



PROSIDING

Seminar Nasional Biologi dan Pembelajaran Biologi

Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya dalam menunjang Pembelajaran Biologi

26 Oktober 2017



**UNIVERSITAS PATTIMURA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI**

ISBN 978-602-18237-1-2

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOLOGI DAN PEMBELAJARAN BIOLOGI 2017

“Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya
dalam menunjang Pembelajaran Biologi”

Ambon, 26 Oktober 2017



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS PATTIMURA
2017**

Analisis Kadar Histamin Daging Ikan Komu (*Auxisrochei*) dengan Menggunakan Bahan Pengawet Daun Belimbing Wuluh *Averrhoa bilimbi* Linn.

Wendy Kapelle¹, Alwi Smith², M. NurMatdoan²

¹Program Sarjana Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pattimura

²Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pattimura

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan histamin dalam daging ikan komu (*Auxisrochei*) dengan menggunakan bahan pengawet daun belimbing wuluh *Averrhoa bilimbi* (Linn.) Penelitian ini dilakukan pada laboratorium Kimia Dasar Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan pada tanggal 20-25 Januari 2016. Tipe penelitian yang digunakan adalah tipe penelitian deskriptif menggunakan ikan komu sebanyak 6 ekor yang diambil secara *purposive sampling*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan histamine pada ikan komu yang tidak menggunakan bahan pengawet belimbing wuluh yaitu 16,23% sedangkan yang sudah diberi bahan pengawet daun belimbing wuluh kandungan histaminnya 9,16%.

Kata-kata kunci: histamin, ikan komu, pengawet, daun belimbing wuluh

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang kaya akan hasil bumi dan laut. Salah satu provinsi yang memiliki nilai ekspor hasil laut yang sangat tinggi adalah Maluku. Maluku sebagai daerah kepulauan yang kaya akan hasil laut ikan, tentu harus memiliki teknologi yang tepat guna sehingga dapat mengolah hasil laut tersebut, agar kandungan gizi layak untuk dikonsumsi. Ikan merupakan bahan makanan yang mengandung protein tinggi dan asam amino esensial yang diperlukan oleh tubuh. Ikan juga mempunyai kelebihan dibandingkan sumber pangan lainnya, di karena tingginya kandungan asam lemak tidak jenuh rantai panjang omega-3 seperti *eikosapentaenoat* (EPA) dan *dakosaheksaenoat* (DHA). Kedua asam lemak ini berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah, mencegah jantung koroner dan tekanan darah tinggi serta meningkatkan kecerdasan anak. Selain itu, dapat juga mengatasi beban penderita penyakit asma, rematik, penyakit kulit, komplikasi diabetes dan menurunkan aktivitas pertumbuhan sel kanker (Shalaby, 1996). Ikan juga kaya akan fosfor dan kalsium, iodium, vitamin A dan D, serta zat-zat bioaktif seperti antioksidan, antiinflamatori dan antikanker (Adawyah, 2008 ; Arisman. 2009; Ganiswara, Sulistia, 1999).

Ikan yang dijual di pasar tradisional pada umumnya dalam keadaan segar, namun kadangkala dijumpai ikan dengan mutu yang sudah rendah. Minimnya pengetahuan tentang pengolahan kualitas ikan dan karena alasan ekonomi seringkali ikan dipasarkan tanpa proses pendinginan bilamana waktu konsumsi atau pengolahannya tertunda. Pendinginan yang dilakukan sebelum rigormortis berlalu merupakan cara yang paling efektif untuk memperpanjang kesegaran ikan, sedangkan pendinginan setelah proses penguraian jaringan secara enzimatik (autolisis) berlangsung tidak akan banyak membantu (Adawyah, 2008).

Pada ikan yang sudah tidak segar lagi dan menuju proses pembusukan, biasanya akan terbentuk histamin. Histamin merupakan salah satu bahan kimia yang bersifat toksik jika ditemukan banyak dalam tubuh. Senyawa ini juga merupakan suatu amina biogenik yang diproduksi melalui proses dekarboksilase oleh bakteri dari asam amino histidin. Histamin kebanyakan ditemukan dalam jumlah besar pada ikan-ikan dari famili *scombridae*. Keracunan histamin biasanya terjadi setelah mengkonsumsi ikan yang mengandung histamin tinggi. Gejala keracunan sangat bervariasi dan merupakan gejala alergis, meliputi gatal-gatal, diare, demam, sakit kepala dan tekanan darah turun (Suharna, 2006; Shalaby, 1996 ; Setiyono, . 2006; & Taylor, 1986). Histamin juga diketahui tidak mudah menguap maupun hancur oleh pemasakan. Ikan dari famili *scombridae*, seperti tuna, tongkol (komu), cakalang, dan makarel secara alami mengandung histamin (Shalaby, 1996). Keracunan histamin tidak hanya disebabkan oleh kelompok ikan yang secara alami sudah mengandung histamin tetapi juga bisa disebabkan oleh ikan lain yang kurang segar mutunya dan terbentuk selama proses pengolahan ikan. Makin tinggi tingkat kerusakan ikan, makin banyak histamin yang terbentuk pada ikan (Peristiwady, 2006).

Usaha untuk mencegah pembusukan ikan seringkali dilakukan dengan cara pendinginan tetapi ada juga oleh para pedagang yang nakal dengan menggunakan zat kimia pengawet jenasah atau sering dikenal dengan formalin. Daerah pedalaman Maluku khususnya di pulau seram, pengawetan jenasah sering kali dilakukan dengan menggunakan rempah-rempah dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang sering kali digunakan untuk pengawetan jenasah adalah tanaman belimbing wuluh *Averrhoa bilimbi* (Linn.). Cara pengawetan jenasah yang dilakukan yaitu dengan meletakkan daun belimbing wuluh pada peti jenasah.

Tanaman belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat alami. Daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas farmakologi yaitu untuk menghilangkan rasa nyeri dan sebagai antiinflamasi. Tanaman belimbing wuluh memiliki kandungan kimia yaitu: kalium oksalat,

flavonoid, pektin, tanin, asam galat dan asam ferulat. Kandungan kimia alami yang terdapat pada daun belimbing wuluh yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi adalah flavonoid dan saponin (Faharani, 2009). Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar histamin dalam daging ikan komu (*Auxisrochei*) dengan menggunakan bahan pengawet daun belimbing wuluh *Averrhoa bilimbi* (Linn.).

BAHAN DAN METODE

Sampel ikan komu (*Auxis rochei*) segar diambil dari Pasar Tradisional Mardika di Kota Ambon. Pengujian Histamin dilaksanakan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: alat sentrifuge, alat spektrofotometri, coolbox, timbangan analitik, blender, sendok, pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, corong, pipet, kertas saring, pisau, tabung sentrifuge dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: ikan komu (*Auxis rochei*) segar, asam sulfanilat, HCl pekat, NaNO_2 , larutan NaCl, NaNO_2 , butanol, aquades, histamine dihidroklorida, natrium sulfat anhydrous, natrium fosfat monohidrat, natrium karbonat.

Analisis Histamin (Patange et al, 2005)

1. Pembuatan Pereaksi p-fenildiazonium sulfat

Campuran 1,5 mL asam sulfanilat 0,9% (b/v) dalam HCl pekat dan 1,5 mL NaNO_2 5% (b/v) didinginkan dengan direndam dalam air es selama 5 menit. 6 mL dari larutan NaNO_2 5% ditambahkan dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian, pereaksi disimpan dalam rendaman es selama 15 menit. Selanjutnya didiamkan selama 12 jam dan siap digunakan.

2. Ekstraksi Histamin

Irisan tipis daging ikan komu ditimbang sebanyak kurang lebih 5 gram. Sampel dihomogenkan dengan 20 mL larutan NaCl 0,85% (b/v) selama 2 menit menggunakan blender. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge 75 mL dan disentrifuge pada 5300 rpm selama 1 jam pada 4°C. Supernatan yang terbentuk dibuat menjadi 25 mL dengan larutan NaCl 0,85%. Ekstrak digunakan untuk analisis selanjutnya.

Dalam tabung reaksi, 1 mL ekstrak diencerkan menjadi 2 mL dengan larutan NaCl 0,85% dan 0,5 gram campuran garam (berisi 6,25 g Na_2SO_4 anhidrat yang ditambahkan 1 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Tabung digoyang agar tercampur secara merata. Kemudian ditambahkan 2 mL n-butanol dan digoyang

sekuat mungkin selama 1 menit dan didiamkan selama 2 menit dan kemudian digoyang sedikit agar terjadi kerusakan pada gel protein. Tabung kemudian digoyang beberapa menit dan disentrifuge pada 3100 rpm untuk 10 menit. Butanol yang terletak di bagian atas (sekitar 1 mL) dipindahkan ke dalam tabung bersih dan kering. Selanjutnya diuapkan menjadi benar-benar kering. Residu dihancurkan di dalam 1 mL akuades dan kemudian direaksikan dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat.

3. Analisis secara spektrofotometri.

Di dalam tabung reaksi yang bersih berisi 5 mL larutan Na_2CO_3 1,1% ditambahkan perlahan-lahan 2 mL pereaksi p-fenildiazonium sulfonat dan dicampur. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan residu yang diperoleh dari proses ekstraksi ke dalam tabung. Absorbansi dari warna yang dihasilkan diukur secepatnya setelah 5 menit pada panjang gelombang 497,8 nm menggunakan akuades sebagai blanko. Konsentrasi histamin dalam sampel diperoleh dari kurva standar untuk pengukuran absorbansi pada 497,8 nm dengan analisis regresi.

4. Pembuatan larutan standar histamin

Histamin dihidroklorida (165,5 mg, BM = 184 g/mol) dilarutkan dalam 100 mL akuades sampai mencapai konsentrasi 1000 ppm histamin bebas. Larutan histamin standar 1000 ppm kemudian diencerkan dengan akuades untuk memperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm.

5. Pembuatan kurva standar

Sebanyak 1 mL larutan standar histamin (20, 40, 60, 80, dan 100 ppm) direaksikan dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 497,8 nm. Selanjutnya dibuat kurva absorbansi versus konsentrasi histamin.

Untuk menghitung konsentrasi cuplikan menggunakan persamaan regresi linier : $y = a + bx$

Dimana : y = Absorbansi

x = Konsentrasi

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{(\sum xy) - b (\sum x)}{n}$$

Untuk menghitung *berat histamin (mg)* menggunakan rumus :

Konsentrasi cuplikan x Faktor pengenceran

Untuk menghitung *kadar (%) histamin* menggunakan rumus :

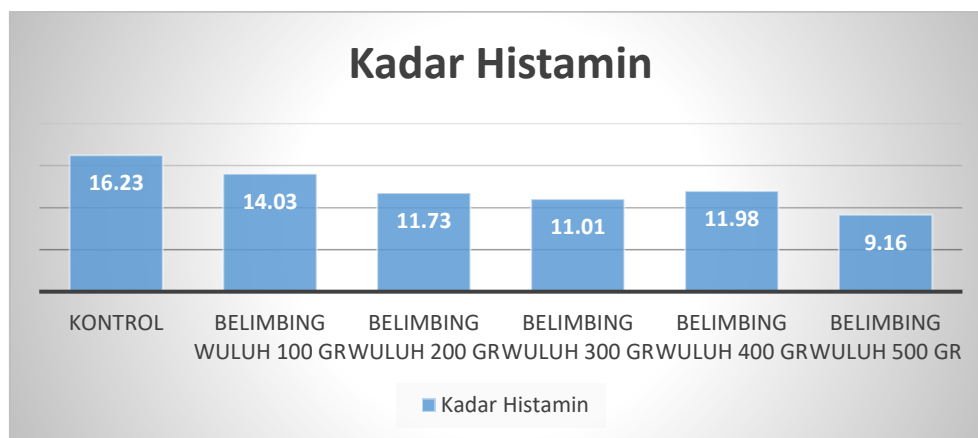
$$\text{Kadar (\% histamin)} = \frac{\text{Berat Histamin}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

Untuk menghitung rata-rata kadar (%) histamin menggunakan rumus :

$$\text{Rata-rata kadar (\% histamin)} = \frac{U_1+U_2}{2}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kandungan histamin pada ikan komu (*Auxis rochei*) diperoleh rerata untuk setiap bobot belimbing wuluh dan tanpa belimbing wuluh (kontrol) (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar histamine *A. rochei* pada berbagai variasi ekstrak belimbing wuluh

Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan bobot belimbing wuluh 100;200;300;400; dan 500 gram dapat menurunkan kadar histamin ikan asap dibandingkan dengan tanpa belimbing wuluh (kontrol). Dari hasil pengujian diketahui bahwa kadar histamin yang dihasilkan tanpa bahan pengawet lebih tinggi yakni 16,23%. Kung et al. (2009) menjelaskan bahwa tingginya kandungan histamin pada bagian ikan dipengaruhi oleh jumlah bakteri penghasil histidin dekarboksilase. Penelitian ini menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh dapat menghambat bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase.

Secara alami ikan komu (*Auxis rochei*) mengandung histamin, sehingga membutuhkan cara penanganan yang dapat mengurangi kadar histamin ikan komu (*Auxis rochei*), salah satunya adalah penggunaan daun belimbing wuluh. Nento et al. (2014) menjelaskan bahwa penanganan adalah kunci utama dalam menghambat terbentuknya histamin, perubahan warna, kelarutan protein, dan pertumbuhan mikroba pada ikan cakalang. Ismawan (2010) melalui penelitiannya menjelaskan bahwa bagian daun mengandung tanin, sulfur, asam format dan flavonoid.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar histamin menurun seiring penambahan bobot daun belimbing wuluh. Hal ini menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh bersifat antibakteri. Penelitian Rasab (2016) menunjukkan bahwa fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memberikan daya hambat yang baik terhadap pertumbuhan mikroba *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*. Penelitian Susilo (2012) menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh seberat 1.500 gr dengan waktu perendaman 12 jam cukup efektif sebagai pengawet serta menghasilkan tekstur daging ikan menjadi kenyal.

KESIMPULAN

Histamin pada ikan komu (*Auxis rochei*) yang menggunakan pengawet daun belimbing wuluh sebanyak 500 gr kadar histaminnya yang diperoleh yaitu 9,16%. Sedangkan yang tidak menggunakan pengawet daun belimbing wuluh (kontrol) maka kadar histamine yang diperoleh yaitu 16,23%. Hal ini dapat terlihat jelas dimana banyaknya pemberian daun belimbing wuluh sangat berpengaruh pada kandungan histamin dari ikan komu (*Auxis rochei*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah, R. 2008. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta
- Arisman. 2009. *Keracunan Makanan. Buku Ajar Ilmu Gizi*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Faharani, B,G,R. 2009. Uji aktifitas antibakteri daun belimbing wuluh terhadap bakteri staphylococcus aureus dan escheria coli secara bioautografi. Skripsi. Yogyakarta.
- Ganiswara, Sulistia G. 1999. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-4. Jakarta : Gaya Baru. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Peristiwady, T. 2006. *Ikan-Ikan Laut Ekonomis Penting di Indonesia. Petunjuk Identifikasi*. Penerbit LIPI Press. Jakarta.
- Setiyono, I.K. 2006. Factors Affecting Histamine Level in Indonesian Canned Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*). *Tesis*. Departemen of Marine Biotechnology. University of Tromse. Norway.
- Shalaby, A. R. 1996. Significance of Biogenic Amines to Food Safety and Human Health. *Food Res.Int.*, 29(7): 675-690.
- Suharna, C. 2006. Kajian Sistem Manajemen Mutu pada Pengolahan "Ikan Jambal Roti" di Pangandaran – Kabupaten Ciamis. *Tesis*, Program Studi Manajemen Sumberdaya Pantai, Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang
- Taylor, S. L. 1986. Histamine Food Poisoning : Toxicology and Clinical Aspects. *Critical Review in Toxicology*. 17: 91-128.
- Ismawan, Bambang, 2010. Herbal Indonesia Berkhasiat: Bukti Ilmiah dan Cara Racik. PT. Trubus Swadaya; Depok.

- Rasab, S. 2016. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Beberapa Mikroba Uji. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Susilo. 2012. Pemanfaatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Sebagai Bahan Pengawet Ikan Bandeng Segar (*Chanos chanos* F.) Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- 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 of Food Control*, 20, 1013-1017.