

STUDI KOMPOSISI ASAM AMINO DAN MIKROFLORA PADA WADI IKAN BETOK

Studies Of Amino Acid Component And Microflora In Climbing Perch Wadi

Rita Khairina¹⁾ dan Iin Khusnul Khotimah²⁾

¹⁾ Staff Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Jln A. Yani KM. 36 Banjarbaru. Telp. 081521554517. E-mail : ritasyaiful@yahoo.com

²⁾ Staff Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Jln A. Yani KM. 36 Banjarbaru. Telp. 081521624665

ABSTRACT

The research of microflora and amino acids component in climbing perch wadi had been done. Aims of this research are to know amino acids composition in fresh fish and climbing perch wadi; and to know kind of halofilic bacterial (until genus level) that have a role during climbing perch wadi fermentation process. Wadi is tradisional fermentation product of fish that have fish fermentation specific aroma with salty taste. Was the processes by dry pickling in closed chamber with high concentration salt ($\geq 25\%$ w/w). The result, arranged component of amino acids in fresh climbing perch is the same of climbing perch wadi, but the compositions are decreased during fermentation process. Isolation, characterization and identification of bacterial were done, obtain three kinds of bacterial from Acinetobacter, Enterobacteriaceae, and Brucella genus, and the dominant genus group is Acinetobacter.

Key words: microflora, amino acid component, wadi, climbing perch

PENDAHULUAN

Wadi adalah produk fermentasi ikan tradisional yang berbentuk ikan utuh semi basah, berwarna agak hitam (mendekati warna ikan segar), bertekstur liat dengan aroma khas ikan fermentasi serta mempunyai rasa yang asin. Wadi diolah secara penggaraman kering dalam suatu wadah bertutup rapat dengan konsentrasi garam yang tinggi ($\geq 25\%$) pada suhu kamar selama 7 hari sampai beberapa bulan hingga terbentuk aroma wadi (Khairina, 1998 dan Khairina, dkk, 1999).

Produk wadi disukai masyarakat Kalimantan Selatan karena citarasanya yang spesifik (Khairina, 1998). Kespesifikan tersebut muncul akibat terjadinya perombakan senyawa kompleks (protein dan lemak) menjadi senyawa yang lebih sederhana (asam amino dan asam lemak) selama proses fermentasi berlangsung. Cha dan Cadwallader (1995)

menyatakan bahwa citarasa ikan fermentasi disebabkan oleh senyawa-senyawa aldehid, keton, alkohol, kelompok senyawa aromatik, senyawa yang mengandung N dan S, eter serta furan. Semuanya itu terbentuk akibat dari aktivitas mikrobia yang berperan selama fermentasi. Kelompok mikrobia yang berperan selama proses fermentasi wadi adalah bakteri halofilik yang bersifat proteolitik (Khairina, 1998) tetapi jenis bakteri apa yang dimaksud belum diketahui. Dalam penelitian ini akan diisolasi dan diidentifikasi bakteri halofilik yang hidup selama fermentasi wadi sehingga pada gilirannya akan dapat dipergunakan dalam upaya peningkatan kualitas wadi dimasa mendatang.

Jumlah garam yang ditambahkan dalam proses pembuatan wadi $\geq 25\%$ sehingga rasa wadi menjadi asin. Jumlah garam yang ditambahkan menjadi faktor penentu dan pembatas bagi produk wadi. Faktor

penentu yaitu garam tinggi pada fermentasi wadi sangat menentukan keberhasilan aktifnya bakteri halofilik yang dikehendaki namun di sisi lain memunculkan faktor penghambat yaitu konsumen menjadi terbatas.

Terurnainya protein menjadi senyawa yang lebih sederhana berkontribusi besar terhadap pembentukan flavor dan citarasa. Oleh sebab itu perlu diketahui perubahan komposisi asam amino ikan segar menjadi asam amino wadi. Dalam penelitian ini akan diamati kandungan komponen asam amino ikan betok segar dan asam amino wadi sehingga dapat dijadikan informasi bagi ketersediaan gizi protein dalam produk wadi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi asam amino pada ikan betok segar dan wadi ikan betok dan mengetahui jenis-jenis bakteri halofilik (sampai tingkat genus) yang berperan selama proses fermentasi wadi ikan betok.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Laboratorium Terpadu IPB dan Laboratorium Mikrobiologi PSPG UGM Yogyakarta. Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu 1. Mengetahui komposisi asam amino ikan betok segar dan wadi ikan betok, 2. isolasi, karakterisasi dan identifikasi bakteri halofilik (sampai tingkat genus) yang berperan selama proses fermentasi wadi ikan betok berlangsung,

Persiapan Sampel

Ikan betok segar yang digunakan berukuran panjang rata-rata 12 - 15 cm dan berat rata-rata 40 - 50 g/ekor. Prosedur pembuatan wadi dilakukan menurut Khairina (1998). Ikan disiangi dengan cara membuang sisik, tutup insang, insang dan isi perut. Selanjutnya ikan dicuci bersih dengan air PDAM, direndam dalam air bersih pada suhu sekitar 10°C selama kira-kira 30 menit kemudian dicuci dan ditiriskan lagi selama 30 menit.

Sebelum penggaraman ikan ditimbang sebanyak 350 - 400g (sekitar 9 -10 ekor) untuk setiap wadah penggaraman. Wadah penggaraman yang digunakan adalah stoples plastik transparan berukuran: diameter permukaan 12,5 cm, diameter dasar 11,5 cm dan tinggi 12 cm. Konsentrasi garam yang digunakan adalah 25% b/b dan difermentasi selama 15 hari.

Pengamatan asam amino

Pengamatan terhadap komposisi asam amino ikan betok segar dan setelah fermentasi wadi ikan betok dilakukan di laboratorium Terpadu IPB dengan menggunakan metode manual HPLC yang dikembangkan oleh Perkins (1988). Analisis dilakukan setelah fermentasi *wadi* ikan betok pada hari ke tujuh, *wadi* ikan betok yang telah dihidrolisis dilarutkan dalam 5 ml HCL 0,01 N kemudian disaring dengan kertas saring millipore 0,45 mikron. Kemudian tambahkan bufer kalium borat pH 10,4 dengan perbandingan 1 : 1. Ke dalam vial kosong yang bersih masukkan 10 μ l sampel pada 18.10 dan tambahkan 25 μ l pereaksi OPA, dibiarkan selama 1 menit agar proses derivatisasi sempurna. diinjeksikan ke dalam kolom HPLC sebanyak 5 μ l kemudian tunggu sampai pemisahan semua asam amino selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 25 menit.

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pada Wadi Ikan Betok

Pada fermentasi limabelas wadi ikan betok sebanyak 3-4 ekor diambil dagingnya secara aseptis dengan menggunakan pisau yang sudah disterilkan. Dalam kondisi aseptis sebanyak 10 gram daging ikan dimasukkan ke dalam mortar steril untuk dihaluskan dan kemudian ditambahkan pepton steril sebanyak 90 ml. Homogenat disebut sampel hasil pengenceran pertama (10^{-1}).

Perhitungan total bakteri dengan menggunakan media *Nutrien Plate Count Agar*. Total bakteri halofilik dengan membuat seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan seterusnya. Kemudian dilakukan penanaman dengan

menggunakan media Nutrien Agar ditambahkan NaCl (pa) sebanyak 10% b/v. Cara penanaman dan perhitungan sama dengan perhitungan total bakteri. Masing-masing koloni yang memiliki kenampakan (tipe, ukuran dan bentuk) yang berbeda diisolasi dan dilakukan pemurnian dengan metode goresan pada media yang sama hingga diperoleh isolat yang murni. Isolat murni dipersiapkan pada agar miring. Pengamatan bakteri yang tumbuh dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 36 jam. Karakterisasi dan Identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi PSPG UGM Yogyakarta berdasarkan Cowan (1970).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komponen Asam Amino

Pengamatan komponen asam amino dimulai dari menganalisis proksimat protein wadi dan ikan segar dengan metode kjeldhal, selanjutnya dianalisis komponen asam amino yang terbentuk atau terkandung di dalam produk wadi ikan betok dengan HPLC dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. pH, Kadar protein dan asam amino pada Ikan Betok Segar dan Wadi

Komponen	Ikan betok	
	Segar	Wadi
pH	6,30	6,80
Kadar Protein (% (b/b))	52,16	48,76
Aspartat (% (b/b))	5,23	3,53
Glutamat (% (b/b))	8,01	5,47
Serin (% (b/b))	2,02	1,42
Histidin (% (b/b))	1,16	0,80
Glisin (% (b/b))	4,09	2,50
Threonin (% (b/b))	2,25	1,64
Arginin% (b/b)	3,54	2,16
Alanin (% (b/b))	4,03	2,36
Tirosin (% (b/b))	1,56	0,95
Methionin (% (b/b))	1,89	0,90
Valin (% (b/b))	2,54	1,64
Fenilalanin (% (b/b))	2,40	1,53
I-leusin (% (b/b))	2,43	1,62
Leusin (% (b/b))	4,06	2,88
Lisin (% (b/b))	4,65	3,65

Setelah ikan difermentasi, menurut Beddows, dkk (1980) terjadi perombakan protein menjadi peptida-peptida dan asam amino serta berubahnya asam amino menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menghasilkan sejumlah senyawa volatil yang berpengaruh terhadap citarasa dan aroma dari produk fermentasi. Saisithi dkk (1996) menyebutkan bahwa aroma dan rasa yang khas pada produk fermentasi terutama disebabkan degradasi protein dan lemak dalam daging ikan serta adanya enzim yang dihasilkan bakteri selama fermentasi.

Komponen senyawa-senyawa yang terbentuk selama fermentasi ikan telah dideskripsikan oleh banyak peneliti antara lain Cha dan Lee (1985) di dalam Cha dan Cadwallader (1995) yang telah menguji komponen pengaktif rasa pada fermentasi anchovy. Mereka menyimpulkan bahwa senyawa yang berperan penting adalah asam amino bebas, nukleotida dan komponen-komponen volatil yang dihasilkan. Sedangkan Cha dan Cadwallader (1995) menyebutkan bahwa senyawa volatil yang terbentuk pada produk fermentasi ikan-garam dan udang adalah senyawa aldehid, keton, dan ester yang berkontribusi terhadap aroma dari semua flavor fermentasi ikan anchovy, big eye herring dan pasta isi perut ikan hair tail. Produk akhir hasil fermentasi bisa berbentuk padat, pasta dan cair.

Isolasi dan identifikasi bakteri pada wadi ikan betok

Pada tahapan isolasi diperoleh 27 isolat yang pada tahapan pemurnian hanya diperoleh 10 isolat murni. Isolat murni tersebut selanjutnya diidentifikasi di laboratorium mikrobiologi Pusat Studi Pangan Gizi Universitas Gadjah Mada dan hasil identifikasi seperti pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri pada wadi ikan betok, dari 10 isolat murni menunjukkan bahwa 8 isolat dominan dikelompokkan dalam genus *Acinetobacter*, 1 isolat dalam *Enterobacteriaceae* dan 1 isolat lagi dalam genus *Brucella*.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Bakteri Yang Diisolasi Dari Wadi Ikan Betok

Kode Isolat	Pengecatan Gram	Bentuk Sel	Katalase	Oksidasi Test	Uji Glukosa	O-F Test	Genus
B20NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
B20NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
B15NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
B15NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
L20NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
L20NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
L15NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter
L10NaCl	-	Rod	-	-	+	f	Enterobacteriaceae
L10NaCl	-	Rod	+	+	-	-	Brucella
L10NaCl	-	Rod	+	-	-	-	Acinetobacter

Ket. B = isolat dari wadi yang difermentasi selama 1 minggu

L = isolat dari wadi yang difermentasi selama 1 bulan

10, 15 dan 20 konsentrasi NaCl dalam media

Menurut John dkk. (1994), *Acinetobacter* berbentuk batang dengan ukuran diameter 0.9– 1.6 µm, panjang 1.5– 2.5 µm. Pada fase stasioner menjadi berbentuk seperti bola. Sering ditemukan berpasangan, seperti rantai dalam jumlah yang berubah-ubah panjangnya. Sel-sel tidak membentuk spora. Sel termasuk dalam kelompok gram negatif tapi kadang-kadang sulit ditandai termasuk kelompok aerobik karena, mempunyai type respirasi pada metabolisme dengan oksigen sebagai terminal aseptor elektron. Semua strain tumbuh antara suhu 20°C dan 30°C. Beberapa strain mempunyai suhu optimum 33°C – 35°C. *Acinetobacter* termasuk dalam oksidasi negatif dan katalase positif lengkap. Beberapa strain tumbuh dalam media yang mengandung karbon tunggal dan sumber energi, kelompok ini menggunakan garam ammonium dan garam nitrat sebagai sumber nitrogen.

Steel dan Cowan (1964) mendefinisikan bahwa *Acinetobacter* adalah bakteri yang tidak menghasilkan asam dari sumber karbohidrat. Beberapa sumber karbon yang dapat dimanfaatkan oleh beberapa strain *Acinetobacter* adalah D-ribosa pentosa, D-xylosa, L-arabinosa, D-glukosa terutama hanya dari sumber karbon hexosa. Satu karakteristik dari *Acinetobacter anitratum* menurut Cowan (1970) yaitu kemampuannya dalam mengurai monosakarida, tetapi kemampuan

ini tidak setinggi jika dibandingkan sakarida dalam air gula-pepton.

Enterobakteriaceae adalah kelompok bakteri gram negatif, berbentuk batang dan jika proses motil flagela peritrichous, mereka juga oksidasi sitokrom negatif. Katalase positif. Fermentative O/F dalam medium glukosa dan menurunkan nitrat menjadi nitrit. Bakteri ini hidup disaluran pencernaan manusia dan hewan dan telah dapat diisolasi dari jenis yang berasal dari air, limbah, makanan dan tanah (Austin, B, 1991).

Menurut Buckle dkk., (1987) golongan bakteri Enterobakteriaceae merupakan kelompok dari bakteri yang tidak berspora, berbentuk batang kecil. Beberapa bakteri dari kelompok ini tidak bergerak sedang lainnya dapat bergerak baik dengan flagella polar atau peritrichous secara keseluruhan kelompok ini mempunyai sifat khas yaitu mampu tumbuh secara aerobik maupun anaerobik (anaerobik fakultatif) pada beraneka macam karbohidrat. Anggota dari genus enterobacter, serratia, proteus dan erwina umumnya sering mencemari bahan pangan segar. Spesies Erwina menyebabkan busuk lunak (*soft rots*) dan nekrosis dari sayuran dan buah-buahan produksi enzim pemecah polisakarida spesies serratia membentuk pigmen kemerah-merahan di permukaan beberapa bahan pangan. Spesies proteus (*Proteus vulgaris*) telah diidentifikasi dalam kerusakan telur dan

daging juga menyebabkan pembusukan protein bahan pangan.

Beberapa genus Enterobacteriaceae penting bagi kesehatan masyarakat karena menimbulkan wabah keracunan pangan dan penyakit infeksi yang ditularkan melalui makanan yang cukup serius. Organisme seperti ini yang umumnya terdapat dalam alat pencernaan ternak termasuk spesies salmonella dan shigella, escherichia coli dan yersinia enterocolitica (Buckle dkk., 1987).

Khusus Erwinia menurut Austin, (1991), pada prinsipnya mampu berasosiasi dengan tanaman. Kelompok ini telah diperoleh dari isolat potensial yang berasal dari ikan. Dalam satu studi bakteri ini telah ditemukan disaluran pencernaan ikan salmon yang diperoleh dari 16 lokasi air tawar di Canada. Dua genus dari enterobacteriaceae yaitu Edwardsiella dan yersinia merupakan patogen penting bagi ikan. Dari hasil penelitian Edwardsiella telah membunuh anak ikan atau telur-telur salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) akibatnya ikan menjadi mati, mikroorganisme ini bersifat patogen pada spesies ikan ini. *Proteus rettgeri* juga telah berhasil diidentifikasi dari ikan karper yang ditangkap dari kolam-kolam di Israel yang dipupuk dengan kotoran-kotoran ayam.

Menurut John dkk., (1994) Brucella merupakan bakteri yang berbentuk bulat, bulat-batang atau batang pendek dengan ukuran 0.5 - 0.7 x 0.6 - 1.5 um, susunan tunggal dan jumlah sedikit, berpasang-pasang, rantai pendek dalam kelompok-kelompok kecil. Kapsul tidak dihasilkan. Kelompok ini tidak selalu terlihat bipolar dan termasuk golongan bakteri gram negatif. Sel non-motil dan tidak mempunyai flagella. Bersifat aerobik dengan tipe proses respirasi pada metabolisme dan mempunyai sitokrom yang didasari oleh transport elektron dengan oksigen atau nitrat seperti pada elektron penerima terakhir.

Beberapa strain Brucella memerlukan penambahan CO₂ untuk pertumbuhan khususnya pada isolasi utama. Suhu optimum 37°C. Suhu pertumbuhan antara 20 °C dan 40°C. pH optimum 6,6 - 7,4.

Katalase positif dan sering oksidasi positif, tetapi spesies tertentu negatif. Chemoorganotrophik pada beberapa spesies tertentu yang menggunakan media kompleks yang mengandung beberapa asam amino, thiamin, nikotinamida, dan ion magnesium. Beberapa spesies brucella telah tumbuh pada media yang mengandung garam ammonium sebagai sumber nitrogen. Pertumbuhan dipercepat pada media serum atau darah, tetapi hemin (factor X) dan nikotinamida adenine dinukleotida (NAD:factor V) adalah tidak esensial. Karakteristik proses intraselluler anti gen spesifik untuk genus ini. Mereka adalah parasit intraselluler, perantara untuk spesies hewan termasuk manusia (John dkk., 1994).

Wadi ikan betok merupakan produk fermentasi ikan yang menggunakan garam berkonsentrasi tinggi (>25%). Garam yang digunakan pada pembuatan wadi ikan betok ini yaitu garam sodium clorida. Pada proses fermentasi ikan terjadinya penguraian senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana oleh aktivitas mikroorganisme tertentu dalam suasana yang terkontrol. Menurut Beddows dkk., (1980) setelah ikan difermentasi, terjadi perombakan protein menjadi peptida-peptida dan asam amino serta berubahnya asam amino menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menghasilkan sejumlah senyawa volatil yang berpengaruh terhadap citarasa dan aroma dari produk fermentasi. Terurainya protein menjadi senyawa yang lebih sederhana meningkatkan jumlah kandungan karbon tunggal sebagai sumber energi dan sumber nitrogen bagi mikroorganisme terutama dalam bentuk asam amino dan asam organik. Menurut Steel dan Cowan (1964) beberapa strain Acinetobacter mampu menggunakan D-ribosa pentosa, D-xylosa, L-arabinosa, D-glukosa terutama dari sumber karbon hexosa.

Selama proses fermentasi wadi ikan betok terjadi perubahan pH yaitu dari ikan betok segar sebesar 6,30 menjadi 6,80 pada produk wadi ikan betok (Tabel 1). Menurut John dkk. (1994) pH optimum untuk brucella adalah 6,6 - 7,4. sehingga

pH wadi ikan betok hasil penelitian ini berada dalam kisaran pH optimum untuk pertumbuhan brucella dan Acinetobacter. Pada kondisi tertentu kelompok ini termasuk katalase positif dan sering oksidasi positif, tetapi pada spesies tertentu bisa bersifat negatif. Beberapa spesies brucella mampu menggunakan media kompleks yang mengandung asam amino, thiamin, nikotinamida, dan ion magnesium. Menurut Osterhaug, Dassow dan Stansby (1963), ikan merupakan salah satu makanan sumber protein hewani yang memiliki kandungan asam-asam amino dalam jumlah lengkap dan berimbang. Imbangan asam amino dalam protein ikan adalah yang terbaik dibandingkan dengan bahan makanan yang lainnya.

KESIMPULAN

Komponen asam amino yang terdapat pada ikan betok segar sama dengan komponen asam amino yang terdapat pada wadi ikan betok. Namun komposisi dari setiap komponen asam amino yang terdapat pada ikan betok segar ini mengalami penurunan selama proses fermentasi wadi ikan betok. Hal ini terjadi karena selama proses fermentasi terjadi perombakan protein menjadi peptida-peptida dan asam amino serta berubahnya asam amino menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menghasilkan sejumlah senyawa volatil yang berpengaruh terhadap citarasa dan aroma dari produk fermentasi.

Isolasi dan identifikasi bakteri yang berhasil dilakukan pada fermentasi wadi ikan betok sampai tingkat genus diperoleh satu kelompok yang mendominasi yaitu dari genus Acinetobacter. Kelompok lain yang juga telah berhasil diidentifikasi adalah enterobakteriaceae dan brucella. Secara umum ketiga bakteri ini bersifat patogen tetapi ternyata pada proses fermentasi wadi ikan betok golongan ini mampu memanfaatkan senyawa yang lebih sederhana seperti asam amino yang mengandung karbon tunggal sebagai sumber energi dan sumber nitrogen.

Perlu kajian lebih mendalam terhadap karakteristik kelompok bakteri Acinetobacter, Enterobakterium dan Brucella yang tumbuh pada wadi ikan betok, karena ketiga bakteri ini di alam dikenal sebagai bakteri patogen.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada Program Peningkatan Kualitas ISS dan Jurusan Universitas Lambung Mangkurat tahun 2004 yang telah mendanai penelitian ini melalui kegiatan hibah penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC., 1990. Association of Official Analysis Chemists : Official Methods of Analysis. 18th Ed. Washington D.C.
- Astrawan, M., Wahyuni, M., Tadokoro, T., 1995. Ikan Asin : Nilai Gizi dan Upaya Untuk Menurunkan Resiko Terhadap Tekanan Darah Tinggi. Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional.
- Austin B. 1991. Methods in Aquatic Bacteriology. Modern Microbiological methods. Thomson Press (India) Ltd., New Delhi.
- Beddows, C.G., Ardeshir, A.G., and Daud, W.J., 1980. Development and Origin of the Volatile Fatty Acids in Budu. J. Sci. Food Agric. 31. 86 – 92.
- Bridson, E.Y., 1990. The Oxoid Manual . 6th Ed. Unipath Ltd. Wade Road, Basingstoke RG 24 OPN. England.
- Cowan, S.T. 1970. Manual For The Identification of Medical Bacteria. Cambridge at The University Press.
- Cha, Y.J. and Cadwallader, K.R., 1995. Volatile Component in Salt Fermented Fish Shrimp Pastes. J. Food Sci. 60 : 19 – 24.
- Fleet, G.H., 1978. A Course Manual in Food Science, Watson Ferguson and Co., Brisbane.
- Isenberg, H. D., 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- John G.H, Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams., 1994. Bergey's manual of

- Determinative Bacteriology.
Lippincott Williams and Wilkins.
Philadelphia. United State of
America.
- Khairina, R., 1998. Perubahan Sifat-sifat Kimiawi, Fisikawi, Mikrobiologi dan sensoris Produk wadi Ikan Betok (*Anabas testudineus* Block). Tesis S2 Program Pascasarjana Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Khairina, R., T. Utami, dan E. Harmayani 1999. Perubahan Sifat-sifat Kimiawi, Fisikawi, Mikrobiologi dan sensoris Produk wadi Ikan Betok (*Anabas testudineus* Block). *Agritech*, 19 (4): 181-188.
- Khairina, R., dan Setihono., 2000. Memperbaiki Kualitas Wadi Makanan Fermentasi Tradisional Kalimantan Selatan Dalam Beberapa Konsentrasi Garam. Prosiding Seminar
- Pederson, C.S., 1963. Processing by Fermentation, in : Food Processing Operation, Vol. II, by : J.L. Heid, Westport, Connecticut.
- Perkins, E.G., 1988. ICI Instrumens. Dept. of Food Sciences. Univ. of Illinois. IL. USA.
- Saisthi, P., Kasemsarm, J., Liston, D., and Alexander, M., 1966. Microbiology and Chemistery of Fermented Fish. *J. Food Science* 31 : 105 – 110.
- Soetardjo B., 1978. Mikrobial Aspects of Solid Substrate. Fermentation, Paper yang Disampaikan Pada Asean Workshop on Solid Substrate Fermentation, Bandung.
- Tanchotikul, U., and Hsieh, C.Y. , 1989. Volatile Component in Crayfish Waste. *J. of Food Sciens* 54: 1515 – 1520.
- Wibowo, J., dan Ristanto, 1988. Petunjuk Khusus Deteksi Mikrobial Pangan . Pusat Antar Universitas. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Winarno, F.G., 1980. Kimia Pangan. Penerbit P.T. Gramedia, Jakarta.

