

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)
TERHADAP BAKTERI *Enterobacter aerogenes* DAN
PEMBENTUKAN HISTAMIN PADA IKAN CAKALANG
(*Katsuwonus pelamis*)**

**Inhibiton of *Moringa oleifera* leaves extract against
Enterobacter aerogenes and the histamine formation
in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*)**

ANDI SAYIDA NURUL SHAFIRA



**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**INHIBITION OF *Moringa oleifera* LEAVES EXTRACT AGAINST
Enterobacter aerogenes AND THE HISTAMINE FORMATION
IN SKIPJACK TUNA (*Katsuwonus pelamis*)**

**Daya hambat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap
bakteri *Enterobacter aerogenes* dan pembentukan histamin
pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*)**

**ANDI SAYIDA NURUL SHAFIRA
L012181011**

THESIS

Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science
(M.Si)

**MASTER PROGRAM IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF MARINE SCIENCE AND FISHERIES
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS
DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP
BAKTERI *Enterobacter aerogenes* DAN PEMBENTUKAN HISTAMIN PADA
IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis*)

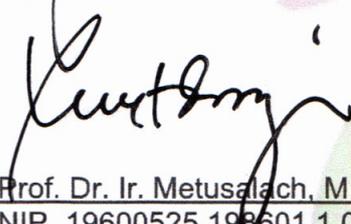
Disusun dan diajukan oleh:

ANDI SAYIDA NURUL SHAFIRA
L012181011

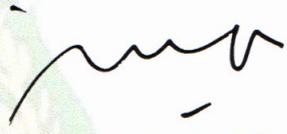
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Perikanan Fakultas Ilmu
Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin,
pada tanggal 06 Agustus 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

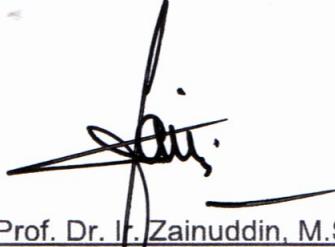
Pembimbing Utama,


Prof. Dr. Ir. Metusalach, M.Sc
NIP. 19600525 198601 1 001

Pembimbing Pendamping,


Dr. Nursinah Amir, S.Pi., MP
NIP. 19791115 200604 2 030

Ketua Program Studi,


Prof. Dr. Ir. Zainuddin, M.Si
NIP. 19640721 199103 1 001

Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan
Perikanan,



Safruddin, S.Pi., MP., Ph.D
NIP. 19750611 200312 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andi Sayida Nurul Shafira
NIM : L012181011
Program Studi : Ilmu Perikanan
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

“Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Bakteri *Enterobacter aerogenes* dan Pembentukan Histamin pada Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*)”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Oktober 2021

Yang menyatakan,



Andi Sayida Nurul Shafira

PERNYATAAN KEPEMILIKAN TULISAN

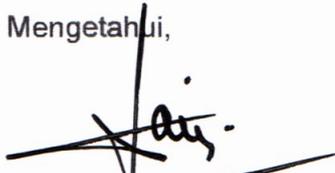
Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andi Sayida Nurul Shafira
NIM : L012181011
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan

menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis/disertasi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai pemilik tulisan (*author*) dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan tesis ini, maka pembimbing sebagai salah seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikutkan.

Makassar, 18 Oktober 2021

Mengetahui,



Prof. Dr. r. Zainuddin, M.Si
NIP. 19640721 199103 1 001

Penulis



Andi Sayida Nurul Shafira
NIM. L012181011

ABSTRAK

Andi Sayida Nurul Shafira. L012181011. “Daya hambat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes* dan pembentukan histamin pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*)” dibimbing oleh **Metusalach** sebagai Pembimbing Utama dan **Nursinah Amir** sebagai Pembimbing Anggota.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes* dan pembentukan histamin pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*). Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) diperoleh menggunakan dua pelarut yakni aquades dan etanol. Konsentrasi uji masing-masing 10, 20, 30 dan 40%. Konsentrasi ekstrak dengan antibakteri terbesar kemudian diaplikasikan untuk menghambat pembentukan histamin pada ikan cakalang yang disimpan pada suhu ruang ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 jam dan suhu rendah ($0\pm 3^{\circ}\text{C}$) selama 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak aquades konsentrasi 40% memiliki antibakteri terbesar terhadap bakteri *E. aerogenes*. Kandungan histamin ikan cakalang pada 12 jam penyimpanan suhu ruang dengan ekstrak daun kelor sebesar 207 ppm dan tanpa ekstrak sebesar 402,93 ppm. Kandungan histamin ikan cakalang pada penyimpanan selama 48 jam suhu rendah dengan ekstrak daun kelor sebesar 13,63 ppm dan tanpa ekstrak sebesar 28,57 ppm. Hasil uji TPC ikan cakalang dengan ekstrak daun kelor pada 12 jam penyimpanan suhu ruang sebesar $3,3 \times 10^4$ kol/g, dan tanpa ekstrak sebesar $1,0 \times 10^5$ kol/g. TPC ikan cakalang pada 48 jam penyimpanan suhu rendah dengan ekstrak daun kelor sebesar $1,1 \times 10^4$ kol/g dan tanpa ekstrak sebesar $2,0 \times 10^4$ kol/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor terbaik dalam menghambat *E. aerogenes* adalah ekstrak aquades konsentrasi 40 % dan terbukti efektif untuk menghambat pembentukan histamin dan pertumbuhan bakteri total pada ikan cakalang.

Kata Kunci: antibakteri, aquades, histamin, *Moringa oleifera*, *Scombroidae*.

ABSTRACT

Andi Sayida Nurul Shafira. L012181011. "Inhibition of *Moringa oleifera* leaves extract against *Enterobacter aerogenes* and the histamine formation in Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*)" supervised by **Metusalach** as the principle supervisor and **Nursinah Amir** as the co-supervisor.

This study analyzed the inhibition effectivity of the *Moringa oleifera* leaves extract against *Enterobacter aerogenes* and histamine formation in the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). The extract of the *M. oleifera* leaves was obtained using two solvents, namely distilled water and ethanol. The test concentrations for each extract were 10, 20, 30, and 40%, respectively. The test concentration having the strongest inhibition against *E. aerogenes* was then applied to skipjack tuna to inhibit histamine formation at two storage temperatures, namely room temperature ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) and low temperature ($0 \pm 3^\circ\text{C}$). The results showed that the distilled water extract of *M. oleifera* leaves with a concentration of 40% exhibited the greatest inhibition against *E. aerogenes*. After 12 h of storage at room temperature, the histamine content of the skipjack tuna with extract was 207 ppm and without extract was 402.93 ppm. At low temperature storage for 48 h, the histamine level in the skipjack tuna with extract was 13.63 ppm and without extract was 28.57 ppm. The total plate count (TPC) showed that the skipjack tuna with extract stored for 12 h at room temperature was 3.3×10^4 col/g, while the skipjack tuna without extract 1.0×10^5 col/g. At low-temperature storage for 48 h the TPC of the fish with extract was 1.1×10^4 col/g and without extract was 2.0×10^4 col/g. The present results showed that the best *M. oleifera* leaves extract to inhibit *E. aerogenes* was the distilled water extract at 40% concentration, and that the distilled water extract of the *M. oleifera* was effective to inhibit histamine formation and total bacterial growth in skipjack tuna.

Keywords: antibacterial, distilled water, histamine, *Moringa oleifera*, *Scombroidae*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga tesis ini dengan judul: **Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Bakteri *Enterobacter aerogenes* dan Pembentukan Histamin pada Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*)** dapat diselesaikan. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih terdapat kekurangan-kekurangan dalam tesis ini dan karenanya penulis mengharapkan saran ataupun masukan dari berbagai pihak membuat tesis ini lebih baik lagi.

Tesis ini terdiri dari lima bab, dimana pada bab pertama berisi pendahuluan tentang latar belakang, tujuan dan rumusan masalah yang mendasari penulis dalam melakukan penelitian ini, bab kedua berisi tentang tinjauan pustaka sebagai referensi pendukung dan hasil studi pustaka dari penulis terkait penelitian, bab ketiga berisi tentang waktu dan tempat penelitian dilaksanakan serta metodologi yang digunakan penulis, bab keempat berisi tentang hasil dan pembahasan dari penelitian yang telah dilakukan oleh penulis dan bab kelima berisi kesimpulan dan saran dari penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan tesis ini, terutama kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Metusalach, M.Sc dan ibu Dr. Nursinah Amir, S.Pi, MP selaku pembimbing dalam penelitian ini yang dengan tulus telah banyak membantu, memberikan motivasi, saran dan petunjuk mulai dari persiapan, pelaksanaan penelitian hingga penyusunan tesis. Semoga Allah SWT membalas kebaikan bapak dan ibu.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Achmar Mallawa, DEA, Ibu Kasmianti, STP, MP, Ph.D, Bapak Mukti Zainuddin, S.Pi, M.Sc, Ph.D, selaku penilai serta penasihat dalam penelitian ini, yang senantiasa memberikan nasihat dan arahan yang sangat baik bagi penulis dalam melakukan penelitian ini.
3. Bapak Safruddin, S.Pi., MP., Ph.D selaku Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, dan Bapak Prof. Dr. Ir. Zainuddin, M.Si selaku ketua Program Studi Ilmu Perikanan.
4. Bapak/ibu Dosen Pascasarjana Program Studi Ilmu Perikanan yang telah berkenan berbagi ilmu pengetahuan selama penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Hasanuddin, Bapak Oding, Bapak Yessi, Bapak Sapril, dan Kak Kafrawi yang telah banyak membantu dalam hal administrasi.

5. Kedua orang tua saya, Ayahanda Alm. Sayed Andi Rustan dan Ibunda Sitti Hasnah untuk doa, dukungan dan kasih sayang yang diberikan kepada penulis hingga saat ini. Kepada Adik tercinta Sayed Syarif Hidayatullah, Tante Andi Rustati, nenek Radja Sunting Krg. Leko dan Kakek Sayed Tanri Bone Krg. Paduni yang telah memberikan dukungan, kasih sayang dan doa kepada penulis.
6. Bapak Abd. Rajab, ST. selaku pimpinan PT. Dwira Masagena yang telah banyak membantu penulis selama menjalani masa studi. Kak Asmita, Kak Zaiful Zainal, Adik Sulfitryani, Adik Nurul Hijriah, Adik Lisdayanti, Adik Nurul Asyiki, Adik Abrar, Bapak Khairul Ashar, Bapak Roki, Bapak Fikar, Bapak Firman, Alm. Bapak Benny Sulistyو dan semua karyawan PT. Dwira Masagena yang telah banyak membantu dan mendukung penulis selama penelitian dan menjalani studi.
7. Koral STP bapak Rachmady Azis, kak Auliel Amri, kak Fertiana Nur Safitri, kak Dewi Utami, Yuni Maria Lestari Situmorang, Mufti hatur Rahmi Tachir, Andi Nur Faiziah Palla, Citra Febrina Damayanti, Adik Annisa atas segala bantuan dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
8. Rekan seperjuangan Khusnul khatimah, Andi Annisar dzati iffah, St. Zaenab, Soraya Ramadhani, dan rekan-rekan mahasiswa prodi Ilmu Perikanan pascasarjana 2018/1 yang telah banyak membantu penulis selama menjalani masa studi. Muhammad Asrul, Adik Syofyan, Adik Dahlul atas doa, dukungan dan bantuannya kepada penulis selama menjalani studi dan penelitian.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan motivasi dan dukungan, penulis haturkan banyak terima kasih.

Semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan atas segala bantuan dan doa yang diberikan kepada penulis semoga Allah SWT senantiasa membalas dengan segala limpahan rahmat-Nya. Aamiin.

Makassar, 18 Oktober 2021

Andi Sayida Nurul Shafira

DAFTAR ISI

	Halaman
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Ikan cakalang (<i>Katsuwonus pelamis</i>).....	4
B. Ekstraksi.....	5
C. Histamin	6
D. Upaya penghambatan bakteri	11
E. Antibakteri pada kelor	13
F. Kerangka Pikir Penelitian	14
G. Hipotesis	14
III. METODE PENELITIAN	15
A. Waktu dan Tempat	15
B. Bahan dan Alat	15
C. Prosedur Penelitian	16
D. Rancangan Percobaan.....	22
E. Analisis Data	22
IV. HASIL	23
A. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor terhadap bakteri <i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i>	23
B. Efektifitas ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan pada ikan cakalang.....	24
C. Hasil Uji TPC daging ikan cakalang	26
V. PEMBAHASAN	28
A. Uji daya hambat ekstrak daun kelor terhadap bakteri <i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i>	28
B. Efektifitas ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan histamin pada ikan cakalang.....	30
C. Hasil uji TPC daging ikan cakalang.....	33
VI. KESIMPULAN dan SARAN	35

A. Kesimpulan	35
B. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Tingkat bahaya histamin.....	11
2. Hasil pengukuran diameter zona hambat	24

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin	8
2. Kerangka pikir penelitian	14
3. Alur proses pembuatan ekstrak daun kelor.....	17
4. Cara pengukuran diameter zona hambat.....	19
5. Alur pengujian sampel.	20
6. Media hitung <i>compact dry</i>	21
7. Hasil ekstraksi daun kelor.....	23
8. Zona hambat ekstrak etanol (baris atas) dan ekstrak Aquades (baris bawah)	23
9. Hasil uji histamin ikan cakalang pada suhu ruang.	24
10. Hasil uji histamin ikan cakalang pada suhu rendah.....	25
11. Hasil uji TPC ikan cakalang pada suhu ruang	26
12. Hasil uji TPC ikan cakalang pada suhu rendah	27

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Hasil uji statistik daya hambat ekstrak daun kelor	46
2. Hasil uji statistik kandungan histamin daging ikan cakalang	48
3. Hasil uji TPC daging ikan cakalang.....	50
4. Hasil uji daya hambat ekstrak daun kelor terhadap bakteri <i>E. aerogenes</i>	52
5. Hasil uji histamin daging ikan cakalang	53
6. Hasil uji TPC daging ikan cakalang.....	54

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Keracunan histamin atau keracunan *scombroid* merupakan keracunan makanan yang menyerupai alergi dan terus menjadi masalah utama dalam keamanan makanan laut (Hungerford, 2010). Keracunan histamin diikuti dengan gejala timbulnya ruam, mual, muntah, dan diare (Shalaby, 1996 dalam Wahyuni, 2011). Istilah "*scombroid*" berasal dari jenis ikan keluarga *Scombroidae* sebagai jenis ikan pertama kali terlibat dalam kasus ini, seperti tuna, makarel dan cakalang. Ikan *Scombroidae* ini mengandung histidin bebas yang kadarnya tinggi pada jaringan otot mereka (Ruiz-Capillas dan Moral, 2004).

Histamin merupakan senyawa yang dapat menyebabkan alergi (Torido *et al.*, 2012) dan bersifat racun yang dihasilkan oleh beberapa jenis ikan berdagging merah akibat adanya aktifitas bakteri maupun enzim pada ikan (Rawles *et al.*, 1996 dalam Hattu *et al.*, 2014). Histamin dengan kandungan 200 ppm dan 500 ppm pada produk pangan merupakan yang paling sering menyebabkan keracunan pada manusia (*Food and Drug Administration*, 2011).

Terbentuknya histamin pada ikan berkaitan langsung dengan konsentrasi histidin dalam jaringan ikan, jumlah dan jenis bakteri penghasil enzim *histidine decarboxylase* (HDC) serta kondisi lingkungan sekitar (Barceloux, 2008). Histamin terbentuk dari hasil dekarboksilasi histidin bebas yang disebabkan oleh beberapa bakteri yang memiliki enzim HDC (Chen *et al.*, 2010). Histidin adalah salah satu asam amino yang bisa didekarboksilasi oleh enzim HDC yang dihasilkan oleh ikan dan bakteri menjadi histamin. Suhu rendah dapat mengontrol bakteri pembentuk histamin, tetapi enzim HDC yang telah terbentuk akan terus menghasilkan histamin sekalipun bakteri pembentuknya tidak aktif (Keer *et al.*, 2002 dalam Prasetiawan *et al.*, 2013).

Bakteri penghasil HDC yang biasanya hadir dalam usus dan insang ikan antara lain *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Aerobacter* spp., *Serratia* spp. dapat merubah asam amino histidin pada ikan menjadi histamin pada kondisi hangat (maksimum produksi histamin yang tercatat pada suhu 20 - 30°C) (Fatuni *et al.*, 2014). Menurut Björnsdóttir-Butler *et al.* (2010), Bakteri *M. morganii*, *E. aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Raoultella ornithinolytica* dan *Photobacterium damsela* dapat menghasilkan lebih dari 1000 ppm histamin, sedangkan *H. alvei*, *Citrobacter freundii*, *Vibrio alginolyticus* dan *E. coli* dapat menghasilkan histamin dengan konsentrasi kurang dari 500 ppm. *Morganella psychrotolerans*, *Staphylococcus piscifermentans*, *Bacillus*

subtilis, dan *Bacillus sp.* juga merupakan bakteri penghasil histamin (Emborg *et al.*, 2006; Hwang *et al.*, 2010).

Hasil seleksi dengan menggunakan medium niven terhadap bakteri *Raoultella terrigena*, *Enterobacter spp.*, *Microbacterium testaceum*, *Brevibacterium mcbrellneri*, *Micrococcus diversus*, *Staphylococcus spp.* menunjukkan bahwa bakteri *Enterobacter spp.* merupakan bakteri pembentuk histamin terbesar. Jenis bakteri dari genus *Enterobacter* yang diketahui memiliki kemampuan membentuk histamin adalah: *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cloacae*, dan *Enterobacter intermedium* (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

Ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) merupakan salah satu komoditi hasil perikanan penting dengan kandungan protein tinggi. Ikan cakalang adalah jenis ikan yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia (Kekenusa *et al.*, 2012). Sebagaimana halnya dengan jenis ikan lainnya, ikan cakalang juga merupakan bahan makanan yang cepat mengalami proses pembusukan.

Perkembangan bakteri penyebab kerusakan pada ikan dapat dihambat dengan beberapa cara diantaranya dengan penambahan senyawa yang berpotensi sebagai bakterisida, begitupun peningkatan kandungan histamin pada ikan dapat dihambat dengan menambahkan ekstrak alami. Perendaman menggunakan ekstrak asam jawa mampu menghambat peningkatan histamin pada ikan komu (*Auxis rochei*) (Hattu *et al.*, 2014). Perendaman dengan menggunakan daun belimbing wuluh mampu menghambat peningkatan histamin pada ikan cakalang (*K. pelamis*) fufu (Astuti, 2018). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai bakterisida lainnya adalah kelor (*Moringa oelifera*). Tanaman kelor merupakan suku *Moringaceae* yang telah menjadi obyek pada banyak penelitian karena sangat beragam kegunaannya (Vieira *et al.*, 2010). Produksi histamin pada ikan cakalang selama penyimpanan menunjukkan bahwa produksi histamin dapat dihambat dengan cara pemberian ekstrak bahan alami (Genisa, 2000 *dalam* Astuti, 2018).

Daun kelor memiliki kandungan antioksidan diantaranya *saponin*, *alkaloid*, *fitosterol*, *tanin*, *fenolik* dan *flavonoid* (Rajanandh *et al.*, 2012). Daun kelor mempunyai senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri (Bukar *et al.*, 2010). Ekstrak daun kelor mampu menghambat beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus sp.*, *P. fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur *Aspergillus flavus* (Oluduro, 2012).

Kelor dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan (Mendieta-Araica *et al.*, 2013). Kelor juga dapat dengan gampang ditemukan di seluruh wilayah Indonesia, akan tetapi sebagian masyarakat terutama di Indonesia bagian Timur, mengenal daun kelor hanya sebagai masakan sayuran yang dapat dicampur

dengan jenis sayuran lainnya (Aminah *et al.*, 2015), sehingga akan sangat bermanfaat apabila terbukti daun kelor dapat menghambat pembentukan histamin pada ikan cakalang. Penelitian tentang efek ekstrak alami terhadap penghambatan pertumbuhan kandungan histamin masih sangat terbatas, sehingga penelitian tentang ini penting dilakukan.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Berapa konsentrasi ekstrak kelor yang memberikan daya hambat terbaik terhadap pertumbuhan bakteri *Enterobacter aerogenes*?
2. Apakah ekstrak daun kelor dapat menghambat pembentukan histamin pada ikan cakalang?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan konsentrasi ekstrak kelor yang menghasilkan daya hambat terbaik terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes*
2. Menganalisis efektivitas ekstrak daun kelor untuk menghambat pembentukan histamin pada ikan cakalang.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu cara untuk menghambat penurunan mutu khususnya pembentukan histamin pada ikan cakalang, dan diharapkan mampu membantu menghambat laju peningkatan histamin dalam penanganan pasca panen sehingga kasus keracunan ataupun alergi yang ditimbulkan oleh keberadaan histamin dapat dikurangi. Selain itu, hasil penelitian ini juga diharapkan menjadi sumber informasi tentang potensi ekstrak daun kelor sebagai bahan pengawet alami untuk ikan, khususnya untuk menghambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri-bakteri pembentuk histamin.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Cakalang (*Katsuwoneus pelamis*)

Ikan cakalang adalah spesies yang paling penting antara tuna dan spesies mirip tuna (FAO, 2018). Ikan ini merupakan ikan berkelompok dan bermigasi secara luas di lautan tropis dan subtropis dunia antara 55°-60° N dan 45°-50°S, tetapi sebagian besar berlimpah di wilayah sepanjang khatulistiwa sepanjang tahun (Matsumoto *et al.*, 1984 dalam Soares *et al.*, 2019).

Ikan cakalang tersebar luas di seluruh perairan tropis Pasifik, Atlantik dan samudra Hindia. Cakalang bermigasi dan melakukan perjalanan jarak jauh. Jenis Ikan ini merupakan ikan pelagis yang dapat ditemukan hingga kedalaman 260 meter. Ikan cakalang berkelompok berdasarkan ukuran. Ikan remaja umumnya ditemukan di air permukaan dan pindah ke air yang lebih dalam saat mereka dewasa. Ikan cakalang memiliki tubuh berbentuk torpedo dengan punggung biru atau ungu gelap, dan perak disisi bawah dan perut. Mereka memiliki 3-5 band gelap yang menonjol di sepanjang sisi bawah. Ikan cakalang mencapai kematangan reproduksi pada usia 1-2 tahun. Mereka tumbuh sepanjang tahun di perairan tropis, selama musim panas dan awal musim gugur di perairan subtropis. Betina bertelur di perairan tropis hampir setiap hari. Betina menghasilkan 0,8–2 juta telur pada musim pemijahan tergantung pada ukuran tubuh mereka. Telur menetas setelah 1–1,5 hari (AFMA, 2019).

Ikan cakalang merupakan salah satu spesies yang tergolong dalam *family Scombroidae*, dimana ikan *scombroid* apabila tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan penyakit atau keracunan yang biasa disebut sebagai *scombrotxin*. *Scombrotxin* merupakan penyakit yang disebabkan oleh konsumsi ikan dimana *scombrotxin* telah terbentuk. Penyakit itu disebut "keracunan *scombroid*" karena hubungannya dengan ikan dalam keluarga *Scombroidae* dan *Scomberesocidae*

Upaya penangkapan ikan cakalang dilakukan dengan menggunakan beberapa alat tangkap yaitu pancing ulur, *pole and line*, *purse seine*, dan *gillnet*. Keempat alat tangkap ini memiliki proses penangkapan yang berbeda dan cara mematikan ikan yang berbeda pula. Cara kematian ikan pada saat penangkapan mempunyai pengaruh besar terhadap bermula dan berakhirnya rigor mortis terhadap mutu dan daya awet ikan. Perubahan fase rigor pada ikan cakalang mati tidak mengelepar lebih lama dibanding dengan waktu perubahan fase rigor ikan cakalang mati mengelepar, sedang produksi histamin ikan cakalang mati tidak mengelepar 0,43-1,33 mg/100 g (32.33%) lebih rendah dibanding ikan cakalang mati mengelepar 0,89-2,41 mg/100 g (36.93%) (Genisa, 2000).

B. Ekstraksi

Menurut Tiwari *et al.* (2011) ekstraksi adalah pemisahan bahan aktif dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat dari tumbuhan dan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya. Efektifitas ekstraksi senyawa kimia dari tumbuhan ataupun hewan bergantung pada:

1. Bahan-bahan tumbuhan yang diperoleh
2. Keaslian dari tumbuhan yang digunakan
3. Proses ekstraksi
4. Ukuran partikel

Macam-macam perbedaan metode ekstraksi yang akan mempengaruhi kuantitas dan kandungan metabolit sekunder dari ekstrak, antara lain (Tiwari *et al.*, 2011):

1. Tipe ekstraksi
2. Waktu ekstraksi
3. Suhu ekstraksi
4. Konsentrasi pelarut
5. Polaritas pelarut

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin (Ditjen POM, 2000)

Ekstraksi cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Ditjen POM, 2000).

Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yaitu cara pengerjaannya yang lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyaringan kurang sempurna. Maserasi (untuk ekstrak cairan), serbuk halus atau kasar dari tumbuhan yang kontak dengan pelarut disimpan dalam wadah tertutup untuk periode tertentu dengan pengadukan yang sering, sampai zat tertentu dapat terlarut. Metode ini paling cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Tiwari *et al.*, 2011).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai penyaringan sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruang. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali dari bahan (Ditjen POM, 2000).

Ekstraksi Cara Panas

Menurut Ditjen POM (2000); Tiwari *et al.* (2011) beberapa ekstraksi dengan cara panas adalah sebagai berikut :

1. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Infusa

Infusa adalah ekstraksi menggunakan pelarut aquades pada temperatur penangas aquades dimana bejana infus tercelup dalam aquades mendidih, temperatur yang digunakan 96-98 °C selama waktu tertentu (15-20 menit). Cara ini menghasilkan larutan encer dari komponen yang mudah larut dari simplisia.

4. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih aquades. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam aquades dan konstituen yang stabil terhadap panas dengan cara direbus dalam aquades selama 15 menit.

5. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur lebih tinggi dari temperatur suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C. Ini adalah jenis ekstraksi maserasi dimana suhu sedang digunakan selama proses.

C. Histamin

Histamin adalah senyawa kimia pada ikan berdaging merah termasuk ikan cakalang. Histamin terbentuk dari hasil dekarboksilasi histidin bebas yang banyak terdapat di dalam tubuh ikan terutama jenis ikan yang berasal dari famili Scombroidae.

Ikan cakalang yang tergolong famili *Scombroidae* jika dibiarkan pada suhu kamar, maka segera akan terjadi proses pembusukan. Kandungan air yang cukup tinggi pada tubuh ikan merupakan media yang cocok untuk kehidupan atau pertumbuhan bakteri pembusuk atau mikroorganisme yang lain, sehingga ikan sangat cepat mengalami proses pembusukan dan menjadi tidak segar lagi (Chen *et al.*, 2010).

Histamin disebut juga sebagai *scombrotxin*. Histamin adalah salah satu penyebab paling signifikan dari *foodborne illness* yang terkait dengan pangan laut, walaupun terkadang terjadi kesalahan diagnosis sebagai infeksi *Salmonella* spp. (Frank *et.al.*, 1981 dalam Wahyuni, 2011). Gejala keracunan *scombrotxin* termasuk kesemutan atau rasa terbakar di dalam atau di sekitar mulut atau tenggorokan, ruam atau gatal-gatal di bagian tubuh atas, penurunan tekanan darah, sakit kepala, pusing, gatal pada kulit, mual, muntah, diare, penyempitan saluran udara seperti asma, jantung berdebar, dan gangguan pernapasan. Gejala biasanya terjadi dalam beberapa menit hingga beberapa jam konsumsi dan berlangsung dari 12 jam hingga beberapa hari (Food and Drug Administration, 2019).

Tingginya kandungan histamin pada ikan diakibatkan oleh kondisi sanitasi yang buruk dan suhu tinggi selama penanganan ikan di atas kapal. Pembentukan histamin sering disebabkan oleh penyimpanan pada suhu tinggi dan kesalahan penanganan yang dipengaruhi oleh kombinasi waktu dan suhu. Suhu optimum, batas suhu terendah, jenis bakteri pembentuk histamin dan jumlah kandungan histamin bervariasi tergantung lingkungan perairan (Joshi dan Bhoir, 2011). Tingginya kandungan histamin pada setiap bagian daging ikan dipengaruhi oleh jumlah bakteri penghasil enzim *histidin dekarboksilase* (HDC) (Kung *et al.*, 2009). Peningkatan kadar histamin yang pesat merupakan akibat dari pertumbuhan bakteri penghasil histamin yang optimum (Kanki *et al.*, 2007).

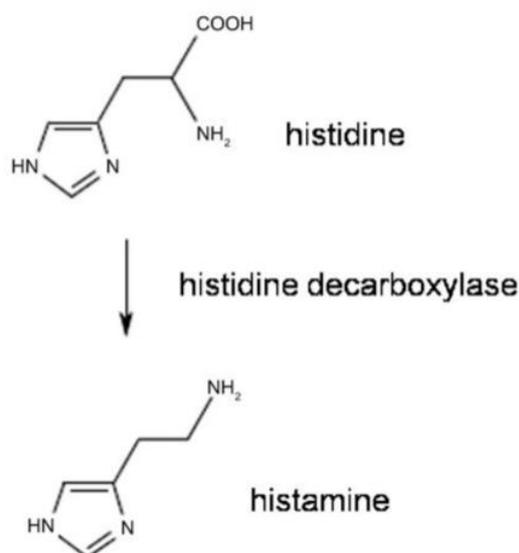
Ikan dapat mengandung sejumlah histamin yang bersifat toksik tanpa menampakkan karakteristik pembusukan jika diamati melalui parameter sensorik yang umum digunakan (Codex Alimentarius Commission, 2001). Konsumsi terhadap ikan yang mengandung histamin lebih dari 100 mg/100 g dapat menyebabkan sakit dengan simtom kardiovaskular (tubuh serasa berputar, urticaria, hipotensi, dan pusing), gastroenteritis (kejang perut, diare, dan muntah), dan neurologis (McLauchlin *et al.*, 2006).

Ikan *scombroid*, mungkin dapat mengakumulasi kandungan histamin tinggi di dalam otot ikan karena adanya konsentrasi tinggi asam amino histidin, yang di konversikan menjadi histamin oleh bakteri penghasil HDC (Aponte *et al.*, 2018). Bakteri tertentu menghasilkan enzim *histidin dekarboksilase* selama pertumbuhan. Enzim ini bereaksi dengan histidin, asam amino alami yang hadir dalam jumlah yang lebih besar

pada beberapa ikan dibanding yang lainnya. Hasilnya adalah pembentukan *scombrotxin* (histamin) (Food and Drug Administration, 2019).

Histamin adalah senyawa amin biologis heterosiklik primer aktif yang terbentuk pada fase *post mortem* daging ikan famili *Scombroid* dan *non-Scombroid* yang banyak mengandung histidin bebas (Nahla dan Farag, 2005). Histidin merupakan salah satu asam amino bebas yang terdapat pada daging ikan merah segar, seperti tuna, cakalang, dan sardin (Keer *et al.*, 2002). Histamin terbentuk melalui dekarboksilasi terhadap asam amino histidin oleh *enzim dekarboksilase eksogenus* yang dihasilkan oleh mikroba pada ikan (Ndaw *et al.*, 2007). Enzim penghasil histamin dikenal dengan sebutan *L-Histidine Decarboxylase* (HDC) (Mangunwardoyo *et al.*, 2010). Walaupun bakteri tersebut secara normal terdapat pada flora mikroba ikan hidup, sebagian besar berasal dari kontaminasi pasca penangkapan di atas kapal, industri pengolahan, atau distribusi (Lehane dan Olley, 1999 dalam Wahyuni, 2011).

Histamin merupakan kelompok dari amin biogenik, yaitu bahan aktif yang diproduksi secara biologis melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas serta terdapat pada berbagai bahan pangan, seperti ikan, daging merah, keju dan makanan fermentasi (Keer *et al.*, 2002). Amin biogenik adalah basa organik dengan bobot molekul rendah yang secara normal dapat membantu fungsi fisiologis tubuh, seperti pH dan volume lambung, aktivitas otak, pengaturan suhu tubuh, tetapi pada konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan alergi (Allen, 2004). Proses *dekarboksilase* histidin menjadi histamin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin (Montet dan Ray, 2016)

Kandungan histidin pada protein daging secara umum antara 3% dan 5%, tetapi ikan jenis *horse mackerel*, *Japanese pilchard*, *mackerel*, dan *Pacific saury* mengandung

antara 4% dan 6% histidin. Ikan cakalang, *yellowtail*, madidihang, *bluefin tuna* mengandung histidin antara 8% dan 9% (Alasalvar *et al.*, 2010). Senyawa histamin mungkin tidak berbau busuk, tetapi keberadaannya dalam daging ikan menjadi berbahaya, karena senyawa histamin bersifat racun (Hadiwiyoto, 1993 *dalam* Amalia, 2018).

Bakteri pembentuk histamin secara alami pada ikan hidup terdapat pada insang dan perut ikan sebesar 1% dan sisanya diperoleh dari kontak dengan lingkungan. Bakteri pembentuk histamin menghasilkan *histidine dekarboksilase* selama pertumbuhan, dan sekali terbentuk enzim akan terus memproduksi histamin di dalam ikan walaupun bakterinya tidak aktif (Adams *et al.*, 2018). Bakteri pembentuk Histamin pada ikan sebanyak 65,84% dari jumlah TPC pada proses pembongkaran tuna transit (Allen, 2004).

Menurut Ariyani *et al.* (2017) histamin terbentuk dari proses *dekarboksilase histidin* bebas oleh bakteri, diantaranya *Proteus*, *Havnia*, *Morganella* dan *Klebsiella* terutama pada jenis ikan yang berasal dari famili *Scombroidea*. Menurut Mangunwardoyo *et al.* (2010) jenis-jenis bakteri penghasil histamin antara lain: *Raoultella terrigena*, *Microbacterium testaceum*, *Enterobacter* spp., *Brevibacterium* spp., *Micrococcus diversus*, *Staphylococcus* spp., dan *Morganella morganii*. Menurut penelitian Mavromatis dan Quantick (2002) bakteri yang mampu mengubah warna media pembentuk histamin adalah *Klebsiella havnia* dan *M. morganii*.

Menurut penelitian Björnsdóttir-Butler *et al.* (2010); Hwang *et al.* (2010) bakteri *M. morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Raoultella ornithinolytica* dan *Photobacterium damsela* dapat menghasilkan lebih dari 1000 ppm histamin. *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Vibrio alginolyticus* dan *E. coli* dapat menghasilkan histamin dengan konsentrasi kurang dari 500 ppm. *Morganella psychrotolerans*, *Staphylococcus piscifermentans*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus* sp. juga merupakan bakteri penghasil histamin.

Bakteri yang hadir dalam usus dan insang ikan (*M. morganii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *H. alvei*, *E. aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Aerobacter* spp., *Serratia* spp.) dapat mengubah asam amino histidin pada ikan menjadi histamin pada kondisi hangat (maksimum produksi histamin yang tercatat pada suhu 20 - 30°C). Bakteri-bakteri pembentuk histamin pada pindang ikan tongkol (*Auxis rochei*) yaitu *P. vulgaris*, *H. alvei*, *M. morganii*, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. Pneumoniaeae* (Fatuni *et al.*, 2014). Menurut Allen (2004) berbagai jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim HDC, termasuk kelompok *Enterobacteriaceae*, misalnya: *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter intermedium*, *H. alvei*, *K. pneumoniae* dan *M. morganii*.

Waktu optimum enzim HDC pada *Enterobacter* spp. dan *M. morganii* adalah pada jam kedelapan penyimpanan untuk memproduksi enzim. Hasil seleksi dengan menggunakan medium niven antara bakteri *Raoultella terrigena*, *Enterobacter* spp., *Microbacterium testaceum*, *Brevibacterium mcbrellneri*; *Micrococcus diversus*; *Staphylococcus* spp. Menunjukkan bahwa bakteri *Enterobacter* spp. merupakan bakteri pembentuk histamin terbesar. Beberapa jenis genus *Enterobacter* yang diketahui memiliki kemampuan membentuk histamin adalah: *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cloacae*, dan *Enterobacter intermedium* (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

E. aerogenes adalah bakteri Gram negatif, berukuran 0,5 µm x 3,0 µm, berbentuk batang, tidak membentuk spora. *E. aerogenes* bersifat fakultatif anaerob, dan merupakan bakteri patogen yang menyebabkan infeksi oportunistik. Umumnya, tidak menimbulkan penyakit pada individu sehat, tetapi bila kondisi individu lemah dapat menjadi patogen (Kumar *et al.*, 2015).

Kandungan histidin ikan cakalang lebih banyak terdapat pada daging putih daripada daging merah. Ikan-ikan perenang cepat seperti cakalang dan tuna, kandungan histidin pada ikan yang lelah berenang akan meningkat pada daging putih, sedangkan tetap pada daging merah. Kemampuan tuna berenang cepat didukung dengan peningkatan kapasitas glikolisis secara anaerob pada daging putih, yang dapat dilihat dari aktivitas dehidrogenase laktat. Selama berenang cepat, sejumlah besar asam laktat, sekitar 100 µmol/g daging terakumulasi sebagai produk akhir pada daging putih, diikuti dengan produksi proton yang menimbulkan efek bahaya. Untuk itu dibutuhkan peran penyangga intraseluler, yakni kelompok *imidazol L-histidin*, yang berubah menjadi residu histidin pada *protein*, *L-histidin*, dan histidin yang mengandung dipeptida (*anserine*, *carnosine*, *balenine* atau *orphidine*) (Abe *et al.*, 1986 dalam Wahyuni, 2011).

Suhu rendah dapat mengontrol bakteri pembentuk histamin (Keer *et al.*, 2002), tetapi enzim histidin dekarboksilase yang telah terbentuk akan terus menghasilkan histamin sekalipun bakteri pembentuknya tidak aktif. Laporan mengenai suhu optimum dan batas suhu terendah untuk pembentukan histamin sangat bervariasi. Suhu optimum pembentukan histamin adalah pada suhu 25°C oleh *M. morganii* dan *P. vulgaris*, tetapi pada suhu 15°C histamin masih diproduksi dalam level yang signifikan pada daging (Kim *et al.*, 2001). Pembentukan histamin pada suhu 0–5°C sangat kecil bahkan dapat diabaikan (Fletcher *et al.*, 1995 dalam Wahyuni, 2011). Pembentukan histamin akan terhambat pada suhu 0°C atau lebih rendah (Price *et al.*, 1991 dalam Wahyuni, 2011). Pada Suhu 4,4°C dengan es curai terbentuk histamin sebanyak 0,5-1,5 mg/100 g ikan (Craven *et al.*, 2001). Konsentrasi tersebut memenuhi aturan FDA, yakni tidak melampaui 5 mg/100 g. Oleh karena itu, FDA menetapkan batas kritis suhu untuk

pertumbuhan histamin pada ikan sebesar 4,4 °C (*Food and Drug Administration, 2011*). Tingkat bahaya histamin per 100 g daging ikan dapat dilihat pada Tabel 1. FDA mengatur tentang kadar maksimum histamin, yakni tidak melebihi 50 ppm) (*Food and Drug Administration, 2019*), sedangkan peraturan dari EC menyatakan bahwa histamin yang dianalisis dari 9 sampel pada masing-masing batch, memiliki rata-rata tidak melebihi 100 ppm, dan tidak ada sampel yang melebihi 200 ppm (*Commission Regulation (EC) No 2073, 2005*). Pembentukan histamin pada produk ikan, terkait langsung dengan konsentrasi histidin dalam jaringan, jumlah dan jenis bakteri yang mengandung enzim HDC atau bakteri pembentuk histamin, lokasi daging dan kondisi lingkungan (*Barceloux, 2008*).

Tabel 1. Tingkat Bahaya Histamin

Kadar Histamin	Tingkatan Bahaya
< 5 mg	Aman dikonsumsi
5- 20 mg	Kemungkinan toksik
20 – 100 mg	Peluang toksik
>100 mg	Toksik

Sumber : (Shalaby, 1996 *dalam* Wahyuni, 2011)

D. Upaya Penghambatan Bakteri

Setelah enzim histidin dekarboksilase ada dalam ikan, ia dapat terus menghasilkan histamin dalam ikan bahkan jika bakteri tidak aktif (*Food and Drug Administration, 2019*). Suhu rendah dapat mengontrol bakteri pembentuk histamin tetapi enzim histidin dekarboksilase yang telah terbentuk tetap aktif pada ataupun mendekati suhu pembekuan (*Keer et al., 2002*). Enzim tetap stabil saat dalam keadaan beku dan dapat diaktifkan kembali dengan sangat cepat setelah proses pencairan (*defrosting* atau *thawing*). Pembekuan dapat menonaktifkan beberapa bakteri pembentuk enzim. Enzim dan bakteri dapat dinonaktifkan dengan memasak, namun setelah histamin diproduksi, histamin tidak dapat dihilangkan dengan panas (termasuk *retorting*) atau pembekuan. Peningkatan histamin setelah dimasak akan terjadi apabila ada kontaminasi ulang ikan dengan bakteri penghasil enzim HDC, karena alasan ini, perkembangan histamin lebih mungkin terjadi pada ikan mentah, tidak beku tetapi tidak boleh diabaikan dalam bentuk produk lain dari spesies ikan pembentuk *scombrotxin* (*Food and Drug Administration, 2019*).

Jenis-jenis bakteri yang berhubungan dengan perkembangan histamin umumnya ada di lingkungan air laut. Mereka secara alami ada di insang, di permukaan luar, dan

di perut ikan air laut yang hidup, tetapi tidak membahayakan ikan. Setelah mati, mekanisme pertahanan ikan tidak lagi menghambat pertumbuhan bakteri di jaringan otot, dan bakteri pembentuk histamin mungkin mulai tumbuh, menghasilkan produksi histamin. Pengeluaran isi perut dan pelepasan insang dapat mengurangi, tetapi tidak menghilangkan, jumlah bakteri yang membentuk histamin. Pengisian rongga mulut dan perut dengan es dapat membantu dalam mendinginkan ikan besar dimana suhu otot internal tidak mudah menurun. Namun, ketika dilakukan dengan tidak tepat, langkah-langkah ini dapat mempercepat proses perkembangan histamin di bagian ikan yang dapat dimakan dengan menyebarkan bakteri dari rongga *visceral* ke daging ikan (*Food and Drug Administration*, 2019).

Menurut Food and Drug Administration (2019), pendinginan cepat dari ikan pembentuk scombrotoksin segera setelah ikan mati merupakan elemen yang paling penting untuk mencegah pembentukan scombrotoksin (histamin), terutama untuk ikan yang terpapar dari perairan atau udara hangat dan untuk tuna yang menghasilkan panas di dalam jaringan mereka. Beberapa hal yang bisa dilakukan antara lain:

1. Ikan yang terpapar udara atau suhu air di atas 83°F (28,3°C) harus ditempatkan dalam es, bubuk es atau air garam dengan suhu 40° F (4,4°C) atau kurang, sesegera mungkin setelah panen , tetapi tidak lebih dari 6 jam dari waktu kematian
2. Ikan yang terpapar udara atau air suhu 83°F (28,3°C) atau kurang, sesegera mungkin di tempatkan di es atau di dalam air laut yang didinginkan, es curah, atau air garam dengan suhu 40°F (4,4°C) atau kurang, secepat mungkin setelah penangkapan, tetapi tidak boleh lebih dari 9 jam setelah ikan mati.
3. Ikan yang telah disiangi sebelum didinginkan harus ditempatkan di es, atau air laut yang didinginkan, es curah, atau air garam dengan suhu 40°F (4,4°C) atau kurang, secepat mungkin setelah penangkapan, tetapi tidak boleh lebih dari 12 jam setelah ikan mati.
4. Ikan yang ditangkap dengan suhu perairan 65°F (18,3°C) selama 24 jam atau kurang harus ditempatkan di dalam es atau air laut yang didinginkan, es curah, atau air garam dengan suhu 40°F (4,4°C) atau kurang, secepat mungkin setelah ikan ditangkap, tetapi tidak lebih dari batas waktu diatas, dengan periode waktu mulai dari ikan diangkat dari perairan atau suhu 65°F (18,3°C) .

Upaya penghambatan bakteri juga dapat dilakukan dengan menambahkan ekstrak alami sebagai bahan anti bakteri. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan ekstrak alami. Begitupun penelitian tentang anti bakteri terhadap pertumbuhan histamin. Beberapa ekstrak alam yang telah diteliti seperti ekstrak *Caulerpa racemosa* sebagai anti bakteri pada ikan bandeng (Rachmawati *et al.*, 2016), ekstrak asam jawa terhadap ikan komu (Hattu *et*

al., 2014), terhadap ekstrak etanol daun kelor kandungan histamin ikan lemuru (Valent *et al.*, 2017).

E. Antibakteri pada Kelor

Daun kelor atau *Moringa oleifera* memiliki kandungan antioksidan diantaranya, saponin, alkaloid, fitosterol, tanin, fenolik dan flavonoid (Rajanandh *et al.*, 2012). Daun kelor mempunyai senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri (Bukar *et al.*, 2010). Ekstrak daun kelor mampu menghambat beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur *Aspergillus flavus* (Oluduro, 2012).

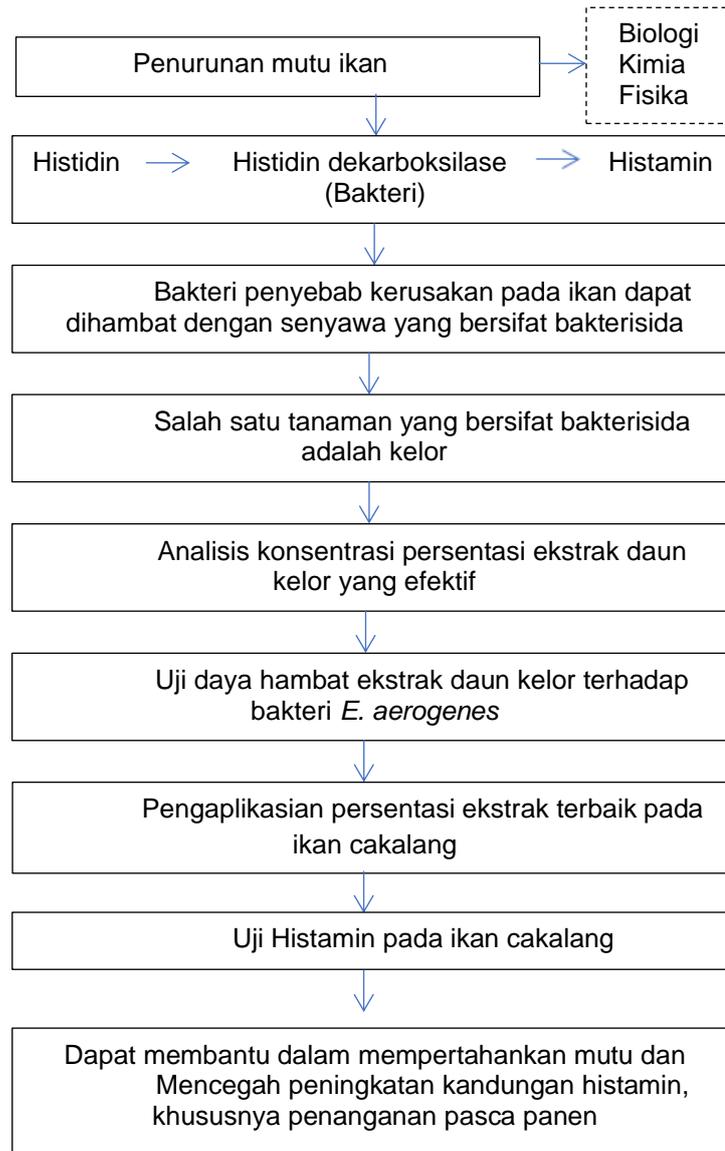
Tanaman kelor merupakan tanaman berumur panjang (*perennial*) yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi sampai ketinggian ± 1000 dpl. Daun kelor mengandung senyawa antibakteri seperti saponin, triterpenoid, dan tanin yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri (Widowati *et al.*, 2014). Kelor mengandung 539 senyawa yang dikenal dalam pengobatan tradisional Afrika dan India serta telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencegah lebih dari 300 penyakit. Berbagai bagian dari tanaman kelor bertindak sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulser, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetik, antibakteri dan anti-jamur (Toripah *et al.*, 2014). Seluruh bagian dari tanaman kelor telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan maupun obat-obatan. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah biji, daun, dan kulit kayu yang berkhasiat sebagai anti diabetes dan antioksidan (Jaiswal *et al.*, 2009; Pari *et al.*, 2007).

Ekstrak daun kelor mengandung protein dengan berat molekul rendah yang mempunyai aktivitas antibakteri dan antijamur (Dahot, 1998 *dalam* Widowati *et al.*, 2014). Daun kelor juga mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menjaga terjadinya oksidasi sel. Selain itu, kandungan minyak atsiri dan flavonoid yang terdapat pada daun dapat mencegah peroksidasi lemak (Utami, 2013 *dalam* Widowati *et al.*, 2014).

Daun kelor mengandung fenol dalam jumlah yang banyak yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas (Verma *et al.*, 2009). Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6% (Foidl *et al.*, 2001). Penemuan terbaru adalah fungsi daun kelor sebagai farmakologis, yaitu antimikroba, antijamur, antihipertensi, antihyperglikemik, antitumor, antikanker, anti-inflamasi (Toma dan Deyno, 2013).

F. Kerangka Pikir Penelitian

Kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Kerangka pikir penelitian

G. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah ekstrak daun kelor efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E. aerogenes* dan menghambat pembentukan histamin pada ikan cakalang.