

## **MUTU EDIBLE FILM KARAGINAN KOMPLEKS EKSTRAK BUAH MANGROVE (*Sonneratia alba*) DAN HAMBATANNYA TERHADAP BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN PADA TUNA LOIN**

**Dwity Wailan Moomin<sup>1</sup>, Rieny Sulistijowati\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Gorontalo  
Jl. Jenderal Sudirman No.06, Kota Gorontalo 96128, Gorontalo, Indonesia

\*Korespondensi: [rienysulistijowati@ung.ac.id](mailto:rienysulistijowati@ung.ac.id)

(Diterima 11-01-2021; Direvisi 22-01-2021; Dipublikasi 31-01-2021)

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak buah mangrove (*S.alba*) terhadap mutu fisik *edible film* karaginan dan daya hambatnya pada bakteri pembentuk histamin tuna loin. Penelitian ini dirancang dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor perlakuan adalah konsentrasi ekstrak buah mangrove yang terdiri dari 3 taraf, yaitu 1%, 2%, 3% dengan dua kali pengulangan. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak buah mangrove *S.alba* berpengaruh nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap mutu fisik *edible film* karaginan dan daya hambatnya terhadap bakteri pembentuk histamin tuna. *Edible film* karaginan dengan penambahan konsentrasi buah mangrove *S.alba* 1% dan 2% memiliki mutu fisik ketebalan dan perpanjangan yang memenuhi standard *Japanese Industrial Standart*, serta berpotensi menghambat bakteri pembentuk histamin pada tuna.

**Kata Kunci:** Kemasan aktif; kuat tarik; perpanjangan; ketebalan; daya hambat

### **Edible Film Quality Of Carrageenan Film Complex Of Mangrove Fruit Extract (*Sonneratia alba*) And Inhibition Of Histamine Forming Bacteria In Loin Tuna**

### **Abstract**

This Completely Randomized Design (CRD) study is devoting to determine the effect of the concentration of mangrove (*S.alba*) extract on the physical quality of carrageenan edible film and its inhibition on histamine-forming bacteria of tuna loin. The treatment factor was the concentration of mangrove fruit extracts consisting of three levels i.e., 1%, 2%, 3% with 2 replications. The results of variance analysis reveal that the concentration treatment of *S. alba* mangrove fruit extract affects significantly ( $p < 0.05$ ) on the physical quality of carrageenan edible film as well as its inhibitory effect on histamine-forming bacteria. Carrageenan edible film with the addition of 1% and 2% of *S. alba* mangrove fruit concentration has the physical quality thickness and extension that meets Japanese Industrial Standards and has the potential to inhibit the histamine-forming bacteria in tuna.

**Key Words:** Active packaging; tensile strength; elongation; thickness; inhibition

## PENDAHULUAN

Industri perikanan di Indonesia tidak lepas dari permasalahan keamanan pangan berupa kasus penolakan dari negara importer. Tuna merupakan komoditi produk perikanan yang mengalami kasus keamanan pangan terbanyak di Uni Eropa sepanjang tahun 2007 sampai 2017. Kasus penolakan tuna karena kandungan histamin merupakan penyebab terbanyak kedua setelah merkuri dengan jumlah penolakan sebanyak 16 kasus atau 15.2% dari total penolakan (Irawati et al., 2019). Rinto, (2011) menyatakan bahwa sepanjang tahun 2010 penyebab terbesar penolakan produk dengan presentase 54% hingga 80% disebabkan oleh bakteri patogen dan histamin, yang terdapat pada *frozen tuna* dalam berbagai bentuk produk.

Ikan tuna merupakan ikan dari family *Scrombidae* yang dapat menghasilkan *scromboid toxine* yaitu histamin. Histamin pada ikan tuna terjadi akibat reaksi dekarboksilasi asam amino histidin bebas oleh enzim histidin dekarboksilase yang dihasilkan bakteri tertentu (Dewi et al., 2015). Berbagai jenis bakteri yang dapat menghasilkan enzim HDC diantaranya genus *Bacillus*, *Pediococcus*, *Shigell*, *Streptococcus* dan *Proteus* (Kanki et al., 2002). *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, dan *Salmonella* (Dhanya., 2012). Oleh karena itu diperlukanlah upaya untuk menghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin. Upaya ini dapat dilakukan dengan pengembangan kemasan yang memiliki aktivitas antibakteri seperti edible coating dan edible film. Kemasan edible coating kompleks kitosan galaktosa telah diteliti oleh Sulistijowati et al., (2019) sebagai anti bakteri dimana mampu menghambat bakteri patogen ikan nila yaitu zona hambat 12 mm.

*Edible film* dikelompokkan dalam tiga kategori yaitu hidrokoloid, lipid, dan komposit (Dhapanal et al., 2012). Menurut Kusumawati dan Putri, (2013) *edible film* yang terbuat dari bahan hidrokoloid memberikan karakteristik yang baik, dan menghasilkan film yang lebih kuat. Penggunaan bahan pemlastis dilakukan untuk meningkatkan sifat mekanik edible film hidrokoloid. Salah satu jenis pemlastis yang paling banyak digunakan adalah gliserol. Hal ini karena gliserol memiliki kompatibilitas dan stabilitas yang lebih baik dengan rantai biopolimer hidrofilik dibandingkan dengan sorbitol, polietilen glikol (PEG), dan gula (Campos et al., 2011).

Pengembangan kemasan *edible film* dapat dilakukan dengan menambahkan senyawa antibakteri sebagai salah satu bahan campuran. Sebagian kecil senyawa tersebut nantinya akan bermigrasi ke dalam bahan pangan atau produk yang dikemas (Zainab, 2009). Berdasarkan penelitian pendahuluan, *edible film* karaginan dengan pemlastis gliserol tanpa penambahan senyawa antibakteri menghasilkan zona hambat sebesar 1,6 mm terhadap bakteri pembentuk histamin tuna. Kecilnya zona hambat yang terbentuk mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri

*edible film* karaginan tergolong sangat rendah. Oleh karena itu, perlu dilakukan penambahan senyawa antibakteri untuk meningkatkan daya hambat yang dihasilkan.

Govindasamy (2008) dalam Pianusa et al., (2015) menyatakan bahwa tumbuhan bakau mengandung banyak senyawa polyphenol dibandingkan dengan tumbuhan halofit. Senyawa polyphenol dikenal memiliki berbagai aktivitas biologik termasuk aktivitas antimikroba. Papatung et al, (2017) menyatakan buah mangrove *S.alba* mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, dan steroid. Selain itu, Banyaknya tumbuhan mangrove (*Sonneratia alba*) di daerah Provinsi Gorontalo dan pemanfaatannya yang masih sangat kurang oleh masyarakat merupakan alasan utama untuk menggunakan buah mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai bahan sumber senyawa antibakteri *edible film* pada bakteri penghasil histamin tuna loin.

## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *refine* kappa karaginan, buah mangrove (*S. alba*) yang diperoleh dari Kabupaten Gorontalo Utara, gliserol, aquades. *Edible film* karaginan dengan penambahan ekstrak buah mangrove *S. alba* di analisis mutu fisik yakni uji kuat tarik, ketebalan dan perpanjangan dan analisis mikrobiologi berupa uji daya hambat terhadap bakteri pembentuk histamin pada tuna loin.

*Edible film* dibuat dengan larutan karaginan 2% (b/v), kemudian diaduk dan dimasukkan *magnetic stirrer*, dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai suhu 85°C selama 45 menit. Setelah itu ditambahkan gliserol sebanyak 1,5% (v/v) sambil diaduk dan dipertahankan pada suhu 80°C selama 15 menit. Suspensi hasil pemanasan didinginkan pada suhu ruang. Larutan *edible film* dituang sebanyak 20 ml ke dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan ekstrak buah mangrove (*S. alba*) sesuai perlakuan 1%, 2%, 3% (v/v). Diaduk hingga homogen diatas hotplate dengan *magnetic stirrer* lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Kemudian dikeringkan dengan oven (pada suhu 50°C selama 15 jam). Lapisan film karaginan tersebut didinginkan lalu dikeluarkan dari cawan petri.

### **Kuat Tarik (Tensile strength) (ASTM, 2010)**

*Edible film* yang telah dicetak dipotong dengan ukuran 8 cm x 3 cm uji menggunakan *digital gauge* HF 500. Rumus uji kuat tarik sebagai berikut:

$$\text{Kuat tarik (Mpa)} = \frac{\text{Gaya tarik saat putus}}{\text{Luas permukaan edible film}}$$

**Perpanjangan (Elongasi) (ASTM, 2010)**

Perpanjangan *edible film* diuji menggunakan *digital gauge* HF 500. Rumus uji perpanjangan sebagai berikut:

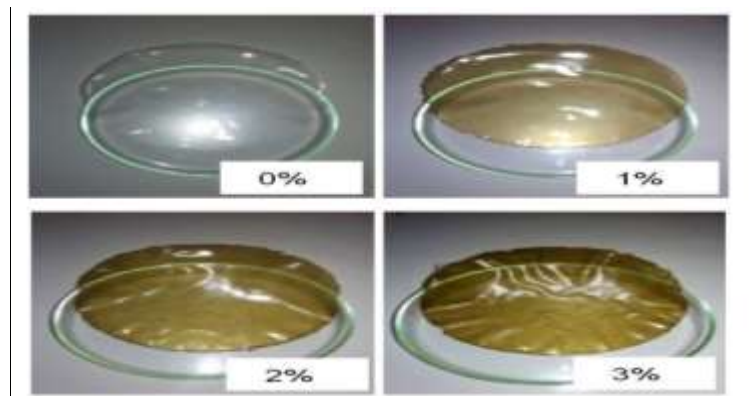
$$E(\%) = \frac{X_1(cm) - X_0(cm)}{X_1(cm)} \times 100\%$$

**Ketebalan (Afifah et al., 2018)**

Ketebalan film diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Pengukuran dilakukan pada 4 bagian yang berbeda kemudian hasil pengukuran dirata-rata sebagai hasil ketebalan film. Data hasil pengujian dianalisis dengan *Analyze of Variance* dan dilakukan uji lanjut Duncan apabila hasil yang diperoleh berbeda nyata pada taraf signifikansi  $p \leq 0,05$  terhadap parameter uji. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan bantuan perangkat lunak *Statistical Package For Social Science 16 (SPSS 16)*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Mutu Fisik Edible film Karaginan Kompleks Ekstrak Buah Mangrove *S. alba***

*Edible film* karaginan dengan konsentrasi ekstrak buah mangrove yang berbeda menghasilkan ciri fisik yang berbeda ditinjau dari kekentalan larutan, kekeruhan larutan, kemudahan melepaskan dari cetakan, tingkat lengketan, transparansi dan tekstur. *Edible film* karaginan dengan perlakuan konsentrasi ekstrak buah mangrove *S.alba* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 *Edible film* karaginan dengan konsentrasi ekstrak buah mangrove *S. alba* berbeda

*Edible film* yang dibuat tanpa penambahan ekstrak memiliki ciri yaitu berwarna bening, film mudah dilepaskan dari cetakan, film terasa agak lengket, tipis, transparan dan tekstur halus. *Edible film* yang ditambahkan ekstrak 1% memiliki warna yang agak kehijauan, mudah dilepaskan dari cetakan, agak lengket, tipis, agak transparan dan bertekstur halus. *Edible film* yang ditambahkan ekstrak 2% memiliki warna yang agak keruh kehijauan, mudah dilepaskan dari cetakan, agak

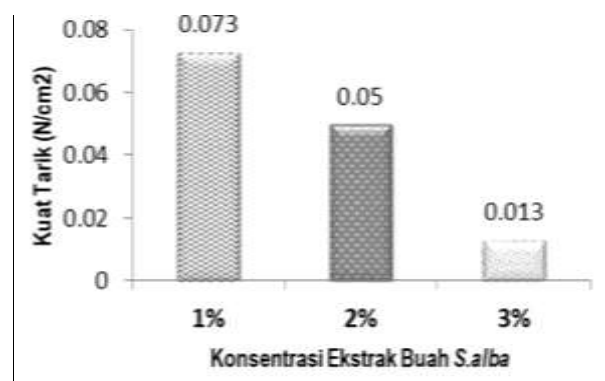
lengket, agak tebal, agak transparan dan bertekstur halus. *Edible film* yang ditambahkan ekstrak 3% menghasilkan film yang berwarna buram kehijauan, film agak sulit dilepaskan dari cetakan, agak lengket, lebih tebal, hampir tidak transparan dan bertekstur halus. Perbedaan ciri yang sangat nampak dari ketiga perlakuan yaitu terdapat pada warna, ketebalan dan transparansi film. Semakin besar konsentrasi ekstrak buah mangrove yang ditambahkan menghasilkan film yang semakin tebal dengan warna hijau yang semakin pekat, akibatnya kejernihan film semakin berkurang. Hal ini dapat terjadi karena warna ekstrak buah mangrove *S.alba* berwarna hijau tua.

Hasil ini serupa dengan Mulyadi *et al.*, (2016) yang melaporkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak daun beluntas pada *edible film* pasti mempengaruhi nilai kejernihan dan ketebalan film. Hal ini disebabkan oleh total padatan terlarut pada setiap konsentrasi berbeda. Hasil ini berbanding lurus dengan pernyataan Warsiki *et al.*, (2009) bahwa transparansi *edible film* dipengaruhi oleh karakter bawaan dari bahan aktif yang ditambahkan, *edible film* dengan bahan aktif sirih dan kunyit menghasilkan derajat transparansi yang kecil dibandingkan bawang. Afifah *et al.*, (2018) menyatakan bahwa terbentuknya pori-pori pada permukaan film disebabkan karena adanya gelembung udara yang terperangkap dalam film. Perbedaan konsentrasi gliserol juga mempengaruhi transparansi film. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Farhan dan Hani, (2017) bahwa perbedaan transparansi film berkaitan dengan mobilitas rantai polimer dan jarak antar molekul dalam matriks karagenan dengan *plasticizer* yang mempengaruhi permeabilitas cahaya melalui film karagenan.

Mutu fisik yang menentukan kualitas *edible film* diantaranya adalah kuat tarik, perpanjangan dan ketebalan. Hasil pengujian mutu fisik kuat tarik, perpanjangan dan ketebalan adalah sebagai berikut:

### **Kuat Tarik**

Menurut Khasanah *et al.*, (2019), *edible film* dengan nilai kuat tarik yang tinggi mampu melindungi produk yang dikemas dari gangguan mekanis dengan baik.



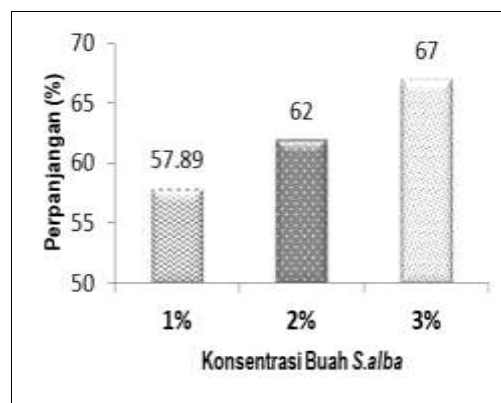
Gambar 2 Nilai kuat tarik

Gambar 2. menunjukkan bahwa *edible film* karaginan dengan konsentrasi ekstrak 1%, 2% dan 3% menghasilkan nilai kuat tarik berturut-turut yaitu 0,073 N/cm<sup>2</sup>, 0,05 N/cm<sup>2</sup> dan 0,013 N/cm<sup>2</sup>. Nilai kuat tarik semakin bertambah seiring dengan penambahan ekstrak buah *S.alba*. Kuat tarik *edible film* pada ketiga perlakuan masih jauh dengan standar yang ditetapkan oleh *Japanese Industrial Standard* untuk kuat tarik *edible film* yaitu 3,92 Mpa (N/mm<sup>2</sup>) (Rusli *et al.*, 2017). Menurut Afif (2018) semakin kecil nilai elastisitas amak plastic yang dihasilkan semakin baik.

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* dalam formulasi *edible film* karaginan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kuat tarik film. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa *edible film* dengan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* memiliki nilai kuat tarik yang berbeda nyata. Berbeda dengan Kusnadi dan Budyanto, (2015), yang melaporkan bahwa *edible film* karaginan dengan penambahan ekstrak daun jati memiliki nilai kuat tarik rata-rata berkisar 0,434 N/cm<sup>2</sup> – 1,434 N/cm<sup>2</sup>. Hal ini diduga karena konsentrasi bahan utama karaginan yang digunakan lebih rendah sehingga menghasilkan kekuatan film yang lebih rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Jabar *et al.*, (2013) bahwa konsentrasi karaginan yang lebih tinggi dapat meningkatkan kekuatan molekul antar-rantai dalam matriks *edible film*.

### Perpanjangan

Perpanjangan merupakan parameter yang penting untuk mengukur seberapa lentur *edible film* dan ketahanan *edible film* saat dibentuk tanpa putus (Zaman *et al.*, 2018).



Gambar 3 Nilai perpanjangan

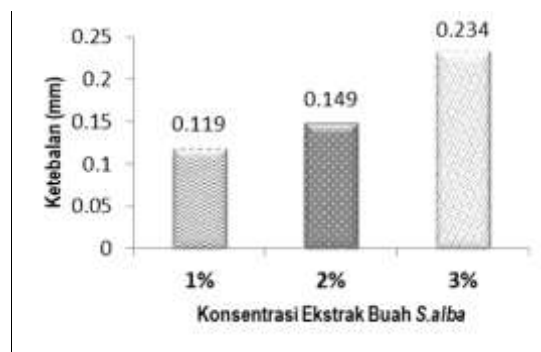
Gambar 3 menunjukkan bahwa *edible film* karaginan dengan penambahan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* 1%, 2%, dan 3% memiliki nilai perpanjangan yang berbeda-beda yaitu 57,89%, 62%, dan 67%. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa *edible film* karaginan dengan ketiga perlakuan tersebut memenuhi standar yang ditetapkan oleh *Japanese Industrial Standard* yaitu perpanjangan

dikatakan sangat baik apabila nilainya lebih dari 50% dan dikatakan buruk jika nilainya kurang dari 10% (Rusli *et al.*, 2017).

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* dalam formulasi *edible film* karaginan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap nilai perpanjangan *edible film* karaginan. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa perpanjangan *edible film* antarperlakuan berbeda nyata. Nilai perpanjangan *edible film* karaginan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* yang dihasilkan berbeda dengan hasil penelitian Mertinez *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa *edible film* aloe vera memiliki perpanjangan yaitu 72,37% - 122,56%. Hal ini diduga karena bahan antibakteri yang ditambahkan berupa minyak sehingga membuat *edible film* yang dihasilkan lebih elastis. Sebagaimana yang dinyatakan Gonzalez *et al.*, (2011), penggabungan minyak atsiri dalam matriks polimer kontinyu mengurangi kekuatan tariknya karena diskontinuitas struktural yang disebabkan oleh minyak.

### **Ketebalan**

Ketebalan film merupakan karakteristik yang penting dalam menentukan kelayakan *edible film* sebagai kemasan pada produk pangan karena ketebalan dapat mempengaruhi sifat fisik dan mekanik *edible film* lainnya yaitu kuat tarik, pemanjangan, daya larut dan permeabilitas uap air (Rusli *et al.*, 2017).



Gambar 4 Nilai ketebalan

Gambar 4 menunjukkan bahwa *edible film* karaginan ekstrak buah *S.alba* dengan konsentrasi 1%, 2%, 3% memiliki nilai ketebalan rata-rata berkisar antara 0,119-0,231 mm. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa ketebalan *edible film* karaginan ekstrak buah *S.alba* tergolong baik karena berada dibawah standar maksimal ketebalan *edible film* yang ditetapkan oleh *Japanese Industrial Standard* yaitu maksimal 0,25 mm (Rusli *et al.*, 2017). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ketebalan *edible film* ekstrak buah *S.alba* tertinggi masih memenuhi persyaratan untuk dijadikan sebagai kemasan primer pada bahan pangan.

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan penambahan konsentrasi ekstrak buah *S.alba* berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap ketebalan *edible film*. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa ketebalan *edible film* antarpelakuan berbeda nyata. Penambahan konsentrasi buah *S.alba* yang semakin tinggi menghasilkan *film* yang semakin tebal. Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak *S.alba* yang semakin meningkat menyebabkan total padatan terlarut dalam suspensi semakin bertambah sehingga jumlah polimer yang menyusun *edible film* pun semakin banyak akibatnya film semakin tebal. Berbeda dengan Anggraini *et al.*, (2018) yang melaporkan bahwa nilai ketebalan *edible film* karaginan dengan ekstrak bawang putih berkisar antara 0,05-0,17 mm. Perbedaan nilai ketebalan ini diduga karena konsentrasi pemlastis gliserol yang digunakan berbeda sehingga menyebabkan volume larutan berbeda. Hal ini sesuai dengan Nemet *et al.*, (2010) yang menyatakan bahwa larutan pembentuk film dengan konsentrasi gliserol yang lebih tinggi memiliki kandungan bahan kering yang lebih tinggi sehingga film yang dihasilkan lebih tebal.

### **Daya Hambat**

*Edible film* karaginan dengan penambahan ekstrak buah *S.alba* memiliki daya hambat terhadap bakteri pembentuk histamin pada tuna loin. Zona hambat yang diperoleh berkisar antara 3,38 sampai 5,94 mm. Kategori kekuatan daya antibakteri oleh senyawa antibakteri berdasarkan Davis and Stout (1971) yaitu senyawa antibakteri yang menghasilkan area penghambatan  $< 5$  mm dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan sebagai antibakteri kuat, dan  $> 20$  mm dikategorikan sebagai antibakteri yang sangat kuat. Berdasarkan ketentuan tersebut dapat diketahui bahwa *edible film* ekstrak buah *S.alba* konsentrasi 1% dan 2% masih tergolong lemah dan sedang sebagai antibakteri terhadap bakteri HDC pada tuna loin. Sedangkan *edible film* ekstrak buah *S.alba* konsentrasi 3% termasuk kategori sedang sebagai antibakteri terhadap bakteri HDC pada tuna loin. Penyebab rendahnya zona hambat yang dihasilkan oleh *edible film* karaginan ekstrak buah *S.alba* terhadap bakteri HDC dikarenakan bakteri HDC tidak hanya terdiri dari bakteri jenis gram positif melainkan terdiri dari jenis gram negatif pula. Menurut Rawdkuen *et al.*, (2019) umumnya ekstrak yang diperoleh dari rempah-rempah dan bagian tanaman seperti biji, akar, kulit kayu, buah, kuncup, bunga, dan daun lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif karena bakteri gram negatif memiliki struktur sel yang kompleks.





Gambar 5 Zona hambat *edible film* karaginan ekstrak buah *S. alba* terhadap bakteri HDC

Zona hambat yang dihasilkan disebabkan karena buah mangrove *S. alba* mengandung berbagai senyawa yang bersifat antibakteri diantaranya adalah tanin, flavonoid, fenol, saponin, dan steroid. Hal ini sesuai dengan Kusyana, (2014) yang menyatakan bahwa simplisia buah *S. alba* mengandung bahan bioaktif berupa flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Papatungan *et al.*, (2017) menambahkan bahwa buah *S. alba* mengandung senyawa fenol. Senyawa inilah yang berperan sebagai zat antibakteri pada *edible film* karaginan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri HDC. Hal ini sesuai dengan pernyataan Retnowati *et al.*, (2011) senyawa fenol dalam menghambat bakteri yaitu akan merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran inti sel pada konsentrasi rendah, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Hal tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid yang berada di sekeliling sel dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel.

## KESIMPULAN

Konsentrasi ekstrak buah *S. alba* 1% dan 2% dalam formulasi *edible film* karaginan menghasilkan *edible film* dengan mutu fisik perpanjangan dan ketebalan yang memenuhi standar *Japanese Industrial Standart*. Dimana ketepertpanjangan > 50% dan ketebalan maksimal 0.25. Serta berpotensi mampu menghambat bakteri pembentuk histamin pada tuna loin termasuk kategori lemah pada konsentrasi 1 dan 2% serta kategori sedang pada konsentrasi 3% yaitu 5.94 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afif M, Wijayati N, Mursiti S. 2018. Pembuatan dan karakterisasi bioplastik dari pati biji alpukat-kitosan dengan *plasticizer* sorbitol. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 7(2): 102-109.
- Afifah N, Sholichah E, Indrianti N, Darmajana DA. 2018. Pengaruh kombinasi *plasticizer* terhadap karakteristik *edible film* dari karaginan dan lilin lebah. *Jurnal Biopropal Industri*. 9(1): 49-60.
- Anggraini TK, Agustini TW, Rianingsih L. 2018. Karakteristik *edible film* karagenan dengan penambahan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) sebagai antibakteri. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 14(1): 70-76.

- [ASTM] American Society for Testing and Materials. 2010. Standard test method for tensile properties of plastics D638-14. *Annual Book of ASTM Standards*. US Department of Defense. 1-17.
- Campos CA, Gerschenson LN, Flores SK. 2011. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technology*. 4(6): 849-875.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors Influencing Variability and Error. *Appl Microbiol*. 22(4): 659-665.
- Dewi PMP, Besung INK, Mahardika IGNK. 2015. Keragaman spesies dan genetik bakteri *staphylococcus* pada ikan tuna dengan analisis sekuen 16s rna. *Jurnal Veteriner*. 16(3): 409-415.
- Dhanya PR. 2012. Effect of Spice Oleoresins in Microbial Decontamination and Their Potential Application in Quality Stabilization of Tuna (*Euthynnus affinis*) During Storage. *Indian Theses*. School of Industrial Fisheries. Cochin University of Science and Technology. Kochi.
- Farhan A, Hani NM. 2017. Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Journal Food Hydrocoll*. 64: 48-58.
- Gonzalez LS, Chafer M, Hernandez M, Chiralt A, Martinez CG. 2011. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control*. 22: 1302-1310.
- Irawati H, Kusnandar F, Kusumaningrum HD. 2019. Analisis penyebab penolakan produk perikanan indonesia oleh uni eropa periode 2007 – 2017 dengan pendekatan root cause analysis. *Jurnal Standardisasi*. 21(2): 149-160.
- Jabar S, Saleha S, Sulaiman S. 2013. Preparation and characterization *edible film* packaging from carrageenan. *Proceedings of The 3rd Annual International Conference Syiah Kuala University (AIC Unsyiah)*. 3(3): 44-50.
- Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Shibata T. 2002. Klebsiella pneumonia produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* strains are histamine producers. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(7): 3462-3466.
- Khasanah NN, Amalia V, Vierai BVE, Sawitri A. 2019. Na-alginate utilization of brown algae (*Sargassum* sp.) as a halal *edible film* basic materials. *Indonesian Journal of Halal Research*. 1(1): 9-13.
- Kusnadi J, Budyanto P. 2015. Antibacterial active packaging *edible film* formulation with addition teak (*Tectona grandis*) leaf extract. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. 4(2): 79-84.
- Kusumawati DH, Putri WDR. 2013. Karakteristik fisik dan kimia *edible film* pati jagung yang diinkorporasi dengan perasan temu hitam. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 1(1): 90-100.
- Mulyadi AF, Pulungan MH, Qayyum N. 2016. Pembuatan *edible film* maizena dan uji aktifitas antibakteri (Kajian konsentrasi gliserol dan ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* L.)). *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 5(3): 149-158.
- Nemet NT, Soso VM, Lazic VL. 2010. Effect of glycerol content and ph value of film-forming solution on the functional properties of protein-based edible films. *Acta Periodica Technology*. 41: 57-64.

- Paputungan Z, Wonggo D, Kaseger BE. 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan buah mangrove *Sonneratia alba* di desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5(3): 190-195.
- Pianusa AF, Sanger G, Wonggo D. 2015. Kajian perubahan mutu kesegaran ikan tongkol (*Euthynnus Affinis*) yang direndam dalam ekstrak rumput laut (*Eucaema spinosum*) dan ekstrak buah bakau (*Sonneratia alba*). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 3(2): 66-74.
- Rawdkuen S. 2019. *Edible films* Incorporated with Active Compounds: Their Properties and Application. *Active Antimicrobial Food Packaging's Book*. 1-21.
- Retnowati Y, Bialangi N, PosangiNW. 2011. Pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus pada media yang di ekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*. 6(2): 7-8.
- Rinto. 2011. Kajian Penolakan Ekspor Produk Perikanan Indonesia ke Amerika Serikat. *Prosiding seminar nasional inovasi teknologi pengolahan produk dan bioteknologi kelautan dan perikanan III*. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Rusli A, Metusalach, Salengke, Tahir MM. 2017. Karakterisasi *edible film* karaginan dengan pemLastis gliserol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 219-229.
- Sulistijowati, R., Husain, R., Datau, M.C & Kusbidinandri. 2019. Antioxidant, antibacterial and antifungal activity of edible coating chitosan-galactose complex. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 370, (1). IOP Publishing
- Warsiki E, Sunarti TC, Martua RD. 2009. Pengembangan Kemasan Antimicrobial (AM) Untuk Memperpanjang Umur Simpan Produk Pangan. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian Institut Pertanian Bogor*. 579-588. Bogor.
- Zainab F. 2009. Pengembangan Kemasan Antimiroba Berbahan Alami untuk Memperpanjang Umur Simpan Produk. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian. Zaman NBK, Lin NK, Phing P. 2018. Chitosan film incorporated with garcinia atroviridis for the packaging of indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). *Ciência e Agrotecnologia*. 42(6): 666-675.