

PENGARUH SUHU PEMELIHARAAN DAN MASA SIMPAN DAGING IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) PADA PENYIMPANAN SUHU -20° C TERHADAP JUMLAH TOTAL BAKTERI

*Effect of Maintenance Temperature and Shelf Life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillet Stored in Temperature -20 °C on Total Count Bacteria*

Nurdiani Muliana Sitakar^{1*}, Nurliana², Faisal Jamin³, Mahdi Abrar³, Zakiah Heryawati Manaf³, dan Sugito⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author: nurdiani_sitakar@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh masa simpan daging ikan nila terhadap jumlah total bakteri daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang disimpan pada suhu -20° C dan pada waktu simpan yang berbeda. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan petak terpisah (*split plot*) dengan 2 perlakuan pemeliharaan suhu yaitu 29° C dan 35° C. Hewan coba yang digunakan adalah ikan nila yang dipelihara di laboratorium akuatik Fakultas Kedokteran Hewan. Kelompok penyimpanan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel daging ikan nila dan lima masa simpan yaitu 0 (P0), 7 (P1), 14 (P2), 21 (P3), dan 28 (P4) hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri pada daging ikan melebihi batas normal cemaran mikroba berdasarkan SNI 7388:2009 yaitu 5×10^5 cfu/g. Jumlah bakteri daging ikan nila pada suhu pemeliharaan 29° C pada perlakuan P0; P1; P2; P3; dan P4 masing-masing adalah $6,55 \pm 0,19$; $6,99 \pm 0,07$; $6,96 \pm 0,08$; $6,96 \pm 0,28$; dan $7,18 \pm 0,15$. Jumlah bakteri daging ikan nila pada suhu pemeliharaan 35° C pada perlakuan P0; P1; P2; P3; dan P4 masing-masing adalah $6,68 \pm 0,10$; $7,00 \pm 0,05$; $7,19 \pm 0,12$; $7,24 \pm 0,12$; dan $7,35 \pm 0,09$. Jumlah total bakteri pada daging ikan nila dipengaruhi oleh suhu pemeliharaan dan suhu penyimpanan. Disimpulkan bahwa lama masa simpan dan suhu pemeliharaan ikan nila yang berbeda dapat memengaruhi jumlah total bakteri pada daging ikan nila.

Kata kunci: ikan nila, bakteri, suhu

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of storage time on the total number of bacteria in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) flesh stored at a temperature of 20° C and at different retention time. This study used split plot completely randomized design (CRD) with 2 treatment maintenance temperature of 29° C and 35° C. Experimental animals used were 30 Nile tilapia fish grouped into five storage group namely 0 (P0), 7 (P1), 14 (P2), 21 (P3), and 28 (P4) days. The results showed that total number of bacteria found in fish flesh was higher than normal standard based on ISO 7388:2009 which was 5×10^5 cfu/g. The average of total numbers of bacteria in flesh of Nile tilapia fish reared in 29° C on P0, P1, P2, P3, and P4 were $6,55 \pm 0,19$, $6,99 \pm 0,07$, $6,96 \pm 0,08$, $6,96 \pm 0,28$, and $7,18 \pm 0,15$, respectively. While the average of total numbers of bacteria in flesh of Nile tilapia fish maintained in temperature of 35° C were $6,68 \pm 0,10$, $7,00 \pm 0,05$, $7,19 \pm 0,12$, $7,24 \pm 0,12$, and $7,35 \pm 0,09$, respectively. Total number of bacteria in Nile tilapia flesh was affected significantly ($P < 0,05$) by temperature and storage temperature maintenance. In conclusion, storage time and different temperature maintenance of Nile tilapia can increase total amount of bacteria on fish flesh.

Key words: Nile tilapia, bacteria, temperature

PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan komoditas perairan darat yang banyak digemari oleh masyarakat, baik lokal maupun mancanegara. Ikan merupakan sumber bahan pangan yang bermutu tinggi, karena mengandung protein yang sangat baik dibutuhkan oleh tubuh manusia. Di samping itu, ikan merupakan salah satu jenis bahan pangan yang mudah rusak (*highly perishable food*), sehingga mutu ikan mudah menurun. Tubuh ikan mengandung protein dan air cukup tinggi sehingga merupakan media bagi pertumbuhan bakteri pembusuk dan mikroba yang lain.

Kramer dan Twigg (1983), mengklasifikasikan mutu berdasarkan dua karakterisasi, yaitu karakter fisik/tampak; dan karakter tersembunyi (nilai gizi dan keamanan mikrokimia). Kedua karakter mutu tersebut dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal ikan. Faktor internal berasal dari produk perikanan (jenis kelamin, ukuran, spesies, perkawinan dan cacat).

Faktor eksternal berasal dari lingkungan, seperti lokasi/kondisi budidaya atau penangkapan, jarak transportasi, mikroba dan parasit, kandungan senyawa beracun atau polutan.

Affandi dan Tang (2002), menyatakan bahwa racun, suhu ekstrim, tekanan osmotik, infeksi dapat menyebabkan stres. Stres merupakan respons fisiologis yang disebabkan kondisi eksternal berupa panas (Anonimus, 2011). Efek kenaikan suhu air pada 34° C selama 2 jam dapat menyebabkan stres pada ikan (Joseph dan Sujatha, 2010). Stres akibat peningkatan suhu air pada ikan berdampak terhadap performa dan kesehatan ikan (El-Sherif dan El-Feky, 2009). Keadaan udara seperti cuaca panas, berawan, hujan, gelombang laut yang tinggi akan mempercepat proses pembusukan/kerusakan ikan.

Salah satu masalah yang sering timbul pada sektor perikanan adalah mempertahankan mutu. Mutu ikan dapat terus dipertahankan jika ikan tersebut ditangani dengan hati-hati (*carefull*), bersih (*clean*), disimpan

dalam ruangan dengan suhu yang dingin (*cold*), dan cepat (*quick*). Teknik penanganan ikan yang paling umum dilakukan untuk menjaga kesegaran ikan adalah penggunaan suhu rendah. Selain itu, pada kondisi suhu rendah pertumbuhan bakteri pembusuk dan proses-proses biokimia yang berlangsung dalam tubuh ikan yang mengarah pada kemunduran mutu menjadi lebih lambat (Gelman *et al.*, 2001).

Pendinginan merupakan salah satu cara proses pengawetan yang menggunakan suhu rendah untuk menghambat aktivitas enzim dan mikrob. Pendinginan akan memperpanjang masa simpan ikan. Pada suhu 15-20° C, ikan dapat disimpan hingga sekitar dua hari, pada suhu 5° C tahan selama 5-6 hari, sedangkan pada suhu 0° C dapat mencapai 9-14 hari (Diyantoro, 2007). Penggunaan suhu rendah yang paling sering dan mudah dilakukan adalah pemberian es. Es merupakan media pendingin yang memiliki beberapa keunggulan yaitu mempunyai kapasitas pendingin yang besar, tidak membahayakan konsumen, lebih cepat mendinginkan ikan, harganya relatif murah, dan mudah dalam penggunaannya (Ilyas, 1983). Suhu yang lazim dipertahankan selama proses penyimpanan ikan nila berkisar antara 0-5° C.

Oleh sebab itu, perlu diketahui pengaruh kondisi pemeliharaan ikan terhadap mutu ikan nila yang disimpan pada suhu dingin. Mutu ikan berkaitan dengan tingkat kesegaran ikan. Proses penurunan mutu (deteriorasi) pada ikan disebabkan oleh tiga macam kegiatan yaitu autolisis, kimiawi, dan bakteriologis (Ilyas, 1983). Perlakuan teknik penanganan ikan berpengaruh terhadap tekstur, bau, rasa, dan total mikrob. Perlakuan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap penampakan luar ikan, tekstur, bau, rasa, aroma, *total plate count* (TPC), pH, dan kadar air. Untuk memperoleh mutu ikan segar (ikan nila) sampai jangka waktu tertentu sebaiknya telah ditangkap segera dimatikan kemudian dicuci dan disimpan lemari pendingin.

MATERI DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang telah dipelihara dengan berat badan berkisar 30-40 g yang berasal dari Lambaro Aceh Besar. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan sampel daging ikan nila. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan petak terpisah (*split plot*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan petak terpisah (*split plot*) dengan 2 perlakuan pemeliharaan suhu yaitu 29° C dan 35° C. Hewan coba yang digunakan adalah ikan nila yang dipelihara di laboratorium akuatik Fakultas Kedokteran Hewan. Kelompok penyimpanan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel daging ikan nila dan lima masa simpan yaitu 0 (P0), 7 (P1), 14 (P2), 21 (P3), dan 28 (P4) hari. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri atas tiga sampel daging ikan nila sebagai pengulangan.

Pengambilan Sampel

Ikan nila dimasukkan ke dalam wadah yang berisi air dan minyak cengkeh untuk proses anestesi. Sampel diambil dengan menggunakan pisau dan pinset, untuk memotong bagian ikan dan memisahkan daging dari kulit dengan menggunakan pinset, kemudian daging ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam plastik steril. Selanjutnya, sampel dibawa ke Laboratorium Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk dilakukan pemeriksaan.

Pengenceran Bakteri

Daging ikan ditimbang sebanyak 5 g secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril dan ditambahkan 50 ml akuades ke dalam kantong steril yang berisi daging ikan, dengan menggunakan *stomacher* dihomogenkan selama 1 menit. Selanjutnya, daging ikan nila yang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam gelas beker yang berisi 45 ml media *buffered peptone water* (BPW) 0,1%, dan dikocok sampai larutan homogen sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Kemudian tabung yang berisi masing-masing 9 ml media BPW disusun sejajar dengan cawan petri yang masing-masing diberi tanda 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Dengan pipet 1 diambil 1 ml ekstrak daging dan dimasukkan ke dalam cawan petri 10^{-1} dan 1 ml ke dalam tabung reaksi 10^{-2} . Dengan menggunakan pipet 2, larutan diaduk pada tabung reaksi 10^{-2} dengan cara menghisap dan melepaskan kembali sebanyak delapan kali, lalu dipindahkan 1 ml ke dalam cawan petri 10^{-2} dan 1 ml ke dalam tabung reaksi 10^{-3} . Selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama pada pengenceran 10^{-6} . Kemudian 10 ml media *plate count agar* (PCA) steril ditambahkan pada masing-masing cawan petri. Cawan petri dihomogenkan dengan membentuk angka delapan supaya larutan ekstrak daging bercampur merata didalam bahan pupukan. Setelah membeku, cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator 37° C dengan posisi terbalik selama 24 jam.

Penghitungan Jumlah Koloni

Metode yang digunakan untuk menghitung jumlah bakteri adalah perhitungan jumlah bakteri angka lempeng (ALT). Total metode jumlah koloni bakteri yang dihitung cawan petri yang mempunyai koloni bakteri 25–250 koloni. Perhitungan metode cawan menggunakan rumus sebagai berikut :

Faktor pengenceran = pengenceran x jumlah koloni bakteri yang tumbuh

$$\text{Jumlah Koloni (SPC)} = \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran Percawan}}$$

Jumlah koloni terbesar : Jumlah koloni terkecil

Syarat : Jika kurang dari 2 : Dipakai pengencer terbesar

Jika lebih dari 2 : Dipakai rata-rata

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varian (Anava) pola *split plot* dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah nilai TPC daging ikan nila pada perlakuan P1 dengan suhu pemeliharaan $29 \pm 1^\circ \text{C}$ dan perlakuan P2 dengan peningkatan suhu pemeliharaan $35 \pm 1^\circ \text{C}$. Kedua kelompok perlakuan dilakukan pada penyimpanan suhu -20°C selama 28 hari berturut-turut disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan dari hasil analisis data terhadap jumlah total bakteri menunjukkan bahwa suhu pemeliharaan berbeda secara nyata ($P < 0,05$), sedangkan lama penyimpanan berbeda secara nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah total bakteri daging ikan nila (Tabel 1). Namun, tidak terdapat interaksi antara suhu pemeliharaan dengan lama penyimpanan. Fakta ini mengindikasikan bahwa suhu pemeliharaan dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap jumlah total bakteri daging ikan nila. Suhu pemeliharaan berbeda secara nyata terhadap jumlah total bakteri daging ikan nila menunjukkan bahwa hasil uji BNT pada suhu 29°C mempunyai rata-rata total bakteri lebih rendah yaitu 6,926 dibanding pada suhu 35°C dengan rata-rata total bakteri yaitu 7,116.

Jumlah total bakteri daging ikan nila menunjukkan bahwa perlakuan tertinggi terjadi pada peningkatan suhu 35°C . Hal ini sesuai dengan penelitian Pudjirahaju *et al.* (2006) bahwa peningkatan suhu panas yang tepat adalah $\pm 30^\circ \text{C}$. Diduga, suhu tersebut dapat menyebabkan kisaran perkembangan bakteri sehingga dapat menghasilkan jumlah bakteri yang lebih banyak dari pada kontrol (tanpa peningkatan suhu).

Selama penyimpanan terjadi peningkatan jumlah total bakteri yang berbeda sangat nyata ($P < 0,05$). Hasil uji BNT menunjukkan bahwa jumlah total bakteri pada penyimpanan 0 hari jumlah bakteri berbeda secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan penyimpanan 7 hari dan berbeda secara tidak nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan penyimpanan 14, 21, dan 28 hari. Jumlah bakteri pada penyimpanan 14, 21, dan 28 hari lebih tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan penyimpanan 0 hari. Penyimpanan 7, 14, dan 21 hari jumlah total bakteri berbeda sangat nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan penyimpanan 28 hari.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap daging ikan nila pada suhu 29°C dengan lama penyimpanan pada suhu tetap yaitu suhu -20°C , diperoleh bahwa jumlah total bakteri pada ikan sebelum penyimpanan yaitu $6,55 \times 10^7$ cfu/g. Pada hari ke-7 terjadi peningkatan jumlah bakteri yaitu $6,99 \times 10^7$ cfu/g, pada hari ke 14 jumlah bakteri yaitu $6,96 \times 10^7$

cfu/g, pada hari ke-21 jumlah bakteri yang stabil yaitu $6,96 \times 10^7$ cfu/g, kemudian pada hari ke-28 terjadi kembali peningkatan jumlah bakteri yaitu $7,18 \times 10^7$ cfu/g.

Setiap perlakuan menunjukkan perubahan jumlah bakteri. Pada penyimpanan 0 hari sampai pada perlakuan penyimpanan selama 7, 14, dan 21 hari terjadi peningkatan jumlah bakteri. Selanjutnya, pada perlakuan terakhir yaitu pada masa penyimpanan 28 hari terjadi peningkatan jumlah bakteri yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan terdapat beberapa bakteri yang walaupun pada suhu dingin bakteri tersebut tidak mati. Bakteri ini adalah bakteri yang hidup pada suhu rendah yaitu pada suhu $0-30^\circ \text{C}$.

Pada suhu 35°C , setiap perlakuan menunjukkan perubahan jumlah bakteri dari sebelum penyimpanan sampai penyimpanan selama 28 hari terjadi peningkatan jumlah bakteri. Hal ini disebabkan bakteri mengalami fase pertumbuhan logaritmik. Fase pertumbuhan logaritmik adalah fase dimana bakteri membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik, bakteri dapat diklasifikasikan atas dasar suhu optimum untuk pertumbuhannya. Menurut Fardiaz (1992), pertumbuhan mikroorganisme terjadi pada suhu dengan kisaran antara suhu minimum dan maksimum, yaitu $\pm 30^\circ \text{C}$. Oleh karena itu, kecepatan pertumbuhan mikrob dapat diubah dengan mengatur suhu tersebut.

Kualitas air yang diukur adalah suhu. Suhu air berkisar antara $29-35^\circ \text{C}$. Peningkatan suhu panas diberikan setelah masa adaptasi suhu air, saat ikan dipelihara mengalami zona suhu nyaman. Peningkatan suhu panas diberikan dengan tujuan mengetahui pengaruh peningkatan suhu pemeliharaan terhadap jumlah total bakteri dan perlakuan suhu normal dilakukan sebagai pembandingan. Menurut Houlihan *et al.* (1993), perubahan suhu lingkungan sebesar 10°C secara akut menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap laju proses fisiologi dan metabolisme ikan.

Kerusakan ikan oleh bakteri terjadi karena bakteri masuk ke dalam tubuh ikan sejak ikan masih dipelihara maupun ikan yang sudah berada pada proses penyimpanan. Penyimpanan daging ikan nila pada suhu rendah dapat memperpanjang masa simpan daging ikan nila tersebut, karena selama pendinginan pertumbuhan mikrob dapat diperlambat atau dicegah. Prinsip dasar penyimpanan pada suhu rendah adalah menghambat pertumbuhan mikroba dan menghambat reaksi-reaksi enzimatik, kimiawi, dan biokimiawi. Penyimpanan beku pada suhu sekitar -18°C akan mencegah kerusakan mikrobiologis, dengan persyaratan tidak terjadi perubahan suhu yang besar (Buckle *et al.*,

Tabel 1. Rata-rata $\pm$ SD jumlah total bakteri

Perlakuan (suhu)	Lama penyimpanan (hari)				
	0	7	14	21	28
$29^\circ \text{C} \pm 1$	$6,55 \pm 0,19^{\text{aA}}$	$6,99 \pm 0,07^{\text{aB}}$	$6,96 \pm 0,08^{\text{aB}}$	$6,96 \pm 0,28^{\text{aB}}$	$7,18 \pm 0,15^{\text{aBC}}$
$35^\circ \text{C} \pm 1$	$6,68 \pm 0,10^{\text{aA}}$	$7,00 \pm 0,05^{\text{bB}}$	$7,19 \pm 0,12^{\text{bB}}$	$7,24 \pm 0,12^{\text{bB}}$	$7,35 \pm 0,09^{\text{bBC}}$

^{a, b}Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

^{A, B, C}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

1985). Akan tetapi, pendinginan lambat dapat merusak populasi mikrob. Bentuk mikrob yang sangat peka adalah sel-sel vegetatif. Spora biasanya tidak rusak karena pembekuan (Desrosier *et al.*, 1988).

Berdasarkan hasil uraian di atas dapat dikemukakan bahwa ikan yang disimpan di dalam suhu -20°C , jumlah bakterinya sudah melebihi standar maksimum cemaran mikrob dan sudah tidak layak untuk dikonsumsi lagi. Batas maksimal cemaran mikrob yaitu 5×10^5 CFU/g (SNI 7388:2009). Namun, tidak bisa dipungkiri ada faktor-faktor lain yang memengaruhi ikan tersebut tidak layak untuk dikonsumsi lagi, baik dari faktor fisika maupun kimia. Faktor fisika meliputi kondisi fisik dari ikan tersebut seperti perubahan warna daging yang menjadi coklat gelap serta tekstur daging yang sudah tidak kenyal lagi, sedangkan untuk perubahan kimia yaitu terjadi perubahan protein, perubahan lemak, dan dehidrasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang berbeda dari peningkatan suhu dan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap jumlah total bakteri. Kombinasi antara perbandingan peningkatan suhu 35°C dan suhu kontrol 29°C dengan lama penyimpanan yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah total bakteri pada daging ikan nila. Selain dari itu dapat diasumsikan juga bahwa semakin tinggi suhu pemeliharaan dan semakin lama penyimpanan suhu -20°C , maka semakin banyak juga jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

KESIMPULAN

Disimpulkan bahwa lama masa simpan dan suhu pemeliharaan ikan nila yang berbeda dapat memengaruhi jumlah total bakteri pada daging ikan nila.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. dan U. Tang. 2002. **Fisiologi Hewan Air**. University Riau Press, Riau.
- Anonimus. 2011. Stress pada Ikan Nila. <http://akuakultur.com/2011/strespadaikan.html>
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet dan. M. Wooton. 1985. **Ilmu Pangan**. Diterjemahkan Purnomo, H. dan Afiono. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta.
- Desrosier, N.W. 1988. **Teknologi Pengawetan Pangan**. UI-Press, Jakarta
- Diyantoro. 2007. Pengaruh Lama Penyimpanan yang Berbeda dalam Campuran Air Laut dan Es terhadap Kemunduran Mutu Kesegaran Ikan Nila. <http://elibrary.ub.ac.id/handle/123456789/24788>.
- El-Sherif, M.S. and A.M.I. El-Feky. 2009. Performance of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings II. Influence of different water temperature. **Int. J. Agric. Biol.** 11:301-305.
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan 1**. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gelman, A., L. Glatman, V. Drabkin, and S. Harpaz. 2001. Effect of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **J. Food Protection**. 64:1584-1591.
- Houlihan, D.F., E. Mathers, and A. Foster. 1993. Biochemical Correlates of Growth in Fish. In **Fish Ecophysiology**. J.C. Rankin and F.J. Jensen (Eds.). Chapman and Hall, London.
- Ilyas, S. 1983. **Teknologi Refrigerasi Hasil Perikanan**. CV Paripurna, Jakarta.
- Joseph, J.B. and S.S. Sujatha. 2010. Real-time Quantitative (PCR) application to quantity and the expression protiks of heat shock protein (HSP 70) genes in nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. and *Oreochromis mossambicus* P. **Int. J. Fish. Aquac.** 2(1):44-48.
- Kramer, A. and B.A. Twigg. 1983. **Fundamental of Quality Control for the Food Industry**. The AVI Pub. Inc., Conn., USA.
- Pudjirahaju, A., K. Bungas, dan K. Yuliany. 2006. Pengaruh perbedaan suhu kejutan panas terhadap keberhasilan gynogenesis pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). **J. Tropic Fisheries**. 1(2):126-131.
- SNI. Standar Nasional Indonesia. 2009. **Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan**. SNI 01-7388-2009. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. **Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik**. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.