

**DAYA HAMBAT KITOSAN DARI CANGKANG LIMBAH BUDIDAYA  
KEPITING “SOKA” TERHADAP 4 ISOLAT BAKTERI PEMBENTUK  
HISTAMIN PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

**CHITOSAN INHIBITION FROM SHELL OF WASTE CRAB  
CULTIVATION “SOKA” (*SCYLLA SP*) AGAINST 4 HISTAMINE  
FORMING BACTERIA ISOLATE IN *EUTHYNNUS AFFINIS***

<sup>1)</sup>Siti Aisyah, <sup>2)</sup>Agustiana, <sup>3)</sup>Rabiatul Adawyah, <sup>4)</sup>Candra

<sup>1,2,3,4)</sup>Staf Dosen PS Teknologi Hasil Perikanan Universitas Lambung Mangkurat Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru  
Email : esah\_iwaknyaman1961@yahoo.co.id

**ABSTRAK**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat kitosan dari limbah budidaya kepiting “soka” (*Scylla sp*) terhadap bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Pembentukan histamin pada ikan tongkol disebabkan oleh enzim histidin dekarboksilase yang berasal dari bakteri yang mengubah histidin menjadi histamine. Beberapa penelitian menjelaskan kemampuan kitosan dalam menghambat aktivitas bakteri pembentuk histamin. Pada penelitian ini dilakukan 3 tahapan, pertama dilakukan karakterisasi kitosan dari cangkang limbah budidaya kepiting “soka”. Kedua, isolasi bakteri penghasil histamin pada ikan tongkol dan ketiga yaitu pengujian aktivitas kitosan terhadap isolat bakteri penghasil histamin. Karakteristik kitosan dari cangkang limbah budidaya kepiting “soka” adalah kadar air 10,07 %, kadar lemak 0,20 %, kadar abu 1,42 %, kadar protein 3,18 % dan derajat deasetilasi 58,99%. Hasil isolasi bakteri yang bersimbiosis pada ikan tongkol di uji kembali dalam pembentukan histamin sehingga diperoleh 4 isolat bakteri yaitu *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae sp*, *Enterobacter gergoviae* dan *Citrobacter amalonaticus*. Pengujian daya hambat kitosan terhadap bakteri *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae sp*, *Enterobacter gergoviae* dan *Citrobacter amalonaticus* diperoleh zona bening berturut-turut yaitu 0,54±0,03 cm; 0,59±0,01 cm; 0,41±0,01 cm; dan 0,40±0,05 cm.

Kata kunci : kitosan, histamin, tongkol, bakteri

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the inhibition of chitosan from crab cultivation waste "soka" (*Scylla sp*) against histamine-forming bacteria in tuna (*Euthynnus affinis*). The formation of histamine on the cob caused by bacteria that can produce the enzyme histidine decarboxylase to transform histidine into histamine. Several studies have described the ability of chitosan to inhibit the activity of histamine-forming bacteria. In this research, three stages, the first characterization of chitosan from crab shell waste cultivation "soka". Second, isolation of bacteria producing histamine on the cob and a third is testing the activity of chitosan against bacteria producing histamine. Characteristics of chitosan from crab shell waste cultivation "soka" is the water content of 10.07 %, 0.20 % fat, 1.42 % ash content, protein content 3.18 % and 58.99 % degree of deacetylation. The result of the isolation of bacterial symbionts on the cob re-examined in the formation of histamine thus obtained 4 isolates that *Serratia marcescens*,

*Enterobacteriaceae* sp, *Enterobactergergoviae* and *Citrobacter amalonaticus*. Testing inhibition of chitosan against bacteria *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae* sp, *Enterobactergergoviae* and *Citrobacter amalonaticus* obtained a clear zone, respectively, are  $0.54 \pm 0.03$  cm;  $0.59 \pm 0.01$  cm;  $0.41 \pm 0.01$  cm; and  $0.40 \pm 0.05$  cm.

Keywords: chitosan, histamine, cob, bacteria

---

## PENDAHULUAN

Pada ikan tongkol, proses bakteriologis akan menghasilkan senyawa yang bersifat racun hasil penguraian gugus histidin yang diubah oleh enzim histidin decarboxylase menjadi histamin oleh enzim *histidine decarboxylase* dari oleh bakteri-bakteri kelompok *enterobacteriaceae* atau bakteri marin pembentuk histamin. (Taylor and Alasalvar, 2002). Banyak jenis bakteri yang mampu menghasilkan histidin dekarboksilase seperti *Proteus morganii* (*Morganella morganii*), *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumonii*, dan lain-lain (Allen, 2004).

Pemanfaatan cangkang dari limbah budidaya kepiting soka masih belum maksimal. Cangkang kepiting yang lepas dari tubuhnya setelah proses molting (pergantian cangkang) hanya dimanfaatkan sebagai pakan unggas dan sisanya dibuang percuma karena masih dianggap sebagai sampah budidaya. Untuk memaksimalkan potensi

cangkang kepiting diperlukan proses pengolahan salah satunya dengan mengolah menjadi kitosan, karena pengembangan usaha budidaya kepiting soka telah dilakukan khususnya di Kalimantan Selatan.

Penggunaan kitosan dari cangkang limbah budidaya kepiting soka pada ikan tongkol belum diketahui pada taraf konsentrasi yang optimal guna menghambat kinerja bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase membentuk histamin, sehingga diperlukan langkah penelitian untuk dipelajari tentang karakteristik kitosan kepiting dari limbah budidaya kepiting soka, isolasi bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase pada ikan tongkol dan efektifitas kitosan terhadap bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Bahan utama penelitian ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) diperoleh di Tempat Pendaratan ikan (TPI) Banjarmasin. Cangkang kepiting bakau (*Scylla* sp) diambil dari limbah budidaya kepiting soka di Desa Tanjung Mangkok Kepulauan Sebuku Kotabaru. Bahan penunjang penelitian adalah es curah, CH<sub>3</sub>COOH, Pepton, Ekstrak khamir, Gliserol, Agar, Air laut steril, Tripton, Yeast extract, L-Histidin, NaCl, CaCO<sub>3</sub>, Agar, fenol merah.

Penelitian menggunakan alat; *cool box*, pisau, timbangan digital, talenan, *homogenizer*, kertas cakram (paper disk), seaker, gelas piala, labu ukur 100 ml dan 50 ml, *magnetic stirrer*, tabung erlenmeyer, kertas saring, corong kaca, pipet mikro, tabung reaksi, kuvet, pipet volumetrik, pipet tetes, cawan *conway*, buret, botol pengencer, cawan petri, pH indikator, bunsen, inkubator, autoklaf, alat penghitung koloni (*coloni counter*), dan *stopwatch*.

#### a. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 3 (tiga) tahap penelitian. Tahap pertama pengolahan dan karakterisasi kitosan

dari cangkang kepiting bakau (*Scylla* sp). Tahap kedua adalah isolasi bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol dan Tahap ketiga adalah uji aktivitas antibakteri dari kitosan terhadap bakteri pembentuk histamin yang terdapat pada ikan tongkol.

#### b. Karakterisasi Kitosan (Somjit *et al.* (2005) yang dimodifikasi)

Cangkang kepiting diperoleh dari limbah budidaya kepiting soka dan kepiting segar sebagai kontrol. Cangkang kepiting dilakukan demineralisasi dengan dicampur dengan asam klorida (HCl) dengan perbandingan antara pelarut dan padatan, metode menurut Somjit *et al.* 2005. Kitosan yang dihasilkan dikarakteristik fisika-kimianya yaitu rendemen, pH, viskositas, berat molekul, derajat deasetilasi, derajat putih, kadar air, kadar protein, kadar lemak dan kadar abu.

### Prosedur Kerja

Identifikasi bakteri pembentuk histamin (Mangunwardoyo *et al.*, 2007)

Setelah diperoleh isolat tunggal dari masing-masing sampel maka dilakukan identifikasi morfologi dari bakteri untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat

pada ikan tongkol. Isolat tunggal yang dihasilkan kemudian dilakukan seleksi bakteri pembentuk histamin. Adapun langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

e. Persiapan medium niven

Komposisi medium Niven yang dimodifikasi terdiri dari: 0,1% Tripton; 0,3% *Yeast extract*; 1,8 % L-Histidin-2HCl; 0,5% NaCl; 0,1% CaCO<sub>3</sub>; 2,5 % Agar; dan 0,003% fenol merah, dilarutkan dalam 1 L akuades pada pH 6,4.

f. Seleksi bakteri pembentuk histamin (Mangunwardoyo *et al.*, 2007)

Isolat – isolat bakteri ditumbuhkan dalam tabung berisi 5 ml Nutrient Broth (NB) diinkubasikan selama 18 jam pada suhu 37 °C, 125 rpm. Satu *ose* isolat digores ke dalam cawan petri yang berisi Nutrient Agar (NA) dengan metode kuadran, sampai diperoleh koloni bakteri tunggal. Bakteri yang diperoleh kemudian diinokulasikan ke dalam tabung miring *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasikan lagi selama 18 jam. Isolat–isolat berumur 18 jam tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi medium Niven Agar termodifikasi pada pH 6,4 dengan 3 kali

pengulangan, dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Isolat-isolat bakteri yang masih tumbuh pada media dapat diasumsikan sebagai bakteri pembentuk histamin. Bakteri pembentuk histamin yang peroleh diambil 4 isolat bakteri berdasarkan jumlah terbanyak pada pengujian 1 dan disimpan dalam kulkas untuk pengujian pada tahapan berikutnya.

### **Analisis Data**

Pengujian aktivitas kitosan terhadap bakteri pembentuk histamin (Wangidjaja, 2004).

a. Persiapan pelarut dan larutan kitosan

Pelarut merupakan larutan asam asetat 1 % yang diencerkan menggunakan aquadest hingga volumenya mencapai 100 ml. Sedangkan larutan chitosan dengan konsentrasi 0,25 % dalam bentuk serpihan yang ditimbang 25 g, dilarutkan asam asetat 1% hingga membentuk larutan tersuspensi kemudian ditambahkan aquades menjadi volumenya 100 ml.

b. Pengujian daya hambat bakteri Menurut (Morales *et al.*, 2003).

c. Pengukuran zona hambat (**Morales et al., 2003**)

d. Kadar protein (AOAC 1999)

Metode pengujian kadar protein pada penelitian ini mengacu pada metode AOAC 1999.

e. Kadar lemak (AOAC 1999)

Pengujian kadar lemak pada penelitian ini dilakukan menurut AOAC 1999.

f. Kadar abu (**AOAC 1999**)

Pengujian kadar abu pada penelitian ini mengacu pada metode AOAC 1999

g. Penentuan kadar air cara pengeringan (Thermogravimetri)(Sudarmadji et al. 2003)

Metode pengujian kadar air pada penelitian ini mengacu pada metode (Thermogravimetri)(Sudarmadji et al. 2003)

h. Derajat Deasetilasi (Suptijah et al., 1992)

Spektrum infra merah kitin dan kitosan dapat dibuat dengan menggunakan spektrofotometer inframerah IR-408. Frekwensi yang digunakan berkisar antara  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai dengan  $400\text{ cm}^{-1}$ . Kemudian 2

gram kitosan dilarutkan asam asetat 2 % sebanyak 2 ml. Larutan dikeringkan dengan suhu kamar di atas "glass plate", kemudian ditambahkan sodium hidroksida 1 N untuk menetralkan asam asetat yang telah ditambahkan sebelumnya. Larutan netral yang telah terbentuk di atas "glass plate" dicuci dengan air bersih. Setelah persiapan sampel selesai, selanjutnya derajat deasetilasi kitosan diukur menggunakan spektrofotometer inframerah. Pengukuran derajat deasetilasi berdasarkan kurva yang tergambar oleh spektrofotometer. Puncak tertinggi dicatat dan diukur dari garis dasar yang dipilih.

Perbandingan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang  $1655\text{ cm}^{-1}$  dengan panjang gelombang  $3450\text{ cm}^{-1}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Karakteristik Kitosan

Hasil karakterisasi kitosan dari limbah budidaya kepiting soka ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi kitosan dari kepiting

Parameter	Kadar (%)	Standar Mutu
Air	10,07±0,06	Maks. 12**
Lemak	0,20±0,1	0,18±0,01*
Abu	1,42±0,15	Maks. 5**
Protein	3,18±0,42	<i>Trace</i> *
Derajat Deasetilasi	58,99±0,03	≥70***

Keterangan: \*Somjid *et al.* (2005); \*\*BSN (2013); \*\*\*Suptijah *et al.* (1992)

Kadar air kitosan masih berada dalam standar yaitu di bawah 12 % menunjukkan kualitas proses pengeringan kitosan sudah baik. Kumar (2000), mengemukakan bahwa kadar air kitosan dipengaruhi kualitas pengeringan yang dilakukan, waktu pengeringan dan seberapa banyak kitosan basah yang akan dikeringkan. Apabila kitosan dalam kondisi kering maka harus menghindari kelembaban lingkungan karena kitosan mudah menyerap air sehingga kitosan yang sudah jadi harus dikemas secara hermetis atau kedap udara.

Jumlah mineral yang terkandung dalam kitosan dapat dilihat dari kandungan kadar abunya. Proses demineralisasi pada pembuatan kitin meminimalisir kadar abu kitosan kepiting menjadi 1,42%. Komposisi

utama mineral adalah kalsium karbonat, untuk meminimalisir kadarnya dilakukan dengan dilarutkan dalam larutan asam klorida.

Kadar protein kitosan pada penelitian ini masih di bawah standar. Kondisi ini kemungkinan disebabkan proses deproteinisasi dan deasetilasi kurang sempurna. seperti pengadukan yang dilakukan tidak kontinyu sehingga menjadikan proses pelepasan protein menjadi terhambat. Penyebab lainnya adalah karena proses pencucian setelah deproteinasi tidak berlangsung dengan baik, sehingga protein dalam kulit kepiting, udang galah dan putih tidak dapat tercuci secara maksimal.

Pencucian yang baik dilakukan sesaat setelah proses deproteinasi selesai dalam keadaan sampel yang masih panas. Semakin rendah kadar protein kitosan maka kualitas kitosan semakin bagus, karena jika sisa protein dalam kitosan lebih banyak maka jumlah gugus amino bebas yang dapat mengikat asam semakin banyak pula, yang pada akhirnya akan menurunkan kualitas kitosan itu sendiri. Menurut Lee and Tan, 2002, Secara fisik dan kovalen kukit udang mengandung protein , lemak

yang terikat dengan protein atau lipoprotein dan turunan 3,4,4 – diketo- $\beta$ -karoten yang terikat kompleks bersama kitin.

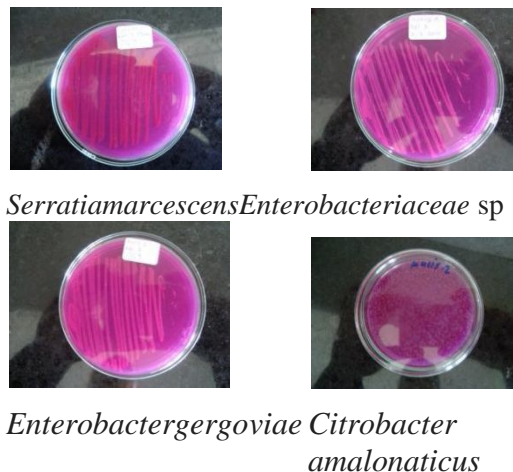
Derajat deasetilasi kitosan menunjukkan kitosan dari kepiting masih di bawah standar yaitu 58,99%. Kondisi ini kemungkinan kondisi protein yang masih ada karena proses demineralisasi dan deasetilasi masih kurang sempurna. Kitosan kepiting mempunyai derajat deasetilasi lebih rendah dibandingkan standar disebabkan kandungan mineral dari kitosan memungkinkan untuk gugus asetil masih terikat pada mineral yang masih ada. Suptijah (2004) mengemukakan derajat deasetilasi menentukan karakteristik chitosan dan akan mempengaruhi pada penggunaannya. Semakin tinggi derajat deasetilasi maka semakin tinggi kemurnian nya dari kitin dan chitosan dari pengotor yaitu protein, mineral dan pigmen serta gugus asetil untuk chitosan yang disertai kelarutannya yang sempurna dalam konsentrasi asam asetat 1,0 %.

#### *Seleksi Bakteri Pembentuk Histamin*

Pengujian bakteri pada ikan tongkol di ambil 4 isolat bakteri pembentuk

histamin yaitu *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae* sp, *Enterobactergergoviae* and *Citrobacter amalonaticus*.

Bakteri yang bersimbiosis pada ikan tongkol belum tentu seluruhnya adalah bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase. Hasil seleksi bakteri pada media niven hanya 4 bakteri saja yang dilanjutkan untuk pengujian anti bakteri dari kitosan. Pada Gambar 1 ditampilkan hasil uji bakteri pembentuk histamin.



Gambar 1. Pengujian bakteri pembentuk histamin

Bakteri yang berpotensi menghasilkan *scromboid poison* (histamin) adalah karena enzim histidin dekarboksilase yang dimiliki bakteri ini, bakteri ini termasuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae*. (Kusmarwati and

Indriati, 2008; Indriati *et al.*, 2006). Keberadaan bakteri penghasil histamin (histidin dekarboksilase) pada ikan merupakan penyebab terjadinya peningkatan kadar histamin pada ikan (Keer *et al.*, 2002).

*Aktivitas Kitosan terhadap bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase*

Kitosan dianggap sebagai salah satu alternatif dalam menghambat kerja dari bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase..Data hasil uji daya hambat kitosan terhadap bakteri ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Daya hambat kitosan terhadap bakteri pembentuk histamin

Jenis Bakteri	Kontrol	Kepiting
<i>Serratia marcescens</i>	0,35±0,21 <sup>a</sup>	0,54±0,03 <sup>b</sup>
<i>Enterbacteriaceae</i> sp	0,24±0,04 <sup>a</sup>	0,59±0,01 <sup>b</sup>
<i>Enterobacter gergoviae</i>	0,48±0,10 <sup>a</sup>	0,41±0,01 <sup>b</sup>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0,43±0,01 <sup>a</sup>	0,40±0,05 <sup>b</sup>

Keterangan : Angka-angka pada baris sama diikuti huruf *superscript* berbeda (a dan b)menunjukkan berbeda nyata ( $p<0,05$ ).

Larutan kitosan kepiting mempunyai daya hambat lebih baik dari pelarut yaitu asam asetat ( $p<0,05$ ). Daya hambat tertinggi pada bakteri *Enterobacteriaceae* sp kemungkinan tingkat kerusakan membran sel bakteri

tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri yang lain.

Kitosan dapat digunakan juga sebagai antimikroba tetapi sebagian dimanfaatkan untuk pembentukan film (Fernandez *et al.*, 2008). Karakteristik permukaan sel mikroba berkorelasi erat dengan aktifitas antibakteri kitosan, karena gugus asam amino dalam suasana pH asam (dibawah 6,5) yang muatan positif menyebabkan depolarisasi membran seluler mikroba, menyebabkan kematian bagi mikroba sebagai akibat tergangunya integritas dinding sel dari hubungan molekul (Kong *et al.*, 2010). Pada Gambar 2 disajikan pengujian daya hambat kitosan terhadap 4 isolat bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase.

Mekanisme aktivitas antibakteri kitosan terjadi melalui interaksi gugus  $\text{NH}_3^+$  glukosamin dengan permukaan sel yang bermuatan negatif (Eldin *et al.*, 2008).Adanya ketertarikan secara struktural antara dinding sel bakteri dan kitosan karena diketahui bahwa dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang struktur dasar rantai utamanya terdiri atas N-asetilglukosamin dan adanya  $\beta$ -glikan (Qujeq and Mossavi, 2004). Rafaat *et al.* (2008) terjadinya



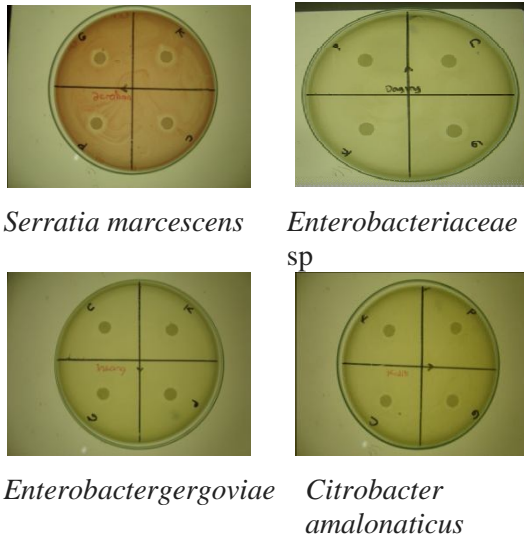
interaksi awal polikationik kitosan dan polimer dinding sel yang bermuatan negatif dipengaruhi oleh interaksi elektrostatik dan asam tekoat.

mengakibatkan kebocoran komponen. Destabilisasi membran ini terjadi melalui mekanisme yang belum diketahui.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kitosan berasal dari limbah budidaya kepiting soka dengan derajat deasetilasi 58,99% masih mempunyai kemampuan menghambat aktivitas 4 isolat bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol yaitu *Serratiamarcescens*, *Enterobacteriaceae* sp, *Enterobactergergoviae* and *Citrobacter amalonaticus*.



Gambar 2. Uji daya hambat kitosan terhadap 4 isolat bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase

Terjadinya ikatan kitosan ke dinding sel polimer yang memicu terjadinya efek seluler kedua, yang menyebabkan terjadinya destabilisasi dan perusakan lebih jauh pada fungsi membran bakteri sehingga mengganggu sebagai pelindung dan

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Lambung Mangkurat atas bantuan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Analisis of the Associations of Official Analytical Chemist. 1999. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th edition. Washington, D.C.
- Allen D G, Jr. 2004. Regulatory control of histamine production in North Carolina harvested mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): a HACCP-based industry survey [thesis]. Raleigh: Departement Food Science, North Carolina State University.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2013. Kitosan-Syarat mutu dan pengolahan. SNI 7949-2013. Jakarta: BSN.
- Eldin MSM, Soliman EA, Al Hashyem, Tamer TM. 2008. Antibacterial activity of kitosan chemically modified with new technique. *Trends Biomater Artif Organs*. 22:121-133.
- Fernandez SP, JM. Lagaron, MP. Hernandez, and MJ Ocio. 2008. Characterization of Antimicrobial Properties on The Growth of *S. aureus* of Novel Renewable Blends of Gliadins and Chitosan of Interest in Food Packaging and Coating Applications. *International Journal of Food Microbiology*. 124(1): 13-20.
- Indriati N, Rispayeni, and ES.Heruwati.2006. Studi Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan Kembung Peda selama Proses Pengolahan.*Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2):117-123.
- Keer M, L. Paul, and A. Sylvia. 2002. Effect of Storage Condition on Histamin Formation in Fresh and Canned Tuna. Commission by Food Safety Unit. Dalam [www.foodsafety.vic.gov.au](http://www.foodsafety.vic.gov.au). [12 Agustus 2014].
- Kong M, XG. Chen, K. Xing, and HJ.Park. 2010. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A State of The Art Review. *International Journal of Food Microbiology*. 144(1): 51-63.
- Kumar MNR. 2000. A review of chitin and chitosan application. *J. Reac and Func Poly*. 46: 1-27.
- Kusmarwati A. and N. Indriati.2008. Daya Hambat Ekstrak Bahan Aktif Biji Pincung (*Pangium edule* Ireinw.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil Histamin.*Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(1):29-35.
- Lee V. and E. Tan. 2002. *Enzymatic Hydrolysis of Prawn Shell Waste for The Purification of Kitin*. Departemen of Chemical Engineering.Loughborough University.

- Mangunwardoyo W, RA. Sophia, and ES. Heruwati. 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim L-Histidine Decarboxilase dari Bakteri Pembentuk Histamin. *J. Makara, Sains*. 11:2:104-109
- Morales, GP.Sierra, Mancilla, A. Paredes, LA.Loyola, O. Gallardo, and J. Bourquez. 2003. Secondary metabolites of four medicinal plants from Northern Chile, antimicrobial activity, and biotoxicity against *Artemia salina*. *J. Chile Chem*. 48(2):35-41.
- Nicholas T.A. 2003. Antimicrobial Use of Native and Enzymatically Degraded Chitosan for Seafood Application.[Thesis].The University of Maine, Maine.
- Niven CF, MD. Jeffrey, and DA. Corlett. 1981. *Differential Plating Medium for Quantitative Detection of Histamine Producing Bacteria*. Applied and Environmental Microbiology.321-322.
- Qujeq D, Mossavi SE, 2004. Antibacterial activity of chitosan against *Escherichia coli*.*Bobol Med*. 7:1-12.
- Rafaat D, Kritine VK, Albert H, HansGeorg S. 2008. Insight into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound.*Appl and Environ Microbiol. Relation and Appl*. 74:3754-3773.
- Somjit K, Y. Ruttanapornwareesakul, K. Hara, and Y. Nozaki. 2005. The cryoprotectant effect of shrimp kitin and shrimp kitin hydrolysate on denaturation and unfrozen water of lizardfish surimi during frozen storage. *Food Research International*. 38:345-355.
- Suptijah P, Salamah E, Sumaryanto H, Purwaningsih S, Santoso J. 1992. Pengaruh Berbagai Isolasi Khitin Kulit Udang Terhadap Mutunya. *Laporan Penelitian Jurusan Teknologi Hasil Perikanan*. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Suptijah P. 2004. Tingkat kitosan hasil modifikasi proses produksi. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Vol 7 (1): 1-9.
- Taylor T, Alasalvar C. 2002. *Seafoods: Quality, Technology, and Nutraceutical Application*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heideberg
- Wangidjaja rg. 2004. Ekstrak bunga dan getah semboja sebagai antibakteri dan bahan aktif untuk pergeseran gigi seri kelinci. Disertasi. Sekolah pascasarjana, institut pertanian bogor. 110 pp.