

IDENTIFIKASI KADAR HISTAMIN DAN BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN DARI PINDANG BADENG TONGKOL

Identification on Histamine Content and Histamin-Forming Bacteria of Boiled Badeng Slender Tuna

Yulian Syalviana Fatuni*, Ruddy Suwandi, Agoes Mardiono Jacob

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251)8622907

*Korespondensi: yuliansyalviana@yahoo.co.id

Diterima 05 Juni 2014/Disetujui 15 Agustus 2014

Abstrak

Pindang diklasifikasikan sebagai produk olahan setengah awet karena pada umumnya daya awet ikan pindang relatif singkat. Pembentukan histamin yang cepat akibat kegiatan enzim dan bakteri yang terdapat pada ikan tersebut menjadikan ikan lebih cepat busuk dan daya simpan ikan akan lebih singkat, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai identifikasi kadar histamin pada bakteri hasil olahan pindang bandeng tongkol (*Auxis rochei*). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis histamin dan bakteri pembentuk histamin pada olahan ikan pindang tongkol (*A. rochei*). Ikan tongkol segar diperoleh dari hasil penangkapan kapal satu hari melaut dengan alat mini *purse seine* di TPI Cisolak Palabuhanratu. Ikan tongkol dibawa ke tempat pengolahan menggunakan *coolbox* dan diolah menjadi pindang badeng dengan taburan garam 20% dan perebusan selama 8 jam. Pindang tongkol yang dihasilkan disimpan pada suhu kamar dengan penyimpanan sampel pada jam ke 0,8,16,24 dan 32 jam. Pengamatan sampel dilakukan secara kimiawi (histamin dan TVB) dan mikrobiologi (TPC, identifikasi bakteri, kadar histamin pada bakteri). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan ikan pindang dapat mengaktifkan kembali produksi kadar histamin dimana menunjukkan nilai berbeda nyata selama 32 jam proses penyimpanan. Nilai TVB dan TPC juga meningkat selama proses penyimpanan pada pindang ikan tongkol (*A. rochei*). Teridentifikasi 6 jenis bakteri pembentuk histamin yang terdapat pada pindang ikan tongkol (*A. rochei*) yaitu *P. vulgaris*, *H. alvei*, *M. Morganii*, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*. Hasil uji aktifitas pembentukan histamin bakteri menunjukkan bahwa *K. pneumoniae* mempunyai kemampuan membentuk bakteri tertinggi sedangkan pembentukan histamin terendah yaitu *H. alvei*.

Kata kunci: Histamin, bakteri, pindang ikan tongkol (*Auxis rochei*)

Abstract

Pindang is a semi-dried product which relatively short lasting products. Due to the rapid formation of histamine and bacterial enzyme activities contained in the fish, it is necessary to study and identify the histamine levels either on fresh tuna or in its pindang. This study aims to analyze histamine and histamine-forming bacteria in processed pindang tuna (*A. rochei*). Fresh tuna (*A. rochei*) was obtained from TPI Cisolak Palabuhanratu. The fish was processed according to pindang badeng method (20% salt added, boiled for 8 hours). The product then stored at room temperature and observed for 0,8,16,24 and 32 hours. Analysis were conducted through chemical (histamine and TVB) and microbiological test (TPC, identification of bacteria, histamine levels in bacteria). The results showed that the stored pindang for 32 hours can reactivate the production of histamine and increase their levels significantly. This is consistent with the increase on the value of TVB and TPC in pindang products. Six types of histamine-forming bacteria found on pindang tuna that are *P. vulgaris*, *H. alvei*, *M. Morganii*, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*. Activity test results showed that *K. pneumoniae* and *H. alvei* form the highest and the lowest levels of histamine formation respectively.

Keywords: Histamine, bacterial, boiled tuna (*Auxis rochei*)

PENDAHULUAN

Pindang diklasifikasikan sebagai produk olahan setengah awet karena pada umumnya daya awet ikan pindang relatif singkat. Kebusukan ikan yang disebabkan oleh aktivitas mikroba dan enzim di dalam tubuh ikan menghasilkan senyawa biogenik amin, yang terbentuk dari proses dekarboksilase asam amino bebas. Senyawa-senyawa biogenik amin tersebut antara lain histamin, kadaverin, putresin, tiramin, triptamin, spermin dan spermidin yang berasal dari asam amino bebas berupa histidin, ornitin, lisin, tirosin, triptofan dan arginin (Visciano *et al.* 2012).

Histamin terbentuk dari proses dekarboksilase histidin bebas oleh bakteri, antara lain *Proteus*, *Havnia*, *Morganella* dan *Klebsiella* terutama pada jenis ikan yang berasal dari Famili Scombroideae (Ariyani *et al.* 2004). Jenis-jenis bakteri penghasil histamin antara lain: *Raoultella terrigena*, *Microbacterium testaceum*, *Enterobacter* spp, *Brevibacterium* spp, *Micrococcus diversus*, *Staphylococcus* spp dan *Morganella morgani* (Mangunwardoyo 2007). Menurut Mavromatis *et al.* (2002), bakteri yang mampu mengubah warna media pembentuk histamin adalah *Klebsiella*, *Havnia* dan *Morganella*.

Masalah yang terjadi di masyarakat pada umumnya adalah menjual ikan pindang di pasar dalam keadaan terbuka sehingga mudah tercemar oleh mikroorganisme yang dapat menyebabkan kebusukan. Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan pindang bukan bahan baku yang bermutu prima tetapi bahan baku yang tidak terlalu segar lagi. Banyaknya ikan pindang yang dijual sudah berlendir permukaannya, bahkan sudah membusuk bagian dalamnya serta penggunaan wadah dapat juga menurunkan kualitas ikan pindang bahkan dapat menyebabkan penyakit (Indriati *et al.* 2006).

Kondisi penanganan dan pengolahan ikan yang demikian mengakibatkan mutu dan kualitas olahan ikan pindang menjadi rendah. Pembentukan histamin yang cepat akibat proses penanganan saat penangkapan sehingga

kegiatan enzim dan bakteri yang terdapat pada ikan tersebut menjadikan ikan lebih cepat busuk dan daya simpan ikan akan lebih singkat. Suhu pertumbuhan untuk sebagian besar bakteri berkisar 10-20°C (FDA 2011).

Teknik pemindangan yang diterapkan secara komersial di lapangan dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu pemindangan garam dan pemindangan air garam. Pemindangan garam di Jawa Barat dikenal dengan istilah pindang badeng (badeng) dan pemindangan air garam dikenal dengan istilah pindang naya (cue). Penelitian ini menggunakan cara pemindangan badeng yaitu pemindangan yang dilakukan dengan cara lapisan ikan yang telah digarami dengan garam kering disusun berlapis-lapis di dalam wadah yang terbuat dari pelat logam (badeng) (Nitibaskara 1991).

Penelitian mengenai histamin pada ikan atau mengenai ikan pindang telah banyak dilakukan oleh peneliti terdahulu misalnya studi perubahan kadar histamin pada pindang tongkol selama penyimpanan (Ariyani *et al.* 2004), mempelajari reduksi kadar histamin dalam pembuatan pindang (Ayu 1993) dan analisis bakteri histamin pada ikan tongkol di perairan pasienan tigo kato tengah padang sumatera barat (Romi 2012), namun demikian penelitian mengenai histamin dan bakteri pembentuk histamin pada olahan ikan tongkol jenis *A. rochei* masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis histamin dan bakteri pembentuk histamin pada olahan ikan pindang tongkol (*A. rochei*).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku penelitian adalah ikan tongkol segar (*A. rochei*) dengan panjang 25–30cm dan berat 150–170g per ekor yang diperoleh dari hasil penangkapan kapal satu hari melaut dengan alat mini purse seine di Palabuhanratu, Jawa Barat. Bahan-bahan lainnya adalah metanol, resin penukar ion (dowex 1-x800-100-mesh), akuades, HCl,

NaOH, H₃PO₄, ortoaptaltdikarboksilaldehide (OPT), larutan TCA, asam borat, K₂CO₃, vaseline, indikator conway, larutan Butterfield's Phospate Buffered, Plate Count Agar (PCA), Media niven (0,5% trypton, 0,5% yeast ekstrak, 1% L-histidin, 0,1% CaCO₃, 0,5% NaCl, 2% agar, 0,0018% phenol red. Alat yang digunakan untuk analisis histamin adalah spektrofotometer tipe Varian Cary Eclipse FL0811M007, analisis TVB adalah metode conway, *Total Plate Count* (TPC) dan analisis bakteri penghasil histamin dengan media Niven adalah laminar, inkubator Dumedpower tipe DIC-104-S, autoklaf GEA/SMIC Tipe LSB 35 L.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pengolahan ikan pindang badeng (menyusun ikan di dalam wadah yang terbuat dari pelat logam (badeng) dan menaburkan garam kering pada setiap lapisan ikan kemudian melakukan perebusan) dan melakukan penyimpanan yang berbeda serta melakukan pengujian secara organoleptik, TVB, histamin, TPC dan identifikasi bakteri-bakteri pembentuk histamin serta menentukan kadar histamin dari bakteri tersebut.

Analisis Data

Data hasil analisis kadar histamin, TVB, TPC, dan jumlah bakteri pembentuk

histamin dianalisis menggunakan program Microsoft Excel 2007 dan SPSS. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu waktu pengamatan penyimpanan yang terdiri dari 5 taraf 0 jam, 8 jam, 16 jam, 24 jam dan 32 jam (Steel dan Torrie 1993).

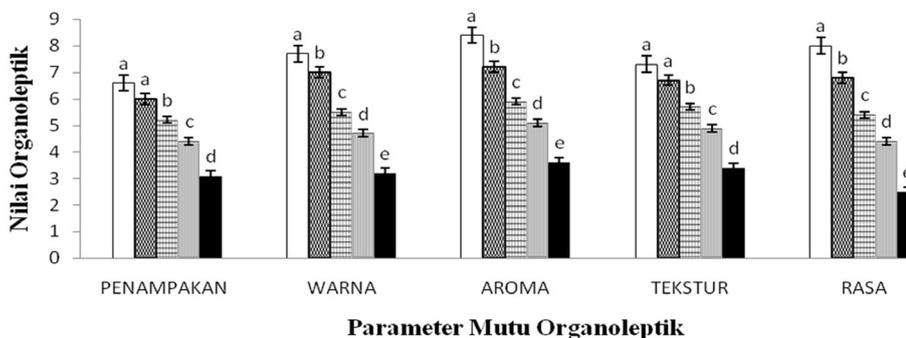
HASIL DAN PEMBAHASAN

Mutu Organoleptik

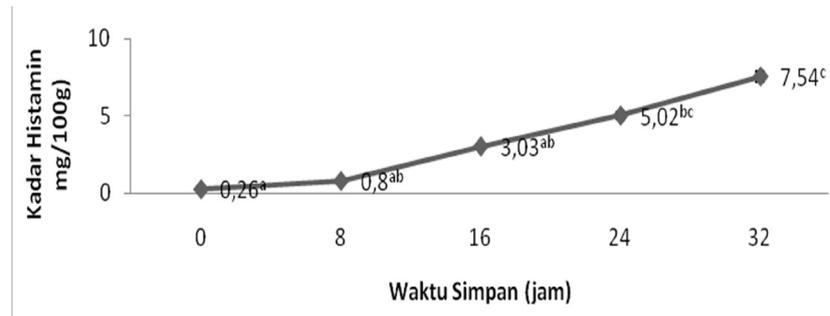
Hasil analisis menunjukkan bahwa lama penyimpanan ikan pindang tongkol mengakibatkan perubahan nilai penerimaan. Hasil menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada parameter penampakan, warna, aroma, tekstur dan rasa akan tetapi menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata pada parameter penampakan dan tekstur pada jam ke-0 dan jam ke-8. Menurut Ariyani *et al.* (2007), ikan kukus pada penyimpanan jam ke-12 nilai penerimaan konsumen masih di atas nilai 5 tetapi menurun setelah penyimpanan 24 jam hingga nilai penerimaan dibawah 5. Suliantari *et al.* (1994) menjelaskan bahwa olahan ikan yang disimpan selama 24 jam telah memungkinkan tumbuh jamur. Mutu organoleptik selama penyimpanan dicantumkan dalam Gambar 1.

Kadar Histamin

Hasil Anova menunjukkan bahwa waktu penyimpanan jam ke-0 berpengaruh



Gambar 1 Organoleptik ikan pindang terhadap lama penyimpanan yang berbeda. Huruf yang sama pada setiap tahap perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$). □ Penyimpanan jam ke-0; ▨ Penyimpanan jam ke-8; ▩ Penyimpanan jam ke-16; ▪ Penyimpanan jam ke-24; ■ Penyimpanan jam ke-32.

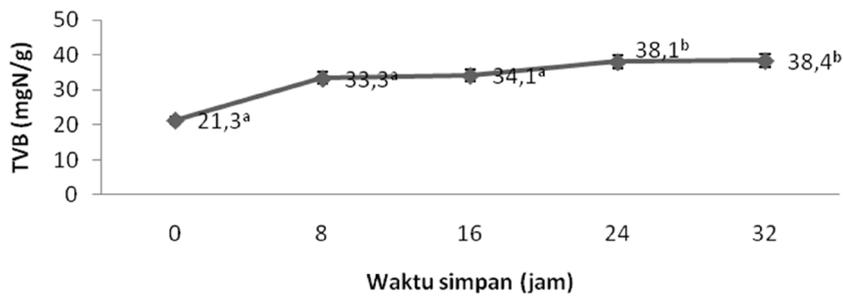


Gambar 2 Kadar histamin ikan pindang terhadap lama penyimpanan yang berbeda. Huruf yang sama pada setiap tahap perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$).

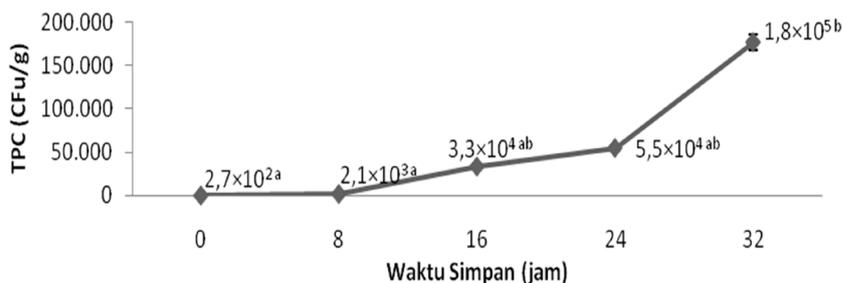
terhadap peningkatan kadar histamin pada penyimpanan jam ke-32. Pembentukan histamin terjadi dengan sangat cepat pada penyimpanan suhu 30°C, yakni naik hingga 7,54 mg/100g setelah penyimpanan selama 32 jam. FDA (2011) menetapkan batas suhu kritis pembentukan histamin pada pusat ikan, yakni 4,4°C sedangkan Uni Eropa menentukan suhu pusat ikan tuna, yakni suhu lebur es sekitar 0-2°C. Indonesia menetapkan suhu pusat ikan tuna sebesar 4,4°C (BSN 2006). Perubahan kadar histamin selama penyimpanan dapat dilihat dalam Gambar 2.

TVB (Total Volatile Base)

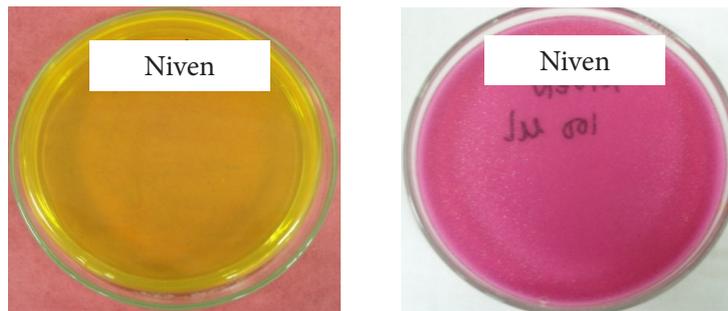
Hasil Anova menunjukkan bahwa adanya perbedaan nyata pada penyimpanan 0 jam sampai 16 jam terhadap penyimpanan 24 jam dan 32 jam. Menurut Ariyani *et al.* (2004) menyatakan bahwa semakin lama proses penyimpanan maka kadar TVB akan meningkat disebabkan oleh degradasi protein dan mikroba pembusuk yang menghasilkan basa-basa nitrogen yang mudah menguap. Perubahan TVB selama penyimpanan dapat dilihat dalam Gambar 3.



Gambar 3 Kadar TVB ikan pindang terhadap lama penyimpanan yang berbeda. Huruf yang sama pada setiap tahap perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$).



Gambar 4 Total mikroba (TPC) ikan pindang dengan lama penyimpanan yang berbeda. Huruf yang sama pada setiap tahap perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$).



Gambar 5 Perubahan warna medium dari kuning menjadi merah jambu pada medium Niventermodifikasi oleh koloni bakteri pembentuk histamin A (tanpa bakteri) B (bakteri telah tumbuh)

TPC (Total Plate Count)

Hasil Anova pada penyimpanan jam ke-32 menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap jam ke-0 dan jam ke-8. Menurut Suliantari *et al.* (1994), umumnya pindang merupakan produk yang sangat cepat membusuk terutama menghadapi masalah bakteri dan jamur yang pertumbuhannya sangat cepat. Pertumbuhan bakteri pembentuk histamin berlangsung lebih cepat pada temperatur yang tinggi (21,1°C) dan temperatur rendah (7,2°C) (FDA 2011).

Perubahan TPC selama penyimpanan dicantumkan dalam Gambar 4.

Identifikasi Bakteri Pembentuk Histamin

Hasil identifikasi awal menunjukkan bahwa semua bakteri yang diuji mempunyai kemampuan membentuk histamin, hal tersebut dapat diketahui dari perubahan warna medium Niven dari warna kuning menjadi merah jambu atau pink sebagaimana tercantum pada Gambar 5.

Perubahan warna diakibatkan oleh

Tabel 1 Hasil identifikasi bakteri pembentuk histamin

Pengamatan	<i>H. alvei</i>	<i>M. morganii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. aerogenes</i>
Bentuk koloni	Bundar	Bundar	Tidak Teratur	Tidak Teratur	Kecil berantai	Tidak teratur
Warna Koloni	Krem	Putih dan buram	Merah muda	Merah muda	Putih buram	Merah muda
Permukaan Koloni	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus
Bentuk Sel	Bulat	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Gram	-	-	-	-	-	-
Glukosa	+	+	+	+	+	+
Laktosa	-	D	+	+	-	+
Manitol	+	-	+	+	+	+
Maltosa	+	-	+	+	+	+
Sukrosa	+	-	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	+	-
Motilitas	-	+	-	+	+	-
Indiol	-	+	-	+	+	-
Sitrat	+	-	+	+	+	+

Tabel 2 Kadar histamin bakteri pindang ikan tongkol (*A. rochei*)

Nama Bakteri	Kadar Histamin (mg/100mL)
<i>P. vulgaris</i>	96
<i>H. alvei</i>	78
<i>M.morganii</i>	100,6
<i>E.aerogenes</i>	91
<i>K.oxytoca</i>	115,6
<i>K. pneumoniae</i>	132

bakteri pembentuk histamin pada medium Niven termodifikasi yang dapat dijadikan sebagai acuan identifikasi awal pada bakteri pembentuk histamin. Menurut Mangunwardoyo (2007), histamin yang terbentuk pada medium Niven termodifikasi dapat meningkatkan pH medium, sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah jambu/pink dengan adanya indikator fenol merah.

Hasil penelitian ini menunjukkan dari 24 isolat diperoleh 6 jenis bakteri pembentuk histamin yaitu *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Hafnia alvei*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* dan *Enterobacter aerogenes*. Identifikasi bakteri ini dilakukan secara konservatif melalui panduan dua buku, *Bergey's Manual dan Manual for the identification*. Hasil identifikasi bakteri di cantumkan pada Tabel 1.

Kadar Histamin Bakteri Pembentuk Histamin

Hasil pengujian kadar histamin yang diproduksi ke enam bakteri pada medium termodifikasi menggunakan fenol red ditunjukkan pada Tabel 2 Kadar histamin terendah pada bakteri dari isolasi ikan pindang tongkol (*A. rochei*) yaitu *Hafnia alvei* (78 mg/100mL) sedangkan produksi kadar histamin tertinggi terdapat pada *Klebsiella pneumoniae* (132 mg/100mL). Menurut Kung *et al.* (2009), *Hafnia alvei* diidentifikasi sebagai pembentuk histamin yang lemah. Butler *et al.* (2010) menjelaskan bahwa histamin dihasilkan oleh berbagai jenis

bakteri, penghasil utama histamin adalah bakteri gram negatif mesofil, yakni *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* yang dapat menghasilkan lebih dari 1000 ppm. Tsai *et al.* (2007) menjelaskan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* dan *Enterobacter aerogenes* termasuk penghasil histamin yang paling banyak sedangkan *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* dan *Clostridium freundii* menghasilkan histamin lebih rendah.

KESIMPULAN

Pembentukan histamin pada masing-masing parameter waktu penyimpanan yaitu 0 jam (0,26 mg/100g), 8 jam (0,8 mg/100g), 16 jam (3,03 mg/100g), 24 jam (5,02 mg/100g) dan 32 jam (7,54 mg/100g). Bakteri-bakteri pembentuk histamin pada pindang ikan tongkol (*A. rochei*) yaitu *P. vulgaris*, *H. alvei*, *M. Morganii*, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani F., Yulianti., Martati, T. 2004. Studi Perubahan Kadar Histamin pada Pindang Tongkol (*Euthynnus affinis*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 10(3):35-46.
- Ariyani F., Murtini J.T, Indriati N, Dwiwitno, Yenni. Y. 2007. Penggunaan Glyroxyl untuk menghambat penurunan mutu ikan mas (*Cyprinus carpio*) segar. *Journal Fish Sci* 9(1):125-133.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006. SNI: 01-2729-2006. Ikan Segar-Bagian 1: Spesifikasi. Jakarta :BSN.
- Butler KB, Bolton GE, Jaykus LA, Green

- PDM, Green DP. 2010. Development of molecular-based methods for determination of high histamine producing bacteria in fish. *International Journal of Food Microbiology* 139(3):161-167.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2011. Scombrototoxin (histamin) formation. Fish and Fishery Products Hazards and Control Guide. Washington: Department of Health and Human Service, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 113.
- Indriati N, Rispayeni, Heruwati E.S. 2006. Studi bakteri pembentuk histamin pada Ikan kembung peda selama proses pengolahan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2):117-124.
- Kung H.F, Wang T.Y, Huang Y.R, Lin C.S, Wu S.W, Lin C.M, Tsai Y.H. 2009. Isolation and identification of histamine-forming bacteria in tuna sandwiches. *Journal Food Control* 20(3):1013-1017.
- Mangunwardoyo, W. 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim L-Histidin Decarboksilase dari Bakteri Pembentuk Histamin. *Journal Makara Sains*. 11(2):104-109.
- Mavromatis P, Quantick PC. 2002. Modification of niven's medium for the enumeration of histamine-forming bacteria and discussion of the parameters associated with its use. *Journal Food Protein* 65(3):51-546.
- Nitibaskara RR, Motohiro T. 1991. Bacterial isolates from pindang and the antibacterial effect of protamine on them. *Indonesian Journal Agriculture* 3(1): 8-11.
- Niven CF, Jeffrey MB, Corlett DA. 1981. Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology Journal* 41(1):321-322.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi kedua. B. Sumantri, penerjemah. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Suliantari, Sutrisno K, IA Irastina D. 1994. Mempelajari metode reduksi kadar histamin dalam pembuatan ikan pindang tongkol (*Euthynus affinis*). *Teknologi dan Industri Pangan* 5(3):44-49.
- Tsai YH, Chueh YL, Liang TC, Tsong ML, Cheng IW, Deng FH. 2007. Histamine contents of fermented products in Taiwan and isolation of histamine forming bacteria. *Journal Food Chemistry* 98(1): 64-70.
- Visciano P, Schirone M, Tofalo R, Suzzi G., 2012. Biogenik amines in raw and processed seafood. *Journal Microbiology* 3(188):1-10.