

**PERUBAHAN KIMIA, MIKROBIOLOGIS DAN KARAKTERISTIK GEN *HDC*
PENGKODE HISTIDIN DEKARBOKSILASE PADA IKAN TONGKOL ABU-ABU
Thunnus tonggol SELAMA PENYIMPANAN SUHU DINGIN**

***CHEMICAL, MICROBIOLOGY CHANGES AND DETECTION OF HDC GENE ON
LONGTAIL TUNA *Thunnus tonggol* DURING CHILLING TEMPERATURE STORAGE***

**Mala Nurilmala^{1*}, Asadatun Abdullah¹,
Vicentius Marco Matutina¹, Nurjanah¹, Roza Yusfiandayani², M. Fedi A. Sondita², dan
Hanifah Husein Hizbullah¹**

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK-IPB, Bogor

²Departemen Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, FPIK-IPB, Bogor

*E-mail: malanm28@yahoo.com

ABSTRACT

*Histamine is a biogenic amine that appear during post moterm phase on the fish flesh that contain high content of histidine. The higher level of histamine can be reduced by good handling practice to maintain fish quality for example: using chilling temperature. This research aimed to determine chemical and microbiology changes from longtail tuna *Thunnus tonggol* and the time when *hdc* gene can be detected during chilling temperature storage $8\pm 3^{\circ}\text{C}$. This research design was a completely randomized design (CRD) with parameters of differences in fish storage time (1,2,3,4,5,6,7 days) and ice ratio 1:1. The results showed that the tuna fish experienced quality deterioration for 7 days of storage. Organoleptic values and pH decreased during storage and on the seventh day the fish were in the rigormortis phase. TVB and TPC values increased during storage and on the sixth day storage has passed the safe limit for consumption. Histamine levels of this tuna on the seventh day were 1.96 ppm. *HDC* gene detection using the PCR method showed negative results in each treatment. The protein profile that was formed during storage displayed to separate because of the cathepsin activity.*

Keywords: *HDC gene, histamine, PCR, protein profile, TPC, TVB*

ABSTRAK

Histamin merupakan senyawa amin biologis yang dapat terbentuk dari histidin bebas dalam daging ikan pada fase *post rigor*. Laju pertumbuhan histamin dapat diperlambat dengan cara menjaga mutu ikan menggunakan suhu dingin. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan lama waktu penyimpanan, perubahan kimia dan mikrobiologis ikan tongkol *Thunnus tonggol* serta waktu terdeteksinya gen *hdc* selama penyimpanan suhu $8\pm 3^{\circ}\text{C}$. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan parameter perbedaan waktu penyimpanan ikan (1,2,3,4,5,6,7 hari) dan perbandingan es 1:1. Hasil penelitian menunjukkan ikan tongkol abu-abu mengalami kemunduran mutu selama 7 hari penyimpanan. Nilai organoleptik dan pH mengalami penurunan selama penyimpanan dan pada hari ketujuh ikan berada pada fase rigormortis. Nilai TVB dan TPC meningkat selama penyimpanan dan pada penyimpanan hari keenam sudah melewati batas aman untuk dikonsumsi. Kadar histamin pada hari ketujuh yaitu 1,96 ppm. DNA berhasil di-isolasi dan terdeteksi gen *hdc*, namun hasil amplifikasi belum efektif, sehingga diperlukan optimalisasi metode PCR. Profil protein yang terbentuk selama penyimpanan berdasarkan hasil SDS-PAGE mulai terpisah karena adanya aktivitas enzim katepsin.

Kata kunci: *gen HDC, histamine, PCR, profil protein, TPC, TVB*

I. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan laut dan potensi ikan yang melimpah. Sumber daya perikanan yang melimpah dapat memberikan peluang yang tinggi dalam memasok total kebutuhan konsumsi protein di Indonesia. Tongkol abu-abu *Thunnus tonggol* termasuk ke dalam kelompok ikan Scombridae yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dalam perikanan Indonesia. Data statistik menunjukkan produksi ikan tongkol abu-abu pada tahun 2010-2011 mengalami peningkatan sebesar 31,29% dengan rata-rata produksi 103 ribu ton (KKP, 2013). Tingkat konsumsi ikan scombroid di Indonesia diduga belum optimal karena adanya rasa khawatir dapat menyebabkan alergi atau keracunan setelah dikonsumsi. Salah satu jenis keracunan yang sering terjadi setelah mengonsumsi ikan adalah *Scombrototoxin*.

Scombrototoxin merupakan racun alami yang terdapat pada ikan air laut terutama famili Scombridae, yaitu keracunan akibat histamin setelah mengonsumsi ikan. Prasetyawan *et al.* (2013) menyatakan histamin merupakan senyawa amin biologis heterosiklik primer aktif yang terbentuk pada fase *post rigor* pada daging ikan yang banyak mengandung histidin bebas. Persyaratan mutu dan keamanan ikan segar yang ditetapkan dalam SNI 2729:2013 adalah kadar histamin pada ikan segar yaitu maksimum 100 mg/kg (BSN, 2013). Ikan tongkol, tuna, dan cakalang merupakan beberapa jenis ikan yang berasal dari famili Scombridae sehingga berpotensi menimbulkan *Scombrototoxin*. *Scombrototoxin* terbentuk apabila penanganan dan pengolahan ikan kurang baik sehingga terbentuk histamin akibat aktivitas bakteri pendegradasi histidin yang memiliki enzim histidin dekarboksilase (Mangunwardoyo *et al.*, 2007). Bakteri yang mampu menghasilkan enzim histidin dekarboksilase umumnya termasuk ke dalam kelompok Enterobacteriaceae dan Bacillaceae (Indriati *et al.*, 2006).

Salah satu cara untuk menghambat laju pertumbuhan histamin adalah dengan cara menjaga ikan agar tidak mengalami kemunduran mutu. Kemunduran mutu pada ikan terjadi akibat adanya pengaruh enzim, reaksi biokimia dari tubuh, serta aktivitas bakteri. Teknik penanganan ikan yang paling umum dilakukan untuk menjaga kesegaran ikan adalah penggunaan suhu dingin. Suhu rendah memperlambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan proses-proses biokimia yang berlangsung dalam tubuh ikan sehingga menghambat kemunduran mutu (Gelman *et al.*, 2001). Penggunaan suhu dingin dapat memperpanjang masa simpan ikan. Pada suhu 15-20°C, ikan dapat disimpan hingga dua hari, dan pada suhu 5°C tahan selama 5-6 hari, sedangkan pada suhu 0°C dapat mencapai 9-14 hari (Sitakar *et al.*, 2016).

Histamin dapat digunakan sebagai indikator kebusukan pada ikan karena terbentuk akibat aktivitas bakteri dengan gen *histidine decarboxylase* (HDC) yang mampu melakukan dekarboksilasi histidin menjadi histamin. Bakteri pembentuk histamin sulit dideteksi secara konvensional, karena jumlahnya sedikit dibandingkan bakteri lain pada ikan segar yang ditangkap. Oleh karena itu dibutuhkan metode deteksi cepat gen HDC dengan PCR, sehingga diperlukan penelitian tentang penyimpanan ikan tongkol pada suhu dingin yang bertujuan mengetahui lama waktu penyimpanan ikan yang baik agar produk masih aman untuk dikonsumsi dari segi karakteristik kimia, mikrobiologis dan deteksi gen HDC pembentuk histamin.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2018. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Karakteristik Bahan Baku Hasil Perairan, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Laboratorium Biomolekuler Hasil Perairan, Laboratorium Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, dan Laboratorium Balai Besar

Pengujian Penerapan Hasil Perikanan (BBP2HP) Jakarta.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dan es balok yang dipecahkan. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian kali ini adalah akuades, TCA 7%, asam borat, K₂CO₃, HCl, larutan garam fisiologis, media PCA (*Plat Count Agar*), akuades, media LB (*Lactose Broth*), *buffer* ATL, *buffer* AL, *buffer* AW1, *buffer* AW2, *buffer* AE, prot k, etanol 96%, agarose, *buffer* TBE 1x, primer *hdc fw*, primer *hdc rv* akrilamid, bis-akrilamid, *buffer* tris HCl, SDS 10%, APS 10%, TEMED, protein marker, metanol, *glasswool*, NaOH 1 N, HCl 0,1N, orto-ptalatdikarbosidehid (OPT) 0,1%, H₃PO₄ 3,75 N, dan resin penukar ion.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *Styrofoam* (Akri Kurnia Kencana, Indonesia), penggaris, *scoresheet* organoleptik ikan segar berdasarkan SNI 2729:2013, *micropipette* (Thermo Scientific, Amerika Serikat), *microtube*, *centrifuge* (Corning, Amerika Serikat), PCR (Analytik Jena, Jerman), elektroforesis (Scie-Plas, Inggris), vortex (Biosan, Latvia), pH meter (Hanna Instrument, Amerika Serikat), tabung reaksi (Pyrex, Amerika Serikat), erlenmeyer (Pyrex, Amerika Serikat), cawan petri (Pyrex, Amerika Serikat), cawan Conway (RRC, Indonesia), buret (Pyrex, Amerika Serikat), *homogenizer* (Nissei Ace, Cina), *waterbath* (F-ScientificLabs, Indonesia), SDS-PAGE (PeQLab, Jerman), kolom resin (Pyrex, Amerika Serikat), dan spektrofourometer (Agilent Cary Eclipse, Amerika Serikat).

2.3. Prosedur Penelitian

Ikan tongkol diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Kamal-Jakarta dalam keadaan baru ditangkap dan segar. Ikan kemudian dimasukkan ke dalam *styrofoam* berisi es curai untuk proses transportasi. Perbandingan jumlah es dengan berat ikan

adalah 1:1 dengan suhu berkisar antara 8-13°C. Perbandingan jumlah es dengan berat ikan tetap dipertahankan 1:1 dengan cara mengganti total berat es yang hilang atau mencair dengan berat es yang baru setelah dikurangi jumlah berat ikan yang hilang. *Styrofoam* diberi lubang pada bagian bawah untuk mengeluarkan es yang mencair. Metode penyusunan ikan di dalam *styrofoam* dibuat sama pada saat ikan didapatkan. Ikan kemudian disimpan dalam *styrofoam* selama 7 hari dalam keadaan tidak disiangi dan dibungkus oleh plastik. Analisis yang dilakukan selama proses penyimpanan yaitu pengukuran morfometrik, uji organoleptik (BSN, 2013), uji nilai pH (Apriyantono *et al.*, 1989), uji kadar TVB, uji TPC, uji histamin, analisis gen *hdc* pengkode histidin dekarboksilase (Takahashi *et al.*, 2003) dan SDS-PAGE (Nurilmala *et al.*, 2017) setiap hari selama 7 hari penyimpanan dan analisis proksimat.

2.3.1. Pengukuran Morfometrik

Pengukuran morfometrik dilakukan untuk mengetahui sampel yang digunakan selama proses penelitian memiliki berat dan ukuran yang seragam. Parameter yang dilihat untuk pengukuran morfometrik adalah berat total, panjang total, panjang baku, panjang cagak, tinggi, dan lebar ikan.

2.3.2. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik merupakan pengujian yang bersifat subjektif yang dilakukan dengan menggunakan panca indera manusia. Manfaat dilakukannya uji organoleptik adalah untuk mengetahui dan menilai standar suatu produk baik dari segi rasa, tekstur, aroma, warna serta bentuk, pengujian organoleptik mengacu pada (SNI 2729:2013) untuk ikan segar.

2.3.3. Analisis Komposisi Kimia

Analisis proksimat yang dilakukan pada penelitian kali ini meliputi analisis kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, dan kadar karbohidrat. Proses analisis

proksimat yang dilakukan pada penelitian kali ini mengacu pada AOAC (2005).

2.3.4. Uji Nilai pH

Pengukuran nilai pH dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi terlebih dahulu dengan *buffer* standar pH 4 dan 7. Daging ikan diambil dan ditimbang sebanyak 10 g. Daging ikan tersebut kemudian dicampur dengan akuades sebanyak 90 mL kemudian dihomogenkan. Sampel yang telah homogen kemudian diukur menggunakan pH meter (Apriyantono *et al.*, 1989).

2.3.5. Analisis Kadar *Total Plate Count* (TPC)

Prinsip kerja analisis TPC adalah pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi dalam media agar. Sampel ditimbang secara aseptik sebanyak 10 g kemudian dilarutkan dalam 90 mL larutan garam fisiologis. Larutan ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 mL pada larutan pengenceran 10^{-1} diambil menggunakan pipet kemudian dicampurkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis sehingga menjadi pengenceran 10^{-2} , hal yang dilakukan untuk pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} , dan seterusnya sesuai dengan kondisi sampel. Satu mL larutan dari setiap pengenceran diambil dan dimasukkan ke dalam cawan steril menggunakan pipet steril. Media *Plate Count Agar* (PCA) sebanyak 12-15 mL ditambahkan dan ke dalam cawan yang sudah berisi sampel yang sudah didinginkan sehingga mencapai suhu 45°C dan diamkan hingga agar berubah menjadi padat. Setelah itu, cawan dimasukkan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 35°C selama 48 jam. Tahap selanjutnya adalah perhitungan jumlah koloni yang terlihat pada cawan. Jumlah koloni yang dihitung berkisar antara 25-250. Nilai TPC suatu sampel dapat ditentukan dengan rumus:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan: ΣC = jumlah koloni pada cawan yang dihitung, n_1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung, n_2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung, dan d = pengenceran pertama yang dihitung.

2.3.6. Analisis *Total Volatile Base* (TVB)

Penentuan kadar TVB didasarkan pada proses penguapan senyawa volatil pada daging ikan. Sampel ditimbang sebanyak 15 g kemudian dihaluskan. Sampel kemudian dicampurkan dengan larutan TCA 7% sebanyak 45 mL. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 1 mL filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam *outer chamber*.

Larutan K_2CO_3 sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam *outer chamber* sisi lainnya serta asam borat ke dalam *inner chamber* dari cawan Conway. Cawan tersebut kemudian diinkubasi selama 2 jam. Sampel yang telah diinkubasi kemudian dititrasi menggunakan HCl 0,02 N. Nilai kadar TVB suatu sampel dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar TVB (mg N/100 g)} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 14,007 \times f_p \times 100}{\text{Berat sampel}} \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan: V_s = Volume titrasi sampel (mL), V_b = Volume titrasi blanko (mL), N = Normalitas HCl, dan F_p = Faktor pengenceran.

2.3.7. Analisis Histamin

Jaringan daging ikan di-ekstrak menggunakan metanol dan histamin di-konversi ke dalam bentuk OH. Zat-zat histamin selanjutnya dimurnikan melalui resin penukar ion dan diubah ke bentuk derivatnya dengan senyawa OPT.

Besarnya histamin diukur secara fluorometri pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan emisi 444 nm, mengacu pada metode BSN (2013).

2.3.8. Analisis Gen *HDC* Pengkode Histidin Dekarboksilase

Analisis kadar histamin dilakukan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang akan membaca bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase (*HDC*) mengacu pada metode Takahashi *et al.* (2003). Sampel yang digunakan diberi perlakuan, yaitu berupa ikan dan bakteri hasil *enrichment* dari daging ikan tersebut. Proses analisis terdiri dari beberapa tahap, yaitu metode *enrichment* bakteri, isolasi DNA menggunakan kit komersial Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit, pengukuran kualitas DNA, dan pengujian sampel dengan PCR.

2.3.9. SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel)

Pembuatan gel untuk SDS-PAGE dilakukan dengan mencampurkan akrilamid, bis-akrilamid, buffer tris-HCl, SDS 10%, APS 10% dan TEMED. Gel yang digunakan pada penelitian kali ini menggunakan konsentrasi gel pemisah yaitu 15% dan gel pengumpul yaitu 3% mengacu pada metode (Nurilmala *et al.*, 2017).

Sampel daging dicampurkan dengan akuades dengan perbandingan 1:2 kemudian disentrifugasi pada kecepatan 6000 g selama 30 menit dan diambil supernatant. Supernatant dicampur dengan buffer dengan perbandingan 1:1 dan dipanaskan pada suhu 85°C selama 10 menit. Sampel sebanyak 10 µL dan protein marker sebanyak 5 µL dimasukkan dalam sumur. *Running* elektroforesis dilakukan pada 150 Volt dan 15 mA selama 3 jam.

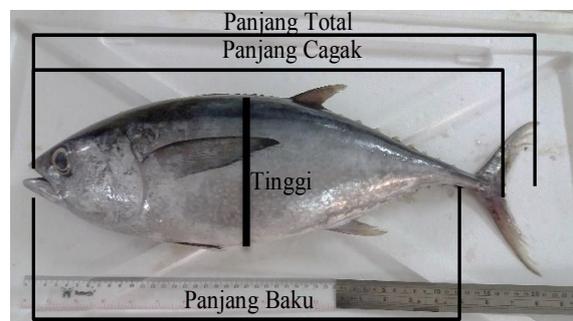
Marker yang digunakan yaitu protein marker standar (*Thermo scientific-USA*) dengan ukuran 10-260 kDa. Elektroforesis dihentikan bila migrasi dye mencapai batas ±1 cm di bagian bawah gel. Proses *staining* selama 60-90 menit dan proses *destaining* dilakukan sampai diperoleh pita protein latar belakang relatif jernih.

2.4. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Faktor yang mempengaruhi pada penelitian kali ini adalah perbedaan waktu penyimpanan ikan dengan perbandingan es 1:1. Pengujian dilakukan dengan dua kali ulangan. Data dianalisis secara statistik dengan analisis ragam (ANOVA).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil morfometrik ikan tongkol pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan analisis morfologi diperoleh nilai rata-rata bobot total 2110 gram, panjang total 53,04 cm; panjang baku 46,25 cm; panjang cagak 48,93 cm; tinggi 21 cm; dan lebar 8,49 cm. Griffiths *et al.* (2010) menyatakan ikan tongkol abu-abu dapat mencapai panjang total maksimum 142 cm dan berat 35,6 kg.

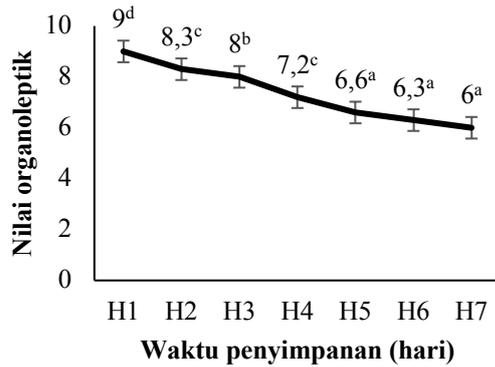


Gambar 1. Morfologi ikan tongkol abu-abu *Thunnus tonggol*.

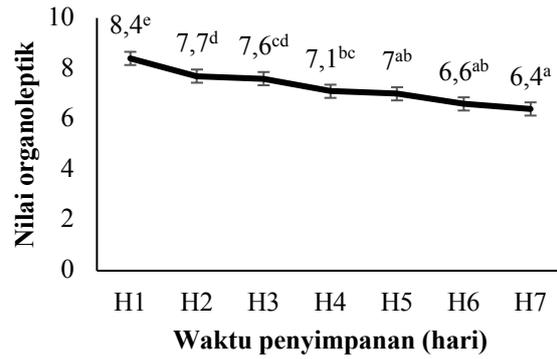
Perbedaan morfometrik pada suatu spesies ikan dapat disebabkan oleh perbedaan pertumbuhan pada setiap individu. Pertumbuhan suatu individu makhluk hidup dipengaruhi oleh faktor internal meliputi jenis kelamin, keturunan, umur, dan penyakit atau parasit, serta faktor eksternal meliputi lingkungan dan ketersediaan makanan (Nuzapril *et al.*, 2013).

Gambar 2 menunjukkan nilai organoleptik dari semua parameter mengalami penurunan selama penyimpanan suhu dingin. Hari pertama sampai dengan hari ketiga ikan masih memiliki kualitas yang sangat baik dan masuk dalam kriteria ikan segar karena memiliki nilai organoleptik berkisar 7-9. Ikan yang baik adalah ikan yang segar. Ikan segar

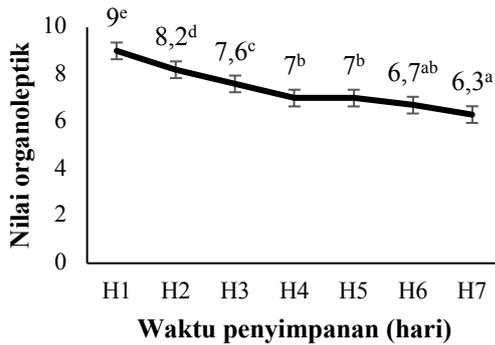
adalah ikan yang mempunyai sifat sama seperti ikan hidup, baik rupa, bau, rasa, maupun teksturnya. SNI 2729:2013 mengatakan ikan segar secara organoleptik memiliki karakteristik mata cerah dan cemerlang, bau segar spesifik jenis, tekstur elastis, padat, dan kompak (BSN, 2013).



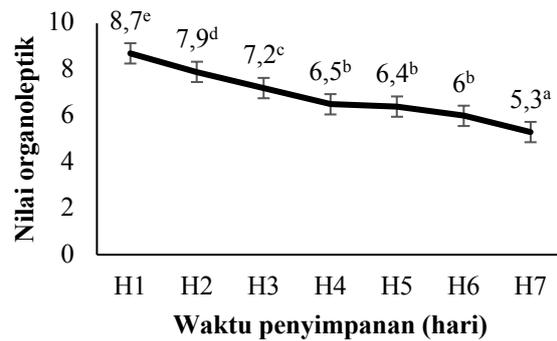
(a)



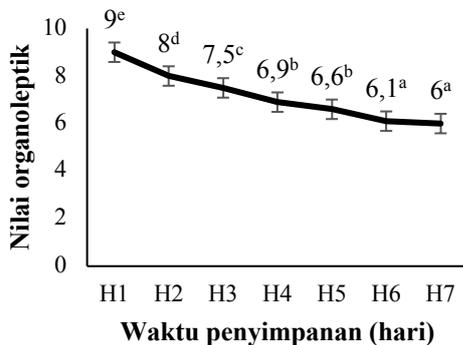
(b)



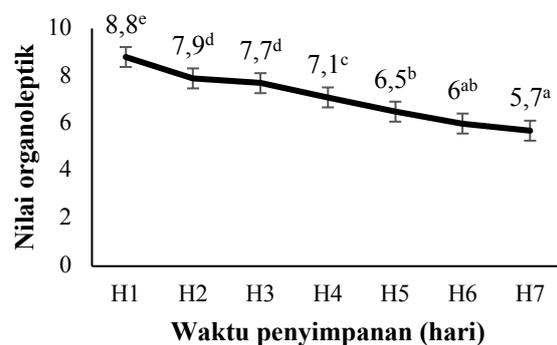
(c)



(d)



(e)



(f)

Gambar 2. Nilai organoleptik (a) mata, (b) insang, (c) lendir, (d) daging, (e) bau, dan (f) tekstur ikan tongkol selama penyimpanan suhu dingin.

Hari keempat ikan tongkol mulai memasuki fase *rigor mortis*. Fase ini merupakan tahapan sebelum terjadinya fase *post rigor* dan kebusukan oleh mikroba. Ikan tongkol masih memiliki kualitas yang cukup baik pada fase ini, dan masuk dalam kriteria ikan agak segar karena memiliki nilai organoleptik berkisar 5-6. Ekasari *et al.* (2017) dalam penelitiannya menyatakan ikan tongkol mulai memasuki fase *rigormortis* pada hari keempat sampai dengan hari kedelapan. Fase *rigor* pada ikan tongkol ditandai dengan tekstur yang mengeras dan kaku, mata berubah menjadi sedikit cekung, insang berubah menjadi kecoklatan, lendir permukaan tubuh masih transparan, bau netral, dan daging yang kurang cemerlang. Fase *rigor mortis* berlangsung sampai pengamatan hari ketujuh.

Tabel 1 memperlihatkan komposisi kimia ikan tongkol pada awal dan akhir penyimpanan suhu dingin. Hasil uji t-test menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan suhu dingin tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air ikan tongkol abu-abu ($p>0,05$). Kadar air mempunyai peranan penting dalam menentukan daya awet bahan pangan karena dapat memengaruhi sifat fisik, perubahan fisik dan umur simpan. Hasil uji t-test menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan suhu dingin tidak berpengaruh nyata terhadap kadar abu ikan tongkol abu-abu ($p>0,05$). Tingginya tingkat kadar abu dapat disebabkan masih adanya kandungan mineral yang tidak terbakar dengan sempurna seperti Na, Ca, dan P (Landeng *et al.*, 2017).

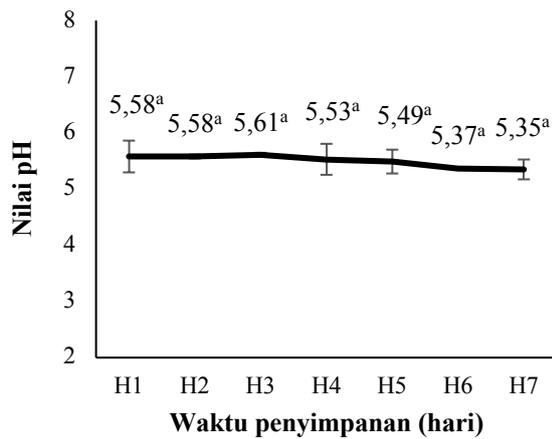
Hasil uji t-test menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan suhu dingin mem-

berikan pengaruh nyata terhadap kadar lemak ikan tongkol abu-abu ($p<0,05$). Kadar lemak ikan tongkol abu-abu mengalami penurunan. Penurunan kadar lemak pada ikan tongkol abu-abu diakibatkan oleh hilangnya fraksi trigliserida yang disebabkan oleh oksidasi lemak (Kusuma *et al.*, 2017). Beberapa faktor yang mempengaruhi komposisi lemak ikan antara lain musim, suhu, habitat, spesies ikan, umur, jenis kelamin dan kebiasaan makan (Pratama *et al.*, 2011). Hasil uji t-test menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan suhu dingin tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air ikan tongkol abu-abu ($p>0,05$). Kandungan protein sangat dipengaruhi oleh jenis ikan, umur, ukuran ikan, kualitas protein pakan, pencernaan pakan dan kondisi lingkungan (Pramono *et al.*, 2007).

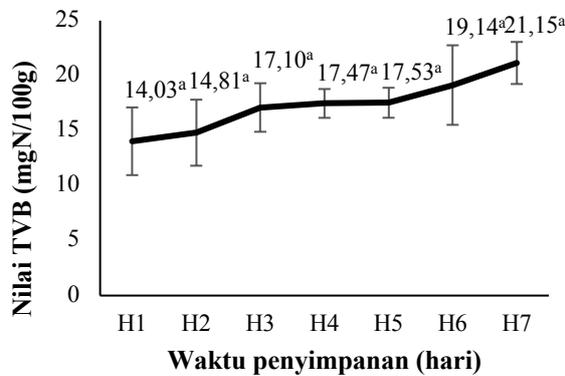
Gambar 3 menunjukkan perubahan nilai pH ikan tongkol abu-abu selama penyimpanan suhu dingin. Nilai pH pada pengamatan hari pertama (H1) sebesar 5,58. Nilai pH ikan tongkol mulai terjadi pada penurunan pada hari ke-4 sampai dengan hari ke-7. Nilai pH yang dihasilkan pada penelitian kali ini berada pada kondisi asam. Wijayanti *et al.* (2006) menyatakan bahwa penyimpanan ikan cakalang pada suhu $\pm 11^{\circ}\text{C}$ berada pada kondisi asam yaitu berkisar antara 5,83-6,42. Sorimin *et al.* (2016) mengatakan pada fase *rigor mortis*, beberapa spesies ikan seperti tuna dan makarel mengalami penurunan pH sampai 5,4. Susanto *et al.* (2011) menyatakan bahwa variasi perubahan nilai pH tergantung pada spesies, proses penangkapan, kondisi biologis, variasi musim, dan metode penanganan.

Tabel 1. Komposisi kimia ikan tongkol awal dan akhir penyimpanan suhu dingin.

| Komposisi Kimia | Waktu Penyimpanan | |
|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Awal | Akhir |
| Kadar Air (%) | 73,70 \pm 0,20 ^a | 73,26 \pm 0,53 ^a |
| Kadar Abu (%) | 1,53 \pm 0,11 ^a | 1,58 \pm 0,08 ^a |
| Kadar Lemak (%) | 0,41 \pm 0,14 ^a | 0,23 \pm 0,08 ^b |
| Kadar Protein (%) | 22,64 \pm 0,38 ^a | 21,79 \pm 0,29 ^a |



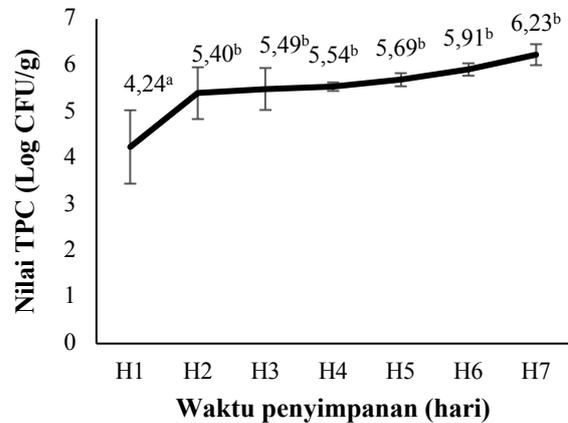
Gambar 3. Nilai pH ikan tongkol abu-abu selama penyimpanan suhu dingin.



Gambar 4. Nilai TVB ikan tongkol selama penyimpanan suhu dingin.

Gambar 4 menunjukkan perubahan nilai TVB ikan tongkol abu-abu selama penyimpanan suhu dingin. Nilai TVB pada pengamatan hari pertama (H1) sebesar 14,03 mgN/100 g dan terus mengalami peningkatan sampai dengan hari ketujuh (H7) yaitu sebesar 21,13 mgN/100 g. Nilai tersebut menunjukkan ikan tongkol abu-abu masih layak dikonsumsi sampai hari ketujuh. Nurjanah *et al.* (2004) menyebutkan bahwa ikan termasuk sangat segar apabila nilai TVB kurang dari 10 mgN/100 g. Ikan dengan nilai TVB antara 10-20 mgN/100 g masuk dalam kriteria segar. Nilai TVB antara 20-30 mgN/100 g merupakan batas penerimaan ikan untuk dikonsumsi sedangkan jika nilai TVB lebih dari 30 mgN/100 g termasuk ikan busuk.

Al-Busaidi *et al.* (2017) menyatakan nilai TVB ikan tongkol abu-abu yang disimpan pada suhu 8°C mengalami peningkatan yaitu mulai dari 7,35 mgN/100 g pada hari pertama sampai dengan 21,99 mgN/100 g pada hari kesembilan. Nilai TVB akan terus meningkat selama proses kemunduran mutu berlangsung. Peningkatan kandungan TVB pada daging ikan selama penyimpanan disebabkan karena adanya degradasi protein dan derivatnya oleh mikroorganisme yang menghasilkan senyawa basa yang mudah menguap seperti *Trimethylamine* (TMA), amoniak, dan H₂S (Husni *et al.*, 2014).



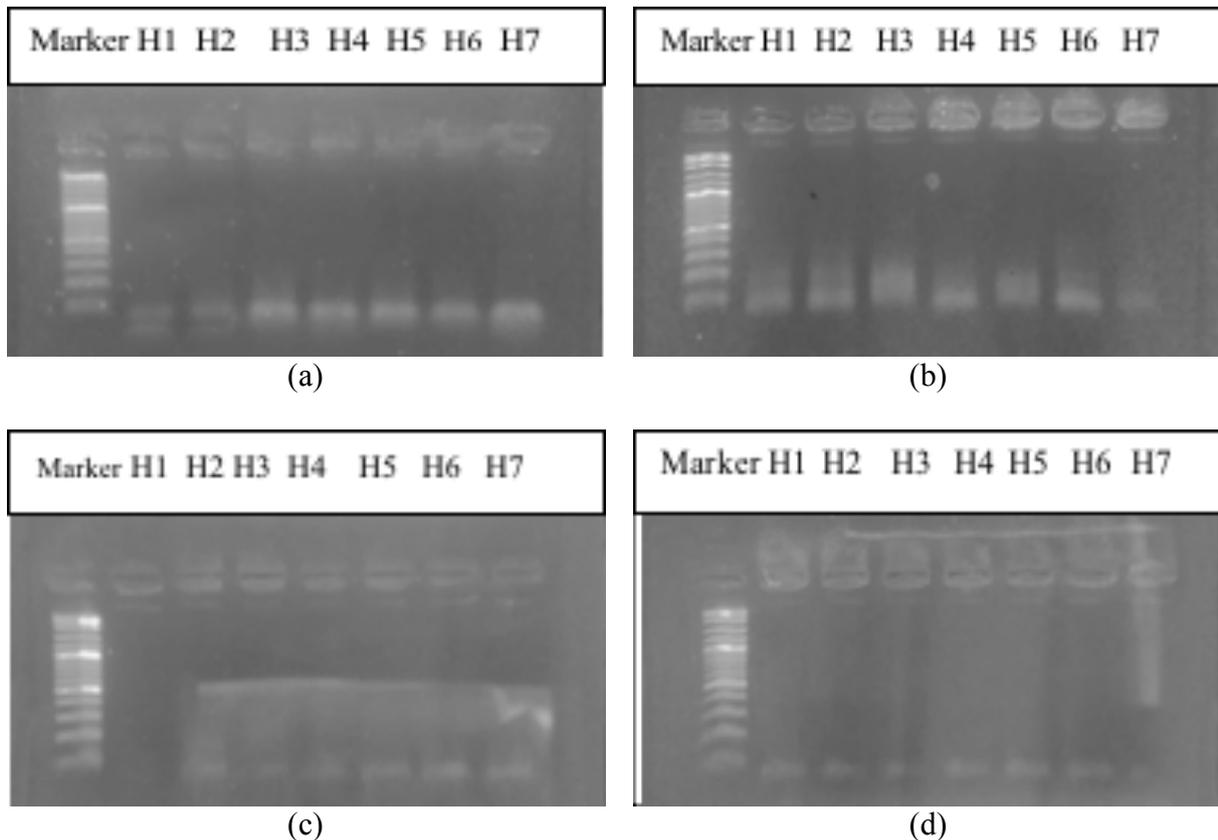
Gambar 5. Nilai TPC ikan tongkol abu-abu selama penyimpanan suhu dingin.

Gambar 5 menunjukkan perubahan nilai TPC ikan tongkol abu-abu selama penyimpanan suhu dingin. Nilai TPC pada pengamatan hari pertama (H1) sebesar 4,24 log CFU/g dan terus mengalami peningkatan sampai dengan hari ketujuh (H7) yaitu sebesar 6,23 log CFU/g. SNI 2729: 2013 menyatakan syarat mutu ikan segar adalah memiliki nilai TPC sebesar 5×10^5 CFU/g atau setara dengan 5,70 log CFU/g (BSN 2013). Hal ini menunjukkan ikan pada hari penyimpanan keenam dan ketujuh sudah tidak layak untuk dikonsumsi. Hal ini diduga karena ikan tongkol terkontaminasi dengan es yang digunakan dan juga mikroba yang berkembang di dalam tubuh ikan.

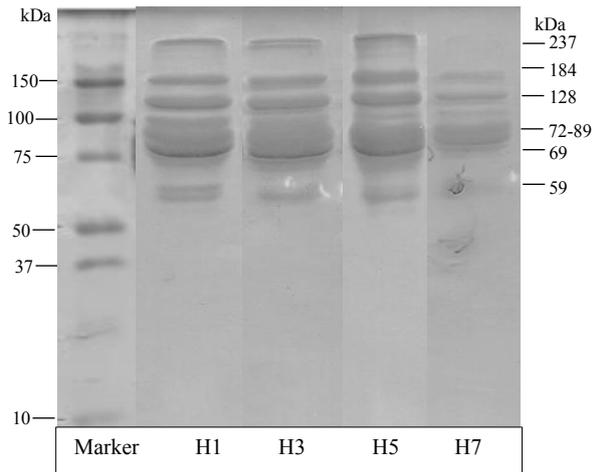
Pengujian kadar histamin pada penelitian kali ini dilakukan pada ikan yang sudah disimpan selama 7 hari pada suhu dingin. Hasil analisis menunjukkan ikan tongkol abu-abu yang telah disimpan selama 7 hari pada suhu dingin memiliki kadar histamin sebesar $1,96 \pm 0,05$ ppm. SNI 2729:2013 tentang ikan segar menyatakan syarat kadar histamin pada ikan segar yaitu maksimal 30 ppm (BSN, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa ikan tongkol yang disimpan pada suhu dingin selama 7 hari masih layak untuk dikonsumsi. Al-Busaidi *et al.* (2011) dalam penelitiannya menyatakan ikan tongkol abu-abu yang disimpan pada suhu 0°C setelah 15 hari memiliki kadar histamin sebesar 4 ppm. Silbande *et al.*

(2016) menyatakan ikan tuna yang disimpan pada suhu 4°C memiliki kadar histamin yang stabil sampai dengan hari penyimpanan kedelapan. Histamin tidak akan terbentuk selama ikan tetap disimpan dalam suhu di bawah 5°C (Alasalvar and Taylor, 2002).

Hasil pengamatan PCR dengan primer *hdc* menggunakan elektroforesis pada berbagai perlakuan (Gambar 6 a-d) menunjukkan DNA berhasil di-isolasi dan terdeteksi gen *hdc*, namun hasil amplifikasi belum efektif, sehingga diperlukan optimalisasi metode PCR. Mangunwardoyo *et al.* (2007) menyatakan kadar histamin yang dihasilkan oleh tiap bakteri berbeda-beda. Bakteri yang mampu memproduksi histamin paling besar adalah *Enterobacter* sp.



Gambar 6. Hasil PCR ikan tongkol selama penyimpanan suhu dingin dengan (a) tanpa enrichment kit Qiagen (b) enrichment kit GenCheck (c) enrichment kit Qiagen (d) enrichment Kit GenCheck. H1 = pengamatan hari pertama, H2 = pengamatan hari kedua, H3 = pengamatan hari ketiga, H4 = pengamatan hari keempat, H5 = pengamatan hari kelima, H6 = pengamatan hari keenam, H7 = pengamatan hari ketujuh.



Gambar 7. SDS-PAGE ikan tongkol selama penyimpanan suhu dingin.

Pita protein yang terdeteksi pada Gambar 7 menunjukkan jenis yang sama dengan luas dan ketebalan yang berbeda-beda. Profil protein ikan tongkol abu-abu mengalami perubahan selama penyimpanan suhu dingin. Profil protein pada pengamatan hari pertama sampai dengan hari ketujuh menunjukkan adanya penumpukan protein pada bobot molekul 72-89 kDa. Pada setiap pengamatan nampak pita protein mulai terpisah karena adanya denaturasi protein. Pemecahan protein tersebut berkaitan dengan menurunnya pH yang menyebabkan aktifitas enzim katepsin sehingga mampu memecah protein menjadi komponen yang lebih sederhana. Nurhayati *et al.* (2010) menyatakan bahwa aktivitas enzim katepsin akan meningkat selama proses kemunduran mutu, sehingga pita protein akan terdegradasi dan terlihat semakin tipis.

Pada pengamatan hari pertama sampai dengan hari keenam menunjukkan adanya bobot molekul protein sebesar 237 kDa. Ladrat *et al.* (2003) menyatakan terdapat protein *myosin heavy chain* (MHC) pada bobot molekul sekitar 200 kDa. Hal ini menunjukkan pada ikan tongkol abu-abu terdapat protein MHC yang dapat digunakan dalam pembentukan gel pada surimi.

IV. KESIMPULAN

Ikan tongkol abu-abu mengalami kemunduran mutu selama 7 hari penyimpanan dalam suhu dingin. Nilai organoleptik mengalami penurunan selama penyimpanan dan pada hari ketujuh ikan berada pada fase rigormortis. Nilai pH ikan tongkol abu-abu mengalami penurunan selama penyimpanan suhu dingin. Nilai TVB ikan tongkol abu-abu mengalami peningkatan selama penyimpanan suhu dingin, namun masih dalam batas aman. Nilai TPC ikan tongkol abu-abu mengalami peningkatan selama penyimpanan suhu dingin dan pada penyimpanan hari keenam sudah melewati batas aman untuk dikonsumsi. Histamin ikan tongkol abu-abu mulai muncul pada hari ketujuh yaitu sebesar 1,96 ppm dan masih batas aman untuk dikonsumsi. DNA berhasil di-isolasi dan terdeteksi gen *hdc*, namun hasil amplifikasi belum efektif, sehingga diperlukan optimalisasi metode PCR. Profil protein yang terbentuk selama penyimpanan mulai terpisah karena adanya aktivitas enzim katepsin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional Gelombang 1 Tahun Anggaran 2018 Nomor: 12/INS-1/PPK/E4/2018 a.n Dr. Mala Nurilmala SPi, MSi, tanggal 9 Maret 2018 antara Direktorat Pengembangan Teknologi Industri Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Institut Pertanian Bogor (LPPM IPB).

DAFTAR PUSTAKA

Alasalvar, C.T. and Taylor. 2002. Seafoods – quality, technology and nutraceutical applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin. 224 p.

- <https://doi.org/10.1007/978-3-662-09836-3>
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Y. Sedarnawati, dan S. Budianto. 1989. Petunjuk laboratorium analisis pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2013. SNI 2729:2013. Ikan segar. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. 20 p.
- Ekasari, D., I.K. Suwetja, dan L.A.D.Y. Montolalu. 2017. Uji mutu ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) dan ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) segar di TPI Tumpua selama penyimpanan dingin. *J. Media Teknologi Hasil Perikanan*, 5(2):134-141.
- Gelman, A., L. Galtman, V. Drabkin, and S. Harpaz. 2001. Effect of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *J. Food Protection*, 64:1584-159. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.10.1584>
- Griffiths, S.P., G.C. Fry, F.J. Manso, D.C. Lou. 2010. Age and growth of longtail tuna (*Thunnus tonggol*) in tropical and temperate waters of the central Indo-Pacific. *J. of Marine Science*, 67: 125-134. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsp223>
- Husni, A., A. Ustadi, Hakim. 2014. Penggunaan ekstrak rumput laut *Padina* sp. untuk peningkatan daya simpan filet nila merah yang disimpan pada suhu dingin. *Agritech*. 34(3): 239-246. <https://doi.org/10.22146/agritech.9451>
- Indriati, N., Rispayeni. E.S. Heruwati. 2006. Studi bakteri pembentuk histamin pada ikan kembung pada selama proses pengolahan. *J. Pascapanen dan bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 2(1): 88-99.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2013. Data produksi perikanan tangkap nasional. [Internet]. [diunduh pada 2018 Juli 20] Tersedia pada: <https://data.go.id/dataset/produksi-perikanan-tangkap-nasional>.
- Kusuma, A.A., E.N. Dewi I. Wijayanti. 2017. Perbedaan jumlah nutrisi yang hilang pada bandeng beku non cabut duri dan cabut duri selama penyimpanan suhu rendah. *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1): 153-163.
- Ladrat, C., V.V. Bagnis, J. Noel, J. Fleurence. 2003. In vitro proteolysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins of white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of cathepsins B, D, and L. *Food Chemistry*. 81(6): 517-525. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00481-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00481-8)
- Landeng, P.J., E. Suryanto, L.I. Momuat. 2017. Komposisi proksimat dan potensi antioksidan dari biji jagung manado kuning (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, 10(1): 36-44.
- Mangunwardoyo. W., R.A. Sophia, E.S. Heruwati. 2007. Seleksi dan pengujian aktivitas enzim *L-Histidine Decarboxylase* dari bakteri pembentuk histamin. *Makara Sains*, 11(2): 104-109. <https://doi.org/10.7454/mss.v11i2.292>
- Nurhayati. T., E. Salamah, E. Irfan,, R. Nugraha. 2010. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada kulit ikan bandeng (*Chanos chanos*) selama periode kemunduran mutu. *Akuatik J. Sumberdaya Perairan*, 4(1):13-17.
- Nurilmala M., A. Abdullah, T. Nurhayati, A. Zakiah. 2017. Panduan praktikum matakuliah biomolekuler hasil perairan. IPB Press. Bogor.
- Nurjanah, I. Setyaningsih, Sukarno, M. Muldani. 2004. Kemunduran mutu ikan nila merah (*Oreochromis* sp.)

- selama penyimpanan pada suhu ruang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 7(1): 37-42.
- Nuzapril, M., N. Widyorini, N. Afiati. 2013. Analisis morfometrik dan faktor kondisi pada cumi-cumi *Photololigo chinensis* dan *Photololigo duvauceli* yang didaratkan di beberapa TPI pantai utara Jawa Tengah. *Diponegoro J. of Maquares*, 2(4): 18-27.
- Pramono, T.B., D. Sanjayasari, and P.H.T. Soedibya. 2007. Optimasi pakan dengan level protein dan energi protein untuk pertumbuhan calon induk Ikan Senggarigan (*Mystus nigriceps*). *J. PROTEIN.*, 15(2): 153-157.
- Prasatiawan, N.R., T.W. Agustini, and W.F. Ma'ruf. 2013. Penghambatan pembentukan histamin pada daging ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) selama penyimpanan. *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(2): 151-158. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v16i2.8049>
- Pratama, R.I., M.Y. Awaluddin, and S. Ishmayana. 2011. Analisis komposisi asam lemak yang terkandung dalam ikan tongkol, layur dan tenggiri dari Pameungpeuk, Garut. *J. Akuatika*. 2(2): 1-10.
- Silbande, A., S. Adenet, S. Smith-Ravin, J. Joffraud, K. Rochefort, and F. Leroi . 2016. Quality assessment of ice-stored tropical yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and influence of vacuum and modified atmosphere packaging. *Food Microbiology*, 60: 62-72. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.016>
- Sitakar, N.M., Nurliana, F. Jamin, M. Abrar, Z.H. Manaf, dan Sugito. 2016. Pengaruh suhu pemeliharaan dan masa simpan daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada penyimpanan suhu -20°C terhadap total jumlah bakteri. *J. Medika Veterinaria*, 10(2): 163-165.
- Sormin, R.D., F. Pattipeilohy, and N. Koritelu. 2016. The effect of cool box insulator on the temperature characteristics and quality of *Decapterus russelly* (Rüppell, 1830) during chilling preservation. *Aquatic Procedia*, 7:195-200. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.027>
- Takahashi, H., B. Kimura, M. Yoshikawa and T. Fujii. 2003. Cloning and sequencing of the histidine decarboxylase genes of gram negative, histamine producing bacteria and their application in detection and identification of these organism in fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5):2568-2579. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.5.2568-2579.2003>
- Wijayanti, I., F. Swastawat, and T.W. Agustini. 2006. Pola perubahan k-value dan ORP ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) pada suhu rendah ($\pm 11^{\circ}\text{C}$). *J. Pesisir Laut*, 2(1): 1-12.

Received : 16 November 2018

Reviewed : 18 January 2019

Accepted : 04 July 2019