

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Pengamatan

Hasil analisa kadar histamin pada histidin murni yang telah diberi metabolit dari bakteri *Bacillus* sp, *Enterobacter* sp dan *Planococcus* sp yang diaerasi dengan waktu 6, 12, 18 dan 24 jam dengan menggunakan metode spektrofotometri sesuai dengan SNI 01-2354.10-2009 dengan panjang gelombang exitasi : 350 nm dan emisi : 444 nm.

**Tabel 4.** Kandungan Histamin dari Penguraian Histidin

No	Kode Sampel	Perlakuan											
		6 Jam (mg/kg)			12 Jam (mg/kg)			18 Jam (mg/kg)			24 Jam (mg/kg)		
		Data			Data			Data			Data		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Kontrol	0,05											
1	P1	1,04	0,80	0,80	5,37	5,83	5,83	5,45	5,82	5,82	6,20	6,43	6,43
2	P2	6,13	6,88	6,88	0,02	0,05	0,05	7,31	7,52	7,52	2,37	2,26	2,26
3	P3	3,14	3,08	3,08	2,59	3,53	3,53	3,29	3,65	3,65	26,72	26,75	26,75

**Keterangan :**

- P1 = Metabolit bakteri *Bacillus* sp
- P2 = Metabolit bakteri *Enterobacter* sp
- P3 = metabolit bakteri *Planococcus* sp

Tabel 5. Hasil Penelitian

Perlakuan		Ulangan (mg/kg histamin)		
Bakteri 0,4 % (P)	Lama Aerasi (jam) (R)	1	2	3
P1	R1	1,04	0,80	0,80
	R2	5,37	5,83	5,83
	R3	5,45	5,82	5,82
	R4	6,20	6,43	6,43
P2	R1	6,13	6,88	6,88
	R2	0,02	0,05	0,05
	R3	7,31	7,52	7,52
	R4	2,37	2,26	2,26
P3	R1	3,14	3,08	3,08
	R2	2,59	3,53	3,53
	R3	3,29	3,65	3,65
	R4	26,72	26,75	26,75

Keterangan :

A1R1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan bakteri *Bacillus* sp.

A1R2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan bakteri *Bacillus* sp.

A1R3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan bakteri *Bacillus* sp.

A1R4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan bakteri *Bacillus* sp.

A2R1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan bakteri *Enterobacter* sp.

A2R2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan bakteri *Enterobacter* sp.

A2R3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan bakteri *Enterobacter* sp.

A2R4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan bakteri *Enterobacter* sp.

A3R1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan bakteri *Planococcus* sp.

A3R2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan bakteri *Planococcus* sp.

A3R3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan bakteri *Planococcus* sp.

A3R4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan bakteri *Planococcus* sp.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Analisa Uji Histamin

Histamin merupakan senyawa amin yang dihasilkan dari proses dekarboksilasi histidin bebas ( $\alpha$ -amina- $\beta$ -inidosal asam propionat). Proses pembentukan histamin pada ikan sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim *L-Histidine Decarboxylase* (HDC) (Wibowo, 2007).

Untuk pengujian histamin berdasarkan oleh SNI (2009), yang dilaksanakan di Balai Laboratorium Pengujian dan Pengawasan Mutu Hasil Perikanan Surabaya. Pengujian histamin ini menggunakan metode spektrofotometri, karena dengan metode ini hasilnya lebih cepat dan ekonomis. Metode spektrofotometri ini mempunyai prinsip mengekstrak kadar histamin dari sampel contoh dengan menggunakan metanol, sekaligus mengkonversinya kedalam bentuk OH, selanjutnya zat-zat histamin tersebut dimurnikan menggunakan resin penukar ion dan diubah kebentuk derivatnya dengan senyawa OPT, lalu diukur besar *fluororesensi* histamin secara fluorometri pada panjang gelombang exitasi 350 nm dan emisi 444 nm.

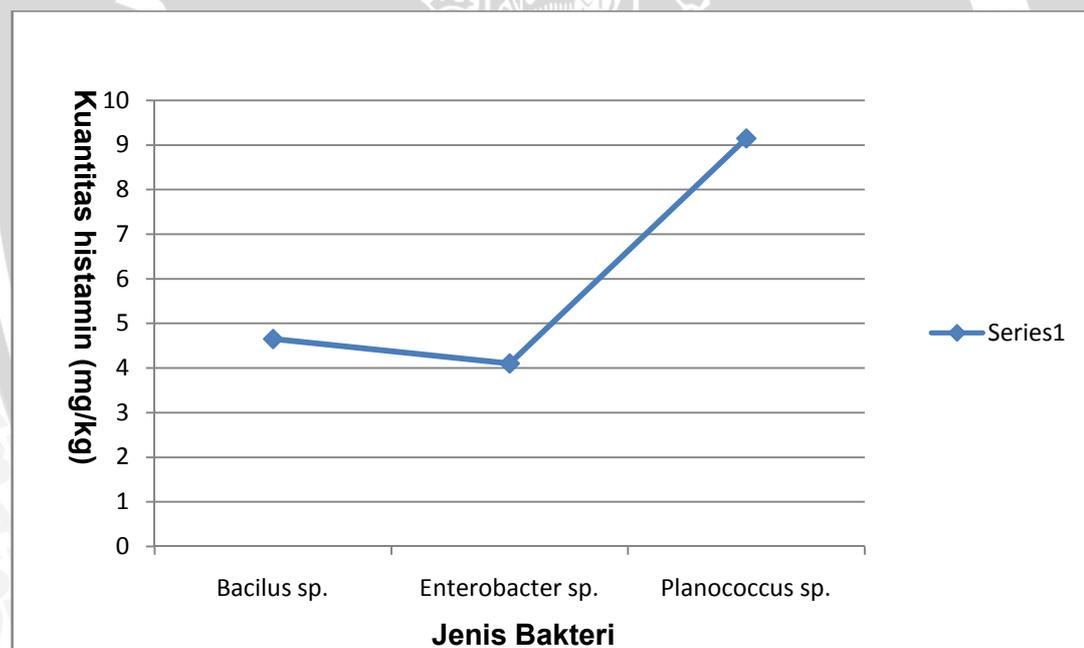
Berdasarkan pengujian histamin pada Tabel 4 menggunakan metode spektrofotometri secara kuantitatif, yaitu 0,9 gr histidin murni yang dilarutkan dengan 1,8 liter aquabidestilata dengan penambahan metabolit bakteri *Bacillus* sp, *Enterobacter* sp, *Planococcus* sp yang diberi perlakuan yaitu diaerasi dengan waktu 6, 12, 18, dan 24 jam. Diperoleh hasil untuk bakteri *Bacillus* sp pada perlakuan 6 jam pertama memiliki nilai 1,04 mg/kg, pada perlakuan 12 jam 5,37 mg/kg, perlakuan 18 jam 5,45 mg/kg dan pada perlakuan 24 jam memiliki nilai sebesar 6,20 mg/kg. Sedangkan untuk data ke 2 didapatkan hasil kadar histamin untuk perlakuan 6 jam pertama 0,80 mg/kg, pada perlakuan 12 jam didapatkan hasil 5,83 mg/kg dan pada perlakuan 24 jam memiliki nilai sebesar 6,43 mg/kg. Dan untuk data yang ketiga memiliki nilai yang sama dengan data

yang kedua, dari ketiga data tersebut hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda. Dari hasil ini bakteri *Bacillus* sp dalam menguraikan histidin menjadi histamin memiliki nilai yang cenderung naik selama 24 jam dan memiliki nilai maksimal 6,43 mg/kg. Untuk metabolit bakteri *Enterobacter* sp pada perlakuan 6 jam memiliki nilai sebesar 6,13 mg/kg, untuk perlakuan 12 jam memiliki nilai sebesar 0,02 mg/kg, sedangkan dengan perlakuan 18 jam memiliki nilai sebesar 7,31 mg/kg. Dan perlakuan yang terakhir dengan waktu 24 jam memiliki nilai sebesar 2,37 mg/kg. Sedangkan untuk hasil kadar histamin pada data kedua pada perlakuan 6 jam memiliki nilai sebesar 6,88 mg/kg sedangkan untuk perlakuan 12 jam memiliki nilai sebesar 0,05 mg/kg, untuk perlakuan 18 jam memiliki nilai sebesar 7,52 mg/kg dan untuk perlakuan 24 jam memiliki nilai sebesar 2,26 mg/kg. Dari hasil ini bakteri *Enterobacter* sp dalam menguraikan histidin menjadi histamin mengalami penurunan pada waktu 12 dan 24 jam dan mengalami kenaikan pada waktu 6 dan 18 jam, dengan hasil maksimal adalah 7,52 mg/kg. Sedangkan untuk data ketiga memiliki nilai sama dengan data kedua, dari ketiga data tersebut kadar histamin memiliki nilai yang tidak jauh berbeda. Untuk bakteri *Planococcus* sp pada perlakuan 6 jam memiliki nilai sebesar 3,14 mg/kg, pada perlakuan 12 jam memiliki nilai sebesar 2,59 mg/kg, sedangkan pada perlakuan 18 jam memiliki nilai sebesar 3,29 mg/kg dan pada perlakuan yang terakhir dengan waktu 24 jam memiliki nilai sebesar 26,72 mg/kg. Dari hasil data kedua memiliki kandungan histamin sebesar 3,08 mg/kg untuk perlakuan 6 jam. Sedangkan untuk perlakuan 12 jam memiliki nilai sebesar 3,53 mg/kg, untuk perlakuan 18 jam memiliki nilai sebesar 3,65 mg/kg dan untuk perlakuan 24 jam memiliki nilai sebesar 26,75. Pada data ketiga memiliki nilai yang sama dengan data kedua dari ketiga data tersebut memiliki perbedaan nilai yang tidak jauh berbeda. Dari hasil ini bakteri *Planococcus* sp dalam menguraikan histidin menjadi histamin memiliki nilai yang cenderung naik selama 24 jam dan memiliki

nilai maksimal 26,75 mg/kg. Produksi histamin tidak selalu berkorelasi dengan besarnya jumlah bakteri penghasil histamin, tetapi lebih berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut mensintesis histidin dekarboksilase (Bennour *et al*, 1991). Ditambahkan oleh Fletcher *et al.*, (1998), yang menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan yang konsisten antara jumlah bakteri penghasil histamin dengan kadar histamin yang dihasilkan pada beberapa sampel ikan asap dipasar ikan Auckland.

#### 4.2.2 Pengaruh Penambahan Metabolit Bakteri Terhadap Kadar Histamin

Pengaruh penambahan bakteri terhadap kadar histamin yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar di bawah ini :



**Gambar 22.** Grafik pengaruh jenis bakteri terhadap kadar histamin

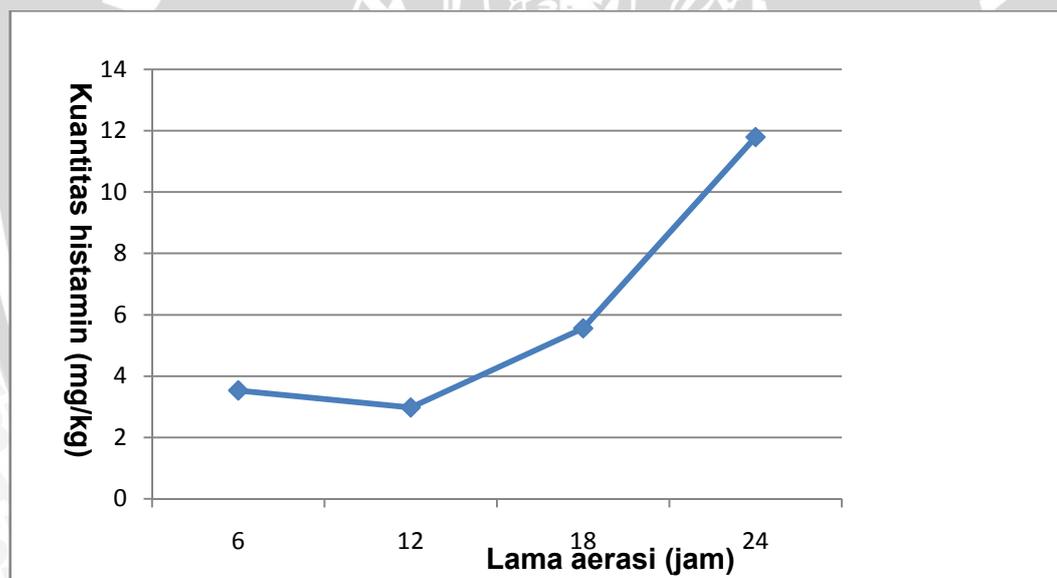
Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan tingkat kemampuan antara metabolit bakteri yang satu dengan yang lain untuk menguraikan histidin murni menjadi histamin. Dari grafik di atas metabolit bakteri *Planococcus sp* memiliki kemampuan yang maksimal untuk menguraikan histidin murni menjadi

histamin. Sedangkan untuk metabolit bakteri yang menghasilkan histamin terendah adalah *Enterobacter* sp. Dari hasil diatas metabolit bakteri *Planococcus* sp, *Bacillus* sp dan *Enterobacter* sp mampu menguraikan histidin menjadi histamin.

Bakteri penghasil histamin adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim histidin dekarboksilase, suatu enzim yang diperlukan dalam proses dekarboksilasi, perubahan dari histidin menjadi histamine (Indriati *et al.*, 2006).

#### 4.2.3 Pengaruh Lama Aerasi Terhadap Kadar Histamin Yang Dihasilkan

Pengaruh lama aerasi terhadap kadar histamin yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar di bawah ini :



**Gambar 23.** Grafik pengaruh lama aerasi terhadap kadar histamin

Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan terhadap tingkat lama aerasi untuk penguraian histidin murni menjadi histamin. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar histamin yang tertinggi terdapat pada perlakuan 24 jam. Sedangkan nilai histamin yang terendah terdapat pada perlakuan 12 jam. Jadi dari perlakuan waktu di atas yang mampu untuk menghasilkan kadar

histamin tertinggi yaitu terdapat pada perlakuan waktu 24 jam. Histidin dapat diubah menjadi histamin selama proses pembusukan oleh bakteri pembentuk histamin yang mengandung enzim histidin dekarboksilase (Guizani *et al.*, 2005). Ditambahkan pula oleh Taylor dan Behling (1982), bahwa histamin merupakan perubahan dari histidin yang terbentuk di dalam makanan karena aktivitas bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase.

#### 4.2.4 Perlakuan Dengan Nilai Tertinggi

Dari hasil uji histamin dengan 4 perlakuan waktu aerasi yang digunakan yaitu selama 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam, dengan penambahan metabolit bakteri *Bacillus* sp, *Enterobacter* sp, dan *Planococcus* sp. Dapat disimpulkan dari hasil analisa statistik bahwa untuk pengaruh penambahan metabolit bakteri terhadap penguraian histidin menjadi histamin terdapat pada metabolit dari jenis *Planococcus* sp yang memiliki nilai tertinggi dan perlakuan lama waktu aerasi yang memiliki nilai tertinggi terdapat pada waktu 24 jam. Perlakuan yang memiliki nilai tertinggi tersebut didukung dari grafik pada Gambar 23 dan 24. Hal ini dikarenakan metabolit dari bakteri *Planococcus* sp menghasilkan histamin lebih besar dibandingkan dengan metabolit bakteri lain (*Bacillus* sp dan *Enterobacter* sp), dikarenakan metabolit dari bakteri *Planococcus* sp memiliki aktivitas enzim dekarboksilase lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Bacillus* sp dan *Enterobacter* sp, yang memiliki kadar histamin sebesar 26,75 mg/kg dengan lama waktu aerasi selama 24 jam.

Ketiga bakteri tersebut termasuk golongan bakteri dekarboksilase. Hal ini sesuai dengan pernyataan Staruszkiewicz (2002) dalam Allen (2004), berbagai bakteri yang mampu menghasilkan enzim histidin dekarboksilase (HDC) termasuk famili Enterobacteriaceae dan Bacillaceae. Selain itu, bakteri-bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase

(HDC), yang berfungsi untuk mengubah asam amino histidin menjadi histamin sehingga kadar histaminnya semakin meningkat. Akan tetapi bakteri yang mampu menghasilkan nilai histamin maksimum adalah *Planococcus* sp.

