

LAPORAN AKHIR
INSINAS RISET PRATAMA INDIVIDU
(IRPI)



**PENGEMBANGAN BIOPLASTIK BERBAHAN DASAR
KITOSAN DARI SISIK IKAN SEBAGAI PENGEMAS
PRODUK IKAN ASAP DALAM MENDUKUNG
PENINGKATAN KUALITAS PANGAN NASIONAL**

TAHUN KE I DARI RENCANA 3 TAHUN

Dr.Ir. Netty Salindeho, MSi : NIDN 0003125804 (Ketua Tim)
Dr.Dra. Pipih Suptijah, MBA : NIDN 0020105302 (Anggota Tim)
Ir. Engel Victor Pandey, M.Phil : NIDN 0027106003 (Anggota Tim)

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS SAM RATULANGI
NOVEMBER 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENGEMBANGAN BIOPLASTIK BERBAHAN
DASAR KITOSAN DARI SISIK IKAN SEBAGAI
PENGEMAS PRODUK IKAN ASAP DALAM
MENDUKUNG PENINGKATAN KUALITAS PANGAN
NASIONAL

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. Ir NETTY SALINDEHO, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi
NIDN : 0003125804
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan
Nomor HP : 081387486834
Alamat surel (e-mail) : salindcho.netty@yahoo.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : Dr. Dra PIPIH SUPTIJAH M.M
NIDN : 0020105302
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor

Anggota (2)
Nama Lengkap : Ir ENGEL VICTOR PANDEY M.Phil
NIDN : 0027106003
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

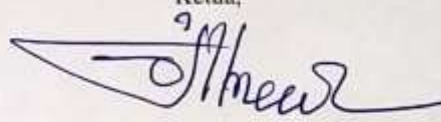
Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 188,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 678,000,000

Mengetahui,
Dekan,



(Prof. Ir. Farnis B. Boneka, M.Sc)
NIP/NIK 195712291985031004

Manado, 15 - 11 - 2018
Ketua,



(Dr. Ir NETTY SALINDEHO, M.Si)
NIP/NIK 195812031992032001

Menyetujui,
Ketua LPPM,



(Prof. Dr. Ir. Charles Lodewijk Kaunang, MS)
NIP/NIK 195910181986031002

RINGKASAN

Riset ini bertujuan untuk mengembangkan bahan pengemas produk ikan asap menggunakan bioplastik berbahan dasar kitosan dari sisik ikan dalam mengembangkan kualitas pangan nasional. Riset ini diharapkan dapat memberi manfaat bagi produsen ikan asap dalam memproduksi produk dengan kualitas yang jauh lebih baik. Selain itu, konsumen dapat memperoleh jaminan keamanan dalam mengkonsumsi produk ikan asap. Pengasapan adalah salah satu cara pengolahan ikan yang cukup populer terutama di Indonesia. Pengasapan bertujuan untuk mengolah ikan segar agar siap untuk dikonsumsi secara langsung, memberikan cita rasa yang khas agar lebih diminati konsumen dan memberikan daya awet. Tujuan Penelitian ini adalah (1) untuk mengevaluasi mutu nutrisi kitosan sisik ikan kakatua, dan menjajaki kemampuan nanokitosan sebagai antibakteri dan anti jamur pada produk ikan asap yang direndam dan disimpan pada suhu dingin. dan (2) menentukan karakteristik bioplastik kitosan (3) untuk mengaplikasikan bioplastik kitosan pada produk ikan cakalang asap. Sasaran penelitian ini bagi produsen cakalang asap adalah untuk meningkatkan mutu produk dan memperpanjang masa simpan serta dapat meningkatkan nilai ekonomis produk di pasaran. Pengolahan ikan cakalang asap di Sulawesi Utara pada umumnya masih dilakukan secara tradisional dengan tingkat sanitasi dan higienis yang rendah sehingga dapat mempengaruhi mutu, kualitas serta keamanan produk itu sendiri. Untuk mempertahankan mutu dan meningkatkan daya simpan ikan cakalang asap perlu dilakukan metode pengemasan menggunakan bioplastik. Bioplastik adalah plastik yang dapat digunakan seperti layaknya plastik konvensional, namun plastik tersebut akan terurai oleh aktivitas mikroorganisme ketika dibuang ke tanah. Sifat yang lain dari bioplastik yaitu dapat dihancurkan secara alami atau mikrobiologis, bahan bioplastik sebaiknya mudah diperoleh dengan siklus waktu penyediaan yang singkat (terbarukan). Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bioplastik adalah kitosan. Kitosan merupakan modifikasi dari senyawa kitin yang banyak terdapat dalam kulit luar hewan golongan Crustaceae, seperti udang dan kepiting. Selain itu, senyawa kitin juga terdapat pada sisik ikan. Kitosan mempunyai gugus aktif yang akan berikatan dengan mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhannya. Kitosan telah digunakan dalam berbagai produk pangan karena fungsinya yang sangat menguntungkan, Dengan merekayasa kitosan menjadi nanokitosan, maka fungsi sebagai penghambat pertumbuhan mikroba diharapkan lebih efektif. Untuk mengevaluasi mutu kitosan dan nanokitosan sebagai bioplastik, telah dilakukan uji coba perendaman ikan cakalang asap yang disimpan dalam keadaan dingin dengan melihat kapasitas antimikroba dan anti jamur. Hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa Karakteristik kitosan dari sisik ikan kakatua dengan menggunakan analisa : Kadar Air, Kadar Abu, Kadar Protein dan Derajat Deasetilisasi menunjukkan bahwa kitosan yang digunakan pada penelitian ini memiliki nilai kadar air 4,99 %, kadar abu 1,02 % kadar protein 0,8 % dan Derajat Deasetilisasi 73 %. Kemurnian kitosan dapat dilihat dari kadar air dan kadar abu. Semakin rendah kadar air dan kadar abu maka semakin murni kitosan yang dihasilkan. Selain itu derajat deasetilisasi juga mempengaruhi kereaktifan kitosan. Kadar air yang rendah dapat menekan atau mengurangi kerusakan pada kitosan, misalnya terhindar dari adanya aktivitas mikroorganisme. Semakin rendah kadar air, maka dapat memperpanjang daya simpan kitosan (Fadli *et al*, 2017). Hasil

aplikasi perendaman nanokitosan pada ikan cakalang asap sebelum diasap memiliki nilai terbaik berdasarkan analisis organoleptic, TPC dan total jamur selama 6 hari penyimpanan pada suhu dingin. Secara keseluruhan nanokitosan dapat mempertahankan kualitas sensoris ikan cakalang asap dibandingkan tanpa nanokitosan, juga dapat memperpanjang masa simpan produk.

PRAKATA

Puji dan syukur kupakanatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, atas berkat kasih dan pertolonganNya sehingga penulisan laporan akhir dapat terlaksana dengan baik. Adapun kegiatan ini membahas mengenai : **PENGEMBANGAN BIOPLASTIK BERBAHAN DASAR KITOSAN DARI SISIK IKAN SEBAGAI PENGEMAS PRODUK IKAN ASAP DALAM Mendukung Peningkatan Kualitas Pangan Nasional**

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan.
2. Rektor Universitas Sam Ratulangi.
3. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi Manado.

Dalam Penyusunan Laporan ini disadari adanya kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh sebab itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan laporan ini. Semoga laporan ini bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Manado, November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
BAB 2. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	4
BAB 3. METODE PENELITIAN	5
BAB 4. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	12
BAB 5. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	23
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	24
REFERENSI.....	25
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	27
Lampiran 1. Jurnal Internasional Terakreditasi	27
Lampiran 2. Sertifikat Pemakalah Seminar Nasional MPHPI di BBRPPBKP Jakarta Pusat.	33
Lampiran 3. Catatan Harian	36

DAFTAR TABEL

<i>Tabel</i>	<i>Judul</i>	<i>Halaman</i>
Tabel 1.	Analisis Proksimat Kitosan Sisik Ikan Kakatua	12
Tabel 2.	Rendemen Kitin dan Kitosan Sisik Ikan Kakatua	16
Tabel 3.	Hasil analisis organoleptik ikan cakalang asap	17
Tabel 4.	Hasil analisis total plate count ikan cakalang asap	18
Tabel 5.	Hasil analisis total jamur ikan cakalang asap	20

DAFTAR GAMBAR

<i>Gambar</i>	<i>Judul</i>	<i>Halaman</i>
Gambar 1.	Peta Rencana	5
Gambar 2.	Diagram alir pembuatan kotosan.....	6
Gambar 3.	Diagram hasil analisis organoleptik ikan cakalang asap	18
Gambar 4.	Diagram Hasil analisis total plate count ikan cakalang asap	19
Gambar 5.	Diagram hasil analisis total jamur ikan cakalang asap	21

DAFTAR LAMPIRAN

<i>Lampiran</i>	<i>Judul</i>	<i>Halaman</i>
Lampiran 1.	Jurnal Internasional Terakreditasi	27
Lampiran 2.	Sertifikat Seminar Nasional MPHPI di BBRPPBKP Jakarta	33
Lampiran 3.	Catatan Harian	36

BAB I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pengasapan adalah salah satu cara pengolahan ikan yang cukup populer terutama di Indonesia. Pengasapan bertujuan untuk mengolah ikan segar agar siap untuk dikonsumsi secara langsung, memberikan cita rasa yang khas agar lebih diminati konsumen dan memberikan daya awet. Pengolahan dengan pengasapan memanfaatkan kombinasi antara pengeringan dan senyawa kimia alami yang berasal dari bahan bakar yang digunakan. Senyawa asap yang dihasilkan berbentuk uap dan butiran tar yang akan terlarut dalam lapisan air pada permukaan ikan. Hal inilah yang menyebabkan pembentukan rasa dan warna yang khas. Sulawesi Utara memiliki salah satu produk terkenal yang diolah dengan cara pengasapan yaitu cakalang asap.

Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) merupakan salah satu jenis ikan pelagis yang termasuk dalam famili *Scombridae* dan tersebar luas di perairan Indonesia. Sulawesi Utara merupakan salah satu daerah dengan potensi ikan cakalang terbesar di Indonesia. Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Utara mencatat jumlah tangkapan ikan cakalang pada tahun 2015 sebanyak 158.265,6 ton. Jumlah ini terus meningkat dari tahun ke tahun sehingga menjadikan cakalang sebagai salah satu komoditi ekspor non migas yang penting bagi Provinsi Sulawesi Utara.

Pengolahan cakalang asap di Sulawesi Utara pada umumnya masih dilakukan secara tradisional dengan tingkat sanitasi dan higienis yang rendah sehingga dapat mempengaruhi mutu, kualitas serta keamanan produk itu sendiri. Kondisi ini tentu saja akan berpengaruh terhadap masa simpan produk. Untuk mempertahankan mutu dan meningkatkan daya simpan cakalang asap perlu dilakukan metode pengemasan modern, yaitu bioplastik. Plastik biodegradabel merupakan plastic yang dapat terurai oleh aktivitas mikroorganisme pengurai. Plastik

biodegradabel memiliki kegunaan yang sama seperti plastik sintetis atau plastik konvensional. Plastik biodegradable biasanya disebut dengan bioplastik, yaitu plastik yang seluruh atau hampir seluruh komponennya berasal dari bahan baku yang dapat diperbaharui. Plastik biodegradabel merupakan bahan plastik yang ramah terhadap lingkungan karena sifatnya yang dapat kembali ke alam. Umumnya, kemasan biodegradabel diartikan sebagai film kemasan yang dapat didaur ulang dan dapat dihancurkan secara alami. Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bioplastik adalah kitosan. Kitosan merupakan modifikasi dari senyawa kitin yang banyak terdapat dalam kulit luar hewan golongan Crustaceae, seperti udang dan kepiting (Agustina, 2015). Kitosan mempunyai gugus aktif yang akan berikatan dengan mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhannya. Selain itu juga dapat menyerap bahan anorganik dan komponen logam, serta gugus amini yang memiliki muatan positif dapat menarik muatan negatif dari senyawa yang lain (Robert, 1992). Sebagai pelapis kitosan akan melindungi dan melapisi bahan makanan sehingga dapat mempertahankan rasa asli dan menjadi penghalang masuknya mikroba (Suseno, 2006).

Sisik ikan terdiri dari dua lapisan, yaitu lapisan luar tipis merupakan epidermis yang dibentuk oleh sel-sel epitel dan lapisan bawah terdiri dari dermis, kutin dan korium dimana terdapat sel-sel yang mengandung kitin. Sisik ikan dibersihkan terlebih dahulu kemudian dijemur dan dilakukan pemisahan protein (deproteinasi). Setelah itu dilakukan demineralisasi untuk memisahkan mineral dari sisik ikan sehingga diperoleh senyawa kitin. Senyawa kitin diasetilisasi menggunakan NaOH sehingga terbentuk slurry yang kemudian disaring, dicuci dengan aquadest dan dikeringkan sehingga dihasilkan kitosan (Faridah, 2012).

Melihat potensi cakalang asap sebagai produk lokal andalan Sulawesi Utara, maka perlu adanya upaya perbaikan kualitas agar semakin diminati dan konsumen tetap mendapatkan

jaminan keamanan dalam mengkonsumsi produk tersebut. Selain itu untuk meningkatkan masa simpan produk cakalang asap agar dapat memperpanjang rantai distribusi penjualan. Untuk itu dalam penelitian ini digunakan nanokitosan yang berasal dari sisik ikan sebagai bioplastik pada cakalang asap yang direndam dan disimpan pada suhu dingin. Setelah itu dilakukan analisis terhadap daya simpan cakalang asap.

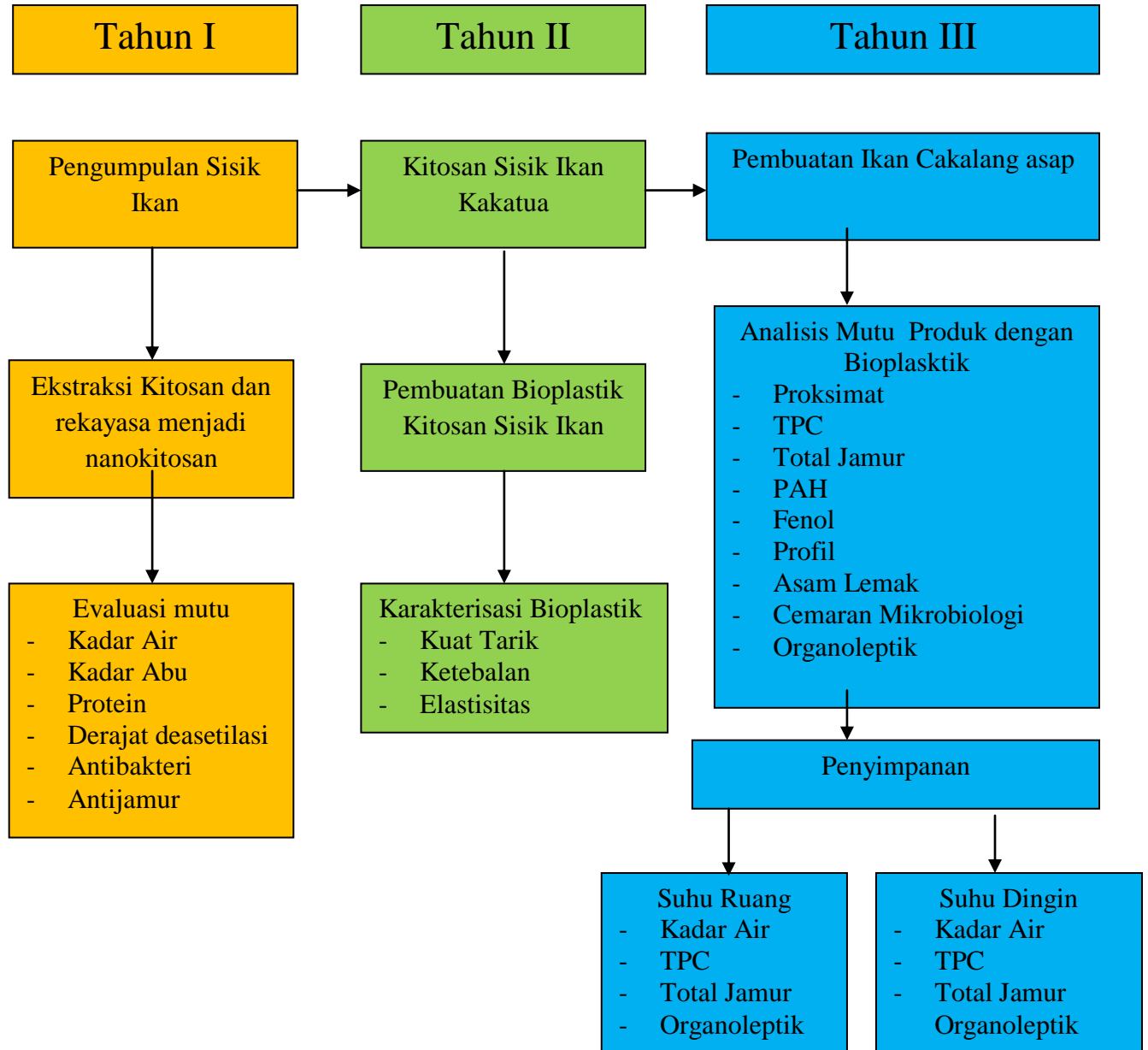
BAB 2. TUJUAN DAN MANFAAT

Penelitian ini bertujuan untuk tahun pertama mengevaluasi mutu nutrisi kitosan sisik ikan kakatua, dan menjajaki kemampuan nanokitosan sebagai antibakteri dan anti jamur pada produk ikan asap yang direndam dan disimpan pada suhu dingin. Pada tahun kedua tujuan riset untuk menentukan karakteristik bioplastik kitosan. Pada tahun ketiga, tujuan riset untuk mengaplikasikan bioplastik kitosan pada produk ikan cakalang asap. Sasaran penelitian ini bagi produsen cakalang asap adalah untuk meningkatkan mutu produk dan memperpanjang masa simpan sehingga semakin meningkatkan nilai ekonomis produk di pasaran.

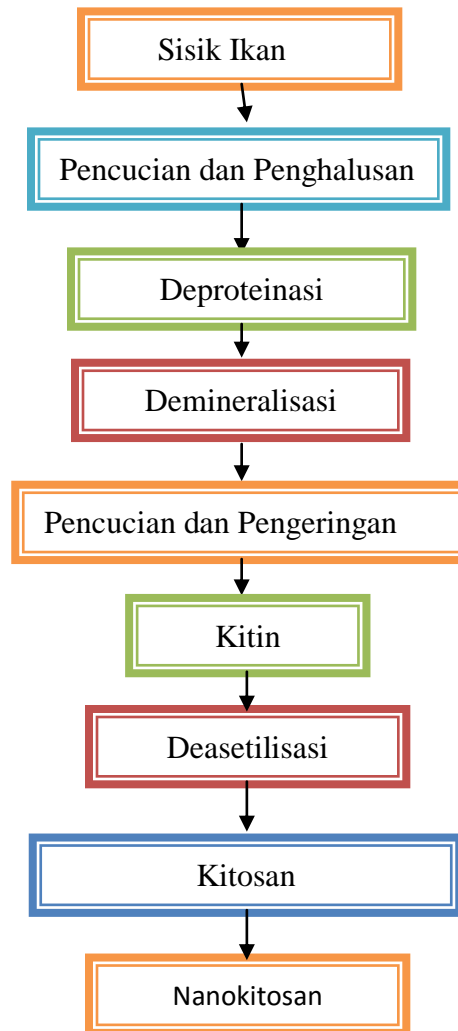
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk meningkatkan mutu produk ikan cakalang asap dan memperpanjang masa simpannya serta dapat meningkatkan nilai ekonomis limbah sisik ikan sebagai bahan baku pembuatan kitosan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

Gambar 1 memperlihatkan Peta Rencana penelitian selama 3 tahun. Sedangkan khusus mengenai preparasi kitosan dari kitin yang diekstraksi dari sisik ikan mengikuti prosedur Suptijah (1992) yang telah dimodifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Peta Rencana Penelitian



Gambar 2. Diagram alir pembuatan kitosan dan nanokitosan

Prosedur pembuatan kitosan

Pembuatan Kitosan Sisik Ikan Kakatua (Suptijah *et al.*, 1992)

Tahap awal penelitian ini adalah membuat kitosan dari sisik ikan kakatua dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Sisik ikan dicuci dengan air hingga bersih kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari.
- b. Setelah itu digunting untuk memperkecil ukuran.

- c. Proses deproteinasi dilakukan menggunakan larutan NaOH 0.5 M dengan perbandingan sisik ikan dengan NaOH = 1 : 10 dan kemudian didiamkan selama 48 jam.
- d. Kemudian disaring dan endapan yang diperoleh dicuci dengan menggunakan aquadest panas sampai pH netral.
- e. Dilanjutkan dengan proses demineralisasi pada suhu dengan menggunakan larutan HCl 0,75 M dengan perbandingan sampel dengan larutan HCl = 1 : 6 dan diamkan selama 24 jam. Rendaman diaduk konstan setiap 1 jam.
- f. Kemudian disaring dan endapan yang diperoleh dicuci dengan menggunakan aquadest panas sampai pH netral. Hasil dari proses ini disebut kitin.
- g. Kitin kemudian dideasetilisasi dalam larutan NaOH dengan konsentrasi 40% pada suhu 100°C sambil diaduk konstan selama 60 menit
- h. Hasil yang berupa slurry disaring, lalu dicuci dengan aquadest sampai pH netral lalu dikeringkan. Hasil yang diperoleh disebut kitosan.

Kitosan sisik ikan kakatua kemudian dianalisis karakteristik mutunya meliputi kadar air, kadar abu, protein dan derajat deasetilisasi, kemudian disesuaikan dengan mutu kitosan berdasarkan Standar Nasional Indonesia.

Preparasi nanokitosan

Preparasi nanokitosan dengan menggunakan metode gelas ionik mengacu pada Suptijah (2011). Sebanyak 1,5 gram kitosan dicampur dengan asam asetat 3%. Setelah itu diaduk sampai membentuk gel dan menambahkan air destilasi sampai volumenya mencapai 300 ml. Larutan dihomogenkan selama 10 menit. Proses homogenisasi dilakukan secara terus menerus, dan pada menit ke-5 tambahkan air destilasi sebanyak 100 ml sambil tetap dihomogenkan. Kemudian tambahkan tween 80 0,1% dengan cara dispray sebanyak 5 kali ke permukaan larutan nanokitosan. Setelah itu, dilakukan penambahan 100 mL tripoliphospat 0,1% sambil dihomogenkan sampai menit ke-10.

Prosedur Analisis

1. Kadar Air (Metode Oven), AOAC, 2005

Tahap pertama yang dilakukan untuk menganalisis kadar air adalah mengeringkan cawan porselen dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan tersebut diletakkan ke dalam desikator (\pm 15 menit) dan dibiarkan sampai dingin lalu ditimbang. Cawan tersebut ditimbang kembali hingga beratnya konstan. Sampel sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam cawan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 105°C selama 5 jam. Cawan dimasukkan ke dalam desikator sampai dingin dan selanjutnya ditimbang kembali.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat bahan awal} - \text{berat bahan akhir})}{\text{Berat bahan awal}} \times 100\%$$

2. Kadar Abu (Cara Kering, AOAC, 2005)

Cawan pengabuan dikeringkan di dalam oven selama 1 jam pada suhu 60°C, kemudian didinginkan selama 15 menit di dalam desikator dan ditimbang hingga didapatkan berat yang konstan. Sebanyak 5 gram sampel dimasukkan ke dalam cawan pengabuan. Cawan berisi sampel dibakar di atas kompor listrik sampai tidak berasap dan dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 600°C selama 1 jam. Selanjutnya cawan tersebut dimasukkan dalam desikator kemudian ditimbang.

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{Berat cawan akhir} - \text{berat cawan kosong}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3. Kadar Protein (Metode Kjeldahl, AOAC, 2005)

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam labu kjeldahl, kemudian ditambahkan sebutir kjeltab dan 10 mL H₂SO₄. Labu yang berisi larutan tersebut dimasukkan ke dalam alat

pemanas dengan suhu 410°C dan ditambahkan air sebanyak 10 mL. Proses ini dilakukan sampai larutan menjadi jernih. Larutan yang telah jernih didinginkan, kemudian ditambahkan 50 mL akuades dan 20 mL NaOH 40% dan didestilasi. Hasil destilasi ditampung dalam erlenmeyer 125 mL yang berisi 25 mL asam borat (H₃BO₃) 2% yang mengandung indikator campuran dari bromocresol green 0,1% dan methyl red 0,1% dengan perbandingan 2:1. Destilasi dilakukan dengan menambahkan 50 mL larutan NaOH-Na₂S₂O₃ ke dalam alat destilasi hingga tertampung 40 mL destilat di dalam erlenmeyer dengan hasil destilat berwarna hijau kebiruan. Destilat yang dihasilkan dititrasi dengan HCl 0,09 N sampai warna larutan berubah warna menjadi merah muda. Volume titran dibaca dan dicatat. Perhitungan kadar protein adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(\text{mL HCl sampel} - \text{mL HCl blanko}) \times \text{N HCl} \times 14}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ protein} = \% \text{ N Faktor Konversi (6,25)}$$

4. Uji Organoleptik

Metode uji yang digunakan yaitu uji tingkat penerimaan dengan skala 1-9 meliputi kenampakan, warna, aroma dan rasa. Angka 1 menunjukkan nilai terendah dan angka 9 merupakan angka tertinggi. Uji organoleptik menggunakan panelis berjumlah 26 orang.

5. Total Plate Count (Fardiaz, 1994)

- a. Sampel ikan asap ditimbang 10 gr dan dimasukkan ke dalam wadah steril kemudian dihaluskan.
- b. Secara aseptik dimasukkan ke dalam larutan 90 ml larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan (suspense yang terbentuk memiliki tingkat pengenceran 10⁻¹)
- c. Dengan pipet steril ambil suspense yang terbentuk dan masukan ke dalam 9 ml larutan NaCl 0,9% steril dan homogenkan (suspense yang terbentuk memiliki tingkat pengenceran 10⁻²)

- d. Demikian seterusnya sampai pengenceran 10^{-4} setiap sampelnya.
- e. Setiap pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam 2 seri cawan petri yang sudah diberi label.
- f. PCA (Plate Count Agar) sebanyak 15-18 ml dituang ke dalam 2 seri cawan petri yang telah berisi 1 ml suspense. Kemudian putar cawan petri membentuk angka 8 dan dibiarkan sampai mengeras.
- g. Masukkan cawan petri ke dalam incubator pada suhu 37°C selama 24 jam.
- h. Jumlah koloni yang terbentuk pada cawan petri dihitung setelah masa inkubasi selesai.
- i. Jumlah koloni bakteri yang dihitung pada cawan petri ialah berjumlah antara 30-300 koloni. Perhitungan :

$$TPC = \text{Jumlah koloni} \times 1/\text{pengenceran}.$$

6. Total Jamur (Modifikasi Cappucino dan Sherman, 1992)

- a. Sampel ikan asap ditimbang 10 gr dan dimasukkan ke dalam wadah steril kemudian dihaluskan.
- b. Secara aseptik dimasukkan ke dalam larutan 90 ml larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan
- c. Dengan pipet steril ambil suspense yang terbentuk dan masukan ke dalam 9 ml larutan NaCl 0,9% steril dan homogenkan (suspense yang terbentuk memiliki tingkat pengenceran 10^{-2})
- d. Demikian seterusnya sampai pengenceran 10^{-4} setiap sampelnya.

- e. Dari setiap pengenceran ambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam 2 seri cawan petri yang telah diberi label sesuai tingkat pengenceran.
- f. PDA (Potato Dextrose Agar) sebanyak 15-18 ml dituang ke dalam 2 seri cawan petri yang telah berisi 1 ml suspensi. Kemudian putar cawan petri membentuk angka 8 dan biarkan sampai mengeras.
- g. Semua cawan petri disimpan pada suhu ruang selama 3 hari.
- h. Jumlah koloni yang terbentuk pada cawan petri dihitung setelah masa inkubasi. Jumlah koloni yang dihitung berjumlah antara 30-300 koloni.

$$\text{Total jamur} = \text{Jumlah koloni jamur} \times 1/\text{pengenceran}.$$

BAB 4. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

A. Karakteristik Kitosan Sisik Ikan kakatua

Hasil penelitian Karakteristik kitosan dari sisik ikan kakatua dengan menggunakan analisa : Kadar Air, Kadar Abu, Kadar Protein dan Derajat Deasetilisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis Proksimat Kitosan Sisik Ikan Kakatua

Parameter	Nilai	SNI 7949-2013
Kadar Air	4,99 % \pm 0,02	\leq 12 %
Kadar Abu	1,04 % \pm 0,07	\leq 5 %
Kadar Protein	0,8 % \pm 0,04	\leq 5 %
Derajat Deasetilisasi	73 % \pm 0,12	\geq 70 %

*Laboratorium Mutu Hasil Perikanan, FPIK, IPB

Berdasarkan data pada Tabel 1, menunjukkan bahwa kitosan yang digunakan pada penelitian ini memiliki nilai kadar air, kadar abu dan kadar protein secara berturut-turut 4,99%, 1,04% dan 0,8% sedangkan derajat deasetilisasinya 73 %. Kemurnian kitosan dapat dilihat dari kadar air dan kadar abu. Semakin rendah kadar air dan kadar abu maka semakin murni kitosan yang dihasilkan. Selain itu derajat deasetilisasi juga mempengaruhi kereaktifan kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilisasinya, maka semakin banyak gugus amino (NH_2) pada rantai molekul kitosan sehingga kitosan semakin reaktif (Agustini dan Sedjati, 2007).

Kadar air kitosan pada penelitian ini lebih rendah, yaitu 4,99 % dibandingkan dengan SNI. Penelitian yang dilakukan oleh Gokulalakshmi *et al* (2017) memperoleh kadar air kitosan sisik ikan *catfish* sebesar 5%. Kadar air merupakan salah satu parameter penting mutu kitosan. Kadar air yang rendah dapat menekan atau mengurangi kerusakan pada kitosan, misalnya terhindar dari adanya aktivitas mikroorganisme. Semakin rendah kadar air, maka dapat memperpanjang daya simpan kitosan (Fadli *et al*, 2017). Selain itu, rendahnya kadar air pada

kitosan memungkinkan tidak terjadinya proses penggelembungan pada kitosan, mengingat sifat kitosan yang higroskopis karena kemampuan gugus amina kitosan yang dapat mengikat molekul air (Kurniasih dan Kartika, 2011). Kandungan kadar air pada kitosan sisik ikan kakatua disebabkan oleh karena proses pengeringan yang menyebabkan menguapnya kandungan air yang terdapat pada kitosan. Menurut Saleh *et al* (1994), kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lama pengeringan yang dilakukan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan luas permukaan tempat kitosan dikeringkan. Dalam proses pembuatan kitosan, pengaruh perendaman dan suhu reaksi yang digunakan juga mempengaruhi perolehan nilai kadar air kitosan, dimana adanya proses transformasi kitin menjadi kitosan menggunakan natrium hidroksida yang merupakan senyawa higroskopis (Aldes *et al*, 2011). Kadar air yang terkandung di dalam kitosan dinyatakan sebagai H₂O yang terikat pada gugus-gugus fungsional polimer kitosan, terutama gugus amina, N-asetil dan hidroksil melalui ikatan hidrogen. Kadar air kitosan bergantung pada kelembaban relatif udara sekeliling tempat penyimpanan karena kitosan bersifat higroskopis (Dompeipen *et al*, 2016).

Kandungan kadar abu kitosan yaitu 1,04 %, nilai kadar abu ini lebih rendah dibandingkan penelitian dari Lesbani *et al* (2011), yaitu 15,2%. Kadar abu dapat dijadikan parameter mutu kitosan, karena semakin rendah nilai kadar abu, maka tingkat kemurnian kitosan semakin tinggi, dan sebaliknya. Nilai kadar abu kitosan menunjukkan bahwa proses demineralisasi belum sepenuhnya mampu menghilangkan mineral-mineral anorganik dalam sisik ikan kakatua, terutama kalsium karbonat dan kalsium fosfat (Muzzarelli 1977). Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung dalam suatu bahan. Semakin rendah kadar abu yang dihasilkan maka mutu dan tingkat kemurnian kitosan akan semakin tinggi (Zahiruddin *et al*, 2008). Penghilangan mineral dipengaruhi oleh proses agitasi (pengadukan) selama proses,

sehingga panas yang dihasilkan menjadi homogen. Proses pengadukan yang konstan akan menyebabkan panas dapat merata sehingga pelarut (HCl) dapat mengikat mineral secara sempurna. Jika pengadukan yang dilakukan tidak konstan maka panas yang dihasilkan tidak merata, sehingga reaksi pengikatan mineral oleh pelarut juga akan tidak sempurna (Hartati *et al.* 2002). Selain itu proses pencucian yang baik hingga diperoleh pH netral juga berpengaruh terhadap kadar abu. Mineral yang terlepas dari sampel akan berikatan dengan pelarut dapat terbang dan larut bersama air (Angka dan Suhartono, 2000). Hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa proses reaksi demineralisasi, deproteinisasi dan deasetilasi dapat mengurangi komponen senyawa anorganik. Berkurangnya nilai kadar abu kitin dan kitosan menunjukkan bahwa proses deasetilasi dengan menggunakan larutan NaOH 40% dan kondisi temperatur 110°C disamping menghilangkan gugus asetil juga mampu menghilangkan mineral-mineral anorganik. Hal ini sesuai dengan pendapat Zuhairiah (2013) yang menyatakan bahwa mineral anorganik dapat dihilangkan melalui perlakuan asam dan basa. Makin besarnya volume NaOH yang digunakan pada proses deasetilasi, makin banyak gugus asetil pada kitin yang tereduksi dan mampu mengurangi sisa-sisa mineral yang terikat pada polimer, walaupun sudah dilakukan penghilangan mineral pada proses demineralisasi (Fadli, 2017).

Kadar protein kitosan sisik ikan kakatua yaitu 0,8%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar proteinnya telah memenuhi standar sesuai yang ditetapkan dalam SNI. Nilai kadar protein ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Takarina (2016) pada ikan kakap merah, yaitu 0.03 %. Proses deproteinasi (penghilangan kandungan protein) dalam penelitian ini menggunakan metode yang telah dimodifikasi sangat rendahnya kadar protein pada penelitian ini disebabkan oleh proses deproteinasi yang berjalan baik. Lamanya waktu perendaman dengan larutan NaOH, yaitu 48 jam dan konsentrasi NaOH yang digunakan saat proses deproteinasi dan deasetilisasi

menyebabkan protein dalam sisik ikan kakatua terekstrak sempurna. Selain itu perendaman dengan larutan NaOH yang lebih lama dan penggantian larutan basa kuat setiap 24 jam berhasil mengekstraksi kandungan protein non-kolagen dalam sisik ikan kakatua. Metode ini juga menambahkan proses hidroekstraksi yang bertujuan untuk mengekstraksi kandungan protein kolagen dalam sisik ikan. Menurut Benjakula dan Sophanodora (1993) kadar total nitrogen berupa protein yang dapat dihilangkan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH yang digunakan, waktu ekstraksi dan suhu ekstraksi. Protein yang masih terikat setelah proses deproteinasi akan semakin sedikit jumlahnya apabila proses deasetilasi dilakukan dengan suhu yang semakin meningkat dan konsentrasi NaOH yang tinggi. Kadar nitrogen menentukan sifat kitosan yang berinteraksi dengan gugus lainnya. Keberadaan senyawa lain dalam kitosan antara lain bentuk gugus amina (NH_2) menyebabkan kitosan memiliki reaktivitas kimia yang cukup tinggi, sehingga kitosan mampu mengikat air dan larut dalam asam asetat.

Kitosan sisik ikan kakatua memiliki derajat deasetilasi sebesar 73%, sedikit di atas standar yang ditetapkan dalam SNI. Berdasarkan nilai tersebut derajat deasetilasi yang diperoleh dari kitosan sisik ikan kakatua yaitu 73%. Nilai derajat deasetilasi ini lebih rendah dari penelitian Kumari et al (2017) dengan nilai derajat deasetilasi pada sisik ikan dan udang yang diekstraksi yaitu 75% dan 78% secara berurutan, dan lebih tinggi dari derajat deasetilasi cangkang kepiting yaitu 70%. Penelitian Muslim *et al* (2013) menghasilkan kitosan dari sisik ikan *Labeo rohita* dengan derajat deasetilasi 78%. Derajat deasetilasi kitosan sisik ikan kakatua disebabkan oleh konsentrasi NaOH yang digunakan saat proses deasetilasi yaitu 40% dan suhu 110°C. Benjakula dan Sophanodora (1993) menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitosan dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya konsentrasi NaOH dan suhu proses. Derajat deasetilasi menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin

sehingga dihasilkan kitosan. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan bahwa gugus asetil yang terkandung dalam kitosan adalah rendah. Makin berkurangnya gugus asetil pada kitosan maka interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari kitosan akan semakin kuat (Zahiruddin, 2008).

Proses deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi bertujuan menghilangkan pengotor seperti kandungan protein dan mineral, serta memurnikan gugus asetilnya yang akan berpengaruh terhadap fungsi dari gugus kitosan. Apabila masih terdapat pengotor dari kitosan maka derajat deasetilasi kitosan akan rendah dan kitosan tidak akan berfungsi secara maksimal (Suptijah 2006).

Tabel 2. Rendemen Kitin dan Kitosan Sisik Ikan Kakatua.

Sampel	Kitin	%	Kitosan	%
1000 gr	498 gr	49,8	8,2 gr	1,64

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa 1000 gr kering sisik ikan kakatua setelah melewati proses deproteinasi melalui perendaman dalam larutan NaOH 0,5 M dan demineralisasi dalam larutan HCl 0,75 % menghasilkan 498 gr kitin. Kemudian setelah dilakukan proses deasetilasi dengan larutan NaOH 40% menghasilkan 8,2 gr. Dengan demikian rendemen kitosan sisik ikan kakatua yang dihasilkan dari kitin yaitu 1,64%. Rendemen ini lebih rendah dibandingkan dengan kitosan sisik ikan *Labeo rohita* yaitu 7,72% (Muslim *et al*, 2013) dan sisik ikan *catfish*, yaitu 45.56% (Gokulalakshmi *et al*,2017). Penggunaan NaOH yang semakin tinggi akan menghasilkan rendemen kitosan yang semakin rendah. Konsentrasi NaOH yang tinggi akan menyebabkan proses depolimerisasi rantai molekul kitosan yang akhirnya akan menyebabkan penurunan berat molekul kitosan (Hong *et al*, 1989).

Organoleptik

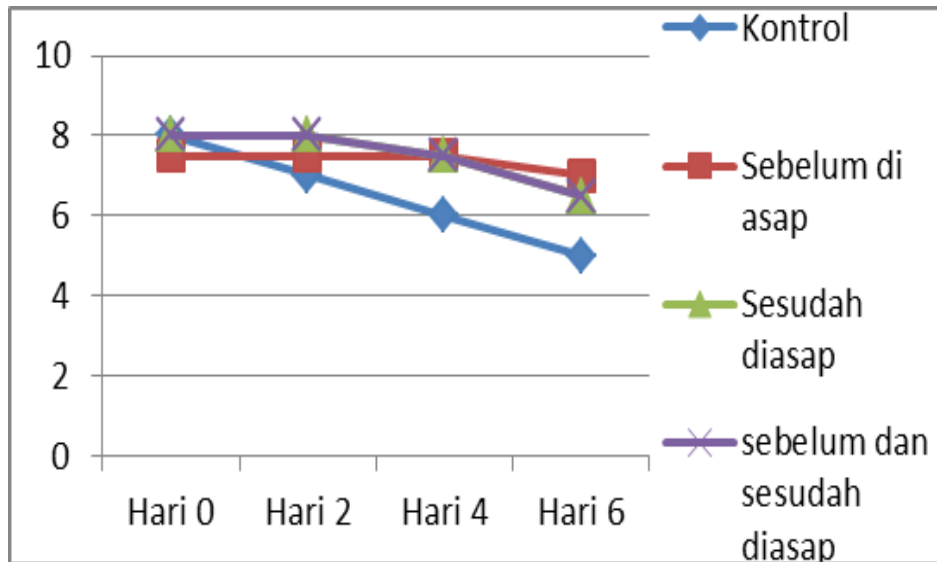
Nilai rata-rata hasil analisis organoleptik ikan cakalang asap yang dilapisi nanokitosan sisik ikan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Organleptik Ikan Cakalang Asap

Perlakuan	Penyimpanan			
	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
Kontrol	8,0	7,0	6,0	5,0
Sebelum Diasap	7,5	7,5	7,5	7,0
Sesudah Diasap	8,0	8,0	7,5	6,5
Sebelum dan Sesudah Diasap	8,0	8,0	7,5	6,5

Berdasarkan Table 3, terlihat bahwa pada hari ke-0 nilai organoleptik ikan cakalang asap untuk semua perlakuan berkisar antara 7,5 – 8,0, dimana perlakuan sebelum diasap lebih rendah yaitu 7,5 dibandingkan perlakuan lainnya. Pada penyimpanan hari ke-2, ikan cakalang asap tanpa nanokitosan mulai menurun menjadi 7,0, sedangkan perlakuan lainnya yang menggunakan nanokitosan belum mengalami penurunan. Penyimpanan hari-4 menunjukkan penurunan organoleptic untuk control, perendaman nanokitosan sesudah diasap, sebelum dan sesudah diasap, dimana perlakuan control memiliki nilai paling rendah, yaitu 6,0 dibandingkan perlakuan perendaman sesudah diasap, sebelum dan sesudah diasap yang memiliki nilai oragnoleptik 7,5. Sampel perendaman nanokitosan sebelum diasap belum mengalami penurunan pada hari ke-4. Pada penyimpanan hari ke-6 telah terjadi penurunan untuk semua perlakuan. Sampel ikan cakalang asap control memiliki nilai paling rendah, yaitu 7,0 sedangkan perlakuan perendaman nanokitosan sebelum diasap memiliki nilai organoleptic tertinggi yaitu 7,0. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sampel ikan cakalng asap yang direndam nanokitosan sebelum diasap masih

sesuai standar yang ditetapkan SNI yaitu 7,0 sedangkan ketiga perlakuan lainnya sudah melewati batas mutu.



Gambar 3. Hasil analisis organoleptik ikan cakalang asap

Kitosan sebagai bioplastik pada makanan akan saling berikatan dan membentuk suatu matriks kompak yang berfungsi sebagai penghalang terhadap bahan-bahan tertentu yang dapat merusak bahan (Krochta et al. 1994). Selain itu menurut Syarief dan Halid (1993), perubahan parameter-parameter mutu seperti kadar air, cita rasa, tekstur, warna, dan sebagainya selama penyimpanan dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban dan tekanan udara atau karena faktor komposisi makanan itu sendiri. penyimpanan pada suhu dingin mempengaruhi lambatnya penurunan nilai sensoris ikan cakalang asap.

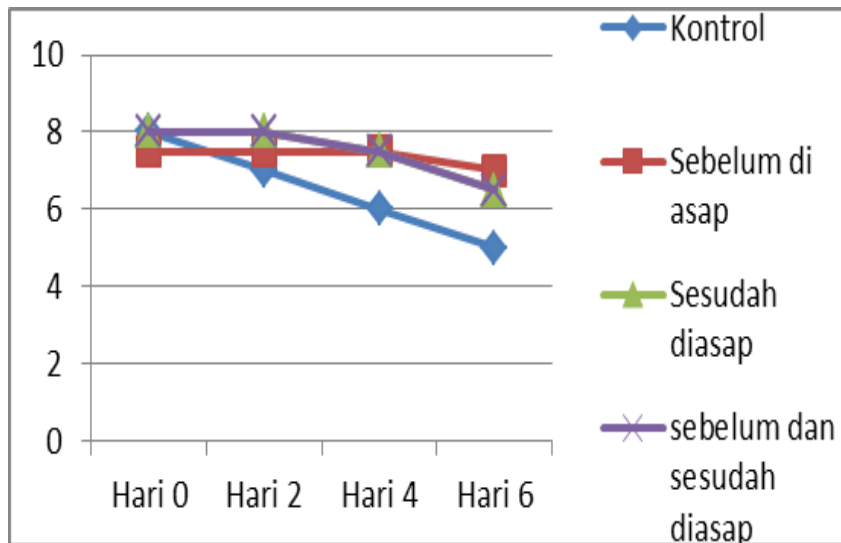
Total Plate Count

Nilai rata-rata hasil analisis *total plate count* ikan cakalang asap yang dilapisi nanokitosan sisik ikan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis TPC Ikan Cakalang Asap

Perlakuan	Penyimpanan			
	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
Kontrol	5,5 x 10 ²	6,25 x 10 ²	5,3 x 10 ⁴	1,55 x 10 ⁷
Sebelum Diasap	2,8 x 10	7,65 x 10	5,15 x 10 ²	1,5 x 10 ⁴
Sesudah Diasap	3,1 x 10	5,4 x 10	2,15 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵
Sebelum dan Sesudah Diasap	3,5 x 10	4,6 x 10	2,45 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵

Berdasarkan hasil analisis dapat dilihat bahwa *total plate count* pada awal penyimpanan berturut-turut pada sampel kontrol, sebelum diasap, sesudah diasap, sebelum dan sesudah diasap adalah 5,5 x 10², 2,8 x 10, 3,1 x 10, 3,5 x 10. Pada penyimpanan hari ke-2 mulai ada peningkatan *total plate count* pada setiap perlakuan dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel control yaitu 6,25 x 10² sedangkan yang terendah terdapat pada sampel perendaman dengan nanokitosan sebelum diasap, yaitu 7,65 x 10. *Total plate count* semakin meningkat pada hari ke-4, dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel control yaitu 5,3 x 10⁴, sedangkan yang terendah terdapat pada sampel sebelum diasap, yaitu 5,15 x 10². Pada penyimpanan hari ke-6 peningkatan TPC terus terjadi. Sampel control memiliki nilai TPC tertinggi yaitu 1,55 10⁷, sedangkan sampel ikan cakalang asap yang direndam nanokitosan sebelum diasap memiliki nilai TPC terendah, yaitu 1,5 x 10⁴.



Gambar 4. Hasil analisis *total plate count* ikan cakalang asap

Kitosan memiliki sifat antimikroba karena mampu menghambat bakteri pathogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram positif dan negatif. Sifat afinitas antimikroba dari kitosan dalam melawan bakteri atau mikroorganisme tergantung dari berat molekul dan derajat deasetilasi. Berat molekul dan derajat deasetilasi yang lebih besar menunjukkan aktifitas antimikroba yang lebih besar (Killay, 2013). Penyimpanan suhu dingin juga dapat menghambat proses pembusukan. Hal ini disebabkan bakteri yang terdapat pada ikan tidak dapat melakukan metabolisme secara sempurna. Karena aktivitas antimikrobanya kitosan dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi (Sagoo et al. 2002).

Total Jamur

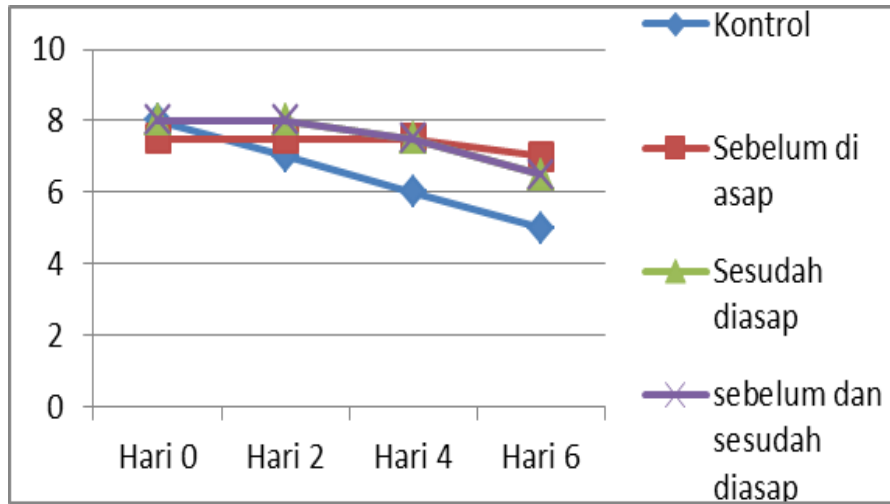
Nilai rata-rata hasil analisis total jamur ikan cakalang asap yang dilapisi nanokitosan sisik ikan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis total jamur ikan caklang asap

Perlakuan	Penyimpanan			
	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
Kontrol	< 10	4.54 x 10 ²	2.7 x 10 ³	8 x 10 ⁴
Sebelum Diasap	0	4.54 x 10	8.2 x 10	1.04 x 10 ²
Sesudah Diasap	< 10	9.09 x 10	1.6 x 10 ²	5.9 x 10 ²
Sebelum dan Sesudah Diasap	< 10	4.54 x 10	1.5 x 10 ²	5.04 x 10 ²

Berdasarkan hasil analisis dapat dilihat bahwa total jamur pada awal penyimpanan berkisar antara 0 - <10. Pada penyimpanan hari ke-2 mulai ada peningkatan total jamur pada setiap perlakuan, dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel control yaitu 4.54 x 10² sedangkan yang terendah terdapat pada sampel perendaman dengan nanokitosan sebelum diasap dan sebelum dan sesudah diasap, yaitu 4.54 x 10. Total jamur semakin meningkat pada hari ke-4, dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel kontrol, yaitu 2,97 x 10³, sedangkan yang terendah terdapat pada sampel sebelum diasap, yaitu 8.2 x 10. Penyimpanan hari ke-6 terus terjadi peningkatan total jamur. Sampel control memiliki total jamur tertinggi yaitu 8 x 10⁴, sedangkan sampel sebelum diasap memiliki total jamur terendah yaitu 1.04 x 10². Peningkatan total jamur pada ikan caklang asap lebih tinggi pada sampel sesudah dan sampel sebelum dan sesudah diasap dibandingkan sebelum diasap, dikarenakan adanya peningkatan kadar air pada produk sehingga menjadi media pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme. Tetapi secara

keseluruhan dapat disimpulkan bahwa nanokitosan dapat menghambat pertumbuhan total jamur pada ikan cakalang asap selama penyimpanan suhu dingin.



Gambar 5. Hasil analisis total jamur ikan cakalang asap

Mekanisme yang berlaku bahwa kitosan mempunyai sifat anti mikroba karena kitosan berbentuk membran berpori yang dapat menyerap air pada makanan, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba di dalam makanan tersebut. Disamping itu kitosan mempunyai gugus fungsional amina (-NH) yang bermuatan positif sangat kuat yang dapat menarik molekul asam amino bermuatan negative pembentuk protein dalam mikroba. Gugus fungsional amina juga memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat menarik mineral Mg^{2+} yang terdapat pada ribosom dan mineral yang terdapat pada dinding sel mikroba membentuk ikatan kovalen koordinasi. Hal tersebut menjadikan kitosan dapat mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler sehingga mikroba tersebut akan mati (Sarwono, 2010)

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan data yang telah didapatkan dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

Kitosan yang dihasilkan dari sisik ikan kakatua mengandung kadar air, kadar abu, kadar protein berturut-turut 4.99 %, 1.04 % dan 0.8%. Sedangkan derajat deasetilasinya yaitu 73 %. Secara keseluruhan kitosan yang diekstrak dari sisik ikan kakatua memiliki standar mutu yang sudah sesuai dengan SNI.

Perlakuan terbaik aplikasi nanokitosan sisik ikan kakatua sebagai bioplastik pada ikan cakalang asap yang disimpan pada suhu dingin adalah sebelum diasap dimana dilihat dari nilai analisis organoleptik, total jamur dan TPC.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan meningkatkan proses demineralisasi pada pembuatan kitosan sisik ikan kakatua untuk meningkatkan derajat deasetiliasi kitosan sisik ikan kakatua agar lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini T.W. and S. Sedjati. 2007. The Effect of Chitosan Concentration and Storage time on the Quality of Salted Anchovy. *Journal of COASTAL Development* Vol 10 No. 2.
- Aldes Lesbani, Setiawati Yusuf, R. A. Mika Melviana. 2011. Karakterisasi kitin dan kitosan dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*). *Jurnal penelitian sains*. 14 (3).
- Angka, S.L. dan M.T. Suhartono, 2000. Pemanfaatan Limbah Hasil Laut. IPB.Bogor
- Benjakula S and P. Sophanodora. 1993. Chitosan Production from Carapace and Shell of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) *Asean Food Jurnal*. Vol. 8 No. 4.
- Dompeipen, E.; M. Kaimudin; Dewa, RP. 2016. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Limbah Kulit Udang. *Majalah Biam Kementerian Perindustriaian* Vol 12 No. 1
- Fadli, A.; O. Alexander; F. Huda. 2017. Pengaruh Rasio Massa Kitin dan Waktu Reaksi terhadap Karakteristik Kitosan yang Disintesis dari Limbah Industri Udang Kering. *Jurnal Sains Materi Indonesia* Vol 18. No. 2.
- Gokulalakshmi, E.,K. Ramalingam, Umasankari and M.C. Vanitha. 2017. Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of Catfish. *Biotechnology Journal International* Vol. 18 No. 4.
- Hartati FK, T. Susanto, S. Rakhmadiono dan S. Adi Loekito. 2002. Faktor-faktor yang Berpengaruh terhadap Tahap Deproteinasi Menggunakan Enzim Protease dalam Pembuatan Kitin dari Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*). *Jurnal Biosain*. Vol 2 No. 1
- Hong H, N.K, S.P. Meyers and K.S. Lee. 1989. Isolation and Characterization of Chitin from crawfish shell waste. *J Agric Food. Chem* Vo. 33.
- Kumari, M and S. Jain. 2012. Tannins : an nutrient with positive effect to manage diabetes. *Research journal of recent science*. 1(12)
- Kurniasih, M dan Kartika, D. 2011. Sintesis dan karakterisasi fisika-kimia kitosan. *Jurnal inovasi*. Vol 5 No. 1.
- Muslim, T., M.H. Rahman, H.A. Begum, and M.A. Rahman. 2013. Chitosan and Carboxymethyl Chitosan from Fish Scales of *Labeo rohita*. *Journal Science*. Vol. 61. No 1.
- Muzzarelli, R.A.A., Rocchetti, R., Stanic, V and Weckx, M. 1997. Methods for the determination of acetylation of chitin and chitosan. In Muzzarelli, R.A.A and Peter, M.G.(eds.). *Chitin Handbook*. European Chitin Society. : 109-132
- Saleh MR, Abdillah, E. Suerman, J. Basmal dan N. Indriati. 1994. Pengaruh Suhu, Waktu dan Konsentrasi Pelarut pada Ekstraksi Kitosan dari Limbah Pengolahan Udang Beku terhadap Beberapa Parameter Mutu Kitosan. *Jurnal Pasca Panen Perikanan* Vol 81.

- Shalini, S. and S. Prema. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial activity of plant extracts for disease management. *Int J CURR SCI Research Article*: 209-218.
- Suptijah. P. 2006. Deskriptif Karakteristik dan Aplikasi Kitin-Kitosan. Prosiding Seminar Nasional kitin Kitosan. Departement Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Suptijah, P., M.J. Agoes, dan R. Desie. 2011. Karakterisasi nanokitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelas ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*.14(2)
- Takarina, N.D. and A.A. Fanani. 2016. Characterization of Chitin and Chitosan Synthesized from Red Snapper Scales Waste. *International Symposium on Current Progress In Mathematics and Science*.
- Zahiruddin, W., A. Ariesta, E. Salamah. 2008. Karakteristik Mutu Dan Kelarutankitosan Dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Vol.11 No.2.
- Zuhairiah N.S.T. 2013. Pengaruh viskositas kitosan dari berbagai berat molekul terhadap pembuatan kitosan nanopartikel dengan menggunakan ultrasonic bath. Skripsi.Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas SumateraUtara Medan.

EFFECTS OF NANOCHITOSAN DERIVATED FROM PARROT'S FISH SCALES (*Scarus SP*) TOWARDS ORGANOLEPTIC, TOTAL PLATE COUNT AND TOTAL FUNGI OF SMOKED SKIPJACK (*Katsuwonus pelamis L*) DURING COLD TEMPERATURE STORAGE

Netty Salindeho¹, Engel Pandey¹, Pipih Suptijah²

¹Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University

^{*2}Faculty of Fisheries and Marine Science, Bogor Agriculture Institute

Smoked skipjack has many potentials as traditional processing product in North Sulawesi. Therefore, it is necessary to improve the production quality of smoked skipjack to keep this product in demand, and even make this product as a featured product that can be sold anywhere. Nanochitosan has been discovered for its potentials to maintain the quality and shelf-life of fishery products caused by its non-toxic, biodegradable, and antimicrobial ability. This study aims to analyse total plate count, fungi total, and organoleptic of smoked skipjack immerse with nanochitosan solution from parrot's fish scales during cold temperature storage. The result showed that the optimum value on smoked skipjack immersed by nanochitosan was in pre-smoking treatment for six days storage at cold temperature where value of TPC, fungi total and organoleptic were found to be $1,5 \times 10^4$, $1,04 \times 10^2$ and 7,0 respectively.

Key words : *smoked skipjack, nanochitosan, parot's fish scales, TPC, fungi total, organoleptic*

INTRODUCTION

Fish is a source of food that contains a lot of protein, fat, vitamins and minerals needed by humans. Fish contains 18% protein consisting of essential and non-essential amino acids, 1-20% fat consisting of essential and non-essential fatty acids (Angela, 2015). Smoking process is one of the processing fish to inhibit microorganisms and providing benefits to preserve fish besides gives a good smell, brown appearance, good texture and specific taste of smoked fish products. Smoking process is a method of processing or preserving using organic materials from natural fuel (Wibowo, 2000).

Skipjack tuna has been one of the export commodities and natural marine resources in North Sulawesi. This type of fish was found in surrounding waters of North Sulawesi by

living in groups with other fish. It's not surprising to find large amounts of skipjack fish in certain waters (Effendi, 2012). In North Sulawesi, especially on Manado city, it is famous for smoked skipjack tuna with a local name "cakalang fufu". In general, smoked skipjack tuna has been found in many traditional markets and some are already sold in supermarkets in Manado. As a final product, smoked fish obtained elongated hemisphere reddish brown, shiny, smelling typical of grilled fish, and the outer meat is rather hard (Dundu, 1986).

Based on research reported by Wally et al (2015) smoked skipjack fishes stored in cold temperatures were still suitable for consumption until day 4 compared to storage at room temperature. This shows the need for action to extend the shelf life of fish fillets in the market chain, one of which is

the addition of preservatives. One of natural preservatives source that has been studied is chitosan. Chitosan is a natural polycationic linear polysaccharide derived from chitin and abundant in nature after cellulose. Chitosan has proven to be non-toxic, biodegradable, biocompatible, and has been used in the food industry as a safe and natural digester and component of fat components (Kean and Thanou 2010). Cruz et al. (2006) showed that chitosan was able to inhibit the growth of gram positive and gram negative bacteria isolated from fishery products. The study concluded that chitosan can be used to increase the shelf life of fishery products.

Nanochitosan produced a lower total microbial value compared to ordinary chitosan as reported by Alishahi (2014). Rumengan *et al* (2018) also reported that Nanochitosan was proven to be a natural preservative and increasing the food security of smoked fish at room temperature storage.

Chitosan in the form of nanoparticles has a higher effectiveness than chitosan because nanochitosan has a larger surface area and volume. For this reason, this study aims to analyze TPC, total fungi and organoleptics in smoked skipjack fish associated with nanocytosan parrot fish scales during cold temperature storage.

METHODS

Time and Place

This research was conducted for 3 months starting from February-April 2018. The preparation of chitosan and nanochitosan were carried out at the Laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences University of Samratulangi, Manado, while the implementation of smoked skipjack fish was carried out in Tiberias Village, Poigar District, Bolaang Mongondow. Total mushroom was analyzed in Manado Industry Research and Standardization (Baristan) while TPC and organoleptic at the

Laboratory of Testing and Application of Bitung Fisheries Products.

Materials and instruments

The materials were used in this research such as parrot fish obtained from Traditional Markets in Manado, 0.5 M NaOH, 0.75 M HCl, and 40% NaOH, aquadest, 0.1% Tween 80, 0.1% TPP (Triphosphosphate), fish Fresh tuna, bamboo, nipa leaves, coconut fiber, 0.9% NaCl, PDA (Potato Dextrose Agar). The instrument of this research such as plastic containers, sieves, glass cups, pipettes, stirring rods, measuring cups, filter paper, hot plates / stoves, homogenizers, spatulas, curing furnaces, test tubes, petri dishes, and incubators.

Research Design

This study was used a Completely Randomized Design method which consists of 4 treatments of giving nanochitosan with 3 replications, namely

- Control
- Pre Smoking
- Post smoking
- Pre and Post smoking

In brief, the small pieces of scales were placed in 2000 ml beaker with 0.5 M NaOH solution for 48 hours, in a portion of 1:10 (w/v) then filtered and neutralized using hot distilled water until the pH became netral. Next step was demineralization with 1 M hydrochloric acid solution using a ratio of solid to acidic solution of 1:6 (w/v) then scales were rinsed with hot distilled water to remove acid and salt. The residu was dried under the sun for 2 days. To obtain chitosan the chitin was deacetylated. The deacetylation process was carried out on chitin by adding 40% NaOH solution onto chitin in a portion of 1:2 (w/v).The mixtures were boiled at 100-110°C for 2 hours.

After that, it was washed continuously with distilled water until pH became netral. The chitosan was left uncovered and oven dried at 70°C till getting a creamy-white

form. Nanochitosan was prepared from 1.5 g chitosan was dissolved into 3% (w/v) acetic acid to get a homogeneous viscous gel, then added with 200 ml of distilled water. The solution was homogenized with a homogenizer (20000 rpm) for about 15 min. Then under stirring added a hundred distilled water, spraying with 1% Tween 80 for 5 times, and 100 ml of 1% sodium tripolyphosphate was added drop wise and stirred well to reach equilibrium. A milky colored emulsion like appearance of nanochitosan was formed upon the ionic cross linking between the sodium tripolyphosphate and chitosan solution. The procedure of nanochitosan preparation from the chitosan modified from the fish scale derived chitin has been submitted for Indonesian patent with registered number of P14201802743 April 13, 2018 (Rumengan *et al*, 2018).

The next stage was making smoked skipjack fish. Fresh skipjack fish is cleaned by removing gills and stomach contents then wash thoroughly using tap water. The fish was split and clamped with bamboo. After that, it was placed on top of the smoking place and ready to be smoked. The smoking process was carried out for 3 hours.

The application of nanochitosan in smoked skipjack fish was done by immersion method for 5 minutes according to treatment which is pre smoking, post smoking and pre and post smoking. Smoked skipjack samples were coated with nanochitosan then analyse in total fungal analysis on days 0, 2, 4 and 6 in cold temperature storage. The analyzed for total fungi on 0, 2, 4 and 6 days in cold temperature storage were doing after smoked fish were coated with nanochitosan,

RESULTS AND DISCUSSION

Organoleptic

The average of organoleptic of smoked

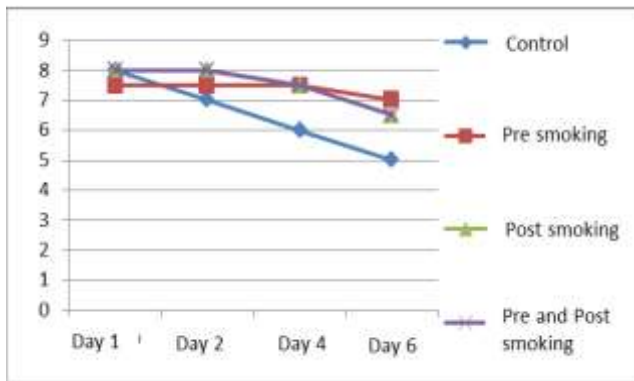
skipjack tuna coated with nanochitosan was shown in Table 1.

Table 1. Results of Organoleptic Analysis of Smoke Skipjack Fish

Treatment	Storage			
	Day 0	Day 2	Day 4	Day 6
Control	8,0	7,0	6,0	5,0
Pre-Smoking	7,5	7,5	7,5	7,0
Post-Smoking	8,0	8,0	7,5	6,5
Pre and Post Smoking	8,0	8,0	7,5	6,5

According on Table 1, the organoleptic of smoked skipjack tuna value in beginning for all treatments ranged from 7.5 to 8.0, where the treatment pre- smoked was lower than 7.5 compared to other treatments. On second day storage, smoked skipjack tuna without nanochitosan decreased to 7.0, while other treatments using nanochitosan had not decreased. Storage on day 4 showed an organoleptic decrease for control, immersed by nanochitosan post smoked, pre and post smoked, where the control treatment had the lowest value, was found to be 6.0 compared to post smoking, pre and post smoking treatment which had an organoleptic value of 7.5.

Samples on pre smoking treatment had not decreased on the 4th day. On the 6th day of storage there has been a decrease for all treatments. The lowest value was in control group which is 7.0 while pre smoking group has the highest organoleptic value was found to be 7.0. These results indicate that samples of smoked skipjack fish immersed in nanochitosan before smoking processing are still in accordance with the standards set by Indonesia National Standard (SNI) which is 7.0 while the three other treatments have exceeded the quality limit.



Chitosan as an edible coating on food will bind to each other and form a compact matrix that serves as a barrier to certain ingredients that can damage the material (Krochta et al. 1994). In addition, according changes in quality parameters such as water content, taste, texture, color, and so on during storage are influenced by environmental factors such as temperature, humidity and air pressure or because of the composition of the food itself. storage at cold temperatures affects the slow decreased in sensory value of smoked tuna.

Total Plate Count

The average of total plate count analysis of smoked skipjack tuna coated with nanochitosan derived from fish scales has shown in Table 2.

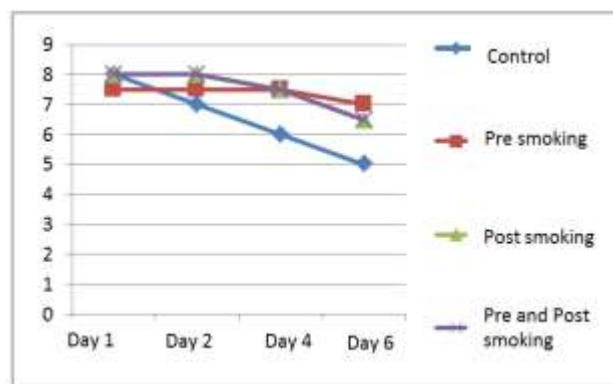
Table 2. Results of TPC Analysis of Smoke Skipjack Fish

The total plate count at the beginning storage

Treatment	Storage			
	Day 0	Day 1	Day 4	Day 6
Control	5,5 x 10 ²	6,25 x 10 ²	5,3 x 10 ⁴	1,55 x 10 ⁷
Pre smoking	2,8 x 10	7,65 x 10	5,15 x 10 ²	1,5 x 10 ⁴
Post smoking	3,1 x 10	5,4 x 10	2,15 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵
Pre and Post smoking	3,5 x 10	4,6 x 10	2,45 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵

of the control, pre smoking, post smoking, pre and post smoking were to be found 5.5 x 10², 2.8 x 10, 3.1 x 10, 3.5 x 10 respectively. On the second day of storage, there was an increase in the total plate count in each treatment, while the highest value was found in the control sample which was 6.25 x 10² where the lowest was in the immersion sample with nanocytosan before smoked, which was 7.65 x 10. The total plate count increased on day 4, where the highest value was in the control sample, which was 5.3 x 10⁴, while the lowest value was in the sample before smoking process, which was 5.15 x 10².

On the day 6 of storage there was an increased in TPC continues to occur. The control sample has the highest TPC value, which is 1.55x10⁷, while the sample of smoked skipjack fish which is immersed by nanochitosan before smoking process has the lowest TPC value, which is 1.5 x 10⁴.



Chitosan has antimicrobial properties caused by its ability to inhibit pathogenic bacteria and spoilage microorganisms, including fungi, gram positive and negative bacteria. The antimicrobial affinity of chitosan in fighting bacteria or microorganisms depends on the molecular weight and degree of deacetylation. The higher molecular weight and deacetylation degrees the greater antimicrobial activity of chitosan can be produced (Killay, 2013). Cold temperature storage can also inhibit the

decay process because the bacteria in fish cannot metabolize perfectly. Because of its antimicrobial activity, chitosan can inhibit the growth of various microorganisms such as bacteria, fungi, and yeast (Sagoo et al. 2002).

Total Fungi

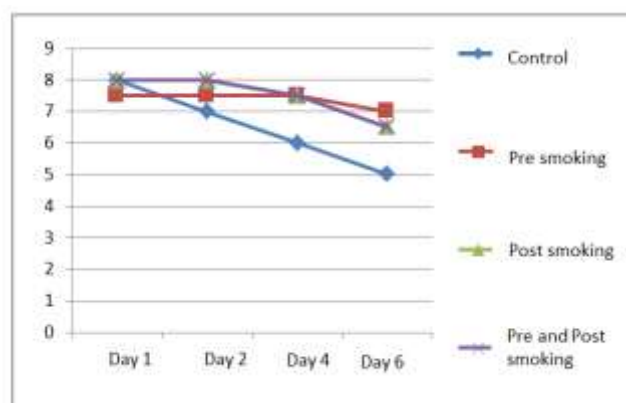
The average analysis of the total fungi of smoked skipjack tuna coated with nanochitosan derived from fish scales shown in Table 3.

Table 3. Results of total analysis of fungus smoked fish

Treatment	Storage			
	Day 0	Day 2	Day 4	Day 6
Control	< 10	4.54 x 10 ²	2.7 x 10 ³	8 x 10 ⁴
Pre smoking	0	4.54 x 10	8.2 x 10	1.04 x 10 ²
Post smoking	< 10	9.09 x 10	1.6 x 10 ²	5.9 x 10 ²
Pre and Post smoking	< 10	4.54 x 10	1.5 x 10 ²	5.04 x 10 ²

Based on the results of total analysis at the beginning of storage has ranged from 0 - <10. On the second day of storage, there was an increase in in each treatment, where the highest value was found in the control sample which was 4.54 x 10² while the lowest was in the immersion sample with nanochitosan on pre smoking group, pre and post smoking group, which was 4.54 x 10. Total fungi was increased on day 4, where the highest value was found in the control sample, which was 2.97 x 10³, while the lowest was in the sample before smoking process, which was 8.2 x 10. The 6th day storage continued to increase in value of total fungi. The control sample has the highest

was found to be 8 x 10⁴, while the sample before smoking process has the lowest total fungi, which was 1.04 x 10². The increased of total fungi in smoked skipjack was higher both in post smoking group and pre and post smoking group compare than pre smoking group due to the increasing of levels water on the product becomes a good medium of growth for microorganisms. But overall it can be concluded that nanochitosan can inhibit the total growth of fungi in smoked skipjack tuna during cold temperature storage.



The mechanism of chitosan as anti-microbial properties caused by the form of chitosan was a porous membrane that can absorb water in food and inhibit microbial growth. In addition, chitosan has a very strong positively charged amine (-NH) functional group that can attract a protein of negatively charged amino acid forming proteins in microbes. The amine functional group also has a free electron pair that can attract the Mg²⁺ + mineral in the ribosomes and minerals found in the microbial cell wall to form a coordinate covalent bond. This makes chitosan can cause leakage of intracellular constituents that make the microbes will die (Sarwono, 2010).

Conclusion

The results showed that the application of nanochitosan on smoked skipjack tuna before smoking process had the best value based on organoleptic analysis, TPC and

total fungi for 6 days of storage in cold temperatures. Overall nanochitosan has proven to maintain the sensory quality of smoked skipjack tuna compare smoked skipjack without treat by nanochitosan beside it can extend the product shelf life.

References Alishahi A. 2014. Antibacterial Effect of Chitosan Nanoparticle Loaded With Nisin for The Prolonged Effect. *Journal Of Food Safety*. Page :111-118

Angela, G.C., F. Mentang, G. Sanger. 2015. Kajian Mutu Ikan Cakalang Asap dari tempat Pengasapan Desa Girian Atas yang Dikemas Vakum dan Non vakum selama Penyimpanan Dingin. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* Vol. 3 No. 2. Hal : 29-40

Cruz, Z., H. Lauzon, JC. Arboleya, M. Nuin, IM. De maranon, F. Amarita. 2006. Antimicrobial effect of chitosan on micro-organisms isolated from fisheryproducts, dalam: Luten JB et al. (Editor). 2006. *Seafood Research from Fishto Dish: Quality, Safety and Processing of Wild and Farmed Fish*

Dundu, B. 1986. Penelitian Flora Bakteri pada Ikan Cakalang dan Produk-Produk di Sulawesi Utara. Tesis. UNSRAT

Effendi, S. 2012. *Teknologi Pengolahan Pangan dan Pengawetan Pangan*. Bandung. Alfabeta.

Kean, T and M. Thanou. 2010. Biodegradation, Biodistribution and Toxicity of Chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol 62. Page : 3-11

Killay, A. 2013. Kitosan sebagai Antibakteri pada Bahan Pangan yang Aman dan

Tidak Berbahaya (Review). *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura*. Hal :200-205

Krochta JM, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo. 1994. *Edible Coatings and Film to Improve Food Quality*. Economic Publ. Co., Inc. USA. Page : 8814-8824.

Rumengan, I.F.M., P. Suptijah, S.Wullur., A.H.Luntungan., F.B. Sandana and N.Salindeho. 2018. Potential application of chitosan nanoparticles derived from marine fish scales as preservatives for fishery products. *Proceeding : Food quality and processing : Tropentag 2018, Ghent Belgium*. Page :391

Sagoo S, R. Board and S. Roller. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *Journal of Food Microbiology* Vol 19 No.2 page 175-182

Sarwono, R. 2010. Pemanfaatan Kitin dan Kitosan sebagai Bahan Anti Mikroba. *JKTI* Vol. 12 No. 1. Hal : 32-38

Wally, E., F. Mentang, R. Montolalu. 2015. Kajian Mutu Kimiawi Ikan Cakalang Asap (Fufu) Selama Penyimpanan Suhu Ruang dan Suhu Dingin. *Jurnal Media teknologi Hasil Perikanan* Vol. 3 No. 1. hal : 7-12

Wibowo, S. 2000. *Industri Pengasapan Ikan..Jakarta : Penebar Swadaya* hal.93

**SEMINAR NASIONAL (MPHPI) DI BALAI BESAR RISET PENGOLAHAN
PRODUK DAN BIOTEKNOLOGI KELAUTAN DAN PERIKANAN
PERTAMBURAN VI JAKARTA PUSAT**





**TIM : DR.IR. NETTY SALINDEHO, MSI
DR.DRA. PIPIH SUPTIJAH, MBA**



SERTIFIKAT PEMAKALAH



UNDANGAN SEBAGAI PEMAKALAH



Nomor : 2900/BRSDM-BBRPPBKP/TU.210/IX/2018 27 September 2018

Lampiran : 1 (satu) berkas

Perihal : Undangan Sebagai Pemakalah

Yth. Netty Salindeho
di Tempat

Bersama ini diberitahukan bahwa abstrak Saudara diterima sebagai Pemakalah dalam kegiatan Seminar Nasional Hasil Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 2018, untuk itu kami mengundang Saudara pada :

hari/tanggal : Selasa-Rabu/16-17 Oktober 2018

Waktu : 08.00 WIB – selesai (jadwal terlampir)

Tempat : Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Jalan KS Tubun, Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat 10260

Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala Balai Besar Riset
dan Bioteknologi Kelaut

Prof. Dr. Hari Eko Iriant

CATATAN HARIAN

No.	Tanggal	Kegiatan
	5/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Mengunjungi Pasar Bahu Manado untuk menemui penjual ikan.- Mulai mengumpulkan sisik ikan kakatua
	6/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Menyiapkan alat dan bahan untuk pembuatan kitosan- Alat yang digunakan : wadah plastik 10 L, beker gelas, timbangan analitik, batang pengaduk, kain saring, gunting, alumunium foil, plastic wrapping, corong, Loyang.- Bahan yang digunakan : NaOH, HCl, aquades
	9/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Mengecek sisik ikan yang terkumpul di Pasar Bahu Manado.- Jumlah sisik ikan yang terkumpul 600 gr kering.
	12/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Mengecek kembali sisik ikan yang terkumpul di Pasar Bahu Manado- Jumlah sisik ikan yang terkumpul 1 kg kering.- Dilakukan pengecilan ukuran sisik ikan dengan cara digunting.
	13/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Pembuatan larutan NaOH 0,5 M dengan perbandingan 1:10 untuk tahap deproteinasi- Timbang NaOH 200 gr- Campurkan NaOH dalam aquades sampai 10 L.- Tahap deproteinasi- Rendam sisik ikan kakatua dalam larutan NaOH 0,5 M- Dilakukan pengadukan setiap 2 jam sekali untuk memaksimalkan tahap deproteinasi.- Perendaman dilakukan selama 24 jam
	14/02/2018	<ul style="list-style-type: none">- Pembuatan larutan NaOH 0,5 M untuk mengganti larutan NaOH sebelumnya- Timbang NaOH 200 gr- Campurkan NaOH dalam aquades sampai 10 L.- Rendaman larutan NaOH sebelumnya dibuang dan diganti dengan larutan NaOH yang baru

		<ul style="list-style-type: none"> - Dilakukan pengadukan setiap 2 jam sekali untuk memaksimalkan tahap deproteinasi. - Perendaman dilakukukan lagi selama 24 jam, jadi tahap deproteinasi berlangsung selama 48 jam.
	15/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Larutan NaOH dibuang - Dilanjutkan dengan tahap netralisasi, dimana sisik ikan di cuci dengan aquades sampai pH mencapai 7 (netral)
	16/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Melanjutkan tahap netralisasi
	17/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Proses netralisasi selesai
	19/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Pembuatan larutan HCl 0,75 M dengan perbandingan 1:6 untuk tahap demineralisasi - Ukur HCl sebanyak 373 ml - Tambahkan aquades sampai 6 L. - Tahap demineralisasi - Rendam sisik ikan dalam larutan HCl 0,75 M selama 24 jam - Dilakukan pengadukan setiap 2 jam sekali.
	20/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Dilakukan tahap penetralan dengan menggunakan aquades sampai pH netral
	21/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Melanjutkan tahap penetralan dengan aquades
	22/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Mengeringkan sisik ikan dibawah sinar matahari
	24/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Sisik ikan telah kering
	27/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Dilakukan proses deasetilasi menggunakan NaOH 40% - Kitosan yang diperoleh dinetralisasi dengan aquades
	28/02/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Dilanjutkan dengan tahap penetralan
	1/03/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Kitosan sisik ikan telah netral - Dilanjutkan dengan pengeringan dibawah sinar matahari
	2/03/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Kitosan sisik ikan kakatua telah kering dengan berat 8.2 gr

	5/03/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Kitosan dianalisis di laboratorium untuk dianalisis kadar air, kadar abu dan protein dan derajat deasitisasi.
	7/04/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Pembuatan nanokitosa - Sebanyak 1,5 gr kitosan dilarutkan dalam asam amino 3 % secukupnya dengan bantuan magnetic stirrer, lalu tambahkan akuades 200 ml dan dihomogenkan homogenizer berkecepatan 23.000 rpm selama 5 menit. - Tween 80 0,1 % disemprotkan sebanyak 5 kali ke dalam larutan dan dihomogenkan selama 5 menit. - Selanjutnya dilakukan stabilisasi dengan penambahan 100 ml TPP 0,1 % tetes demi tetes ke dalam larutan kitosan sehingga terbentuk suspensi nanokitosa. - Homogenisasi tetap dilanjutkan selama 5 menit agar proses ikatan silang berlangsung sempurna partikel yang dihasilkan tetap stabil. - Larutan nanokitosa yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi dengan uji particle size analyzer (PSA)
	12/04/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Ikan cakalang segar - Pembuatan ikan cakalang asap dan aplikasi nanokitosa
	13/04/2018	<ul style="list-style-type: none"> - Analisis Organoleptik, Total plate count dan Total Jamur