

BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA IKAN PINDANG DAN IKAN ASIN SERTA ISOLAT YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL BAKTERIOSIN

LACTIC ACID BACTERIA (LAB) ON THE PRESERVED AND SALTED FISH AND POTENCY OF THEIR BACTERIOCIN

Edy Santoso

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Mataram

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah (1) mengetahui karakteristik isolat BAL pada ikan pindang dan ikan asin mulai dari genus sampai spesies; (2) menguji aktivitas anti bakteri patogen dan pembusuk pada isolat BAL tersebut; dan (3) menguji isolat BAL yang berpotensi penghasil bakteriosin. Metode penelitian yang digunakan adalah metoda eksperimental dengan percobaan di Laboratorium. Pada tahap awal dilakukan isolasi BAL dengan *metode pengenceran* yang dilanjutkan dengan *pour plate*, sedang identifikasi BAL didasarkan pada karakteristik morfologi, profil protein (SDS-PAGE), uji biokimiawi, uji fisiologi, tipe fermentasi, dan tipe asam laktat. Pada tahap selanjutnya dilakukan uji antagonis terhadap bakteri patogen, pembusuk dan pembentuk histamin dengan metode difusi sumuran, kemudian dilanjutkan dengan skrining BAL penghasil bakteriosin dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa BAL yang paling dominan pada ikan pindang adalah dari Genera *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. confusus*, dan *L. fermentum*), yang kemudian diikuti genera *Streptococcus* (*S. thermophilus*), genera *Leuconostoc* (*Leuc. paramesentroides*) dan genera *Pediococcus* (*P. pentosaeceus*). BAL yang paling dominan pada ikan asin adalah dari Genera *Streptococcus* (*S. thermophilus*) dan genera *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. confusus*, dan *L. fermentum*) yang kemudian diikuti oleh genera *Pediococcus* (*P. acidophilus*). Semua bakteri asam laktat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dan pembusuk, sedangkan supernatannya hanya mampu menghambat bakteri *E. coli*, *Shigella* dan *Morganella morganii*. BAL jenis *Leuconostoc paramesentteroides* (ED 6 dan ED 15) ternyata mampu menghambat bakteri indikator yang diujikan, hal ini berarti BAL tersebut mampu menghasilkan antibakteri berupa bakteriosin.

ABSTRACT

The objectives of this research were (1) to know the LAB isolat characteristic at preserved fish and salted fish, genus until species; (2) to test the activity of pathogen and spoilage bacteria at LAB isolate; (3) to test the LAB isolate which produce the bacteriocin. The research method was experimental method in laboratory. The first is isolated LAB by using pour plate, with LAB identified according to characteristic of morphology, protein (SDS-PAGE), biochemical test, physiological test, fermentation type and type of lactic acid. Then conduct the antagonist test of pathogen bacteria, spoilage and produce histamin with diffusion method, and continued with screening of LAB bacteriosin by using agar diffusion method. The result of this research were to isolate and identify (LAB) of preserved fish, examine anti microbial activity to pathogen and spoilage bacteria as well as their bacteriosin potencies. The result of this research showed that LAB the most dominant of preserved fish were genera Streptococcus (S. thermophilus), and followed by genera Lactobacillus (L. plantarum, L. confusus and L. fermentum), genera Leuconostoc (Leuc. paramesentroides) and genera Pediococcus (P. pentosaeceus). LAB the most dominant of salt fish were genera Streptococcus (S. thermophilus) and genera Lactobacillus (L. plantarum, L. confusus, and L. fermentum) and followed by genera Pediococcus (P. acidophilus). All LAB had anti bacteria activity to pathogen and spoilage bacteria, and whereas their supernatant was only available to resist bacteria E. coli, Shigella and Morganella morganii. LAB Leuc. paramesentroides (ED 6 and ED 15) type in fact is available to resist bacteriaforexamined indicator. Therefore, this LAB could produce antibacterial including forming in bacteriocin.

Kata kunci: Bakteri Asam Laktat, Ikan Pindang, Ikan Asin, Bakteriosin

Key words: Lactic Acid Bacteria, Preserved Fish, Salted Fish, Bacteriocin

PENDAHULUAN

Kebutuhan protein rata-rata penduduk Indonesia menurut Rumusan Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi (1998) ditargetkan sebesar 55 gram/kapita/hari yang terdiri dari 41 gram protein nabati dan 14 gram protein hewani. Selanjutnya dalam Rumusan tersebut disebutkan, bahwa tingkat kecukupan gizi yang baik bagi rata-rata penduduk Indonesia adalah 2200 Kkal/kapita/hari. Pemerintah membebaskan pemenuhan protein hewani tersebut sebagian besar dari sub sektor perikanan.

Peningkatan pemanfaatan bahan alam seperti ikan merupakan salah satu langkah yang baik untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Hal ini disebabkan kandungan protein ikan cukup besar, yakni mencapai 18 – 21 %, dan banyak mengandung asam amino dengan pola yang hampir sama dengan pola asam amino yang terdapat di dalam tubuh manusia (Afrinto dan Liviawaty, 1989).

Disamping protein ternyata daging ikan banyak mengandung asam lemak tak jenuh omega – 3 (Yunizal et al., 1996). Asam lemak omega-3 terutama eikosapentaenoat (C20:5 EPA) sekitar 3.64 – 4.85 % dan dokosaheksaenoat (DHA) sekitar 14.64 – 28.59 % mempunyai peranan penting bagi kesehatan manusia, karena dapat mencegah penyakit kardiovaskuler, kanker, obesitas dan tumor serta pengaruhnya terhadap fungsi kekebalan tubuh dan kadar lipida darah (Shimada et al., 1997). Penelitian terakhir menunjukkan DHA cukup berperan pada perkembangan awal otak manusia dan penyakit degeneratif, seperti penyakit jantung, penyempitan pembuluh darah, penyakit penurunan gizi, netrosis, dan obesitas dapat berjalan dengan baik (Netteton, 1993).

Pemanfaatan bahan alam bahari menjadi ikan asin dan pindang merupakan alternatif yang baik guna meningkatkan konsumsi ikan rakyat. Menurut Departemen Pertanian (1996) konsumsinya masih dibawah standar yang diharapkan, yakni baru 19.4 kg/kapita/tahun dari target yang dianjurkan FAO/WHO sebesar 30 kg/kapita/tahun..

Masalah dari ikan asin dan pindang yang banyak diproduksi oleh nelayan Indonesia adalah adanya rasa asin yang tinggi akibat dari pemberian garam berlebih yang digunakan sebagai pengawet kimiawi. Pada hal dengan penambahan garam berlebih kurang disukai bahkan dihindari oleh konsumen (kalangan menengah ke atas), terlebih bagi konsumen yang punya potensi penyakit degeneratif seperti, penyakit jantung, penyempitan pembuluh darah, penyakit penurunan gizi, netrosis,

dan obesitas. Di samping itu dengan pemberian garam berlebih sebagai pengawet, ternyata masih banyak dijumpai bakteri halofilik (bakteri pembusuk) yang tahan terhadap garam di atas 15 % (obligat halofilik).

Menurut Traizer dan Westhof (1984) bakteri halofilik yang sering terdapat pada produk ikan adalah *Sarcina* sp., *Serratia*, *Salinaria*, *Micrococci* dan *Myxobacteria*. Bakteri patogen dan pembusuk yang terdapat pada produk ikan atau udang adalah *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* sp., dan *Proteus*, sedang bakteri pembusuk yang sering memproduksi histamin menurut penelitian Djafaar et al., (1996) adalah *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Hafnia alvei*.

Usaha untuk memperbaiki daya awet ikan asin dan pindang dengan keamanan (*food safety*) yang terjamin harus dilakukan, salah satu diantaranya dengan penambahan biopreservatif. Pada masa kini, bahan pengawet alami lebih disukai dibandingkan dengan kimiawi dikarenakan keamanan pengawet kimiawi sering masih dipertanyakan. Salah satu cara yang terbaik diantaranya dengan melibatkan bakteri asam laktat (BAL).

Pada pembuatan ikan asin dengan bahan baku yang masih mentah maka peranan BAL adalah menghambat mikroflora alamiah pesaing yang meliputi bakteri pembusuk, patogen dan bakteri pembentuk histamin. Efek penghambatan ini disebabkan oleh adanya asam laktat dan asetat serta senyawa-senyawa antimikrobia lain seperti diasetil, hidrogen peroksida, karbon dioksida, bakteriosin dan reuterin (Ray, 1992). Sedang pada pembuatan pindang dengan pemberian BAL (dengan cara disemprot) maka diharapkan dapat memperbaiki daya simpan pindang.

Tujuan penelitian ini adalah (1) mengetahui karakteristik isolat BAL pada ikan pindang dan ikan asin mulai dari genus sampai spesies; (2) menguji aktivitas anti bakteri patogen dan pembusuk pada isolat BAL tersebut; dan (3) menguji isolat BAL yang berpotensi penghasil bakteriosin.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan pindang dan ikan asin yang diperoleh dari beberapa pedagang di Pasar Beringhardjo, Yogyakarta. Umur ikan asin

diperkirakan sekitar 3 bulan dan umur pindang sekitar 1 hari.

Kultur bakteri patogen yang digunakan adalah bakteri patogen Gram negatif: *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Salmonella choleraesuis* JCM 3919, *Escherichia coli* FNCC 0091, *Shigella* sp., bakteri Gram positif *Vibrio parahemolyticus* JCM 2147,

Bacillus cereus FNCC 0057, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. Bakteri perusak dan penghasil histamin seperti *Pseudomonas fluorescens* FNCC 0070, dan *Morganella morganii* NCTC 2815. Bakteri indikator yang digunakan adalah *Lactobacillus plantarum* NCDO 955, *Pediococcus acidilactici* LB 42, *Enterococcus faecalis* MI, *Leuconostoc mesenteroides* LY yang diperoleh dari Food & Nutrition Culture Collection, PAU Pangan dan Gizi UGM.

Penelitian *bioassay* ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Pangan Pusat Antar Universitas (PAU) UGM, Yogyakarta. Waktu pelaksanaan penelitian selama 22 bulan.

Tahap Awal : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Pada tahap pertama ini ditujukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari ikan asin dan pindang.

Isolasi BAL.

Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran yang dilanjutkan dengan *pour plate* (Wood dan Holzapfel, 1995 dikutip Ray *et al.*, 1997).

Identifikasi

Identifikasi isolat BAL didasarkan pada karakter penotipik, meliputi morfologi dan pengecatan Gram (batang, bulat, dan susunan tetrad), uji motilitas, uji biokimiawi yang terdiri dari uji katalase dan uji pembentukan asam dari berbagai sumber karbon, uji fisiologis yang meliputi pengaruh suhu dan pH yang berbeda, uji dektran, tipe fermentatif, karakter kemo-taksonomik meliputi uji peptidoglikan (Wood dan Holzapfel, 1995 dikutip oleh Ray *et al.*, 1997) dan profil protein terlarut (SDS-PAGE) (Metode Vandamme dan Kesters).

Sodium Dodesil Sulfat - Poly Acrilamide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) Protein Total Sel Bakteri (Metode Vandamme dan Kesters)

Metode SDS-PAGE digunakan untuk mengetahui profil protein BAL hasil isolasi dengan standar yang ada. Pita protein dapat terlihat setelah gel hasil elektroforesis distaining selama 24 jam dengan pewarna *Coomasie*

Brilliant Blue R-250. Pita-pita protein yang terbentuk kemudian dibandingkan dengan pita protein standar dengan harapan dapat memperkuat dugaan spesies dari isolasi dan identifikasi yang telah dilakukan. Banyaknya pita yang terbentuk dapat ditera dengan alat scanning densitometer.

Sampel (ekstrak protein) dimasukkan ke dalam masing-masing slot menggunakan microsyringe dengan volume tergantung dari konsentrasi protein ekstrak. Volume akhir masing-masing slot diatur sehingga berjumlah 15 µl dengan sampel treatment buffer yang berisi 0.001 % bromophenol blue (tracking dye). Selanjutnya lempengan gel dibasahi dengan buffer tangki pada chamber buffer bagian bawah dan dihindari terjadinya gelembung udara. Buffer tangki segar dituangkan secara perlahan-lahan ke dalam reservoir buffer bagian atas agar tidak menggoncangkan sampel yang telah ditempatkan pada slot. Katoda dihubungkan ke reservoir buffer bagian atas dan elektroforesis dijalankan pada constant current (40 mA/gel atau kurang tergantung fasilitas coolingnya). Aliran dimatikan saat tracking dye hampir mencapai bagian bawah (10 cm dari bagian atas gel separasi).

Fiksasi, Staining dan Destaining

Lempengan gel dilepas dari gelasnya, ditempatkan pada baki plastik dan ditambahkan larutan staining yang terbuat dari 0.25 Comasie blue R-250 dalam 50 % (v/v) metanol dan 10 % (v/v) asam asetat. Baki plastik digoyang perlahan-lahan minimal selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan destaining pada larutan yang berisi 25 % (v/v) metanol dan 10 % (v/v) asam asetat dan gel dapat dikeringkan dengan pengering slab gel (slab gel dryer).

Tahap Selanjutnya: Uji Antagonis Terhadap Bakteri Patogen, Pembusuk, dan Pembentuk Histamin (Metode Difusi Sumuran)

Uji aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen dan pembusuk dilakukan pada kultur bakteri dan supernatan netralnya. Caranya yaitu dengan *pour plate* masing-masing bakteri patogen dan pembusuk menggunakan media nutrisi dan ke dalam sumuran dituangi (50 µl) kultur atau supernatan netral isolat BAL. Kultur BAL yang memberikan zona jernih adalah kultur yang memiliki daya antagonistik terhadap bakteri yang diuji, sedangkan supernatan netral yang memberikan zona jernih diduga merupakan supernatan BAL penghasil antibakteri selain asam. Besar kecilnya zona jernih yang muncul setara dengan besar kecilnya aktivitas anti-

bakteri yang terdapat pada kultur atau supernatan netralnya.

Uji Bakteri Asam Laktat Sebagai Penghasil Bakteriosin (Metode Difusi Agar)

Isolasi dan skrining BAL penghasil bakteriosin dilakukan secara langsung. Bakteri indikator yang digunakan adalah *Lactobacillus plantarum* NCDO 955, *Pediococcus acidilactici* LB 42, *Enterococcus faecalis* MI, *Leuconostoc mesenteroides* LY.

Uji ini dilakukan dengan cara pengenceran dan *pour plate* yang sekaligus dilapisi (overlay) dengan bakteri indikator. Koloni BAL penghasil bakteriosin akan memberikan zona jernih yang jelas dengan tepi tegas disekitarnya, akibat terhambatnya pertumbuhan bakteri indikator. Zona jernih yang jelas dan tepi yang tegas adalah untuk membedakan penghambatan yang disebabkan oleh asam yang dihasilkan oleh BAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi diperoleh 29 isolat BAL, yaitu 16 isolat dari pindang dan 13 isolat dari ikan asin. Hasil identifikasi bakteri asam laktat dari ikan pindang ke dalam genus disajikan pada Tabel 1, sedang identifikasi BAL dari ikan asin disajikan dalam Tabel 2. Hasil identifikasi BAL dari ikan pindang ke dalam spesies disajikan pada Tabel 3, sedang identifikasi ikan asin ke dalam spesies disajikan pada Tabel 4. Semua isolat BAL yang diperoleh selanjutnya diberi nama sesuai dengan dugaan spesies dan diikuti dengan nomor isolat.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa ke 16 isolat BAL dari ikan pindang, 7 isolat termasuk ke dalam genus *Lactobacillus*, 2 isolat genus *Leuconostoc*, 1 isolat genus *Pediococcus* dan 6 isolat masuk ke genus *Streptococcus/Enterococcus*

Pada Tabel 1 dan Tabel 2 terlihat bahwa tipe peptidoglikan pada isolat bakteri asam laktat ada yang mengandung 2, 6 diaminopimelic acid (DAP) (+) dan ada juga yang tidak mengandung DAP (-). Bakteri asam laktat menunjukkan hasil positif DAP diartikan mengandung asam diaminopimelat pada dinding selnya, sedangkan hasil negatif (non DAP) diartikan tidak mengandung asam diaminopimelat pada dinding selnya. Variasi peptidoglikan dapat digunakan untuk identifikasi bakteri, hal ini disebabkan adanya variasi penyusun peptida. Selanjutnya diketahui 2,6 diaminopimelic acid (DAP) sebagai kuncinya, karena tidak semua

bakteri asam laktat memiliki diaminopimelic acid (DAP). Uji tipe fermentasi yang dilakukan menghasilkan bentuk heterofermentatif dan homofermentatif. Heterofermentatif diartikan selama fermentasi yang dihasilkan tidak hanya asam laktat saja, tetapi juga komponen lain seperti CO₂, asam asetat, O₂, serta metabolit lain seperti diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Sedang homofermentatif diartikan bahwa selama proses fermentasi hanya dihasilkan asam laktat saja.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa tidak ada isolat BAL yang menghasilkan dekstran, sedangkan menurut Ray et al., (1997) bakteri asam laktat yang tidak menghasilkan dekstran diantaranya adalah *Leuconostoc mesenteroides subs. mesenteroides*, *Leuc. mesenteroides subs. dekstranicum* dan *Leuc. carnosum*.

Perbedaan genera yang diperoleh dari ikan pindang dengan ikan asin adalah bahwa pada ikan asin tidak dihasilkan genera *Leuconostoc*.

Pada Tabel 3 terlihat, bahwa ke- 16 isolat BAL dari ikan pindang mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, maltosa, mannososa dan ribosa, sedangkan untuk gula yang lainnya tergantung dari jenis spesiesnya. Isolat bakteri asam laktat dari Genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus* ada yang mampu hidup pada suhu rendah 10 °C (psikrofilik) dan suhu tinggi 45 °C, tetapi ada juga yang tidak mampu hidup, sedangkan dari genera *Streptococcus* tidak mampu hidup pada suhu rendah 10 °C, tetapi dapat hidup pada suhu tinggi 45 °C dan dari genera *Enterococcus* mampu hidup pada suhu rendah 10 °C tetapi tidak mampu hidup pada suhu tinggi 45 °C.

Pada Tabel 4 terlihat, bahwa ke- 13 isolat BAL dari ikan asin mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, maltosa, mannososa dan ribosa, sedangkan untuk gula yang lainnya tergantung dari jenis spesiesnya. Isolat bakteri asam laktat dari Genera *Lactobacillus*, dan *Pediococcus* mampu hidup pada suhu rendah 10 °C (psikrofilik) dan suhu tinggi 45 °C, sedangkan dari genera *Streptococcus* tidak mampu hidup pada suhu rendah 10 °C, tetapi dapat hidup pada suhu tinggi 45 °C dan dari genera *Enterococcus* mampu hidup pada suhu rendah 10 °C tetapi tidak mampu hidup pada suhu tinggi 45 °C (Tabel 2).

Pengujian SDS-PAGE protein bakteri dari Isolat BAL Ikan Pindang dan Ikan Asin

Hasil pengujian profil protein ikan pindang dan ikan asin seperti tertera pada tabel 5.

Tabel 1. Karakterisasi Isolat BAL dari Produk Ikan Pindang ke dalam Genera

Jumlah Isolat	Group I	Group II	Group III	Group IV
Karakteristik	7	2	1	6
Bentuk sel	Batang	Bulat	Bulat	Bulat
Pengaturan sel	Tunggal/berpasangan	Berpasangan/rantain	Tetrad	Berpasangan
Produksi Gas	+/-	+	-	-
Pengecatan Gram	+	+	+	+
Katalase	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-
Dekstran	-	-	-	-
Tipe fermentasi	Hetero/Homo	Hetero	Homo	Homo
Pert. 10 °C	+/-	+/-	+/-	-/+
Pert. 45 °C	+/-	-	+/-	+/-
Pert. PH 3.5	+/-	+/-	-	+/-
Pert.pH 9.0	-	-	-	+/-
Tipe peptidoglikan	DAP	NON DAP	NON DAP	NON DAP
GENERA	<i>Lactobacillus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus/Enterococcus</i>

Keterangan: +/- pada genera *Streptococcus/Enterococcus* pertumbuhan suhu 10 °C, artinya *Streptococcus* tidak dapat hidup, sedang *Enterococcus* dapat hidup. +/- pada genera *Streptococcus/Enterococcus* pertumbuhan suhu 45 °C, artinya *Streptococcus* dapat hidup, sedang *Enterococcus* tidak dapat hidup

Tabel 2. Karakterisasi Isolat BAL dari Produk Ikan Asin ke Dalam Genera

Jumlah Isolat	Group I	Group II	Group III
Karakteristik	6	1	6
Bentuk sel	Batang	Bulat	Bulat
Pengaturan sel	Tunggal/berpasangan	Tetrad	Berpasangan
Produksi Gas	+/-	-	-
Pengecatan Gram	+	+	+
Katalase	-	-	-
Motilitas	-	-	-
Dekstran	-	-	-
Tipe fermentasi	Hetero/Homo	Homo	Homo
Pert. 10 °C	+/-	+/-	+/-
Pert. 45 °C	+/-	+/-	+/-
Pert. PH 3.5	+/-	-	+/-
Pert.pH 9.0	-	-	+/-
Tipe peptidoglikan	DAP	NON DAP	NON DAP
GENERA	<i>Lactobacillus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus/Enterococcus</i>

Keterangan: +/- pada produksi gas artinya bisa menghasilkan gas bisa juga tidak. +/- pada pertumbuhan suhu 10 °C dan 45 °C, artinya bisa hidup bisa juga tidak hidup

Hasil pengujian menunjukkan bahwa profil protein ED 2, ED 7 dan ED 8 dari ikan pindang dan ED 2, ED 8 menunjukkan adanya kemiripan dengan standar *L. fermentum*. Profil protein ED 3 dan ED 5 dari ikan pindang dan ED 3 dari ikan asin menunjukkan kemiripan diantara pita-pita yang terbentuk dengan standar *L. confusus*. Profil protein ED 1 dan ED 9 dari ikan pindang dan ED 1, ED 5, ED 6, ED 7, ED 9 dari ikan asin menunjukkan kemiripan dengan profil protein standar *L. plantarum*. Profil protein dari ED 10 dari ikan pindang menunjukkan

adanya kemiripan dengan profil protein standar *P. pentosaecius*, profil protein ED 6 dan ED 15 dari ikan pindang menunjukkan kemiripan dengan profil protein *Leuc. paramesenteroides*, dan profil protein dari ED 4, ED 11, ED 12, ED 13, ED 14 dan ED 16 dari ikan pindang dan ED 4, ED 11, ED 12, ED 13 dari ikan asin menunjukkan kemiripan dengan profil protein standar *S. thermophilus* FNCC 040.

Dari hasil yang diperoleh secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa terdapat kemiripan profil protein antara bakteri hasil

isolasi dan identifikasi dengan standar walaupun didapat sub unit protein yang hilang maupun yang terbentuk, disamping kenaikan maupun penurunan intensitas/ketajaman dari pita yang dihasilkan. Terdapatnya sub unit protein yang hilang diduga disebabkan oleh degradasi protein yang berakibat terjadinya pemecahan beberapa sub unit protein yang larut dalam air maupun sub unit yang tidak larut air. Menurut Sikorski

(1979) bahwa kemungkinan terbentuknya sub unit protein sebagai hasil agregasi dua atau lebih sub unit protein sebagai akibat penggaraman sebagai salah satu tahapan dalam proses fermentasi ikan. Agregasi tersebut terjadi antara protein dengan protein atau antara protein dengan non protein dan agregasi ini dibentuk oleh ikatan silang disulfida.

Tabel 3. Karakterisasi Isolat BAL dari Ikan Pindang kedalam Spesies

Karakteristik	Group I*						Grup II*		Grup III *		Group IV*	
	3	Std (1)*	2	Std (2)*	2	Std (3)*	1	Std (4)*	2	Std (5)*	6	Std (6)*
Bentuk sel	Btg.	Btg.	Btg.	Btg.	Btg.	Btg.	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bu-lat
Tipe fermentasi	Hete-ro.	Hete-ro.	Ho-mof.	Ho-mof.	Ho-mof.	Homof.	He-tero.	He-tero.	Ho-mof.	Homof.	Homof.	Homof.
Dekstran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pert. pH 3.5	0	0	+	0	+	0	-	-	+	-	-	-
Pert. PH 9.0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	-
Pert. 10 °C	-	-	-	-	+	+	-	0	-	-	+	+
Pert. 45 °C	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Tipe DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	DAP	DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	NonD AP	Non DAP
Pemb. Asam dr. berbagai sb. Karbon												
Arabinosa	+	d	-	-	+	d	+	d	-	d	d	+
Selobiosa	d	d	+	+	+	+	d	d	+	0	0	0
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	0
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Glukonat	d	+	+	-	+	+	+	+	+	0	+	d
Laktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	d	-	0	+	+	+	+	d	d	d	0	0
Manosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiosa	+	+	+	d	+	d	+	+	+	0	+	+
Melezitosa	+	+	-	-	+	-	+	0	-	0	-	-
Rafinosa	+	+	d	d	+	+	+	+	-	0	+	+
Rhamnosa	-	-	-	-	-	+	-	-	-	d	-	d
Ribosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salisin	+	+	+	+	+	+	-	-	d	d	-	+
Sorbitol	+	-	+	-	+	-	+	+	d	d	-	-
Pati	-	0	-	0	-	-	0	0	-	0	-	0
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalosa	-	d	+	d	d	+	-	d	+	0	+	0
Xylosa	-	d	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-
Nomer isolat	ED 2, ED 7, & ED 3 & 5. ED 8.				ED 1, & ED 9. ED 10.			ED 6 & ED 15.		ED 4, ED 11, ED 12, ED 13, ED 14 & ED 16.		

Keterangan: Group I* (*Genera Lactobacillus*); Grup II* (*Genera Pediococcus*); Grup III* (*Genera Leuconostoc*); Grup IV* (*Genera Streptococcus*); STD = standard; (1)* *L. fermentum*; (2)* *L. confusus*; (3)* *L. plantarum*; (4)* *Pediococcus pentosaceus*; (5)* *Leuc. paramesentroides*; (6)* *S. thermophilus*, d = reaksi lambat, 0 = reaksi tidak ditentukan, *) = Berger's Manual Systematic Bacteriology

Tabel 4. Karakterisasi Isolat BAL dari Ikan Asin ke dalam Spesies

Karakteristik	Group I*						Grup II*		Grup III*	
	2	1)*	1	2)*	3	3)*	1	4)*	6	5)*
Jumlah isolat	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Tipe fermentasi	Hetero.	Hetero.	Homof.	Homof.	Homof.	Homof.	Homof.	Homof.	Homof.	Homof.
Dekstran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pert. pH 3.5	-	0	+	0	+	0	+	-	-	-
Pert. pH 9.0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
Pert. 10 °C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Pert. 45 °C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Tipe DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	DAP	DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP	Non DAP
Pemb. Asam dr. sb. Karbon										
Arabinosa	+	d	-	-	+	d	-	d	d	d
Selobiosa	d	d	+	+	+	+	+	0	0	0
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukonat	d	+	+	-	+	+	+	0	+	0
Laktosa	+	+	-	+	+	+	+	+	0	+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d
Manitol	d	-	-	+	+	+	D	d	0	d
Manosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiosa	+	+	+	d	+	d	+	0	+	0
Melezitosa	+	+	-	-	+	-	-	0	-	0
Rafinosa	+	+	-	d	+	+	-	0	+	0
Rhamnosa	-	-	-	-	-	+	-	d	-	d
Ribosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Salisin	+	+	+	+	+	+	D	d	-	d
Sorbitol	+	-	+	-	+	-	D	d	-	d
Pati	-	0	-	0	-	-	-	0	-	0
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalosa	-	d	+	d	d	+	+	0	+	0
Xylosa	-	d	-	-	+	d	-	-	-	-
Nomer isolat	ED 2, dan ED 8		ED 3		ED 1, ED 7 & ED 9		ED 10		ED 4, ED 5, ED 6, ED 11, ED 12, ED 13	

Keterangan: Group I* (Genera *Lactobacillus*); Grup II* (Genera *Pediococcus*); Grup III* (Genera *Streptococcus*); 1* *L. fermentum* (Standar); 2* *L. confusus*(Standar);3* *L. planta-rum* (Standar); 4* *Pediococcus acidophilus* (Standar); 5* *S. thermophilus* (Standar), d=reaksi lambat, 0 = reaksi tidak ditentukan, *) = Berger's Mannual Systematic Bacteriology.

Uji Aktivitas penghambatan Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk oleh Isolat BAL Ikan Pindang dan Ikan Asin (Metode Difusi Agar)

Dari hasil pengujian terlihat bahwa penghambatan kultur bakteri asam laktat terhadap bakteri-bakteri patogen lebih besar dibandingkan dengan aktivitas penghambatan oleh supernatan netralnya Tabel 5 dan 6). Hal ini menurut Ray (1996) disebabkan aktivitas kultur sebagai penghambat bakteri patogen didukung oleh asam dan komponen-komponen metabolit yang dihasilkan, sedangkan aktivitas supernatan netralnya hanya didukung oleh komponen-

komponen metabolit saja. Asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mempunyai antibakteri terhadap bakteri patogen.

Dilihat dari besarnya penghambatan, kultur BAL hasil isolasi dari ikan pindang maupun supernatan netralnya *Leuc. Paramesenteroides* (ED 6 dan ED 15) mempunyai kemampuan menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk yang lebih besar dibanding bakteri asam laktat hasil isolasi yang lain, hal ini disebabkan adanya komponen antibakteri yang dimiliki dari bakteri tersebut diantaranya bakteriosin, diasetil maupun hidrogen peroksida.

Tabel 5. Hasil Pengujian Profil Protein Ikan Pindang dan Ikan Asin

No. Sampel	SDS- Page protein dari Isolat BAL	
	Ikan pindang	Ikan asin
ED 1	<i>L. plantarum.</i>	<i>L. plantarum</i>
ED 2	<i>L. fermentum</i>	<i>L. fermentum</i>
ED 3	<i>L. confusus</i>	<i>L. confusus</i>
ED 4	<i>S. thermophylus</i>	<i>S. thermophylus</i>
ED 5	<i>L. confusus</i>	<i>L. plantarum</i>
ED 6	<i>Leuc. paramesen- teroides</i>	<i>L. plantarum</i>
ED 7	<i>L. fermentum</i>	<i>L. plantarum</i>
ED 8	<i>L. fermentum</i>	<i>L. fermentums</i>
ED 9	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
ED 10	<i>P. pentosaecius</i>	<i>P. acidophilus</i>
ED 11	<i>S. thermophylus</i>	<i>S. thermophylus</i>
ED 12	<i>S. thermophylus</i>	<i>S. thermophylus</i>
ED 13	<i>S. thermophylus</i>	<i>S. thermophylus</i>
ED 14	<i>S. thermophylus</i>	-
ED 15	<i>Leuc. paramesen- teroides</i>	-
ED 16	<i>S. thermophylus</i>	-

Tabel 6. Penghambatan Oleh Kultur dan Supernatan Netral dari Isolat BAL Ikan Pindang Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk

No. Isolat	Aktivitas Penghambatan Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk (mm) Dugaan Spesies	Aktivitas Penghambatan Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk (mm)															
		1		2		3		4		6		7		8		9	
		K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S
ED 1	<i>L. plantarum.</i>	4.9	-	3.8	-	2.8	-	6.3	1.0	6.1	-	6.9	-	6.3	-	6.1	-
ED 2	<i>L. fermentum</i>	3.7	-	5.3	-	5.3	-	5.4	-	4.9	-	5.2	-	5.2	-	4.9	-
ED 3	<i>L. confusus</i>	4.3	-	4.9	-	4.3	-	5.1	-	2.9	-	3.8	-	4.7	-	3.6	-
ED 4	<i>S. thermophylus</i>	3.7	-	3.9	-	3.3	-	3.5	-	4.7	-	5.2	-	4.7	-	4.8	-
ED 5	<i>L. confusus</i>	4.6	-	3.7	-	5.4	-	5.3	-	4.9	-	4.7	-	5.1	-	6.0	-
ED 6	<i>Leuc. paramesen- teroides</i>	3.2	-	4.4	-	5.7	-	4.6	-	5.0	-	5.3	-	4.6	-	5.1	-
ED 7	<i>L. fermentum</i>	5.7	-	4.9	-	5.1	-	5.7	-	5.3	-	4.3	-	5.2	-	5.1	-
ED 8	<i>L. fermentum</i>	2.7	-	3.5	-	2.9	-	2.9	1.0	2.6	-	3.7	-	2.7	-	3.5	-
ED 9	<i>L. plantarum</i>	4.1	-	3.9	1.1	2.6	-	3.9	-	2.2	-	3.7	-	3.2	-	3.6	-
ED 10	<i>P. pentosaecius</i>	3.4	-	4.1	-	3.1	-	3.5	-	2.8	-	3.3	-	3.6	-	3.1	1.0
ED 11	<i>S. thermophylus</i>	3.5	-	2.3	2.1	3.2	-	2.5	-	3.1	-	2.6	-	2.9	-	2.1	-
ED 12	<i>S. thermophylus</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 13	<i>S. thermophylus</i>	2.7	-	3.2	1.0	3.9	-	2.9	-	3.5	-	3.1	-	2.4	-	2.4	-
ED 14	<i>S. thermophylus</i>	5.1	-	4.6	-	4.6	-	4.7	1.2	5.9	-	5.4	-	4.7	-	5.5	-
ED 15	<i>Leuc. paramesen- teroides</i>	8.1	-	6.9	3.2	7.1	-	7.8	3.4	8.4	-	8.9	-	8.4	-	7.3	-
ED 16	<i>S. thermophylus</i>	2.9	-	2.6	1.1-	3.1	-	2.8	-	2.3	-	2.3	-	2.8	-	3.2	-

Keterangan: Tabel 5 dan Tabel 6 : Penghambatan dinyatakan dalam milimeter (mm) yang diukur dari pinggir sumuran sampai lingkaran luar zona jernih. (K = kultur; S = Supernatan) 1. *Staphylococcus aureus* FNCC 0047; 2. *Escherichia coli* FNCC 0091; 3. *Salmonella choleraesuis* JCM 3919; 4. *Shigella* sp.; 5. *Vibrio parahaemoliticus* JCM 2147; 6. *Listeria monocytogenes* Atcc 7644, 7. *Bacillus cereus* FNCC 0057; 8. *Pseudomonas fluorescens* FNCC 0070; 9. *Morganella morganii* FNCC 0122.

Tabel 7. Penghambatan Oleh Kultur dan Supernatan Netral Isolat BAL dari Ikan Asin Terhadap Bakteri Patogen Dan Pembusuk

No. Isolat	Dugaan Spesies	Aktivitas Penghambatan Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk (mm)															
		1		2		3		4		6		7		8		9	
		K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S
ED 1	<i>L. plantarum</i>	4.7	-	4.7	-	4.8	-	4.2	-	5.7	-	5.7	-	4.6	-	4.8	-
ED 2	<i>L. fermentum</i>	7.2	-	5.6	2.4	7.5	-	6.9	2.9	7.6	-	6.4	-	7.5	-	7.2	2.3
ED 3	<i>L. confusus</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 4	<i>S. thermophylus</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 5	<i>L. plantarum</i>	5.2	-	5.5	-	5.1	-	5.0	1.0	5.7	-	5.1	-	4.5	-	5.4	-
ED 6	<i>L. plantarum s</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 7	<i>L. plantarum</i>	2.7	-	2.6	-	3.9	-	2.6	-	3.6	-	2.4	-	2.4	-	2.9	-
ED 8	<i>L. fermentum s</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 9	<i>L. plantarum</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 10	<i>P. acidophilus</i>	3.7	-	2.5	-	3.7	-	2.8	-	3.4	-	3.2	-	2.6	-	3.9	0.9
ED 11	<i>S. thermophylus</i>	5.1	-	4.6	-	4.6	-	4.7	1.2	5.9	-	5.4	-	4.7	-	5.5	-
ED 12	<i>S. thermophylus</i>	2.1	-	2.5	-	4.1	-	3.1	-	3.5	-	2.6	-	3.5	-	2.7	-
ED 13	<i>S. thermophylus</i>	5.2	-	5.5	-	5.1	-	5.0	1.0	5.7	-	5.1	-	4.5	-	5.4	-

Uji Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Indikator (Bakteriosin Producer)

Hasil pengujian pada Tabel 7 menunjukkan, bahwa zona jernih yang dihasilkan sangat bervariasi, menurut Ray (1992a) bakteriosin menghasilkan zona jernih yang jelas, bulat dan luas. Jika tidak demikian diperkirakan akibat aktivitas hidrogen peroksida, asam atau diasetil. Kemampuan isolat berbeda-beda tergantung jenis isolat dan

kandungan nutrisi dalam media. Hasil uji penghambatan bakteri indikator oleh isolat BAL seperti terlihat pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Pada Tabel 8 terlihat, bahwa hanya dua isolat BAL hasil isolasi dari ikan pindang yang dapat menghambat ke tiga bakteri indikator yang digunakan, hal ini berarti hanya dua isolat yang mampu menghasilkan bakteriosin, yakni *Leuconostoc paramesenteroides* (ED 6 dan ED 15), sedang isolat dari ikan asin (Tabel 9) tidak dihasilk adanya bakteriosin.

Tabel 8. Penghambatan Bakteri Indikator oleh Isolat Bakteri Asam Laktat dari Ikan Pindang

Isolat	Bakteri Indikator	Bakteri Indikator		
		<i>Lactobacillus plantarum</i> NCDO 955	<i>Pediococcus acidilactici</i> LB 42	<i>Enterococcus faecalis</i> MI
ED 1	<i>L. plantarum.</i>	-	-	-
ED 2	<i>L. fermentum</i>	-	-	-
ED 3	<i>L. confusus</i>	-	-	-
ED 4	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 5	<i>L. confusus</i>	-	-	-
ED 6	<i>Leuc. paramesenteroides</i>	+	+	+
ED 7	<i>L. fermentum</i>	-	-	-
ED 8	<i>L. fermentum</i>	-	-	-
ED 9	<i>L. plantarum</i>	-	-	-
ED 10	<i>P. pentosaecius</i>	-	-	-
ED 11	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 12	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 13	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 14	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 15	<i>Leuc. paramesenteroides</i>	+	+	+
ED 16	<i>S. thermophylus</i>	-	-	-

Keterangan: - = tidak terjadi penghambatan; + = terjadi penghambatan

Tabel 9. Penghambatan Bakteri Indikator oleh Isolat Bakteri Asam Laktat dari Ikan Asin

Isolat	Bakteri Indikator		
	<i>Lactobacillus plantarum</i> NCDO 955	<i>Pediococcus acidilactici</i> LB 42	<i>Enterococcus faecalis</i> MI
ED 1 <i>L. plantarum</i>	-	-	-
ED 2 <i>L. fermentum</i>	-	-	-
ED 3 <i>L. confusus</i>	-	-	-
ED 4 <i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 5 <i>L. plantarum</i>	-	-	-
ED 6 <i>L. plantarum s</i>	-	-	-
ED 7 <i>L. plantarum</i>	-	-	-
ED 8 <i>L. fermentums</i>	-	-	-
ED 9 <i>L. plantarum</i>	-	-	-
ED 10 <i>P. acidophilus</i>	-	-	-
ED 11 <i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 12 <i>S. thermophylus</i>	-	-	-
ED 13 <i>S. thermophylus</i>	-	-	-

Keterangan: - = tidak terjadi penghambatan; + = terjadi penghambatan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bakteri asam laktat yang paling dominan pada ikan pindang adalah dari Genera *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. confusus*, dan *L. fermentum*), yang kemudian diikuti genera *Streptococcus* (*S. thermophilus*), genera *Leuconostoc* (*Leuc. paramesentroides*) dan genera *Pediococcus* (*P. pentosaeceus*).

Bakteri asam laktat yang paling dominan pada ikan asin adalah dari Genera *Streptococcus* (*S. thermophilus*) dan genera *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. confusus*, dan *L. fermentum*) yang kemudian diikuti oleh genera *Pediococcus* (*P. acidophilus*). Pada ikan pindang didapat genera *Leuconostoc* (*Leuc. paramesentroides*) sedang pada ikan asin tidak diketemukan.

Semua bakteri asam laktat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dan pembusuk, sedangkan supernatannya hanya mampu menghambat bakteri *E. choli*, *Shigella* dan *Morganella morganii*.

Bakteri asam laktat jenis *Leuconostoc paramesentteroides* (ED 6 dan ED 15) dari produk pindang ternyata mampu menghambat bakteri indikator yang diujikan, hal ini berarti BAL tersebut mampu menghasilkan antibakteri berupa bakteriosin, sedang isolat dari ikan asin tidak dihasilkan adanya bakteriosin.

Saran

Dengan dihasilkannya isolat BAL penghasil bakteriosin, yaitu *Leuconostoc paramesentteroides* (ED 6 dan ED 15) dari produk pindang, maka kedepan isolat tersebut dapat diaplikasikan sebagai pengawet alami

baik dalam bentuk kultur maupun supernatan khususnya pada produk pindang.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto E., dan Liviawaty, E., 1989. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Penerbit kanisius. Yogyakarta.
- Daniel, M., 1999. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Ikan Terfermentasi dan Produk Penggaraman kan dan Uji Antibakterinya. Tesis. Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.
- Departemen Pertanian. 1996. Petunjuk Pengankaragaman Pangan Menuju Pola Pangan Masa Depan. Proyek Pengembangan Diversifikasi Pangan dan Gizi. Jakarta.
- Djafaar, Rahayu, E.S., T.F., Wibowo, D., and Sudarmadji, S., 1996. *Lactic Acid bacteria from Indigenous fermented Foods and Their Antimicrobial Activity*, Journal Indonesian Food and Nutrition progress, Vol. 3, no. 2 : 21-28.
- Frazier, W.C., and D.C. Westhoff. 1984. Food Microbiology. Tata Mc. Graw-Hill. Publ. Co., Ltd., New Delhi. P. 243-254.
- Netteton J.A. 1993. Are n-3 fatty Acids Essensial Nutrients for fetal and Infant Development. J. Am. Diet. Assoc. 93 (1): 59-64.
- Ray, B., 1992. Bacteriocin of Starter Cultur Bacteria Ashmaticus Food Biopreservatives. An Overview. In: Food Biopreservatives of Microbial Origin. Ed. B., Ray and M. Daeschel. CRC Press, Mexiko.

- Ray, B., 1992a. Diacetyl of Lactic Acid Bacteria as a Food Biopreservative. An Overview. *In: Food Biopreservatives of Microbial origin*. Ed. B. Ray and M. Daeschel. CRC Press. Mexico.
- Ray, B., 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC. Press. Boca Raton. Florida.
- Ray, B., Rahayu, E.S., Margino, S., 1997. Bakteri Asam Laktat: Isolasi dan Identifikasi. Materi Workshop. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Shimada, Y.A. Sugihara, H. Nakano, T. Kuramoto, T. Nagano, M. Gemba, dan Y. Tominaga 1997. *Purification of DHA by Selective Esterification of Fatty Acids from Tuna Oils with Rhizopus delemar Lipase*. J. Qam. Oil Chem. Soc. 74 : 97 – 101.
- Sikorski. 1979. Structure and Proteins of Fish and Shell Fish Part II in Cornet. JJ. (ed) advances in Fish Science and Tecnologi. Fishery News Book Ltd. Farnham.
- Wood dan Holzapfel, 1995 *dikutip* oleh Ray, B., Rahayu, E.S., dan Margino, 1997. The Genera of Lactic Acid Bacteria. CRC. Press. Boca Raton. Florida.
- Yunizal, J.T, Murtini, Suparno, S. Saleh, M. Tampubolon, Y.N. Fawzya, H.E. Irianto, T.D., Suryaningrum, N. Hak B. Puroliwoto dan Sabarudin. 1996. Penelitian Teknologi Pengolahan Konsentrat Asam Lemak Omega- 3 dari Hasil Samping Pengalengan dan Penepungan Ikan lemuru (S.L) Laporan Teknis, Balai Penelitian Perikanan Laut. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.