KAJIAN EFEK DAYA HAMBAT KITOSAN TERHADAP KEMUNDURAN MUTU *FILLET* IKAN PATIN (*Pangasius hypopthalmus*) PADA PENYIMPANAN SUHU RUANG

Study of Inhibitory Effects Of Chitosan on Quality Deterioration of Catfish (Pangasius hypopthalmus) Fillet at Room Temperature Storage

Pipih Suptijah*, Yayandi Gushagia, Dadi Rochnadi Sukarsa

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Jl. Lingkar Akademik, Kampus IPB Darmaga Bogor, 16680.

Diterima Mei 2007/Disetujui Januari 2008

Abstrak

Upaya penghambatan kemunduran mutu ikan dapat dilakukan dengan menggunakan bahan pengawet. Bahan pengawet yang sebaiknya digunakan adalah yang bersumber dari bahan alami, untuk meminimalkan pengaruh bahan kimia yang berbahaya apabila menggunakan bahan sintetik. Salah satu bahan pengawet alami dari hasil perairan yang aman adalah kitosan. Ikan patin segar dengan berat 500-600 gram dipreparasi menjadi bentuk *fillet skin on*, *fillet* kemudian direndam selama 3 menit dalam larutan kitosan dengan konsentrasi 0 %, 1,5 %, dan 3 %, dibiarkan terbuka tanpa kemasan pada suhu ruang selama 18 jam dengan selang waktu pengamatan setiap 6 jam. Pengamatan dilakukan terhadap nilai organoleptik *fillet*, pengukuran nilai pH, nilai TVB, dan nilai TPC *fillet* ikan patin. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor percobaannya adalah perlakuan larutan kitosan konsentrasi 0 %, 1,5 %, dan 3 %, dan lama penyimpanan 0 jam, 6 jam, 12 jam, dan 18 jam. Nilai pH tertinggi terdapat pada *fillet* ikan tanpa larutan kitosan penyimpanan jam ke-0, yaitu sebesar 6,94; nilai pH terendah pada *fillet* ikan patin dengan larutan kitosan 3 % penyimpanan jam ke-18, yaitu sebesar 5,41. Nilai TVB *fillet* ikan tertinggi adalah pada *fillet* tanpa kitosan penyimpanan jam ke-18, yaitu 28,84 mg N/100 g sampel, sedangkan nilai terendah pada *fillet* dengan larutan kitosan 1,5 % pada jam ke-0, yaitu 10,36 mg N/100 g sampel. Nilai TPC terendah adalah $1{,}27 \times 10^4$ koloni/g terdapat pada *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan 3 % penyimpanan jam ke-0, sedangkan nilai TPC tertinggi adalah $7{,}15 \times 10^7$ koloni/g pada *fillet* tanpa perlakuan kitosan penyimpanan jam ke-18. Penggunaan larutan kitosan 1,5 % memberikan hasil yang terbaik berdasarkan parameter penampakan daging, tekstur, bau, nilai pH dan nilai TVB *fillet*. Sedangkan penggunaan larutan kitosan 3% memberikan hasil terbaik untuk parameter lendir dan nilai TPC *fillet*. Uji regresi linear menunjukkan bahwa penggunaan larutan kitosan mampu mempertahankan kesegaran *fillet* ikan patin 2 jam lebih lama dibandingkan dengan *fillet* ikan patin tanpa perlakuan larutan kitosan.

Kata kunci: antibakteri, enzimatis, *fillet,* kitosan,

PENDAHULUAN

Umur simpan ikan segar dapat diperpanjang dengan menambahkan senyawa antibakteri yang berupa bahan kimia sintetis atau bahan alami. Senyawa ini dapat berdifusi ke lingkungan sekitarnya dan menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Bahan antibiotik dikelompokkan kedalam antibiotik yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri (*narrow spectrum*) dan antibiotik yang efektif terhadap banyak jenis bakteri (*broad spectrum*). Bahan antibiotik sintetis seperti tetrasiklin sudah

* Korespondensi: telp/fax (0251) 622915, E-mail: suptijah@yahoo.com

dilarang penggunaanya karena alasan kesehatan, karenanya tidak ada lagi bahan antibiotik yang efektif digunakan dalam penanganan hasil tangkapan ikan. Penggunaan bahan alami dapat dijadikan solusi yang tidak membahayakan bagi kesehatan.

Salah satu bahan alami yang aman digunakan untuk memperpanjang kesegaran ikan adalah kitosan. Kitosan merupakan produk hasil turunan kitin dengan rumus N-asetil-D-Glukosamin, merupakan polimer kationik yang mempunyai jumlah monomer sekitar 2000-3000 monomer, tidak toksik dan mempunyai berat molekul sekitar 800 kD (Suptijah 2006). Kitosan umumnya dibuat dari limbah hasil industri perikanan, seperti udang, kepiting dan rajungan, yaitu dari bagian kepala, kulit ataupun karapas. Pengembangan aplikasi kitosan sangat potensial, mengingat jumlah produksi udang yang terus meningkat. Peningkatan jumlah produksi udang ini akan menghasilkan lebih banyak limbah hasil olahan udang yang dapat dimanfaatkan menjadi kitosan. Tahun 2006 terdapat sekitar 170 pengolahan udang dengan kapasitas produksi sekitar 500.000 ton per tahun, dengan persentase limbah sebesar 60-70 % akan dihasilkan limbah sebesar 325.000 ton per tahun (Prasetiyo 2006).

Pemanfaatan kitosan ini telah dicoba pada berbagai bidang, diantaranya sebagai bahan pelapis dan anti kapang. Kemampuan kitosan dalam menekan pertumbuhan bakteri dan kapang disebabkan kitosan memiliki polikation bermuatan positif (El Ghaouth *et al.* 1994). Uji aktivitas antibakteri menggunakan kitosan yang diperoleh secara enzimatis menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri patogen menunjukkan hasil yang positif dengan indeks penghambatan berturut-turut adalah sebagai berikut: 2,47; 3,23; 3,26; 2,23; 2,3; dan 2,07 untuk *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Listeria monocytogenes,* dan *Bacillus cereus* (Meidina *et al.* 2004). Beberapa bakteri tersebut dapat mengakibatkan pembusukan pada ikan. Berdasarkan hasil penelitian efek kitosan terhadap beberapa bakteri yang menyebabkan pembusukan ikan, maka penelitian ini mencoba memanfaatkan kitosan untuk memperpanjang daya awet *fillet* ikan patin pada penyimpanan suhu ruang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kitosan pada berbagai konsentrasi terhadap daya awet *fillet* ikan patin (*Pangasius hypopthalmus*) yang disimpan pada suhu ruang.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan digital, kertas saring, plastik, pisau, talenan, baskom, kertas label, karet pengikat, alat-alat analisis yang meliputi pH-meter, pipet, cawan petri, *vortex*, sudip, inkubator, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan conway, alat homogenizer, gelas ukur dan gelas piala.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan patin hidup dengan berat 500-600 gram sebanyak 20 ekor yang diperoleh dari kolam budidaya ikan Desa Petir Kecamatan Dramaga Kabupaten Bogor Jawa Barat, kitosan (PT Vitalhouse Indonesia), asam asetat, aquades, nutrien agar (NA), larutan garam fisiologis, trikloroasetat (TCA), K_2CO_3, HCl 0,01 M, asam borat, dan larutan buffer.

Metode Peneleitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap penelitan pendahuluan dan tahap penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan konsentrasi kitosan yang mempunyai efek penghambatan terhadap kemunduran mutu dengan melihat perubahan organoleptik *fillet* ikan akibat pengaruh konsentrasi larutan kitosan yang digunakan. Penelitian utama bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi larutan kitosan yang optimal terhadap kesegaran *fillet* ikan patin. Ikan patin segar dengan berat 500-600 gram dimatikan terlebih dahulu, kemudian dipreparasi menjadi *fillet skin on*. *Fillet* ikan patin selanjutnya dibagi kedalam kelompok untuk perlakuan konsentrasi dan sub kelompok untuk perlakuan lama penyimpanan. *Fillet* direndam selama 3 menit dalam larutan kitosan (Kurnianingrum 2008), kemudian disimpan pada suhu ruang selama 18 jam dengan selang waktu pengamatan setiap 6 jam. *Fillet* dibiarkan terbuka pada suhu ruang tanpa kemasan. Kemunduran mutu *fillet* diamati secara organoleptik, pengukuran nilai derajat keasaman (pH), penghitungan nilai *total plate count* (TPC), dan penghitungan nilai *total volatile* base (TVB). Percobaan dilakukan sebanyak dua kali ulangan. Data hasil penelitian utama kemudian diuji secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai Organoleptik

Pengujian organoleptik merupakan metode pengujian yang menggunakan panca indera sebagai alat utama untuk menilai mutu produk. Pengujian ini mempunyai peranan yang penting sebagai pendeteksian awal dalam menilai mutu untuk mengetahui penyimpangan dan perubahan pada produk. Penilaian secara organoleptik terhadap *fillet* ikan patin ini meliputi parameter penampakan daging, tekstur, bau dan lendir di permukaan kulit *fillet*. Hasil lengkap nilai organoleptik *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan pada tiap jam penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.

a b

c d

Gambar 1. Nilai organoleptik fillet ikan patin; a:penampakan, b:tekstur, c:bau, d:lendir

Penampakan Daging

Nilai organoleptik penampakan daging *fillet* ikan patin pada tiap konsentrasi larutan kitosan yang digunakan (0 %, 1,5 %, dan 3 %) mengalami penurunan seiring dengan semakin lamanya waktu penyimpanan (Gambar 1a). Penurunan nilai organoleptik sampai jam ke-12 tidak signifikan dan masih berkisar pada kondisi organoleptik produk yang masih segar yaitu 7,0. Nilai organoleptik untuk parameter penampakan daging *fillet* ikan tanpa perlakuan kitosan (0 %) pada penyimpanan jam ke-

18 menunjukkan nilai yang terendah bila dibandingkan dengan penampakan daging *fillet* ikan dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan 1,5 % dan 3 %, sedangkan nilai organoleptik yang tertinggi adalah 6,5 pada *fillet* ikan dengan konsentrasi kitosan 1,5 %.

Larutan kitosan berfungsi sebagai *edible coating* yang mampu mempertahankan nilai organoleptik penampakan daging *fillet* ikan patin lebih baik bila dibandingkan dengan perlakuan tanpa larutan kitosan. Berdasarkan uji Kruskal Wallis diperoleh hasil bahwa selama penyimpanan 12 jam nilai $\beta > 0{,}05$ artinya perlakuan kitosan tidak memberikan pengaruh terhadap parameter penampakan daging *fillet*, hal ini dapat dilihat dari hasil uji organoleptik penampakan daging yang relatif tidak terlalu berbeda. Perbedaan tampak pada penyimpanan jam ke-18 dimana nilai $\beta < 0{,}05$; artinya kitosan mulai berpengaruh terhadap parameter penampakan daging *fillet* ikan patin.

Kitosan yang melapisi *fillet* ikan mampu melindungi *fillet* dari kontaminasi dan meminimalkan interaksi yang terjadi antara *fillet* dengan lingkungan (Hadwiger dan Loschke 1981, diacu dalam Hardjito 2006). Noh *et al.* (2005), diacu dalam Alamsyah (2006) melakukan penelitian menggunakan kitosan sebagai bahan pelapis (*coating*). Lapisan *edible* yang terbentuk pada permukaan ternyata dapat memperpanjang masa simpan dengan cara menahan laju respirasi, transmisi, dan pertumbuhan mikroba.

Tekstur Daging

Nilai organoleptik parameter tekstur *fillet* ikan patin untuk semua perlakuan kitosan (0 %, 1,5 %, dan 3 %) mengalami penurunan selama penyimpanan Gambar 1b). Laju penurunan nilai organoleptik tekstur *fillet* bervariasi untuk setiap perlakuan konsentrasi larutan kitosan yang digunakan. Nilai organoleptik tekstur *fillet* ikan patin yang terbaik untuk setiap jam penyimpanan sampai dengan jam ke-18 adalah pada perlakuan kitosan 1,5 %. Nilai organoleptik yang paling rendah adalah pada *fillet* ikan tanpa perlakuan larutan kitosan saat penyimpanan jam ke-18, yaitu sebesar 3,7. *Fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan 1,5 % dan 3 % nilai organoleptiknya masih diatas 4,0. Uji Kruskal Wallis yang dilakukan terhadap nilai organoleptik tekstur *fillet* ikan dengan perlakuan kitosan selama penyimpanan menunjukkan bahwa nilai $\beta > 0{,}05$. Hal ini berarti penggunaan larutan kitosan tidak berpengaruh terhadap nilai organoleptik tekstur *fillet* ikan patin.

Nilai organoleptik tekstur *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan 3 % lebih rendah bila dibandingkan dengan *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan 1,5 %.

Larutan kitosan 3 % memiliki kandungan asam yang lebih tinggi akibat penggunaan asam untuk melarutkan kitosan. Kondisi asam pada larutan kitosan dapat berpengaruh terhadap tingkat keasaman daging. Derajat keasaman daging yang rendah dapat menyebabkan beberapa enzim yang aktif pada kondisi asam (pH rendah) bekerja menguraikan jaringan otot daging secara enzimatis sehingga proses autolisis dapat berlangsung kemudian diikuti dengan kerja mikroba pada substrat daging untuk mempercepat proses pembusukan (Eskin 1990).

Nilai organoleptik yang lebih rendah pada *fillet* tanpa perlakuan kitosan menunjukkan bahwa *fillet* tanpa perlakuan kitosan mengalami proses pembusukan lebih cepat dibandingkan *fillet* dengan perlakuan kitosan (1,5 % dan 3 %). Proses pembusukan yang terjadi pada ikan menyebabkan tekstur ikan tidak kompak dan menjadi lunak. Hal tersebut dikarenakan adanya proses autolisis yang menyebabkan timbulnya perubahan pada daging ikan, misalnya tekstur daging akan menjadi lunak dan mudah lepas dari tulangnya (Zaitsev *et al.* 1969).

Bau

Bau merupakan salah satu parameter yang sangat menentukan tingkat kesukaan seseorang terhadap mutu produk. Nilai organoleptik bau *fillet* ikan patin selama penelitian berkisar antara 4,0 sampai 9,0. Nilai organoleptik parameter bau *fillet* ikan tanpa perlakuan kitosan pada penyimpanan jam ke-18 sebesar 4,0; sedangkan bau *fillet* dengan perlakuan kitosan mempunyai nilai organoleptik diatas 6,0. Hal ini dikarenakan proses pembusukan pada *fillet* ikan patin dengan perlakuan larutan kitosan menjadi terhambat karena adanya aktivitas kitosan. Proses pembusukan pada daging dapat menghasilkan senyawa volatil yang menghasilkan bau busuk pada ikan.

Uji Kruskall Wallis yang dilakukan terhadap parameter bau menunjukkan bahwa perlakuan larutan kitosan pada penyimpanan 0 jam, 6 jam, dan 12 jam tidak mempengaruhi penilaian panelis terhadap parameter bau *fillet* ikan patin. Perlakuan larutan kitosan memberikan pengaruh terhadap bau *fillet* ikan patin setelah penyimpanan 18 jam, dimana nilai β-value < 0,05. Hal ini berarti bahwa penambahan larutan kitosan mampu menghambat timbulnya bau yang tidak disukai panelis dengan cara menghambat keluarnya senyawa volatil yang menyebabkan bau busuk keluar dari daging ikan melalui proses *coating* pada *fillet*. Menurut Nisperroscarriedo (1995) yang diacu dalam Herjanti (1997) kitosan sebagai polimer film dari karbohidrat memiliki sifat selektif permeabel terhadap gas, sehingga efektif dalam mengontrol difusi berbagai gas.

Lendir

Nilai organoleptik parameter lendir *fillet* selama pengamatan pada semua perlakuan konsentrasi larutan kitosan (0 %, 1,5 %, dan 3 %) berkisar antara 7,0 sampai 9,0; kecuali untuk *fillet* ikan tanpa larutan kitosan penyimpanan jam ke-18 nilainya 6,5 (Gambar 1c). Pengamatan organoleptik terhadap parameter lendir *fillet* ikan patin untuk semua konsentrasi larutan kitosan menunjukkan penurunan nilai organoleptik yang tidak terlalu signifikan. Nilai organoleptik untuk parameter lendir *fillet* ikan patin untuk semua perlakuan larutan kitosan selama penyimpanan masih berada diatas 7,0; kecuali untuk *fillet* ikan tanpa perlakuan larutan kitosan pada penyimpanan jam ke-18 memiliki nilai organoleptik 6,5. Uji Kruskall Wallis yang dilakukan terhadap parameter lendir *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan selama penyimpanan diperoleh hasil nilai $\beta > 0{,}05$. Hal ini berarti perlakuan larutan kitosan selama penyimpanan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap lendir *fillet* ikan patin yang dihasilkan.

Penggunaan larutan kitosan mampu memberikan hasil yang lebih baik untuk parameter lendir *fillet* karena sifat koagulan kitosan sehingga mampu mengkoagulasi lendir yang terdapat pada permukaan kulit *fillet*. Lendir yang dihasilkan oleh bakteri dapat dihambat karena sifat polikation kitosan yang mampu berikatan dengan protein bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Kitosan memiliki gugus amin yang reaktif dan mampu membentuk gel yang stabil sehingga kitosan dapat memiliki fungsi sebagai komponen reaktif, pengikat, dan koagulan (Shahidi 1999, diacu dalam Suptijah 2006).

Nilai Derajat Keasaman (pH)

Penentuan nilai derajat keasaman (pH) merupakan salah satu indikator pengukuran tingkat kesegaran ikan. Pada proses pembusukan ikan, perubahan pH daging ikan disebabkan oleh proses autolisis dan penyerangan bakteri (Fardiaz 1992). Nilai pH *fillet* ikan patin selama penelitian berkisar antara 5,80-6,94 (kontrol), 6,08-6,73 (larutan kitosan 1,5%), dan 5,41-6,64 (larutan kitosan 3%). Nilai rata-rata pH *fillet* ikan patin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata pH *fillet* ikan patin dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan selama penyimpanan suhu ruang

Lama penyimpanan	Konsentrasi larutan kitosan		
	0%	1,50%	3%
jam ke-0	6,94	6,73	6,64
jam ke-6	6,28	6,61	5,92
jam ke-12	5,80	6,36	5,69
jam ke-18	6,16	6,08	5,41

Fillet ikan patin tanpa perlakuan kitosan mempunyai nilai pH tertinggi 6,94 pada jam ke-0, dan turun menjadi 5,80 pada jam ke-12, nilai pH kemudian ikan meningkat menjadi 6,36 pada jam ke-18. Peningkatan nilai pH pada jam ke-18 ini disebabkan akumulasi basa nitrogen (Zaitsev *et al.* 1969). Nilai pH *fillet* ikan dengan perlakuan larutan kitosan akan terus menurun akibat adanya asam asetat sebagai pelarut kitosan. Adanya larutan asam dalam larutan kitosan dapat mempengaruhi pH bahan. pH larutan kitosan yang digunakan selama penelitian berkisar antara 4 sampai 6.

Analisis ragam terhadap nilai pH menunjukkan bahwa perlakuan larutan kitosan dan interaksi larutan kitosan dengan lama penyimpanan memberikan nilai $\beta > 0,05$. Hal ini berarti perlakuan larutan kitosan yang diberikan tidak berpengaruh terhadap nilai pH. Analisis ragam terhadap perlakuan lama penyimpanan memberikan nilai $\beta < 0,05$; artinya perlakuan waktu mempengaruhi nilai pH *fillet* ikan patin.

Nilai pH *fillet* ikan patin dengan perlakuan larutan kitosan dibandingkan dengan perlakuan tanpa larutan kitosan, mengalami penurunan selama penyimpanan 18 jam. Hal ini diduga perlakuan kitosan mampu menghambat aktivitas bakteri sehingga penguraian protein oleh bakteri menjadi terhambat sehingga peningkatan kandungan nitrogen non protein yang dapat menyebabkan akumulasi basa juga ikut terhambat. Kitosan merupakan bahan yang dapat digunakan sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan melapisi produk untuk melindungi produk dari kontaminasi lingkungannya (Hadwiger dan Loschke 1981 diacu dalam Hardjito 2006).

Nilai *Total Volatile Base* (TVB)

Uji *Total Volatile Base* adalah salah satu metode pengukuran untuk menentukan kesegaran ikan yang didasarkan pada menguapnya senyawa-senyawa basa. Semakin tinggi nilai TVB menunjukkan mutu daging yang semakin menurun. Nilai TVB *fillet* ikan patin dengan perlakuan larutan kitosan selama penyimpanan berkisar antara 10,36 sampai dengan 28,84 mg N/ 100 g sampel. Nilai TVB *fillet* ikan patin mengalami peningkatan dengan semakin lamanya waktu penyimpanan. Peningkatan nilai TVB ikan selama penyimpanan terjadi akibat degradasi protein atau derivatnya yang menghasilkan sejumlah basa yang mudah menguap seperti amoniak, histamin, hidrogen sulfida, dan trimetilamin yang berbau busuk. Nilai rata-rata TVB *fillet* ikan patin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata TVB *fillet* ikan patin dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan selama penyimpanan suhu ruang

Lama penyimpanan	Konsentrasi larutan kitosan		
	0%	1,50%	3%
jam ke-0	14,84	10,36	11,20
jam ke-6	19,32	12,04	15,12
jam ke-12	23,52	18,76	20,72
jam ke-18	28,84	23,24	25,48

Nilai TVB *fillet* ikan patin yang diperoleh selama pengamatan ini termasuk kategori produk masih layak untuk dikonsumsi karena masih dibawah standar nilai TVB, yaitu 30 mg N/ 100 g sampel, yang mengacu kepada standar kesegaran ikan berdasarkan nilai TVB (Farber 1965, diacu dalam Ermaria 1999). Nilai TVB yang tinggi pada *fillet* ikan patin tanpa perlakuan kitosan (0 %) saat penyimpanan jam ke-18 disebabkan oleh proses autolisis dan kegiatan bakteri pembusuk selama proses penyimpanan. Menurut Karungi *et al.* (2003) peningkatan nilai TVB selama penyimpanan akibat degradasi protein menghasilkan sejumlah basa yang mudah menguap seperti amoniak, histamin, dan trimetilamin.

Analisis ragam yang dilakukan terhadap nilai TVB untuk perlakuan larutan kitosan dan lama penyimpanan mempunyai nilai $\beta < 0,05$. Hal ini berarti bahwa perlakuan larutan kitosan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap nilai TVB *fillet* ikan patin pada tingkat kepercayaan 95 %. Interaksi antara perlakuan larutan kitosan dan lama penyimpanan mempunyai nilai $\beta > 0,05$; artinya interaksi keduanya tidak memberikan pengaruh yang nyata tehadap nilai TVB *fillet* ikan patin. Uji lanjut Bonferroni untuk perlakuan larutan kitosan menunjukkan bahwa perlakuan tanpa larutan kitosan memberikan hasil yang berbeda nyata dengan larutan kitosan 1,5 % dan 3 %, begitupun larutan kitosan 1,5 % memberikan hasil yang berbeda nyata dengan larutan kitosan 3 %. Uji lanjut Bonferroni untuk lama penyimpanan, menunjukan bahwa keempat fase penyimpanan menunjukkan hasil yang berbeda nyata satu sama lainnya.

Uji regresi linear menunjukkan persamaan regresi untuk perlakuan larutan kitosan 0 %, 1,5 %, dan 3 % berturut-turut adalah Y=4,62X+10,08; Y=4,536X+4,76; dan Y=4,844X+6,02, dimana Y untuk nilai TVB dan X adalah lama penyimpanan. Berdasarkan persamaan tersebut, perlakuan larutan kitosan mampu mempertahankan nilai TVB *fillet* 2 jam lebih lama dibandingkan perlakuan tanpa larutan kitosan.

Kitosan yang memiliki polikation bermuatan positif mampu berikatan dengan protein, salah satunya adalah enzim. Kitosan yang berikatan dengan enzim mampu meminimalisir kerja enzim. Pengikatan enzim oleh kitosan hanya berlangsung pada bagian permukaan *fillet* yang dilapisi oleh kitosan. Kitosan tidak mempu secara efektif masuk ke dalam jaringan otot daging untuk mengikat enzim karena berat molekul kitosan yang besar. Kitosan larut asam umumnya memiliki berat molekul berkisar antara 800 kD sampai dengan 1000 kD (Janesh 2003, diacu dalam Suptijah 2006).

Nilai *Total Plate Count* (TPC)

Jumlah bakteri yang tumbuh pada sampel *fillet* ikan patin hasil penelitian ini berkisar antara $1,27x10^4$ sampai $7,15x10^7$ koloni/g sampel. Hasil analisis rata-rata mikroba pada *fillet* ikan patin dengan perlakuan larutan kitosan selama penyimpanan suhu ruang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata TPC *fillet* ikan patin dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan selama penyimpanan suhu ruang

Lama penyimpanan	Konsentrasi		
	0 %	1,5 %	3 %
	Rata-rata TPC (koloni/g)	Rata-rata TPC (koloni/g)	Rata-rata TPC (koloni/g)
Jam ke 0	$2,46.10^4$	$1,72.10^4$	$1,27.10^4$
Jam ke 6	$2,03.10^6$	$2,70.10^4$	$2,51.10^4$
Jam ke 12	$1,44.10^7$	$8,8.10^5$	$2,03.10^5$
Jam ke 18	$7,15.10^7$	$9,55.10^6$	$8,23.10^6$

Jumlah bakteri *fillet* ikan yang diberi perlakuan kitosan (1,5 % dan 3 %) selama penyimpanan lebih sedikit bila dibandingkan dengan *fillet* ikan tanpa perlakuan kitosan. *Fillet* ikan dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan 3 % penyimpanan jam ke-18 memiliki jumlah total bakteri paling sedikit yaitu sebesar $8,23x10^6$ koloni/g, diikuti dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan 1,5 % sebesar $9,55x10^6$ koloni/g, dan total