

KEMASAN CERDAS PENDETEKSI KEBUSUKAN FILET IKAN NILA*Smart Packaging Spoilage Detector of Tilapia Fillet***Bambang Riyanto^{*1}, Akhiruddin Maddu², Yogi Waldingga Hasnedi¹**¹Departemen Teknologi Hasil Perairan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB²Departemen Fisika
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

Diterima 18 Juni 2010/Disetujui 6 Agustus 2010

Abstract

Smart packaging that can detect the level of quality deterioration of fish is a new inspiration in providing the sense of practicality, quality assurance and food safety of fishery products in the future. Analysis of optical characteristics and dynamic nature of the response to the smart packaging with 48 mL chitosan-acetic 1% (w/v), 48 mL polyvinyl alcohol 1% (w/v) and 4 mL bromthymol blue indicator 0.2% based shows the real trend in detecting spoilage rate of tilapia fillet. Smart packaging visually can provide patterns of color changes from yellow to dark yellow next turn into green and the last become turquoise during the process of fish spoilage. The spoilage rates observed of tilapia fillet with a parameter test value TVBN and TBC, showed the same tendency in detecting spoilage rate tilapia fillet, where the TVBN rate increased from 8.40 ± 0.40 mg N/100 g at the 0 hour to 52.36 ± 1.98 mg N/100 g at 15 hours and TBC rates from $\log 4.35 \pm 0.07$ (2.3×10^4) CFU/g at the 0 hour to $\log 9.11 \pm 0.05$ (1.3×10^9) CFU/g at 15 hours.

Key words : fish spoilage, smart packaging, tilapia fillet

PENDAHULUAN

Permasalahan utama rendahnya nilai ekonomis produk perikanan adalah rentan terhadap kerusakan (*spoilage*) dan umur simpannya yang pendek (Lokuruka dan Regenstein 2006; Helali *et al.* 2010). Komponen volatil, yaitu amonia, dimetilamin, trimetilamin, trimetilamin oksida merupakan hasil degradasi mikroorganisme dan telah digunakan sebagai indikator dalam menentukan tingkat kemunduran mutu ikan (*index of freshness*) (Wu dan Bechtel 2008; Kim *et al.* 2009). Penilaian kesegaran ikan masih menggunakan penilaian sensori yaitu penampakan mata, kulit, insang, tekstur, bau, dan warna (Nollet dan Toldra 2010). Perkembangan teknik modern dalam penentuan tingkat kesegaran ikan yang meliputi peralatan multi sensor dikombinasikan dengan

* Korespondensi: Bambang Riyanto, Jln Lingkar Akademik, Kampus IPB Dermaga-Bogor 16680
Telp. 08128022114 e-mail: bambangriyanto_ipb@yahoo.com

teknik-teknik instrumentasi, telah dikembangkan oleh Uni Eropa dengan proyek "Development of Multi-Sensor Techniques for Monitoring the Quality of Fish (MUSTEC/FAIR 98 4076)". Peralatan tersebut meliputi *electronic noses*, *texture meter*, *image analysers*, *colour meters*, spektroskopi dan berbagai peralatan elektronik lainnya (Olafsdottira *et al.* 2004).

Penggunaan kemasan yang disertai dengan penentu nilai kemunduran mutu ikan juga telah dikembangkan, bahkan telah dikomersialkan, diantaranya adalah *Time Temperature Integrators-TTI* (Giannakouroua *et al.* 2005). Perkembangan kemasan ini mulai mengarah pada pengintegrasian kemasan dengan nilai kesegaran ikan itu sendiri (*Food Quality Indicator-FQI*) (Miller *et al.* 1999). Kemasan tersebut bereaksi langsung terhadap perubahan kimiawi atau biologi dari proses kemunduran mutu sehingga menandakan rusaknya produk (Pacquit *et al.* 2008). Byrne *et al.* (2002) menghitung nilai TVBN dari sampel ikan menggunakan film kemasan dengan pewarna indikator pH *cresol red*. Penelitian ini memberikan pandangan baru dalam pembuatan kemasan bersensor dan selanjutnya menginspirasi Pacquit *et al.* (2005) untuk membuat sensor yang sensitif terhadap kehadiran volatil amin untuk mendeteksi kebusukan ikan dengan memanfaatkan pewarna indikator pH *bromocresol green*.

Pengembangan film kemasan dengan bahan dasar kitosan masih merupakan penelitian yang paling banyak dilakukan (Tripathi *et al.* 2009). Film kemasan yang dibuat dari kitosan (CS) dan polivinil alkohol (PVA) memperlihatkan bahwa pada semua komposisi kimia dari kombinasi bahan penyusun tersebut memiliki interaksi ikatan hidrogen antarmolekul yang sangat kuat, sehingga dapat dihasilkan film kemasan yang baik (Bahrami *et al.* 2003; Srinivasa *et al.* 2003; Kumar *et al.* 2010).

Berdasarkan berbagai informasi tersebut, pengembangan *smart packaging* pendeteksi kebusukan ikan dengan bahan dasar kitosan, PVA dan pewarna indikator pH menjadi sangat menarik untuk dilakukan. *Smart packaging* pendeteksi kebusukan ikan ini pada masa depan diharapkan dapat diaplikasikan sebagai plastik film kemasan ikan segar, sehingga penilaian kebusukan ikan dapat dilakukan dengan lebih mudah, praktis, dan dapat menjamin mutu yang ada.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari karakteristik *smart packaging* berbahan

dasar kitosan-asetat, PVA, dan indikator *bromthymol blue* (BTB) dalam mendeteksi tingkat kebusukan filet ikan nila.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2008-Mei 2009 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Biofisika Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan IPA Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *smart packaging* meliputi larutan kitosan-asetat 1% (b/v), dengan spesifikasi kitosan dalam larutan asetat 1% (b/v) adalah derajat deasetilasi 80,45%, kadar abu 0,5%, total N 4,85%, viskositas 200 cps, dan warna larutan bening. Bahan lain adalah larutan PVA 1% (b/v) yang dibuat dari bubuk *polyvinyl alcohol* 72000 merek *Merck-Schuchardt* MDL number: MFCD00081922, berwarna putih dengan titik lebur 110 °C, serta larutan indikator *Bromthymol Blue* (BTB)/3',3''-Dibromothymolsulfonphthalein 0,2% dengan grade 103026 ACS, Reag. PhEur. Sampel ikan yang digunakan adalah ikan nila segar dari jenis *Oreochromis niloticus* dalam bentuk filet yang dibuat dari ikan utuh (berat rata-rata sebesar 500 g) yang kemudian diperlakukan sesuai SNI 01-4103.3-2006 tentang filet nila (*Tilapia* sp) Beku, Bagian 3: Penanganan dan Pengolahan.

Alat yang digunakan adalah pH meter merek *Orion 3-Star Benchtop pH Meter* dengan resolusi -2,000 to 19,999 atau 0 to 14 dalam larutan dan akurasi relatif $\pm 0,002$, *ultrasonic processor* dan USB 2000 Vis-NIR *spectrophotometer* dengan *software* komputer *Ocean Optics*, range antara 380-1100 μm .

Lingkup Penelitian

Preparasi bahan

Smart packaging dibuat berdasarkan acuan Byrne *et al.* (2002). Modifikasi meliputi selulosa-asetat disubstitusi dengan kitosan-asetat 1% sebanyak 48 mL, *dibutyl phthalate* (DPT) disubstitusi dengan PVA 1% sebanyak 48 mL dan *Cresol Red* disubstitusi dengan larutan indikator *Bromthymol Blue* (BTB) 0,2% sebanyak 4 mL.

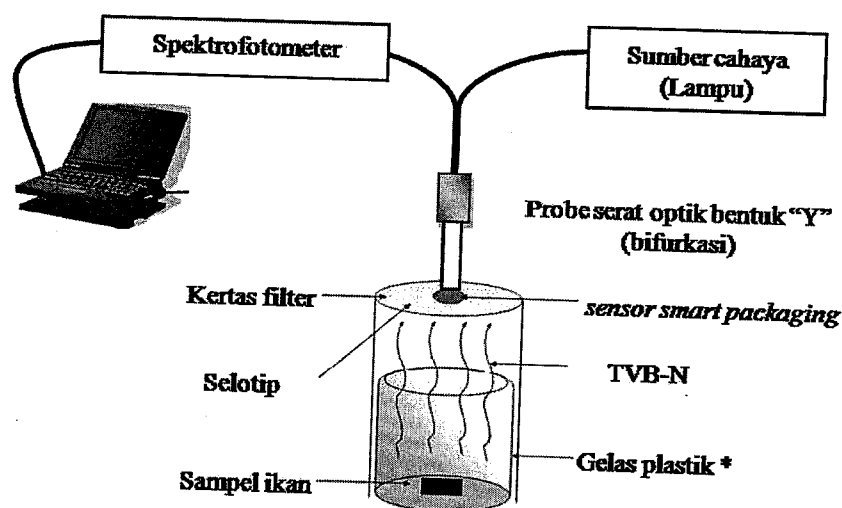
Penggantian *Cresol Red* dengan larutan indikator *Bromthymol Blue* (BTB) dikarenakan faktor kesesuaian campuran larutan dengan kitosan-asetat dan PVA, sedangkan penggunaan kitosan-asetat dan PVA didasarkan pada penelitian Bahrami *et al.* (2003).

Pencampuran larutan dilakukan menggunakan *ultrasonic processor* selama 60 menit, yang kemudian dilakukan pencetakan (*coated*) dengan menggunakan kaca preparat berukuran luas 1,5 cm² untuk selanjutnya dikeringkan pada suhu 50 °C selama 30 menit.

Metode analisis

Tingkat kesensitifan *smart packaging* dilakukan dengan melihat karakteristik sifat optik (absorbans) dan dinamika respons dari kinerja *smart packaging* dalam mendeteksi kebusukan filet ikan nila dengan alat USB 2000 Vis-NIR *spectrophotometer*. Pengamatan karakteristik ini dilakukan setiap 1 jam sekali pada suhu 30 °C selama waktu pengamatan 15 jam. Model rancangan instrumen uji *smart packaging* yang digunakan mengacu pada Byrne *et al.* (2002). Bentuk model rancangan instrumen uji *smart packaging* dapat dilihat pada Gambar 1.

Tingkat keakuratan *smart packaging* dengan alat USB 2000 Vis-NIR *spectrophotometer* selanjutnya dibandingkan dengan berbagai parameter uji kemunduran mutu ikan (Pacquit *et al.* 2005). Pengamatan parameter kebusukan ikan yang dilakukan meliputi uji TVBN (Vyncke 1996), nilai TBC (Gram *et al.*



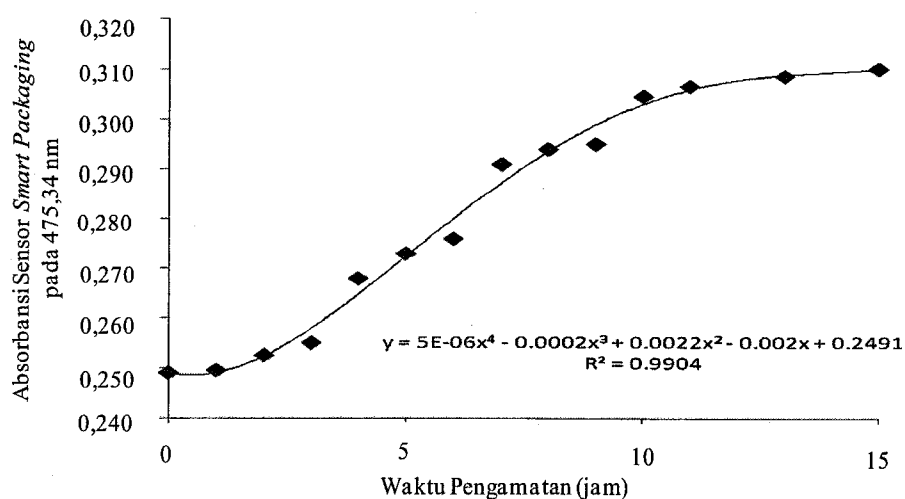
Gambar 1 Model rancangan instrumen uji *smart packaging* yang mengacu pada Byrne (2002)

1987), dan nilai pH (Marx *et al.* 1997). Pengujian tingkat kebusukan filet ikan nila dilakukan setiap 5 jam sekali pada suhu 30 °C selama waktu pengamatan 15 jam. Karakteristik sifat optik (dinamika respons) *smart packaging* dengan alat USB 2000 Vis-NIR *spectrophotometer* dan berbagai nilai tingkat kebusukan ikan dilakukan dengan melihat pola kecenderungan dari berbagai hasil pengujian tersebut melalui model regresi polinomial ortogonal (Clark 2002). Penyajian grafik dilakukan dengan menggunakan *software* Sigma Plot (Dalgaard *et al.* 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat kesensitifan *smart packaging*

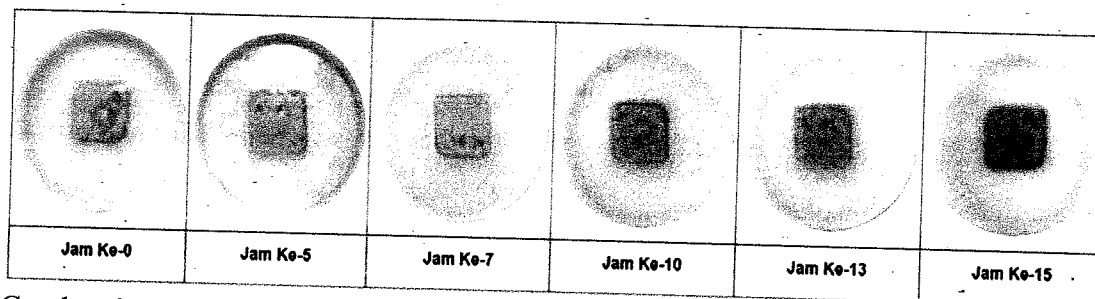
Dinamika respons *smart packaging* dengan bahan dasar kitosan-asetat, PVA dan indikator BTB dalam mendeteksi proses kemunduran filet ikan nila selama waktu pengamatan memperlihatkan bentuk kurva yang sigmoid (Gambar 2). Bentuk kurva ini serupa dengan Niu dan Lee (2000), yang menentukan indikator kesegaran ikan *carp* dan *herring* pada suhu 25 °C selama 25 jam dengan impedansi suara pada frekuensi 1000 Hz. Model regresi polinomial ortogonal dengan ordo 4 didapatkan bahwa semakin lama waktu pengamatan nilai absorbans *smart packaging* semakin meningkat. Persamaan regresi polinomial ortogonal antara waktu pengamatan proses kemunduran filet ikan nila dengan nilai absorbans *smart packaging* adalah $y = 5E-06x^4 - 0,0002x^3 + 0,0022x^2 - 0,002x + 0,2491$, dengan nilai determinasi sebesar 99,04%.



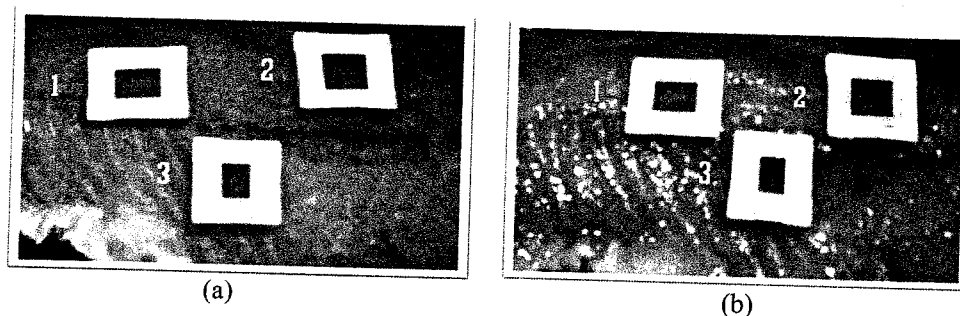
Gambar 2 Pola kecenderungan rata-rata nilai puncak absorbans spektrum *smart packaging* pada proses kebusukan filet ikan nila selama 15 jam

Hasil pengamatan terhadap perubahan warna *smart packaging* memperlihatkan bahwa terdapat 4 (empat) kelompok fase perubahan warna selama berlangsungnya proses kemunduran mutu filet ikan nila (Gambar 3), yaitu fase ke-1 (sensor berwarna kuning; jam ke 0-3), fase ke-2 (sensor berwarna kuning tua; jam ke 4-6), fase ke-3 (sensor berwarna hijau muda; jam ke 7-9), dan fase ke-4 (sensor berwarna hijau atau berwarna hijau kebiruan; jam ke 10-15).

Visualisasi perubahan warna *smart packaging* saat digunakan secara langsung sebagai kemasan ikan dalam mendeteksi kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan 15 jam pada kondisi suhu ruang (± 30 °C) dapat dilihat pada Gambar 4. Melihat perubahan nilai puncak absorbans tersebut, maka perkiraan dari nilai puncak absorbans ini diduga dari adanya komponen basa-basa volatil hasil proses degradasi senyawa-senyawa kimia pada filet ikan nila yang cenderung makin meningkat selama proses kebusukan. Duflos *et al.* (2006) dengan menggunakan spektroskopi massa untuk menentukan zat-zat volatil hasil degradasi proses kemunduran mutu dari tiga



Gambar 3 Pola perubahan warna *smart packaging* pada proses kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan 15 jam.



Gambar 4 Visualisasi perubahan warna *smart packaging* saat digunakan secara langsung sebagai kemasan dalam mendeteksi kebusukan filet ikan nila (a) pada awal pengamatan dan (b) akhir pengamatan. *Smart packaging* no 1 dan 2 diletakkan di dalam kemasan, sedangkan no 3 di luar kemasan

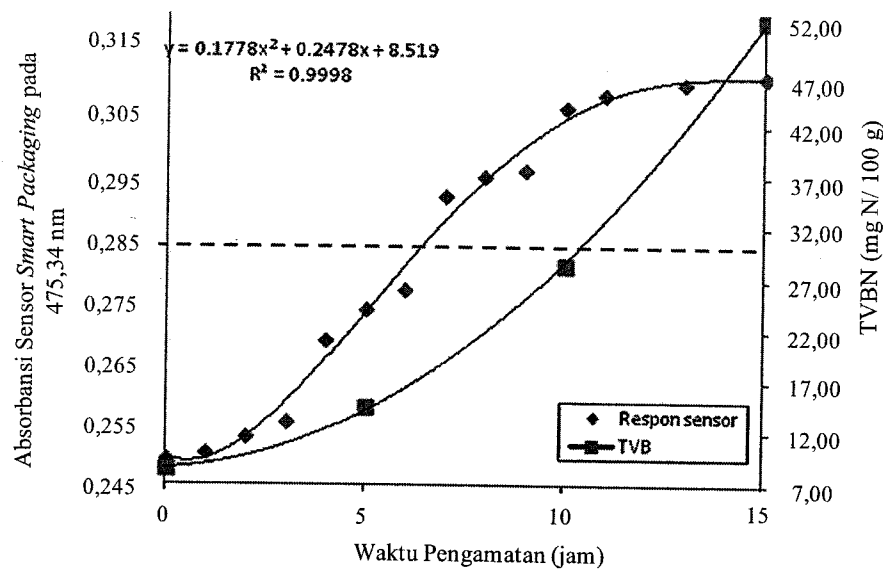
jenis ikan, yakni ikan *cod*, makarel, dan *whiting* pada suhu 4 °C selama penyimpanan hari ke-0 dan hari ke-10 menunjukkan bahwa terdapat sebanyak 20 komponen volatil yang teridentifikasi, diantaranya adalah amonia, dimetilamin, dan trimetilamin.

Analisis lebih lanjut menunjukkan komponen volatil bersifat basa, hal ini dilihat dari nilai pKa yang lebih besar dari 7. Kecenderungan pergeseran nilai absorbans sensor yang sama juga diperoleh dari Pacquit *et al.* (2005) yang menggunakan *Bromocresol Green* (BCG), dari film kemasan yang terbuat dari bahan dasar selulosa-asetat terlihat mengalami pergeseran nilai absorbans dari panjang gelombang 438 nm (wujud asam) menuju panjang gelombang 615 nm (wujud basa), ketika film kemasan tersebut ditempatkan pada lingkungan basa.

Perubahan warna diduga karena adanya interaksi antara gugus fungsi kitosan dan zat-zat basa volatil dari kebusukan ikan. Interaksi tersebut melibatkan gugus OH (karboksil) dari kitosan dan NH₃ (amonia) dari zat basa volatil yang dipengaruhi oleh ikatan hidrogen. Dugaan ini didasarkan Oberg *et al.* (2006), dimana dietilamin dan trietilamin terikat pada gugus hidroksil permukaan film silika sehingga menyebabkan *Bromocresol Green* (BCG) berubah warna. Gugus kitosan lainnya, yaitu NH yang memiliki muatan positif, diduga juga memiliki peranan penting dalam mengikat gugus OH bermuatan negatif yang dimiliki indikator BTB. Byrne *et al.* (2002) menegaskan bahwa perubahan warna terjadi akibat hilangnya proton (deprotonisasi) pada pewarna indikator akibat lingkungan sekitar yang basa. Akumulasi zat-zat volatil tersebut menyebabkan BTB mengalami bentuk deprotonisasi sehingga warna sensor berubah dari kuning menjadi hijau kebiruan.

Nilai total volatile basic nitrogen (TVBN)

Nilai TVBN proses kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan 15 jam menunjukkan adanya peningkatan (Gambar 5). Nilai TVBN filet ikan nila pada jam ke-0 adalah 8,40±0,40 mgN/100 g dan pada jam ke-5 menjadi sebesar 14,56±0,40 mgN/100 g, pada jam ke-10 sebesar 28,42±1,39 mgN/100 g dan pada jam ke-15 sebesar 52,36±1,98 mgN/100 g. Model regresi polinomial ortogonal dengan ordo 3 didapatkan bahwa semakin lama waktu pengamatan memperlihatkan adanya peningkatan terhadap nilai TVBN. Persamaan regresi polinomial antara waktu pengamatan proses kebusukan



Gambar 5 Kecenderungan peningkatan nilai TVBN dan nilai absorbans dinamika respons *smart packaging* pada proses kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan 15 jam

filet ikan nila dengan nilai TVBN adalah $y=0,1778x^2+0,2478x+8,519$ dengan nilai determinasi sebesar 99,98%.

Peningkatan nilai TVBN apabila dibandingkan dengan data dinamika respon *smart packaging* menunjukkan bahwa pola data yang ada adalah sama, yaitu makin meningkat sejalan dengan makin lamanya waktu pengamatan dari proses kebusukan filet ikan nila. Nilai TVBN umumnya digunakan sebagai standar penilaian terhadap kemunduran mutu ikan (Castro *et al.* 2006). Pengamatan terhadap hubungan antara nilai TVBN dengan analisis kebusukan dan nilai TPC ikan mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) yang disimpan pada suhu 7 °C menunjukkan bahwa nilai TVBN cenderung meningkat dengan cepat, pada hari ke-3 nilai TVBN telah mencapai 30 mg N/100 g daging ikan, yang merupakan batas akhir penilaian kebusukan ikan (Antoine *et al.* 2002). Duflos *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa nilai TVBN dari ikan *pouting* segar yang disimpan dalam es dengan suhu penyimpanan 0 °C selama 8 hari adalah sebesar 29,9 mgN/100 g dan sebesar 40,1 mgN/100 g pada ikan *whitting*, yang telah melewati ambang batas kebusukan ikan.

Nilai total bacterial counts (TBC)

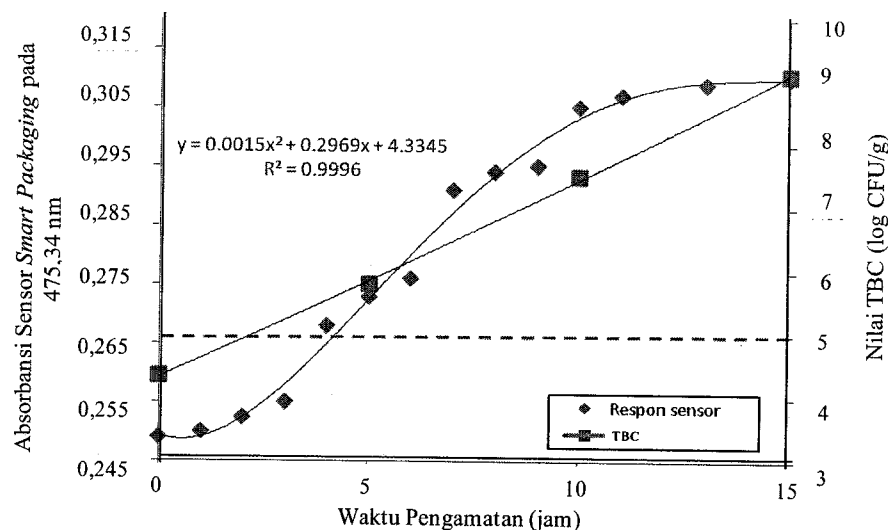
Jumlah koloni bakteri hasil kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan

15 jam menunjukkan telah terjadinya peningkatan (Gambar 6). Pada jam ke-0, nilai TBC adalah sebesar $\log 4,35 \pm 0,07$ ($2,3 \times 10^4$) CFU/g, kemudian meningkat pada jam ke-5 menjadi $\log 5,81 \pm 0,43$ ($8,1 \times 10^5$) CFU/g. Pada waktu pengamatan jam ke-10, nilai TBC kembali meningkat sebesar $\log 7,5 \pm 0,54$ ($4,5 \times 10^7$) CFU/g. Peningkatan nilai TBC yang cukup tinggi terjadi pada waktu pengamatan jam ke-15 yaitu sebesar $\log 9,11 \pm 0,05$ ($1,3 \times 10^9$) CFU/g. Model regresi polinomial ortogonal dengan ordo 2 didapatkan bahwa semakin lama waktu pengamatan proses kebusukan filet ikan nila memperlihatkan adanya peningkatan. Persamaan regresi polinomial ortogonal antara waktu pengamatan proses kebusukan filet ikan nila dengan nilai TBC adalah $y = 0,0037x^2 + 0,2687x + 4,4085$, dengan nilai determinasi sebesar 99,98%.

Peningkatan nilai TBC apabila dibandingkan dengan data dinamika respons *smart packaging* menunjukkan bahwa pola data yang ada adalah sama, yaitu makin meningkat sejalan dengan makin lamanya waktu pengamatan. Gram dan Dalgaard (2002) melaporkan bahwa ikan yang disimpan dengan pemberian es selama 2-3 minggu, bakteri mengalami peningkatan dengan cepat, hingga mencapai sekitar 10^8 - 10^9 cfu/g daging ikan pada waktu akhir pengamatan. Selanjutnya juga disampaikan bahwa daging ikan yang mengandung lebih dari 10^5 bakteri per gram telah menunjukkan mutu yang sangat rendah bahkan sudah tidak layak lagi untuk dipasarkan. Hasil penelitian Lin *et al.* (2006) yang menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) dengan peralatan SW-NIR menunjukkan bahwa jumlah log CFU/g selama proses kebusukan filet *rainbow trout* yang disimpan pada suhu 21 °C semakin meningkat hingga mencapai $\log 7,46$ CFU/g mikroba pada akhir pengamatan jam ke-24. Perhitungan jumlah bakteri pada daging segar ikan *Whitting* dan *Pouting* yang dilakukan Duffos *et al.* (2006) memperlihatkan juga adanya peningkatan yang nyata terhadap jumlah bakteri selama penyimpanan 10 hari pada suhu 0 °C, dan laju peningkatan bakteri pada ikan *Whitting* lebih cepat daripada ikan *Pouting*.

Nilai pH

Nilai pH selama proses kebusukan filet ikan nila pada waktu pengamatan 15 jam menunjukkan bahwa nilai pH cenderung berfluktuasi. Pada jam ke-0, nilai pH filet ikan nila segar adalah sebesar $6,50 \pm 0,08$. Nilai pH kemudian menurun pada jam ke-

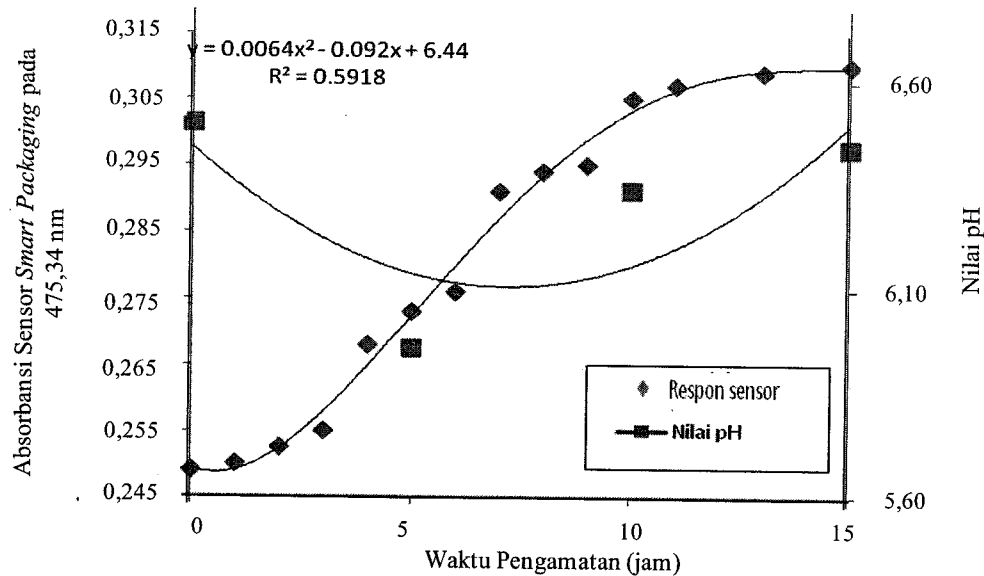


Gambar 6 Peningkatan nilai TBC dan nilai absorbans dinamika respons *smart packaging* pada proses kebusukan filet ikan nila selama waktu pengamatan 15 jam.

5, yaitu sebesar $5,96 \pm 0,12$. Pada pengamatan jam ke-10, nilai pH kembali meningkat menjadi $6,34 \pm 0,73$. Peningkatan nilai pH tersebut terus berlanjut pada pengamatan jam ke-15 yaitu menjadi $6,44 \pm 0,25$.

Model regresi polinomial ortogonal ordo 2 menunjukkan bahwa selama waktu pengamatan, nilai pH berubah-ubah (Gambar 7). Persamaan regresi polinomial antara waktu pengamatan proses kebusukan filet ikan nila adalah $y = 0,006x^2 - 0,092x + 6,44$ dengan nilai determinasi sebesar 59,10%. Apabila diperhatikan data nilai pH yang diperoleh, waktu pengamatan jam ke-5 turun dengan tajam jika dibandingkan dengan jam ke-0. Hal ini diduga dari makin meningkatnya produksi asam laktat yang berasal dari proses pemecahan glikogen filet ikan nila. Hasil yang sama juga dikemukakan Duran dan Talas (2009), bahwa jumlah asam laktat dalam daging ikan terus meningkat setelah ikan itu mati.

Peningkatan nilai pH apabila dibandingkan dengan data dinamika respons *smart packaging* menunjukkan bahwa pola data nilai pH cenderung berubah-ubah, namun kecenderungan ini semakin sama yaitu makin meningkat sejalan dengan makin lamanya waktu pengamatan dari proses kebusukan filet ikan nila. Hasil penelitian Surette *et al.* (1988) pada ikan *cod* yang telah mati ditemukan konsentrasi asam laktat dalam daging yang makin tinggi sejalan dengan nilai pH yang makin rendah, yaitu sebesar 6,8.



Gambar 7 Peningkatan nilai pH dan nilai absorbans dinamika respons *smart packaging* pada proses kebusukan filet ikan nila selama 15 jam

Penurunan nilai pH sesaat setelah mati juga dialami jenis-jenis ikan yang lain. Data FAO (1995) menyebutkan bahwa pada ikan *cod*, pH cenderung turun dari 6,8 menjadi 6,1 hingga 6,5, pada ikan makarel pH akhir sebesar 5,8 hingga 6,0; pada ikan tuna dan halibut, nilai pH akhir sebesar 5,4 atau 5,6. Suasana asam pada ikan sidat menurut Aranishi *et al.* (2004) menyebabkan enzim katepsin menjadi aktif dan menguraikan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa peptida, asam amino, dan amonia yang bersifat basa, sehingga pada penyimpanan jam ke-10 nilai pH filet nila segar kembali naik. Penelitian yang dilakukan Lin *et al.* (2006) terhadap kebusukan ikan *rainbow trout* yang disimpan pada suhu 4 °C menggunakan spektroskopi infra merah juga menunjukkan pola naik dan turun pada nilai pH, pada hari pertama nilai pH sebesar 6,50 dan hari ke-8 nilai pH turun menjadi 6,33.

KESIMPULAN

Smart packaging berbahan dasar kitosan-asetat dan PVA mampu mendeteksi kebusukan filet ikan nila yang ditunjukkan dengan peningkatan nilai TVBN dan TBC.

DAFTAR PUSTAKA

- Antoine FR, Wei CI, Otwell WS, Sims CA, Littell RC, Hogle AD, Marshall MR. 2002. TVB-N correlation with odor evaluation and aerobic plate count in mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*). *Journal of Food Science* 67(9):3210-3214.

- Aranishi F, Mano N, Hirose H. 2004. Fluorescence localization of epidermal cathepsins L and B in the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry* 19(3):205-209.
- Bahrami SB, Kordstani SS, Mirzadeh H, Mansoori P. 2003. Poly (vinyl alcohol)-chitosan blends: preparation, mechanical and physical properties. *Iranian Polymer Journal* 12:139-146.
- Byrne L, Lau KT, Diamond D. 2002. Monitoring of headspace total volatile basic nitrogen from selected fish species using reflectance spectroscopic measurements of pH sensitive films. *Analyst* 127:1338-1341.
- Castro P, Padro JCP, Cansino MJC, Vela'zquez ES, De Larriva RM. 2006. Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food Control* 17:245-248
- Clark VP. 2002. Orthogonal polynomial regression for the detection of response variability in event-related fMRI. *Neuroimage* 17:344-363
- Dalgaard P, Buch P, Silberg S. 2002. Seafood Spoilage Predictor-development and distribution of a product specific application software. *International Journal of Food Microbiology* 73:343-349.
- Duflos G, Coin VM, Cornu M, Antinelli JF, Malle P. 2006. Determination of volatile compounds to characterize fish spoilage using headspace/mass spectrometry and solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 86:600-611
- Duran A, Talas ZS. 2009. Biochemical changes and sensory assessment on tissues of carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) during sale conditions. *Fish Physiology and Biochemistry* 35:709-714.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 1996. *Fisheries Technical Paper*. No.348
- Giannakouroua MC, Koutsoumanis K, Nychase GJE, Taoukisa PS. 2005. Field evaluation of the application of time temperature integrators for monitoring fish quality in the chill chain. *International Journal of Food Microbiology* 102:323-336.
- Gram L, Dalgaard P. 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology* 13:262-266
- Gram L, Trolle G, Huss HH. 1987. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 4:65-72
- Helali S, Abdelghania A, Jaffrezic-Renault N, Trikalitis PN, Efstathioud CE, Prodromidise MI. 2010. On-site monitoring of fish spoilage using vanadium pentoxide xerogel modified interdigitated gold electrodes. *Electrochimica Acta* 55:4256-4260.
- Kim MK, Mah JH, Hwang HJ. 2009. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *Food Chemistry* 116:87-95.

- Kumar HMPN, Prabhakar MN, Prasad CV, Rao KM, Reddy TV AK, Rao KC, Subha MCS. 2010. Compatibility studies of chitosan/PVA blend in 2% aqueous acetic acid solution at 30°C. *Carbohydrate Polymers* 82(2): 251-255
- Lin M, Mousavi M, Al-Holy M, Cavinato AG, Rasco BA. 2006. Rapid near infrared spectroscopic method for the detection of spoilage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. *Journal of Food Science* 71(1):S18-23.
- Lokuruka MNI, Regenstein JM. 2006. Handling and storage of atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) on biogenic amine production. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 15(4):17-33.
- Marx H, Brunner B, Weinzierl W, Hofmann R, Stolle A. 1997. Methods of stunning freshwater fish: Impact on meat quality and aspects of animal welfare. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* 204A:282-286.
- Miller DW, Wilkes JG, Conte ED. 1999. Food quality indicator device, *PCT International Patent Application WO 99/04256*.
- Niu J, Lee JY. 2000. A new approach for the determination of fish freshness by electrochemical impedance spectroscopy. *Journal of Food Science* 65(5): 780-785.
- Nollet LML, Toldrá F. 2010. *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. Boca Raton : CRC Press and Taylor & Francis Group LLC.
- Oberg KI, R Hodyss, Beauchamp JL. 2006. Simple optical sensor for amine vapors based on dyed silica microspheres. *Sensors and Actuators B* 115:79-85
- Olafsdottira G, Nesvadbab P, DiNatalec C, Careched M, Oehlenschla"gere J, Tryggvado'ttira S, Schubringe R, Kroegere M, HeiafK, EsaiassenfM, Macagnanoc A, Jørgensen B. 2004. Multisensor for fish quality determination. *Trends in Food Science and Technology* 15(2):86-93.
- Pacquit A, Crowley K, Diamond D. 2008. Smart packaging technologies for fish and seafood products. Di dalam: Kerry J, P Butler (Eds). *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. England: John Wiley & Sons Ltd.
- Pacquit A, Lau KT, McLaughlin H, Frisby J, Quilty B, Diamond D. 2005. Development of a volatile amine sensor for the monitoring of fish spoilage. *Talanta* 69(2): 515-520.
- Srinivasa PC, Ramesh MN, Kumar KR, Tharanathan RN. 2003. Properties and sorption studies of chitosan-polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers* 53:431-438.
- Surette ME, Gill TA, LeBlanc PJ. 1988. Biochemical basis of postmortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and it's relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36:19-22.
- Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta PK. 2009. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 45:372-376.

- Vyncke W. 1996. Comparison of the official EC method for the determination of total volatile bases in fish with routine methods. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 47:110-112.
- Wu TH, Bechtel PJ. 2008. Ammonia, dimethylamine, trimethylamine, and trimethylamine oxide from raw and processed fish by-products. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 17(1):27-38.