

ANALISA KEAMANAN PANGAN SECARA *IN VIVO* IKAN BANDENG ASAP CABUT DURI DENGAN ASAP CAIR

Dwi Yanuar Budi Prasetyo^{1*)}, Y.S. Darmanto², Fronthea Swastawati³, Tri Winarni Agustini⁴,
Gunawan Wibisono⁵, Aryanti Indah Setyastuti⁶

¹Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Nahdlatul Ulama Purwokerto,

²Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,

³Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,

⁴Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,

⁵Departemen Kedokteran Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro,

⁶Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Nahdlatul Ulama Purwokerto

*Corresponding author: E-mail: yanuarprasetyo87@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tingkat keamanan pangan bandeng asap cabut duri menggunakan asap cair sekam padi secara *in vivo* melalui gambaran histopatologi hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c. Ikan bandeng cabut duri segar direndam dalam larutan asap cair sekam padi (5%) dan garam (5%) selama 30 menit, ditiriskan ± 1 jam pada suhu ruang lalu dipanaskan pada suhu 60-70°C selama 2 jam dan didinginkan ± 1 jam pada suhu kamar setelah itu dikemas dengan plastik polietilen sebelum diujicobakan pada hewan uji. Ikan bandeng cabut duri asap yang sudah siap dijadikan pakan mencit dengan perlakuan beda berat pakan ($P_0=0$ g; $P_1=10$ g; $P_2=15$ g; $P_3=20$ g). Data gambaran histopatologi hati dan ginjal hewan uji dianalisa dengan analisa *Kruskall Wallis* pada taraf kepercayaan 95%. Hasil menunjukkan bahwa beda berat pakan yang diberikan berpengaruh nyata ($p<0.05$) terhadap tingkat kerusakan histopatologi hati dan ginjal mencit dengan tingkat degenerasi sel pada masing-masing organ sebesar 25%.

Kata Kunci : Asap Cair Sekam Padi, Bandeng Asap Cabut Duri, *In Vivo*, Keamanan Pangan.

ABSTRACT

This research aims to investigate the food safety level of smoked boneless milkfish using liquid smoke of rice husks *in vivo* through histopathological features of liver and kidney mice (*Mus musculus*) strain Balb/c. Fresh boneless milkfish were immersed in a liquid smoke solution of rice husk (5%) and salt (5%) for 30 minutes, drained ± 1 hour at room temperature then heated at 60-70 °C for 2 hours and cooled ± 1 hour at room temperature after that it is packed with polyethylene plastic before being tested on test animals. Smoked boneless milkfish which are ready to be used as feed for mice with different treatment of feed weight ($P_0 = 0$ g; $P_1 = 10$ g; $P_2 = 15$ g; $P_3 = 20$ g). Histopathological data of liver and kidney test animals were analyzed by *Kruskall Wallis* analysis at 95% confidence level. The results showed that the different weight of feed given significantly affected ($p < 0.05$) on the level of histopathological damage of the liver and kidney of mice with the level of cell degeneration in each organ by 25%.

Key words : rice husk liquid smoke, Smoked boneless milkfish, *In Vivo*, Food Safety.

PENDAHULUAN

Produk perikanan menjadi komoditi bahan pangan penting didunia dikarenakan nutrisi yang terkandung didalamnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan manusia (Cruz *et al*, 2018), dari data FAO (2018), konsumsi per kapita produk perikanan dunia mencapai 20,5 Kg pada tahun 2017 sementara di Indonesia pada tahun yang sama angka konsumsi ikan mencapai 47,34 kg/kapita (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2019). Berbagai upaya telah banyak dilakukan untuk meningkatkan tingkat konsumsi ikan diantaranya melalui beberapa olahan produk perikanan. Salah satu produk perikanan yang disukai masyarakat khususnya di Jawa Tengah adalah ikan bandeng, salah satu hasil olahan ikan bandeng adalah bandeng asap (Swastawati *et al*, 2016; Prasetyo *et al*, 2015).

Proses pengasapan sekarang ini telah banyak berkembang dengan penggunaan asap cair. Kelebihan penggunaan asap cair diantaranya dapat menghasilkan mutu produk yang lebih baik bila dibandingkan dengan menggunakan metode pengasapan secara tradisional (Swastawati *et al*, 2012). Asap cair dapat diperoleh dari berbagai kayu maupun dari limbah pertanian, salah satunya sekam padi. Penggunaan asap cair

sekam padi pada penelitian ini dikarenakan sekam padi tergolong limbah hasil pertanian yang mudah diperoleh sehingga apabila tidak dikelola dengan baik akan menimbulkan masalah lingkungan. Selain itu kandungan senyawa sekam padi yang berupa benzenediol, furanmethanol, fenol dan beberapa turunannya yang berperan penting dalam membentuk citarasa dan aroma khas ikan asap maupun dapat berperan sebagai antimikroba dan antioksidan (Swastawati, F.*et al*. 2014; Swastawati, F. *et al*. 2012; Butsat and Siriamornpun 2010; Martuscelli, 2009).

Selain faktor mutu, faktor keamanan pangan juga menjadi aspek penting bagi setiap produk hasil perikanan. Perbedaan bahan baku asap cair yang digunakan menjadikan perbedaan pula pada kandungan senyawa kimiawi, tingkat toksisitasnya serta respon metabolisme dari organ hati dan ginjal hewan uji sehingga perlu diperlukan adanya penelitian untuk menguji tingkat keamanan pangan secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tingkat keamanan pangan produk bandeng asap menggunakan asap cair sekam padi secara *in vivo* yang nantinya dapat dijadikan sebagai langkah awal untuk penelitian lebih lanjut tentang efek karsinogenik dari produk.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah ikan bandeng cabut duri segar ($\pm 240\text{--}260\text{ gr}$, $\pm 25\text{ cm}$). Asap cair yang diperoleh dari sekam padi hasil pirolisis mesin asap cair (Swastawati, 2012).

Pembuatan Bandeng Asap

Proses pembuatan ikan asap mengacu pada (Prasetyo, *et al.* 2015) dan telah dilakukan modifikasi. Ikan bandeng cabut duri segar direndam dalam larutan asap cair sekam padi 5% (500 mL asap cair sekam padi dalam 950 mL air) dan ditambahkan garam 5% (5 gr dalam 950 mL air) selama 30 menit. Ikan ditiriskan pada suhu ruang selama (± 1 jam) kemudian dioven (Aluminium Oven Hock P(55cm)). Pengovenan dilakukan pada suhu $60\text{--}70^\circ\text{C}$ selama 2 jam. Setelah dioven ikan bandeng asap didinginkan pada suhu ruang selama ± 1 jam setelah itu dikemas dengan plastik polietilen sebelum diujicobakan pada hewan uji.

Analisa Senyawa Hidrokarbon Asap Cair Sekam Padi

Asap cair sekam padi yang dihasilkan dari mesin pembuat asap cair (Swastawati, 2012) dianalisa menggunakan GC-MS QP.2010SSHIMADZU.

Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c betina umur 3 bulan dengan berat rata-rata ± 20 g dan telah memenuhi persyaratan untuk penelitian. Mencit 20 ekor yang sebelumnya diaklimatisasi selama 7 hari dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (P0) diberi pakan standar, dan kelompok yang diberi ikan bandeng asap cair sekam padi yaitu 10 g (P1), 15 g (P2), 20 g (P3) dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit atau sebagai ulangan. Ikan bandeng diberikan secara langsung dan air minum secara *ad libitum*. Setelah 14 hari semua mencit dianestesi dengan klorofom dan dibedah diambil organ hati dan ginjalnya. Organ hati dan ginjal difiksasi ke dalam wadah yang telah terisi formalin 4% dibuat preparat histologinya.

Pembuatan Preparat

Organ hati dan ginjal yang telah difiksasi dicuci dengan akuades dan direndam dalam larutan FAA (formaldehyde acetic acid alkohol) selama 24 jam. Dehidrasi bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% dan alkohol absolut masing-masing selama 1 jam. Dijernihkan dalam larutan alcohol xylol, setelah organ nampak jernih direndam dalam cairan paraffin dengan

titik leleh 48-52°C, 52-54°C dan 54-56°C selama 1-2 jam. Ditanam dalam paraffin hingga mengeras. Organ yang telah mengeras dipotong menggunakan *microtome* dengan ketebalan 6-10 µm lalu ditempelkan pada gelas objek, setelah benar-benar menempel direndam xylol selama 10 menit untuk menghilangkan parafin dan tahap terakhir diberi pewarnaan *haemotoxylineosin*.

Pembacaan Histopatologi Hati dan Ginjal

Preparat hati dan ginjal diamati di mikroskop dengan perbesaran 40 kali pada tiga bidang lapang pandang yang berbeda. Derajat kerusakan dikuantitatifkan berdasarkan metode Mitchell and Cotran(2007), yakni skor 0 jika tidak terjadi kerusakan sel hepar dan ginjal, skor 1 jika kerusakan mencapai 0.1-5%, skor 2 jika 6-25%, skor 3 jika 26-50%, dan skor 4 untuk kerusakan lebih dari 50%.

Analisa Data

Data gambaran histopatologi hati dan ginjal mencit dianalisa dengan uji *Kruskall Wallis* dengan taraf kepercayaan 95%. Analisa data menggunakan bantuan software computer SPSS versi 20.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa senyawa hidrokarbon asap cair sekam padi

Senyawa hidrokarbon asap cair sekam padi yang dianalisa menggunakan

GC-MS disajikan pada Tabel 1. Komponen terbesar senyawa hidrokarbon asap cair sekam padi didominasi oleh acetic acid, propanone dan hydroxyurea. Penelitian Swastawati *et al* (2012), komponen senyawa hidrokarbon asap cair bonggol jagung didominasi oleh propanoic acid, 2 furan methanol dan fenol sementara asap cair tempurung kelapa didominasi oleh senyawa fenol beserta turunanya. Sementara penelitian Butsat and Siriamornpun (2010) menunjukkan senyawa fenolat yang dihasilkan sekam padi seperti *ferulic*, *p*-hydroxybenzoic, *protocatechuic* dan *chlorogenicacids* dapat berperan sebagai antioksidan. Perbedaan bahan baku pembuat asap cair menghasilkan senyawa hidrokarbon yang berbeda-beda beserta karakteristik dan fungsinya.

Senyawa seperti *acetic acid*, *propanoic acid* maupun *propanone* dapat berperan sebagai antimikroba. Tingginya komponen acetic acid dari asap cair sekam padi yang dihasilkan mempengaruhi nilai keasaman, tingginya nilai keasamanyang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan mikroba pada produk yang dihasilkan. Penelitian Duman and Kuzgun (2018) menunjukkan bahwa peningkatan nilai *yeast* dan jamur terlihat signifikan pada produk nugget ikan *rainbow trout* segar jika dibandingkan dengan nugget ikan *rainbow trout* asap selama

penyimpanan dingin, hal ini dikarenakan efek komponen asap yang dihasilkan berperan sebagai antimikroba.

Senyawa hidrokarbon asap cair sekam padi yang dihasilkan pada penelitian ini juga menghasilkan urea atau turunannya seperti hydroxyurea, adanya urea dikarenakan padi merupakan tanaman pertanian dimana urea ini dijadikan pupuk kimia (Seseray *et al*, 2013; Yanti *et al*, 2014). Senyawa urea ini juga ditemukan pada asap cair bonggol jagung sebesar 1,62% (Swastawati *etal*, 2012). Beberapa penelitian telah menunjukkan tingkat toksisitas urea seperti ransum pakan pada sapi, dosis 0,3 – 0,5 g/Kg/BB/hari sudah bersifat toksik, sedangkan 1 – 1,5 g/Kg/BB/hari akan berakibat fatal (EFSA, 2012; Thompson, 2014). Oleh karena itu untuk menentukan dosis toksisitas dari urea yang terkandung didalam asap cair sekam padi ini perlu dilihat gambaran histopatologi organ hati dan ginjal hewan uji.

Tabel 1. Senyawa hidrokarbon asap cair sekam padi.

No	Senyawa hidrokarbon	Rumus kimia	Persentase (%)
1.	Hydroxyurea	CH ₄ N ₂ O	20,68
2.	Propanone	CH ₃ COCH ₃	19,57
3.	Acetic acid methyl ester	C ₃ H ₆ O ₂	3,03
4.	Formic acid, 2-propenylester	CH ₂ CH ₂ CH OCHO	1,09
5.	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	3,26
6.	2-Butanone	C ₄ H ₈ O	3,53
7.	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	37,40

No	Senyawa hidrokarbon	Rumus kimia	Persentase (%)
8.	4-Methyl,1-Pentanol	C ₆ H ₁₄ O	1,93
9.	2-Propanone,1-hydroxy-	C ₃ H ₆ O ₂	4,28
10.	Propane,2-ethoxy-	C ₅ H ₁₂ O	1,56
11.	Cyclopentanone	C ₅ H ₈ O	0,99
12.	2-Furancarboxaldehyde	C ₅ H ₄ O ₂	2,67

Analisa Histopatologi Hati dan Ginjal Mencit

Nilai rerata skor perubahan organ hati mencit yang diberi ikan asap disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rerata skor perubahan hati mencit

Sampel	Ulangan				
	I	II	III	IV	V
K (0 g)	0	0	0	0	0
P1 (10 g)	1	0	1	0	0
P2 (15 g)	0	1	1	1	1
P3 (20 g)	1	0	0	0	1

Keterangan :

0 = tidak terjadi kerusakan sel hati

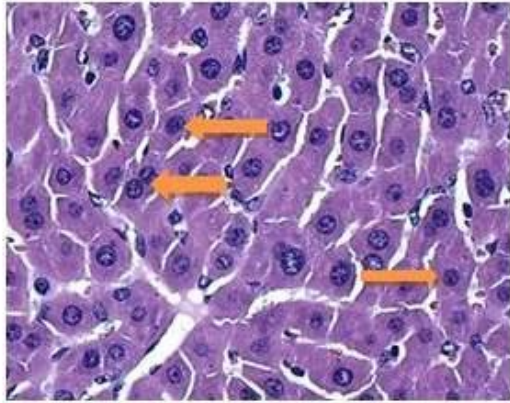
1 = kerusakan sel hati mencapai 0,1-5%

2 = kerusakan sel hati mencapai 6-25%

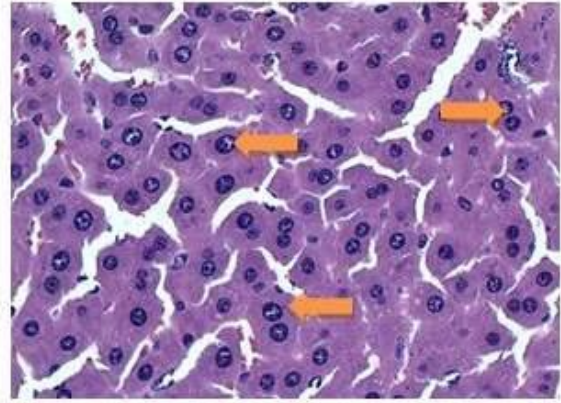
3 = kerusakan sel hati mencapai 26-50%

4 = kerusakan sel hati lebih dari 50%

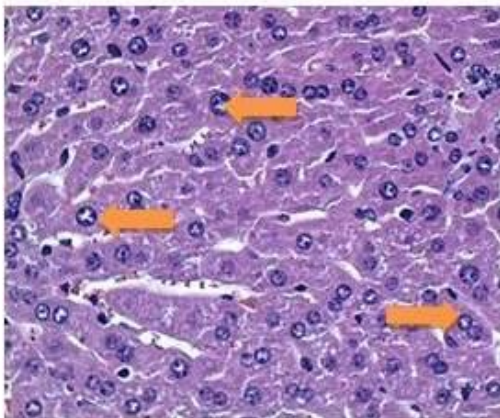
Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian berat pakan ikan asap yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap kerusakan jaringan hati mencit. Akan tetapi dari hasil uji lanjut masing-masing berat pakan tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0.05$) dengan kata lain semua berat pakan menyebabkan degenerasi awal jaringan hati mencit.



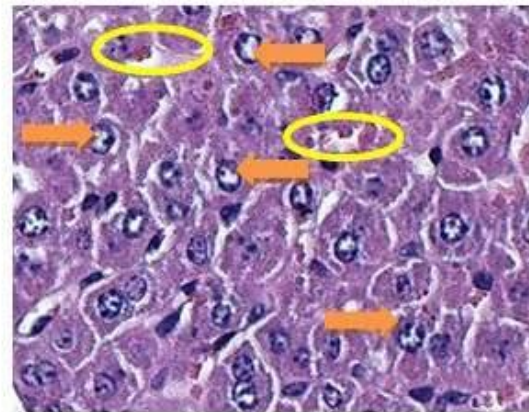
Gambar 1a. Histopatologi hati mencit kelompok normal perbesaran 40x. Tanda panah menunjukkan sel hepatosit normal (inti sel berwarna biru, terlihat penuh dan tidak berlubang-lubang).



Gambar 1b. Histopatologi hati mencit kelompok P₁ (10 g) perbesaran 40x. Tanda panah menunjukkan degenerasi sel, sel hepatosit terlihat seperti berbuih.



Gambar 1c. Histopatologi hati mencit kelompok P₂ (15 g) perbesaran 40x. Tanda panah menunjukkan degenerasi sel.



Gambar 1d. Histopatologi hati mencit kelompok P₃ (20 g) perbesaran 40x. Tanda panah menunjukkan degenerasi sel. Lingkaran menunjukkan peradangan.

Gambaran mikroskopis hati normal (kontrol) pada Gambar 1a. menunjukkan sel hepatosit normal dimana inti sel berwarna biru, sitoplasma sel terlihat penuh dan tidak berlubang atau berbuih. Gambar 1b menunjukkan sel hepatosit sudah mengalami degenerasi hidropis, sel hepatosit nampak timbul gelembung air di tengahnya. Menurut (Cheville, 2006) degenerasi hidropis merupakan peristiwa meningkatnya kadar air di intraseluler yang menyebabkan sitoplasma dan organel-organel membengkak dan

membentuk vakuola-vakuola. Degenerasi jenis ini merupakan respon awal sel terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik, serta merupakan proses awal kematian sel. Gambar 1c dan 1d menunjukkan terjadi degenerasi sel dan peradangan yang ditandai oleh timbulnya berkas darah pada sel (lingkaran kuning). Hasil pengamatan histopatologi hati mencit dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan ikan bandeng asap cair sekam padi dapat menyebabkan degenerasi hidropis sel hepatosit. Degenerasi hidropis bersifat

reversibel, artinya apabila paparan toksik dihentikan, sel yang mengalami kerusakan akan kembali normal. Degenerasi seperti ini dapat pulih kembali apabila zat toksik atau berupa rangsangan yang menyebabkan kerusakan dihilangkan (Robbins, *et.al.* 2004).

Senyawa kimiawi yang dominan pada ikan asap adalah senyawa fenol. Senyawa fenol di dalam hati dapat langsung dimetabolisme melalui proses konjugasi menjadi konjugat yaitu *phenylsulfate* (proses ini disebut sulfasi). Enzim yang berperan dalam proses sulfasi adalah enzim sulfotransferase yang berfungsi sebagai katalis dalam menempelkan gugus sulfat pada gugus OH senyawa fenol, sehingga gugus OH pada senyawa fenol tidak berikatan dengan makromolekul pada sel seperti protein, DNA, dan RNA. Hasil konjugasi umumnya bersifat hidrofilik sehingga lebih mudah larut dan disekresikan keluar sel (Cairns, D. 2004). Nilai rerata skor perubahan organ ginjal mencit yang diberi ikan asap disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rerata skor perubahan organ ginjal mencit

Sampel	Ulangan				
	I	II	III	IV	V
K (0 g)	0	0	0	0	0
P1 (10 g)	0	1	0	2	0
P2 (15 g)	2	0	0	1	0
P3 (20 g)	2	2	2	2	2

Keterangan :

0 = tidak terjadi kerusakan sel ginjal

1 = kerusakan sel hati mencapai 0,1-5%

2 = kerusakan sel hati mencapai 6-25%

3 = kerusakan sel hati mencapai 26-50%

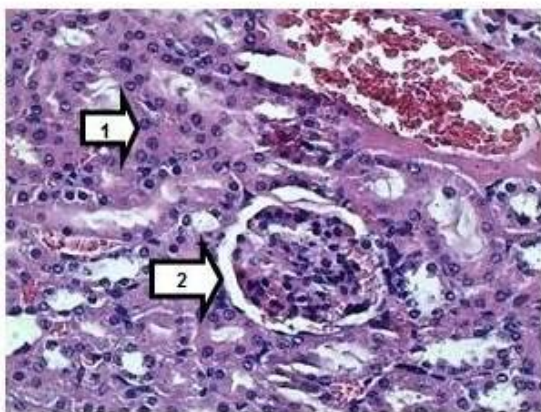
4 = kerusakan sel hepar lebih dari 50%

Hasil uji statistik perbedaan berat pakan ikan asap yang diberikan memberikan pengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap degenerasi jaringan ginjal mencit. Sementara dari analisa uji lanjut berat pakan ikan asap yang diberikan tidak menunjukkan pengaruh yang nyata ($p > 0.05$) pada berat berapapun terhadap kerusakan ginjal, artinya pada berat pakan ikan asap baik 10 g, 15 g, dan 20 g semuanya telah memberikan pengaruh terhadap kerusakan awal ginjal.

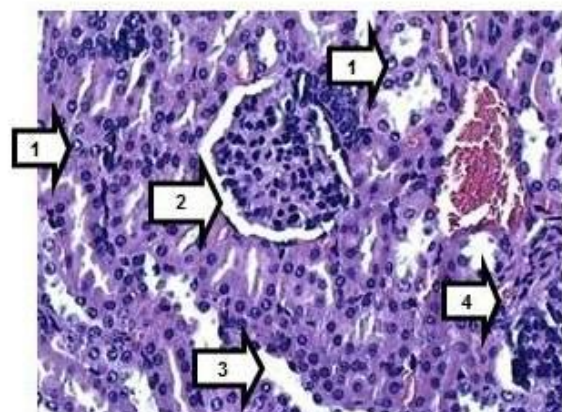
Hasil pengamatan pada semua perlakuan menunjukkan degenerasi sel. Tahap awal kerusakan sel berupa degenerasi, kerusakan ini dapat diakibatkan oleh adanya bahan yang bersifat toksik. Bahan toksik yang masuk akan mengganggu metabolisme sel, sel normal akan mampu memompa natrium dengan baik sehingga apabila fungsi sel tidak dapat berjalan sebagaimana mestinya natrium di dalam sel akan terakumulasi dan tekanan osmotik sel meningkat menyebabkan influks air ke dalam sel dan lama kelamaan sel akan membengkak. Peristiwa ini disebut degenerasi hidropis (Gambar 2b, 2c dan 2d), kerusakan ini bersifat sementara atau *reversibel* artinya

sel-sel dapat kembali seperti semula (*repair*) apabila bahan yang bersifat toksik dihentikan karena sel mempunyai kemampuan untuk beregenerasi dan memperbaiki diri apabila ada rangsangan dari luar (Cheville, 2006). Kerusakan sel kemudian diikuti adanya endapan protein dan dilatasi baik pada ruang Bowman

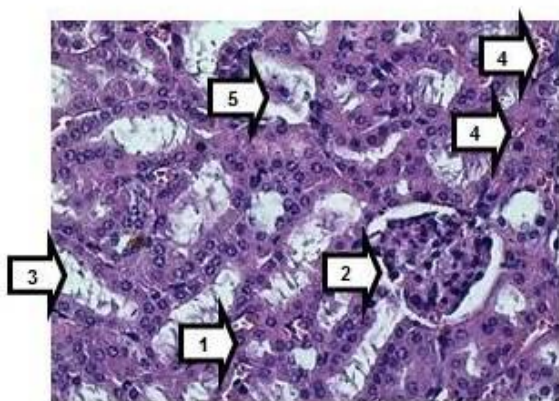
maupun tubuli ginjal (Gambar 2b, 2c dan 2d). Kerusakan sel menyebabkan protein yang lolos dari glomerulus tidak dapat diserap dengan sempurna oleh epitel-epitel tubulus sehingga menyebabkan terjadinya penumpukan protein di dalam lumen tubulus maupun Bowman.



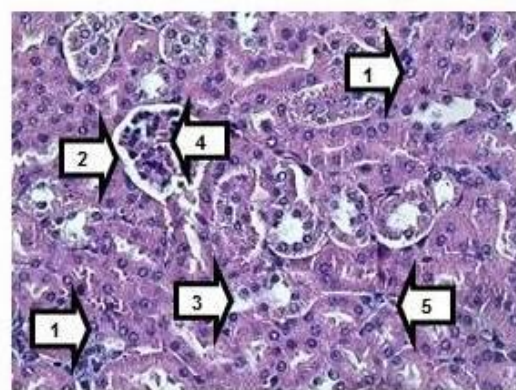
Gambar 2a. Histopatologi ginjal mencit kelompok normal perbesaran 40x.
1. Sel hepatosit normal (inti sel berwarna biru, terlihat penuh dan tidak berlubang-lubang).
2. Dilatasi pada ruang Bowman.



Gambar 2b. Histopatologi ginjal mencit kelompok P₁ (10 g) perbesaran 40x.
1 Sel mengalami degenerasi, sel hepatosit terlihat seperti berbuih.
2 Dilatasi pada ruang Bowman.
3. Dilatasi pada lumen tubulus.
4. Peradangan.



Gambar 2c. Histopatologi ginjal mencit kelompok P₂ (15 g) perbesaran 40x.
1 Sel mengalami degenerasi, sel hepatosit terlihat seperti berbuih.
2 Dilatasi pada ruang Bowman.
3. Dilatasi pada lumen tubulus.
4 Peradangan.
5. Endapan protein dalam lumen tubulus.



Gambar 2d. Histopatologi ginjal mencit kelompok P₃ (20 g) perbesaran 40x.
1 Sel mengalami degenerasi, sel hepatosit terlihat seperti berbuih.
2 Dilatasi pada ruang Bowman.
3. Dilatasi pada lumen tubulus.
4 Peradangan.
5. Endapan protein dalam lumen tubulus.

Proses absorpsi dan sekresi aktif terjadi pada tubulus proksimalis ini sehingga kadar suatu zat toksik pada tubulus ini lebih tinggi dan menjadikan tubulus sebagai tempat sasaran toksik (Lu 2010). Saat terjadi kerusakan, sel dengan cepat menjadi tidak berfungsi akan tetapi berpotensi kembali pada keadaan normal dengan onset waktu tertentu, sehingga apabila durasi kerusakan karena suatu zat toksik yang lebih lama maka akan terjadi kerusakan *irreversible* atau tidak bisa kembali pada keadaan normal (Kumar et al. 2013).

KESIMPULAN

Produk bandeng cabut duri asap dengan asap cair sekam padi aman dikonsumsi karena tingkat degenerasi sel pada masing-masing organ hewan uji sebesar 25%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Universitas Diponegoro, Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang dan Laboratorium Patologi Anatomi RS. Dr. Kariadi Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan, dr. Meira Dewi Kusuma Astuti, MSi, Med, SpPA dan dr.

Devia Eka Listiana, MSi, Med, SpPA selaku pembimbing dalam pembacaan Histopatologi.

DAFTAR PUSTAKA

- ButsatS and Siriamornpun S. (2010). *Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of thai rice*. Food Chemistry. Volume 119, Issue 2, 15 March 2010 : 606-613.
- Cairns, D. (2004). Intisari Kimia Farmasi Edisi Ke – 2. Terjemahan Rini Maya Puspita, Penerbit Buku Kedokteran Jakarta. Hal : 121 – 130.
- Cheville, N.F. (2006). Introduction to Veterinary Pathology. 3rd ed. Garsington Road (GB) : Blacwell Publishing Ltd.
- Cruz, R., Martins, Z.E., Marques, A., Casal. S., Cunha, S.C. (2018). Smoked Fish Products Available in Smoked fish products available in European markets: Human exposure to polybrominated diphenyl ethers and their metabolites. Food and Chemical Toxicology. DOI : 10.1016/j.fct.2018.09.002.
- Duman, M. and Kuzgun, N.K. (2018). Quality Changes of Nugget Prepared From Fresh and Smoked Rainbow Trout During Chilled Storage. British Food Journal. Vol. 120, No. 9. DOI : 10.1108/BFJ-01-2018-0048
- EFSA. (2012). Scientific Opinion on the Safety and Efficacy of Urea for Ruminants 1 EFSA Panel on Additives and Products or Substances Used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 10 (3) : 1-12. DOI : 10.2903/j.efsa.2012.2624.

- FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. The State of World fisheries and Aquaculture, Rome. P. 227.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2019). Angka Konsumsi Ikan dalam <https://kkp.go.id/infografis-detail/2281-refleksi-kegiatan-kkp-tahun-2018> diakses 16 Oktober 2019.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (2013). Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia (US): Elsevier Saunders.
- Lu, F.C. (2010). Toksikologi Dasar. Ed ke-2. Jakarta (ID): UI-Press.
- Martuscelli, M., Pittia, P., Casamassima, L.M., Manetta, A.C., Lupieri, L., Neri, L. (2009). Effect of intensity of smoking treatment on the free amino acids and biogenic amines occurrence in dry cured ham. Food Chemistry 116. 955 – 962. DOI : 10.1016/j.foodchem.2009.03.061.
- Mitchell RN and Cotran RS. 2007. *Jejas, adaptasi, dan kematian sel*. Dalam : Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (eds). Buku Ajar Patologi Robbins Volume 1. Edisi VII. Jakarta : EGC 3: 7 – 26.
- Prasetyo, D.Y.B., Darmanto, Y.S., Swastawati, F.. (2015). Efek Perbedaan Suhu dan Lama Pengasapan terhadap Kualitas Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forsk) Cabut Duri Asap. Jurnal aplikasi Teknologi Pangan. 4 (3) : 94 – 98.
- Robbins, L.S, Cotran, S.R., Kumar, V. (2004). Buku Ajar Patologi Robbins. Jakarta. EGC. 7 (2) : 1-33.
- Seseray, D.Y., Santoso, B., Lekitoo, M.N. (2013). Produksi Rumpun Gajah (*Pennisetum purpureum*) yang Diberi Pupuk N, P dan K dengan Dosis 0, 50 dan 100% pada Devoliasi Hari ke-45. Ains Peternakan 11 (1) : 49-55. ISSN 1693-8828.
- Swastawati, F., Boesono, H., Susanto, E., Setyastuti, A.I. (2016). Changes of Amino Acids and Quality in Smoked Milkfish [*Chanos chanos* (Forsk 1775)] Processed by Different Redestilation Methods of Corncob Liquid Smoke. Aquatic Procedia. 7 : 100-105.
- Swastawati, F., Darmanto, Y.S., Sya'rani, L., Rahayu, K.K., Anthony Taylor, K.D. (2014). Quality characteristic of smoked skipjack (*Katsuwonus pelamis*) using different liquid smoke. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. Vol. 4 No 2 March 2014. 94 – 99. DOI : 10.7763/IJBBB.2014.V4.318
- Swastawati, F., Eko, S., Bambang, C., Wahyu, A.T. (2012). Sensory Evaluation and Chemical Characteristics of Smoked Stingray (*Dasyatis blekeery*) Processed by Using Two Different Liquid Smoke. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. 2 (3) : 212-216.
- Thompson, L.J. (2014). Overview of Non-Protein Nitrogen Poisoning. The Mercks Veterinary Manual. Merck & Co., Inc. White house station, N.J., U.S.A.
- Yanti, S.E.F., Masrul, M.E., Hannum, H. (2014). Pengaruh Berbagai Dosis Dan Cara Aplikasi Pupuk Urea Terhadap Produksi Tanaman Sawit (*Brassica juncea* L.) Pada Tanah Inceptisol Marelan. Ural Online Agroekoteknologi. 2 (2) : 770-780.