

KINERJA LABEL UNTUK MEMPREDIKSI UMUR SIMPAN PEMPEK PADA BERBAGAI KONDISI PENYIMPANAN

LABEL PERFORMANCE TO PREDICT PEMPEK SHELF LIFE AT VARIOUS STORAGE CONDITIONS

Melati Pratama^{1)*}, Endang Warsiki¹⁾, dan Liesbetini Haditjaroko¹⁾

Departemen Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Gedung Fateta Lantai 2, Kampus Dramaga, Bogor 16680
Email: melati_pratama@ymail.com

Makalah: Diterima 4 Januari 2016; Diperbaiki 19 Agustus 2016; Disetujui 30 Agustus 2016

ABSTRACT

Pempek is food that contains 18.26% protein. It is a very good medium to bacteria growth mainly Staphylococcus aureus. The deterioration of pempek during storage due to S. aureus could be detected by the colour change of phenol red indicator. It was made in the label form and it was attached in the inside of plastic packaging. The treatments was treated by the conditions of the packaging (non vacuumed, vacuumed), the temperature of storage (5-10°C for cold temperature, 30-32°C for room temperature). The result showed the conditions of packaging did not affect the change of label colour, while temperature storage affected it. The change of label colour was from red to yellow. The colour change of label in two conditions package (non vacuumed and vacuumed) were stored at room temperature for time storage of 8th hours, while at cold temperature for time storage of 24th hours. The colour change of label to yellow was showed by increasing of °hue on the label. The increase was caused by increasing acidity of the label due to S. aureus growth. The decreasing of pH label from 7.43 to 7.33. Amount of S. aureus on the label and pempek increased from 0 to 0.19×10³ cfu/g and from 0.03 to 0.54×10³ cfu/g.

Keywords: phenol red indicator label, S.aureus, pempek

ABSTRAK

Pempek adalah makanan yang mengandung 18,26% protein, yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri terutama *Staphylococcus aureus*. Kerusakan pempek selama penyimpanan akibat *S. aureus* dapat dideteksi melalui perubahan warna indikator *phenol red* yang dibuat dalam bentuk label dan direkatkan pada bagian dalam permukaan kemasan plastik. Perlakuan yang diberikan meliputi pengkondisian kemasan (vakum, tidak vakum) dan suhu penyimpanan (suhu dingin 5-10°C, suhu ruang 30-32°C). Hasil penelitian menunjukkan kondisi kemasan tidak berpengaruh nyata terhadap perubahan warna label, sedangkan suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata. Perubahan warna label terjadi dari merah menjadi kuning. Perubahan warna label ditunjukkan dengan perubahan °hue label untuk pempek pada dua kondisi kemasan (tidak vakum dan vakum) yang disimpan pada suhu ruang terjadi pada lama penyimpanan ke-8 jam, sedangkan pada suhu dingin pada lama penyimpanan ke-24 jam. Perubahan warna kuning pada label ditunjukkan dengan peningkatan °hue pada label. Peningkatan disebabkan adanya peningkatan keasaman label akibat pertumbuhan *S. aureus*. Penurunan pH label terjadi dari 7,43 menjadi 7,33. Jumlah *S. aureus* pada label dan pempek meningkat dari 0 menjadi 0,19×10³ cfu/g dan dari 0,03 menjadi 0,54×10³ cfu/g.

Kata kunci : label indikator *phenol red*, *S. aureus*, pempek

PENDAHULUAN

Pempek merupakan salah satu makanan tradisional berbahan dasar daging ikan giling dan tapioka. Pempek mengandung kadar air berkisar 58,59%, protein berkisar 18,26%, karbohidrat berkisar 20,17%, lemak berkisar 1,41% dan kadar abu 1,57% sehingga mudah mengalami kerusakan. Menurut Karneta *et al.* (2013), pempek dengan komposisi ikan 66,67% yang disimpan pada suhu ruang hanya mampu bertahan selama satu hari. Kemunduran mutu pempek ditandai dengan perubahan tekstur pempek, terbentuk lendir pada

permukaan, warna pempek berubah menjadi kuning atau kecoklatan, timbul bau busuk dan penurunan pH. Hal itu disebabkan adanya aktivitas mikroba yang mendegradasi protein menjadi asam amino dan terdegradasi lebih lanjut menjadi gas ammonia (NH₃), hidrogen sulfida (H₂S), nitrogen oksida (NO) dan sulfur dioksida (Karneta *et al.*, 2013). Rosdiana (2002) menyatakan bahwa kandungan protein pada pempek yang disimpan dalam suhu ruang selama dua hari mengalami penurunan dari 15,84% menjadi 13,42%.

Standar kontaminasi mikroba pada pempek yang ditetapkan oleh BPOM yaitu *Escherichia coli*

*Penulis untuk korespondensi

sebesar <3 cfu/g, *Salmonella* adalah negatif/25g dan *Staphylococcus aureus* sebesar 1×10^3 cfu/g. Hasil penelitian Tavakoli *et al.* (2012), Sokari (1991) menunjukkan bahwa bakteri dominan yang mengkontaminasi produk olahan daging ikan adalah *Staphylococcus aureus*. Kontaminasi dapat terjadi selama proses pengolahan atau pengemasan yaitu adanya kontak produk dengan udara, debu, peralatan dan tangan yang terinfeksi *S. aureus* (Al-Bahry *et al.*, 2014).

Dominasi *S. aureus* terjadi karena bakteri ini memiliki sifat fisiologi yang lebih sesuai dibanding bakteri lain yaitu bersifat anaerobik fakultatif, tahan terhadap garam tinggi hingga 20%, bertahan hidup pada selang pH 4-10, suhu berkisar 6-48,5°C (Magdevis *et al.*, 2012), sehingga *S. aureus* mudah tumbuh dalam berbagai kondisi.

S. aureus adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit (mual, muntah, sakit perut dan diare) setelah mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi (Zaid *et al.*, 2013), sehingga diperlukan suatu upaya pemberian informasi mengenai keamanan pempek kepada konsumen. Salah satunya adalah penggunaan label cerdas indikator warna pada kemasan. Beberapa kemasan cerdas yang telah diteliti yaitu kemasan cerdas indikator daun erpa (Nofrida *et al.*, 2013), kemasan cerdas pewarna natural dan sintetik (Warsiki dan Putri, 2012), kemasan cerdas pemantau kebusukan ikan (Pacquit *et al.*, 2007) dan kemasan cerdas pemantau kualitas daging ayam beku (Brizio dan Prentice, 2014). Kemasan cerdas indikator warna pendeteksi bakteri patogen adalah kemasan cerdas yang akan dikembangkan. Pada penelitian ini digunakan label indikator *phenol red* untuk memberikan informasi melalui perubahan warna, dengan merekatkannya pada bagian dalam permukaan kemasan plastik. *Phenol red* berkonsentrasi 0,0028% digunakan karena memiliki rentang pH 6 hingga 8 (Ibrahim *et al.*, 2015), sehingga cocok digunakan pada pempek yang memiliki pH sebesar 7,5.

Penggunaan label *phenol red* dalam memantau kualitas dan memprediksi umur simpan pempek akan diujikan dalam berbagai kondisi kemasan (vakum dan tidak vakum) dan suhu penyimpanan (suhu ruang dan suhu dingin). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh kondisi kemasan dan suhu penyimpanan pempek terhadap respon label dan kualitas pempek selama penyimpanan, dan menganalisis kinerja label dalam memprediksi umur simpan pempek dalam berbagai kondisi penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pempek lenjer yang dibuat dari daging ikan tenggiri 50% (b/b) dan tapioka 33,3% (b/b) yang

dicampurkan, dibentuk dan dilakukan perebusan selama 15 menit pada suhu 100°C, label *phenol red*, media uji meliputi *Baird Parker Agar and egg yolk*. Alat yang digunakan adalah *Chromameter CR-400*, lemari pendingin, pH meter merek ATC PH-009(I)A, gas analyzer Lancom IV, plastik nilon, plastik PVC (mika) sealer, piring dan *vacuum packer*.

Persiapan Sampel

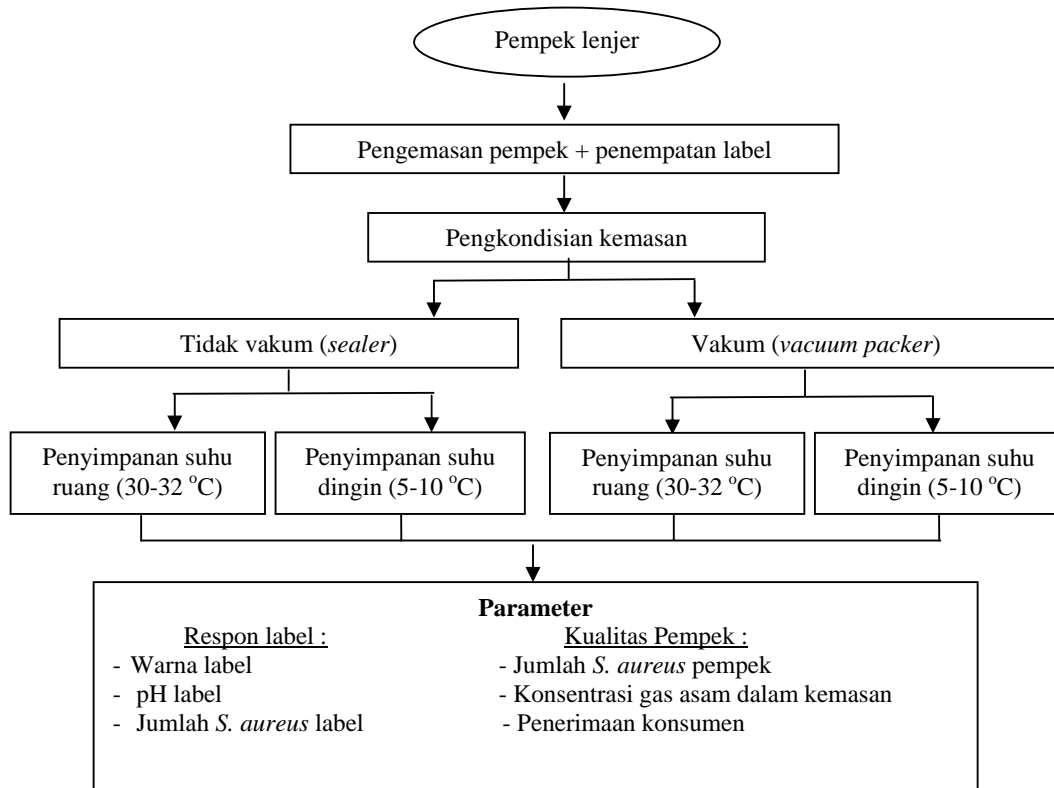
Penelitian ini dimulai dari persiapan label *phenol red*. Label *phenol red* yang digunakan terbuat dari 0,88% (b/v) manitol, 0,88% (b/v) agar bubuk, 0,88% (v/v) susu cair, 0,44% (b/v) tapioka, 6,17% (b/v) NaCl dan 2,46% (v/v) *phenol red*. Bahan-bahan tersebut dilakukan pencampuran, pemanasan, sterilisasi, dicetak berukuran 2×2 cm dan dikemas menggunakan plastik LDPE (*Low Density Polyethylene*). Penggunaan plastik LDPE pada label bertujuan untuk mencegah terkontaminasinya pempek oleh label. Label *phenol red* yang telah jadi kemudian diaplikasikan pada pempek. Aplikasi label pada pempek dilakukan dengan merekatkan label *phenol red* pada kemasan pempek.

Pempek sebanyak 3 pcs berukuran 3×8 cm berdiameter 1,5 cm dan berat 250 g dikemas menggunakan plastik *polyamide*. *Polyamide* digunakan karena memiliki kuat tarik yang tinggi, ketahanan terhadap tusukan dan memiliki sifat penghalang yang baik terhadap oksigen dan gas lainnya (Ahn dan Min, 2006). Label kemudian direkatkan pada permukaan bagian dalam kemasan dengan posisi ditengah dan berjarak 2 cm dari pempek. Kemasan pempek yang digunakan berukuran 13×13×3,5 cm. Setelah label direkatkan, kemasan dikondisikan dengan pemberian perlakuan vakum dan tidak vakum. Pempek yang dikemas vakum, ujung kemasan direkatkan dengan *vacuum packer* pada tekanan ± 1 kpa. Pempek yang dikemas tidak vakum, ujung kemasan direkatkan dengan *sealer* biasa.

Kemasan berlabel indikator yang telah dikondisikan disimpan pada dua suhu yaitu suhu dingin (5-10°C) dan suhu ruang (30-32°C). Penyimpanan dilakukan selama 8, 16, 24, 48 jam pada suhu ruang dan dingin dengan 0 jam sebagai kontrol. Skema persiapan sampel dapat dilihat pada Gambar 1.

Analisis Percobaan

Selama penyimpanan, pengaruh kondisi kemasan dan suhu penyimpanan terhadap respon label *phenol red* dan kualitas pempek diamati dan diukur parameternya. Pengamatan dan pengukuran respon label dan kualitas pempek meliputi perubahan warna label, perubahan pH label dan jumlah *S. aureus* label. Pengamatan pada pempek meliputi jumlah *S. aureus*, konsentrasi gas asam dalam kemasan, dan penerimaan konsumen.



Gambar 1. Skema prosedur persiapan pempek dan parameter mutu

Perubahan Warna Label (Jha, 2010)

Perubahan warna label pada berbagai kondisi kemasan dan suhu penyimpanan diukur menggunakan *Chromameter* CR-400. Mode warna yang diukur adalah a* (komponen warna dari hijau ke merah), dan b* (komponen warna dari biru ke kuning). Komponen a* dan b* dikonversi menjadi °hue dan chroma dengan persamaan berikut :

$$^{\circ}hue = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \dots\dots\dots (1)$$

$$chroma^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \dots\dots\dots (2)$$

Perubahan pH Label (SNI 06-6989 11-2004)

Perubahan pH label pada berbagai kondisi kemasan dan suhu penyimpanan diukur dengan mensuspensikan seluruh bagian label ke dalam aquades dengan perbandingan volume 1:1 (2 cm³:2 mL), sehingga diperoleh homogenat. Homogenat diukur dengan mencelupkan elektroda yang telah dikalibrasi ke dalamnya.

Jumlah *S. aureus* pada Label Kemasan dan Pempek (SNI 2332.9:2011)

Jumlah *S. aureus* label dan pempek pada berbagai kondisi kemasan dan suhu penyimpanan dihitung dengan melarutkan sampel padatan (label, pempek) ke dalam garam fisiologis (NaCl) dengan perbandingan 1:9 hingga menjadi homogenat dan dilakukan pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁴. Hasil

pengenceran diinokulasikan ke dalam media selektif *Baird Parker Agar* (BPA) sebanyak 1 mL. Inokulum diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C dalam kondisi terbalik. Banyaknya jumlah *S.aureus* dengan satuan cfu/g, menurut Allaiy *et al.* (2011) dihitung dengan persamaan 3.

Konsentrasi Gas Asam dalam Kemasan

Konsentrasi gas asam dalam kemasan pada berbagai kondisi kemasan dan suhu penyimpanan diukur menggunakan gas analyzer Lancom IV. Gas asam yang diukur meliputi H₂S, SO₂ dan NO dalam satuan ppm. Alat ini memiliki kemampuan dapat mengukur seluruh jenis gas dengan batas 0-1000 ppm, namun pengukuran berjalan tidak efektif jika kemasan dalam keadaan bocor atau terbuka. Pengukuran dilakukan dengan memasukkan probe ke dalam kemasan, pompa alat akan menyedot gas melalui probe dan gas disalurkan ke sensor. Sensor akan menentukan dan mengukur gas yang ada dalam kemasan. Kalibrasi alat dilakukan sebelum dan sesudah alat digunakan dengan meletakkan probe pada udara terbuka hingga konsentrasi masing-masing gas yang tercatat pada layar adalah 0.

Penerimaan Konsumen pada Pempek (SNI 2346:2011)

Penerimaan konsumen terhadap pempek pada masing-masing kondisi kemasan dan suhu penyimpan diuji secara hedonik dengan menilai

aroma, tekstur dan warna pempek. Uji hedonik dilakukan dengan memberikan penilaian langsung pada aroma, tekstur dan warna pempek dengan melibatkan 10 panelis terlatih. Skala hedonik diubah menjadi numerik yaitu sangat suka = 3, suka = 2, tidak suka = 1.

Analisis Kinerja Label dalam Memprediksi Umur Simpan Pempek pada Berbagai Kondisi Penyimpanan

Kemampuan label dalam memantau kualitas pempek dapat digunakan untuk memprediksi umur simpan pempek. Secara matematika, umur simpan pempek ditentukan berdasarkan jumlah maksimum *S. aureus* yang diperbolehkan BPOM pada pempek. Umumnya umur simpan pempek diprediksi menggunakan metode *Extended Shelf Studies* (ESS) pada persamaan orde satu (persamaan 4) (Karneta *et al.*, 2013). Laju peningkatan mikroba ditentukan dengan rumus pada persamaan 5 (Labuza dan Shimoni, 2000).

Prediksi umur simpan pempek melalui perubahan warna label tidak hanya didasarkan pada jumlah *S. aureus* saja, namun juga didasarkan pada tingkat kesukaan konsumen. Prediksi umur simpan pempek melalui perubahan warna label dapat dilakukan dengan melihat kategori warna label. Kategori warna label akan menunjukkan warna yang berbeda pada masing-masing tingkat kerusakan pempek. Kesesuaian perubahan warna label pada kategori warna sebagai pedoman umur simpan diuji dengan membandingkan prediksi umur simpan pempek pada metode ESS dengan perubahan warna label. Pedoman warna yang dinyatakan sesuai adalah yang memiliki ketepatan perubahan warna label

terhadap prediksi umur simpan pempek pada metode ESS.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan digunakan untuk menentukan pengaruh faktor perlakuan (kondisi kemasan dan suhu penyimpanan) terhadap respon label (perubahan warna label, pH label dan jumlah *S. aureus* pada label) dan pempek (jumlah *S. aureus* pempek, gas asam didalam kemasan dan organoleptik pempek). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial *in time* dengan tiga kali ulangan. RALF *in time* menggunakan waktu pengamatan sebagai faktor tambahan yang dialokasikan ke dalam anak petak, sehingga RALF *in time* seolah-olah dipandang sebagai rancangan split plot. Faktor yang dialokasikan sebagai petak utama meliputi dua faktor yaitu kondisi kemasan (K) dan suhu penyimpanan (S), sedangkan waktu pengamatan dialokasikan sebagai anak petak (Gomez, 1984; Widiharih, 2001). Hasil pengamatan ditabulasikan dan dihitung rata-ratanya, kemudian dianalisis keragamannya. Jika hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan taraf 5%. Model perhitungan RALF *in time* pada persamaan 6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu penyimpanan Terhadap Perubahan Warna Label

Warna label mengalami perubahan setelah diaplikasikan pada pempek yaitu dari merah menjadi kuning. Perubahan warna label dijadikan indikator perubahan mutu pempek selama penyimpanan. Perubahan warna label dapat dilihat pada Tabel 1.

$$\text{Jumlah } S. aureus \text{ (cfu/g)} = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran} \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{Umur simpan} = \frac{\ln(\text{nilai kritis jumlah mikroba}) - \ln(\text{nilai jumlah mikroba awal})}{\text{laju peningkatan mikroba}} \dots\dots\dots (4)$$

$$\text{Laju peningkatan mikroba} = \frac{\ln(\text{biomassa akhir/biomassa awal})}{\text{waktu biomassa akhir}} \dots\dots\dots (5)$$

$$Y_{ijk} = \mu + K_i + S_j + (KS)_{ij} + G_{ij} + U_k + (KU)_{ik} + (SU)_{ij} + (KSU)_{ijk} + G_{ijk} \dots\dots\dots (6)$$

Tabel 1. Perubahan warna label pada berbagai kondisi kemasan dan suhu penyimpanan

Kondisi Kemasan	Suhu Penyimpanan	Lama penyimpanan (Jam)				
		0	8	16	24	48
Tidak vakum	Ruang					
	Dingin					
Vakum	Ruang					
	Dingin					

Perubahan warna label selama penyimpanan digambarkan dalam $^{\circ}hue$. Nilai hue merupakan sudut warna dengan rentang dari 0° hingga 360° yang menyatakan warna sebenarnya seperti merah, violet dan kuning. Nilai hue digunakan untuk membedakan warna-warna dan menentukan kemerahan (*redness*), kekuningan (*yellowness*) dan sebagainya dari cahaya yang berasosiasi dengan panjang gelombang cahaya (Hariyanto, 2009).

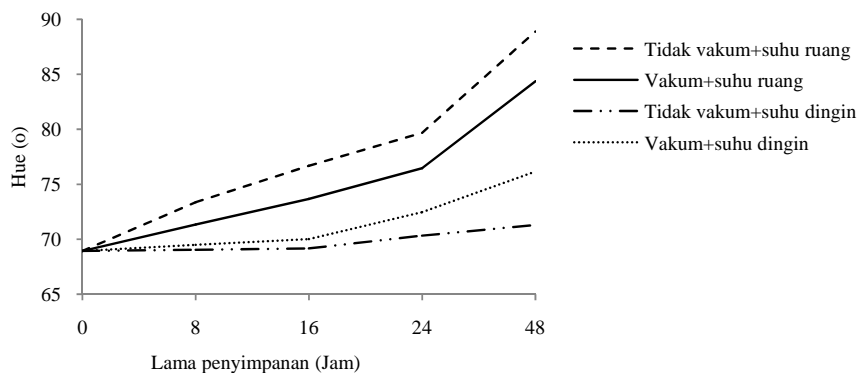
Nilai $^{\circ}hue$ label pada pempek selama penyimpanan mengalami peningkatan. Grafik peningkatan $^{\circ}hue$ label dapat dilihat pada Gambar 2. Menurut Hutchings (1999), daerah kisaran warna kromatisitas merah sebesar 18° dan kuning sebesar 126° . Semakin mendekati 126° , label akan semakin berwarna kuning. Hasil analisis ragam pada seluruh perlakuan menunjukkan bahwa kondisi kemasan tidak berpengaruh nyata terhadap $^{\circ}hue$ label, sedangkan suhu penyimpanan berpengaruh nyata terhadap $^{\circ}hue$ label. Lama penyimpanan, interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap $^{\circ}hue$ label.

Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf nyata 5%, nilai $^{\circ}hue$ label pada dua kondisi kemasan berbeda sangat nyata untuk yang disimpan pada suhu ruang maupun suhu dingin. Pada suhu ruang, perbedaan sudah mulai terlihat pada lama penyimpanan ke-8 jam. Sedangkan pada suhu dingin, perbedaan mulai terlihat pada lama penyimpanan ke-24. Nilai $^{\circ}hue$ label untuk sampel

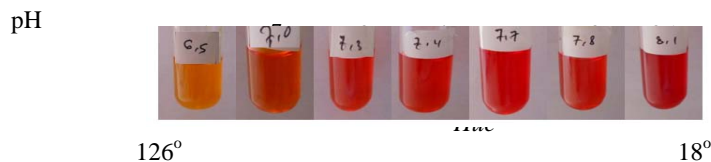
yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan tidak vakum mengalami peningkatan dari $68,93^{\circ}$ menjadi $88,89^{\circ}$, sedangkan dalam kemasan vakum menjadi $84,37^{\circ}$. Nilai $^{\circ}hue$ label untuk sampel yang disimpan pada suhu dingin dalam kemasan tidak vakum mengalami peningkatan dari $68,93^{\circ}$ menjadi $71,29^{\circ}$, sedangkan dalam kemasan vakum menjadi $76,16^{\circ}$.

Peningkatan $^{\circ}hue$ label selama penyimpanan disebabkan adanya penurunan pH label. Gambar 2 dan 5 menunjukkan peningkatan $^{\circ}hue$ label seiring dengan penurunan pH label. Penurunan pH label disebabkan karena meningkatnya keasaman label yang menyebabkan warna label *phenol red* menjadi berubah. Ibrahim *et al.* (2015) menyatakan, *phenol red* adalah salah satu bahan label yang berfungsi sebagai agen peubah warna. Gambar 3 adalah rentang perubahan warna *phenol red* pada pH yang berbeda.

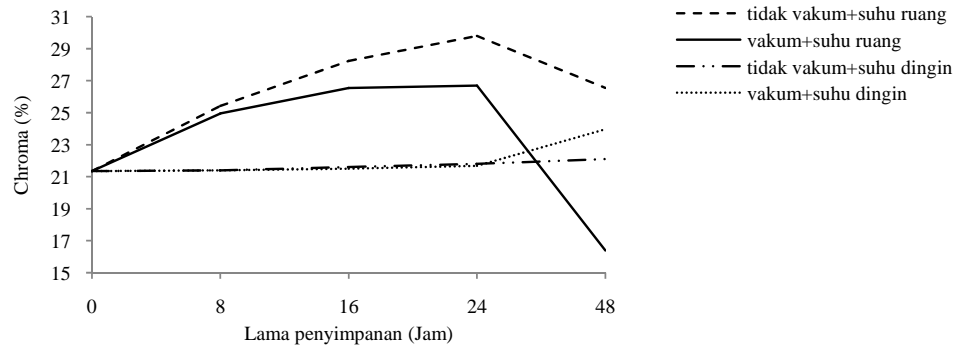
Warna akan menjadi kuning pada pH 6,5 dan merah pada pH 8,1. Semakin mendekati pH 6,5 warna akan menjadi semakin kuning, $^{\circ}hue$ semakin meningkat dan sebaliknya. Ketajaman warna label pada peningkatan $^{\circ}hue$ masing-masing label ditunjukkan dengan nilai *chroma* (Wrolstad *et al.*, 2005). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa kondisi kemasan, suhu penyimpanan dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap *chroma* (ketajaman warna) label. Grafik *chroma* label selama penyimpanan pada Gambar 4.



Gambar 2. Grafik $^{\circ}hue$ label selama penyimpanan



Gambar 3. Warna *phenol red* pada berbagai pH

Gambar 4. Grafik *chroma* label selama penyimpanan

Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf 5%, *chroma* label pada dua kondisi kemasan berbeda sangat nyata untuk yang disimpan pada suhu ruang maupun dingin. *Chroma* label yang disimpan pada suhu ruang mengalami perbedaan pada lama penyimpanan ke-8 jam, sedangkan pada suhu dingin *chroma* label mengalami perbedaan pada jam ke-24 jam. *Chroma* label untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dan dikemas tidak vakum mengalami peningkatan dari 21,35% menjadi 29,79%, dan menjadi 26,69% untuk yang dikemas vakum. *Chroma* label untuk pempek yang disimpan pada suhu dingin yang dikemas tidak vakum mengalami peningkatan menjadi 21,73% dan 21,83% untuk pempek yang dikemas vakum.

Penurunan *chroma* pada jam ke-48 untuk label suhu ruang disebabkan jumlah *S. aureus* pada label sudah banyak, jumlah *S. aureus* label dapat dilihat pada Gambar 6. Pertumbuhan *S. aureus* pada label selama penyimpanan menimbulkan koloni-koloni berwarna putih (Harris *et al.*, 2002) sehingga memudahkan warna label.

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Perubahan pH Label

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa kondisi kemasan tidak berpengaruh nyata terhadap pH label. Suhu penyimpanan, lama penyimpanan, interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan pH label. Hasil penelitian menunjukkan pH label mengalami penurunan selama penyimpanan. Grafik penurunan pH label dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf 5%, pH label pada pempek yang dikemas pada dua kondisi kemasan yaitu tidak vakum dan vakum dalam suhu ruang berbeda sangat nyata terhadap pH label pada pempek yang disimpan pada suhu dingin. Nilai pH label pada pempek yang disimpan pada suhu ruang mengalami perbedaan yang sangat nyata pada lama penyimpanan ke-8 jam, sedangkan pada suhu dingin untuk yang dikemas vakum pada jam ke-16 dan yang dikemas tidak vakum pada jam ke-24.

Nilai pH label untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang untuk kemasan tidak vakum mengalami penurunan dari 7,43 menjadi 6,7,

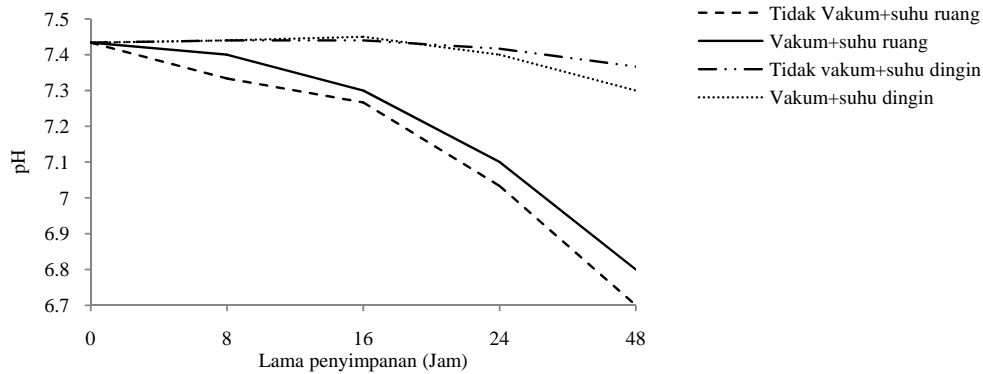
dan kemasan vakum menjadi 6,8. Sedangkan nilai pH label untuk pempek yang dikemas pada dua kondisi kemasan dan disimpan pada suhu dingin mengalami penurunan menjadi 7,4. Penurunan pH label selama penyimpanan disebabkan penetrasi gas (Gambar 3) yang dihasilkan dari degradasi protein oleh *S. aureus* pada pempek ke dalam label dan asam yang dihasilkan dari fermentasi manitol pada label. Fey *et al.* (2013), Singh dan Prakash (2010) menyatakan bahwa *S. aureus* memfermentasi manitol menjadi asam. Molekul asam dan gas yang terbentuk akan mengalami ionisasi dan reaksi transfer proton pada senyawa *phenol red*. Reaksi tersebut merubah struktur kimia *phenol red*, sehingga merubah warna label dari merah menjadi kuning.

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Jumlah *S. aureus* pada Label

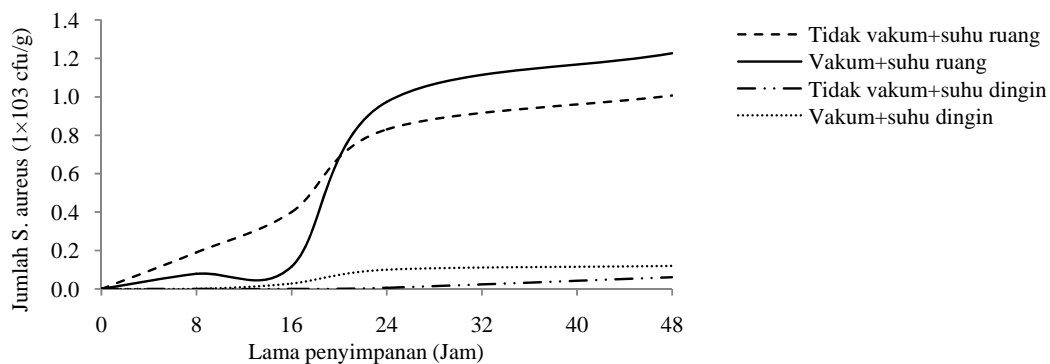
Penurunan pH label selama penyimpanan diiringi dengan peningkatan jumlah *S. aureus* pada label. Pada penelitian ini, pertumbuhan *S. aureus* pada label dapat terjadi karena udara didalam kemasan terkontaminasi. Grafik pertumbuhan *S. aureus* label pada Gambar 6.

Hasil analisis ragam menunjukkan kondisi kemasan tidak berpengaruh nyata, sedangkan suhu penyimpanan, lama penyimpanan dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah *S. aureus* pada label. Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf 5%, jumlah *S. aureus* label pada pempek pada dua kondisi kemasan dan disimpan pada suhu dingin berbeda sangat nyata terhadap label yang disimpan pada suhu ruang.

Jumlah *S. aureus* label pada pempek yang disimpan pada suhu ruang untuk kemasan tidak vakum meningkat dari 0 menjadi $1,01 \times 10^3$ cfu/g, dikemas vakum menjadi $1,23 \times 10^3$ cfu/g. Jumlah *S. aureus* label pada pempek yang disimpan pada suhu dingin untuk kemasan tidak vakum meningkat dari 0 menjadi $0,06 \times 10^3$ cfu/g dan kemasan vakum menjadi $0,12 \times 10^3$ cfu/g. Pertumbuhan *S. aureus* label yang lambat pada suhu dingin disebabkan suhu dingin bukan merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan *S. aureus*.



Gambar 5. Grafik pH label selama penyimpanan

Gambar 6. Grafik jumlah *S.aureus* pada label selama penyimpanan

Valero *et al.* (2009) menyatakan *S.aureus* tumbuh optimum pada suhu berkisar 30-37°C. Kondisi kemasan yang tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *S.aureus* pada label karena *S.aureus* memiliki sifat anaerobik fakultatif (Magdevis *et al.*, 2012). Hasil penelitian menunjukkan *S. aureus* masih tumbuh pada kondisi vakum. Tekanan vakum pada penelitian ini berkisar 0,9 hingga 0,98 kpa. Hal itu memungkinkan masih terdapatnya oksigen didalam kemasan.

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Jumlah *S.aureus* pada Pempok

Keberadaan *S.aureus* pada pempok disebabkan terjadinya kontaminasi selama proses pengolahan dan pengemasan. Hasil analisis ragam menunjukkan kondisi kemasan tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada pempok. Suhu penyimpanan, lama penyimpanan, interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah *S. aureus* pempok.

Peningkatan jumlah *S. aureus* pada pempok selama penyimpanan mengindikasikan adanya pertumbuhan *S. aureus* pada pempok. Grafik pertumbuhan *S.aureus* pempok dapat dilihat pada

Gambar 7. Pertumbuhan *S.aureus* lebih cepat pada pempok yang disimpan dalam suhu ruang dengan pencapaian batas maksimum cemaran pada masa simpan 16 jam. Batas maksimum yang dibatasi oleh BPOM untuk keberadaan *S.aureus* pada pempok adalah 1×10^3 cfu/g.

Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf 5%, jumlah *S. aureus* pempok yang disimpan pada suhu ruang berbeda sangat nyata terhadap jumlah *S. aureus* pempok yang disimpan pada suhu dingin, sedangkan jumlah *S. aureus* pempok yang disimpan pada kondisi tidak vakum berbeda tidak nyata terhadap kondisi vakum. Jumlah *S. aureus* pempok pada kedua kondisi kemasan yang disimpan pada suhu ruang memiliki perbedaan sangat nyata pada lama penyimpanan 24 jam. Jumlah *S. aureus* pempok yang disimpan pada suhu ruang yang dikemas tidak vakum meningkat dari 0,03 menjadi 354×10^3 cfu/g dan menjadi 273×10^3 cfu/g untuk pempok yang dikemas vakum.

Jumlah *S. aureus* pempok yang dikemas pada dua kondisi kemasan dan disimpan pada suhu dingin tidak memiliki perbedaan nyata hingga lama penyimpanan 48 jam. Jumlah *S. aureus* pempok yang disimpan pada suhu dingin mengalami peningkatan dari 0,03 menjadi $1,42 \times 10^3$ cfu/g untuk

pepek yang dikemas tidak vakum dan menjadi $0,89 \times 10^3$ cfu/g untuk pempek yang dikemas vakum. Pertumbuhan *S.aureus* yang lambat terjadi pada suhu dingin karena bukan merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan *S.aureus*. Suhu optimum pertumbuhan *S.aureus* berkisar antara 30-37°C (Valero *et al.*, 2009)

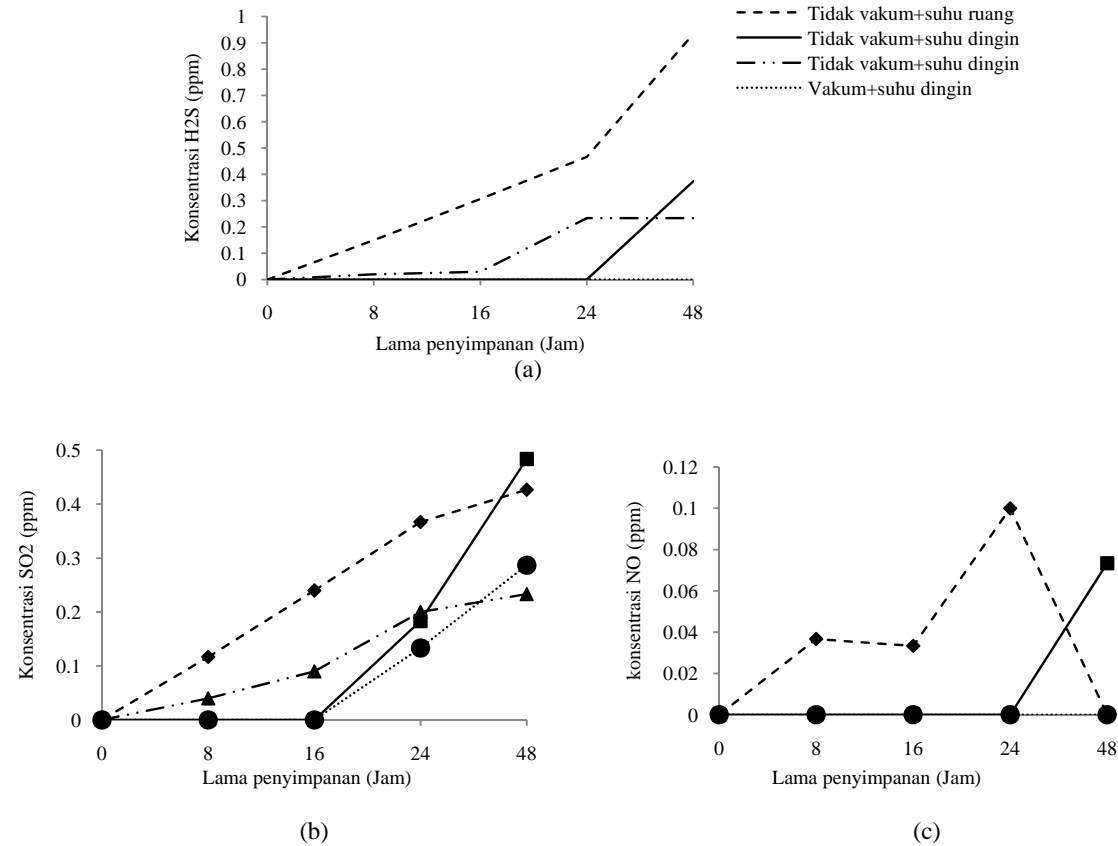
Pempek yang belum mengalami penurunan mutu mengandung kadar air berkisar 58,59%, kadar abu 1,57%, protein 18,26%, lemak 1,41% dan karbohidrat 10,17%. Pertumbuhan *S. aureus* pada pempek selama penyimpanan menyebabkan nutrisi tersebut mengalami penurunan. Pertumbuhan *S. aureus* pempek yang disimpan pada suhu ruang hingga lama penyimpanan 48 jam menyebabkan protein menurun menjadi 10,36% untuk pempek yang dikemas tidak vakum, dan menjadi 12,3% untuk pempek yang dikemas vakum. Pempek yang disimpan pada suhu dingin mengalami penurunan protein menjadi 12,92% untuk yang dikemas tidak vakum, dan menjadi 16,12% untuk yang dikemas vakum.

Pertumbuhan *S. aureus* yang terjadi pada kemasan vakum menunjukkan bahwa kondisi kemasan tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *S.aureus*, karena *S.aureus* bersifat anaerobik fakultatif yaitu dapat tumbuh pada kondisi

lingkungan sedikit oksigen (Magdevis *et al.*, 2012). Tekanan vakum yang digunakan pada penelitian ini adalah berkisar 0,9 hingga 0,98 kpa sehingga memungkinkan adanya sedikit oksigen.

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Konsentrasi Gas Asam dalam Kemasan

Degradasi protein pempek oleh *S. aureus* menghasilkan gas yang bersifat asam diantaranya adalah hidrogen sulfida (H_2S), sulfur dioksida (SO_2) dan nitrit oksida (NO). Grafik konsentrasi gas dapat dilihat pada Gambar 7. Protein pempek ikan tenggiri mengandung 0,27% metionin, 0,66% arginin, 0,4% sistein (Rosdiana, 2002). Asam amino sistein dan metionin didegradasi oleh *S.aureus* menjadi sulfur dioksidan dan hidrogen sulfida (Linderholm dan Bisson, 2005). *S.aureus* memproduksi beberapa enzim protease yaitu *V8 protease*, *metalloprotease*, *aureolysin* dan *sistein protease* (Ohbayashi *et al.*, 2011). Sistein protease memutus ikatan-ikatan peptida dan ujung rantai polipeptida sistein dan metionin (Sriket, 2014) pada protein pempek sehingga membentuk gas H_2S dan SO_2 , sedangkan arginin didegradasi oleh arginase *S.aureus* menjadi gas NO (Rath *et al.*, 2014).



Gambar 7. Grafik konsentrasi gas H_2S (a), SO_2 (b) dan NO (c) selama penyimpanan pempek

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan kondisi kemasan berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi H₂S dalam kemasan. Suhu penyimpanan berpengaruh nyata terhadap konsentrasi NO dalam kemasan. Lama penyimpanan dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap H₂S, SO₂ dan NO. Berdasarkan uji lanjut Duncan taraf 5%, konsentrasi H₂S, SO₂ dan NO dalam dua kondisi kemasan berbeda sangat nyata pada suhu dingin berbeda sangat nyata terhadap suhu ruang. Konsentrasi H₂S dan SO₂ untuk pempek yang dikemas tidak vakum dan disimpan pada suhu ruang memiliki perbedaan sangat nyata pada lama penyimpanan ke-8 jam, sedangkan NO pada lama penyimpanan ke-16 jam. Konsentrasi H₂S dan NO untuk pempek yang dikemas vakum dan disimpan pada suhu ruang memiliki perbedaan yang sangat nyata pada lama penyimpanan ke-48 jam, konsentrasi SO₂ pada lama penyimpanan ke-24 jam. Konsentrasi H₂S dan SO₂ untuk pempek yang dikemas tidak vakum dan disimpan pada suhu dingin memiliki perbedaan sangat nyata pada lama penyimpanan ke-24 jam. Konsentrasi H₂S dan NO untuk pempek yang dikemas vakum dan disimpan pada suhu dingin tidak berbeda nyata.

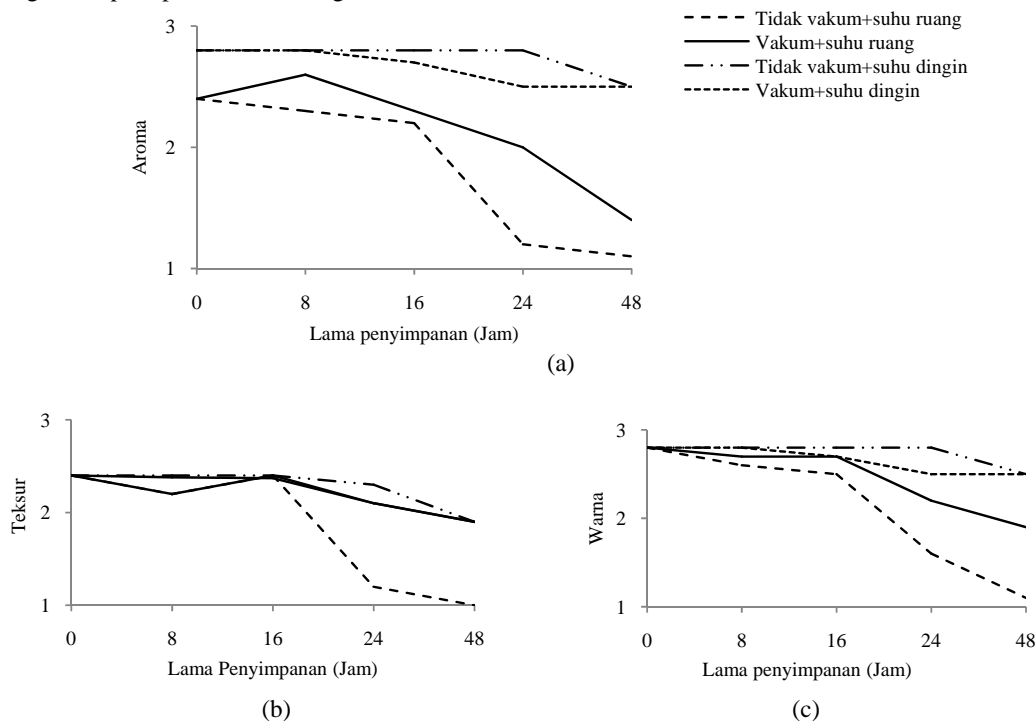
Konsentrasi H₂S untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan tidak vakum meningkat dari 0 menjadi 0,93 ppm, dan dalam kemasan vakum menjadi 0,37. Konsentrasi H₂S untuk pempek yang disimpan pada suhu dingin dalam kemasan tidak vakum meningkat dari 0 menjadi 0,23 ppm. Konsentrasi SO₂ untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan

tidak vakum meningkat dari 0 menjadi 0,43 ppm, dan dalam kemasan vakum menjadi 0,48 ppm. Pada suhu dingin konsentrasi SO₂ meningkat dari 0 menjadi 0,23 ppm untuk kemasan tidak vakum, dan menjadi 0,29 ppm untuk kemasan vakum. Konsentrasi NO untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan tidak vakum meningkat dari 0 menjadi 0,1 ppm, dan menjadi 0,07 ppm untuk kemasan vakum.

Peningkatan konsentrasi gas didalam kemasan seiring dengan peningkatan jumlah *S. aureus* pada pempek selama penyimpanan. Konsentrasi gas asam sulfur yang lebih tinggi dibanding NO didalam kemasan mengindikasikan bahwa enzim arginase bekerja tidak optimum pada pH pempek (yaitu 7,67) dalam mendegradasi protein pempek. Enzim arginase optimum bekerja pada pH 10 atau kondisi basa (Jain *et al.*, 2005).

Pengaruh Kondisi Kemasan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Penerimaan Konsumen

Peningkatan konsentrasi gas asam dalam kemasan (Gambar 7) dan jumlah *S. aureus* pada pempek (Gambar 6) mempengaruhi tingkat kesukaan konsumen terhadap pempek. Grafik kesukaan konsumen dapat dilihat pada Gambar 8. Kemunduran mutu pempek ditandai dengan aroma yang tidak sedap pada pempek, perubahan tekstur dan warna (Karneta *et al.*, 2013). Uji kesukaan konsumendilakukan kepada 10 panelis terlatih dengan angka numerik 3= sangat suka, 2= suka dan 1= tidak suka.



Gambar 8. Grafik kesukaan konsumen terhadap (a) aroma, (b) tekstur, (c) warna pempek

Hasil analisis ragam kondisi kemasan berpengaruh nyata, suhu penyimpanan dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap tingkat kesukaan konsumen yang meliputi aroma, tekstur dan warna pempek. Uji lanjut Duncan taraf 5% menunjukkan tingkat kesukaan konsumen terhadap aroma, tekstur dan warna pempek yang dikemas dalam dua kondisi kemasan yang berbeda pada suhu dingin berbeda sangat nyata terhadap aroma, tekstur dan warna pempek yang disimpan pada suhu ruang. Gambar 8 menunjukkan tingkat kesukaan konsumen terhadap aroma, tekstur dan warna pempek selama penyimpanan mengalami penurunan.

Penurunan tingkat kesukaan konsumen terhadap aroma, tekstur dan warna pempek selama penyimpanan, mengindikasikan telah terjadi penurunan kualitas pada pempek. Kesukaan konsumen terhadap aroma untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan tidak vakum menurun dari 2,4 menjadi 1,1, dalam kemasan vakum menjadi 1,4. Pada suhu dingin, kesukaan konsumen terhadap aroma pempek menurun menjadi 2,3. Kesukaan konsumen terhadap tekstur untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam dua kondisi kemasan menurun dari 2,4 menjadi 1, pempek yang disimpan pada suhu dingin menurun menjadi 1,9. Kesukaan konsumen terhadap warna untuk pempek yang disimpan pada suhu ruang dalam kemasan tidak vakum menurun dari 2,8 menjadi 1,1, dalam kemasan vakum menjadi 1,9. Pempek yang dikemas dalam dua kondisi kemasan dan disimpan pada suhu dingin mengalami penurunan menjadi 2,5.

Kinerja Label dalam Memprediksi Umur Simpan Pempek pada Berbagai Kondisi Penyimpanan

Secara matematika, umumnya umur simpan pempek diprediksi dengan menggunakan metode *Extended Shelf Studies* (ESS) persamaan 4, dengan nilai kritis jumlah mikroba sebesar 1×10^3 cfu/g (berdasarkan batasan BPOM). Namun dengan adanya perubahan warna label pada kemasan, konsumen atau produsen dapat secara langsung memprediksi umur simpan pempek tanpa harus menghitung jumlah mikroba. Hasil prediksi umur

simpan pempek berdasarkan metode ESS dapat dilihat pada Tabel 2.




Tabel 2. Prediksi umur simpan pempek berdasarkan metode ESS

Perlakuan	Laju peningkatan <i>S.aureus</i> (cfu/jam)	Umur simpan (Jam)
Tidak vakum+suhu ruang	0,19	16
Vakum+suhu ruang	0,19	16
Tidak vakum+suhu dingin	0,08	43
Vakum+suhu dingin	0,07	51

Penyimpanan suhu ruang memiliki umur simpan yang lebih pendek dibanding penyimpanan suhu dingin. Hal ini disebabkan suhu ruang memiliki laju peningkatan pertumbuhan *S. aureus* yang lebih tinggi dibanding suhu dingin. Laju peningkatan *S. aureus* pada Tabel 2. Valero *et al.* (2009) menyatakan suhu ruang yaitu 30-37°C merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan *S. aureus*. Hal tersebut terlihat pada Gambar 16, jumlah *S. aureus* pempek meningkat dari 30 cfu/g menjadi 354×10^3 cfu/g (tidak vakum) dan 273×10^3 cfu/g (vakum) dalam suhu ruang, menjadi $1,42 \times 10^3$ cfu/g (tidak vakum) dan $0,89 \times 10^3$ cfu/g (vakum) dalam suhu dingin. Prediksi umur simpan pempek melalui perubahan warna label dilakukan dengan melihat kategori warna label, dapat dilihat pada Tabel 3.

Warna label menunjukkan tingkat kerusakan pempek. Tingkat kerusakan pempek menggambarkan umur simpan pempek. Label yang berwarna kuning menginformasikan bahwa pempek yang dikemas sudah mengalami kerusakan atau menandakan umur simpan telah habis (*expired date*) karena jumlah *S. aureus* yang terdapat pada pempek $\geq 3,29 \times 10^3$ cfu/g dan telah terjadi penurunan terhadap aroma, tekstur serta warna pempek. Penurunan aroma, tekstur dan warna ditunjukkan pada tingkat kesukaan konsumen 1.85 (tidak suka). Warna orange menunjukkan peringatan (*warning*) bahwa umur simpan pempek akan segera berakhir dan warna merah merupakan informasi bahwa pempek masih memiliki umur simpan yang panjang.

Tabel 3. Kategori warna label untuk memprediksi umur simpan

Jumlah <i>S. aureus</i> pempek (1×10^3 cfu/g)	Tingkat kesukaan konsumen pempek (skala 1-3)	Perubahan warna label	Informasi	Deskripsi umur simpan
0-0,99	2,53-2,35		Baik	Umur simpan masih panjang
1-3,28	2,36-1,84		Segera rusak	<i>Warning</i> (umur simpan segera berakhir)
$\geq 3,29$	$\leq 1,85$		Rusak	<i>Expired date</i> (umur simpan telah berakhir)

Keterangan : 3= sangat suka, 2=suka, 1=tidak suka

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kondisi kemasan berpengaruh sangat nyata terhadap warna label. Suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan warna (*hue* dan *chroma*) dan pH label, jumlah *S. aureus* pada label dan pempek, serta berpengaruh nyata terhadap konsentrasi gas asam dalam kemasan. Interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap warna dan pH label.

Kinerja label dalam memprediksi umur simpan dapat dilakukan dengan mendeskripsikan perubahan warna label. Label yang berwarna merah menandakan pempek masih fresh atau umur simpan masih panjang. Pada warna tersebut, jumlah *S. aureus* pempek berkisar $0-0,99 (1 \times 10^3 \text{ cfu/g})$ dan sangat disukai konsumen. Label berwarna orange menandakan pempek akan segera rusak atau umur simpan akan segera berakhir (*warning*). Pada warna tersebut, jumlah *S. aureus* pempek berkisar $1-3,28 (1 \times 10^3 \text{ cfu/g})$ dan disukai konsumen. Label berwarna kuning menandakan pempek sudah rusak atau umur simpan pempek sudah berakhir (*expired*). Pada warna tersebut, jumlah *S. aureus* melebihi $3,29 \times 10^3 \text{ cfu/g}$ dan sudah tidak disukai konsumen.

Perubahan warna label dari merah menjadi kuning disebabkan adanya penurunan pH label menjadi lebih asam. Perubahan pH label menjadi prinsip dari kinerja perubahan warna label.

Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut pada pewarna alami, untuk pewarna label agar perubahan warna lebih mudah diidentifikasi, dan penentuan formulasi label agar lebih sensitif dalam memantau kualitas pempek yaitu perubahan warna signifikan pada jumlah *S. aureus* pempek $1 \times 10^3 \text{ cfu/g}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn D dan Min B. 2006. *Handbook Fermented Meat and Polutry*. USA: Blackwell publishing.
- Al-Bahry SN, Mahmoud IY, Al-Musharafi SK, Sivakumar N. 2014. *Staphylococcus aureus* contamination during food preparation, processing and handling. *Int J Chem Eng App*. 5(5):388-392.
- Allaiy, Ramli N, dan Ridwan R. 2011. Kualitas silase rasum komplit berbahan baku pangan lokal. *J Agri Pet*. 11(2):35-40.
- [BPOM] Balai Penelitian Obat dan Makanan. 2009. *Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia*. Jakarta : Balai Penelitian Obat dan Makanan.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2004. *Cara Uji Derajat Keasaman (pH) Dengan Menggunakan Alat pH Meter-Bagian 11 Air dan Air Limbah*. SNI-06-6989.11-2004. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2011. *Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 9: Penentuan Staphylococcus aureus pada Produk Perikanan*. SNI 2332.9-2011. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2011. *Cara Pengujian Organoleptik dan atau Sensori pada Produk Perikanan*. SNI 2346:2011. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Brizio APDR dan Carlos P. 2014. Use of smart photochromic indicator for dynamic monitoring of the shelf life of chilled chicken based products. *J Am Me Sci Asso*. 96 (3): 1219-1226.
- Fey PD, Jennifer LE, Vijaya KY, Todd JW, Robert JB, Jeffrey LB, Kenneth WB. 2013. Genetic resource for rapid and comprehensive phenotype screening of nonessential *Staphylococcus aureus* genes. *J Nebr Trans MutLib*. 4(1): 1-8.
- Gomez KA dan Gomez AA. 1984. *Prosedur Statistic untuk Pertanian*. Jakarta (Indonesia): UI Press.
- Hariyanto D. 2009. Studi penentuan nilai resistor menggunakan seleksi warna model HSI pada Citra 2D. *J Telkomnika*. 7(1):13-22.
- Harris LG, Foster SJ, dan Richards RG. 2002. An introduction to *staphylococcus aureus* and techniques for identifying and quantifying *S.aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review. *J Eur Cel Mat*. (4):39-60.
- Hutchings J, Luo R, dan Ji W. 1999. *Calibrated Color Imaging Analysis of Food*. Boca Raton: Woodhead Publishing Limited.
- Ibrahim EAS, Mohamed AMM, Walaa M. 2015. Comparison between phenol red chromo-endoscopy and a stool rapid immunoassay for the diagnosis of *helicobacter pylori* in patients with gastritis. *J Mic Ultr*. 69(6):1-6.
- Jain JL, Jain S, dan Jain N. 2005. *Fundamentals of Biochemistry*. Ram nagar (India): S.Chand and Company Ltd.
- Jha SN. 2010. *Chapter 2 Color Measurements and Modeling, Nondestructive Evaluation of Food Quality*. Punjab: Springer.
- Karneta L, Rejo A, Priyanto G, Pambayun R. 2013. Difusivitas panas dan umur simpan pempek lenjer. *J Tek Per*. 27(2):131-141.
- Labuza TP dan Shimoni E. 2000. Modelling pathogen growth in meat products: future challenges. *J Food Sci*. 11(1):394-402.
- Linderholm AL dan Bisson LF. 2005. Eliminating formation of hydrogen sulfide of hydrogen

- sulfide by *Saccharomyces*. *J Prac Wine Vine*. (1): 1-7.
- Magdevis Y, Caturla R, Diaz AV, Vallejo JLR, Rosa M, Gimeno G, Cosano GZ. 2012. Effect of pre-incubation conditions on growth and survival of *Staphylococcus aureus* in sliced cooked chicken meat. *J Am Me Sci Asso*.92(4):409-416.
- Nofrida R, Warsiki E, dan Yuliasih I. 2013. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap perubahan warna label cerdas indikator warna dari daun Erpa (*Aerva sanguinolenta*). *J Tek Ind Pert*. 23(3): 232-241.
- Ohbayashi T, Irie A, Murakami Y, Nowak M, Potempa J, Nishimura Y, Shinohara M, Imamura T. 2011. Degradation of fibrinogen and collagen by *staphopains*, cysteine proteases released from *Staphylococcus aureus*. *J Microbiol*. (157): 786-792.
- Pacquit A, Frsiby J, Diamond D, Lau KT, Farrell A, Quilty B, Diamond D. 2007. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. *J Food Chem*. 102:466-470.
- Rath M, Muller I, Kropf P, Closs EL, Munder M. 2014. Metabolism via arginase of nitric oxide synthase :two competing arginine pathways in macrophages. *J Front Immu*. (5):1-10.
- Rosdiana. 2002. Pengaruh penyimpanan dan pemasakan terhadap mutu gizi dan organoleptik empek-empek. [Tesis].Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Singh P dan Prakash A. 2010. Prevelence of coagulase positive pathogenic *Staphylococcus aureus* in Milk and milk products collected from unorganized sector of agra. *Act Agri Slov*. 96(1):37-41.
- Sokari T. 1991. Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern nigeria. *J Int Food Microbiol*. (12):275-580.
- Sriket C. 2014. Proteases in Fish and shellfish: role on muscle softening and prevention. *J Int Food Res*. 21(1):433-445.
- Tavakoli HR, Soltani M, dan Bahonar A. 2012. Isolation of some human pathogens from fresh and smoked shad (*alosa kessleri*) and silver crap (*Hypophthalmichthys molitrix*). *J Ir Fish Sci*. 11(2):424-429.
- Valero A, Perez R, Carrasco R, Alventosa JMF, Garcia-Gimeno RM, Zurera G. 2009. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus* : Effect of Temperature, pH and Water Activity. *J Int Microbiol*. (133): 186-194.
- Warsiki E dan Putri CW. 2012. Pembuatan label/film indikator warna dengan pewarna alami dan sintetis. *J Agro Indo*. 1(2): 8287.
- Widiharih T. 2001. Analisis ragam multivariat untuk rancangan acak lengkap dengan pengamatan berulang. *J Mat Kom*. 4(3):139-150.
- Wrolstad RE, Durst RW, dan Lee J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *J Food Sci Technol*. (16):423-428.
- Zaid AAA, El-Sehrwary MH, dan Alopidi MA. 2013. Isolation and identification of some pathogenic bacteria from traded diets in restaurant at el-taif City-Kingdom of Saudi Arabia. *J Life Sci*. 10(4):2588-2595.