

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil analisa kadar histamin menggunakan metode spektrofotometri sesuai dengan SNI 01-2354.10-2009 panjang gelombang eksitasi : 350 nm dan emisi : 444 nm pada larutan histidin murni yang telah diberi metabolit bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp yang diaerasi selama 24 jam. Tujuannya untuk mengetahui lama waktu aerasi yang berbeda dan mencari perlakuan terbaik dari penguraian histidin murni terhadap kadar histamin dengan menggunakan teknik *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data 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
1	Kontrol	0,05											
2	Q1	2,33	2,36	2,36	5,14	5,32	5,32	1,77	1,67	1,67	1,28	1,30	1,30
3	Q2	1,67	1,87	1,87	7,96	7,78	7,78	0,70	0,77	0,77	22,75	22,76	22,76
4	Q1Q2	1,68	1,67	1,67	0,60	0,64	0,64	1,72	1,76	1,76	3,33	3,47	3,47

Keterangan :

Metabolit Bakteri Q1 = *Nitrococcus* sp

Metabolit Bakteri Q2 = *Acinetobacter* sp

Metabolit Bakteri Q1Q2 = *Nitrococcus* sp + *Acinetobacter* sp

4.2 Pembahasan

4.2.1 Analisa Uji Histamin

Dalam Danur (1993) disebutkan bahwa, histamin adalah senyawa biogenik amin yang sering terbentuk pada ikan pindang. Senyawa ini terbentuk akibat proses dekarboksilasi histidin yang banyak terdapat didalam tubuh ikan oleh enzim dekarboksilase mikroba. Pengujian kadar histamin dengan hanya menggunakan histidin murni yang ditambahkan metabolit bakteri jenis *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp untuk mengeksplorasi manfaat dari metabolit bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp.

Pengujian kadar histamin pada larutan histidin murni yang ditambahkan dengan metabolit bakteri menurut SNI 2354.10:2009 dapat ditentukan menggunakan beberapa metode antara lain metode spektrofotometri dan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada penelitian ini digunakan metode spektrofotometri karena lebih cepat dan ekonomis. Metode spektrofotometri 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 fluoresensi histamin secara fluorometri pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan emisi 444 nm.

4.2.2 Hubungan Antara Kadar Histamin Dan Jenis Metabolit Bakteri

Hasil nilai kadar histamin dari metabolit bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp dan yang ditambahkan dengan histidin murni dari Tabel 4 menunjukkan hasil pembentukan histamin oleh metabolit bakteri *Nitrococcus* sp bahwa pada lama waktu pembentukan 6 jam pertama dari data 1 metabolit bakteri ini mampu menghasilkan histamin 2,33 mg/kg, pada data 2 dan data 3 metabolit bakteri ini menghasilkan 2,36 mg/kg. Sedangkan pada lama waktu 6 jam kedua pada data 1 metabolit bakteri *Nitrococcus* sp hanya mampu menghasilkan histamin sebesar 5,14 mg/kg pada data 2 dan data 3 menghasilkan 5,32 mg/kg. Tetapi pada lama waktu 6 jam berikutnya pada data 1 metabolit bakteri *Nitrococcus* sp hanya mampu menghasilkan histamin sebanyak 1,77 mg/kg dan data 2 hanya mampu menghasilkan 1,67 mg/kg begitu juga untu data 3 hanya mampu menghasilkan 1,67 mg/kg kadar histamin. Dan untuk 6 jam terakhir pada data 1 histamin mengalami penurunan dengan menghasilkan histamin sebanyak 1,28 mg/kg sedangkan pada data 2 dan data 3 kadar histamin

yang dihasilkan sebanyak 1,30 mg/kg. Dilihat juga berdasarkan nilai histamin yang dihasilkan pada setiap data bahwa pembentukan histidin yang terjadi mengalami kenaikan pada jam ke-12 dan penurunan lagi pada jam ke-18. Sehingga dapat disimpulkan bahwa berdasarkan nilai histamin yang dihasilkan metabolit bakteri *Nitrococcus* sp sangat kecil kemampuannya dalam menghasilkan histamin, hal ini diasumsikan metabolit bakteri tersebut tidak mampu menguraikan histidin dengan baik karena metabolit bakteri ini bukan merupakan bakteri penghasil enzim dekarboksilase. *Nitrococcus* sp merupakan bakteri nitrifikasi yang dikenal paling penting untuk proses nitrifikasi, *Nitrococcus* sp mengoksidasi amonia menjadi nitrit (Jenie dan Rahayu, 1993).

Berdasarkan Tabel 4 pada metabolit bakteri *Acinetobacter* sp didapatkan hasil pada setiap perlakuan yang berbeda berdasarkan data 1 yaitu pada jam ke-6 metabolit bakteri ini mampu menghasilkan histamin sebesar 1,67 mg/kg, data 2 metabolit bakteri ini menghasilkan histamin sebanyak 1,87 mg/kg begitu juga untuk data 3 metabolit ini menghasilkan hasil yang sama dengan data 2 yaitu sebanyak 1,87 mg/kg. Pada jam ke-12 untuk data 1 metabolit bakteri ini menghasilkan histamin sebesar 7,96 mg/kg, data 2 metabolit bakteri ini menghasilkan 7,78 mg/kg dan data 3 metabolit bakteri ini juga menghasilkan histamin sebanyak 7,78 mg/kg. Tetapi terjadi penurunan pada jam ke-18 data 1 metabolit bakteri hanya mampu menghasilkan histamin sebesar 0,70 mg/kg. Data 2 dan data 3 menghasilkan histamin sebanyak 0,77 mg/kg. Pada jam ke-24 metabolit bakteri ini mengalami kenaikan yang sangat pesat sebesar 22,75 mg/kg pada data 1, sedangkan pada data 2 dan data 3 metabolit ini menghasilkan histamin sebesar 22,76 mg/kg. Dilihat berdasarkan hasil nilai histamin pada setiap data metabolit bakteri ini terjadi penurunan pada jam ke-18 dan mengalami kenaikan pada jam ke-24 dan dapat disimpulkan bahwa metabolit bakteri *Acinetobacter* sp mampu menguraikan histidin dengan baik

pada jam ke-24. Menurut buku pedoman mikrobiologi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology-Ninth Edition*, 1994 bahwa bakteri jenis *Acinetobacter* sp dapat mengkatalis senyawa L-Histidin sehingga pembentukan histamin dapat dipercepat.

Untuk penggabungan 2 metabolit bakteri yaitu metabolit bakteri *Nitrococcus* sp dan metabolit bakteri *Acinetobacter* sp didapati hasil nilai histamin pada data 1 jam ke-6 sebesar 1,68 mg/kg, data 2 sebesar 1,67 dan data 3 sama dengan hasil data 2 yaitu sebesar 1,68 mg/kg. Dan untuk hasil nilai histamin pada data 1 jam ke-12 mengalami penurunan sebesar 0,60 mg/kg sedangkan data 2 dan data 3 nilai histamin yang dihasilkan sebesar 0,64 mg/kg. Pada data 1 jam ke-18 penggabungan kedua metabolit bakteri didapati hasil nilai histaminnya sebesar 1,72 mg/kg, untuk data 2 dan data 3 menghasilkan 1,76 mg/kg. Dan pada data 1 jam ke-24 penggabungan kedua metabolit ini mengalami kenaikan nilai histaminnya sebesar 3,33 mg/kg, data 2 sebesar 3,47 mg/kg dan data 3 menghasilkan histamin sebanyak 3,47 mg/kg. Hasil nilai histamin pada penggabungan kedua metabolit ini cenderung naik turun pada grafik, hal ini dikarenakan tidak semua komponen dari kedua metabolit tersebut bekerja secara sinergis saat pembentukan histamin. Pada setiap data baik itu data 1, data 2 dan data 3 hasil histamin yang dibentuk tidak berbeda jauh dan mengalami kenaikan dan penurunan yang cenderung signifikan ini disebabkan bahwa kemampuan metabolit bakteri tersebut dalam menghasilkan kadar histamin.

Menurut Yamanaka *et al.* dalam Mahendradatta (2003), bahwa histamin dapat diproduksi oleh histidin dekarboksilase meskipun bakteri sangat sedikit. Sedangkan Baranowski *et al.* (1985), menjelaskan bahwa histidin dekarboksilase selalu dihasilkan oleh bakteri yang terhenti pertumbuhannya dan masih mampu mengkonversi histidin menjadi histamin. Dengan demikian hal ini dapat mendukung meskipun kondisi tersebut tidak persis sama. Tetapi dapat dijelaskan

bahwa pada penelitian ini meskipun tidak dijumpai mikroba yang tumbuh karena kondisinya telah mati seperti dijelaskan pada bagian mikroba psikrofilik, tetapi enzim yang telah dihasilkan sebelum mikroba tersebut mati akan terus beraktifitas menghasilkan histamin.

4.3 Penelitian Utama

Hasil dari penelitian ini merupakan hasil dari penelitian tahap II. Analisis yang dilakukan pada penelitian ini yaitu analisis uji histamin yang diberikan perlakuan waktu seperti penelitian pendahuluan tetapi dalam penelitian tahap II ini dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Hasil keseluruhan dari penelitian tahap ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penelitian Utama

Perlakuan		Ulangan (mg/kg histamin)		
Metabolit Bakteri 0,4 % (Q)	Lama Aerasi (jam) (D)	1	2	3
Q1	D1	2,33	2,36	2,36
	D2	5,14	5,32	5,32
	D3	1,77	1,67	1,67
	D4	1,28	1,30	1,30
Q2	D1	1,67	1,87	1,87
	D2	7,96	7,78	7,78
	D3	0,70	0,77	0,77
	D4	22,75	22,76	22,76
Q3	D1	1,68	1,67	1,67
	D2	0,60	0,64	0,64
	D3	1,72	1,76	1,76
	D4	3,33	3,47	3,47

Keterangan :

Q1D1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan bakteri *Nitrococcus* sp.

Q1D2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan bakteri *Nitrococcus* sp.

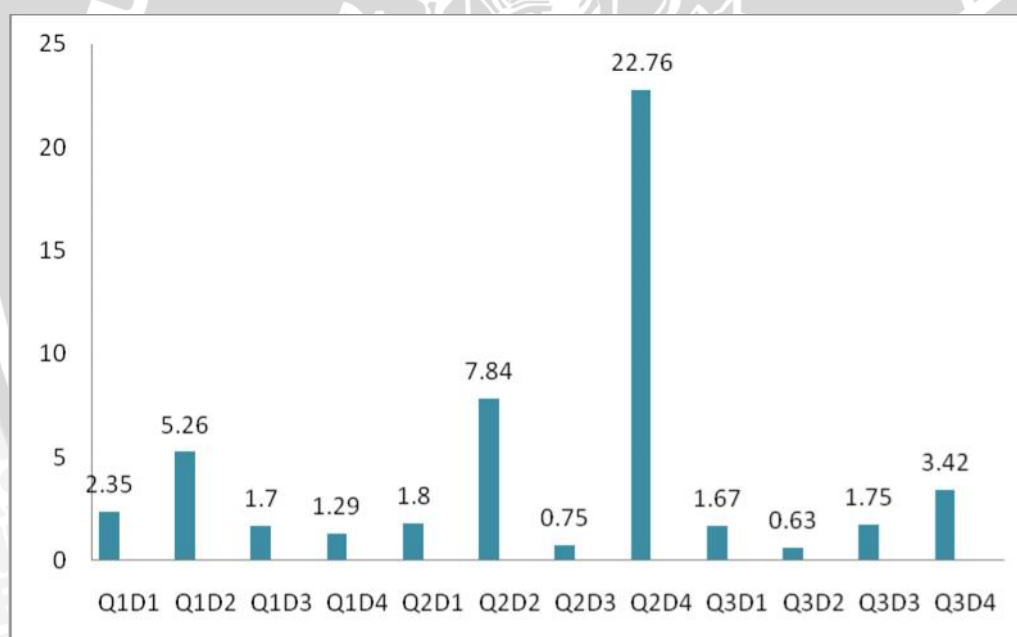
Q1D3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan bakteri *Nitrococcus* sp

Q1D4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan bakteri *Nitrococcus* sp

Q2D1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan bakteri *Acinetobacter* sp.

Q2D2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan bakteri *Acinetobacter* sp.
 Q2D3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan bakteri *Acinetobacter* sp.
 Q2D4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan bakteri *Acinetobacter* sp.
 Q3D1 : Aerasi selama 6 jam dengan penambahan kedua metabolit bakteri.
 Q3D2 : Aerasi selama 12 jam dengan penambahan kedua metabolit bakteri.
 Q3D3 : Aerasi selama 18 jam dengan penambahan kedua metabolit bakteri.
 Q3D4 : Aerasi selama 24 jam dengan penambahan kedua metabolit bakteri.

Berdasarkan hasil analisis uji histamin metode spektrofotometri pengaruh penambahan metabolit bakteri *Nitrococcus* sp., dan *Acinetobacter* sp., dalam larutan histidin murni dan lama aerasi serta interaksi antara kedua perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar histamin yang dihasilkan ($\alpha = 5\%$) (Lampiran 9). Grafik pengaruh perlakuan kombinasi penambahan metabolit bakteri dan lama aerasi dalam larutan histidin murni terhadap kadar histamin dapat dilihat pada Gambar 20.



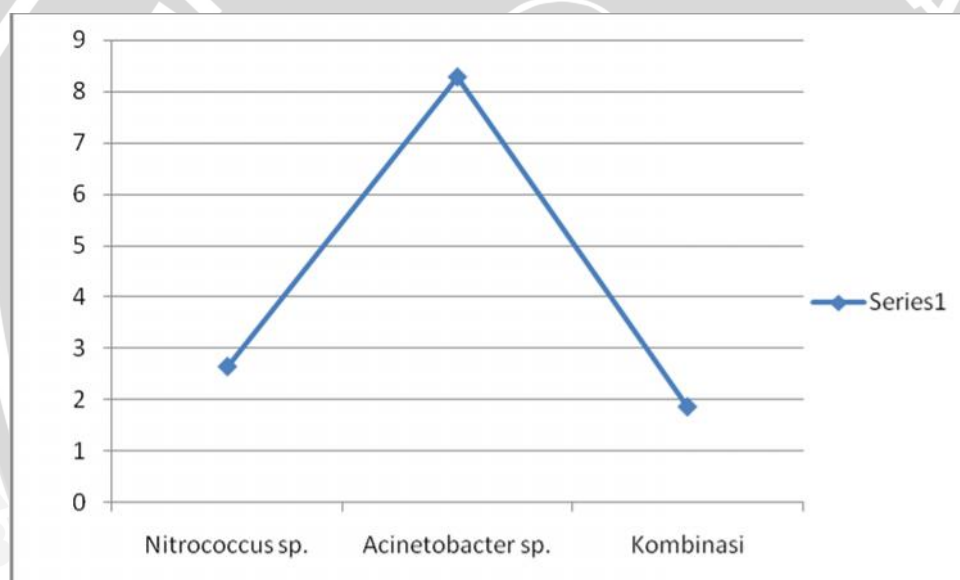
Gambar 20. Grafik Pengaruh Perlakuan Kombinasi Penambahan Metabolit Bakteri Dan Lama Aerasi Dalam Larutan Histidin Murni Terhadap Kadar Histamin

Berdasarkan hasil pengamatan walaupun analisis statistik tidak berbeda nyata tetapi adanya perubahan kadar histamin yang dihasilkan. Hal ini terjadi terutama pada penambahan metabolit bakteri yang menyebabkan setiap

metabolit bakteri memberikan hasil kadar histamin yang berbeda-beda dengan perlakuan waktu aerasi. Hal ini diduga setiap jenis metabolit bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menguraikan histidin menjadi histamin. Menurut Bennour *et al.* (1991), produksi histamin tidak selalu berkorelasi dengan besarnya jumlah bakteri penghasil histamin, tetapi lebih berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut mensintesis histidin dekarboksilase.

4.3.1 Pengaruh Penambahan Metabolit Bakteri Terhadap Kadar Histamin

Pengaruh penambahan metabolit bakteri terhadap kadar histamin yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 21.



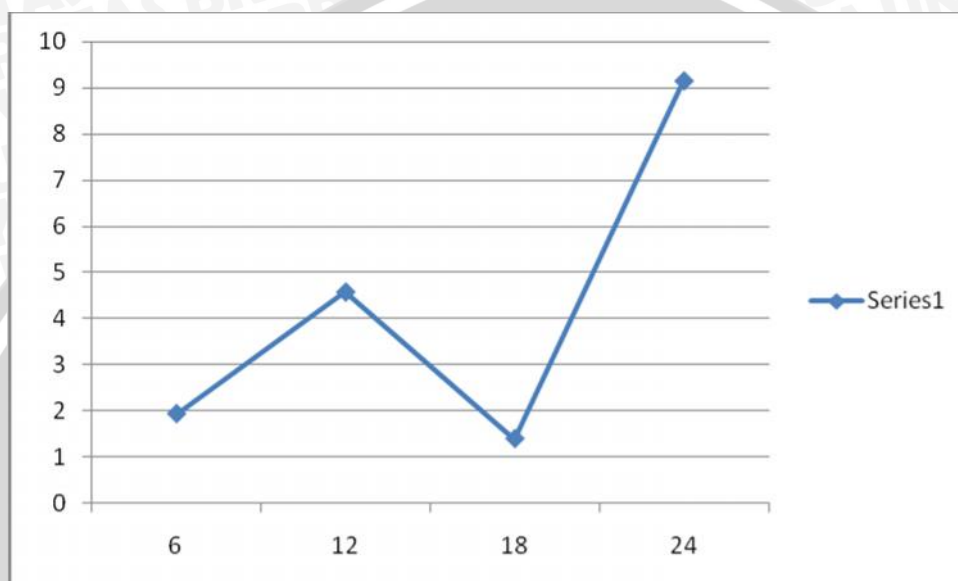
Gambar 21. Grafik Pengaruh Jenis Metabolit Bakteri Terhadap Kadar Histamin

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa ada perbedaan tingkat kemampuan metabolit bakteri dalam menghasilkan histamin terhadap penguraian histidin murni. Metabolit bakteri yang memiliki kemampuan dalam menguraikan histidin menjadi histamin adalah metabolit bakteri *Acinetobacter* sp yang memiliki tingkatan pertama dalam menghasilkan histamin. Sedangkan kombinasi dari kedua metabolit bakteri tersebut terdapat pada tingkatan yang terakhir. Hal ini dikarenakan dalam kombinasi kedua metabolit bakteri tersebut terjadi kompetisi

antar kedua metabolit bakteri yang menyebabkan kadar histamin yang dihasilkan lebih rendah.

4.3.2 Pengaruh Lama Aerasi Terhadap Kadar Histamin Yang Dihasilkan

Pengaruh lama aerasi terhadap kadar histamin yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Grafik Pengaruh Lama Aerasi Terhadap Kadar Histamin

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa ada perbedaan tingkat lama aerasi dalam menghasilkan histamin terhadap penguraian histidin murni. Jadi dapat disimpulkan bahwa kadar histamin yang tertinggi terdapat pada perlakuan 24 jam, sedangkan kadar histamin yang terendah terdapat pada perlakuan 18 jam. Menurut Sumner *et al.* (2004), histamin adalah senyawa amina biogenik yang terbentuk dari asam amino histidin akibat reaksi dengan enzim dekarboksilase. Sedangkan Baranowski *et al.* (1985), menjelaskan bahwa histidin dekarboksilase selalu dihasilkan oleh bakteri yang terhenti pertumbuhannya dan masih mampu mengkonversi histidin menjadi histamin. Dengan demikian hal ini dapat mendukung meskipun kondisi tersebut tidak persis sama. Tetapi dapat dijelaskan bahwa pada penelitian ini meskipun tidak

dijumpai mikroba yang tumbuh karena kondisinya telah mati seperti dijelaskan pada bagian mikroba psikrofilik, tetapi enzim yang telah dihasilkan sebelum mikroba tersebut mati akan terus beraktifitas menghasilkan histamin.

4.3.3 Perlakuan Terbaik

Dari tiga perlakuan penambahan bakteri, yakni *Nitrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., dan penambahan kedua metabolit berdasarkan lama waktu aerasi yang digunakan yakni 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam. Menurut analisis statistik jika dilihat dari pengaruh penambahan metabolit bakteri terhadap pembentukan histamin dari histidin murni perlakuan yang terbaik yakni pada penambahan metabolit bakteri jenis *Acinetobacter* sp., sedangkan pada perlakuan lama waktu aerasi yang terbaik terdapat pada waktu 24 jam. Perlakuan terbaik ini didukung dengan adanya grafik pada Gambar 21 dan 22 seperti yang telah dijelaskan diatas. Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim dekarboksilase yang terkandung di dalam bakteri *Acinetobacter* sp lebih besar.