Perlakuan ekstrak daun mangga dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30% dan 40% lama perendaman 30 menit, kemudian disimpan pada suhu rendah (5°-10°C). Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 6, 7, 8, dan 9 untuk filet nila konsentrasi 0% (tanpa perendaman ekstrak daun mangga), sedangkan perlakuan ekstrak daun mangga 10%, 20%, 30%, dan 40% dilakukan pada hari ke- 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, dan 14. Parameter yang diamati meliputi jumlah bakteri dan derajat keasaman (pH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun mangga dengan konsentrasi 30% pada filet nila selama penyimpanan suhu rendah memiliki masa simpan yang paling lama yaitu hingga hari ke-13 dengan nilai total bakteri $7,2 \times 10^6$ cfu/g dan nilai derajat keasaman yaitu 6,77.

Kata kunci : Bakteri, ekstrak daun mangga, filet nila, suhu rendah

Abstract

This research aimed to know shelf life of tilapia fillet with mango leaf extract treatment with different concentration on amount of bacteria tilapia fillet during low temperature storage. The research was conducted at Laboratory of Fishery product Processing and Laboratory of Plant Pests and Diseases, Padjadjaran University, Jatinangor. The method of this research used was experimental with five treatments by duplo. Mango leaf extract treatment concentrations were 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, soaked for 30 minutes and then stored at low temperature (5-10°C). The observation made on the day 1st, 3rd, 5th, 6th, 7th, 8th and 9th for tilapia fillet with 0% concentration (without soaking on mango leaf extract treatment), the observation with extract mango leaf treatment 10 %, 20%, 30%, 40% were made days on 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 and 14. The parameters observed were amount of bacteria and acidity. The result of research showed that use of mango leaf extract with concentration 30% on tilapia fillet during low temperature storage has the longest shelf life that is until 13 days with amount of bacteria $7,2 \times 10^6$ cfu/g and acidity 6,77.

Keywords : Bacteria, low temperature, mango leaf extract, tilapia fillet

PENDAHULUAN

Jawa Barat merupakan salah satu sentra dari pengembangan potensi perikanan budidaya dan merupakan provinsi yang memiliki peringkat ke enam produsen perikanan budidaya dari 10 provinsi sentra produsen perikanan budidaya di Indonesia. Volume produksi ikan nila di Jawa Barat dari tahun 2009-2013 mengalami peningkatan yaitu pada tahun 2009 sebesar 87.397 ton, 2010 sebesar 106.889 ton, 2011 sebesar 134.381 ton, 2012 sebesar 152.561 ton, dan 2013 sebesar 205.951 ton (DJPB 2013).

Ikan nila dapat diolah menjadi berbagai macam produk yang dapat dimanfaatkan oleh manusia yaitu dapat digunakan menjadi bahan baku filet. Ikan nila dijadikan bahan baku untuk pembuatan filet dikarenakan ikan nila memiliki struktur daging yang tebal dan memiliki duri yang sedikit. Kekurangan dari filet nila yaitu tidak dapat mempertahankan kesegaran dalam waktu yang lama yang disebabkan karena filet sudah tidak memiliki pertahanan alami (Afrianto dan Liviawati 2010). Cepatnya penurunan kesegaran filet nila, maka diperlukan usaha untuk dapat memperpanjang masa simpan filet nila. Usaha yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kesegaran filet nila dalam kurun waktu yang lama adalah dengan menggunakan metode pengawetan. Pengawetan yang dapat dilakukan untuk dapat memperpanjang masa simpan filet nila yang aman salah satunya adalah dengan menggunakan penyimpanan suhu rendah dan pengawet alami.

Penyimpanan suhu rendah merupakan usaha yang aman dan mudah dalam usaha mempertahankan kesegaran filet nila. Kelebihan penggunaan suhu rendah dalam pengawetan adalah sifat-sifat asli ikan tidak mengalami perubahan seperti tekstur, rasa dan juga bau (Adawyah 2007). Penyimpanan pada suhu rendah dapat memperlambat aktivitas metabolisme dan menghambat pertumbuhan mikroba, selain itu juga mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia dan hilangnya kadar air dari bahan pangan (Muchtadi dan Sugiyono 2013).

Upaya untuk memperpanjang masa simpan filet nila selain dengan menggunakan penyimpanan pada suhu rendah yaitu dapat menggunakan berbagai macam bahan pengawet salah satunya bahan pengawet alami. Bahan pengawet alami yang digunakan

biasanya berasal dari tanaman yaitu berbagai jenis buah dan sayur-sayuran karena banyak buah dan sayuran mengandung zat yang bersifat antimikroba dan antioksidan. Salah satu bahan pengawet alami yang dapat digunakan sebagai pengawet ikan adalah penggunaan ekstrak daun mangga.

Penggunaan daun mangga sebagai bahan pengawet dikarenakan daun mangga memiliki kandungan zat yang bersifat antibakteri. Ekstrak daun mangga diketahui memiliki kandungan senyawa alkaloid, fitosterol, resin, fenol, tanin, flavonoid, saponin dan terkandung juga senyawa mangiferin yaitu golongan xanton yang dapat digunakan sebagai senyawa antimikroba (Somkuwar 2010, Wauthoz *et al.* 2007 dalam Khaerunisa dkk. 2015). Penggunaan daun mangga sebagai pengawet alami ikan selain digunakan dengan mudah, daun mangga juga sangat mudah untuk ditemukan. Kandungan zat aktif dan manfaat daun mangga merupakan dasar dari perlunya pengujian tentang efektivitas dari daun mangga sebagai pengawet alami filet nila.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berukuran sekitar 500-600 gram, ekstrak daun mangga arumanis, *Butterfields phosphate buffered*, akuades, nutrient agar (NA), alkohol, *Hand sanitizer*, dan etanol 96% *food grade*. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu bak *fiberglass*, *box styrofoam*, timbangan kapasitas 2 kg, pisau filet, telenan, baskom plastik, wadah plastik berlubang, timbangan digital, gunting, oven, blender, gelas ukur, *erlenmeyer*, corong pisah, labu *evaporator*, *rotary evaporator*, spatula, botol vial, cawan petri, cawan porselen dan mortar, volume pipet, tabung reaksi, inkubator, bunsen, *beaker glass*, *cool box*, alat tulis, kamera, baskom plastik kecil, *cling wrap*, *refrigerator*, piring *Styrofoam*, kertas *towls*, *clingwrap*. Alat yang digunakan untuk pengamatan jumlah mikroba yaitu menggunakan *colony counter*, sedangkan untuk pengukuran derajat keasaman menggunakan pH meter dan timbangan digital untuk susut bobot.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental dengan lima perlakuan secara duplo. Perlakuan yang diberikan adalah perendaman filet nila dalam

larutan ekstrak daun mangga arumanis pada konsentrasi 0% (tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis), 10%, 20%, 30%, dan 40%. Parameter dalam penelitian ini yaitu jumlah mikroba dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dan pengukuran derajat keasaman (pH).

Uji Mikrobiologis

Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Perhitungan jumlah koloni sesuai dengan Connell (1990) bahwa jumlah bakteri yang terkandung dalam bahan pangan sebanyak 10^6 cfu/g merupakan batas kandungan jumlah bakteri yang masih aman bagi bahan pangan untuk dikonsumsi. Perhitungan TPC akan dihentikan apabila koloni telah melewati batas tersebut.

Bakteri pembusuk ditumbuhkan dengan metode agar tuang, diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 48 ± 2 jam. Perhitungan jumlah koloni mikroba digunakan rumus sebagai berikut (SNI 2332.3:2015)

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

N =
Keterangan :
N : jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per mL atau koloni per g.

$\sum C$: jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung.

n_1 : jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung.

n_2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung.

D : pengenceran pertama yang dihitung.

Uji Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran nilai pH filet nila dilakukan duplo dengan menggunakan pH meter. Sampel sebanyak 1 gram daging ikan dihancurkan hingga halus, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades, dikocok hingga homogen. *Homogenant* diukur dengan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan *buffer* standar pH 4 dan pH 7 (Widiani 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Mikroba

Kandungan jumlah bakteri dalam bahan pangan merupakan suatu indikator yang dapat digunakan dalam menentukan keamanan bahan pangan bagi kesehatan yang memenuhi persyaratan mutu. Menurut Connell (1990) jumlah bakteri yang terkandung dalam bahan pangan sebanyak 10^6 cfu/g merupakan batas kandungan jumlah bakteri yang masih aman bagi bahan pangan untuk dikonsumsi. Hasil pengamatan berdasarkan jumlah mikroba disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Mikroba Filet Nila Berdasarkan Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Mangga Arumanis pada Penyimpanan Suhu Rendah

Penyimpanan Hari Ke	Konsentrasi Ekstrak Daun Mangga Arumanis (0%)				
	0	10	20	30	40
1	$3,3 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$
3	$3,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$
5	$2,4 \times 10^5$	$8,2 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$
6	$4,5 \times 10^6$	-	-	-	-
7	$5,6 \times 10^6$	3×10^6	3×10^6	$3,4 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$
8	$6,6 \times 10^6$	$4,2 \times 10^6$	$4,6 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$
9	$1,5 \times 10^7$	$5,1 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$	$4,9 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$
10	-	$5,4 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$6,6 \times 10^6$
11	-	$2,0 \times 10^7$	$6,7 \times 10^6$	$6,3 \times 10^6$	$6,9 \times 10^6$
12	-	$2,6 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$6,5 \times 10^6$	$7,3 \times 10^6$
13	-	-	-	$7,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$
14	-	-	-	$1,1 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$

Keterangan: (-) tidak dilakukan pengamatan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh jumlah awal bakteri dari filet nila pada setiap perlakuan berkisar $1,1 \times 10^5$ - $3,3 \times 10^5$ cfu/g. Jumlah awal bakteri yang tertinggi yaitu pada perlakuan 0% (tidak diberi perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis) dengan jumlah awal bakteri $3,3 \times 10^5$ cfu/g. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mangga tidak mengakibatkan jumlah awal bakteri menjadi lebih kecil. Hal ini dibuktikan pada konsentrasi 10% jumlah awal bakteri lebih kecil yaitu $1,1 \times 10^5$ cfu/g dibandingkan konsentrasi 20% dan 30% yaitu memiliki jumlah awal bakteri $2,2 \times 10^5$ cfu/g dan $1,3 \times 10^5$ cfu/g. Hal ini dikarenakan bakteri masih dalam keadaan adaptasi karena terpaparnya ekstrak daun mangga yang mengandung zat antibakteri dan bersifat asam. Adaptasi stres atau respon bakteri terhadap stres, merupakan kemampuan sel bakteri untuk melawan situasi ketika populasi bakteri terpapar secara singkat oleh lingkungan fisik dan kimia pada tingkat suboptimal pertumbuhan (Sopandi 2014). Menurut Ray (2004) dalam Sopandi (2014) menyatakan bahwa tingkat kerusakan sel bakteri dapat berbeda dari rendah sampai tinggi, sehingga terdapat perbedaan waktu pemulihan sel cedera dalam media yang sesuai.

Jumlah awal bakteri pada filet nila relatif tinggi yaitu $1,1 \times 10^5$ - $3,3 \times 10^5$ cfu/g. Berdasarkan hasil penelitian Widiani (2011) jumlah bakteri pada filet nila merah yang tidak diberi perlakuan memiliki rata-rata jumlah awal bakteri $4,9 \times 10^3$ cfu/g. Jumlah bakteri pada awal pengamatan tinggi namun memiliki nilai pH yang rendah yaitu berkisar 6,36-6,52 yang menandakan bakteri pembusuk atau proteolitik yang terkandung dalam filet nila tidak tumbuh optimum. Menurut Ferdiaz (1992) menyatakan nilai pH optimum untuk pertumbuhan bakteri pembusuk adalah 6,5-7,5. Bakteri-bakteri yang tidak tahan seperti golongan bakteri proteolitik, bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak dapat tumbuh pada bahan pangan yang bersifat asam (Supardi dan Sukanto 1999). Selama penyimpanan suhu rendah, bakteri akan tumbuh dengan waktu penggandaan sekitar 1 hari dan akan mencapai jumlah 10^8 - 10^9 cfu/g daging atau cm^2 kulit setelah 2-3 minggu (Riyanto dkk 2014).

Jumlah bakteri yang terkandung dalam filet nila selama penyimpanan pada suhu rendah dengan perlakuan perendaman konsentrasi 30% dan 40% mengalami

peningkatan selama penyimpanan. Sedangkan filet nila dengan perlakuan tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis dan perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis dengan konsentrasi 10% dan 20% mengalami penurunan pada hari ke-3 dan ke-5 penyimpanan yaitu perlakuan 10% mengalami penurunan dari $1,1 \times 10^5$ cfu/g hari ke-3 menjadi $8,2 \times 10^4$ cfu/g hari ke-5, perlakuan 20% mengalami penurunan dari $2,2 \times 10^5$ cfu/g hari ke-1 menjadi $1,6 \times 10^5$ cfu/g hari ke-3, sedangkan filet nila dengan perlakuan tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis mengalami penurunan $3,2 \times 10^5$ cfu/g hari ke-3 menjadi $2,4 \times 10^5$ cfu/g hari ke-5 dan selanjutnya mengalami peningkatan. Menurut Munandar, dkk (2009) Jumlah bakteri semakin meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan dikarenakan lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan bakteri yang menyebabkan bakteri dapat tumbuh secara maksimal.

Penurunan Jumlah bakteri pada perlakuan tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis dan perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis konsentrasi 10% dan 20% terjadi karena bakteri tidak mampu beradaptasi dan mengalami stress terhadap lingkungan hidupnya sehingga bakteri kehilangan kemampuan memperbanyak diri dan mengalami kematian. Lingkungan yang tidak sesuai ini dikarenakan penggunaan suhu rendah sehingga bakteri yang bukan termasuk bakteri psikrofilik terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian. Jumlah total bakteri biasanya berkurang selama pendinginan atau pembekuan, namun penurunan hanya terjadi pada bakteri termofilik dan mesofilik (Afrianto dan Liviawaty 2010). Selain itu pada perlakuan 10% dan 20% lingkungan yang tidak sesuai dipengaruhi juga oleh adanya zat aditif yang terkandung didalam ekstrak daun mangga yang bersifat bakteristatik dan bakterisidal dan juga ekstrak daun mangga arumanis bersifat asam. Perlakuan perendaman dengan konsentrasi 10% mengalami penurunan yang tinggi dari $1,1 \times 10^5$ cfu/g hari ke-2 menjadi $8,2 \times 10^4$ cfu/g hari ke-5 yaitu dikarenakan bakteri pembusuk atau bakteri proteolitik jumlahnya meningkat namun bakteri bersifat pembusuk yang terkandung lebih sedikit bila dibandingkan dengan bakteri yang tidak bersifat pembusuk, hal ini dikarenakan nilai pH masih dalam keadaan rendah. Kenaikan

jumlah bakteri pembusuk ini dibuktikan dengan kenaikan pH yaitu 6,19 hari ke-2 menjadi 6,27 hari ke-5. Nilai pH yang semakin meningkat karena timbulnya senyawa-senyawa yang bersifat basa misalnya amoniak, trimetilamin, dan senyawa volatil lainnya (adwyah 2007) yang disebabkan karena keberadaan mikroba (bakteri proteolitik) yang akan meningkatkan kandungan enzim (eksogeonus) (Afrianto dan Liviawaty 2010)

Setelah mengalami penurunan jumlah bakteri pada konsentrasi 0%, 10% dan 20% mengalami peningkatan seperti konsentrasi 30%, dan 40% selama penyimpanan. Peningkatan jumlah bakteri selama masa simpan dikarenakan adanya proses autolisis yang berlangsung oleh enzim-enzim yang terdapat didalam tubuh ikan sendiri (Afrianto dan Liviawaty 1989). Enzim autolitik (proteinase) Menghidrolisis protein ikan menghasilkan peptida dan asam amino (Sopandi 2014). Biasanya proses autolisis akan selalu diikuti dengan meningkatnya jumlah bakteri, sebab semua hasil penguraian enzim selama proses autolisis merupakan media yang sangat cocok untuk pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lain (Afrianto dan Liviawaty 1989). Enzim-enzim yang terkandung didalam daging ikan akan melakukan proses sehingga dapat meningkatkan kandungan nitorgen didalam daging ikan, seperti senyawa, amin dan asam amino. Keberadaan mikroba akan meningkatkan kandungan enzim (eksogeonus) sehingga akan terjadi perombakan lebih lanjut dari senyawa amin dan asam amino menjadi Trimetil Amin, Amonia, amin dan Aldehyd. Produk akhir dari perombakan yang terjadi dapat berupa H_2S dan sulfida lain, seperti sulfida, merkaptan, dan indol, yaitu produk-produk yang menunjukkan kebusukan (Afrianto dan Liviawaty 2010).

Pertumbuhan bakteri filet nila perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis mengalami perlambatan dibandingkan dengan filet nila yang tidak dilakukan perendaman pada ekstrak daun mangga arumanis. Hal ini dibuktikan dengan jumlah bakteri yang terkandung pada filet nila tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis hanya mampu mempertahankan batas penerimaan hingga hari ke 8 yaitu $6,6 \times 10^6$ cfu/g. Berbeda dengan batas penerimaan filet nila tanpa perendaman ekstrak daun mangga, perlakuan 10 % mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-10 yaitu sebesar $5,4 \times 10^6$ cfu/g, perlakuan 20%

perendaman ekstrak daun mangga arumanis mampu mempertahankan filet nila sampai batas penerimaan hingga hari ke-11 dengan jumlah bakteri $6,7 \times 10^6$ cfu/g, perlakuan 30% mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-13 dengan jumlah bakteri $7,2 \times 10^6$ cfu/g, sedangkan perlakuan 40% mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-12 dengan jumlah bakteri $7,3 \times 10^6$ cfu/g.

Semakin tingginya konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis tidak memberikan masa simpan lebih lama. Hal ini terlihat pada perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis konsentrasi 30% memiliki masa simpan filet nila lebih lama yaitu hingga hari ke-13 dengan jumlah bakteri $7,2 \times 10^6$ cfu/g, sedangkan perlakuan 40% mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-12 dengan jumlah bakteri $7,3 \times 10^6$ cfu/g. Hasil ini disebabkan karena menurut Rasjid dan Ismartoyo (2014) daun mangga memiliki komposisi kimia yaitu protein kasar 9,39%, serat kasar 30,61%, lemak kasar 2,86%, abu 7,01%, bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 50,13%, kalsium 2,38%, phosphor 0,23%, 48,15%, *acid detergent fiber* (ADF) 46,20%, dan lignin 11,49%. Kandungan protein kasar yang terdapat didalam ekstrak daun mangga sebagai sempurna dimanfaatkan oleh bakteri sebagai nutrisi, sehingga dengan bertambahnya ekstrak daun mangga arumanis akan meningkatkan nutrisi bagi bakteri pembusuk yang mengakibatkan konsentrasi 40% memiliki masa simpan yang lebih singkat bila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis 30%.

Protein kasar merupakan total nitrogen (N) yang tidak hanya berasal dari protein saja tetapi ada juga nitrogen yang berasal dari senyawa non-protein (NPN) (Novianty 2014). Protein akan di hidrolisis oleh enzim proteinase yang diproduksi oleh spesies bakteri proteolitik, sedangkan senyawa non-protein akan teroksidasi menjadi komponen-komponen yang bersifat volatil oleh bakteri gram negatif berbentuk batang (Sopandi 2014)

Penelitian Nairbohu dkk (2014) Filet Nila dengan perendaman temu kunci dengan peningkatan konsentrasi temu kunci memiliki jumlah bakteri lebih banyak dikarenakan penggunaan temu kunci sebagai antibakteri hingga pada satu titik akan menghambat pertumbuhan bakteri, namun dengan penambahan konsentrasi lebih lanjut akan bersifat sebaliknya karena kandungan protein

yang terdapat pada filet nila digunakan bakteri sebagai media tumbuh.

Menurut Kusuma (2010) Ekstrak etanol buah mengkudu bekerja tidak stabil dalam penghambatan, ditunjukkan dengan konsentrasi yang semakin besar tidak memberikan efek penghambatan yang lebih besar disebabkan karena ekstrak yang digunakan merupakan ekstrak kasar yang kelarutan senyawa antibakterinya belum maksimal, sehingga aktivitasnya tidak maksimal pula. Hal tersebut menunjukkan ekstrak daun mangga memiliki konsentrasi optimum untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk, sehingga pada pemberian ekstrak daun mangga yang lebih tinggi dari konsentrasi optimum ekstrak daun mangga memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri yang lebih rendah karena dengan semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin pekat sehingga penetrasi ekstrak daun mangga terhadap filet nila menjadi terhambat. Pelarut etanol merupakan pelarut yang universal sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar banyak yang ikut tertarik dari ekstrak, menyebabkan aktivitas senyawa antibakteri yang diinginkan tidak optimal, karena bercampur dengan aktivitas senyawa-senyawa polar lain yang terkandung dalam ekstrak (Kusuma 2010).

Pertumbuhan bakteri pada perlakuan perendaman dengan ekstrak daun mangga arumanis tetap mengalami pertumbuhan meskipun filet nila sudah dikemas dan disimpan dalam lemari es pada suhu rendah (5-10°C). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang terkandung dalam filet nila merupakan jenis bakteri yang bersifat psikofilik dan psikotrofik. Menurut Supardi dan Sukanto (1999) kelompok bakteri yang dapat merusak bahan pangan yang disimpan di lemari es yaitu kelompok bakteri psikofilik dan psikotrofik. Bakteri psikotrofik mampu tumbuh pada suhu minimum (-4-5°C), optimum (25-30°C), dan maksimum (30-35°C) (Prescott 2005 dalam Kamal dkk 2016). Mikroba, terutama bakteri psikofilik merupakan mikroba yang mampu tumbuh pada suhu di bawah 5°C, tetapi pertumbuhan yang cepat terjadi pada suhu 10-25°C, bahkan pada suhu lebih tinggi (Sopandi 2014).

Pertumbuhan bakteri berjalan lebih lambat pada perlakuan perendaman dengan menggunakan ekstrak daun mangga arumanis dibandingkan dengan filet nila yang tidak

diberi perlakuan perendaman ekstrak daun mangga arumanis disebabkan karena ekstrak daun mangga arumanis mengandung zat yang dapat berfungsi sebagai antimikroba yaitu mangiferin, alkaloid, tanin, flavonoid, saponin dan senyawa fenol. Mangiferin adalah *xanthone* alami tanaman mangga bekerja sebagai antibakteri berperan dalam menghambat replikasi sel (Kurniasih 2016). Flavonoid bekerja melalui beberapa mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri, dan menghambat metabolisme energi (Cushnie dan Lamb 2005). Mekanisme alkaloid diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran, mekanisme kerusakan dinding bakteri terjadi karena proses perakitan dinding sel bakteri yang diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakut sempurna, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel (Retnowati dkk 2011). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson 1995 dalam Nuria dkk 2009). Sedangkan Saponin sebagai antimikroba adalah karena kemampuannya menyebabkan kebocoran protein dan enzim tertentu dari sel (Madduluri *et al.* 2013).

Derajat Keasaman

Keasaman atau kebasan lingkungan berpengaruh terhadap aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim, sehingga menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Adams dan Moss, 2008 dalam Sopandi 2014). Sumber enzim dapat berasal dari ikan maupun mikroba yang hidup pada tubuh ikan (Afrianto dkk., 2014). Derajat keasaman (pH) filet nila selama penyimpanan suhu rendah disajikan pada Tabel 2.

pH awal filet nila pada setiap perlakuan relatif berbeda-beda yaitu berkisar antara 6,36-

6,52. Semakin tinggi konsentrasi menyebabkan nilai pH filet nila semakin rendah pada awal pengamatan, hal ini disebabkan adanya pengaruh ekstrak daun mangga arumanis. Menurut Khaerunnisa dkk (2014) ekstrak daun mangga arumanis memiliki nilai pH 3,7. Nilai pH filet nila pada awal pengamatan masih mendekati netral yang menunjukkan ikan masih dalam keadaan segar. Menurut Kristoffersen dkk (2006), Fan dkk (2008) dalam Riyanto dkk (2014) Nilai pH ikan segar sekitar 6,65, nilai tersebut tidak jauh berbeda dengan daging ikan lainnya. Fardiaz (1992) menyatakan bahwa nilai pH optimum untuk pertumbuhan bakteri pembusuk adalah 6,5-7,5. Nilai pH mengalami penurunan pada setiap perlakuan pemberian ekstrak daun mangga.

Penurunan nilai pH filet nila dikarenakan setelah ikan mati, sirkulasi darah akan terhenti dan suplai oksigen berkurang (Junianto 2003). Terhentinya aliran oksigen ke dalam jaringan peredaran darah menyebabkan terjadinya reaksi anaerob yang tidak diharapkan karena sering mengakibatkan kerugian. Reaksi anaerob akan memanfaatkan ATP dan glikogen yang telah terbentuk selama ikan masih hidup, sebagai sumber energi, sehingga jumlah ATP terus berkurang (Afrianto dan Liviawaty 1989). Menurut Saputra dan Tati (2014) penurunan pH pada kondisi rigormortis pada filet nila merah terjadi akibat dari proses glikolisis yang mengubah glikogen dalam tubuh ikan menjadi asam laktat.

Setiap perlakuan pemberian ekstrak daun mangga arumanis dengan konsentrasi yang berbeda memiliki lama penurunan pH yang berbeda yaitu pada konsentrasi 0% dan 10% pH mengalami penurunan dari hari ke-1 sampai hari ke-3 kemudian pH naik pada hari ke-5. Sedangkan perlakuan pemberian ekstrak daun mangga arumanis konsentrasi 20%, 30%, dan 40% ekstrak daun mangga mengalami penurunan dari hari ke-1 sampai hari ke-5 dan mengalami kenaikan pada hari ke-7. Perlakuan pemberian ekstrak daun mangga dengan konsentrasi 20%, 30%, dan 40% memiliki masa penurunan pH lebih lama dibandingkan dengan pemberian ekstrak daun mangga pada konsentrasi 0% dan 10% yaitu selisih 2 hari

yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis pada filet nila akan memberikan masa penurunan pH lebih lama. Masa penurunan pH pada konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis 20%, 30%, dan 40% lebih lama disebabkan adanya tanin dan flavonoid. Produk hidrolisis tanin diklasifikasikan menjadi galotanin dan elagitanin. Galotanin merupakan gabungan asam galat dan glukosa sedangkan elagitanin merupakan gabungan asam elagat dan glukosa (Haslam 1989 dalam Inayati 2007). Flavonoid termasuk senyawa fenol dan bersifat agak asam (Markham 1998 dalam Inayati 2007).

Masa penurunan pH yang lebih lama menandakan proses rigormortis berjalan lebih lama sehingga proses penurunan mutu oleh bakteri akan terhambat dan memperpanjang masa simpan. Penambahan bahan alami seperti biji picung dapat menyebabkan turunnya pH karena bakteri pembusuk terhambat sehingga ikan dapat mengalami masa rigor mortis yang panjang (Apriyanti 2011 dalam Sipayung dkk 2015). Menurut Junianto (2003) menyatakan bahwa proses rigormortis dikehendaki selama mungkin karena proses rigormortis dapat menghambat proses penurunan mutu oleh aksi mikroba dan semakin singkat proses rigormortis pada ikan maka semakin cepat ikan membusuk. Setelah pH mengalami penurunan, pH mengalami kenaikan kembali pada hari ke 5 untuk konsentrasi 0% dan 10% , sedangkan pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40% mengalami kenaikan hari ke 7. Kenaikan nilai pH ini menunjukkan berlangsungnya proses autolisis. Proses autolisis dapat meningkatkan nilai pH karena proses autolisis menghasilkan senyawa yang bersifat basa yang disebabkan adanya enzim proteolitik yang dihasilkan dari filet itu sendiri dan dari bakteri pembusuk yang terkandung pada filet nila. Enzim proteolitik tersebut mengubah protein menjadi amoniak yang bersifat basa. Santoso dkk. (1999) dalam husni dkk (2014) menyatakan bahwa peningkatan pH pada filet nila merah selama penyimpanan menunjukkan adanya aktivitas enzim proteolitik yang terdapat pada jaringan daging ikan yang menghasilkan amoniak.

Tabel 2. Nilai Rata-rata Derajat Keasaman (pH) Filet Nila Berdasarkan Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Mangga Arumanis pada Penyimpanan Suhu Rendah

Penyimpanan Hari Ke	Konsentrasi Ekstrak Daun Mangga Arumanis (%)				
	0	10	20	30	40
1	6,52	6,48	6,44	6,37	6,36
3	6,31	6,19	6,29	6,26	6,33
5	6,48	6,27	6,25	6,22	6,28
6	6,59	-	-	-	-
7	6,62	6,36	6,37	6,36	6,31
8	6,84	6,48	6,46	6,44	6,55
9	7,05	6,68	6,50	6,47	6,60
10	-	6,81	6,66	6,56	6,69
11	-	6,94	6,78	6,65	6,75
12	-	7,06	6,96	6,72	6,78
13	-	-	-	6,77	6,87
14	-	-	-	6,91	7,1

Keterangan: (-) tidak dilakukan pengamatan

Kenaikan nilai pH juga disebabkan oleh adanya proses reduksi trimetilamin oksida (TMAO) menjadi senyawa yang bersifat basa yaitu trimetilamin (TMA) yang didegradasi oleh bakteri. Menurut Sopandi (2014) ikan laut dan ikan air tawar mengandung trimetilamin oksida yang didegradasi oleh beberapa bakteri menjadi trimetilamin. Trimetilamin terbentuk dari hasil reduksi trimetilamin oksida oleh enzim yang berasal dari daging ikan atau mikroba, perombakan trimetilamin oksida menjadi trimetilamin merupakan reaksi penting dari kerusakan ikan secara enzimatis (Afrianto dan Liviawaty 2010)

Hasil penelitian Widiani (2011) dan penelitian Nairbohu (2014) filet nila merah dengan nilai pH 6,85 pada hari ke-8 sudah melampaui batas penerimaan. Batas penerimaan filet nila dengan perendaman ekstrak daun mangga pada konsentrasi berbeda berdasarkan nilai pH yaitu pada konsentrasi 0% memiliki masa simpan sampai hari ke-8 dengan nilai pH 6,84, konsentrasi 10% dan 20% memiliki masa simpan sampai hari ke-10 dan ke-11 dengan nilai pH 6,81 dan 6,78, konsentrasi 30% memiliki masa simpan sampai hari ke-13 dengan nilai pH 6,77, sedangkan konsentrasi 40% memiliki masa simpan hingga hari ke-12 dengan nilai pH 6,78. Hal ini menunjukkan bahwa 30% merupakan konsentrasi yang memiliki masa simpan paling lama dibandingkan konsentrasi 0%, 10%, 20%, dan 40% berdasarkan nilai pH. Hal ini sesuai dengan batas penerimaan

berdasarkan jumlah bakteri filet nila yaitu pada filet nila tanpa perlakuan batas penerimaan hingga hari ke-8 dengan jumlah bakteri $6,6 \times 10^6$ cfu/g, perlakuan 10 % mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-10 yaitu sebesar $5,4 \times 10^6$ cfu/g, perlakuan 20% perendaman ekstrak daun mangga mampu mempertahankan filet nila sampai batas penerimaan hingga hari ke-11 dengan jumlah bakteri $6,7 \times 10^6$ cfu/g, perlakuan 30% mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-13 dengan jumlah bakteri $7,2 \times 10^6$ cfu/g, sedangkan perlakuan 40% mampu mempertahankan filet nila hingga hari ke-12 dengan jumlah bakteri $7,3 \times 10^6$ cfu/g.

Rekapitulasi Data

Penurunan mutu filet nila disebabkan karena adanya aktivitas enzim, mikroorganisme dan oksidasi dalam tubuh ikan (Adawyah 2007). Aktivitas yang menyebabkan penurunan mutu tersebut terjadi secara terus menerus dengan menguraikan kandungan nutrisi yang terdapat di dalam filet nila. Penguraian filet nila dapat dilihat melalui perubahan yang terjadi karena bertambahnya jumlah bakteri dan pH. Proses perubahan yang terjadi karena bertambahnya jumlah bakteri dan pH pada filet nila yang direndam didalam larutan ekstrak daun mangga dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil penelitian diatas filet nila dengan perlakuan tanpa perendaman dalam ekstrak daun mangga arumanis dan perlakuan perendaman ekstrak daun mangga

arumanis pada konsentrasi yang berbeda memiliki jumlah bakteri yang berbeda. Perlakuan perendaman filet nila dengan ekstrak daun mangga arumanis yang memiliki masa simpan paling lama yaitu pada konsentrasi 30% yang mampu memberikan masa simpan hingga hari ke-13 dengan jumlah bakteri pada konsentrasi 30% yaitu $7,2 \times 10^6$ cfu/g. Sedangkan perlakuan yang memiliki masa simpan yang paling rendah adalah pada konsentrasi 0% atau perlakuan tanpa perendaman ekstrak daun mangga arumanis dengan jumlah bakteri sampai batas penerimaan hari ke-8 yaitu sebesar $6,6 \times 10^6$ cfu/g. Semakin tingginya konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis tidak memberikan masa simpan filet nila lebih lama yang dibuktikan pada perendaman konsentrasi 40%, filet nila hanya mampu bertahan sampai batas penerimaan hingga hari ke-12 dengan jumlah bakteri $7,3 \times 10^6$ cfu/g.

Penggunaan ekstrak daun mangga arumanis pada filet nila memiliki masa simpan yang lebih lama dibandingkan dengan penggunaan ekstrak daun salam selama penyimpanan suhu rendah. Pada penelitian Widiani (2011) penggunaan ekstrak daun salam dapat memperpanjang masa simpan filet nila merah pada penyimpanan suhu rendah dengan batas penerimaan hingga hari ke-9 yaitu dengan jumlah bakteri $3,0 \times 10^6$ cfu/g.

Proses pembusukan tetap berlangsung walaupun filet nila telah disimpan pada suhu rendah dan direndam didalam larutan ekstrak daun mangga arumanis yang memiliki kandungan zat aktif yang bersifat antimikroba. Zat antimikroba yang terdapat pada ekstrak daun mangga hanya mampu menghambat

pertumbuhan bakteri dan membunuh sebagian bakteri pembusuk. Pembusukan yang terjadi pada filet nila dikarenakan adanya aktivitas bakteri yang mengurai kandungan gizi pada filet nila. Proses penguraian nutrisi filet nila ini mempengaruhi pH filet nila. Namun dengan dilakukannya perendaman filet nila dengan ekstrak daun mangga pada konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap perubahan pH sehingga pH filet nila masih dapat bertahan dalam keadaan asam sampai batas penerimaan yaitu berkisar 6,77 - 6,84.

Berdasarkan hasil penelitian pada pengamatan pH filet nila konsentrasi ekstrak daun mangga arumanis 30% memberikan pengaruh terbaik pada filet nila dengan nilai pH pada batas penerimaan hingga hari ke-13 yaitu 6,77. Nilai pH pada konsentrasi 30% juga merupakan pH paling rendah dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak daun mangga 0%, 10%, 20%, dan 40%. Menurut Adams dan Moss (2008) dalam Sopandi (2014) keasaman atau kebasaaan lingkungan berpengaruh terhadap aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim, sehingga menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Nilai pH pada konsentrasi 30% lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 40% disebabkan pada konsentrasi 30% mampu menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri pembusuk yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 40% sehingga pada konsentrasi 40% hasil metabolisme atau hasil penguraian bakteri yang bersifat basa seperti amoniak dan trimetilamin lebih banyak yang menyebabkan pH lebih tinggi.

Tabel 3. Tabulasi Data Terhadap Filet Nila pada Perendaman Ekstrak Daun Mangga Arumanis Selama Penyimpanan pada Suhu Rendah

No	Pengamatan	Konsentrasi Ekstrak Daun Mangga Arumanis (%)				
		0	10	20	30	40
	Batas Penerimaan					
1	Berdasarkan jumlah bakteri (Hari ke -)	8	10	11	13	12
2	Jumlah Bakteri Pada Batas Penerimaan (cfu/g)	$6,6 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$6,7 \times 10^6$	$7,2 \times 10^6$	$7,3 \times 10^6$
3	Derajat Keasaman (pH)					
	Awal (Hari Ke-1)	6,52	6,48	6,44	6,37	6,36
	Akhir (Batas Penerimaan)	6,84	6,81	6,78	6,77	6,78

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak daun mangga dengan konsentrasi 30% pada filet nila selama penyimpanan suhu rendah memiliki masa simpan yang paling lama yaitu selama 13 hari dengan nilai total bakteri $7,2 \cdot 10^6$ cfu/g dan nilai derajat keasaman terendah yaitu 6,77.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah, R. 2007. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 2010. *Penanganan Ikan Segar*. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Afrianto, E., E. Liviawaty, O. Suhara dan H. Hamdani. 2014. Pengaruh Suhu dan Lama Blansing Terhadap Penurunan Kesegaran Filet Tagih Selama Penyimpanan pada Suhu Rendah. *Jurnal Autika*, 5, (1): 45-54. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Bandung.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2015. SNI 2332.3:2015. *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Connell, J.J. 1990. *Control Fish Quality*. Fishing News Book. London. 222 hlm.
- Cushnie T. P. T., dan A. J. Lamb. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26; (343-356). School of Pharmacy. The Robert Gordon University. United Kingdom.
- Damayanti, W., E. Rochima, Z. Hasan. 2016. Aplikasi Kitosan Sebagai Antibakteri Pada Filet Patin Selama Penyimpanan Suhu Rendah. *JPHPI*. Vol. 19, No. 3. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Unpad. Jatinangor.
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 2013. Statistik Nila, Kerapu, Rumput Laut 2009 – 2013. http://www.djpb.kkp.go.id/public/upload/statistik_lainnya/Statistik%20Kerapu,%20Nila,%20RL.pdf. di akses pada 12 Januari 2017.
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 2013. Grafik Produsen Utama Ikan Nila 2013. http://www.djpb.kkp.go.id/public/upload/statistik_lainnya/GRAFIK%20PROD%20UTAMA%20Statistik%202013.pdf. di akses pada 12 Januari 2017.
- Husni A., Ustadi, dan A. Hakim. 2014. Penggunaan Ekstrak Rumput Laut *Padina* Sp. Untuk Peningkatan Daya Simpan Filet Nila Merah Yang Disimpan Pada Suhu Dingin. *AGRITECH*. Vol. 34, No. 3. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjra Mada. Yogyakarta.
- Inayati. 2007. Validasi Metode Analisis Polifenol pada Ekstrak Daun Jambu Biji Secara Spektrofotometri. *Skripsi*. Departemen Kimia. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Insani M. 2016. Penggunaan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Terhadap Masa Simpan Filet Patin Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Vol. 7, No. 2. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad. Jatinangor.
- Junianto. 2003. *Teknik Penanganan Ikan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Khaerunnisa, R. R., S. E. Priani., F. Lestari. 2015. Formulasi dan uji efektivitas sediaan gel antiseptik tangan mengandung ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.). *prosiding penelitian SPeSIA*. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Unsyiah. Unisba. Bandung.
- Kurniasih R. 2016. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis Muda (Mangifera Indica L.) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri Streptococcus Mutans In Vitro*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Kusuma, F. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Madduluri, S, K. Babu Rao, B.Sitaram. 2013. In Vitro Evaluation Of Antibacterial Activity Of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens Of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, (4): 679-684. India.
- Muchtadi., Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan*. Alfabeta. Bandung.
- Munandar, A., Nurjanah, dan Nurilmala, M. (2009). Kemunduran mutu ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada penyimpanan suhu rendah dengan perlakuan cara kematian dan penyiangan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 11, No. 2. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten.
- Novianty N. 2014. Kandungan Bahan Kering Bahan Organik Protein Kasar Ransum Berbahan Jerami Padi Daun Gamal dan Urea Mineral Molases Liquid dengan Perlakuan yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Nuria, M. C., A. Faizatun dan Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408. *Mediagro*. Vol 5. No 2 : Hal 26 – 37. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Rasjid S., dan Ismartoyo. 2014. Nilai Indeks Pakan Kambing Berdasarkan Studi In Sacco Dan In Vivo. *Buletin Nutrisi dan Makanan Ternak*. Vol 10, (1). Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Retnowati Y, N. Bialangi dan N.W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 6, (2). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.
- Riyanto R, E. S. Heruwati, dan Supriyadi. 2014. Prediksi Umur Filet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dikemas Secara Vakum dengan Kantong Plastik HDE. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada.
- Santoso, J., F. Ling, dan R. Handayani. 2011. *Pengaruh Pengkomposisan Dan Penyimpanan Dingin Terhadap Perubahan Karakteristik Surimi Ikan Pari (Trygon Sp.) Dan Ikan Kembung (Rastrelliger Sp.)*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sopandi T. 2014. *Mikrobiologi Pangan*. Andi offset. Yogyakarta.
- Supardi dan Sukanto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni. Bandung.
- Saputra D dan T Nurhayati. 2014. Teknik Pengawetan Filet Ikan Nila Merah dengan Senyawa Antibakteri Asal *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum*. *ComTech*. Vol. 5, No. 2 : (1021-1030). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Widiani, G. D. 2011. Penggunaan Ekstrak Daun Salam Untuk Memperpanjang Masa Simpan Fillet Nila Merah pada Penyimpanan Suhu Rendah. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung.