KOMBINASI BUMBU DAN ASAP CAIR DALAM MEMINIMALKAN PEMBENTUKAN HISTAMIN PADA IKAN KEMBUNG PEREMPUAN (*Rastrelliger neglectus*) ASAP

[Combination of Spice and Liquid Smoke in Minimizing Histamine Formation in the Smoked Mackerel (*Rastrelliger neglectus*)]

Meta Mahendradatta dan Abu Bakar Tawali

PS-Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fapertahut, UNHAS, Kampus Unhas Tamalanrea, Makassar 90245, e-mail: metaabu@indosat.net.id

Diterima 20 Agustus 2006 / Disetujui 23 November 2006

ABSTRACT

Four spices (clove, cinnamon, tamarind and ginger) were combined and applied to produce smoked female mackerel. The use of liquid smoke was compared with redistilled liquid smoke. The result showed that there was lower histamine content in smoked fish treated with spices after the use of liquid smoke and redistilled liquid smoke at (1.00 – 1.20mg/100g) compared with the raw material (1.55mg/100g). Histamine content in all treatments increased during storage from 0.96 – 1.13 mg/100g to 6.40 -20.29mg/100g. The phenol content decreased during storage from 2.19% - 2.44% to 0.72% - 0.84%. Using of liquid smoke in combination with spice as well as without spice,resulted in decreasing of the free fatty acid (FFA) content until 20 days of storage then increased, whereas using redistilled liquid smoke, resulted decreased of FFA during 10 days storage before increased.

Total psychrophilic microbe was not detectable at 0 and 10 days storage but then increased at 20 and 30 days storage to $6.5x10^3$ – $10.1x10^3$cfu/ml and $7.5x10^3$ – $15.5x10^3$cfu/ml, respectively. Overall, combination between clove-cinnamon and liquid smoke which was applied to female mackerel showed the best result i.e.: lower histamine content, lower FFA, lower total psychrophilic microbe and lower phenol content than other treatments. The acceptability of smoked fish treated with clove-cinnamon and liquid smoke after 30 days storage showed higher value than other treatments.

Key words: *histamine formation, redistilled liquid smoke, spices, short-bodied mackerel*

PENDAHULUAN

Ikan asap sudah sangat dikenal dan disukai oleh penduduk Indonesia. Fungsi utama dari proses pengasapan adalah untuk memperpanjang masa simpan ikan. Efek pengawetan dari pengasapan terhadap produk ikan disebabkan oleh kombinasi pengeringan permukaan, penggaraman dan pelekatan senyawa fenolik dan antimikroba dari komponen asap (Hall, 1997).

Keracunan histamin yang disebabkan oleh konsumsi ikan yang terkontaminasi histamin sangat dikenal sebagai salah satu insiden keracunan pangan dan dilaporkan sebagai penyebab utama *foodborne disease* (Wendakoon & Sakaguchi, 1995). Kandungan histamin yang tinggi dapat digunakan sebagai indikator proses pengolahan terutama kondisi sanitasinya dan pendinginan. Kualitas produk dapat menurun jika kondisi lingkungan pengolahan dan bahan mentah tidak diawasi. Protein ikan dapat terurai menjadi asam amino yang kemudian mengalami dekarboksilasi secara enzimatis menjadi biogenik amin histamin.

Selama 20 hari penyimpanan ikan kembung perempuan asap yang diolah secara pengasapan panas terjadi peningkatan kandungan histamin dari 5,2 menjadi 7,9mg/100g (Mahendradatta, 2003). Ikan kembung perempuan asap yang dikemas vakum dan disimpan pada suhu dingin selama 20 hari menunjukkan kandungan histamin yang lebih rendah daripada ikan asap yang dikemas secara aerob (Mahendradatta dan Langkong, 2004). Untuk meningkatkan akseptabilitas ikan asap, penggunaan bumbu dapat diterapkan dalam kaitannya dengan upaya meminimalkan pembentukan histamin selama penyimpanan.

Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penerapan kombinasi bumbu dan asap cair terhadap pembentukan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*) asap dan membandingkan penggunaan asap cair dan redistilat asap cair terhadap pembentukan histamin setelah penyimpanan 30 hari pada suhu dingin.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*), garam dapur, bumbu-bumbu yaitu asam, jahe, cengkeh dan kayumanis. Semua bahan diperoleh dari pasar tradisional di Makassar. Asap cair diperoleh dari Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian

(TPHP) Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta. Redistilasi asap cair dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak, Unhas, Makassar.

Bahan kimia yang digunakan adalah histamin dihidroklorid, asam triklor asetat, n-butanol, NaOH, NaCl, n-heptan, HCl, 4-nitrobenzen diazonium tetrafluoroborat. Bahan-bahan kimia tersebut diperoleh dari distributor bahan kimia di Kodya Makassar. Peralatan utama yang digunakan adalah UV-Spectrophotometer 1201 dari Shimadzu.

Pengolahan dan Penyimpanan ikan asap

Ikan kembung perempuan diproses menjadi ikan asap melalui beberapa tahapan yaitu perebusan dengan penambahan garam 10%, pengeringan awal, pencelupan dalam asap cair selama 30 detik, pengeringan akhir, dengan perlakuan-perlakuan sebagai berikut: (a) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan asap cair, (b) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair (c) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair (d) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair (e) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair (f) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Bumbu ditambahkan pada air rebusan. Redistilat asap cair diproses sesuai prosedur Darmadji (2002). Parameter yang diamati adalah kandungan histamin.

Setelah pengeringan akhir**,** Ikan asap dikemas dengan plastik polipropilen pada kondisi vakum dan disimpan pada suhu dingin (5^{o}C) selama 30 hari. Pengamatan dilakukan pada 0, 10, 20 dan 30 hari penyimpanan. Parameter yang diamati meliputi kandungan histamin, asam lemak bebas, total mikroba psikrofil, total fenol dan sifat-sifat organoleptik meliputi kenampakan keseluruhan, aroma, rasa, warna dan tekstur.

Analisis Kandungan histamin

Kandungan histamin dianalisis sesuai prosedur Mahendradatta dan Schwedt (1998). Sebanyak 10 gram sampel dihomogenisasi dengan 25 ml TCA 5% lalu disentrifus selama 10 menit pada 4000 rpm. Ekstrak dituangkan ke dalam labu takar 50ml. Sisa residu dihomogenisasi lagi dengan 25ml TCA 5% dan disentrifus seperti sebelumnya. Ekstrak yang diperoleh dijadikan satu dan ditambah dengan TCA 5% hingga batas tanda pada labu takar lalu difiltrasi. Sebanyak 1ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah berisi 5 ml n-butanol, 0,25 ml NaOH 5 mol/l dan 0,75 g NaCl. Campuran dikocok selama 3 menit dan disentrifus selama 10 menit pada 4000 rpm. Seluruh fase organik kemudian dipindahkan ke tabung sentrifus kedua yang telah berisi 2,5 ml NaOH 0,1 mol/l jenuh NaCl. Setelah dikocok dan disentrifus seperti sebelumnya, sebanyak 4 ml fase organik dipindahkan ke dalam tabung sentrifus ketiga yang berisi 2,5 ml HCl 0,1 mol/l dan 7,5 ml n-heptan. Campuran dikocok lalu disentrifus seperti sebelumnya. Sebanyak 1 ml fase asam dimasukkan ke kuvet dan ditambah dengan 1 ml 4-Nitrobenzol diazonium tetrafluoroborat 0,2% dan 1 ml Na_2CO_3 10%. Setelah dibiarkan bereaksi selama 5 menit, absorbansi diukur dengan UV-Spectrophotometer 1201 dari Shimadzu pada panjang gelombang 470 nm. Data absorbansi diolah menggunakan persamaan regresi dari kurva standar histamin, setelah diperhitungkan dengan faktor koreksi pada tahap preparasi, tahap pemurnian sampel dan pemurnian larutan standar maka dapat ditentukan konsentrasi histamin pada sampel. Analisis dilakukan dengan tiga ulangan.

Parameter mutu lainnya

Asam lemak bebas diukur sesuai prosedur AOAC (1980), total bakteri dan total bakteri psikrofil sesuai prosedur Fardiaz (1989), total fenol sesuai prosedur Anonim (1979).

Parameter sensori

Sampel ikan asap diuji secara sensori meliputi kenampakan secara keseluruhan, aroma, warna, tekstur dan rasa oleh 12 orang panelis menggunakan skala hedonik 1 - 5 (5-sangat suka, 4-suka, 3-biasa-biasa, 2-kurang suka, 1-tidak suka). Sampel dengan nilai lebih dari 3 dianggap akseptabel untuk dikonsumsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama pengolahan

Hasil penelitian yang disajikan pada Gambar 1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan setelah perebusan dalam larutan garam tanpa penambahan bumbu dan dalam larutan garam dengan penambahan asam dan jahe. Sebaliknya histamin menurun setelah perebusan dalam larutan garam dengan penambahan cengkeh dan kayumanis.

Senyawa histamin yang terikat pada daging ikan dengan penambahan cengkeh dan kayumanis kemungkinan dapat menyebabkan lepasnya ikatan tersebut setelah sel rusak oleh perlakuan panas. Seiring dengan meningkatnya kerusakan sel, terbebasnya histamin dari jaringan ikan juga meningkat.

Histamin yang terikat dengan jaringan ikan maupun mikroba dapat lepas akibat kerusakan sel secara mekanik maupun fisik (Fujii et al., 1994). Sepuluh menit perebusan dalam larutan garam dengan penambahan asam dan jahe kemungkinan belum cukup untuk melarutkan histamin pada ikan kembung perempuan ke dalam air rebusan. Shakila et al.,(2003) telah mengamati kandungan histamin pada ikan tuna *yellowfin* yang diolah dengan pengasapan panas dan menemukan bahwa kandungan histamin pada tuna segar sangat rendah, namun meningkat secara bertahap

selama pengolahan dan mencapai 12 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tertundanya tahapan blansir dan pengasapan dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa amin pada tuna *yellowfin* karena beberapa bakteri pembentuk amin yang potensial ada pada tahapan tersebut meskipun kualitas bakteriologis ikan pada awalnya baik.

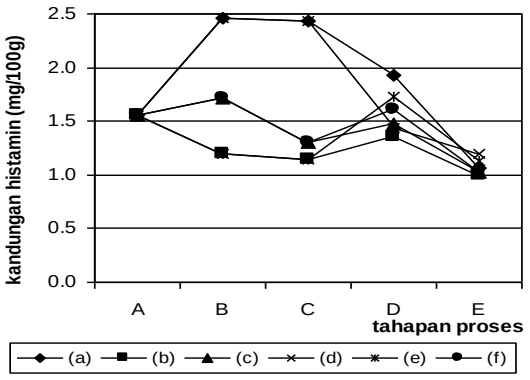
Selama penyimpanan

Ikan kembung perempuan asap selanjutnya disimpan selama 30 hari dengan kemasan plastik polipropilen pada kondisi vakum. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kondisi vakum mampu menghambat pembentukan histamin pada ikan kembung perempuan asap yang diproses dengan asap cair dibandingkan dengan kondisi aerob (Mahendradatta dan Langkong, 2004). Perubahan kandungan histamin selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kandungan histamin selama 30 hari penyimpanan. Peningkatan yang nyata nampak setelah 20 hari penyimpanan. Cengkeh dan kayumanis menunjukkan pengaruh yang baik terhadap penghambatan pembentukan histamin pada ikan kembung perempuan asap yang dilihat dari kandungan histamin yang lebih rendah daripada perlakuan lainnya. Shakila et al. (1996) menemukan bahwa ekstrak cengkeh dan kayumanis efektif menghambat produksi histamin dan aktivitas enzim histidin dekarboksilase (HDC) pada *Morganella morganii*. Ikan asap yang diolah tanpa penambahan bumbu memiliki kandungan histamin yang tinggi. Efek penghambatan dari bumbu terutama disebabkan oleh minyak-minyak esensial sebagai komponen aktif yang diketahui memiliki sifat antibakteri. Senyawa yang banyak terdapat pada kayumanis adalah *cinnamic aldehyde* sedangkan pada cengkeh adalah *eugenol* (Wendakoon & Sakaguchi, 1995). Hal ini sesuai dengan pendapat Pruthi (1980) yang menyatakan bahwa sejumlah komponen minyak esensial tanaman memiliki aktivitas antibakteri, anti tumor dan antioksidan. Gugus fenol dari *eugenol* dan karbonil dari *cinnamic aldehyde* berperan dalam proses tersebut.

Kandungan fenol dari ikan asap yang diproses dengan asap cair lebih tinggi daripada ikan yang diproses dengan redistilat asap cair (Gambar 3) yang disebabkan oleh menurunnya kandungan fenol pada asap cair setelah melalui proses redistilasi. Penurunan ini dapat dipengaruhi oleh penurunan kadar air dan pembentukan asam lemak bebas. Penggunaan redistilat asap cair meningkatkan kadar asam lemak bebas setelah 20 hari sampai 30 hari penyimpanan, sedangkan pada penggunaan asap cair baru terjadi peningkatan pada 30 hari penyimpanan (Gambar 3). Dilaporkan oleh Darmadji (2004) bahwa aktivitas antioksidan dari asap cair mengalami penurunan setelah proses redisitilasi. Sebagai akibatnya, pembentukan asam lemak bebas tidak dapat dihambat selama penyimpanan khususnya pada ikan asap yang diproses dengan redistilat asap cair.

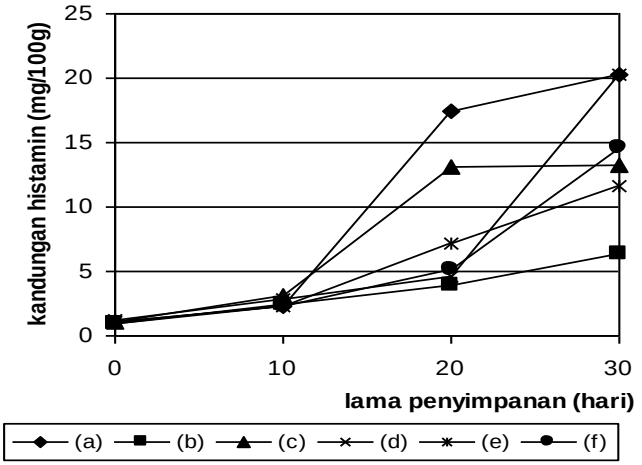
Total mikroba psikrofil tidak terdeteksi sampai 10 hari penyimpanan. Setelah 20 dan 30 hari terjadi peningkatan total mikroba psikrofil yang nyata (Gambar 4). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ikan asap yang diproses dengen cengkeh dan kayumanis dalam kombinasinya dengan asap cair memiliki total mikroba psikrofil yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kombinasi bumbu dan asap cair menunjukkan efek penghambatan yang lebih baik terhadap pertumbuhan mikroba daripada redistilat asap cair. Aktivitas antimikroba redistilat asap cair adalah sebebsar 82% dibandingkan dengan asap cair sebesar 100% (Darmadji, 2004).

Pada pengujian organoleptik diperoleh hasil bahwa ikan kembung perempuan asap memiliki penerimaan terbaik sebelum melalui penyimpanan dan mengalami penurunan setelah penyimpanan (Gambar 5). Secara umum dapat dikatakan bahwa ikan kembung perempuan asap yang diproses dengan kombinasi cengkeh-kayumanis-asap cair dan asam-jahe-asap cair memiliki itngkat penerimaan secara keseluruhan 3,25 dan 3,11 pada 30 hari penyimpanan. Perlakuan lainnya memiliki nilai kurang dari 3. Penggunaan redistilat asap cair dalam kombinasinya dengan bumbu memiliki aroma kuat yang kurang disukai oleh panelis sehingga menurunkan nilai organoleptik ikan asap selama penyimpanan. Menurut Darmadji (2004), aroma redistilat asap cair lebih kuat daripada asap cair yang belum mengalami redistilasi.



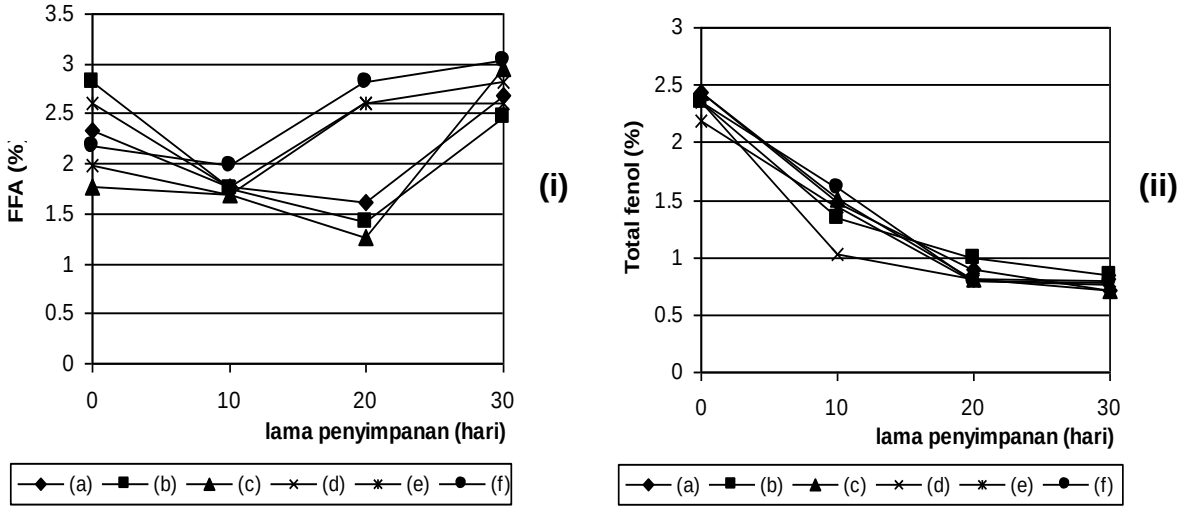
Keterangan:
A. bahan baku
B. setelah perebusan dalam 10% larutan garam
C. setelah pengeringan I
D. setelah pencelupan dalam asap cair atau redistilat asap cair
E. setelah pengeringan II
(a) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan asap cair
(b) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair
(c) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair
(d) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair
(e) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair
(f) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Gambar 1. Perubahan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan selama pengolahan



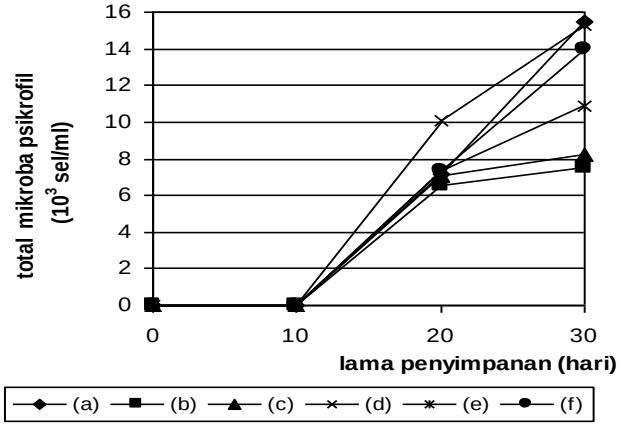
Keterangan:
(a) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair
(b) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair
(c) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair
(d) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair
(e) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Gambar 2. Perubahan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan asap selama penyimpanan



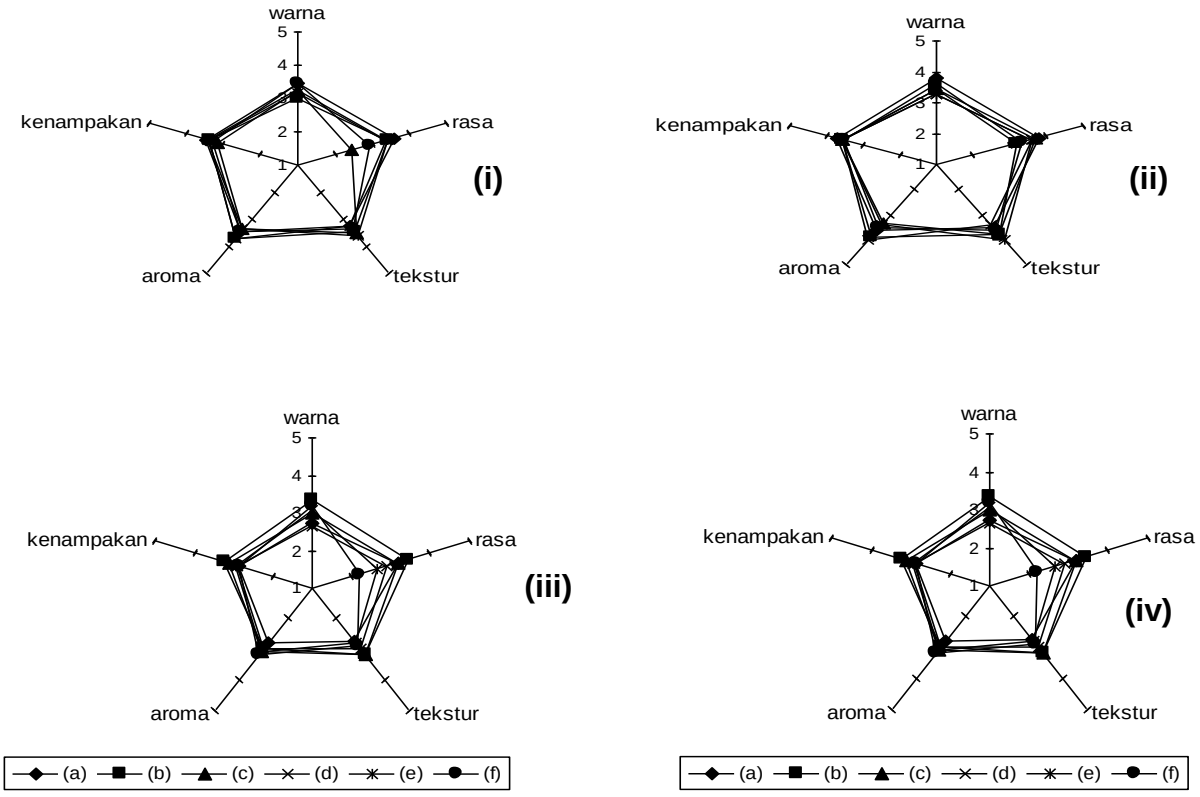
Keterangan:
(a) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan asap cair
(b) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair
(c) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair
(d) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair
(e) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair
(f) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Gambar 3. (i) Asam lemak bebas dan (ii) kandungan fenol pada ikan kembung perempuan asap selama penyimpanan



Keterangan:
(a) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan asap cair
(b) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair
(c) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair
(d) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair
(e) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair
(f) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Gambar 4. Total mikroba psikrofil pada ikan kembung perempuan asap selama penyimpanan



Keterangan:

(a) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan asap cair
(b) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan asap cair
(c) Penambahan asam dan jahe, penggunaan asap cair
(d) Tanpa penambahan bumbu, penggunaan redistilat asap cair
(e) Penambahan cengkeh dan kayumanis, penggunaan redistilat asap cair
(f) Penambahan asam dan jahe, penggunaan redistilat asap cair

Gambar 5. Nilai sensori ikan kembung perempuan asap pada penyimpanan (i) 0 hari, (ii) 10 hari, (iii) 20 hari, (iv) 30 hari

KESIMPULAN

Kombinasi cengkeh-kayumanis dan asap cair menunjukkan pengaruh terbaik dalam meminimalkan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan asap selama penyimpanan Redistilat asap cair memiliki efektivitas yang lebih rendah daripada asap cair dalam meminimalkan pembentukan histamin.

Akseptabilitas ikan kembung perempuan asap menurun selama penyimpanan, namun produk yang diolah dengan kombinasi cengkeh-kayumanis-asap cair dan asam-jahe-asap cair memiliki nilai organoleptik keseluruhan >3.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh the 10th Indonesian Toray Science Foundation (ITSF). Terima kasih kepada penyandang dana tersebut. Juga disampaikan terimakasih kepada Nadirah, STP; Sulastri, STP; Lenny P., STP dan Andi Nurfaidah, STP atas bantuannya di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1979. Farmakope Indonesia, Edisi III (32). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.

AOAC. 1980. Official Methods of Analysis of the AOAC. 13th edition, Washington DC.

Darmadji, P. 2002. Optimasi Pemurnian Asap Cair dengan Metoda Redistilasi. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol XIII no.3.

Darmadji, P. 2004. Benzopyrene of liquid smoke from coconut shell during purification and production of powder smoke. In: the 4th Asian Conference on Food and Nutrition Safety, Bali, 2nd-5th March 2004, Conference Highlights.

Fardiaz, S., 1989. Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.

Fujii, T., Kurihara, K. and Okuzumi, M. 1994. Viability and histidine decarboxylase activity of halophillic histamine-forming bacteria during frozen storage. J. of Food Prot. 57: 611 – 613.

Hall, G.M. 1997. Fish Processing Technology, 2nd ed., Blackie Academic & Professional, London.

Mahendradatta, M. and Schwedt, G. 1998. Sample preparation for photometric determination of histamine in foodstuffs compared with capillary electrophoresis. Z. Lebensm Unters Forsch. A 206: 246 – 250.

Mahendradatta, M. 2003. The change of histamine content during processing and storage of some fish-based foods. Indonesian Food and Nutrition Progress 10 (1): 54 – 61.

Mahendradatta, M. dan Langkong, J. 2004. Pengaruh perbedaan teknik Pengasapan terhadap perubahan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*) asap selama penyimpanan dingin, Makalah Seminar Hasil Penelitian Dasar, DIKTI, Jakarta 12 – 14 Juli 2004.

Pruthi, J.S. 1980. Spice and Condiments: Chemistry, Microbiology, Technology, pp 17 – 68. Academic Press, New York.

Shakila, R.J., Vasundhara T.S. dan Rao, D.V. 1996. Inhibitory effect of spices on in vitro histamine production and histidine decarboxylase activity of *Morganella morganii* and on the biogenic amine formation in mackerel stored at 30oC. Z.Lebensm Unters Forsch. 203: 71 – 76.

Shakila, R.J., Vijayalakshmi K. and Jeyasekaran, G. 2003. Change in amine forming bacteria and histamine in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) through the smoking process. J. of Aquatic Food Prod. Tech. 12 (3): 43 – 56.

Wendakoon, C.N. and Sakaguchi, M. 1995. Inhibiton of amino acid decarboxyalse activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. J. of Food Prot. 58 (3): 280 – 283.