

Short Paper**PENGUNAAN EKSTRAK DAN BUBUK CENGKEH DAN KAYUMANIS UNTUK MEMINIMALKAN KANDUNGAN HISTAMIN PADA IKAN KEMBUNG PEREMPUAN (*Rastrelliger neglectus*)****THE USE OF EXTRACT AND POWDER OF CLOVE AND CINNAMON TO MINIMIZE HISTAMINE CONTENT IN SHORT-BODIED MACKEREL (*Rastrelliger neglectus*)**Meta Mahendradatta^{*)} dan Adiansyah^{*)}**Abstract**

In this research, clove and cinnamon were prepared by grinding to produce spice powder and by solvent extraction to produce spice extract. They were stored in plastic and glass jar at ambient temperature for two weeks to observe the change of sensory quality. The spices were then combined and applied to short-bodied mackerel (*Rastrelliger neglectus*) and the total mesophilic microbes were enumerated. The best concentration of spice combinations which gave the lowest total mesophilic microbe was 2% of clove and 4% and cinnamon in form of powder and 4% of each spice in form of extract. The spice powder and extract, as well, were applied to short-bodied mackerel which has been prepared under various treatments. The treated fishes were stored and the histamine content was analyzed after two hours storage at ambient temperature. The result showed that spice powder and extract could decrease histamine content in short-bodied mackerel processed with and without boiling. Statistic analysis showed that there was significantly difference of each treatment on histamine content ($p < 0.01$). Spice powder in combination with boiling process showed the higher percentage of the decrease of histamine content (94%) than that without boiling (42.5%), spice extract with boiling (28.3%) and without boiling (21%).

Key words: cinnamon, clove, histamine content, spice powder and extract

Penggunaan bumbu terhadap bahan pangan diketahui mempunyai efek antimikroba sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengawet. Bumbu dapat diperoleh dalam bentuk bubuk melalui proses penggilingan dan dalam bentuk ekstrak maupun minyak atsiri melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut. Hiras & Takemasa (1998) menyatakan bahwa komponen kimia dengan gugus hidroksil (-OH) atau aldehid (-CHO) pada bumbu cenderung memiliki aktivitas antimikroba yang kuat. Diketahui pula

bahwa gugus hidroksil dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif suatu enzim yang mengakibatkan inaktivasi enzim pada mikroba.

Penelitian untuk menguji aktivitas antimikroba beberapa bumbu seperti cengkeh, kayumanis, jahe dan asam terhadap bakteri pembentuk histamin telah dilakukan (Mahendradatta, 2005). Histamin (1H-imidazol-4-ethanamin), salah satu senyawa dari golongan biogenik amin, merupakan senyawa hasil

^{*)} Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian UNHAS, Jl. Perintis Kemerdekaan Km.10, Tamalanrea, Makassar 90245, Telp/Fax: (0411)-588243 / 431081

^{*)} Penulis untuk korespondensi: E-mail: : meta_mahendradatta@yahoo.com

dekarboksilasi dari asam amino histidin bebas. Selain terkandung secara alami dalam bahan pangan, histamin dapat timbul melalui proses pengolahan dan penyimpanan. Pembentukan histamin dikatalis oleh adanya enzim histidin dekarboksilase (HDC) yang terdapat pada tanaman, hewan maupun mikro-organisme. Sisi aktif enzim yang berperan pada pembentukan histamin adalah sisa piruvoil yang terikat secara kovalen pada gugus amino dari sisa fenilalanin pada enzim HDC (Eitenmiller & de Souza, 1984).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bubuk dan ekstrak cengkeh dan kayumanis dalam meminimalkan pembentukan histamin pada ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*). Ikan kembung termasuk famili Scombridae, yaitu jenis ikan yang berpotensi mengandung histamin atau mampu membentuk histamin lebih banyak dari jenis ikan lainnya. Kandungan asam amino histidin bebas yang tinggi pada ikan Scombridae memacu cepatnya proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin. Pada ikan Scombridae telah diisolasi jenis-jenis bakteri pembentuk histamin seperti *Morganella morgani*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* dan bakteri-bakteri pembentuk histamin lainnya.

Bahan baku yang digunakan adalah cengkeh (*Eugenia caryophyllata* Thunb.), kayumanis (*Cinnamomum zoylanicum* Blume.) dan ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*). Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 95%, media NA, histamin dihidroklorid, Asam Trikloro Asetat, n-butanol, NaOH, NaCl, HCl, n-heptan, dan Na₂CO₃, dan nitrobenzol diazonium tetrafluoroborat. Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer Spectronic-20D, *rotary evaporator*.

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap. Tahap pertama adalah penentuan lama penyimpanan bumbu bubuk dan ekstrak bumbu dalam wadah plastik dan kaca. Tahap kedua adalah pengujian total bakteri mesofil pada ikan kembung yang diberi perlakuan bumbu bubuk dan ekstrak bumbu. Tahap ketiga adalah penentuan kandungan histamin pada ikan kembung yang diberi perlakuan bumbu bubuk dan ekstrak bumbu dengan variasi cara pemberian bumbu.

Preparasi bumbu bubuk

Cengkeh dan kayumanis yang telah dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kadar air 5-7% digiling dan diayak hingga ukuran 60 mesh.

Preparasi ekstrak bubuk (Wendakoon and Sakaguchi, 1995)

Bumbu bubuk (10 g) dicampur dengan 100 ml etanol 95% dan dimaserasi selama 5 hari. Setelah itu, hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman 41. Penyaringan dilakukan untuk memperoleh filtrat. Pemisahan pelarut dengan filtrat dilakukan dengan menguapkan pelarut menggunakan *rotary evaporator*.

Pengujian sensori metode perbandingan berganda (Larmond, 1977)

Cengkeh dan kayumanis dalam bentuk bubuk dan ekstrak masing-masing disimpan selama dua minggu dalam wadah kaca dan plastik. Pengamatan dilakukan pada 1 minggu dan 2 minggu penyimpanan yang dibandingkan dengan kontrol yaitu bumbu tanpa penyimpanan. Sampel disajikan kepada 10 panelis yang menguji berdasarkan tingkat perbedaan dengan membandingkan sebuah kontrol (R) dengan sampel lain yang diberi kode angka tiga digit. Parameter yang diamati adalah warna, aroma dan viskositas/tekstur. Kriteria penilaian yaitu nilai 5 untuk kriteria "tidak ada perbedaan dengan R", nilai 9 untuk kriteria "sangat lebih daripada R" dan nilai 1 untuk kriteria "sangat kurang daripada R".

Total bakteri mesofil (Fardiaz, 1989)

Ikan kembung perempuan dipotong-potong, diberi bumbu dalam bentuk bubuk maupun ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda (0,5%; 1%; 2% dan 4%) (w/w) kemudian didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Selanjutnya total bakteri mesofil ditentukan berdasarkan metode Fardiaz (1989), sebagai berikut: Medium NA (*Nutrient Agar*) dan tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit. Selanjutnya sampel dibuat pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} dengan cara 1 ml campuran sampel dan aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades dan masing-masing pengenceran ditumbuhkan dalam cawan petri. Pencuplikan ini dilakukan secara duplo, yaitu menggunakan dua cawan petri untuk setiap pengenceran. Inkubasi cawan-cawan petri yang berisi larutan sampel dan media dilakukan pada suhu 30-32°C selama 2-3 hari. Konsentrasi terbaik dari masing-masing bumbu dalam menghambat pertumbuhan total bakteri mesofil digunakan pada tahapan penelitian selanjutnya.

Kandungan histamin pada ikan kembung perempuan dengan berbagai perlakuan

Daging ikan dipotong-potong untuk memperluas permukaannya kemudian diberi perlakuan bumbu bubuk (A) dan ekstrak bumbu (B) sebagai berikut:

1. Ikan diberi bumbu dan dibiarkan pada suhu ruang
2. Ikan tanpa bumbu dibiarkan pada suhu ruang
3. Ikan dimasukkan ke dalam air mendidih yang sudah diberi bumbu, direbus selama 10 menit, ditiriskan, dibiarkan pada suhu ruang
4. Ikan dimasukkan ke dalam air mendidih tanpa bumbu, direbus selama 10 menit, ditiriskan, dibiarkan pada suhu ruang

Pengujian kandungan histamin dilakukan setelah dua jam dan dibandingkan dengan kontrol (ikan segar yang dipotong-potong tanpa perlakuan pemberian

bumbu maupun penyimpanan). Pengujian dilakukan sesuai metode Mahendradatta & Schwedt (1998), sebagai berikut:

Preparasi sampel

Sebanyak 10 g sampel dihomogenisasi dengan 25 ml TCA (Asam Tricloro Asetat) 5%, disentrifus selama 10 menit pada 4000 rpm. Ekstrak dituangkan ke dalam labu takar 50 ml. Sisa residu dihomogenisasi lagi dengan 25ml TCA 5% dan disentrifus seperti sebelumnya. Ekstrak yang diperoleh dijadikan satu dan ditambah dengan TCA 5% hingga batas tanda pada labu takar. Ekstrak kemudian difiltrasi. Filtrat yang diperoleh siap dimurnikan.

Pemurnian sampel

Sebanyak 1 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah berisi 5 ml n-butanol, 0,25 ml NaOH 5 mol/l dan 0,75 g NaCl. Campuran digojog selama 3 menit dan disentrifus selama 10 menit pada 4000 rpm. Seluruh fase organik kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifus kedua yang telah berisi 2,5 ml NaOH 0,1 mol/l jenuh NaCl. Setelah digojog dan disentrifus seperti sebelumnya, sebanyak 4 ml fase organik dipindahkan ke dalam tabung sentrifus ketiga yang berisi 2,5 ml HCl 0,1 mol/l dan 7,5 ml n-heptan. Campuran kemudian digojog dan disentrifus seperti sebelumnya. Sebanyak 1 ml fase asam siap dianalisis.

Analisis spektrofotometri

Sebanyak 1 ml fase asam dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambah dengan 1 ml 4-Nitrobenzol diazonium tetrafluoroborat 0,2% dan 1 ml Na_2CO_3 10%. Setelah dibiarkan bereaksi selama 5 menit, absorbansi diukur dengan spektrofotometer Spectronic-20D pada panjang gelombang 470 nm. Data absorbansi diolah menggunakan persamaan regresi dari kurva standar histamin. Setelah diperhitungkan dengan faktor koreksi pada tahap preparasi, tahap pemurnian sampel dan pemurnian larutan standar, maka dapat ditentukan

konsentrasi histamin pada sampel (Mahendradatta, 1997).

Analisis data

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga kali ulangan. Pengujian statistik dilakukan menggunakan ANOVA.

Pengujian sensori bumbu

Tujuan tahapan ini adalah untuk menentukan umur bumbu dan wadah penyimpanan yang akan digunakan dalam penelitian selanjutnya, berdasarkan perubahan nilai sensorinya. Hal ini perlu dilakukan karena bumbu memiliki komponen aktif yang bersifat volatil sehingga pemilihan wadah dan lama penyimpanan yang tepat diharapkan dapat mempertahankan mutu bumbu tersebut.

Dari grafik hasil pengujian dapat dilihat bahwa bubuk kayumanis memiliki nilai sensori yang paling baik dibandingkan bubuk cengkeh, ekstrak cengkeh maupun ekstrak kayumanis (Gambar 1). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruh lama penyimpanan dan kemasan pada aroma, warna dan tekstur bubuk cengkeh tidak beda nyata ($P>0,05$). Hal ini berarti tidak ada pengaruh penyimpanan dan kemasan terhadap mutu organoleptik bubuk cengkeh. Sedangkan untuk bubuk kayumanis hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan dan kemasan tidak berbeda nyata pada aroma dan warna bubuk kayumanis ($P>0,05$), namun menunjukkan perbedaan sangat nyata pada tekstur ($P<0,01$). Perubahan tekstur tersebut kemungkinan disebabkan oleh faktor kelembaban dalam kemasan. Pada ekstrak cengkeh hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan dan kemasan tidak beda nyata terhadap aroma ($P>0,05$), sedangkan untuk warna dan viskositas sangat beda nyata ($P<0,01$). Hasil pengujian sensori pada ekstrak kayumanis menunjukkan bahwa

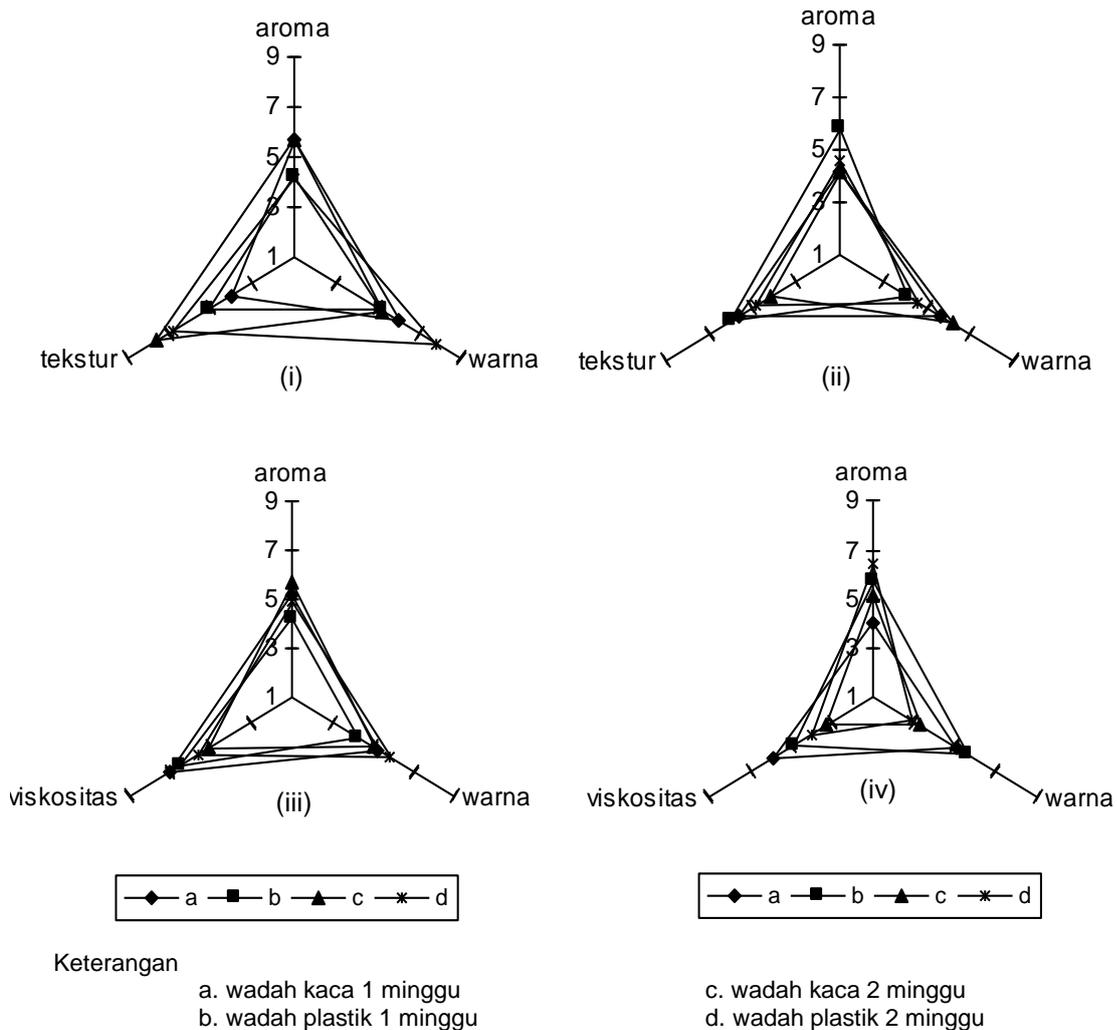
lama penyimpanan dan jenis kemasan tidak beda nyata pada semua parameter yang diuji ($P>0,05$). Menurut Hirasa & Takemasa (1998), komponen aroma dari ekstrak bumbu dapat menguap pada suhu ruang, terlebih jika melalui proses pemanasan. Berdasarkan uji sensori/sifat organoleptik rempah cengkeh dan kayumanis, maka bubuk cengkeh dan kayumanis yang digunakan untuk penelitian selanjutnya adalah bumbu bubuk penyimpanan dengan kemasan kaca (1 minggu). Bumbu bubuk tersebut digunakan karena tidak menunjukkan beda nyata ($P>0,05$). Sedangkan, untuk ekstrak cengkeh dan kayumanis yang digunakan adalah bumbu tanpa penyimpanan. Bumbu tersebut digunakan karena bumbu perlakuan penyimpanan 1 dan 2 minggu sangat beda nyata ($P<0,01$).

Pengujian total bakteri mesofil

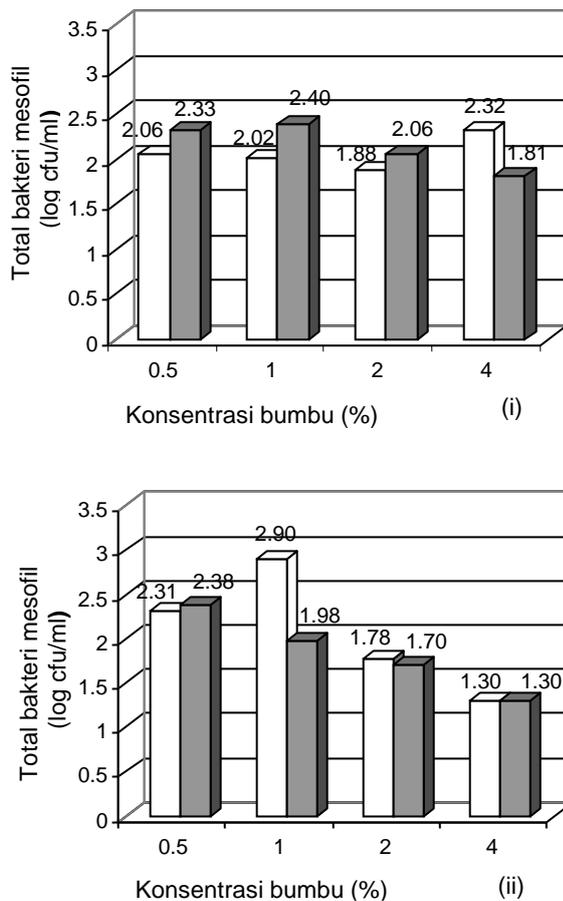
Bakteri mesofil adalah jenis bakteri yang hidup baik pada suhu antara 5° dan 55°C dengan suhu optimum 25° sampai 40°C (Dwidjoseputro, 1998). Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri penghasil histamin adalah 25°C . Bakteri penghasil histamin tertinggi yang berasal dari ikan yang dibiarkan pada suhu 25°C adalah *Morganella morganii* dengan menggunakan identifikasi cara morfologi, biokimia dan karakteristik antimikroba serta sistem identifikasi mikroba (Kim *et al.*, 2000). Menurut Hirasa & Takemasa (1998), cengkeh memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Efektifitas cengkeh ini disebabkan karena cengkeh mengandung eugenol yang sangat tinggi, juga zat-zat kimia lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini mendukung hasil penelitian Wendakoon and Sakaguchi (1995) yang menyatakan bahwa kandungan kimia cengkeh adalah eugenol 64%, eugenil asetat (16,3%), kariofilen (14,2%), α -kopaen (2,1%) dan α -humulen (1,9%).

Hasil pengujian total bakteri mesofil dapat dilihat pada Gambar 2. Dari hasil analisis statistik tidak terdapat perbedaan antara kedua jenis bumbu pada berbagai konsentrasi baik pada bumbu bubuk maupun ekstrak bumbu, sehingga penentuan konsentrasi yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya dilihat dari konsentrasi bumbu yang

menghasilkan total mikroba mesofil terendah. Hasil dari uji total bakteri mesofil menunjukkan bahwa konsentrasi terpilih adalah 2% untuk bubuk cengkeh dan 4% untuk bubuk kayu manis, sedangkan untuk ekstrak, konsentrasi terpilih adalah 4% untuk ekstrak cengkeh dan 4% untuk ekstrak kayumanis.



Gambar 1. Hasil pengujian sensori bubuk kayumanis (i), bubuk cengkeh (ii), ekstrak kayumanis (iii) dan ekstrak cengkeh (iv) selama penyimpanan.



Gambar 2. Total bakteri mesofil pada ikan kembung perempuan yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi bumbu bubuk (i) dan ekstrak bumbu(ii). (□Cengkeh; ■Kayumanis).

Pengujian histamin pada ikan kembung perempuan (*Rastrelliger neglectus*)

Pengujian kandungan histamin menggunakan kombinasi konsentrasi bumbu terpilih dilakukan terhadap ikan kembung perempuan dengan berbagai perlakuan cara pemberian bumbu. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan analisis statistik, terdapat perbedaan yang sangat nyata pada taraf 1% antara keempat perlakuan cara pemberian bumbu, baik untuk bumbu bubuk maupun ekstrak bumbu.

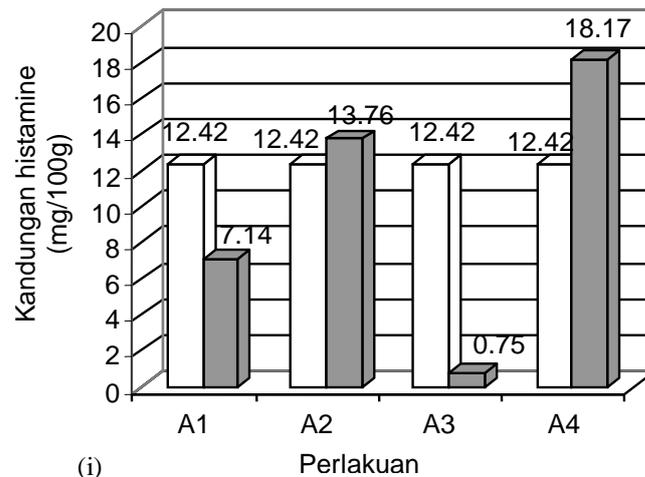
Pada perlakuan bumbu bubuk, kandungan histamin kontrol sebesar 12,42 mg/100g bahan, sedangkan ikan yang diberi kombinasi bumbu bubuk dan dibiarkan selama dua jam pada suhu ruang (A1) memiliki kandungan histamin lebih rendah yaitu sebesar 7,14 mg/100g bahan (Gambar 3 (i)). Sedangkan kandungan histamin ikan tanpa bumbu bubuk (A2) lebih tinggi daripada kontrol yaitu 13,76 mg/100g bahan. Penurunan tersebut disebabkan oleh adanya perlakuan bumbu pada sampel ikan karena cengkeh dan kayumanis dapat mengeluarkan histamin dari membran sel ikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh reaksi komponen aktif dalam bumbu menginaktifkan enzim HDC dalam tubuh ikan, selain juga aktifnya enzim-enzim lain yang dapat mengurai histamin seperti MAO (Mono amin oksidase), DAO (Diamin oksidase) maupun metilamin transferase. Beutling (1996) mengatakan bahwa beberapa mikroorganisme memiliki kemampuan dalam membentuk dan mengurai histamin. *Citrobacter freundii* dan *Proteus mirabilis* memiliki enzim HDC maupun MAO. Diungkapkan pula bahwa pembentukan dan perombakan senyawa amin merupakan mekanisme netralisasi dari sel. Efek penghambatan dari bumbu terutama disebabkan oleh minyak-minyak esensial sebagai komponen aktif yang diketahui memiliki sifat antibakteri. Senyawa yang banyak terdapat pada kayumanis adalah *cinnamic aldehyde* sedangkan pada cengkeh adalah *eugenol* (Wendakoon & Sakaguchi, 1995).

Hirasa & Takemasa (1998), melaporkan bahwa kayumanis memiliki aktivitas fungistik terhadap spesies *Aspergillus sp.* dan *Streptomyces* sedangkan cengkeh memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Komponen aktif cengkeh yaitu eugenol dan eugenil asetat bekerja bersama komponen fenol untuk mengeluarkan histamin dari membran sel ikan. Histamin yang terikat dengan jaringan ikan maupun mikroba dapat lepas akibat kerusakan sel secara mekanik maupun fisik (Fuji et al., 1994).

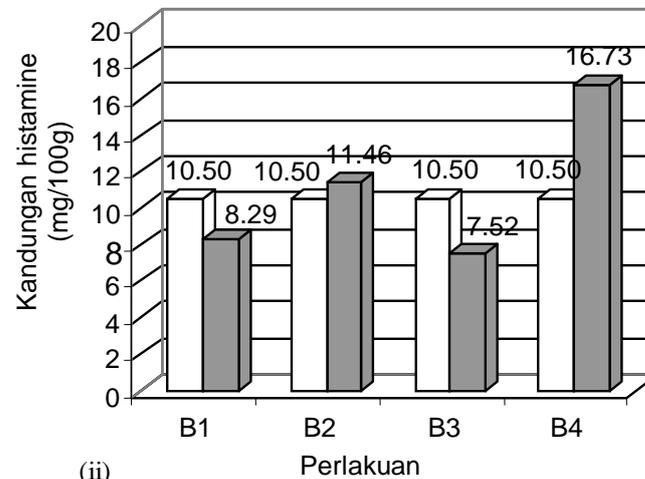
Histamin bersifat larut dalam air (Falbe & Regitz, 1995) sehingga terlarutnya histamin dalam air rebusan ikan akan menyebabkan penurunan kandungan histamin dalam bahan. Gugus fenol dari *eugenol* dan karbonil dari *cinnamic aldehyde* berperan dalam proses tersebut. Cengkeh dan kayumanis dengan komponen yang dimiliki dapat mengurangi pembentukan biogenik amin pada kultur medium *E. aerogenes* (Wendakoon & Sakaguchi, 1992). Bakteri

penghasil histamin dapat dikelompokkan menjadi spesies yang mampu memproduksi histamin dalam jumlah besar (lebih dari 100 mg/100 ml) pada suhu di atas 15°C, lama inkubasi kurang dari 24 jam (Behling & Taylor, 1982).

Kandungan histamin pada ikan rebus tanpa bumbu bubuk (A4) lebih tinggi (18,17mg/100g bahan) dibandingkan dengan kontrol. Selama 2 jam



(i)



(ii)

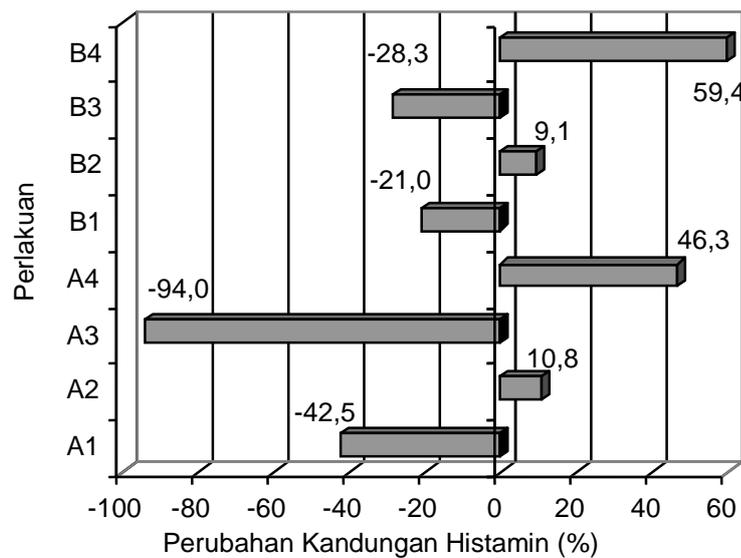
Gambar 3. Kandungan histamin pada ikan kembung perempuan dengan berbagai perlakuan penggunaan kombinasi bumbu bubuk (i) dan kombinasi ekstrak bumbu (ii). Keterangan: A = penggunaan bumbu bubuk; B = penggunaan ekstrak bumbu; A1 / B1 = dengan bumbu, tanpa perebusan; A2 / B2 = tanpa bumbu, tanpa perebusan; A3 / B3 = dengan bumbu, dengan perebusan; A4 / B4 = tanpa bumbu, dengan perebusan. □ Kontrol; ■ Penyimpanan 2 jam.

penyimpanan pertumbuhan bakteri tidak dapat dihindari. Hal ini menyebabkan kandungan histamin pada sampel ikan meningkat. Berbeda dengan sampel ikan rebus dengan pemberian bumbu (A3) yang memiliki kandungan histamin sangat rendah yaitu sekitar 0,75 mg/100g bahan. Cara ini sangat efektif karena kombinasi perebusan dan pemberian bumbu dapat menghambat aktivitas mikroba, sehingga kandungan histamin juga berkurang. Proses perebusan menunjukkan hasil terbaik dalam penghambatan pembentukan histamin dibandingkan perlakuan pemanasan lain seperti pengukusan, pengeringan dan pengasapan (Mahendradatta & Tawali, 2005). Rendahnya kandungan histamin juga disebabkan pada saat penirisan ikan rebus, histamin sebagian ikut larut dalam air. Penggunaan kombinasi bumbu bubuk serta adanya penggunaan panas (air rebusan + direbus selama 10 menit) menyebabkan komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada bumbu bubuk cengkeh dan kayumanis keluar dan bekerja dalam mengurangi pertumbuhan bakteri pembentuk histamin, serta mengeluarkan sebagian histamin yang masih berada dalam sel ikan.

Gambar 3 (ii) menunjukkan bahwa kandungan histamin ikan dengan ekstrak bumbu (B1) (8,29mg/100g bahan) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (10,50 mg/100g bahan). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bumbu mampu menurunkan kandungan histamin pada ikan kembung perempuan meskipun tidak diberi perlakuan panas. Menurut Wendakoon and Sakaguchi (1993), cengkeh dan kayumanis sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan senyawa amin pada tingkat 1% dan akan lebih efektif lagi pada konsentrasi yang lebih tinggi, di mana minyak atsiri pada bumbu bersifat antibakteri. Hirasa & Takemasa (1998) menjelaskan bahwa komponen kimia

dengan gugus hidroksil (-OH) atau aldehid (-CHO) cenderung menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat. Diketahui bahwa gugus hidroksil dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif enzim sehingga menyebabkan inaktivasi. Penghambatan pertumbuhan dengan adanya gugus aldehid sebagian disebabkan oleh reaksinya dengan gugus sulfhidril (-SH) yang berperan pada pertumbuhan mikroba.

Kandungan histamin ikan tanpa bumbu (B2) yang dibiarkan selama 2 jam lebih tinggi dibandingkan kontrol (11,46 mg/100g bahan). Hal ini menunjukkan bahwa ikan segar yang dibiarkan pada suhu ruang akan mengalami peningkatan kandungan histamin akibat adanya aktivitas bakteri penghasil histamin. Kandungan histamin ikan rebus tanpa bumbu (B4) juga lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol yaitu 16,73 mg/100g bahan yang disebabkan adanya aktivitas bakteri penghasil histamin yang belum mati pada saat perebusan atau tumbuh sebagai kontaminan pada saat ikan rebus dibiarkan selama dua jam pada suhu ruang sehingga kandungan histamin pada ikan meningkat. Kandungan histamin ikan rebus dengan bumbu (B3) lebih rendah, yaitu 7,52 mg/100g bahan, dibandingkan dengan kandungan histamin kontrol. Menurut Shakila *et al.* (1996), ekstrak cengkeh dan kayumanis efektif menghambat produksi histamin dan aktivitas enzim dekarboksilase dari *Morganella morganii*. Namun secara umum penggunaan ekstrak bumbu pada ikan rebus menghasilkan kandungan histamin yang lebih tinggi daripada penggunaan bumbu bubuk. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh penguapan komponen-komponen aktif volatil pada ekstrak bumbu saat perebusan yang lebih mudah daripada bumbu bubuk sehingga efektivitasnya lebih rendah daripada bumbu bubuk.



Gambar 4. Perubahan kandungan histamin pada berbagai perlakuan selama 2 jam penyimpanan

Perlakuan bumbu bubuk lebih efektif dalam meminimalkan kandungan histamin yang dilihat dari besarnya persentase penurunan kandungan histamin dibandingkan dengan kontrol, pada perlakuan pemberian bumbu baik tanpa perebusan (A1) sebesar 42,5% maupun dengan perebusan (A3) sebesar 94% dibandingkan dengan ekstrak bumbu yaitu berturut-turut B1 sebesar 21% dan B3 sebesar 28,3% (Gambar 4).

Kesimpulan

1. Pengaruh penyimpanan berbeda nyata terhadap tekstur bubuk kayumanis, warna dan viskositas ekstrak cengkeh.
2. Konsentrasi bubuk cengkeh 2% dan kayumanis 4% serta ekstrak cengkeh 4% dan kayumanis 4% mampu menghambat pertumbuhan bakteri total bakteri mesofil dengan aktivitas tertinggi pada ikan kembung perempuan.
3. Penggunaan kombinasi bumbu cengkeh dan kayumanis (bubuk maupun ekstrak) pada ikan kembung perempuan, dengan perebusan dan tanpa perebusan dapat meminimalkan kandungan histamin.

4. Kombinasi bumbu dalam bentuk bubuk lebih efektif dalam meminimalkan kandungan histamin dibandingkan kombinasi bumbu dalam bentuk ekstrak.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang dibiayai oleh TPSPD-Batch II melalui Research Grant 2005. Ucapan terimakasih disampaikan kepada proyek tersebut. Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada Selviana Oktafani, STP, atas bantuannya di laboratorium.

Daftar Pustaka

- Behling, A.R., and S.L. Taylor. 1982. Bacterial histamine production as a function of temperature and time incubation. *Journal of Food Science*. 47: 1311-1355.
- Beutling, D.M. 1996. Biogene amine in der ernährung. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York. 265 p.

- Dwidjoseputro, D. 1998. Dasar-dasar mikrobiologi. Djambatan. Jakarta. 214 p.
- Eitenmiller, R.R., and S.C. de Souza. 1984. Enzymatic mechanism for amine formation in fish. In: Seafood toxins. E.R. Ragelis. (Ed). Am. Chem. Soc.. Washington, D.C: 431-442.
- Falbe, J. and M. Regits, 1995. Rompp chemie lexikon. ThiemeVerlag. Stuttgart, New York.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor. 184 p.
- Fujii, T., K. Kurihara and M. Okuzumi. 1994. Viability and histidine decarboxylase activity of halophilic histamine-forming bacteria during frozen storage. Journal of Food Protection. 57: 611-613.
- Hirasa, K. and M. Takemasa. 1998. Spice science and technology. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong. 219 p.
- Kim, S. H., B. Gigirey, V.J. Barros., R.J. Price, and A. Haejung. 2000. Histamine and biogenic amine production by *Morganella morganii* isolated from temperature - abused albacore. Journal of Food Protection. 63 (2): 244-251.
- Larmond, E. 1977. Laboratory methods for sensory evaluation of food. Research Institute, Canada Department of Agriculture. Ottawa. 74 p.
- Mahendradatta, M. 1997. Schnellverfahren zur bestimmung von histamin in lebensmitteln. Disertation from Technical University of Clausthal, Germany. 117 p.
- Mahendradatta, M., and G. Schwedt. 1998. Sample preparation for photometric determination of histamine in foodstuffs compared with capillary electrophoresis. Z. Lebensm Unters Forsch. A. 206: 246-250.
- Mahendradatta, M. 2005. Combination of spice and liquid smoke on minimizing histamine formation in smoked "kembung fish" (*Rastrelliger* sp). Final Research Report on Science and Technology, 10th Indonesian Toray Science Foundation. 45 p.
- Mahendradatta, M. and A.B. Tawali. 2005. Changes of histamine contents in short-bodied mackerel (*Rastrelliger neglectus*) after application of heat, antimicrobial food additives, traditional spice, and their combination. Torani, Vol 15 (3) September 2005: 169-176.
- Shakila, R.J., T.S. Vasundhara, and D.V. Rao. 1996. Inhibitory effect of spices on in vitro histamine production and histidine decarboxylase activity of *Morganella morganii* and on the biogenic amine formation in mackerel stored at 30°C. Z. Lebensm Unters Forsch. 203: 71-76.
- Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi. 1993. Combined effect of sodium chloride and clove on growth and biogenic amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract. Journal of Food Protection. 56 (5): 410-413.
- Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi. 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active componenets in spices. Journal of Food Protection. 58 (3): 280-283.