

TESIS

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH
UNTUK MENGHAMBAT PENINGKATAN HISTAMIN DAN
PENURUNAN MUTU IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis* L)**

***THE USE OF THE EXTRACT OF CARAMBOLA LEAVES TO
HAMPER THE INCREASE OF THE HISTAMINE AND THE
DECREASE OF THE QUALITY OF THE SKIPJACK TUNA
(Katsuwonus pelamis L)***

I D A A S T U T I



**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2014



Optimization Software:
www.balesio.com

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH
UNTUK MENGHAMBAT PENINGKATAN HISTAMIN DAN
PENURUNAN MUTU IKAN CAKALANG
(*Katsuwonus pelamis* L)**

TESIS

IDA ASTUTI
P3300212001



**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2014**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH
UNTUK MENGHAMBAT PENINGKATAN HISTAMIN DAN
PENURUNAN MUTU IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis L*)**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program studi

Ilmu perikanan

Disusun dan Diajukan oleh

IDA ASTUTI

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2014



TESIS

PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH UNTUK MENGHAMBAT PENINGKATAN HISTAMIN DAN PENURUNAN MUTU IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis L*)

Disusun dan diajukan oleh

IDA ASTUTI

Nomor Pokok P3300212001

Telah di pertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada Tanggal 22 Agustus 2014

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat

Prof.Dr.Ir. Metusalach, M.Sc
Ketua

Prof. Dr.Ir. Jalil Genisa, MS
Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Perikanan,

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,

Prof.Dr.Ir. Achmar Mallawa, DEA

Prof. Dr. Syamsul Bachri, SH., MS



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Ida Astuti
Nomor mahasiswa	: P3300212001
Program studi	: Ilmu Perikanan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, November 2014

Yang menyatakan,

Ida Astuti



P R A K A T A

Bismillahirrahmanirrahim.

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis. Dengan selesainya tesis ini penulis menghaturkan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada ayahanda tercinta H. Khairuddin dg Sila dan ibunda tersayang Hj. Badaria dg Kanang, dimana begitu besar jasa dan kasih sayangnya dalam memberikan motivasi, nasehat serta do'a untuk kesuksesan penulis. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmatnya kepada beliau, amin ya robbalalamin.

Selanjutnya penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Metusalch, M.Sc sebagai pembimbing utama dan Bapak Prof. Dr. Ir. Jalil Genisa, M.S sebagai pembimbing anggota yang telah banyak meluangkan waktunya, membagi ilmu serta memberi motivasi dan dorongan sejak persiapan penelitian hingga selesainya penulisan tesis ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat serta hidayah kepada beliau, Amin Ya Robbal alamin.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pula kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Achmar Mallawa, MS sebagai Ketua Program Studi Ilmu Perikanan pada program pascasarjana Universitas



Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.

2. Ibu Dr. rer.nat. Elmi N. Zainuddin, DES, Dr. Ir. Maryati Bilang, DEA serta Prof. Dr. Ir. Achmar Mallawa, DEA sebagai penguji atas masukan serta saran dalam penyusunan tesis ini.
3. Bapak Dr. I Wayan Kantun Danang Jaya, MP yang telah sudi meluangkan waktu untuk selalu memberikan motivasi kepada penulis.
4. Bapak Drs. La Amela, M.Pd, yang telah memberikan izin, motivasi serta bantuannya kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
5. Bapak dan ibu dosen Pascasarjana program studi ilmu perikanan yang bersedia membagi ilmu kepada penulis.
6. Kakanda Bripka Suardi, Bambang Harianto, SP. MM, Suryani serta adindaku Erna Lestari Amd.Keb atas segala bantuannya, baik moral maupun moril sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.
7. Drs. Jamaluddin, S.Sos dan keluarga, Serda Syamsuddin dan keluarga, Basri. M dan keluarga, serta semua keluarga besar yang telah memberikan motivasi serta do'a yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.
8. Bapak Trikoco Wibowo atas segala kerelaannya dalam memberikan bantuan sejak awal pendidikan hingga pada titik untuk pencapaian studi.



9. Rekan – rekan Mahasiswa Pascasarjana ilmu perikanan angkatan “2012” dan terkhusus kepada sahabat penulis Fadli Latuconsina, Muh. Dusil Hafid, Muh. Kasim, Nasriani, A. Ivo Asphama, Fachri Kurnia Bakti, Syamsuryani, Ristawati Alwi, Anugriati, Sisca Elviana serta Khairil yang telah memberikan motivasi dan bantuan baik moral maupun moril selama penulis melakukan penelitian hingga penyusunan tesis.

Tesis ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, maka dari itu kritik dan saran sangat diharapkan penulis demi kesempurnaanya. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Makassar, November 2014

Penulis



RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Jeneponto pada tanggal 03 Februari 1984 anak ke-4 dari 5 bersaudara (Suryani,Suardy, Bambang Hariyanto dan Erna lestari) pasangan dari bapak H. Khaeruddin dg Sila dengan Hj. Badaria dg Kanang. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SD inpres Mahahe No.060, Kec. Tobadak, Kab. Mamuju Tengah, pada tahun 1996. Tahun 1999 penulis lulus SLTPN 5 budong-budong (SMPN Tobadak) Kab. Mamuju Tengah, tahun 2003 lulus SMKN 1 Watang Pulu kab.Sidrap jurusan Budidaya Perairan dan pada tahun 2007 menyelesaikan pendidikan S1 di Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan Balik Diwa (STITEK BALIKDIWA) Makassar Jurusan Teknologi Hasil Perikanan.

Pada tahun 2008 penulis aktif menjadi tenaga pendidik kontrak daerah pada lingkup Dinas Pendidikan Pemuda dan Olahraga Kab. Mamuju, Prov.Sulawesi Barat hingga tahun 2012. Pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswi program Pascasarjana Universitas Hasanuddin program studi Ilmu Perikanan.



ABSTRAK

IDA ASTUTI. Pemanfaatan ekstrak daun belimbing wuluh untuk menghambat peningkatan histamin dan penurunan mutu ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis L.*) (dibimbing oleh Metusalach dan Jalil Genisa).

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi penggunaan ekstrak daun belimbing wuluh (EDBW) untuk mempertahankan mutu ikan cakalang sedang tujuan khususnya yaitu: (1) menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap kandungan histamin, TVB, peroksida dan total bakteri penghasil histamine pada ikan cakalang; (2) menganalisis daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri penghasil histamin; dan (3) menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap mutu organoleptik ikan cakalang.

Sampel ikan cakalang diambil dari Kelurahan.Tanaberu, Kecamatan. Bontobahari, Kabupaten Bulukumba. Ikan direndam selama satu jam dalam EDBW dengan konsentrasi 0, 10, 20 dan 30% kemudian disimpan pada suhu kamar selama 24 jam. Sampling untuk pengujian parameter pengamatan dilakukan pada 0, 6, 12, 18 dan 24 jam. Aktivitas anti bakteri pembentuk histamin diuji dengan metode difusi agar untuk mengukur daya hambat EDBW. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan one way ANOVA. Analisis data dilakukan dengan bantuan paket pengolah data SPSS 16.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kandungan histamin dapat dihambat dengan EDBW namun efektivitasnya kurang dari 12 jam. Laju peningkatan kandungan histamin menurun dengan bertambahnya konsentrasi EDBW yang digunakan. Pada penyimpanan 12 jam, kadar histamin terendah mencapai 60 mg/100g daging ikan pada perlakuan 20 dan 30% EDBW. Pada penyimpanan 18 jam maupun 24 jam sudah tidak layak konsumsi karena memiliki kadar histamin >70mg/100g ikan. EDBW dengan konsentrasi 30% mampu menekan kadar TVB setidaknya sampai 18 jam untuk tetap berada pada level layak konsumsi, angka peroksida mencapai nilai terendah 7,27mEq/kg. Konsentrasi EDBW 30% memiliki jumlah bakteri terendah $7,7 \times 10^3$ sel/g pada penyimpanan 12 jam, dan control memiliki jumlah bakteri $1,9 \times 10^5$ sel/g. Aktivitas antibakteri EDBW dikategorikan sedang karena memiliki zona hambat > 10 – 20 mm sedangkan mutu organoleptik kuraang di pengaruhi oleh EDBW.

nci : Ekstrak, daun belimbing wuluh, histamin, mutu, cakalang



ABSTRACT

IDA ASTUTI. *The use of extract of carambola leaves to hamper the increase of the histamine and the decrease of the quality of the skipjack tuna (Katsuwonus pelamis L.) (supervised by Metusalach and Jalil Genisa).*

The research aimed to analyze the potential use the carambola leaf extract for maintaining the skipjack tuna quality, more specifically: (1) to analyze the effect of the carrambola leaf extract on the histamine, TVB, peroxide contents, and the total bacteria in the tuna; (2) to analyze the power of the carambola leaf extract to hamper the histamine roducing bacteria; (3) to analyze the effect of the carrambola leaf extract on the organoleptic quality of the skipjack tuna.

The tuna samples were provided by Tanaberu Village, Bontobahri Sub-District, Bulukumba Regency. The fish was soaked in the concentration of the carambola leaf extrac of 0, 10, 20 and 30% for one hour, then the fish were kept at the room temperature for 24 hours. For the parameter test, the samples were observed at 0,6,12,18 and 24 hour. The activities of the histamine producing bacteria was power of the carambola leaf extract. The data were analyzed using one way ANOVA assisted by the data processing package of SPSS 16.

The research results of indicated that the increase of the histamine content could be hampered by the carambola leaf extract, though its effectiviness was less than 12 hours. The rate of increase of the histamine content decreased with the increase of the used carambola leaf extract. When the samples were kept for 12 hours, the lowest histamine level could reach 60,67 mg/100 g of the skipjack tuna meat with the treatment of the carambola leaf extract of 20 and 30%. After the tuna meat had been kept for 18 dan 24 hours, it could not be consumed because the histamine level was > 70 mg/100g of the skipjack tuna meat. The use of the carambola leaf extract with the concentration of the carambola leaf extract of 30% was able to reduce the TVB level in at least 18 hours to stay at the consumption level; and so was the peroxide figure which could reach the lowest value of 7,27 mEq/kg. the 30% concentration of the carambola leaf extract had the lowest number of bacteria of $7,7 \times 10^3$ cell/g when kept for 12 hours, and the control had the number of bacteria of $1,9 \times 10^5$ cell/g . The activities of the antibacterial of the carambola leaf extract were categorized as moderate because they had a hampering zone > 10 – 20 mm, while the organoleptic quality was not influenced by the carambola leaf extract.

Keywords: *Extract, starfruit, histamine, quality, skipjack tuna*



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii

PENDAHULUAN

1

Daftar Belakang

1



B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat penelitian	5
BAB. II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Ikan Cakalang (<i>Katsuwonus pelamis L</i>)	6
1. Komposisi kimia daging ikan	6
2. Kemunduran mutu ikan	7
3. Kandungan histamin ikan	11
4. Pembentukan histamin akibat aktifitas bakteri	12
B. Belimbing Wuluh (<i>Averhoa bilimbi L</i>)	18
1. Manfaat belimbing wuluh	19
2. Kandungan senyawa ekstrak	20
C. Antibakteri	21
1. Terpenoid	23
2. Flavonoid	25
3. Tanin	28
D. Kerangka Pikir	30
BAB. III METODE PENELITIAN	31
A. Waktu dan Tempat penelitian	31
B. Alat dan Bahan penelitian	31
C. Prosedur penelitian	32
Bahan ekstrak	32
Ekstraksi daun belimbing wuluh	33



3. Sampel ikan cakalang	35
a. Pengambilan sampel	35
b. Perendaman sampel dengan ekstrak	35
c. Penyimpanan sampel	36
D. Pengujian sampel penelitian	37
1. Analisis kadar histamine	37
2. Analisis total volatile Bases	39
3. Analisis angka peroksida	40
4. Analisis jumlah bakteri penghasil histamine	42
5. Analisis zona hambat EDBW terhadap bakteri	43
6. Analisis organoleptik	44
E. Rancangan percobaan	44
F. Analisis data	44
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
A. Uji kimiawi	45
1. Kadar histamine	45
2. TVB	50
3. Angka peroksida	54
B. Uji mikrobiologi	56
1. Jumlah bakteri penghasil histamin	56
2. Aktivitas antibakteri EDBW	61
3. Uji organoleptik	66
4. Kenampakan mata	67



2. Kenampakan insang	70
3. Lendir	73
4. Bau/aroma	75
5. Tekstur	79
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	83
A. Kesimpulan	83
B. Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	98



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Komposisi kimia pada daging ikan cakalang dalam 100 g ikan	8
2. Komposisi rata-rata ikan pada bagian yang biasa dimakan	8
3. Pertumbuhan dan pembentukan histamin pada media TFIB dengan suhu 38°C	16
4. Tingkat bahaya histamin per 100 g daging ikan	18
5. Hasil analisis proksimat daun belimbing wuluh	22



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Struktur kimia histamine	12
2. Daun belimbing wuluh	21
3. Struktur flavonoid	28
4. Struktur tannin	32
5. Skema pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh	37
6. Diagram alir pembuatan ekstrak	39
7. Pengaruh ekstrak belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kadar histamin ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	50
8. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama Penyimpanan terhadap TVB ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	54
9. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap angka peroksida ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	57
10. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap jumlah bakteri penghasil histamin ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	60
11. Bakteri penghasil histamin dan bukan penghasil histamin	66
12. Aktivitas daya hambat dan pengukurannya	67
13. Pengaruh EDBW terhadap pertumbuhan bakteri	68
14. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan mata ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	72
15. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan insang ikan cakalang (<i>K. pelamis</i> L)	75



16. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan lendir ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	77
17. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan bau ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	80
18. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan tekstur ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	84



DAFTAR SINGKATAN

No	Lambang/ singkatan	Teks arti lambang dan singkatan
1	%	Persen
2	FDA	Food and drugs organization
3	UPI	Unit pengolahan ikan
4	SKP	Surat kelayakaan penanganan dan pengolahan
5	HACCP	Hazard analytical critical and control point
6	HC	Health certificate
7	LPPMHP	Laboratorium pembinaan dan pengujian mutu hasil perikanan
8	<i>dkk</i>	Dan kawan-kawan
9	g	Gram
10	TVB	Total volatile base
11	<i>kka</i>	Kilo kalori
12	Mg	Milli gram
13	ATP	Adenosine triphosphat
14	pH	Derajat keasaman
15	DKP	Departemen kelautan dan perikanan
16	TBA	Thiobarbiturich acid
17	TMA	Trimethyl amine
		Lebih besar
	C	Derajat celcius



20	FAO	Food and agriculture organization
21	<i>spp</i>	Spesies
22	TFIB	<i>Tuna Fish Infusion Broth</i>
23	HDC	Histidin Decarboxylase
24	Depkes	Departemen kesehatan
25	Maks	Maksimal
26	Min	Minimal
27	MIC	Konsentrasi hambat minimum
28	ml	Milli liter
29	Lab	Laboratorium
30	SNI	Standar Nasional Indoneasia
31	L	Linn
32	OPT	Ortoptalatdikarboksilaldehyde
33	TCA	Asam trikarboxilat
34	Kg	Kilogram
35	HDPE	<i>High Density Polyethylene</i>
36	<i>ppm</i>	<i>Part permillion</i>
37	nm	Nano mikro
38	PCA	Plate count agar
39	BNJ	Beda nyata jujur
40	EDBW	Ekstrak daun belimbimbing wuluh
		Lebih kecil
	DMA	Dimethylamine



43	TMAO	Trimetil Amin Oksida
----	------	----------------------



Optimization Software:
www.balesio.com

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. <i>Score sheet</i> organoleptik ikan segar	93
2. Hasil uji organoleptik keadaan mata ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	95
3. Hasil analisis ragam kadar histamin ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	96
4. Hasil analisis ragam kadar TVB ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	97
5. Hasil analisis ragam angka peroksida ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	98
6. Hasil analisis ragam jumlah bakteri penghasil histamin ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	99
7. Hasil analisis ragam aktivitas antibakteri EDBW terhadap Pertumbuhan bakteri	100
8. Hasil analisis ragam organoleptik mata ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	101
9. Hasil analisis ragam organoleptik insang ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	102
10. Hasil analisis ragam organoleptik lendir ikan cakalang (<i>K. pelamis L</i>)	103
11. Hasil analisis ragam organoleptik bau/aroma ikan cakalang (<i>K. pelamis L</i>)	104
12. Hasil analisis ragam organoleptik tekstur ikan cakalang (<i>K.pelamis L</i>)	105



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produk perikanan merupakan salah satu jenis pangan yang perlu mendapat penanganan terkait dengan keamanan pangan. Mengingat Indonesia merupakan negara maritim terbesar di Asia Tenggara, sektor perikanan memegang peranan penting dalam perekonomian nasional terutama dalam penyediaan lapangan kerja, sumber pendapatan masyarakat dan sumber devisa Negara. Selain itu, produk perikanan juga merupakan sumber protein hewani yang dibutuhkan. Namun disisi lain, produk perikanan dapat menjadi media perantara bagi bakteri patogen dan parasit yang dapat menginfeksi manusia. Oleh karena itu sangat dibutuhkan penanganan yang tepat untuk mempertahankan mutu ekspor produk perikanan.

Peningkatan volume ekspor produk perikanan Indonesia selalu diiringi dengan penolakan. Pada tahun 2010 tercatat 146 kasus penolakan dengan 26 kasus pada bulan Januari - April, 20 kasus pada bulan Mei-Agustus, dan 100 kasus pada bulan September - Desember. Sebanyak 64 % kasus penolakan disebabkan oleh adanya bakteri pathogen maupun

yang dihasilkan seperti histamin, 26% disebabkan *filthy*, 6%
kan oleh bahan kimia, dan 4% disebabkan oleh *misbranding*.
an produk perikanan terbesar disebabkan oleh adanya



kontaminasi bakteri patogen serta *filthy*. Hal ini menunjukkan proses produksi pada industri perikanan di Indonesia masih kurang baik (Rinto, 2010).

Tahun 2006 jumlah penolakan hasil ekspor perikanan Indonesia mencapai 49 kasus. Saat itu Uni Eropa menghentikan ekspor Indonesia. Tahun 2007 menurun menjadi 17 kasus, tahun 2008 menjadi 6 kasus, dan tahun 2009 jadi 9 kasus. Menurut Rinto (2010), penolakan ekspor produk perikanan Indonesia oleh Eropa disebabkan karena produk tersebut mengandung histamin, *Salmonella*, logam berat, jorok, dan bahan kimia. Oleh karena itu seluruh Unit Pengolahan Ikan (UPI) yang hendak mengekspor produknya harus memiliki Surat Kelayakan Penanganan dan Pengolahan (SKP), Sertifikat *Hazard Analitical Critical and Control Point* (HACCP), dilengkapi *Health Certificate* (HC) yang diterbitkan oleh Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP).

FDA menetapkan 4 kategori penyebab penolakan terhadap komoditi impor ke Amerika Serikat yaitu adanya bakteri patogen maupun toksin yang dihasilkan, bahan kimia yang dilarang penggunaannya atau melebihi batas maksimum penggunaan, bahan asing yang seharusnya tidak terdapat pada produk (*filthy*), serta kesalahan pengemasan (*misbranding*).

Cara yang dapat dilakukan dalam mempertahankan mutu adalah

menghambat peningkatan histamin pada produk perikanan. Salah satunya adalah dengan pemberian garam. Hasil penelitian yang dilakukan



oleh Besas *dkk.* (2012) menyatakan bahwa histamin dapat dihambat dengan menggunakan garam pada konsentrasi tertentu.

Tanaman umumnya memiliki potensi dalam mengobati penyakit tertentu atau pun sebagai anti bakteri. Pengembangan sebagai anti bakteri dimanfaatkan sebagai bahan pengawet. Tanaman yang memiliki potensi anti bakteri diantaranya tanaman belimbing wuluh. Tanaman ini sangat bermanfaat bukan hanya buahnya saja tetapi bunga dan juga daun memiliki manfaat yang luar biasa untuk kesehatan dan juga sebagai anti bakteri.

Beberapa penelitian mengenai tanaman yang dapat menghambat histamin telah banyak dilakukan. Misalnya, penggunaan bahan pengawet dari tanaman, seperti daun sirih, daun jambu biji dan daun teh hijau. Tumbuhan ini diduga mengandung senyawa yang dapat menghambat aktifitas bakteri yang menyebabkan meningkatnya histamin pada produk perikanan. Selain itu, ada beberapa tanaman yang memiliki senyawa yang juga diduga dapat menghambat aktifitas bakteri. Misalnya, belimbing wuluh mengandung zat yang dapat membunuh bakteri (Faharani, 2009; Kamila *dkk.*, 2010). Bahan aktif pada daun belimbing wuluh yang dapat dimanfaatkan adalah tanin. Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil. Kadar tanin pada daun belimbing wuluh muda sebesar 10,92 % (Ummah, 2010), sedangkan



Fasyah *dkk.* (2010) mendapatkan bahwa kandungan tanin pada daun belimbing sebesar 10,78% per 50 g serbuk daun belimbing muda.

Hasil penelitian yang dilakukan Lidyawati *dkk.* (2006) menunjukkan bahwa simplisia daun belimbing wuluh memiliki kandungan tanin sebesar 14,1 % dan hasil karakteristik ekstrak methanol menunjukkan kandungan tanin sebesar 26,2 %. Oleh karena itu melalui penelitian ini akan dilihat bagaimana pemanfaatan daun belimbing wuluh sebagai anti bakteri yang dapat digunakan sebagai pengawet alami dan penghambat bakteri penghasil histamin.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap kandungan histamin, TVB, peroksida dan total bakteri pada ikan cakalang (*K. pelamis L.*).
2. Bagaimana menganalisis daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri penghasil histamin.
3. Bagaimana menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap mutu organoleptik ikan cakalang (*K. pelamis L.*).



C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum:

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi penggunaan ekstrak daun belimbing wuluh (EDBW) untuk mempertahankan mutu ikan cakalang (*K. pelamis L.*).

2. Tujuan khusus:

1. Menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap kandungan histamin, TVB, peroksida dan total bakteri pada ikan cakalang (*K. pelamis L.*).
2. Menganalisis daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri penghasil histamin.
3. Menganalisis pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap mutu organoleptik ikan cakalang (*K. pelamis L.*).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan pada penggunaan bahan pengawet alami dalam menghambat peningkatan histamin serta menekan pertumbuhan bakteri penghasil histamin ikan cakalang (*K. pelamis L.*)



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L.)

Pada umumnya ikan merupakan bahan pangan yang mudah mengalami kerusakan biologis oleh enzim atau mikroorganisme pembusuk. Oleh karena itu memerlukan penanganan yang tepat untuk mempertahankan mutunya. Proses kerusakan ikan berlangsung lebih cepat di daerah tropis karena suhu dan kelembaban harian yang tinggi. Proses kemunduran mutu tersebut makin dipercepat dengan penanganan atau penangkapan yang kurang baik, fasilitas sanitasi yang kurang memadai serta terbatasnya sarana distribusi dan pemasaran.

Amina biogenik termasuk histamin yang dapat dibentuk dalam ikan selama kegiatan penangkapan berlangsung, bahkan pada tahap penyimpanan. Amina biogenik mungkin mulai berkembang setelah ikan mati dan meningkat jika terlalu lama diletakkan dalam air atau tidak segera ditempatkan pada suhu yang cukup dingin. Salah satu kerusakan yang sering terjadi pada ikan adalah terjadinya kerusakan kimiawi yang disebabkan oleh bakteri yang dapat meningkatkan histamin. Histamin bersasal dari histidin yang secara alami terdapat pada semua spesies ikan *family scombroide*.



komposisi Kimia Daging Ikan Cakalang

Berdasarkan hasil penelitian ternyata daging ikan cakalang mempunyai komposisi kimia yang tinggi sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi kimia pada daging ikan cakalang dalam 100g

No	Komposisi	Jumlah
1	Energi ikan cakalang	198 kkal
2	Protein ikan cakalang	36,5 g
3	Lemak ikan cakalang	2,2 g
4	Karbohidrat ikan cakalang	5,5 g
5	Kalsium ikan cakalang	236 mg
6	Fosfor ikan cakalang	346 mg
7	Zat besi ikan cakalang	3,7 mg
8	Vitamin A ikan cakalang	0 IU
9	Vitamin B ₁ ikan cakalang	0,06 mg

Sumber: Nadila (2013)

Pada umumnya hasil perikanan mengandung protein yang tinggi, jumlah protein relatif tidak bervariasi tetapi kandungan lemaknya bervariasi. Air merupakan komponen terbanyak dalam tubuh ikan apabila dibandingkan dengan hasil hewani lainnya. Ikan juga merupakan sumber protein yang baik sebagaimana dijelaskan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 2. Komposisi rata-rata ikan pada bagian yang biasa dimakan.

Golongan ikan	Air %	Protein %	Lemak %	Abu %
Ikan Gemuk	68,8	20	10	1,4
Ikan Kurus	72,2	19	2,5	1,3
Ikan Sedang	81,8	16,4	0,5	1,3
Crustaceae	76,0	17,8	2,1	2,1
Molusca	81,0	13	1,5	1,6

Sumber: Khonsan, (2002)

2. Kemunduran Mutu Ikan

Mutu atau kualitas adalah sesuatu yang memenuhi kebutuhan atau harapan konsumen. Mutu ikan identik dengan kesegaran ikan yang dapat

kan utuh atau tanpa insang dan isi perut, bersih, bebas dari setiap g menandakan kebusukan, bebas dari tanda dekomposisi dan an, bebas dari sifat alamiah lain yang dapat menurunkan mutu



dan tidak membahayakan kesehatan (Bremner, 2000 *dalam* Aniyalisa, 2009).

Kesegaran ikan memberikan kontribusi besar terhadap mutu dari ikan tersebut. Kemunduran mutu pada ikan dapat disebabkan oleh penanganan pada saat pasca panen ataupun saat diolah. Perubahan reaksi biokimia dan fisika kimia yang sangat cepat terjadi mulai dari ikan tersebut ditangkap sampai dikonsumsi.

Kemunduran mutu ikan digolongkan menjadi 4 tahap, yaitu *prerigor*, *rigormortis*, *postrigor* dan pembusukan oleh bakteri. Menurunnya kesegaran atau kemunduran mutu ikan disebabkan adanya reaksi kimia dan aktifitas mikroba. Proses kemunduran mutu ikan selama penyimpanan, proses perubahan tingkat kesegaran ikan pada periode penyimpanan awal didominasi oleh proses autolisis dan kemudian digantikan oleh perubahan akibat aktivitas bakteri (Eskin, 1990 *dalam* Aniyalisa, 2009).

a. Tahap prerigor

Tahap prerigor merupakan perubahan yang pertama kali terjadi setelah ikan mati. Fase ini ditandai dengan pelepasan lendir cair, bening atau transparan yang memenuhi seluruh tubuh ikan. Proses ini disebut dengan hyperemia yang berlangsung 2-4 jam. Lendir yang dikeluarkan ini sebagian besar terdiri dari glukoprotein dan musin yang merupakan

media yang ideal bagi pertumbuhan bakteri (Junianto, 2003)



Pada tahap ini daging ikan kenyal dan lembut. Reaksi biokimia yang terjadi yaitu *adenosine triphosphat* (ATP) dan *kreatin phospat* menurun dan aktifnya reaksi glikolisis postmortem. Reaksi glikolisis ini mengubah glikogen menjadi asam laktat yang menyebabkan pH menurun.

b. Tahap rigormortis

Pada tahap rigormortis, jaringan otot menjadi kaku. Perubahan rigormortis merupakan akibat dari suatu rangkain perubahan kimia yang kompleks di dalam otot ikan setelah mati. Pada fase ini terjadi ikatan permanen aktin dan miosin yang disebut aktomiosin. Tingkat kekakuan dan kekenyalan dari jaringan daging ikan biasanya dapat dijadikan sebagai indikator kualitas ikan tersebut oleh para konsumen. Kandungan glikogen yang tinggi dapat menunda datangnya proses rigor. Fase rigormortis dianggap penting karena pada fase ini belum terjadi proses pembusukan dan dikenal sebagai petunjuk bahwa ikan masih dalam keadaan baik.

Banyak protease yang telah diisolasi dari otot ikan dan efek kerusakan proteolitik yang disebut *cathepsins* yaitu “asam” protease. Dalam jaringan ikan, protease isozomal diyakini bertanggung jawab dalam pemecahan protein pada bagian daging yang rusak (cedera). *Cathepsins* adalah bagian yang paling aktif dalam jaringan hidup tapi biasa dilepaskan kecairan sel saat terjadi benturan fisik atau karena pembekuan dan

in pasca rigormartis (Bussova, 2013).

p postrigor



Pada fase post rigormortis, daging kembali melunak dan proses autolisis mulai terjadi. Autolisis dimulai bersamaan dengan menurunnya pH. Mula-mula protein terpecah menjadi polipeptida, pepton, dan akhirnya menjadi asam amino. Disamping asam amino, autolisis juga menghasilkan sejumlah kecil pirimidin dan purin, basa yang di bebaskan pada waktu pemecahan asam nukleat. Bersamaan dengan itu, hidrolisis lemak menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Autolisis merubah struktur daging sehingga kekenyalan menurun. Autolisis tidak dapat dihentikan walaupun dalam suhu yang sangat rendah. Biasanya proses autolisis selalu diikuti dengan meningkatnya jumlah bakteri.

Semua hasil penguraian enzim selama proses autolisis merupakan media yang sangat cocok untuk pertumbuhan bakteri dan mikroba lainnya. Kerusakan mikrobiologis mulai intensif setelah proses rigormortis selesai. Bakteri yang semula hanya berada di insang, isi perut, dan kulit ikan mulai masuk ke otot dan memecahkan senyawa-senyawa sumber energi seperti protein, lemak dan karbohidrat menjadi senyawa-senyawa pembusuk berupa indol, skatol, amoniak, asam sulfid dan lain-lain.

d. Tahap pembusukan

Mikroorganisme dominan yang berperan prenting dalam proses penurunan kesegaran ikan adalah bakteri. Dekomposisi berjalan intensif, khususnya setelah ikan melewati fase rigormortis, pada saat jaringan otot

(Irianto *dkk.*, 2009).



Bakteri mengeluarkan getah pencernaan, enzim yang merusak dan menghancurkan jaringan. Bakteri pada daging menyebabkan perubahan bau dan rasa yang pada mulanya terasa masam, beraroma seperti rumput atau asam. Bau dan rasa ini dapat berubah secara bertahap menjadi pahit atau sulfid serta dapat berubah menjadi amoniak pada tahap akhirnya. Selain perubahan bau dan rasa, bakteri menyebabkan perubahan tampilan dan ciri fisik lendir. Lendir pada kulit dan insang dapat berubah dari yang biasanya tampak jernih dan berair menjadi keruh dan kehitaman. Warna kulit ikan hilang dan menjadi tampak pucat dan pudar, lapisan perut menjadi pudar dan hampir lepas dari dinding bagian dalam tubuh (DKP dan JICA, 2008).

3. Kandungan Histamin

Perubahan pada ikan setelah ditangkap dan selama penyimpanan meliputi aktifitas mikroba, enzim autolisis dan reaksi kimia yang dapat dijadikan sebagai indikator mutu. Proses degradasi ATP dapat menjadi indikator mutu yang dapat ditentukan dengan menghitung nilai K. Kemunduran mutu ikan juga dapat dideteksi dengan pengujian secara kimiawi seperti kandungan TVB (*Total volatile base*), TBA (*Thiobarbiturich acid*), TMA (*Trimethyl amine*), dan amino biogenik terutama histamin.

Beberapa jenis ikan terutama dari *family scombrodae* mempunyai kandungan histidin bebas yang tinggi, sebagai contoh tuna mata besar 491 mg/100 g daging, Mahi-mahi 344 mg/100 g, Cakalang 1192 mg/100 g, Tuna ekor kuning 740 mg/100 g, Kembung 600 mg/100 g dan



Albakor 2mg/100g (Perez-Martin *dkk.*, 1988; Antoine *dkk.*, 1999: *dalam* Sophia *dkk.*, 2007). Menurut hasil penelitian Gonowiakz *dkk.*, 1990, *dalam* Hartono *dkk.*, 2005, hanya ikan yang mengandung histidin bebas diatas 100mg/100g daging yang mampu menghasilkan histamin.

Pembentukan histamin pada setiap spesies berbeda tergantung pada kandungan histidinnya, tipe dan banyaknya bakteri yang menunjang pertumbuhan dan reaksi mikroba, serta dipengaruhi oleh temperatur dan pH lingkungan (Genisa, 2000).

4. Pembentukan histamin akibat aktifitas bakteri

Setelah ikan mati, sistem pertahanan tubuhnya tidak bisa lagi melindunginya dari serangan bakteri, dan bakteri pembentuk histamin mulai tumbuh dan memproduksi enzim dekarboksilasi yang menyerang histidin dan asam amino bebas lainnya menjadi histamin. Histamin umumnya dibentuk pada temperatur tinggi ($>20^{\circ}\text{C}$). Pendinginan dan pembekuan yang cepat segera setelah ikan mati merupakan tindakan yang sangat penting dalam upaya mencegah pembentukan scrombotoxin (histamin). Histamin tidak terbentuk bila ikan selalu disimpan di bawah suhu 5°C . Pembekuan yang terlalu lama (24 minggu) diduga menginaktifkan bakteri pembentuk enzim dekarboksilase dan diduga pula dapat mengurangi pembentukan histamin. Penelitian lebih lanjut menyebutkan bahwa kenaikan pembentukan histamin dapat terus berjalan

n dalam keadaan penyimpanan pembeku (Taylor *dkk.*, 2002
ffiano, 2011).



Selama proses kemunduran mutu, bakteri memproduksi enzim dekarboksilasi yang mengubah histidin bebas dan asam amino lain pada daging ikan menjadi histamin dan amin biogenik lain seperti *putresin* (*ortidin*), *kadaferin* (*lisin*), serta *spermidin* dan *spermin* (*arginin*) (Lehane dkk.,2000).

Indikasi awal proses pembusukan ikan adalah terjadinya kehilangan karakteristik dari bau dan rasa ikan yang berkaitan dengan degradasi secara autolisis. Autolisis adalah proses penguraian protein dan lemak oleh enzim (*protease* dan *lipase*) yang terdapat didalam daging ikan. Salah satu ciri-ciri terjadinya perubahan secara autolisis adalah dihasilkannya amoniak sebagai hasil akhir pada jaringan tubuh. Penguraian protein dan lemak dalam autolisis menyebabkan perubahan rasa, tekstur, dan penampakan ikan (FAO, 1995).

Bersamaan dengan itu, hidrolisis lemak menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Autolisis merubah struktur daging sehingga kekenyalan menurun. Kecepatan proses autolisis dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah proses autolisis dapat diperlambat tetapi tidak dapat dihentikan sama sekali (Genisa, 2000). Pertumbuhan bakteri pada ikan yang disimpan dalam keadaan beku sangat terhambat, bahkan cenderung mengalami penurunan. Kim dkk. (2004) mengatakan bahwa pada suhu -

30°C, *Morganella morganii* yang awalnya berjumlah 10^6 koloni/g daging menurun menjadi 10^4 koloni/g pada ikan *Mackerel*, *Albacore*, *Mahi-*
h *Salmon* yang disimpan selama 3 bulan.



Amino biogenik terbentuk terutama melalui dekarboksilasi asam amino bebas tertentu dengan eksogen *decarboxylase* dirilis oleh spesies mikroba yang terkait dengan *seafood*. Banyak spesies bakteri yang berbeda diketahui memiliki histidin dekarboksilase dan memiliki kemampuan untuk menghasilkan histamin meskipun hanya *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Hafnia alvei* telah diisolasi dari ikan yang dicurigai memiliki racun scombroid (Taylor & Speckard, 1983 dalam Affiano, 2011). Spesies bakteri lainnya yang mampu memproduksi histamin telah diidentifikasi, diantaranya adalah bakteri enterik yang termasuk *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Serratia fonticola*, *S. liquefaciens*, *Raoultella planticola*, *R. ornithinolytica* dan *Citrobacter freundii* (Ababouch dkk., 1991; Kim dkk., 2003.; dalam Tsai dkk., 2004). Selain bakteri enteric, *Clostridium spp*, *Vibrio alginolyticus*, *Acinetobacter lowffi*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *Aeromonas spp.*, dan *Photobacterium spp*. Ini menunjukkan adanya histamin yang terbentuk hasil dari *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Rahnella* dan *Acinetobacter* pada fillet Sailfish di Taiwan, namun gagal diisolasi. Salah satu dari tiga yang disebutkan di atas, pembentuk histamin paling besar adalah *Havnia alvei*, *Morganella morganii* dan *Klebsiella pneumonia* (Tsai dkk., 2004).

Dibawah ini tabel pertumbuhan dan pembentukan histamin.



Tabel 3. Pertumbuhan dan pembentukan histamin pada media TFIB dengan suhu 38°C selama 48 jam

Organisme	Viable count/ml		Histamin (µg/10 cells)	
	Aerobic	Anaerobic	Aerobic	Anaerobic
<i>C. Perfringens</i>	-	8.6×10^6	ND	110
<i>E. aerogeneses</i>	1.3×10^9	5.4×10^9	0.026	0.00072
<i>P. mirabilis</i>	7.3×10^8	6.2×10^6	0.057	6.9
<i>V. alginolyticus</i>	5.5×10^7	4.7×10^6	0.14	0.57
<i>K. pneumonia</i>	5.0×10^7	1.1×10^8	22	29
<i>P. morganii</i>	8.3×10^8	5.5×10^8	2.4	2.9

Sumber: Rinto (2007)

C. perfringens mempunyai kemampuan membentuk histamin paling besar bila dibandingkan dengan bakteri lainnya pada media TFIB dari *skipjack tuna*. Pada jenis ikan yang berbeda kemampuan pembentukan histamin juga berbeda. Hal ini sangat dipengaruhi oleh habitat bakteri sebelumnya sebagai normal microflora pada berbagai jenis ikan serta kandungan histidin bebas pada jaringan daging ikan.

M. morganii sebagai bakteri yang diindikasikan paling besar membentuk histamin pada ikan golongan *Scombroidae* juga mempunyai kemampuan pembentukan histamin yang berbeda pada berbagai jenis ikan. Pada ikan *mackerel*, *M. morganii* paling besar membentuk histamin dengan berbagai variasi suhu (Rinto, 2007).

Di dalam tubuh manusia, histamin memiliki efek *psikoaktif* dan *vasoaktif*. Efek psikoaktif menyerang sistem saraf transmitter manusia, sedangkan efek vasoaktifnya menyerang sistem vaskuler. Pada orang-

yang peka, histamin dapat menyebabkan migran dan meningkatkan darah.



Kandungan histamin sebesar 20 mg/100 g ikan, terjadi karena penanganan ikan yang tidak tepat serta tidak higienis. Gejala hanya akan muncul apabila kita mengkonsumsi ikan dengan kandungan histamin yang berlebihan, yaitu dalam jumlah diatas 70 – 1000 mg. Akibat yang ditimbulkan dari mengkonsumsi kandungan histamin yang berlebihan adalah muntah-muntah, rasa terbakar pada tenggorokan, bibir bengkak, sakit kepala, kejang, muka dan leher kemerah-merahan, gatal-gatal dan badan lemas.

Kelebihan histamin dalam tubuh manusia menyerang vaskuler, dilatasi pembuluh darah perifer, terutama arteri yang mengakibatkan hipotensi, flushing dan sakit kepala. Histamin juga menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler, sehingga gejala seperti *edema*, *urtikaria*, *haemoconcentration* dan peningkatan kekentalan darah. Syok dapat terjadi akibat penggunaan histamin dalam dosis yang sangat tinggi (Owen dan Woodwoar, 1980 *dalam* FAO, 2012).

Histamin juga merupakan stimulan yang kuat dari kedua neuron sensorik dan motorik. Stimulasi ini mungkin penting dalam memproduksi rasa sakit dan gatal-gatal yang sering menyertai lesi urtikaria keracunan histamin. Stimulasi saraf ini diperantarai oleh reseptor H₁ (Nutrinen dan Panula, 2010 *dalam* FAO, 2012).

Rinto (2007), menyatakan bahwa burger yang terbuat dari ikan *Skipjack tuna* dan disimpan pada suhu 0°C selama 4 minggu kandungan histaminnya terus mengalami peningkatan dari 0,775 menjadi



8,196 mg/100 g sampel. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas perombakan oleh enzim *histidine dekarboxylase* (HDC) terus berjalan walaupun bakteri yang terdapat pada produk terhambat pertumbuhannya. Berikut tabel tingkat bahaya histamin.

Tabel 4. Tingkat bahaya histamin per 100g daging ikan.

Kadar histamine per 100g	Tingkatan bahaya
< 5 mg	Aman di konsumsi
5-20 mg	Kemungkinan toksik
20 – 100	Berpeluang toksik
>100 mg	Toksik

Sumber : Shalaby (1996) dalam Summer dkk., (2004)

Dengan adanya beberapa bahaya keracunan yang disebabkan mengkonsumsi ikan yang sudah tidak segar, maka sangatlah penting untuk dilakukan penelitian guna mencegah peningkatan kadar histamin pada ikan. Beberapa penelitian tentang penggunaan bahan alami untuk menghambat peningkatan histamin telah dilakukan. Misalnya, penggunaan lengkuas sebagai bahan pengawet ikan (Wulandari dkk., 2010). Penelitian ini menggunakan dosis lengkuas dan lama perendaman sebagai variabel bebas sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah bakteri ikan bandeng.

Menurut Adawyah (2007), ada dua jenis pengawet yaitu alami dan kimia. Fungsinya membantu mempertahankan bahan makanan dari serangan mikroorganisme pembusuk (bakteri) dengan menghambat,

ah, menghentikan proses pembusukan, fermentasi, pengasaman busakan komponen lain dari bahan pangan. Hasil dari beberapa n menunjukkan bahwa rempah-rempah dan bumbu asli Indonesia



ternyata banyak mengandung zat aktif antimikroba yang berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan pengawet alami seperti gula tebu, gula merah, garam, kulit kayu manis, cengkeh, kunyit, lengkuas dan daun sirih.

Selain itu, ada pula tanaman lainnya yang dapat mempertahankan kualitas bahan pangan. Senyawa-senyawa tersebut dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi, yang bukan merupakan senyawa penentu kelangsungan hidup secara langsung tetapi lebih sebagai hasil mekanisme pertahanan diri organisme. Kandungan senyawa metabolit sekunder telah terbukti bekerja sebagai derivat anti kanker, anti bakteri dan antioksidan, antara lain adalah golongan alkaloid, tanin, golongan polifenol dan turunannya.

Heruwati *dkk.* (2009) juga telah menggunakan ekstrak daun teh hijau untuk menghambat histamin pada cakalang, begitupun Ariyani *dkk.* (2005) yang menggunakan larutan asam untuk menghambat histamin pada ikan pindang lison. Kedua bahan alami tersebut memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan histamin, jumlah bakteri pembentuk histamin dan TVB akan tetapi tidak berpengaruh nyata dengan kelembaban, pH dan nilai organoleptik ikan.

B. Belimbing Wuluh (*Averhoa billimbi* L.)

Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam keluarga g *Averrhoa billimbi*. Diperkirakan tanaman ini berasal dari daerah tropik. Tanaman ini tumbuh baik di negara asalnya sedangkan di



Indonesia banyak dipelihara di pekarangan dan kadang-kadang tumbuh secara liar di ladang atau tepi hutan (Thomas, 2007).



Gambar 1. Daun Belimbing Wuluh

1. Manfaat Belimbing Wuluh

Perasaan air buah belimbing wuluh sangat baik untuk asupan kekurangan vitamin C. Ada yang memanfaatkan buah belimbing wuluh untuk dibuat manisan dan sirup, sebagai obat sariawan, sakit perut, gondongan, rematik, batuk rejan, gusi berdarah, sakit gigi, memperbaiki fungsi pencernaan, untuk membersihkan tangan yang kotor, mencuci botol, menghilangkan bau manis, sebagai bahan kosmetik serta mengkilapkan barang-barang yang terbuat dari kuningan (Hyuskha, 2008).

Pengujian secara invitro pada bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*), *Stapylococcus aureus* (*S. aureus*), *Micrococcus luteus* (*M. luteus*) dan *Pseudomonas Fluorescens* (*P. fluorescens*) menunjukkan potensi yang aktif sebagai antibakteri. Adanya potensi antibakteri yang terdapat dalam

belimbing wuluh, menjadikan peluang untuk dikembangkan penelitian lebih lanjut sebaga obat diare atau pengawet alami ti formalin.



2. Kandungan ekstrak daun belimbing wuluh

Daun belimbing wuluh yang diekstraksi adalah daun yang masih muda karena memiliki kandungan tanin lebih tinggi yaitu 1,60% dibandingkan dengan daun tua yang hanya memiliki kandungan 1,28% (Mukhliso, 2010). Senyawa tanin pada daun dapat berubah-ubah sesuai musim serta pigmen dalam vakuola (Hidayah, 1995 *dalam* Mukhliso, 2010).

Faharani (2008), menjelaskan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Dalimatra *dkk* (2006), juga menyatakan bahwa didalam daun belimbing wuluh selain tanin juga mengandung sulfur, asam format, kalsium oksalat dan kalium sitrat. Komposisi hasil analisis proksimat daun belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis proksimat daun belimbing wuluh

Karakteristik	Proporsi %	Depkes (1999)
Rendemen	64,26	-
Kadar air	8,80	-
Kadar abu	7,86	Maks. 7,75
Kadar abu tak larut asam	0,35	Maks. 1
Kadar sari larut dalam air	18,17	Min. 18
Kadar sari larut dalam alcohol	15,90	Min. 11
Lemak	1,72	-
Protein	9,57	-
Karbohidrat	72,05	-

Sumber : Hidayati (2007).



C. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri. Antibakteri dalam definisi yang luas adalah suatu zat yang mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Antibakteri biasanya dijabarkan sebagai suatu zat yang digunakan untuk membersihkan permukaan dan menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan (Kamilah, 2010).

Bahan antibakteri sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Cara kerja antibakteri yaitu, merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein.

Pemakaian antibakteri yang berlebihan menyebabkan mikroba yang semula sensitif terhadap antibakteri menjadi resisten. Oleh karena itu, senyawa antibakteri diperlukan untuk mengatasi bakteri resisten tersebut (Lenny, 2006). Resistensi sel mikroba ialah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antimikroba. Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup. Resistensi dibagi dalam kelompok resistensi genetik, resistensi non-genetik dan resistensi silang. Mekanisme resistensi terhadap anti mikroba antara lain:

an tempat kerja (*target site*) obat pada mikroba. Mikroba kan permeabilitasnya hingga obat sulit masuk kedalam sel.



Inaktivasi obat oleh mikroba, mikroba membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antimikroba dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh antimikroba (Ganiswarna, 2003 *dalam* Lathifa, 2008).

Mekanisme kerja antibakteri secara umum dijelaskan oleh Cahyadi, (2008):

- a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Bahan kimia tidak perlu masuk ke dalam sel untuk menghambat pertumbuhan, reaksi yang terjadi pada dinding sel atau membran sel dapat mengubah permeabilitas sel. Hal ini dapat mengganggu atau menghalangi jalannya nutrisi masuk ke dalam sel, dan mengganggu keluarnya zat-zat penyusun sel dan metabolit dari dalam sel. Kerusakan membran sel dapat terjadi karena reaksi antara bahan pengawet/senyawa antimikroba dengan sisi aktif atau larutnya senyawa lipid. Dinding sel merupakan senyawa yang kompleks, karena itu senyawa kimia dapat bercampur dengan penyusun dinding sel sehingga mempengaruhi dinding sel dengan jalan mempengaruhi penghambatan polimerisasi penyusun dinding sel.
- b. Menghambat sistem genetik. Dalam hal ini senyawa antimikroba/bahan kimia masuk ke dalam sel. Beberapa senyawa kimia dapat berkombinasi atau menyerang ribosom dan menghambat sintesis protein. Jika gen-gen dipengaruhi oleh senyawa anti



mikroba/bahan kimia maka sintesa enzim yang mengontrol gen yang dihambat.

- c. Penghambat enzim, perubahan pH yang mencolok, pH naik turun dapat menghambat kerja enzim dan mencegah perkembangbiakan mikroorganisme.
- d. Peningkatan nutrisi esensial. Mikroorganisme mempunyai kebutuhan nutrisi yang berbeda-beda, karena itu pengikatan nutrisi tertentu mempengaruhi organisme yang berbeda pula. Apabila nutrisi tersebut diikat, lebih sedikit berpengaruh pada organisme dibandingkan dengan organisme lain yang memerlukan nutrisi tersebut dalam jumlah banyak.

Antibakteri pada tumbuhan ada beberapa bagian seperti, terpenoid, flavonoid dan tanin.

1. Terpenoid

Terpenoid adalah suatu golongan senyawa yang sebagian besar terjadi dalam dunia tumbuh-tumbuhan. Terpenoid merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri. Minyak atsiri yang berasal dari bunga pada awalnya dikenal dari penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hydrogen dan atom karbon dari senyawa terpenoid yaitu 8:5 dan dengan perbandingan tersebut dapat

dan bahwa senyawa tersebut termasuk golongan terpenoid.



Minyak atsiri bukanlah senyawa murni tetapi merupakan campuran senyawa organik yang kadangkala terdiri dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon dan hydrogen atau karbon. Hydrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik yang secara umum disebut terpenoid. Monoterpen-monoterpen dan seskuiterpen adalah komponen utama dari minyak atsiri. Minyak atsiri adalah bahan yang mudah menguap, sehingga mudah dipisahkan dari persenyawaan padat yang berbeda dalam hal komposisi dan titik cairnya, kelarutan dalam pelarut organik dan kelarutan dalam air yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga. Salah satu yang paling populer untuk memisahkan minyak atsiri dari jaringan tumbuh-tumbuhan ialah penyulingan. Senyawa-senyawa diterpen dan triterpen tidak dapat diperoleh dengan jalan destilasi uap, tapi diperoleh dari tumbuh-tumbuhan dan tanaman atau resin dengan jalan isolasi serta metoda pemisahan tertentu.

Minyak atsiri memiliki kandungan anti bakteri terhadap aktivitas bakteri *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Typhimurium*, *Escherichia coli* 0157: H7, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* pada tingkat antara 0,2 dan 10 ml Al 1. Organisme Gram-negatif sedikit kurang rentan dari pada bakteri gram positif. Sejumlah komponen

atsiri telah diidentifikasi sebagai anti bakteri yang efektif, misalnya *linalool*, *Thymol*, *Eugenol*, *Perillaldehyde*, *Cinnamaldehyde* dan asam



sinamat, memiliki konsentrasi hambat minimum (MIC) dari 0,05-5 Al ml 1 in vitro (Burt, 2004).

Senyawa terpenoid paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpena alkohol monohidroksi dalam tumbuhan tidak dibarengi oleh pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpena asam dengan flavonoid (Robinson, 1995 *dalam* Lathifa, 2008).

Triterpenoid alkohol terdapat bebas dan juga sebagai glikosida. Triterpenoid asiklik yang penting hanya hidrokarbon skualena, yang pertama kali diisolasi untuk pertama kali dari minyak hati ikan hiu. Sejauh ini, tidak ditemukan senyawa triterpenoid dengan struktur monosiklik atau bisiklik. Triterpenoid trisiklik langka dan dikenal beberapa triterpeoid tetrasiklik. Contoh triterpenoid tetrasiklik adalah alkohol eufol dari *Euphorbia* sp dan asam elemei dari *Canarium commune*. Triterpenoid yang paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995 *dalam* Mukhliso, 2010).

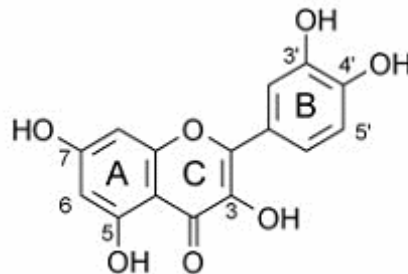
2. Flavonoid

Tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal mengandung senyawa kimia hasil dari metabolisme tanaman itu sendiri. Senyawa kimia hasil metabolisme primer seperti karbohidrat, protein dan lemak digunakan sendiri oleh tanaman tersebut untuk pertumbuhannya. Senyawa metabolit

r seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid



merupakan produk alami tanaman yang berfungsi sebagai pelindung dari gangguan penyakit (Heldt, 2005 *dalam* Daniel, 2008).



Gambar 2. Struktur flavonoid (Lenny, 2006)

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Harborn, 1984 *dalam* Lathifah, 2008). Zakaria *dkk.* (2007) memperkirakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam belimbing wuluh adalah tipe *luteolin* dan *apigenin*.

Masing-masing senyawa flavonoid mempunyai struktur dasar tertentu. Senyawa flavonoid diklasifikasikan berdasarkan kerangka karbonnya seperti khalkon, flavanon, flavon, flavan-3-ol dan 3-preniflavon (Hakim, 2007 *dalam* Daniel 2008). Sintesis flavonoid pada suatu tanaman yang berasal dari asam amino fenilalanin dan tirosin yang merupakan hasil dari jalur sikimat. Asam amino tersebut mengubah struktur cincinnya menjadi fenol dan masuk dalam jalur malonat. Tahap awal jalur malonat

nakan *p*-komaril-KoA dan 3 molekul malonil KoA membuat khalkon yang dibutuhkan dalam jalur ini memiliki sifat yang tidak



dapat diubah sehingga menghasilkan flavonoid (Heldt, 2005 *dalam* Daniel, 2008).

Flavonoid yang merupakan senyawa fenolik alam memiliki sifat antioksidan dan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker melalui mekanisme penghambatan siklus sel, pemacuan *Apoptosis*, penghambatan *Angiogenesis*, *Antiproliferatif* atau kombinasi dari beberapa mekanisme tersebut. Jenis flavonoid, misalnya genestein dan kuersetin, mampu menghambat aktivitas protein kinase pada daerah pengikatan ATP. Peran dari protein kinase sendiri, yaitu sebagai sinyal pertumbuhan pada sel-sel kanker dan pada jalur anti apoptosis (Meiyanto, 2007 *dalam* Hamid *dkk.*, 2013).

Flavonoid merupakan sekelompok zat kimia nabati yang diproduksi oleh berbagai tanaman dalam jumlah tinggi. Lebih dari 8000 struktur senyawa flavonoid telah diidentifikasi sejumlah besar senyawanya timbul dari berbagai kombinasi dari beberapa kelompok hidroksil dan metoksil mengganti kerangka dasar.

Flavonoid terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, namun ada tiga kelompok yang umum yaitu antosiani, flavonol dan flavon. *Antosianin* (dari bahasa Yunani Anthos, bunga dan kyanos, biru-tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat pada

yang berwarna merah, ungu dan biru. Pigmen ini juga terdapat di



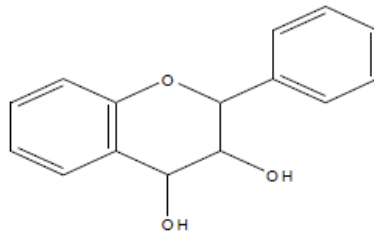
berbagai bagian tumbuhan lain misalnya buah tertentu, batang, daun dan akar.

Sebagian besar flavonoid terhimpun di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. Senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu anti bakteri yang bekerja dengan cara mengganggu fungsi membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheller, 1993 *dalam* Kamila, 2010).

3. Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kuliat. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson 1995 *dalam* Lathifah, 2008). Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, *Gimnospermae* dan *Angiospermae*, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1984 *dalam* Lathifa, 2008).





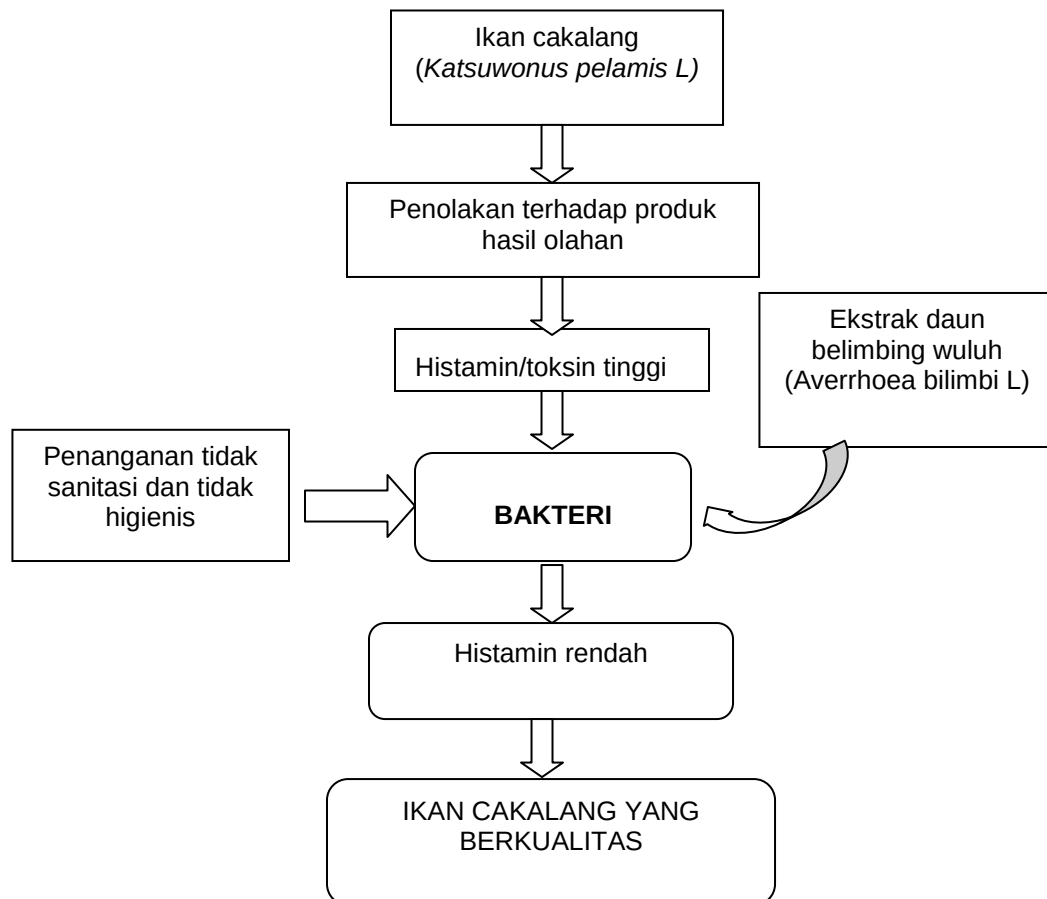
Gambar 3. Struktur Tanin

Tanin memiliki aktivitas anti bakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut: toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri.

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dijelaskan Naim, 2004 dalam Kamila (2010), berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol.



D. Kerangka Pikir



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Juni 2014, bertempat di Lab. Teknologi Hasil Perikanan dan Lab. Mikrobiologi FIKP Universitas Hasanuddin. Uji organoleptik, uji histamin dan uji bakteri penghasil histamin dilaksanakan di Balai Pembinaan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (BPPMHP) Makassar, serta uji TVB dan uji angka peroksida dilakukan di Lab. Gizi Pakan Ternak Fakultas Peternakan Unhas.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan untuk analisis histamin dengan Spektrofotometri adalah labu erlenmeyer, gelas ukur, pisau, *blender*, *waterbath*, labu ukur, kertas saring *Whattmann*, spektrofotometer tipe Varian Cary Eclipse FL0811M007, *glass wool*, pipet volumetrik, pipet tetes, kolom kromatografi, timbangan analitik dan buret. Alat yang digunakan pada analisis TVB (SNI 2354.8:2009) adalah blender, buret, corong gelas, erlenmeyer, gelas piala, kertas saring *Whattman*, labu takar, seperangkat alat destilasi uap, dan timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001g. Alat yang digunakan untuk analisis bakteri penghasil histamine dengan media Niven (Modifikasi Niven 1981) dan uji difusi agar adalah

pipet volumetrik, *Homogenizer*, plastik steril, cawan petri, r, autoklaf, talenan, *waterbath*, dan *stopwatch*, Alat yang



digunakan untuk ekstraksi daun belimbing wuluh: corong pisah, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, kapas dan pipet.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan cakalang (*K.pelamis L*), daun belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L*), etanol, resin penukar ion (*dowex 1-x800-100-mesh*), aquades, HCl, NaOH, H₃PO₄, *ortoptalatdikarboksilaldehyde* (OPT), larutan TCA, asam borat, K₂CO₃, vaseline, indikator *conway*, larutan *Butterfield's Phospate Buffered*, Media niven, NH₄OH, H₂SO₄ dan CHCl₃.

C. Prosedur Penelitian

1. Bahan ekstrak

Bahan ekstrak yang digunakan adalah daun belimbing yang berasal dari Kab. Jeneponto. Daun ini dipisahkan dari tangkainya dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40 – 50⁰C atau dengan pengeringan di bawah sinar matahari selama 2 hari, kemudian digiling dengan blender atau ditumbuk hingga halus dan diayak dengan ayakan 25-35 mesh. Proses penggilingan daun dapat mempengaruhi ekstraksi. Menurut Ketaren *dkk.* (1994), daya ekstraksi semakin meningkat dengan semakin kecilnya ukuran bahan, karena kontak antara bahan dan pelarut merupakan proses osmosis yang berjalan lambat.

2. Ekstraksi daun belimbing wuluh

Ekstraksi adalah proses pemisahan, penarikan atau pengeluaran komponen campuran dari campurannya. Biasanya menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan, cairan dipisahkan

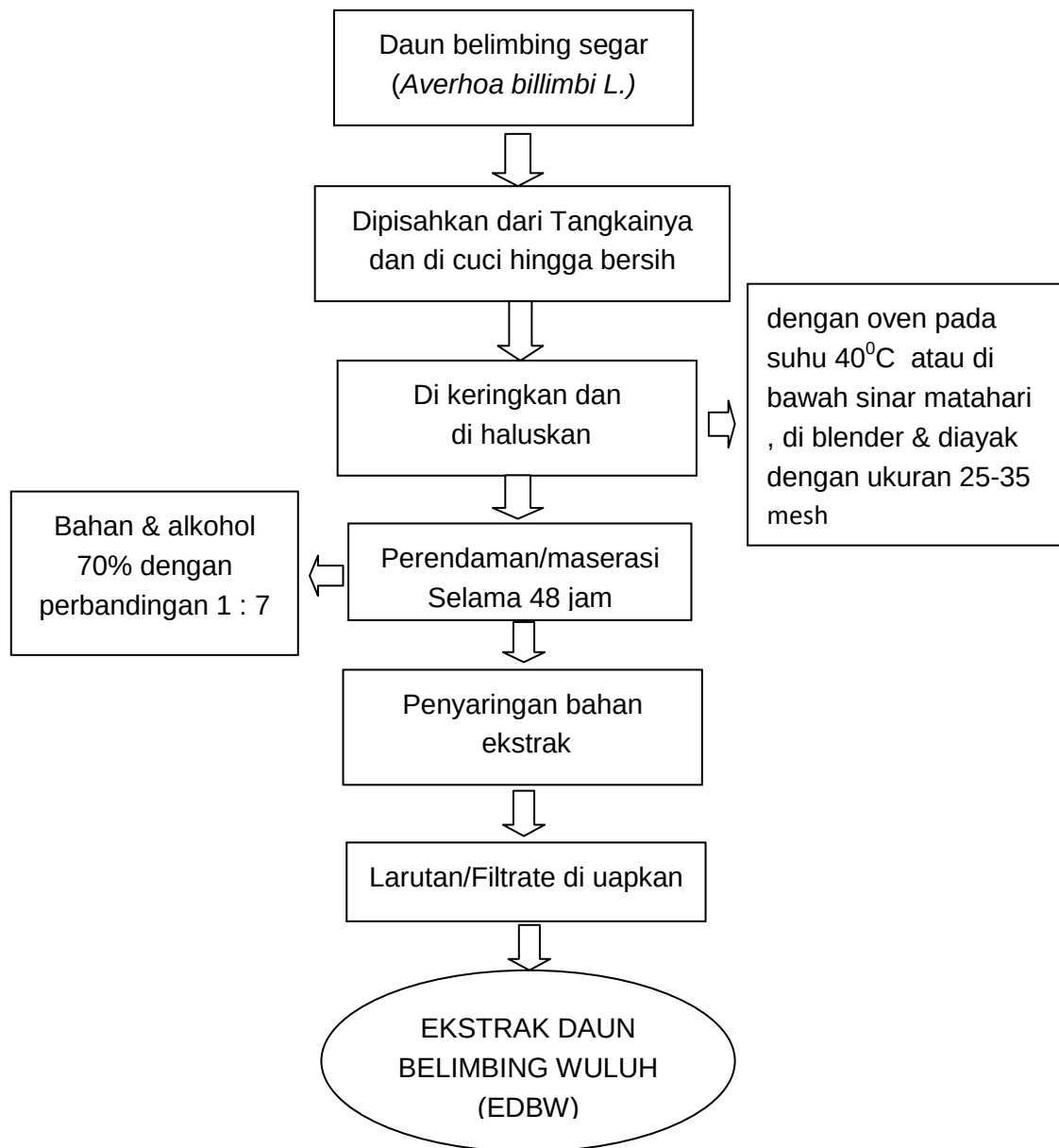


dan diuapkan sampai pada kepekatan tertentu (Manan, 2008 *dalam* Mukhliso, 2010).

Serbuk daun belimbing diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan bahan dan pelarut (Alkohol 70%) 1 : 7. Kemudian direndam selama 48 jam dan diaduk setiap 2 jam. Pengadukan bertujuan untuk mempercepat bahan terekstraksi. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, pelarut dapat diganti setelah 24 jam lalu dilakukan penyaringan. Filtrat hasil penyaringan diuapkan dengan pengurangan tekanan sampai dihasilkan ekstrak kental.

Untuk mendapatkan jumlah ekstrak yang digunakan maka dibutuhkan serbuk daun belimbing wuluh 10 kg dan pelarut (alkohol 70%) sebanyak 70 liter sehingga menghasilkan ekstrak 4,5 liter. Pembuatan ekstrak ini membutuhkan waktu yang lama. Hal ini disebabkan karena peralatan yang digunakan sangatlah sederhana. Berikut skema tahapan ekstraksi daun belimbing wuluh.





Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh

3. Sampel ikan cakalang (*K. pelamis* L.)

a. Pengambilan sampel

Ikan cakalang yang digunakan adalah ikan cakalang yang berasal dari Kab. Bulukumba yang langsung diambil dari nelayan. Ikan cakalang yang diambil sebanyak 160 ekor. Ikan tersebut dimasukkan ke dalam *Coolbox styrofoam* yang telah diisi es. Setelah Ikan tersimpan baik di dalam *coolbox*, ikan cakalang kemudian dibawa menuju ruang preparasi sampel, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan.

b. Perendaman sampel dengan ekstrak

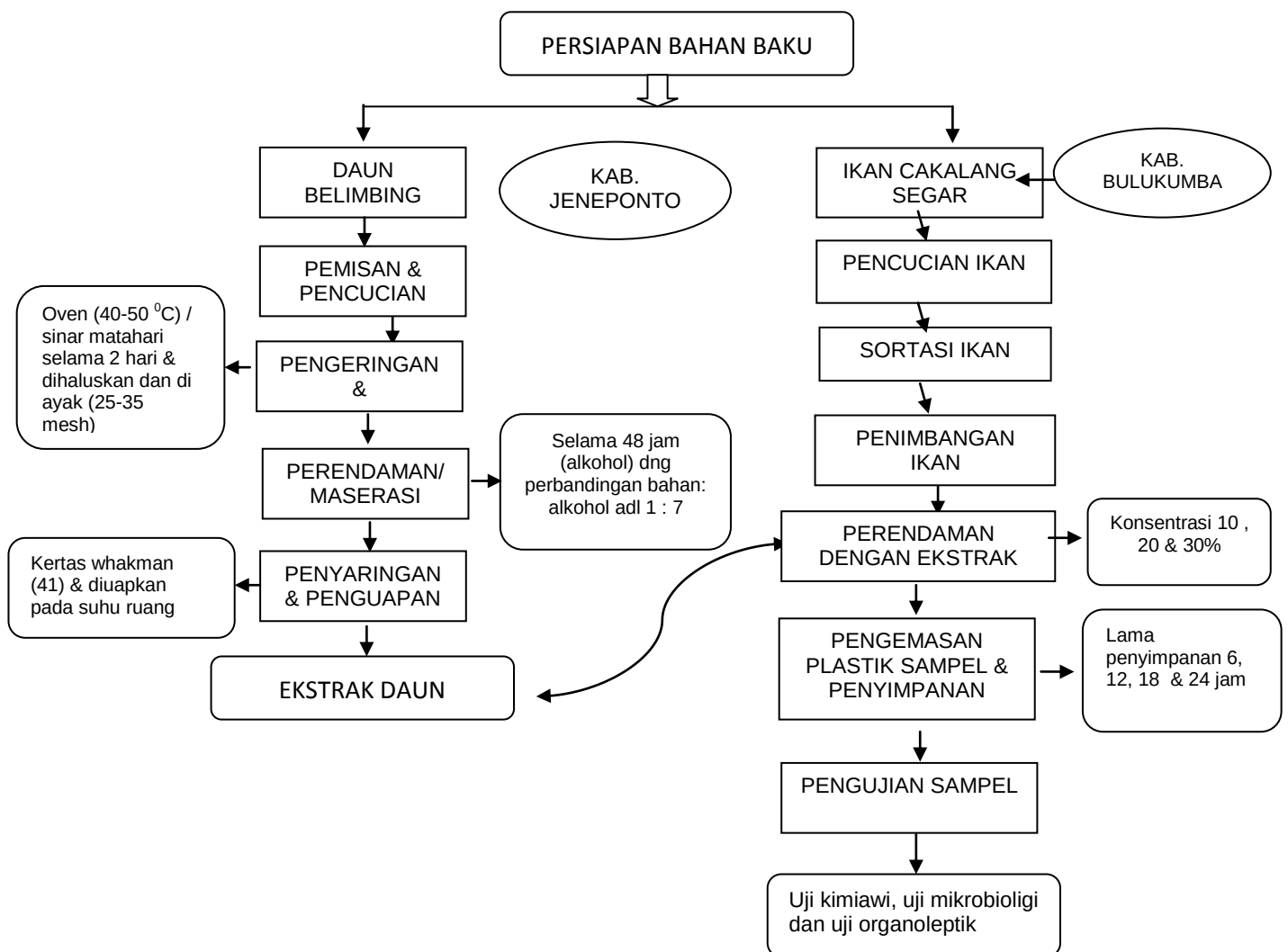
Di laboratorium, ikan cakalang segera dikeluarkan dari *styrofoam* kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran serta mengurangi jumlah mikroba yang terdapat pada permukaan ikan. Selanjutnya dilakukan penimbangan untuk mendapatkan berat ikan yang seragam kemudian di pisahkan. Berat ikan yang digunakan berkisar antara 100 - 300 g/ekor.

Preparasi sampel dilakukan secara aseptik dan dibagi menjadi 4 kelompok. Setiap sampel dalam keadaan utuh, kemudian sampel di rendam ekstrak daun belimbing wuluh pada larutan 1500 ml dengan konsentrasi 10, 20, dan 30% selama 1 jam. Setiap perendaman terdapat 8 ekor ikan sesuai dengan konsentrasi dan waktu penyimpanan. Setelah itu sampel dikemas dengan menggunakan plastik sampel yaitu plastik *high density polyethylene* (HDPE).



c. Penyimpanan sampel

Sampel yang telah dikemas, selanjutnya disimpan pada suhu ruang dengan lama penyimpanan yang berbeda yaitu 6, 12, 18 dan 24 jam. Untuk kontrol (tanpa perlakuan) langsung dilakukan pengujian jumlah bakteri, kandungan histamin, total volatile base dan angka peroksida.



Gambar 5. Diagram alir penelitian



D. Pengujian sampel penelitian

1. Analisis kadar histamin (SNI 2354.10: 2009)

Prinsip penentuan histamin adalah zat histamin dalam contoh dikonversikan ke dalam bentuk $-OH$, kemudian diisolasi dengan resin penukar ion dan diubah ke bentuk derivatnya dengan *ortoptalat dikarboksilaldehyde* (OPT) dan diukur secara fluorometris. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam ekuivalen histamin. Prosedur kerja terdiri atas tiga tahap, yaitu:

a) Tahap ekstraksi

Sepuluh gram sampel ditimbang lalu ditambahkan dengan methanol sebanyak 50 ml kemudian dihomogenkan dengan blender kurang lebih selama 1-2 menit. Sampel yang sudah dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan methanol sampai tanda tera lalu dikocok agar homogen. Setelah itu, larutan sampel disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Filtrat dari hasil penyaringan digunakan pada proses *clean up*.

b) Tahap *clean up* atau tahap elusi

Pertama-tama disiapkan kolom kromatografi (panjang 20 cm dan diameter 7 mm) kemudian ke dalam kolom tersebut dimasukkan *glass* secukupnya (tingginya 1 cm). Selanjutnya resin penukar ion dimasukkan ke dalam kolom sampai tingginya kurang lebih 8 cm



(diusahakan resin tidak sampai kering dengan dibilas dengan akuades karena dapat mempengaruhi daya kerja penukar ion tersebut). Selanjutnya sampel filtrat hasil penyaringan pada tahap ekstraksi dilewatkan ke dalam kolom sebanyak 1 ml dan ditampung hasilnya dalam labu ukur yang telah diberi 5 ml HCl 1 N.

c) Tahap pembentukan derivat

Sebanyak 10 ml HCl 0,1 N dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml sampel hasil tahap *celan* up/elusi, 5 ml histamin standar (sebagai larutan standar), dan 5 ml HCl 0,1 N (sebagai blanko). Setelah itu, ditambahkan 3 ml NaOH 1 N ke dalam tabung reaksi lalu dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan lagi *Ortoptalatdikarboksilaldehyde* (OPT) 1% sebanyak 1 ml lalu dihomogenkan dan didiamkan selama 4 menit. Selanjutnya ditambahkan 3 ml H₃PO₄ 3.57 N dan dihomogenkan. Setelah selesai, sampel yang telah melalui tahap pembentukan siap untuk dibaca menggunakan spektrofлуorometer pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan panjang gelombang emisi 444 nm. Rumus perhitungan histamin (ppm) adalah sebagai berikut:

$$\text{Histamin (ppm)} = \frac{\frac{\text{IU sampel} - A}{B} \times Fp}{\text{Bobot sampel (g)}}$$

Keterangan:

U = Absorban sampel
B = Slope

A = Intersep
Fp = Faktor pengencer



2. Analisis kadar *total volatile bases* (SNI 2354.8:2009)

Analisis ini bertujuan untuk menentukan jumlah kandungan senyawa basa volatil yang terbentuk akibat degradasi protein. Prosedur kerja terbagi atas 3 tahap sebagai berikut:

a. Tahap ekstraksi

Pertama-tama sampel ditimbang sebanyak 10 g dengan gelas piala, lalu ditambahkan 90 ml asam perklorat (PCA) 6%. Sampel dihomogenkan menggunakan *homogenizer* selama 2 menit. Selanjutnya sampel disaring dengan menggunakan kertas saring kasar dan menghasilkan filtrat yang dapat digunakan pada tahapan selanjutnya.

b. Tahap destilasi

Sebanyak 50 ml sampel filtrat dimasukkan ke tabung destilasi, kemudian ditambahkan beberapa tetes indikator *fenolftalein* dan ditambahkan beberapa tetes silikon anti *foaming*. Tabung destilasi dipasang pada destilator dan ditambahkan 10 ml NaOH 20% sampai basa yang ditandai dengan warna merah. Kemudian disiapkan penampung erlenmeyer yang berisi 100 ml H_3BO_4 3% dan 3-5 tetes indikator tashiro yang berwarna ungu. Setelah itu sampel didestilasi uap kurang lebih 10 menit sampai memperoleh destilat 100 ml sehingga pada volume akhir mencapai ± 200 ml larutan berwarna hijau. Larutan blanko 17 disiapkan dengan mengganti ekstrak sampel dengan 50 ml asam perklorat (PCA)

dikerjakan dengan proses yang sama dengan sampel.



c. Tahap titrasi

Larutan destilat sampel dan blanko kemudian dititrasi dengan menggunakan larutan HCl 0.02 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya kembali warna ungu. Perhitungan Kadar TVB dapat dilakukan dengan perumusan berikut ini:

$$\text{Kadar TVB (mgN/100 g)} = \frac{(\text{Vc}-\text{Vb}) \times \text{N HCL} \times \text{Fp} \times 100 \text{ g}}{\text{Bobot sampel (g)}}$$

Keterangan:

Vc = Volume larutan HCl pada titrasi sampel, N= Normalitas HCL

Vb = Volume larutan HCl pada titrasi blanko, Fp= Faktor pengenceran

3. Analisis angka peroksida

Keberadaan senyawa peroksida digunakan sebagai indikator terjadinya oksidasi lemak dan tingkat kerusakan lemak. Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin tinggi pula tingkat kerusakan lemak. Peroksida terbentuk pada asam lemak tak jenuh akibat terikatnya oksigen pada rantai rangkapnya.

Analisis angka peroksida adalah pengukuran iod yang dibebaskan dari kalium iodida akibat reaksi oksidasi oleh peroksida pada sampel dalam medium asam asetat-kloroform. Penentuan angka peroksida dilakukan dengan metode iodometri, dengan melarutkan sejumlah lemak dalam campuran asetat, kloroform yang mengandung KI sehingga terjadi reaksi dengan iodin (I₂). Iodin yang bebas dititrasi dengan natrium thiosulfat menggunakan indikator amilum sampai warna biru hilang. Larutan amilum digunakan sebagai indikator karena mampu menangkap iodium sehingga



membentuk kompleks warna biru. Prosedur analisa penentuan bilangan peroksida (Djarkasi *dkk.*, 2010) sebagai berikut:

- a. Timbang kurang lebih 5,0 g bahan sampel dalam 250 ml tabung reaksi erlenmeyer bertutup dan tambahkan 30 ml larutan *asam asetat-kloroform* (3 : 2). Goyangkan larutan sampai bahan terlarut semua. Tambahkan 0.5 ml larutan jenuh KI.
- b. Diamkan selama 1 menit dengan sesekali digoyang kemudian tambahkan 30 ml akuades. Titrasilah dengan 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sampai warna kuningnya hampir hilang. Tambahkan 0,5 ml larutan pati 1%. Lanjutkan titrasi sampai warna biru menghilang.
- c. *Bilangan peroksida* dinyatakan dalam *mili-equivalen* dari peroksida dalam setiap 100 g sample. Rumus perhitungan penentuan bilangan peroksida

$$\text{Angka peroksida} = \frac{(\text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N thio} \times 1000 \text{ g})}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Prosedur analisa penentuan angka peroksida hanyalah salah satu dalam menentukan derajat kerusakan pada lemak dan minyak. Selain prosedur analisa angka peroksida ada satu lagi yang bisa digunakan untuk menentukan derajat ketengikan lemak minyak yaitu dengan analisa *penentuan harga TBA (1-thio barbituric acid)*.

4. Analisis jumlah bakteri pembentuk histamin (Niven *dkk.*, 1981)

Prinsip analisis bakteri pembentuk histamin adalah enterobakteria mengubah histidin menjadi histamin melalui proses



dekarboksilase yang menaikkan pH dan merubah warna pada media. Media modifikasi niven agar dipersiapkan dengan cara mencampurkan semua bahan, yaitu 0,1% *tryptonzoya agar*, 0,3% *yeast extract*, 1,8% *L-histidin monohydrochlorid monohydrat*, 0,1% CaCO_3 , 0,5% NaCl , 2,5% agar dan 0,003% *phenol red*, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu diencerkan menggunakan akuades hingga 1000 ml. Selanjutnya dipanaskan hingga mendidih dan diatur pH 6,4 kemudian disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Sampel sebanyak 25 g dimasukkan ke dalam botol yang berisi 225 ml larutan *Butterfield's phosphate buffered*, kemudian dilumatkan dengan *blender* hingga larutan homogen. Homogenat ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1} . Dari campuran tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam botol berisi 9 ml larutan *Butterfield's phosphate buffered* sehingga diperoleh contoh dengan pengenceran 10^{-2} , kemudian dikocok sampai homogeny. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-5} . 1 ml larutan sampel hasil setiap pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu 12-15 ml media niven agar cair yang sudah didinginkan hingga mencapai suhu 45°C dituangkan ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Setelah agar menjadi padat, cawan petri yang telah berisi agar dan larutan sampel tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik selama 48 jam pada suhu 35°C . Selanjutnya dilakukan

ngan jumlah koloni berwarna merah muda dengan *halo pink* pada



latar belakang berwarna kuning atau orange. Koloni tersebut merupakan koloni bakteri pembentuk histamin.

5. Uji aktivitas antibakteri EDBW terhadap bakteri penghasil histamin

Uji bioindikator ini menggunakan metode difusi agar menurut Darusman (2001). Prosedur tersebut adalah sebagai berikut.

- a. Larutan Tryptic Soy Agar diautoclave selama 20 menit pada suhu 20°C , kemudian didinginkan pada $30-40^{\circ}\text{C}$.
- b. Biakan bakteri sebanyak 1% dari volume media agar dicampurkan dengan media yang masih cair dan diaduk rata. 15 mL media agar berbakteri dimasukkan ke dalam piringan petri steril kemudian ditutup rapat dan dibiarkan membeku.
- c. *Paper disc* yang telah ada diberi ekstrak atau fraksi diletakkan di atas kultur bakteri dalam agar dan ditutup.
- d. Perlakuan kontrol (kontrol negatif ;pelarut) dikerjakan seperti perlakuan sampel. Kultur diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dan RH 90% selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap ukuran zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas saring, kemudian diukur dengan jangka sorong.

6. Uji organoleptik (Metode hedonik)

Cara ini adalah yang paling banyak dilakukan karena lebih mudah dan lebih cepat, tidak membutuhkan banyak peralatan serta murah. Cara

gunakan panelis atau penguji ahli dengan jumlah 6 orang. Uji organoleptik dilakukan untuk melihat kenampakan, warna, bau



dan tekstur daging ikan. dengan menggunakan skala hedonic nilai tertinggi adalah 9 dan terendah adalah 1, dan nilai batas penerimaan panelis (konsumen) adalah 5. *Score sheet* organoleptik ikan segar dapat dilihat pada Lampiran 1.

E. Rancangan percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial, dengan kelompok A terdiri atas empat konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (0 (kontrol), 10, 20, dan 30%) dan kelompok B terdiri atas lima perlakuan waktu penyimpanan (0 (kontrol), 6, 12, 18 dan 24 jam) setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga terdapat 60 satuan percobaan.

F. Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam oneway ANOVA. Apabila hasil analisis data menunjukkan hasil yang berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut *Tukey* atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap parameter yang dianalisis. Analisis data dilakukan dengan bantuan paket pengolah data SPSS 16.



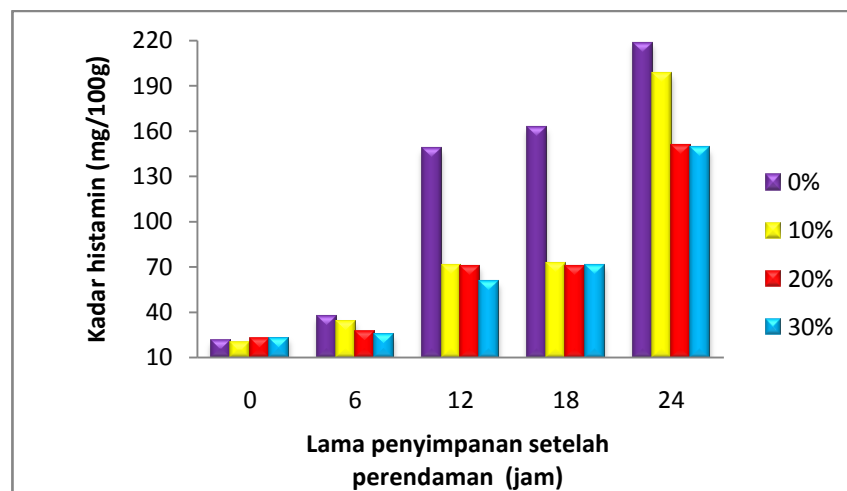
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji kimiawi

Pengaruh penanganan hasil perikanan bersifat menguntungkan dan juga bersifat merugikan. Penanganan Yang menguntungkan adalah dapat mempertahankan kesegaran ikan dan memperpanjang daya simpan. Sementara yang merugikan adalah timbulnya senyawa-senyawa racun karena perubahan enzimatik seperti misalnya timbulnya histamin selama penyimpanan, hilangnya beberapa zat gizi misalnya vitamin dan protein yang terlarut dalam air atau larutan garam.

1. Histamin



Gambar 6. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kadar histamin ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis L.*).



Hasil analisa histamin menunjukkan bahwa ikan cakalang yang masih tergolong segar, karena memiliki kadar histamin 21,60

mg/100 g (Gambar 6), masih di bawah batas yang disyaratkan oleh FDA (2002) yaitu 50 mg/100 g daging ikan sedangkan *European Comission* (2006) menetapkan kadar histamin tidak lebih dari 100 ppm. Sampel yang digunakan termasuk kedalam fase postrigor, karena kadar histamine sudah mencapai 20 mg/100 g daging ikan. Setelah ada perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, peningkatan kadar histamin pada sampel terhambat dan ini terlihat pada setiap perlakuan ekstrak selama penyimpanan.

Penghambatan yang signifikan terjadi pada perlakuan dengan konsentrasi 20 dan 30% selama penyimpanan. Pada penyimpanan 6 jam kadar histamin 37,44 mg/100 g (tanpa perlakuan) menjadi 25,63 mg/100 g ikan. Kemudian pada penyimpanan 12 jam memiliki kadar histamin 148,20 mg/100 g (tanpa perlakuan) menjadi 60,67 mg/100 g, begitupun pada penyimpanan 18 jam yang semula memiliki kadar histamin 162,13 mg/100 g (tanpa perlakuan) menjadi 70,74 mg/100 g ikan, serta pada penyimpanan 24 jam yang semula mencapai 218,36 mg/100 g menjadi 148,71mg/100g. Ini menandakan bahwa penggunaan ekstrak daun belimbing wuluh memberikan penghambatan kadar histamin pada ikan cakalang.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan

nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar histamin ikan cakalang (Lampiran 2). Hasil uji lanjut (Lampiran 2) juga memperlihatkan bahwa



perbedaan nyata terdapat pada konsentrasi 20 dan 30% selama proses penyimpanan.

Histamin merupakan senyawa turunan dari asam amino histidin yang banyak terdapat pada ikan. Histamin tidak membahayakan jika dikonsumsi dalam jumlah yang rendah yaitu 10 mg/100 g daging ikan (Hartono *dkk.*, 2005). Keracunan biasanya timbul karena tingginya histamin yang terdapat pada ikan yang dikonsumsi. Histamin dibentuk dari histidin yang terdapat pada ikan cakalang, dimana histidin merupakan suatu jenis asam amino esensial. Histamin terbentuk akibat aktifitas enzim dekarboxilase pada ikan yang telah membusuk.

Histidin dekarboxilase tidak umum dijumpai pada beberapa kelompok bakteri. Enzim ini dapat dijumpai pada jenis *Enterobacteriaceae*, *Clostridium* dan *Lactobacillus*. Hanya beberapa jenis yang dapat menghasilkan histamin dan nampaknya telah menjadi suatu masalah. Bakteri enterik telah menjadi bakteri yang penting dalam pembentukan histamin pada ikan. *M. morganii*, *K. pneumonia* dan beberapa jenis *H. alvei* adalah bakteri yang dapat tumbuh subur pada ikan yang difermentasi dan dapat menghasilkan racun histamin (Genisa, 2000).

Menurut Kamilah (2010), dalam ekstrak daun belimbing wuluh terdapat senyawa flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin yang mampu mencegah pertumbuhan bahkan menonaktifkan bakteri. Tanin dapat

hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* dan *Bacillus stearothermophilus* melalui mekanisme pengubahan



permeabilitas membran sitoplasma. Yuniarti (1991) menambahkan, tanin juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Oleh karena itu, tanin diduga dapat menghambat peningkatan histamin, karena histamin terbentuk dari hasil perombakan enzim dekarboxilase yang dihasilkan oleh bakteri.

Frank dalam Genisa (2000) berpendapat bahwa kandungan histamin pada ikan Scombroid yang sudah rendah mutunya bervariasi antara 10 – 100 mg%, bahkan kadang-kadang sampai 1000 mg%. Pembentukan histamin setiap spesies berbeda, tergantung pada kandungan histidinnya, tipe dan banyaknya bakteri yang menunjang pertumbuhan dan reaksi mikroba. Pada daging ikan mekanisme pembentukan histamin berupa autolisis maupun karena aktivitas mikroba. Akan tetapi kebanyakan hasil penelitian menyatakan bahwa histamin yang terbentuk sebagian besar berasal dari aktivitas mikroba (Genisa, 2000).

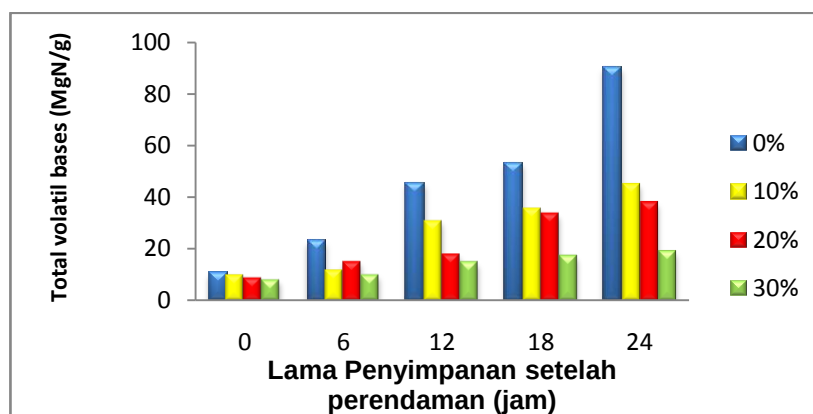
Hasil penelitian Genisa (2000) tentang produksi histamin pada ikan cakalang selama lepas tangkap digunakan sebagai rujukan untuk menjadikan produksi histamin dapat dihambat dengan cara pemberian bahan pengawet alami dalam hal ini ekstrak daun belimbing wuluh pada ikan cakalang selama penyimpanan sebelum diolah lebih lanjut. Menurut Hadiwiyoto (1993), senyawa histamin mungkin tak berbau busuk, tetapi

aannya dalam daging ikan menjadi berbahaya.



Penggunaan bahan pengawet alami telah digunakan misalnya, arang yang telah digunakan oleh Ariyani *dkk.* (2004) untuk mengurangi histamin pindang ikan tongkol batik (*Euthynnus affinis*). Hasil penelitian ini menunjukka bahwa penambahan arang dalam pengolahan ikan tuna asin rebus menurunkan kandungan histamin dari 140,5 mg/100 g (kontrol) menjadi 28,0 mg/100 g.

2. Total volatil bases



Gambar 7. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap TVB ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L)

Analisa kandungan TVB menunjukkan bahwa penggunaan EDBW mampu menekan produksi TVB pada ikan percobaan. Penggunaan EDBW konsentrasi 30% mampu menghambat setidaknya sampai 18 jam untuk tetap berada pada level layak konsumsi (Gambar 7) yaitu < 30 mgN/100 g (Zaitseve *dkk.* 2009).

Nilai TVB ikan cakalang pada Gambar 7 yaitu 22,92 mgN/g; 25,13 mgN/g; 18,19 mgN/g; 19,96 mgN/g yang disimpan selama 6 jam pada kamar dengan konsentrasi ekstrak 0 (kontrol), 10, 20 dan 30%. Yang disimpan selama 12 dan 18 jam pada suhu kamar juga



memiliki kadar TVB yang rendah yaitu 28,99 mgN/g dan 23,91 mgN/g dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 30%. Gambar diatas juga memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin rendah pula nilai TVB yang dihasilkan.

Rendahnya TVB pada ikan cakalang yang disimpan selama 18 jam menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh yang di gunakan dapat menekan pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh Genisa (2000), yang menjelaskan bahwa terhambatnya pertumbuhan bakteri dapat menyebabkan produksi enzim menurun. Aktifitas enzim yang menurun dapat memperlambat proses pemecahan protein yang akan meningkatkan nitrogen yang mudah menguap menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana penyusun TVB. Hal ini yang menyebabkan rendahnya kadar TVB pada ikan cakalang.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap TVB ikan cakalang ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut (lampiran 3) memperlihatkan bahwa pada penyimpanan 6 jam dengan konsentrasi 20 dan 30% berbeda nyata. Bagitupun pada penyimpanan 24 jam dengan konsentrasi 10, 20 dan 30%.

Total volatile bases (TVB) atau disebut juga basa yang mudah menguap terbentuk dalam otot jaringan ikan yang sebagian besar terdiri

monia, *trimethylamine* (TMA) dan *dimethylamine* (DMA) yang berbeda-beda antara jenis ikan bahkan dalam suatu jenis ikan



yang sama (Bimo, 2009 *dalam* Fitriyani, 2012). Keadaan dan jumlah kadar TVB tergantung kepada mutu kesegaran ikan, makin rendah mutu ikan maka kadar TVB akan semakin meningkat. Peningkatan kadar TVB terutama disebabkan oleh aksi bakteri, terbukti dari adanya persesuaian dalam peningkatan jumlah bakteri sehingga dapat dipakai untuk mengikuti derajat pembusukan ikan. Dalam ikan yang amat segar, fraksi TVB kecil kadarnya dan hampir seluruhnya terdiri dari amonia. Tetapi ikan yang mulai membusuk, terjadi banyak perubahan-perubahan dalam sifat maupun kadar dari fraksi TVB dalam daging ikan.

Farahita *dkk.* (2012) juga menyatakan bahwa total volatile bases bertujuan untuk mengetahui basa-basa volatile yang mudah menguap yang disebabkan oleh proses degradasi protein, dimana proses ini terjadi karena peningkatan jumlah bakteri yang terdapat pada ikan. Bakteri yang merombak protein akan menghasilkan enzim proteolitik yang memutuskan protein menjadi ikatan peptide yang pendek dan asam amino yang selanjutnya menjadi senyawa amin dan amoniak yang memberikan bau tajam dan cita rasa yang khas. Karungi *dkk.* (2003) mengatakan bahwa peningkatan nilai TVB selama penyimpanan akibat degradasi protein dan derifatnya menghasilkan sejumlah basa yang mudah menguap seperti amoniak, H_2S , dan trimetilamin yang berbau busuk.

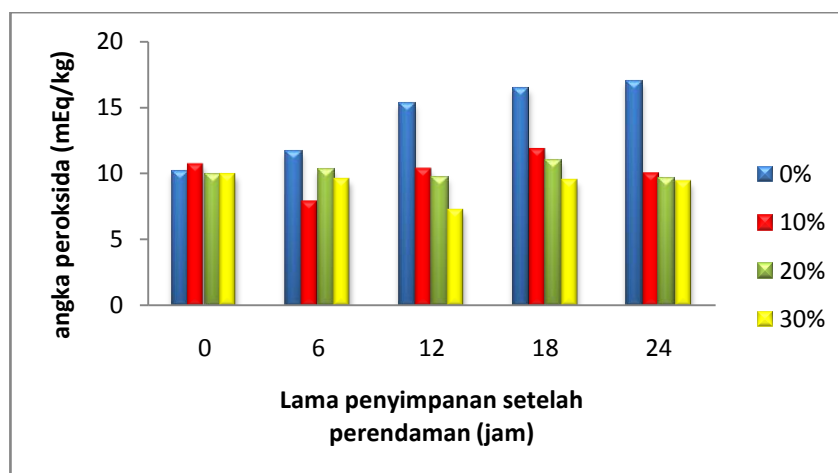
Ekstrak daun belimbing wuluh memiliki kadar tanin dan terpenoid lebih tinggi dibandingkan senyawa lainnya. Tanin diduga berperan anti bakteri karena memiliki kemampuan membentuk senyawa



kompleks dengan protein melalui ikatan hydrogen. Jika terbentuk ikatan hidrogen antara tanin dengan protein kemungkinan protein akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu (Makkar, 1991). Pada penelitian ini, protein ikan tidak akan terdenaturasi karena perendaman ikan dilakukan dalam bentuk utuh.

3. Angka peroksida

Angka peroksida merupakan salah satu cara terpenting dalam menentukan derajat kerusakan pada lemak dan minyak yang biasanya dikenal dengan *tingkat ketengikan (rancidity)*. Ketengikan disebabkan oleh adanya serangan oksigen pada lemak tidak jenuh yang menyebabkan terjadinya oksidasi lemak yang menghasilkan bau tengik. Proses ketengikan ini dapat dihambat dengan memberi anti oksidan. Hasil analisis angka peroksida dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengaruh Ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap angka peroksida ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

Gambar 8 menunjukkan bahwa perlakuan EDBW dapat menekan angka bilangan peroksida. Bilangan peroksida tertinggi pada ikan



cakalang dengan perlakuan konsentrasi EDBW yaitu 10,11; 10,69; 9,94; dan 10,2 mEq/kg untuk masing-masing konsentrasi larutan ekstrak daun belimbing wuluh 0 (kontrol), 10, 20, dan 30% tanpa penyimpanan. Angka peroksida yang dapat diterima berkisar antara 18 - 25 mEq/kg daging ikan. Oleh karena itu ikan cakalang ini masih tergolong segar karena masih di bawah ambang batas yaitu $< 20 - 40$ mEq/kg (Eyo, 2001).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap angka peroksida ikan cakalang yaitu 0,002 dimana nilai ini lebih kecil dari ($p < 0,05$). Perbedaan nyata terlihat pada penyimpanan 18 jam konsentrasi 10, 20 dan 30% (Lampiran 4).

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh semakin rendah pula bilangan peroksida yang terbentuk pada ikan cakalang. Gambar 8 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20 dan 30% kadar peroksida yaitu 9,03 dan 7,27 mEq/kg pada penyimpanan 12 jam. Menurunnya peroksida diduga disebabkan oleh kerja ekstrak daun belimbing dalam menghambat oksidasi lipida ikan cakalang. Hal ini didukung oleh Dalimartha (2006) yang menyatakan bahwa di dalam daun belimbing wuluh terdapat antibakteri dan antioksidan.

Senyawa yang memiliki fungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada buah-buahan, sayuran, anggur, bir dan kecap (Sofia, 2006). Daun belimbing wuluh juga mengandung senyawa peroksida yang dapat



berpengaruh terhadap antipiretik, peroksida merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini mampu membunuh banyak mikroorganisme (Ummah, 2010).

Ariyani *dkk.* (2010) juga menggunakan ekstrak daun jambu biji sebagai media selama pengolahan cakalang asin rebus yang ternyata bisa menghambat peningkatan nilai TBA dan mencegah oksidasi lemak tak jenuh. Akan tetapi tidak bisa menghambat peningkatan TVB dan mikroorganisme selama penyimpanan pada suhu ruang.

B. Uji mikrobiologi

1. Jumlah bakteri penghasil histamin

Bakteri yang berperan dalam pembentukan histamin adalah bakteri yang dapat menghasilkan histidin dekarboxilase. Bakteri itu adalah *P.morganii*, *H.alvei*, *K.pneumonia*, *C.perfringes*, *Lactobacillus sp*, *Shigella sp*, *Aeromonas sp*, *Photobacterium sp*, serta *Vibrio sp* (Genisa, 2000).

Tabel 5. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap jumlah bakteri penghasil histamin pada ikan cakalang (*Katsuwonul pelamis. L*).

Konsentrasi	Jumlah bakteri (10^4 sel/g)				
	0	6	12	18	24
0	5.60	13.00	29.00	86.00	190.00
10	4.30	4.40	1.70	2.30	170.00
20	0.40	5.40	1.30	2.60	130.00
30	0.31	0.96	0.77	2.30	24.00



Tabel 5 menunjukkan jumlah bakteri penghasil histamin pada ikan cakalang cenderung menurun. Sampel ikan cakalang tanpa perlakuan konsentrasi ekstrak memiliki jumlah bakteri yang sangat tinggi yaitu 1.9×10^6 sel/g pada penyimpanan 24 jam. Akan tetapi, pada sampel yang dengan konsentrasi EDBW cenderungnya menurun bahkan tidak mencapai ambang batas maksimal yang telah ditentukan yaitu $5,0 \times 10^5$ sel/g. Penurunan jumlah bakteri ini sangat terlihat pada perlakuan 30% yaitu $3,1 \times 10^3$ sel/g pada penyimpanan 6 jam.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah bakteri ikan cakalang yaitu 0,012 dimana nilai ini lebih kecil $p < 0,05$. Hasil uji lanjut memperlihatkan bahwa perbedaan yang nyata terlihat pada penyimpanan 24 jam dengan konsentrasi 20 dan 30%.

Jumlah bakteri pada ikan cakalang seperti yang terlihat pada tabel 5 memiliki jumlah bakteri yang sangat kecil. Hal ini disebabkan karena senyawa yang dikandung oleh ekstrak daun belimbing wuluh memiliki fungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri.

Faharani (2009), menjelaskan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Ketiga senyawa ini merupakan antibakteri yang mampu menghentikan aktifitas bakteri. Ajizah (2004)

Nirwani dkk. (2009), menyatakan bahwa tanin diduga dapat merusak dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu



permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

Masduki (1996), menjelaskan bahwa tanin juga mempunyai daya anti bakteri dengan mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek sama dengan senyawa fenolik. Efek anti bakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik.

Bakteri yang terdapat pada tubuh ikan yang masih hidup jumlahnya tergantung pada lingkungan tempat hidup ikan tersebut. Bakteri tersebut terpusat pada 3 tempat yaitu kulit, insang, dan isi perut. Bakteri yang terdapat pada ikan cakalang untuk tiap perlakuan jumlahnya meningkat seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan (Munandar *dkk.* 2009). Suhu merupakan faktor yang paling berperan dalam penurunan mutu ikan, dimana semakin tinggi suhu maka perubahan yang terjadi pada tubuh ikan akan lebih cepat.

Faktor utama yang berperan dalam pembusukan pada ikan adalah proses degradasi protein oleh bakteri yang membentuk berbagai produk seperti hipoksantin, trimetilamin, terjadinya ketengikan oksidatif dan pertumbuhan mikroorganisme. Ikan segar lebih cepat mengalami kebusukan dibandingkan dengan daging mamalia. Pembusukan ikan

jadi segera setelah proses rigor mortis selesai.



Faktor lain yang menyebabkan ikan cepat busuk adalah kadar glikogennya yang rendah sehingga rigor mortis berlangsung lebih cepat dan pH akhir daging ikan cukup, serta tingginya jumlah bakteri yang terkandung didalam perut ikan. Bakteri proteolitik mudah tumbuh pada ikan segar dan menyebabkan bau busuk hasil metabolisme protein. Pada saluran pencernaan ikan hidup, makanan diolah menjadi komponen-komponen sederhana seperti gula dan asam amino yang diserap oleh darah.

Diungkapkan oleh Nuraida *dkk.* (2000) dan Ismaini (2007), bahwa senyawa yang bekerja sebagai anti mikroba pada picung adalah tanin. Tanin merupakan senyawa golongan fenol polimer yang mampu mempresipitasi gelatin dari larutannya. Tanin bersifat toksik terhadap jamur, khamir, dan bakteri. Tanin dilaporkan bersifat bakterostatik atau bakterisida terhadap *S.aureus* (Yamasaki *et al.*, 2001).

Nursal *dkk.* (2006), menyatakan bahwa ekstrak buah picung memiliki senyawa bioaktif seperti, tanin, alkaloid dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Nuraida *dkk.* (2000), menyatakan bahwa senyawa yang diduga sebagai anti mikroba pada biji picung adalah asam sianida dan tanin.

Daun belimbing wuluh juga mengandung terpenoid atau biasa disebut dengan minyak atsiri. Burt (2004), mengemukakan bahwa

dan memiliki kandungan antibakteri terhadap aktivitas bakteri *Cytogenes*, *Salmonellan*, *Typhimurium*, *E.coli* 0157: H7, *S.*



dysenteria, *B.cereus* dan *S.aureus* pada tingkat antara 0,2 dan 10ml Al 1. Organisme Gram-negatif sedikit kurang rentan dari pada bakteri gram positif. Sejumlah komponen minyak atsiri telah diidentifikasi sebagai anti bakteri yang efektif, misalnya *Carvacrol*, *Thymol*, *Eugenol*, *Perillaldehyde*, *Cinnamaldehyde* dan asam sinamat, memiliki konsentrasi hambat minimum (MIC) dari 0,05 - 5 Al ml 1 in vitro.

Saponin yang dikandung oleh daun belimbing wuluh juga merupakan anti bakteri yang baik. Faradisa (2008) menyatakan bahwa senyawa saponin yang terdapat dalam batang belimbing wuluh diduga mempunyai potensi sebagai anti mikroba. Hasil penelitian menjelaskan bahwa ekstrak saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 200mg/mL dan terus meningkat sampai pada konsentrasi 800mg/mL.

Dalimatra dkk. (2006), menyatakan bahwa didalam daun belimbing wuluh selain tanin juga mengandung sulfur, asam format, kalsium oksalat dan kalium sitrat. Asam format merupakan anti bakteri yang baik, hal ini didukung oleh Eka (2011), yang menuliskan manfaat dari asam format pada peternakan, asam format ini berfungsi untuk mengawetkan, membunuh bakteri yang terdapat pada makanan ternak. Apabila disemprotkan pada jerami, asam format dapat menahan proses pembusukan dan membuat makanan ternak dapat mempertahankan

a lebih lama.



2. Aktivitas antibakteri EDBW dengan metode difusi.

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996 *dalam* Ummah, 2010). Senyawa antibakteri dapat bersifat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri atau disebut bakterisidal (Ganiswarna, 1995 *dalam* Ummah, 2010).

Proses pengujian aktivitas antibakteri harus mempertimbangkan banyak faktor agar hasil yang diperoleh lebih relevan. Faktor-faktor yang sangat mempengaruhi pada pengujian aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut (Irianto, 2002):

- a. pH lingkungan. Beberapa macam bahan lebih aktif pada pH asam dan pada pH alkalis, komponen-komponen medium, stabilitas bahan.
- b. Takaran inokulum. Umumnya semakin besar inokulum bakteri, maka kesensitifan organisme akan semakin rendah. Populasi bakteri yang besar dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menginduksi terjadinya mutan resisten lebih besar.
- c. Lama inkubasi. Semakin lama waktu inkubasi semakin besar kemungkinan timbulnya mutan yang resisten, Aktivitas metabolisme mikroorganisme.



Hasil penelitian yang dilakukan mendapatkan dua kategori bakteri, yaitu bakteri dengan warna pink (penghasil histamin) dan bakteri warna putih (bukan penghasil histamin) (Gambar 9).



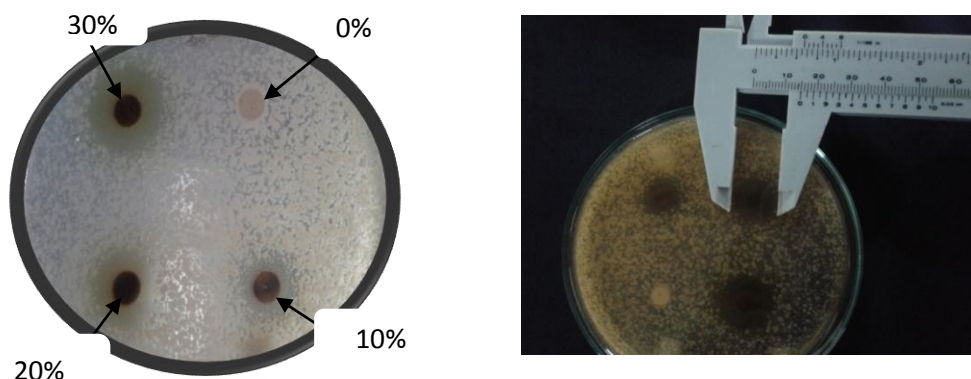
Bakteri penghasil histamin



Bukan bakteri penghasil histamin

Gambar 9. Bakteri penghasil histamin dan bukan penghasil histamin

Gambar 9 menunjukkan bahwa pengujian bakteri penghasil histamin metode niven dengan indikator phenol red memberikan hasil yang baik. Metode niven menjelaskan bahwa bakteri penghasil histamin akan berwarna pink jika diberi indikator phenol red dan bakteri yang bukan penghasil histamin akan berwarna putih. Setelah mendapatkan kultur bakteri murni, selanjutnya dilakukan dengan pengujian zona hambat anti bakteri EDBW dengan metode difusi agar. Zona hambat di ukur dengan menggunakan jangka sorong dengan skala mm. Hasil pengujian tersebut dapat dilihat pada Gambar 10.

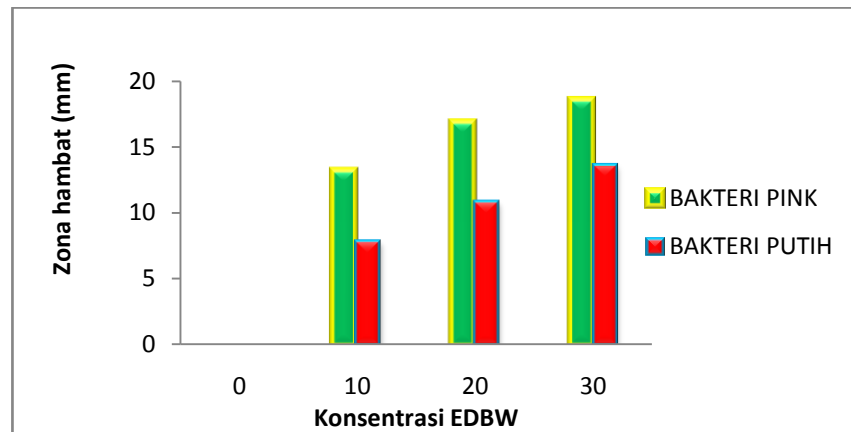


Gambar 10. Aktivitas daya hambat anti bakteri dan pengukurannya.

Aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan disekitar *paperdisk*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat. Efektifitas dari bahan aktif, ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standar. Aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu: aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (>10–20 mm), sangat kuat (>20–30 mm) (Anon, 2007 dalam Indriati, 2008).

Ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat bakteri tertinggi terlihat pada konsentrasi 30% dan terendah 10% (Gambar 13). Pada bakteri penghasil histamine zona hambat tertinggi 18,57 mm dan terendah 13,21 mm. Sedangkan pada bakteri yang bukan penghasil histamin zona hambat tertinggi 13,63 mm dan terendah 7,87 mm.





Gambar 11. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamin.

Daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri penghasil histamin dikategorikan sedang, karena nilai zona hambatnya > 10 - 20 mm pada setiap konsentrasi. Sedangkan pada bakteri yang bukan penghasil histamin hanya pada konsentrasi 20 dan 30% yang dikategorikan sedang. Pada konsentrasi 10% dikategorikan lemah karena zona hambat hanya mencapai 7,87 mm.

Hasil analisis ragam (Lampiran 6) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh memberikan pengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri pada ikan cakalang yaitu 0,029 ($p < 0,05$). Perbedaan nyata terlihat pada perlakuan konsentrasi 20 dan 30%. Tanin yang dikandung oleh EDBW merupakan *growth inhibitor* sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya.

Enzim yang dikeluarkan oleh mikroba adalah protein dan protein akan terpengaruh oleh tanin sehingga enzim tersebut tidak akan aktif (Winarno,



Vargaz (2002), menyebutkan bahwa aktivitas antimikroba tanin kemungkinan berhubungan dengan penghambatan enzim antimikroba seperti *celulase* *pektinase* dan *xylonase*. Selain itu tanin juga dapat meracuni membran sel. Senyawa tanin dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri. Dengan adanya tanin (asam tanat) maka akan terjadi penghambatan metabolisme sel, mengganggu sintesa dinding sel, dan protein dengan mengganggu aktivitas enzim.

Saponin dan terpenoid yang dikandung oleh ekstrak daun belimbing wuluh juga memiliki fungsi sebagai antibakteri. Nimah *dkk* (2012), menyatakan bahwa ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) mengandung saponin, alkaloid dan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* sebesar 6 ± 0 mm, dan $2,3 \pm 0,58$ mm pada *B. cereus* dengan konsentrasi 450 $\mu\text{m/ml}$. Fitriyani (2012), juga mengungkapkan bahwa ekstrak biji picung mengandung triterpenoid dan alkoloide yang memiliki daya hambat terhadap bakteri *Salmonella* dan *E. coli*. Ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona penghambat sebesar 9,9 mm dan 10,1 mm sedangkan ekstrak air terhadap *Stapilococcus aureus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat sebesar 14,6 mm. Hal serupa juga di ungkapkan oleh Indriati *dkk* (2008), bahwa ekstrak biji picung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M.morganii*, *R.terigena*, *Enterobacter* sp, *eum*, *Staphylococcus* sp, dan *M.diversus*.



Selain saponin dan terpenoid, flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh juga memiliki fungsi sebagai anti bakteri, hal ini selaras dengan Barus *dkk.* (2012), yang mengungkapkan bahwa flavonoid dan terpenoid yang terkandung didalam ekstrak daun kamboja berfungsi sebagai penghambat pembelahan sel bakteri *A. hydrophila* pada konsentrasi 10% dengan daya hambat terbesar 12,2 mm, sedangkan pada konsentrasi 2% memiliki zona hambat 6,4 mm. Mulyani *dkk.* (2013), juga mengungkapkan bahwa saponin dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun mangrove dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A.hydrophila* pada ikan mas dengan zona hambat sebesar 1,02 mm pada konsentrasi 20.000 ppm.

C. Uji organoleptik

Analisis organoleptik adalah analisis yang digunakan untuk memberikan penilaian terhadap kesegaran ikan cakalang dimana penilaian ini menggunakan skala hedonic dari 1-9 dengan parameter kenampakan mata, insang, lendir, bau, dan tekstur. Pada suhu ruang, ikan lebih cepat memasuki fase *rigormortis* dan berlangsung lebih singkat. Jika fase *rigor* tidak dapat dipertahankan lebih lama maka pembusukan oleh aktivitas enzim dan bakteri akan berlangsung lebih cepat. Aktivitas enzim dan bakteri tersebut menyebabkan perubahan yang sangat pesat

a ikan memasuki fase *post rigor*. Fase ini menunjukkan bahwa n sudah rendah dan tidak layak untuk dikonsumsi (FAO 1995).



Hasil analisis organoleptik dari 6 panelis yang telah melakukan pengujian memberikan penilaian yang berbeda terhadap ikan cakalang yang diberikan perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh selama penyimpanan pada suhu ruang. Karakteristik organoleptik menunjukkan bahwa panelis mayoritas memberikan skor penilaian terhadap penampakan ikan cakalang dengan perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh rata-rata nilai terendah hingga netral (3 - 7) . Hal ini diduga akibat dari ekstrak daun belimbing wuluh yang di berikan. Ekstrak ini memiliki warna yang hijau kekuningan yang menempel pada ikan, sehingga sangat berpengaruh pada kenampakan ikan.

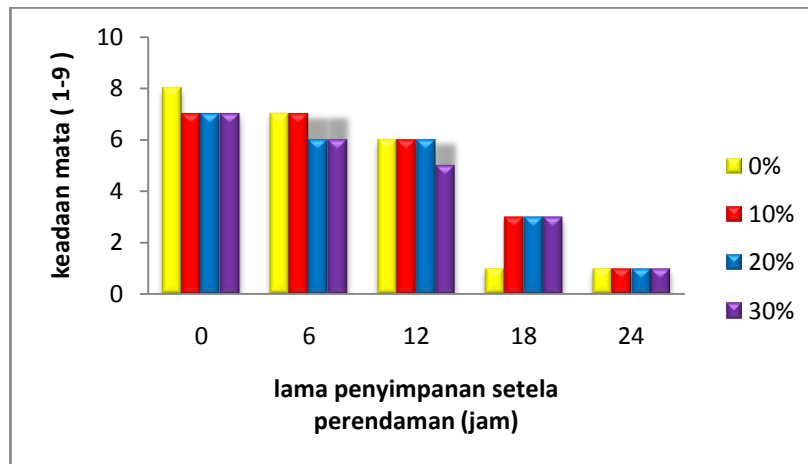
Senyawa volatil pada ekstrak daun belimbing wuluh juga diduga akan bereaksi dengan komponen protein dan lemak pada ikan, hal ini kemudian akan menyebabkan kenampakan pada mata, insang, lendir permukaan, bau dan tekstur ikan yang sangat nyata.

1. Keadaan Mata

Mata merupakan karakteristik utama yang dinilai dalam konsumsi suatu produk. Keadaan mata pada ikan dilihat dari warna dan bentuknya, apabila kesan penampakan pada mata ikan baik, maka konsumen baru akan melihat karakteristik yang lain. Nilai organoleptik mata sesuai SNI memiliki skala 1 - 9 dimana pada skala 9 yaitu ikan memiliki mata yang cerah, bola mata menonjol dan kornea jernih sedangkan skala 1 yaitu ikan

bola mata agak cekung dan bola mata kuning. Nilai organoleptik mata ikan cakalang dapat dilihat pada Gambar 12.





Gambar 12. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan mata ikan cakalang (*K. pelamis* L)

Kenampakan mata pada ikan cakalang (Gambar 12) dengan perlakuan dan tanpa perlakuan EDBW memiliki nilai yang tidak jauh berbeda. Kenampakan mata pada sampel tanpa perlakuan lebih cerah bila dibandingkan dengan sampel dengan perlakuan konsentrasi. Pada perlakuan konsentrasi EDBW, nilai organoleptik yang diberikan panelis berkisar antara 1 – 7. Semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka semakin rendah tingkat kesukaan panelis terhadap nilai organoleptik. Sedangkan pada perlakuan penyimpanan, nilai organoleptik tertinggi adalah 7 (Agak cerah, bola mata rata, pupil agak keabu-abuan, kornea agak keruh) dengan lama penyimpanan 6 jam serta yang terendah adalah 1 (Bola mata sangat cekung, kornea agak kuning) pada penyimpanan 24.

Hasil analisis ragam (Lampiran 7) memperlihatkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh serta lama

penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap keadaan mata ikan cakalang ($p < 0,05$). Perbedaan yang sangat nyata terlihat pada



penyimpanan 6 dan 18 jam, dengan konsentrasi 20 dan 30% (Lampiran 7).

Makkar (1991), menyatakan bahwa tanin dapat mendenaturasi protein. Kenampakan mata pada sampel kurang menarik (Bola mata sangat cekung, kornea agak kuning) disebabkan karena ikan berhubungan langsung dengan ekstrak daun belimbing tersebut.

Mata ikan mengandung polisakarida yang berperan dalam kelembutan kulit dan pembuluh darah. Selama proses kemunduran mutu mata ikan mengalami perubahan yang diakibatkan oleh berhentinya aliran darah yang menyuplai oksigen. Winkler dan Hopkins (1982) menyatakan bahwa aktivitas ATP-ase pada retina menurun setelah 24 jam *postmortem*, mencapai titik stabil setelah 48 jam. Hal ini disebabkan oleh rendahnya aktivitas Mg^{2+} dan N^+-K^+ untuk menstimulasi ATP-ase. Hal yang sama terjadi pada vertebrata lainnya. Retina dan pigmen epitelium dari berbagai jenis vertebrata memiliki beberapa jenis ATPase yang aktivitasnya distimulasi oleh Mg^{2+} , N^+ dan K^+ , HCO^{3-} (atau anion yang lain) dan Ca^{2+} .

Nukleotida utama yang berperan dalam mentransfer energi yaitu ATP, juga berperan dalam penambahan jumlah amonia pada volatil amin setelah kematian ikan. Nukleotida ATP adalah senyawa utama pembawa energi kimia dalam sel. Ketika ikan mati, kondisi menjadi anaerob dan

an terurai dengan melepaskan energi (Jiang, 2000). Nukleotida
bat berubah menjadi ADP oleh enzim ATP-ase, kemudian diubah

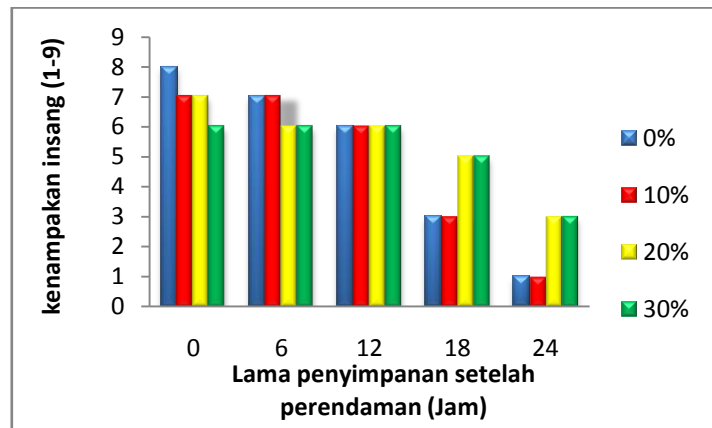


menjadi AMP oleh miokinase. Selanjutnya AMP diubah oleh enzim deaminase menjadi IMP dan dari IMP diubah menjadi inosin oleh enzim fosfatase. Kemudian inosin dengan cepat berubah menjadi hipoksantin. Deaminasi AMP menjadi IMP telah melepaskan molekul amonia (NH_3) dari gugusan basa purin adenine. Enzim yang terkandung dalam tubuh ikan akan merombak bagian-bagian tubuh ikan dan mengakibatkan perubahan rasa (*flavor*), bau (*odor*), rupa (*appearance*) dan tekstur (*texture*).

2. Keadaan Insang

Keadaan insang dan warna insang dapat dikatakan sebagai indikator apakah ikan masih segar atau tidak. Ikan yang masih segar berwarna merah cerah, sedangkan ikan yang tidak segar berwarna coklat gelap. Insang ikan merupakan pusat darah pengambil oksigen dari dalam air. Ikan yang mati mengakibatkan peredaran darah terhenti, bahkan sebaliknya dapat teroksidasi sehingga warnanya berubah menjadi merah gelap. Hasil uji organoleptik kenampakan insang dapat lihat pada Gambar 13.





Gambar 13. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan insang ikan cakalang (*K. pelamis L.*).

Gambar 13 menunjukkan kenampakan insang pada ikan yang diberi perlakuan konsentrasi EDBW memiliki nilai cenderung lebih rendah pada sampel tanpa penyimpanan. Hal ini disebabkan ekstrak yang diberikan memiliki warna hijau kekuningan, sehingga dapat mempengaruhi warna pada insang. Akan tetapi pemberian ekstrak daun belimbing wuluh memberikan pengaruh yang baik untuk keadaan insang ikan cakalang. Ini dapat dilihat pada penyimpanan 6,12 dan 18 jam, keadaan insang memiliki nilai organoleptik adalah 5 dan 6 pada konsentrasi 20 dan 30%. Sedangkan tanpa perlakuan ekstrak cenderung mengalami penurunan, bahkan mencapai nilai 1.

Hasil analisis ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap keadaan insang ikan

($p < 0,05$). Perbedaan nyata dapat dilihat pada hasil uji lanjut (Lampiran 8) dengan konsentrasi EDBW 20 dan 30% selama penyimpanan.

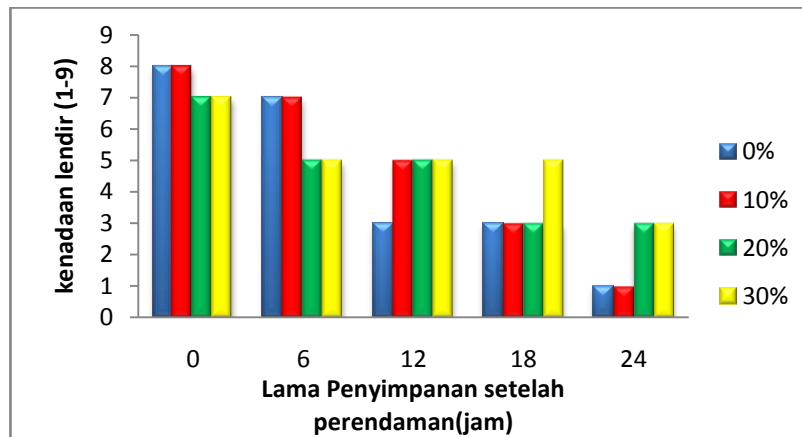
Dengan perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh yang mengandung senyawa flavonoid, terpenoid dan tanin yang mampu menekan pertumbuhan bakteri pada ikan, maka kemunduran mutu pada bagian insang dapat dicegah. Perombakan protein dan oksidasi lemak yang terdapat pada insang juga tidak terjadi secara drastis.

Beberapa hal yang menyebabkan ikan mudah diserang oleh bakteri adalah ikan segar mengandung lebih banyak cairan dan sedikit lemak, jika dibanding dengan jenis daging lainnya. Akibatnya bakteri lebih mudah berkembang biak. Struktur daging ikan memiliki susunan yang kurang sempurna dibandingkan jenis daging lainnya. Kondisi ini memudahkan terjadinya penguraian bakteri. Sesudah terjadi peristiwa rigor, ikan segar mudah bersifat alkalin/basa. Kondisi ini memberikan lingkungan yang sesuai bagi bakteri untuk berkembang biak.

3. Lendir

Ikan yang masih segar mempunyai penampakan cerah dan tidak suram. Keadaan itu dikarenakan belum banyak perubahan biokimia yang terjadi. Metabolisme dalam tubuh ikan masih berjalan sempurna. Pada ikan tidak ditemukan tanda-tanda perubahan warna, tetapi secara berangsur warna makin suram, karena timbulnya lendir sebagai akibat berlangsungnya proses biokimiawi lebih lanjut dan berkembangnya mikroba. Hasil analisis lendir dapat dilihat pada Gambar 14.





Gambar 14. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap kenampakan lendir ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis L.*).

Keadaan lendir pada permukaan sampel ikan cakalang dapat dilihat pada Gambar 14. Pada penggunaan konsentrasi ekstrak 0 (kontrol) dan 10% memiliki nilai organoleptik yang tidak jauh berbeda, dimana nilai yang diberikan oleh panelis menurun seiring dengan lamanya penyimpanan. Pada penyimpanan 0 dan 6 jam, nilai organoleptik masih netral yaitu 8 dan 7 dengan perlakuan ekstrak 0 dan 10%, artinya tingkat kesukaan panelis masih tinggi. Jika dibandingkan dengan penyimpanan 24 jam, nilai organoleptik terus menurun hingga mencapai nilai terendah 1.

Hasil analisis ragam (Lampiran 9) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata terhadap keadaan lendir ikan cakalang ($p < 0,05$). Hal ini juga dapat dilihat pada uji lanjut. Dimana pada setiap perlakuan konsentrasi ekstrak dan lama penyimpanan tidak memperlihatkan

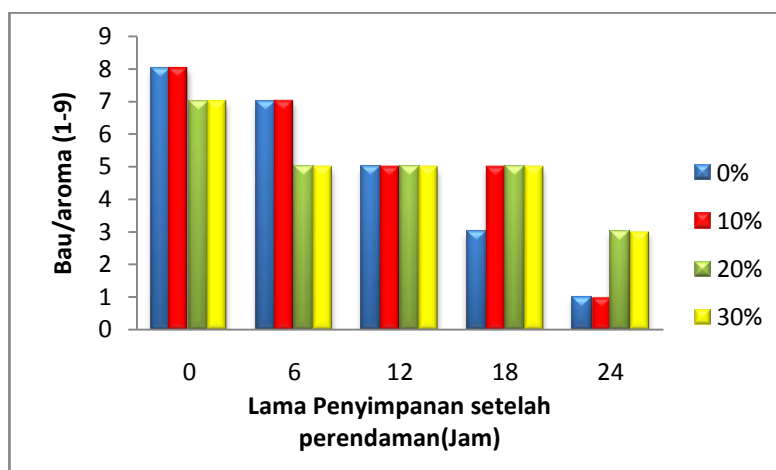
an yang nyata.



Pada perlakuan konsentrasi ekstrak 20 dan 30% selama penyimpanan 18 jam memiliki nilai organoleptik 5 - 7. Artinya lendir yang terdapat pada sampel ikan cakalang masih bisa diterima oleh panelis. Akan tetapi ekstrak daun belimbing wuluh tidak mampu mempertahankan mutu organoleptik pada ikan karena pada setiap konsentrasi dengan lama penyimpan, mutu ikan tetap mengalami penurunan.

4. Bau

Uji organoleptik yang dilakukan oleh 6 panelis terhadap bau pada ikan cakalang berkisar antara 1 - 9. Hasil uji organoleptik bau selama penyimpanan dengan konsentasi ekstrak daun belimbing wuluh yang berbeda memperlihatkan perbedaan nilai yang sangat signifikan. Ini dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap bau/aroma ikan cakalang (*K. pelamis* L).

Gambar 15 memperlihatkan bahwa hasil uji organoleptik bau penyimpanan mengalami penurunan. Konsentrasi 10, 20 dan 30%



memiliki nilai rata-rata 5 yang disimpan selama 18 jam. Ini menandakan bahwa tingkat kesukaan panelis tidak begitu rendah.

Hasil analisis ragam (Lampiran 10) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh terhadap keadaan bau ikan cakalang ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut tidak memperlihatkan perbedaan nyata pada setiap konsentrasi EDBW terhadap bau ikan cakalang.

Perbedaan konsentrasi ekstrak yang diberikan pada ikan diduga berakibat pada aroma/bau, dimana dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, akan menyebabkan bertambahnya komponen bau pada ikan, bau yang dihasilkan juga akan berbeda dari tiap panelis. Akan tetapi, bau yang dihasilkan oleh ikan yang diberi perlakuan konsentrasi EDBW dan tanpa perlakuan konsentrasi EDBW sangat jauh berbeda. Ikan yang diberi perlakuan tidak berbau busuk, ini diduga karena ekstrak daun belimbing wuluh memiliki senyawa yang mampu menekan terbentuknya bau busuk sedangkan ikan tanpa perlakuan konsentrasi berbau busuk. Kandungan EDBW seperti flavonoid dan terpenoid mampu menekan pertumbuhan bakteri yang dapat meningkatkan aktivitas enzim yang mendegradasi protein menjadi asam amino.

Faktor utama yang berperan dalam pembusukan adalah proses degradasi protein yang membentuk berbagai produk seperti hipoksantin,

min, terjadinya proses ketengikan oksidatif dan pertumbuhan organisme. Ikan segar lebih cepat mengalami kebusukan



dibandingkan dengan daging mamalia. Kebusukan ikan mulai terjadi segera setelah proses rigor mortis selesai. Faktor yang menyebabkan ikan cepat busuk adalah kadar glikogennya yang rendah sehingga rigor mortis berlangsung lebih cepat dan pH akhir daging ikan cukup tinggi, serta tingginya jumlah bakteri yang terkandung didalam perut ikan. Bakteri proteolitik mudah tumbuh pada ikan segar dan menyebabkan bau busuk hasil metabolisme protein.

Pada ikan hidup, makanan dalam saluran pencernaan diolah menjadi komponen-komponen sederhana, seperti gula dan asam amino, yang diserap oleh darah. Darah mengirim komponen-komponen ini kebagian tubuh yang membutuhkan, khususnya otot. Produksi komponen-komponen ini diinduksi oleh enzim, yang ada didalam saluran pencernaan maupun yang ada didalam otot. Setelah ikan mati, enzim-enzim ini masih tetap aktif. Akibatnya, terjadi proses autolisis atau penghancuran diri sendiri yang akhirnya akan mempengaruhi *flavor*, tekstur, dan kenampakan ikan (Anin, 2008).

Gambar 15 memperlihatkan bahwa ikan yang diberi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh memiliki bau yang lebih disukai panelis dibandingkan dengan tanpa ekstrak. Hal ini diduga karena ekstrak daun belimbing wuluh memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan aktifitas enzim akibatnya TVB dan angka peroksida pula dapat

sehingga ikan tidak berbau. Hal ini didukung oleh Genisa (2000), dalam otot ikan terdapat enzim yang dapat mendegradasi protein

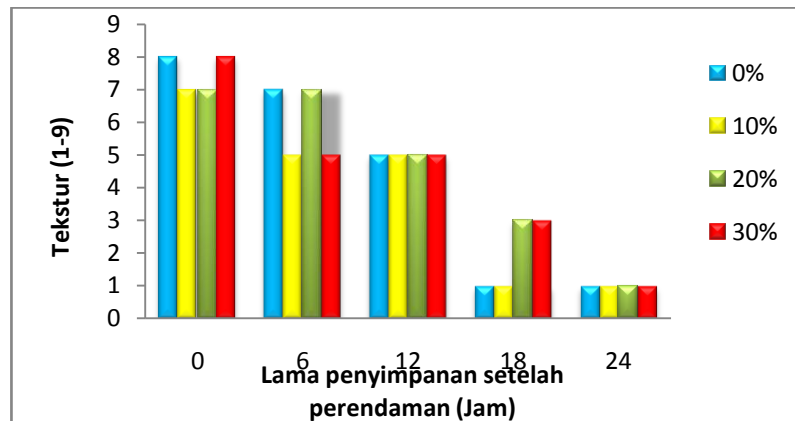


menjadi asam keto dan amino. Asam amino yang mengandung sulfur akan didegradasi menjadi komponen-komponen sulfur yang muda menguap seperti hydrogen sulfida atau dimetil sulfide. Hasil degradasi asam amino tersebut akan menyebabkan bau dan rasa khas dari ikan yang telah menuju pembusukan.

5. Tekstur

Kualitas ikan ditentukan oleh dagingnya, ikan yang masih segar berdaging kenyal, jika ditekan dengan telunjuk atau ibu jari maka bekasnya akan segera kembali. Daging ikan yang belum kehilangan cairan, daging kelihatan basah dan pada permukaan tubuh belum terdapat lendir yang menyebabkan kenampakan ikan menjadi suram/kusam dan tidak menarik. Setelah ikan mati, beberapa jam kemudian daging ikan menjadi kaku. Karena kerusakan pada jaringan dagingnya, maka makin lama kesegarannya akan hilang, timbul cairan sebagai tetes-tetes air yang mengalir keluar, dan daging kehilangan kekenyalan tekstur. Keadaan tekstur pada ikan cakalang dapat dilihat pada Gambar 16.





Gambar 16. Pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dan lama penyimpanan terhadap tekstur ikan cakalang (*K. pelamis L.*).

Hasil uji organoleptik oleh panelis terhadap tekstur ikan cakalang berkisar antara 6 – 8 tanpa penyimpanan, nilai tersebut menunjukkan tekstur yang masih disukai. Gambar 16 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi EDBW sangat berpengaruh terhadap tekstur selama penyimpanan. Pada penyimpanan 12 jam dengan variasi konsentrasi EDBW, nilai yang diberikan oleh panelis masih tergolong baik, karena masih mencapai batas penerimaan sedangkan pada penyimpanan 18 dan 24 jam pada semua perlakuan konsentrasi EDBW sudah tidak layak konsumsi.

Hasil analisis ragam didapatkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh serta lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap keadaan tekstur ikan cakalang ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut memperlihatkan perbedaan nyata terdapat pada penyimpanan 6

jam dengan konsentrasi 20 dan 30%.

Perbedaan nilai organoleptik diduga karena perbedaan kadar air, semakin tinggi kadar air ikan, maka nilai teksturnya menjadi



rendah, begitupun sebaliknya. Purnomo *dkk.* (2012), menyatakan bahwa ikan cakalang asap memiliki tekstur yang berbeda-beda, hal ini disebabkan karena kadar air ikan asap yang berbeda-beda, tinggi rendahnya kadar air dapat dipengaruhi oleh suhu dan lama waktu proses penyimpanan serta proses pengolahannya, semakin tinggi kadar air maka dapat menyebabkan rendahnya nilai tekstur, begitupun sebaliknya.

Menurut Purnomo *dkk.* (2012), perbedaan kekuatan tekstur pada ikan cakalang dapat disebabkan oleh lokasi dan musim pengambilan sampel ikan (*raw material*) dan perlakuan penanganan serta pengolahannya. Perubahan tekstur juga disebabkan karena lapisan jaringan kearah samping terikat kembali tapi diameter serabut otot terisi cairan yang terdifusi lewat sarkoplasma yang mengakibatkan daging menjadi lembek.

Terurainya lipida juga mempunyai andil yang besar pada perubahan sifat tekstur pada ikan. Interaksi antara asam lemak dan protein miofibril dapat menyebabkan protein menjadi tidak larut dalam air sehingga menyebabkan daging ikan menjadi lebih keras dari keadaanya semula. Pembebasan asam-asam lemak dapat menurunkan pH daging sehingga terjadi pembentukan aktomiosin yang tidak larut dalam air. Faktor-faktor yang memegang peranan penting pada tekstur daging ikan adalah perubahan kelarutan protein, kerusakan jaringan daging,

asam lemak, dan sangat dipengaruhi oleh suhu dan waktu (Foto, 1993).



Hasil penelitian Antoro (2007), menyatakan bahwa tekstur ikan mengalami perubahan selama penyimpanan. Ikan hanya bertahan kurang dari 24 jam dan mengalami penurunan tesktur mulai pada hari pertama penangkapan yaitu 5,32 N menjadi 1,87 N hingga pada hari berikutnya.

Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung senyawa tanin yang dapat mempertahankan keadaan tekstur. Kandungan tanin pada EDBW yaitu 10,78% per 50g serbuk daun (Ummah, 2010). Tanin diketahui mempunyai fungsi sebagai antibakteri dan antioksidan. Senyawa tanin dikenal sebagai "*tanning substance*" dalam proses penyamakan atau pengkakuan kulit hewan sebagai kerajinan tangan. Oleh karena itu tekstur ikan cakalang pada penyimpanan 12 jam masih dapat diterima oleh panelis.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari hasil penelitian ini adalah :

1. Konsentrasi EDBW mampu menghambat peningkatan histamin ikan cakalang. Perbedaan nyata terlihat pada perlakuan konsentrasi 20 dan 30% selama penyimpanan, begitupun total volatile bases dan angka peroksida. Pada konsentrasi 30% TVB dan angka peroksida masih layak konsumsi hingga penyimpanan 18 jam. Jumlah bakteri pada Ikan cakalang masih dibawah ambang batas yang disyaratkan.
2. Aktivitas antibakteri EDBW dikategorikan sedang karena pada semua konsentrasi EDBW memiliki zona hambat > 10 - 20 mm.
3. Mutu organoleptik (mata, insang, lendir, bau dan tekstur) kurang dipengaruhi oleh konsentrasi EDBW. Ini terlihat pada setiap parameter yang diamati oleh 6 panelis ahli memberikan nilai rata-rata terendah adalah 3 dan tertinggi adalah 7.

B. SARAN

1. Sampel ikan cakalang yang digunakan harus memiliki kadar histamin rendah, oleh karena itu pengambilan sampel ikan seharusnya pada keadaan fase prerigor (baru ditangkap).



2. Untuk mendapatkan hasil yang maksimal, maka perlu dilakukan uji kadar tanin ekstrak daun belimbing wuluh.



DAFTAR PUSTAKA

Adawiyah, R., 2007. Pengolahan dan Pengawetan ikan. Bumi Aksara, Jakarta.

Affiano, I., 2011. Analisis histamine tuna (*Thunnus sp*), dan bakteri pembentuknya pada beberapa setting standar suhu penyimpanan, Departemen Teknologi Hasil Perikanan, FIKP. Institute Pertanian Bogor

Anin, 2008. Proses Pembusukan Ikan, Sumber: <http://id.shvoong.com/exact-sciences/1790308-proses-pembusukan-ikan/#ixzz37nUB6UmK>, di akses tgl 17- 07-2014

Aniyalisa, M.D., 2009. Evaluasi evektivitas pengendalian resiko bahaya histamine pada titik kendali kritis (*Critical Control point-CCP*) proses pengolahan tuna loin beku dengan metode lean six sigma, Departemen Teknologi Hasil Perairan, FIKP Intitut Pertanian Bogor

Ariyani, F dan Dwiyanto, 2004. Penggunaan arang untuk mengurangi kadar histamine ikan pindang tongkol batik (*Euthynnus affinis*), Jurnal pasca panen Vol. 10.No.3, 2004. Balitbang Kelautan dan Perikanan

Ariyani, F., Kusmiaty, T dan Harmita, 2005. Perlakuan perendaman daalam larutan asam untuk menghambat perkembangan Histamin pada pindang ikan lisong (*Scombor australasicus* CV), Jurnal pasca panen Vol. 11. No.8, 2005. Balitbang Kelautan dan Perikanan

Ariyani, F., Murtini, J.T dan Siregar, T.H., 2010. Penggunaan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) sebagai pengawet pindang tongkol, Jurnal pasca panen dan Biotek Vol. 5. No. 1, Juni 2010 Balitbang Kelaautan dan Perikanan.

D, 2007. Proses penurunan mutu ikan tuna (*Thunnus spp*). <http://id.shvoong.com/exact-sciences/1790308-proses-pembusukan-ikan/#ixzz37nUB6UmK>, di akses tgl 17- 07-2014



Barus, W. N.U, Sitorus, H dan Lesmana I., 2012. Uji efektifitas antibakteri ekstrak daun kamboja (*Plumiera rubra*) pada konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro, Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Sumatra Utara. Medan

Besas J.R., Erlinda I and Dizon, 2012. *Influence of salt Concentration on histamine formation in fermented tuna viscera (Dayok)*. Food and Nutrition science, 2012, 3-201-206 doi: 10.4236/fns.2012.32029 Published online, February 2012 Laguna, Philippines.

Burt, S., 2004. *Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review*, international journal of food microbiology 94:223-253, department of public health and food safety, faculty of veterinary medicine, university of Utrecht, P.O.BOX 80175,3508 TD Utrecht, the Netherlands.

Busova, M., 2013. *Factors affecting the quality and consumption of fish meat*. Department of Biochemistry and Biophysics, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho. Indian journal of aplicead Research Vol.3 ISSU 9, ISSN-2249-555X.

Cahyadi, W., 2008. Teknologai Pengolahan Keju Cottege Sari Kedelai Dalam Upaya Pengembangan Industry Keju Rakyat, Cakrawala Ilmiah, Pasundan.

Chen, H.C., Kung, F.H., Chen, C.W., Lin, F.W., Hwang, F.D., Lee, C.Y and Tsai, H.Y., 2007. *Determination of Histamine and Histamine Forming Bacteria in tuna Dumpling implicated in a food-borne poisoning*, Journal Food Chemistry 106 (2008) 612-618 national Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, ROC.

Dalimartha, S., Hembing, dan Wijayakusuma., 2006. Ramuan Tradisional untuk Pengobatan darah Tinggi. Jakaarta: Penebar Swadaya.



2008. Sintesis senyawa Flavonoid teralkilasi dengan metode reaksi Multikomponen serta Studi Ab Initio Mekanisme Reaksi tahap awal sintesisnya, FMIPA ITB.

Djarkasi. S, Raharjo. S, Noor. Z dan Sudarmaji . S, 2008. Stabilitas oksidatif minyak biji kenari (*Canarium indicum* dan *Canarium vulgare*) selama penyimpanan pada suhu 30⁰ C dan 40⁰ C, Jurnal Teknologi dan Industry Pangan Volume XIX, No 2.

DKP, _____ Departemen Kelautan dan Perikanan RI , 2008. Bantuan teknis untuk industry ikan dan udang skala kecil dan menengah di Indonesia, JICA Project.

European Communities. 2006. *The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2005. Luxembourg.* http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/index_en.htm. 27 Oktober 2014.

Faharani, G.B., 2009. Uji aktifitas antibakteri daun belimbing wuluh terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara Bioautografi, FMIPA UI, Jakarta

Faharani, G. 2008. Uji Aktifitas Antibakteri Daun Belimbing wuluh Terhadap Bakteri *Streptococcus Aureus* dan *Echerchia Coli* Secara Bioautografi. Jakarta :FMIPA UI

[FAO] Food and agriculture Organization, 1995. *Quality and quality changes in fresh fish*. Huss HH, Editor. Rome: FAO

[FAO] Food and agriculture Organization. 2012, *Joint FAO/WHO Expert meeting on the public health Risks of Histamine and other biogenic Amines from fish and fishery products*, FAO Headquarters, Rome, Italy.

[FDA] Food and Drug Administration, 2002. Fish and fisheries products hazards and controls guidance 3rd ed. U.S. FDA Center for Food Safety & Applied Nutrition, Maryland.

Faradisa dan Maria. 2008. Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*). Skripsi. Malang: UIN Malang.

, Y., Julianto dan Kurniawati, N. 2012 karakteristik kimia caviar nelem dalam perendaman campuran larutan asam asetat dengan larutan garam selama penyimpanan suhu dingin (5-10⁰C).



- Fasyah, G.A., Kamilah, E dan Sa'adah, L., 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tannin pada daun belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L.*), Jurnal Kimia 4 (2), Juli 2010: 193-200, UIN Malang
- Fitriyani, E., 2012. Efektifitas daging biji picung dengan kombinasi sebagai bahan pengawet alami dalam mempertahankan tingkat kesegaran ikan layang. PPs Ilmu perikanan, UNHAS.
- Genisa, J. 2000. Produksi histamin pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis L*) selama lepas tangkap. Desertasi, Pascasarjana UNHAS.
- Hadiwiyoto, 1993. Teknologi pengolahan hasil perikanan, Jilid 1. Liberty Yogyakarta.
- Hamid, I.S., Dewi, R.K., Nazar, D.S dan Ratnani, H., 2013. Hambatan Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) oleh ekstrak daun *Gynura procumbens* pada pembuluh darah membrane korioalantois telur ayam berembrio, Fakultas Kedokteran UNAIR. Jurnal Veterinaria Medika , Vol.6.No.1. Februari
- Hartono, R., Mas'ud, H., Sirajuddin dan Ipa, A., 2005. Pengaruh pemberian kalium sorbet dan natrium klorida pada pembentukan histamine ikan cakalang, Media Gizi & Keluarga, Juli: 29 (1): 81-89
- Hernani, Christina, W., dan Marwati, T., 2009. Pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap penurunan tekanan darah pada hewan uji, Jurnal Pasca panen 6 (1); 54-61, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan pasca panen Pertanian.
- Heruwati, E.S., Aryani, F., Triwibowo, R., Rachmaawati, N dan Hermana, I., 2009. Penggunaan ekstrak daun the Hijau (*Kamelia sinensis*) sebagai penghambat pembentukan histamine pada ikan cakalang, Jurnal Pasca Panen Vol.4 No.2 Balitbang Kelautaan dan Perikanan.



Hidayati dan Iffa, L., 2007. Formulasi tablet effervescent dari ekstrak daun belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L.*) sebagai anti hipertensi, Fakultas teknologi Pertanian. IPB.

Hyuskha, 2008. Potensi ekstrak etanol bush belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L.*) sebagai alternatif sediaan diuretika alami. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.

Indriyati.1987. Mempelajari Aktivitas Antibakterial Biji Picung (*Pangium edule*) Terhadap Beberapa Bakteri Pembusuk Ikan Secara Invitro. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 61 pp.

Indriati, N dan Kusmarwati, A. 2008. Daya hambat ekstrak bahan aktif biji picung (*Pangium edule* Reinw.) terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamine. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 3 No. 1

Irianto, dan Giyatmi 2009. Teknologi pengolahan hasil perikanan. Universitas Terbuka: Jakarta

Irianto, K. 2002. *Mikrobiologi Mengungkap Dunia Mikroorganisme*. Jakarta : Irama Widya

Ismaini, L.2007. Studi Aktivitas dan Analisis Kimia Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Biji Picung (*Pangium edule* Reinw). Tesis. Program Pascasarjana Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. 87pp.

Junianto, 2003. Teknik penanganan ikan. Penebar swadaya, Jakarta

Kamilah, H.E., 2010. Dibalik mu'jizat tanaman belimbing wuluh (*Averhoa billimbi.L*) sebagai pengawet alami. Dosen jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulanan Malik Ibrahim, Malang.

Karungi, C. Byaruhanga, Y.B. dan Muyonga, J.H. 2003. Effect of preking duration on quality deterioration of iced nile perch (*Lates niloticus*). J. Food Chemistry 85: 13-17.

Ketaren, S., dan Suastawa, I.G.M., 1994. Pengaruh tingkat mutu buah panili (*Vanilla planifolia A.*) dan nisbah bahan dengan pelarut terhadap rendemen dan mutu Oleoresin yang dihasilkan. Jurnal teknologi Industri Pertanian. Vol. 5(3), Fateta, IPB.

..., A., 2000. Ilmu pangan dan gizi. PT Rajagrafindo, Jakarta.



- Kim,S.H., Price,R.J.,Morrissey,M.T., Field,K.G., Wei,C.I., and An,H. 2002.*Histamine Production by Morganella morganii in Mackerel, Albacore, Mahi-mahi, and Salmon at Various Storage Temperature*. J. of Food Science Vol. 67 (4). P: 1522-1528.
- Lathifah, 2008. Uji efektifitas ekstrak kasar senyawa anti bakteri pada buah belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L*) dengan variasi pelarut. UIN Malang.
- Lenny, S., 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan alkaloida. Departemen kimia, FMIPA Universitas Sumatra utara, Medan.
- Lehane,L., and Olley J, 2006. *Histamine Fish poisoningrevisited*. Journal of food micribiol. 58 (2) : 1 – 37
- Lidywati, Sukrasno dan Ruslan, K., 2006. Karakteristik simplisia daun belimbing belimbing wuluh. Sekolah Farmasi, intitut Teknologi Bandung.
- Makkar H.P.S. 2003. *Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds*, Animal Production and Health Section, Joint FAO/IAEA Division. International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria.
- Marada, H., 2008. Pengaruh lama penyimpanan ikan cakalang pada suhu freezer pada jumlah bakteri. Kesma, Faakultas ilmu kesehatan dan keolahragaan Universitas Gorontalo.
- Masduki, I., 1996. Efek anti bakteri ekstrak biji pinang (areca catechu) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, Cermin dunia kedokteran
- Mukhliso. W., 2010. Pengaruh ekstrak tunggal dan gabungan daun belimbing wuluh (*Averhoa billimbi.L*) terhadap efektifitas anti bakteri secara invitro. Kimia, UIN Malang
- Munandar,A., Nurjannah, dan Nurimala, M., 2009. Kemunduran mutu ikan nila (*Oreochronis niloticus*) pada penyimpanan suhu rendah dengan perlakuan cara mematikan dan penyiangan. Jurnal teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia Vol. XII No. 2.

Y., Bhtiar, E dan Kurnia, A. U. M, 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi



bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) FPIK universitas Padjajaran, Jatinangor, Bandung.

Nadila, 2013. Nutrisi untuk Bangsa, <http://nutrisiuntukbangsa.org/panadasi-kue-cakalang-khas-manado/#sthash.KJnaMp8R.dpuf>, akses 20 desember 2013

Nimah. S, Ma'ruf. W.F dan Trianto. A, 2012. Uji bioaktivitas ekstrak teripang (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*, Jurnal perikanan Vol. 1, No. 2, Hal.7.UNDIP.

Nirwani, B., Farida, J.R., Dewa .A.C.M., titis, N dan Endrawati. T.B., 2009. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negative, Jurnal Kedokteran dan kesehatan Indonesia.

Niven, C.F., Jeffrey, M.B., and Corlett D.A. Jr., 1981. *Differential planting medium for quantitative detection of histamine-production bacteri*. Applied environ . Microbiol, 41: 321-322

Nuraida L, N. Andarwulan dan E. Kristikasari. 2000. Antimikrobial Activity of Fresh and Fermented Picung (*Pangium edule*) Seed Againsts Pathogenic and Food Spoilage Bacteria. Journal of Food Technology and Industry. 4(2), 18-26

Nursal, Wulandari. S dan Juwita. W.S. 2006. Bioaktfitas ekstrak jahe (*Zingiber offocinale Roxb*) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*, jurnal biogenesis Vol. 2(2):64-66,. FIKP Universitas Riau.

Purnomo, H. Kobajashi T. Isamu, dan Sudarminto S. Yuwono, 2012. Karakteristik fisik, kimia, dan organoleptik ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) asap di Kendari, Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 13 No. 2 [Agustus 2012] 105-110, UNIBRAW, Malang.

Rinto, 2007. Kandungan histamine selama proses produksi dan penyimpanan produk perikanan, di publikasikan dalam kongres ilmu pengetahuan Wilayah Indonesia Barat. Universitas Brawijaya.

010. Kajian opaaenolakan eksport produk perikanan Indonesia ke Amerika Serikat, Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya.



- Samner, J., Ross.T and Ababouch, L., 2004. *Application of risk assessment in the fish industry*. Roma: food and Agricultur Organization of the Unitednation.
- SNI 2345. 10: 2009. Cara uji kimia – Bagian 10: Penentuan kadar histamine dengan spektrofiorometri dan kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada produk perikanan.
- SNI 2345. 8: 2009. Cara uji kimia – bagian 8: penentuan kadar total Volatail base Nitrogen (TVB-N) dan Trimetil Amin Nitrogen (TMA-N) pada produk perikanan.
- Sophia, A.R., Mangunwardoyo, W dan Heruwati, S.E., 2007. Seleksi dan pengujian Aktifitas enzim I histidin decarboxilase dari Bakteri pembentuk histamine, Jurnal Makara, Sains Vol. 11, No. 2, November : 104-109, Jakarta.
- Thomas, 2007. Belimbing asam (Online), Tanaman obat tradisional 2, Kanisisus.(http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/Thomas,A.N.S.,2007.Yogyakarta.view..Php.id) di akses 05-09-2013
- Tsai, H.Y., Kung, F.H., Lee, M.T., Cheng, C.H., Chou, S.S., Wei, i.C and Hwang, F.D., 2004. *Determination Of Histamin in canned mackerel implicatied in a food borne poisoning*. Food Chemistry 106 (2008) 612-618National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan. ROC
- Ummah, M.K., 2010. Ekstraksi dan pengujian Aktivitas antibakteri senyawa tamin pada daun belimbing wuluh (*Averhoa billimbi L.*) Kajian variasi pelarut, skripsi, Kimia UIN malang.
- Vargaz, C. and Nickson, A. 2002, The limitation of water Regulation: The Failure of the Chochabamba concession in Bolivia. Superintendencia de Aguas, La Paz, Bolivia.
- Winarno. F.G, 1981. Fisiologi lepas panen. PT sastra Hudaya Jakarta
- Wulandari, M., Suryawati, A.S dan Astuti, R., 2010, pengaruh dosisi dan lama perendaman larutan lengkuas terhadap jumlah bakteri ikan bandeng, Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia, vol. 7, No. 1, 2011.



ki, O., Akiyama, H, Fuji, K., Oon, T., and Iwatsuji, K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy Lawrence. 48:487-491

- Zaitsev, V., L. Kezeveter, L. Iagunov, T. Makarova, L. Minder, and Podselov, 1989. *Fish curing and processing*. Mir Publisher company, Westport, Connecticut.
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H.m, Henia, E.F.P., Jais, A.M.M., and Zainuddin, E.N.H., 2007. *In vitro antibacterial activity of Averrhoa bilimbi L. leaves and fruit extracts*. International Journal of Tropical medicine, (online), 2(3):96-100.



LAMPIRAN



Optimization Software:
www.balesio.com

Lampiran 1. Score sheet organoleptik ikan segar

Jenis ikan

Hari/ Tanggal

PANELIS

Beri tanda ✓ pada nilai yang dipilih sesuai kode contoh yang diuji

Spesifikasi	Nilai	Pengamatan														
		AB			AB			AB			AB			TOTAL		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1. MATA																
Cerah, bola mata menonjol, kornea jernih	9															
Cerah, bola mata rata, kornea jernih	8															
Agak cerah, bola mata rata, pupil agak keabu-abuan, kornea agak keruh	7															
Bola mata agak cekung, pupil ke abu-abuan, kornea agak keruh	6															
Bola mata agak cekung, pupil keabu-abuan, kornea agak keruh	5															
Bola mata cekung, pupil mulai berubah menjadi putih susu, kornea keruh	3															
Bola mata sangat cekung, kornea agak kuning	1															
2. INSANG																
Warna cemerlang tanpa lendir	9															
Warna merah kurang cemerlang tanpa lender	8															
Warna merah agak kusam tanpa lender	7															
Merah agak kusam, sedikit lendir	6															
Mulai ada perubahan warna, merah kecoklatan, sedikit lender	5															
Warna merah coklat, lendir tebal	3															
Warna merah coklat ada sedikit putih, lendir tebal	1															
3. lendir permukaan badan																
Lapisan lendir jernih, transparan, mengkilat cerah	9															
Lapisan lendir jernih, transparan, cerah, belum ada perubahan warna	8															
Lapisan lendir mulai agak keruh, warna agak putih kusam, kurang transparan.	7															
Lendir tebal menggumpal, mulai berubah warna putih keruh	5															
Lendir tebal menggumpal, mulai berubah	3															
umpal, mulai berubah	1															
tan																
spesifik jenis	9															



Segar, spesifik jenis	8																		
Netral	7																		
Bau amoniak mulai tercium, sedikit bau asam	5																		
Bau amoniak kuat, ada bau H ₂ S, bau asam jelas dan busuk	3																		
Bau busuk jelas	1																		
5. TEKSTUR																			
Padat, elastis bila ditekan jari	9																		
Agak padat, elastis bila ditekan jari	8																		
Agak padat, agak elastis bila ditekan jari, A56	7																		
Agak lunak, kurang elastis bila ditekan jari	5																		
Lunak, bekas jari terlihat bila ditekan	3																		
Sangat lunak, bekas jari tidak hilang bila ditekan	1																		



Lampiran 2. Hasil analisis ragam kadar histamin ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	66902.243	2	33451.121	31.954	.000 ^a
	Residual	17796.679	17	1046.863		
	Total	84698.921	19			

a. Predictors: (Constant), waktu, konsentrasi

b. Dependent Variable: histamine

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Konsentra si	(J) Konsentra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Histamin_0	0	10	1.52667	1.87101	.845	-4.4650	7.5183
		20	-1.15667	1.87101	.923	-7.1483	4.8350
		30	-1.34000	1.87101	.888	-7.3316	4.6516
	10	0	-1.52667	1.87101	.845	-7.5183	4.4650
		20	-2.68333	1.87101	.515	-8.6750	3.3083
		30	-2.86667	1.87101	.464	-8.8583	3.1250
	20	0	1.15667	1.87101	.923	-4.8350	7.1483
		10	2.68333	1.87101	.515	-3.3083	8.6750
		30	-.18333	1.87101	1.000	-6.1750	5.8083
	30	0	1.34000	1.87101	.888	-4.6516	7.3316
		10	2.86667	1.87101	.464	-3.1250	8.8583
		20	.18333	1.87101	1.000	-5.8083	6.1750
Histamin_6	0	10	3.53333*	.89500	.018	.6672	6.3994
		20	10.24667*	.89500	.000	7.3806	13.1128
		30	11.81000*	.89500	.000	8.9439	14.6761
	10	0	-3.53333*	.89500	.018	-6.3994	-.6672
		20	6.71333*	.89500	.000	3.8472	9.5794
		30	8.27667*	.89500	.000	5.4106	11.1428
	20	0	-10.24667*	.89500	.000	-13.1128	-7.3806
		10	-6.71333*	.89500	.000	-9.5794	-3.8472
		30	1.56333	.89500	.362	-1.3028	4.4294
	30	0	-11.81000*	.89500	.000	-14.6761	-8.9439
		10	-8.27667*	.89500	.000	-11.1428	-5.4106
		20	-1.56333	.89500	.362	-4.4294	1.3028
Histamin_12	0	10	72.94667*	5.62229	.000	54.9421	90.9512
		20	83.79667*	5.62229	.000	65.7921	101.8012
		30	73.79333*	5.62229	.000	55.7888	91.7979
	10	0	-72.94667*	5.62229	.000	-90.9512	-54.9421
		20	10.85000	5.62229	.289	-7.1546	28.8546
		30	.84667	5.62229	.999	-17.1579	18.8512



	20	0	-83.79667*	5.62229	.000	-101.8012	-65.7921
		10	-10.85000	5.62229	.289	-28.8546	7.1546
		30	-10.00333	5.62229	.348	-28.0079	8.0012
	30	0	-73.79333*	5.62229	.000	-91.7979	-55.7888
		10	-.84667	5.62229	.999	-18.8512	17.1579
		20	10.00333	5.62229	.348	-8.0012	28.0079
Histamin_18	0	10	90.65333*	3.52606	.000	79.3616	101.9450
		20	92.39000*	3.52606	.000	81.0983	103.6817
		30	91.65667*	3.52606	.000	80.3650	102.9484
	10	0	-90.65333*	3.52606	.000	-101.9450	-79.3616
		20	1.73667	3.52606	.959	-9.5550	13.0284
		30	1.00333	3.52606	.991	-10.2884	12.2950
	20	0	-92.39000*	3.52606	.000	-103.6817	-81.0983
		10	-1.73667	3.52606	.959	-13.0284	9.5550
		30	-.73333	3.52606	.997	-12.0250	10.5584
	30	0	-91.65667*	3.52606	.000	-102.9484	-80.3650
		10	-1.00333	3.52606	.991	-12.2950	10.2884
		20	.73333	3.52606	.997	-10.5584	12.0250
Histamin_24	0	10	19.98667*	1.04810	.000	16.6303	23.3430
		20	67.85667*	1.04810	.000	64.5003	71.2130
		30	69.64333*	1.04810	.000	66.2870	72.9997
	10	0	-19.98667*	1.04810	.000	-23.3430	-16.6303
		20	47.87000*	1.04810	.000	44.5136	51.2264
		30	49.65667*	1.04810	.000	46.3003	53.0130
	20	0	-67.85667*	1.04810	.000	-71.2130	-64.5003
		10	-47.87000*	1.04810	.000	-51.2264	-44.5136
		30	1.78667	1.04810	.381	-1.5697	5.1430
	30	0	-69.64333*	1.04810	.000	-72.9997	-66.2870
		10	-49.65667*	1.04810	.000	-53.0130	-46.3003
		20	-1.78667	1.04810	.381	-5.1430	1.5697

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 3. Hasil analisis ragam kadar TVB ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	6086.880	2	3043.440	28.498	.000 ^a
	Residual	1815.501	17	106.794		
	Total	7902.381	19			

a. Predictors: (Constant), waktu, konsentrasi

b. Dependent Variable: tvb

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
TVB_0	0	10	-.13000	.89572	.999	-2.9984	2.7384
		20	.96000	.89572	.715	-1.9084	3.8284
		30	2.39667	.89572	.105	-.4717	5.2651
	10	0	.13000	.89572	.999	-2.7384	2.9984
		20	1.09000	.89572	.634	-1.7784	3.9584
		30	2.52667	.89572	.086	-.3417	5.3951
	20	0	-.96000	.89572	.715	-3.8284	1.9084
		10	-1.09000	.89572	.634	-3.9584	1.7784
		30	1.43667	.89572	.428	-1.4317	4.3051
	30	0	-2.39667	.89572	.105	-5.2651	.4717
		10	-2.52667	.89572	.086	-5.3951	.3417
		20	-1.43667	.89572	.428	-4.3051	1.4317
TVB_6	0	10	10.79000*	1.59937	.001	5.6682	15.9118
		20	7.07000*	1.59937	.010	1.9482	12.1918
		30	10.29667*	1.59937	.001	5.1749	15.4184
	10	0	-10.79000*	1.59937	.001	-15.9118	-5.6682
		20	-3.72000	1.59937	.171	-8.8418	1.4018
		30	-.49333	1.59937	.989	-5.6151	4.6284
	20	0	-7.07000*	1.59937	.010	-12.1918	-1.9482
		10	3.72000	1.59937	.171	-1.4018	8.8418
		30	3.22667	1.59937	.258	-1.8951	8.3484
	30	0	-10.29667*	1.59937	.001	-15.4184	-5.1749
		10	.49333	1.59937	.989	-4.6284	5.6151
		20	-3.22667	1.59937	.258	-8.3484	1.8951
TVB_12	0	10	14.64667*	3.83565	.021	2.3636	26.9298
		20	27.91667*	3.83565	.000	15.6336	40.1998
		30	30.32667*	3.83565	.000	18.0436	42.6098
	10	0	-14.64667*	3.83565	.021	-26.9298	-2.3636
		20	13.27000*	3.83565	.035	.9869	25.5531



		30	15.68000*	3.83565	.015	3.3969	27.9631
	20	0	-27.91667*	3.83565	.000	-40.1998	-15.6336
		10	-13.27000*	3.83565	.035	-25.5531	-.9869
		30	2.41000	3.83565	.920	-9.8731	14.6931
	30	0	-30.32667*	3.83565	.000	-42.6098	-18.0436
		10	-15.68000*	3.83565	.015	-27.9631	-3.3969
		20	-2.41000	3.83565	.920	-14.6931	9.8731
TVB_18	0	10	18.18333*	4.37528	.014	4.1721	32.1945
		20	19.89000*	4.37528	.008	5.8788	33.9012
		30	35.97000*	4.37528	.000	21.9588	49.9812
	10	0	-18.18333*	4.37528	.014	-32.1945	-4.1721
		20	1.70667	4.37528	.978	-12.3045	15.7179
		30	17.78667*	4.37528	.015	3.7755	31.7979
	20	0	-19.89000*	4.37528	.008	-33.9012	-5.8788
		10	-1.70667	4.37528	.978	-15.7179	12.3045
		30	16.08000*	4.37528	.026	2.0688	30.0912
	30	0	-35.97000*	4.37528	.000	-49.9812	-21.9588
		10	-17.78667*	4.37528	.015	-31.7979	-3.7755
		20	-16.08000*	4.37528	.026	-30.0912	-2.0688
TVB_24	0	10	40.15000*	4.51213	.000	25.7006	54.5994
		20	40.41333*	4.51213	.000	25.9639	54.8627
		30	40.28000*	4.51213	.000	25.8306	54.7294
	10	0	-40.15000*	4.51213	.000	-54.5994	-25.7006
		20	.26333	4.51213	1.000	-14.1861	14.7127
		30	.13000	4.51213	1.000	-14.3194	14.5794
	20	0	-40.41333*	4.51213	.000	-54.8627	-25.9639
		10	-.26333	4.51213	1.000	-14.7127	14.1861
		30	-.13333	4.51213	1.000	-14.5827	14.3161
	30	0	-40.28000*	4.51213	.000	-54.7294	-25.8306
		10	-.13000	4.51213	1.000	-14.5794	14.3194
		20	.13333	4.51213	1.000	-14.3161	14.5827

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 4. Hasil analisis ragam angka peroksida ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L.)

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	65.687	2	32.843	9.633	.002 ^a
	Residual	57.959	17	3.409		
	Total	123.645	19			

a. Predictors: (Constant), Waktu, Konsentrasi

b. Dependent Variable: Peroksida

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Peroksida_0	0	10	-.58333	.40783	.517	-1.8894	.7227
		20	.17333	.40783	.973	-1.1327	1.4794
		30	.16000	.40783	.978	-1.1460	1.4660
	10	0	.58333	.40783	.517	-.7227	1.8894
		20	.75667	.40783	.317	-.5494	2.0627
		30	.74333	.40783	.330	-.5627	2.0494
	20	0	-.17333	.40783	.973	-1.4794	1.1327
		10	-.75667	.40783	.317	-2.0627	.5494
		30	-.01333	.40783	1.000	-1.3194	1.2927
	30	0	-.16000	.40783	.978	-1.4660	1.1460
		10	-.74333	.40783	.330	-2.0494	.5627
		20	.01333	.40783	1.000	-1.2927	1.3194
Peroksida_6	0	10	3.78333	1.29435	.074	-.3616	7.9283
		20	1.37667	1.29435	.719	-2.7683	5.5216
		30	2.10333	1.29435	.418	-2.0416	6.2483
	10	0	-3.78333	1.29435	.074	-7.9283	.3616
		20	-2.40667	1.29435	.316	-6.5516	1.7383
		30	-1.68000	1.29435	.589	-5.8250	2.4650
	20	0	-1.37667	1.29435	.719	-5.5216	2.7683
		10	2.40667	1.29435	.316	-1.7383	6.5516
		30	.72667	1.29435	.941	-3.4183	4.8716
	30	0	-2.10333	1.29435	.418	-6.2483	2.0416
		10	1.68000	1.29435	.589	-2.4650	5.8250
		20	-.72667	1.29435	.941	-4.8716	3.4183
	0	10	1.92333	2.04219	.784	-4.6165	8.4631
		20	2.54000	2.04219	.619	-3.9998	9.0798
		30	5.00000	2.04219	.144	-1.5398	11.5398
	10	0	-1.92333	2.04219	.784	-8.4631	4.6165



		20		.61667	2.04219	.990	-5.9231	7.1565
		30		3.07667	2.04219	.477	-3.4631	9.6165
	20	0		-2.54000	2.04219	.619	-9.0798	3.9998
		10		-.61667	2.04219	.990	-7.1565	5.9231
		30		2.46000	2.04219	.641	-4.0798	8.9998
	30	0		-5.00000	2.04219	.144	-11.5398	1.5398
		10		-3.07667	2.04219	.477	-9.6165	3.4631
		20		-2.46000	2.04219	.641	-8.9998	4.0798
Peroksida_18	0	10		4.66667*	1.21879	.021	.7637	8.5697
		20		5.48667*	1.21879	.009	1.5837	9.3897
		30		6.98667*	1.21879	.002	3.0837	10.8897
	10	0		-4.66667*	1.21879	.021	-8.5697	-.7637
		20		.82000	1.21879	.904	-3.0830	4.7230
		30		2.32000	1.21879	.299	-1.5830	6.2230
	20	0		-5.48667*	1.21879	.009	-9.3897	-1.5837
		10		-.82000	1.21879	.904	-4.7230	3.0830
		30		1.50000	1.21879	.626	-2.4030	5.4030
	30	0		-6.98667*	1.21879	.002	-10.8897	-3.0837
		10		-2.32000	1.21879	.299	-6.2230	1.5830
		20		-1.50000	1.21879	.626	-5.4030	2.4030
Peroksida_24	0	10		6.94000*	1.98010	.033	.5990	13.2810
		20		7.29667*	1.98010	.026	.9557	13.6376
		30		7.10667*	1.98010	.029	.7657	13.4476
	10	0		-6.94000*	1.98010	.033	-13.2810	-.5990
		20		.35667	1.98010	.998	-5.9843	6.6976
		30		.16667	1.98010	1.000	-6.1743	6.5076
	20	0		-7.29667*	1.98010	.026	-13.6376	-.9557
		10		-.35667	1.98010	.998	-6.6976	5.9843
		30		-.19000	1.98010	1.000	-6.5310	6.1510
	30	0		-7.10667*	1.98010	.029	-13.4476	-.7657
		10		-.16667	1.98010	1.000	-6.5076	6.1743
		20		.19000	1.98010	1.000	-6.1510	6.5310

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 5. Hasil analisis ragam jumlah bakteri penghasil histamin ikan cakalang (*Katsuwonul pelamis L*).

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.523E12	2	7.617E11	5.775	.012 ^a
	Residual	2.242E12	17	1.319E11		
	Total	3.765E12	19			

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi, Waktu

b. Dependent Variable: Bakteri

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentra si	(J) Konsentra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Bakteri_0	Tukey HSD	0	10	-.071133 [*]	.002374	.000	-.07874	-.06353
			20	-.083800 [*]	.002374	.000	-.09140	-.07620
			30	-.058800 [*]	.002374	.000	-.06640	-.05120
		10	0	.071133 [*]	.002374	.000	.06353	.07874
			20	-.012667 [*]	.002374	.003	-.02027	-.00506
			30	.012333 [*]	.002374	.004	.00473	.01994
		20	0	.083800 [*]	.002374	.000	.07620	.09140
			10	.012667 [*]	.002374	.003	.00506	.02027
			30	.025000 [*]	.002374	.000	.01740	.03260
		30	0	.058800 [*]	.002374	.000	.05120	.06640
			10	-.012333 [*]	.002374	.004	-.01994	-.00473
			20	-.025000 [*]	.002374	.000	-.03260	-.01740
	LSD	0	10	-.071133 [*]	.002374	.000	-.07661	-.06566
			20	-.083800 [*]	.002374	.000	-.08927	-.07833
			30	-.058800 [*]	.002374	.000	-.06427	-.05333
		10	0	.071133 [*]	.002374	.000	.06566	.07661
			20	-.012667 [*]	.002374	.001	-.01814	-.00719
			30	.012333 [*]	.002374	.001	.00686	.01781
		20	0	.083800 [*]	.002374	.000	.07833	.08927
			10	.012667 [*]	.002374	.001	.00719	.01814
			30	.025000 [*]	.002374	.000	.01953	.03047
		30	0	.058800 [*]	.002374	.000	.05333	.06427
			10	-.012333 [*]	.002374	.001	-.01781	-.00686
			20	-.025000 [*]	.002374	.000	-.03047	-.01953
	Tukey HSD	0	10	-.0423333 [*]	.0102985	.014	-.075313	-.009354
			20	-.0526667 [*]	.0102985	.004	-.085646	-.019687
			30	-.0946667 [*]	.0102985	.000	-.127646	-.061687
		10	0	.0423333 [*]	.0102985	.014	.009354	.075313
			20	-.0103333	.0102985	.752	-.043313	.022646



				30		-.0523333*	.0102985	.004	-.085313	-.019354
				20	0	.0526667*	.0102985	.004	.019687	.085646
					10	.0103333	.0102985	.752	-.022646	.043313
					30	-.0420000*	.0102985	.015	-.074979	-.009021
				30	0	.0946667*	.0102985	.000	.061687	.127646
					10	.0523333*	.0102985	.004	.019354	.085313
					20	.0420000*	.0102985	.015	.009021	.074979
		LSD	0	10		-.0423333*	.0102985	.003	-.066082	-.018585
				20		-.0526667*	.0102985	.001	-.076415	-.028918
				30		-.0946667*	.0102985	.000	-.118415	-.070918
			10	0		.0423333*	.0102985	.003	.018585	.066082
				20		-.0103333	.0102985	.345	-.034082	.013415
				30		-.0523333*	.0102985	.001	-.076082	-.028585
			20	0		.0526667*	.0102985	.001	.028918	.076415
				10		.0103333	.0102985	.345	-.013415	.034082
				30		-.0420000*	.0102985	.004	-.065748	-.018252
			30	0		.0946667*	.0102985	.000	.070918	.118415
				10		.0523333*	.0102985	.001	.028585	.076082
				20		.0420000*	.0102985	.004	.018252	.065748
Bakteri_12	Tukey HSD	0	10			-.0008400	.0013157	.917	-.005053	.003373
					20	-.0004733	.0013157	.983	-.004687	.003740
					30	-.0758067*	.0013157	.000	-.080020	-.071593
		10	0			.0008400	.0013157	.917	-.003373	.005053
					20	.0003667	.0013157	.992	-.003847	.004580
					30	-.0749667*	.0013157	.000	-.079180	-.070753
		20	0			.0004733	.0013157	.983	-.003740	.004687
					10	-.0003667	.0013157	.992	-.004580	.003847
					30	-.0753333*	.0013157	.000	-.079547	-.071120
		30	0			.0758067*	.0013157	.000	.071593	.080020
					10	.0749667*	.0013157	.000	.070753	.079180
					20	.0753333*	.0013157	.000	.071120	.079547
	LSD	0	10			-.0008400	.0013157	.541	-.003874	.002194
					20	-.0004733	.0013157	.728	-.003507	.002561
					30	-.0758067*	.0013157	.000	-.078841	-.072773
		10	0			.0008400	.0013157	.541	-.002194	.003874
					20	.0003667	.0013157	.788	-.002667	.003401
					30	-.0749667*	.0013157	.000	-.078001	-.071933
		20	0			.0004733	.0013157	.728	-.002561	.003507
					10	-.0003667	.0013157	.788	-.003401	.002667
					30	-.0753333*	.0013157	.000	-.078367	-.072299
		30	0			.0758067*	.0013157	.000	.072773	.078841
					10	.0749667*	.0013157	.000	.071933	.078001
					20	.0753333*	.0013157	.000	.072299	.078367
	Tukey HSD	0	10			-.002314000*	.000091287	.000	-.00260633	-.00202167
					20	-.002614000*	.000091287	.000	-.00290633	-.00232167
					30	-.002314000*	.000091287	.000	-.00260633	-.00202167



		LSD	10	0	.002314000*	.000091287	.000	.00202167	.00260633		
				20	-.000300000*	.000091287	.044	-.00059233	-.00000767		
				30	.000000000	.000091287	1.000	-.00029233	.00029233		
			20	0	.002614000*	.000091287	.000	.00232167	.00290633		
				10	.000300000*	.000091287	.044	.00000767	.00059233		
				30	.000300000*	.000091287	.044	.00000767	.00059233		
			30	0	.002314000*	.000091287	.000	.00202167	.00260633		
				10	.000000000	.000091287	1.000	-.00029233	.00029233		
				20	-.000300000*	.000091287	.044	-.00059233	-.00000767		
		LSD	0	10	-.002314000*	.000091287	.000	-.00252451	-.00210349		
				20	-.002614000*	.000091287	.000	-.00282451	-.00240349		
				30	-.002314000*	.000091287	.000	-.00252451	-.00210349		
			10	0	.002314000*	.000091287	.000	.00210349	.00252451		
				20	-.000300000*	.000091287	.011	-.00051051	-.00008949		
				30	.000000000	.000091287	1.000	-.00021051	.00021051		
			20	0	.002614000*	.000091287	.000	.00240349	.00282451		
				10	.000300000*	.000091287	.011	.00008949	.00051051		
				30	.000300000*	.000091287	.011	.00008949	.00051051		
		LSD	30	0	.002314000*	.000091287	.000	.00210349	.00252451		
				10	.000000000	.000091287	1.000	-.00021051	.00021051		
				20	-.000300000*	.000091287	.011	-.00051051	-.00008949		
			Bakteri_24	Tukey HSD	0	10	-.000128033*	.000016159	.000	-.00017978	-.00007629
						20	-.000171367*	.000016159	.000	-.00022311	-.00011962
						30	-.000241367*	.000016159	.000	-.00029311	-.00018962
				10	0	.000128033*	.000016159	.000	.00007629	.00017978	
						20	-.000043333	.000016159	.104	-.00009508	.00000841
						30	-.000113333*	.000016159	.001	-.00016508	-.00006159
		20		0	.000171367*	.000016159	.000	.00011962	.00022311		



		10	.000043333	.00001615 ₉	.104	-.00000841	.00009508
		30	-.000070000*	.00001615 ₉	.011	-.00012175	-.00001825
	30	0	.000241367*	.00001615 ₉	.000	.00018962	.00029311
		10	.000113333*	.00001615 ₉	.001	.00006159	.00016508
		20	.000070000*	.00001615 ₉	.011	.00001825	.00012175
LSD	0	10	-.000128033*	.00001615 ₉	.000	-.00016530	-.00009077
		20	-.000171367*	.00001615 ₉	.000	-.00020863	-.00013410
		30	-.000241367*	.00001615 ₉	.000	-.00027863	-.00020410
	10	0	.000128033*	.00001615 ₉	.000	.00009077	.00016530
		20	-.000043333*	.00001615 ₉	.028	-.00008060	-.00000607
		30	-.000113333*	.00001615 ₉	.000	-.00015060	-.00007607
	20	0	.000171367*	.00001615 ₉	.000	.00013410	.00020863
		10	.000043333*	.00001615 ₉	.028	.00000607	.00008060
		30	-.000070000*	.00001615 ₉	.003	-.00010726	-.00003274
	30	0	.000241367*	.00001615 ₉	.000	.00020410	.00027863
		10	.000113333*	.00001615 ₉	.000	.00007607	.00015060
		20	.000070000*	.00001615 ₉	.003	.00003274	.00010726

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 6. Hasil analisis ragam zona penghambatan ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamin pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis L.*).

ANOVA					
zona					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	304.910	3	101.637	9.121	.029
Within Groups	44.573	4	11.143		
Total	349.483	7			

Multiple Comparisons

zona
Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	-10.54500 [*]	3.33815	.108	-24.1341	3.0441
	20	-13.87500 [*]	3.33815	.047	-27.4641	-.2859
	30	-16.10000 [*]	3.33815	.029	-29.6891	-2.5109
10	0	10.54500 [*]	3.33815	.108	-3.0441	24.1341
	20	-3.33000	3.33815	.760	-16.9191	10.2591
	30	-5.55500	3.33815	.442	-19.1441	8.0341
20	0	13.87500 [*]	3.33815	.047	.2859	27.4641
	10	3.33000	3.33815	.760	-10.2591	16.9191
	30	-2.22500	3.33815	.905	-15.8141	11.3641
30	0	16.10000 [*]	3.33815	.029	2.5109	29.6891
	10	5.55500	3.33815	.442	-8.0341	19.1441
	20	2.22500	3.33815	.905	-11.3641	15.8141

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 7. Hasil analisis ragam keadaan mata ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Mata_0	Between Groups	2.250	3	.750	3.000	.095
	Within Groups	2.000	8	.250		
	Total	4.250	11			
Mata_6	Between Groups	3.000	3	1.000	1.333	.330
	Within Groups	6.000	8	.750		
	Total	9.000	11			
Mata_12	Between Groups	2.250	3	.750	.600	.633
	Within Groups	10.000	8	1.250		
	Total	12.250	11			
Mata_18	Between Groups	9.000	3	3.000	1.500	.287
	Within Groups	16.000	8	2.000		
	Total	25.000	11			
Mata_24	Between Groups	.000	3	.000		
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.000	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentr asi	(J) Konsentr asi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Mata_0	Tukey HSD	0	10	1.00000	.40825	.144	-.3074	2.3074
			20	1.00000	.40825	.144	-.3074	2.3074
			30	1.00000	.40825	.144	-.3074	2.3074
		10	0	-1.00000	.40825	.144	-2.3074	.3074
			20	.00000	.40825	1.000	-1.3074	1.3074
			30	.00000	.40825	1.000	-1.3074	1.3074
		20	0	-1.00000	.40825	.144	-2.3074	.3074
			10	.00000	.40825	1.000	-1.3074	1.3074
			30	.00000	.40825	1.000	-1.3074	1.3074
	LSD	0	10	1.00000*	.40825	.040	.0586	1.9414
			20	1.00000*	.40825	.040	.0586	1.9414
			30	1.00000*	.40825	.040	.0586	1.9414
	10	0	-1.00000*	.40825	.040	-1.9414	-.0586	
		20	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414	
		30	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414	
	20	0	-1.00000*	.40825	.040	-1.9414	-.0586	
		10	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414	



			30	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414
		30	0	-1.00000*	.40825	.040	-1.9414	-.0586
			10	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414
			20	.00000	.40825	1.000	-.9414	.9414
Mata_6	Tukey HSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		10	0	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		20	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			10	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			30	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
		30	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			10	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
	LSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		10	0	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		20	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			10	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			30	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
		30	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			10	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
Mata_12	Tukey HSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		20	0	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			10	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		30	0	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
			10	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
			20	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
	LSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
		20	0	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			10	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051



			30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
		30	0	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
			10	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
			20	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
Mata_18	Tukey HSD	0	10	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		10	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		20	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
	LSD	0	10	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		10	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
		20	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
		30	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 8. Hasil analisis ragam keadaan insang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Insang_0	Between Groups	6.000	3	2.000	2.667	.119
	Within Groups	6.000	8	.750		
	Total	12.000	11			
insang_6	Between Groups	3.000	3	1.000	1.333	.330
	Within Groups	6.000	8	.750		
	Total	9.000	11			
Insang_12	Between Groups	2.250	3	.750	.600	.633
	Within Groups	10.000	8	1.250		
	Total	12.250	11			
Insang_18	Between Groups	12.000	3	4.000	1.455	.298
	Within Groups	22.000	8	2.750		
	Total	34.000	11			
Insang_24	Between Groups	12.000	3	4.000	2.000	.193
	Within Groups	16.000	8	2.000		
	Total	28.000	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentra si	(J) Konsentra si	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Insang_0	Tukey HSD	0	10	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			20	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			30	2.00000	.70711	.085	-.2644	4.2644
		10	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		20	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		30	0	-2.00000	.70711	.085	-4.2644	.2644
			10	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			20	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
Insang_0	LSD	0	10	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			20	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			30	2.00000*	.70711	.022	.3694	3.6306
		10	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		20	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306



			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		30	0	-2.00000*	.70711	.022	-3.6306	-.3694
			10	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			20	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
insang_6	Tukey HSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		10	0	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
			30	1.00000	.70711	.525	-1.2644	3.2644
		20	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			10	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			30	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
		30	0	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			10	-1.00000	.70711	.525	-3.2644	1.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
	LSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		10	0	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
			30	1.00000	.70711	.195	-.6306	2.6306
		20	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			10	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			30	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
		30	0	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			10	-1.00000	.70711	.195	-2.6306	.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
Insang_12	Tukey HSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		20	0	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			10	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			30	1.00000	.91287	.702	-1.9233	3.9233
		30	0	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
			10	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
			20	-1.00000	.91287	.702	-3.9233	1.9233
	LSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
		20	0	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			10	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051



Insang_18	Tukey HSD	0	30	1.00000	.91287	.305	-1.1051	3.1051
			30 0	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
			10	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
			20	-1.00000	.91287	.305	-3.1051	1.1051
		10	10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			20	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			30	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
		20	10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			20	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			30	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
		30	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			30	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
Insang_24	Tukey HSD	0	30 0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			20	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
		10	0	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		20	0	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		30	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			30	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
	LSD	0	30 0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		10	0	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		20	0	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		30	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
Insang_24	Tukey HSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		20	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
	LSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		20	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978



	30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
30	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
	10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
	20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Optimization Software:
www.balesio.com

Lampiran 9. Hasil analisis ragam keadaan lendir ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lendir_0	Between Groups	3.000	3	1.000		
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	3.000	11			
Lendir_6	Between Groups	10.250	3	3.417	2.563	.128
	Within Groups	10.667	8	1.333		
	Total	20.917	11			
Lendir_12	Between Groups	9.000	3	3.000	1.091	.407
	Within Groups	22.000	8	2.750		
	Total	31.000	11			
Lendir_18	Between Groups	9.000	3	3.000	.800	.528
	Within Groups	30.000	8	3.750		
	Total	39.000	11			
Lendir_24	Between Groups	12.000	3	4.000	2.000	.193
	Within Groups	16.000	8	2.000		
	Total	28.000	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentra si	(J) Konsentra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Lendir_6	Tukey HSD	0	10	.00000	.94281	1.000	-3.0192	3.0192
			20	2.00000	.94281	.225	-1.0192	5.0192
			30	1.66667	.94281	.353	-1.3525	4.6859
		10	0	.00000	.94281	1.000	-3.0192	3.0192
			20	2.00000	.94281	.225	-1.0192	5.0192
			30	1.66667	.94281	.353	-1.3525	4.6859
		20	0	-2.00000	.94281	.225	-5.0192	1.0192
			10	-2.00000	.94281	.225	-5.0192	1.0192
			30	-.33333	.94281	.984	-3.3525	2.6859
		30	0	-1.66667	.94281	.353	-4.6859	1.3525
			10	-1.66667	.94281	.353	-4.6859	1.3525
			20	.33333	.94281	.984	-2.6859	3.3525
Lendir_6	LSD	0	10	.00000	.94281	1.000	-2.1741	2.1741
			20	2.00000	.94281	.067	-.1741	4.1741
			30	1.66667	.94281	.115	-.5075	3.8408
		10	0	.00000	.94281	1.000	-2.1741	2.1741
			20	2.00000	.94281	.067	-.1741	4.1741
			30	1.66667	.94281	.115	-.5075	3.8408
		20	0	-2.00000	.94281	.067	-4.1741	.1741



Lendir_12	Tukey HSD		10	-2.00000	.94281	.067	-4.1741	.1741
			30	-.33333	.94281	.733	-2.5075	1.8408
		30	0	-1.66667	.94281	.115	-3.8408	.5075
			10	-1.66667	.94281	.115	-3.8408	.5075
			20	.33333	.94281	.733	-1.8408	2.5075
		0	10	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			20	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			30	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
		10	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			20	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			30	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
		20	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			30	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
		30	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			20	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
	LSD	0	10	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		10	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			30	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		20	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			30	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		30	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
Lendir_18	Tukey HSD		10	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
			20	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
		30	0	-2.00000	1.58114	.607	-7.0634	3.0634
			10	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
			20	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
			30	-2.00000	1.58114	.607	-7.0634	3.0634
		20	0	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
			10	.00000	1.58114	1.000	-5.0634	5.0634
			30	-2.00000	1.58114	.607	-7.0634	3.0634
		30	0	2.00000	1.58114	.607	-3.0634	7.0634
			10	2.00000	1.58114	.607	-3.0634	7.0634
			20	2.00000	1.58114	.607	-3.0634	7.0634
	LSD	0	10	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461
			20	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461
			30	-2.00000	1.58114	.242	-5.6461	1.6461
		10	0	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461
			20	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461
			30	-2.00000	1.58114	.242	-5.6461	1.6461
		20	0	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461



			10	.00000	1.58114	1.000	-3.6461	3.6461
			30	-2.00000	1.58114	.242	-5.6461	1.6461
		30	0	2.00000	1.58114	.242	-1.6461	5.6461
			10	2.00000	1.58114	.242	-1.6461	5.6461
			20	2.00000	1.58114	.242	-1.6461	5.6461
Lendir_24	Tukey HSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		20	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
	LSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		20	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
		30	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627



Lampiran 10. Hasil analisis ragam bau/aroma ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L).

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Bau_0	Between Groups	3.000	3	1.000		
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	3.000	11			
Bau_6	Between Groups	12.000	3	4.000	3.200	.084
	Within Groups	10.000	8	1.250		
	Total	22.000	11			
Bau_12	Between Groups	.000	3	.000	.000	1.000
	Within Groups	14.000	8	1.750		
	Total	14.000	11			
Bau_18	Between Groups	9.000	3	3.000	1.091	.407
	Within Groups	22.000	8	2.750		
	Total	31.000	11			
Bau_24	Between Groups	12.000	3	4.000	2.000	.193
	Within Groups	16.000	8	2.000		
	Total	28.000	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Bau_6	Tukey HSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	2.00000	.91287	.205	-.9233	4.9233
			30	2.00000	.91287	.205	-.9233	4.9233
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
			20	2.00000	.91287	.205	-.9233	4.9233
			30	2.00000	.91287	.205	-.9233	4.9233
		20	0	-2.00000	.91287	.205	-4.9233	.9233
			10	-2.00000	.91287	.205	-4.9233	.9233
			30	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
		30	0	-2.00000	.91287	.205	-4.9233	.9233
			10	-2.00000	.91287	.205	-4.9233	.9233
			20	.00000	.91287	1.000	-2.9233	2.9233
	LSD	0	10	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	2.00000	.91287	.060	-.1051	4.1051
			30	2.00000	.91287	.060	-.1051	4.1051
		10	0	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			20	2.00000	.91287	.060	-.1051	4.1051
			30	2.00000	.91287	.060	-.1051	4.1051
		20	0	-2.00000	.91287	.060	-4.1051	.1051



Bau_12	Tukey HSD	0	10	-2.00000	.91287	.060	-4.1051	.1051
			30	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	0	-2.00000	.91287	.060	-4.1051
		10	10	-2.00000	.91287	.060	-4.1051	.1051
			20	.00000	.91287	1.000	-2.1051	2.1051
			30	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
		20	0	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
			10	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
			20	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
		30	0	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
			10	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
			20	.00000	1.08012	1.000	-3.4589	3.4589
	LSD	0	10	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			20	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			30	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
		10	0	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			20	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			30	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
		20	0	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			10	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			30	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
		30	0	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			10	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
			20	.00000	1.08012	1.000	-2.4908	2.4908
Bau_18	Tukey HSD	0	10	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			20	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
			30	-2.00000	1.35401	.492	-6.3360	2.3360
		10	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			20	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			30	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
		20	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			30	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
		30	0	2.00000	1.35401	.492	-2.3360	6.3360
			10	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
			20	.00000	1.35401	1.000	-4.3360	4.3360
	LSD	0	10	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			20	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
			30	-2.00000	1.35401	.178	-5.1223	1.1223
		10	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			30	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		20	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		30	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223



			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			30	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
		30	0	2.00000	1.35401	.178	-1.1223	5.1223
			10	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
			20	.00000	1.35401	1.000	-3.1223	3.1223
Bau_24	Tukey HSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		20	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
	LSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		20	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
		30	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627



Lampiran 11. Hasil analisis ragam keadaan tekstur iakan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L.)

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tekstur_0	Between Groups	3.000	3	1.000	2.000	.193
	Within Groups	4.000	8	.500		
	Total	7.000	11			
Tekstur_6	Between Groups	12.000	3	4.000	1.778	.229
	Within Groups	18.000	8	2.250		
	Total	30.000	11			
Tekstur_12	Between Groups	.000	3	.000	.000	1.000
	Within Groups	6.000	8	.750		
	Total	6.000	11			
Tekstur_18	Between Groups	12.000	3	4.000	2.000	.193
	Within Groups	16.000	8	2.000		
	Total	28.000	11			
Tekstur_24	Between Groups	.000	3	.000		
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.000	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Tekstur_0	Tukey HSD	0	10	1.00000	.57735	.369	-.8489	2.8489
			20	1.00000	.57735	.369	-.8489	2.8489
			30	.00000	.57735	1.000	-1.8489	1.8489
		10	0	-1.00000	.57735	.369	-2.8489	.8489
			20	.00000	.57735	1.000	-1.8489	1.8489
			30	-1.00000	.57735	.369	-2.8489	.8489
		20	0	-1.00000	.57735	.369	-2.8489	.8489
			10	.00000	.57735	1.000	-1.8489	1.8489
			30	-1.00000	.57735	.369	-2.8489	.8489
		30	0	.00000	.57735	1.000	-1.8489	1.8489
			10	1.00000	.57735	.369	-.8489	2.8489
			20	1.00000	.57735	.369	-.8489	2.8489
Tekstur_0	LSD	0	10	1.00000	.57735	.122	-.3314	2.3314
			20	1.00000	.57735	.122	-.3314	2.3314
			30	.00000	.57735	1.000	-1.3314	1.3314
		10	0	-1.00000	.57735	.122	-2.3314	.3314
			20	.00000	.57735	1.000	-1.3314	1.3314
			30	-1.00000	.57735	.122	-2.3314	.3314
		20	0	-1.00000	.57735	.122	-2.3314	.3314



			10	.00000	.57735	1.000	-1.3314	1.3314
			30	-1.00000	.57735	.122	-2.3314	.3314
		30	0	.00000	.57735	1.000	-1.3314	1.3314
			10	1.00000	.57735	.122	-.3314	2.3314
			20	1.00000	.57735	.122	-.3314	2.3314
Tekstur_6	Tukey HSD	0	10	2.00000	1.22474	.414	-1.9221	5.9221
			20	.00000	1.22474	1.000	-3.9221	3.9221
			30	2.00000	1.22474	.414	-1.9221	5.9221
		10	0	-2.00000	1.22474	.414	-5.9221	1.9221
			20	-2.00000	1.22474	.414	-5.9221	1.9221
			30	.00000	1.22474	1.000	-3.9221	3.9221
		20	0	.00000	1.22474	1.000	-3.9221	3.9221
			10	2.00000	1.22474	.414	-1.9221	5.9221
			30	2.00000	1.22474	.414	-1.9221	5.9221
		30	0	-2.00000	1.22474	.414	-5.9221	1.9221
			10	.00000	1.22474	1.000	-3.9221	3.9221
			20	-2.00000	1.22474	.414	-5.9221	1.9221
	LSD	0	10	2.00000	1.22474	.141	-.8243	4.8243
			20	.00000	1.22474	1.000	-2.8243	2.8243
			30	2.00000	1.22474	.141	-.8243	4.8243
		10	0	-2.00000	1.22474	.141	-4.8243	.8243
			20	-2.00000	1.22474	.141	-4.8243	.8243
			30	.00000	1.22474	1.000	-2.8243	2.8243
		20	0	.00000	1.22474	1.000	-2.8243	2.8243
			10	2.00000	1.22474	.141	-.8243	4.8243
			30	2.00000	1.22474	.141	-.8243	4.8243
		30	0	-2.00000	1.22474	.141	-4.8243	.8243
			10	.00000	1.22474	1.000	-2.8243	2.8243
			20	-2.00000	1.22474	.141	-4.8243	.8243
Tekstur_12	Tukey HSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			30	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
		10	0	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			30	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
		20	0	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			30	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
		30	0	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			10	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
			20	.00000	.70711	1.000	-2.2644	2.2644
	LSD	0	10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			30	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
		10	0	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			30	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
		20	0	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306



			10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			30	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
		30	0	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			10	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
			20	.00000	.70711	1.000	-1.6306	1.6306
Tekstur_18	Tukey HSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
			20	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
			30	-2.00000	1.15470	.369	-5.6978	1.6978
		20	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			30	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
		30	0	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			10	2.00000	1.15470	.369	-1.6978	5.6978
			20	.00000	1.15470	1.000	-3.6978	3.6978
	LSD	0	10	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		10	0	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
			20	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
			30	-2.00000	1.15470	.122	-4.6627	.6627
		20	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			30	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627
		30	0	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			10	2.00000	1.15470	.122	-.6627	4.6627
			20	.00000	1.15470	1.000	-2.6627	2.6627

