

## PERUBAHAN FISIKO-KIMIAWI, MIKROBIOLOGI DAN HISTAMIN BAKASANG IKAN CAKALANG SELAMA FERMENTASI DAN PENYIMPANAN

[Physico-Chemical, Microbiological, and Histamine Changes  
in Skipjack Bakasang During Fermentation and Storage]

Sri Purwaningsih<sup>1)\*</sup>, Joko Santoso<sup>1)</sup> dan Rahmatia Garwan<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup> Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Maluku Utara, Ternate

Diterima 03 Februari 2012 / Disetujui 28 November 2013

### ABSTRACT

Bakasang is a salted fermentation product made from viscera of skipjack (*Katsuwonus pelamis*, Lin) or tuna (*Thunnus sp*) which tastes sour and is usually used as a complementary dish for local people in Ternate, North Maluku, Indonesia. The research aimed to study the changes in protein and histamine levels of bakasang made from skipjack viscera during fermentation and during storage at room temperature. The experiment consisted of preparation and characterization of raw materials, fermentation for 0, 2, 4, 6, and 8 days, and storage of the resulted product at room temperature for 0, 30, 60, and 90 days. The best bakasang obtained from this experiment was compared with a commercial bakasang produced by local people in Ternate. Fermentation time gave significant effects on the moisture, protein, histamine, and total microbes but did not affect pH and Salmonella count. Bakasang with the best characteristics was obtained after 4 days of fermentation. The product contained protein, pH, histamine, and log total microbe of 50.87% (db), 5.78, 24.56 ppm, 4.86 log CFU/g, respectively. During room temperature storage, the level of moisture, protein, and histamine as well as pH and total bacteria changed significantly. Bakasang stored for 30 days had the best characteristics. It contained protein, histamine, and log total microbes of 46.98% (db), 28.97 ppm, and 4.66 log CFU/g, respectively. The characteristics of bakasang in this study were better than commercial bakasang which had protein, histamine, and log microbes of 44.48% (db), 303.37 ppm and 7.36 log CFU/g, respectively.

**Keywords:** bakasang, histamine, physico-chemical properties, skipjack viscera

### ABSTRAK

Bakasang merupakan produk fermentasi yang umumnya dibuat dari jeroan ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) atau tuna (*Thunnus sp*), dengan penambahan garam, rasanya asam dan biasanya disajikan sebagai pelengkap lauk terutama bagi penduduk yang tinggal di Kota Ternate Provinsi Maluku Utara. Penelitian ini bertujuan mempelajari perubahan kandungan protein dan kadar histamin selama fermentasi dan penyimpanan bakasang pada suhu ruang. Tahapan dalam penelitian ini adalah preparasi dan karakterisasi bahan, fermentasi jeroan (0, 2, 4, 6, 8 hari), penyimpanan produk pada suhu ruang (0, 30, 60, 90 hari), dan membandingkan bakasang hasil penelitian terbaik dengan produk komersial yang dibuat oleh masyarakat Kota Ternate. Lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap kadar air, kadar protein, kadar histamin, dan total mikroba; tetapi tidak berpengaruh terhadap nilai pH dan jumlah *Salmonella*. Karakteristik bakasang terbaik adalah bakasang yang difermentasi selama 4 hari dengan kandungan protein, pH, histamin, dan log total mikroba sebesar 50.87% (bk), 5.78, 24.56 ppm, dan 4.86 log CFU/g. Selama penyimpanan pada suhu kamar, kadar air, protein, pH, histamin, dan total mikroba bakasang berubah secara nyata. Penyimpanan bakasang selama 30 hari pada penelitian ini menghasilkan karakteristik terbaik yaitu dengan kandungan protein, histamin, dan total mikroba berturut-turut sebesar 46.98% (bk), 28.97 ppm dan 4.66 log CFU/g. Hal ini lebih baik bila dibandingkan dengan karakteristik bakasang komersial berturut-turut 44.48% (bk), 303.37 ppm dan 7.36 log CFU/g.

**Kata kunci:** bakasang, histamin, jeroan ikan cakalang, sifat fisiko-kimia

### PENDAHULUAN

Berdasarkan data Statistik Perikanan Tangkap DKP (2007<sup>a</sup>) produksi ikan di Kota Ternate didominasi oleh ikan cakalang sebesar 40.6 ribu ton/tahun, teri 12.7 ribu ton/tahun, tuna 7.9 ribu ton/tahun, tongkol 7.8 ribu ton/tahun, dan kakap 541.40 ton/tahun. Ikan cakalang selain sebagai komoditas ekspor, juga

dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat Ternate. Pada umumnya proses pengolahan ikan cakalang hanya memanfaatkan bagian dagingnya saja, sedangkan bagian lainnya yaitu jeroan dimanfaatkan sebagai bahan baku bakasang. Bakasang merupakan pangan tradisional yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat di Maluku dan Sulawesi Utara.

Bakasang merupakan salah satu produk fermentasi, umumnya dibuat dari jeroan ikan cakalang, dimana ikan cakalang termasuk golongan scombroid yang berasal dari famili Scombroidae. Menurut McLauchlin *et al.* (2005) dan Jiang *et al.*

\*Penulis Korespondensi:  
E-mail : sripurwa65@yahoo.com; rwa65@gmail.com; Telp.: 08128520065

(2007) ikan golongan scombroid banyak mengandung histidin bebas di dalam jaringan daging maupun jeroan, yang dapat diubah menjadi histamin melalui dekarboksilasi dan aktivitas bakteri penghasil histamin.

Produk tradisional sejenis bakasang dijumpai di beberapa negara antara lain: *nampla* (Thailand), *yu-lu* (China), *patis* (Philippines), *ngapi* (Burma), *shottshuru* (Japan), *colombo-lumre* (India dan Pakistan), *aekjeot* (Korea), *budu* (Malaysia), *feseekh* (Mesir), *lanhouin* (Benin), dan *dayok* (Arab). Kajian ilmiah tentang produk sejenis telah banyak dilakukan misalnya: tentang profil fermentasi *rusif* dari ikan teri oleh Yuliana (2007), *lanhouin* oleh Anihouvi *et al.* (2006), karakteristik organoleptik bakasang oleh Purwaningsih *et al.* (2011), *dayok* oleh Bases (2012) yang menyarankan bahwa garam yang digunakan untuk fermentasi hendaknya lebih dari 17.5% karena dapat mengurangi kadar histamin. Rabie *et al.* (2009) meneliti tentang komposisi asam amino dan komponen amin biogenik pada fermentasi *feseekh* yang kandungan histaminnya masih tinggi.

Penelitian pada produk fermentasi secara tradisional di beberapa negara menunjukkan bahwa produk tersebut mengandung histamin tinggi, hal ini dapat membahayakan konsumen. Di Indonesia sampai saat ini belum ada kajian tentang perubahan sifat fisiko-kimiawi, mikrobiologis, dan kadar histamin dari bakasang jeroan cakalang (*Katsuwonus pelamis*, L) yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat Maluku, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang kandungan histamin serta komponen penyebab meningkatnya kadar histamin baik secara fisiko-kimiawi maupun mikrobiologis. Hipotesis dari penelitian ini adalah lama fermentasi dan lama penyimpanan bakasang mempengaruhi sifat fisiko-kimiawi, mikrobiologis, dan histamin dari bakasang jeroan cakalang (*Katsuwonus pelamis*, L). Pendekatan penyelesaian masalah yang dilakukan pada penelitian ini adalah membuat bakasang seperti yang biasa dilakukan masyarakat Maluku, untuk diteliti karakteristik fisiko-kimiawi, mikrobiologis, termasuk kadar histaminnya, serta membandingkannya dengan bakasang komersial yang dibuat oleh masyarakat Maluku. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat Maluku tentang waktu fermentasi terbaik dan lama penggunaan/penyimpanan dari bakasang yang masih aman dikonsumsi oleh masyarakat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah jeroan (usus, hati, jantung, paru dan telur) ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*, Lin) yang diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Muara Angke, Jakarta Utara. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi bahan kimia untuk analisis TVB, proksimat, histamin, total mikroba dan uji *Salmonella*.

### Tahapan penelitian

Penelitian dibagi menjadi empat tahap. Tahap pertama adalah preparasi dan karakterisasi. Pada tahap ini dilakukan pemisahan jeroan, pengecilan ukuran, pencucian, penirisan, dan penimbangan. Analisa yang dilakukan adalah kadar air dan protein (AOAC, 2005), nilai pH (Apriyantono *et al.* 1989), TVB

(Apriyantono *et al.* 1989), kadar histamin (BSN, 1996), dan total mikroba (BSN, 2006).

Tahap kedua adalah fermentasi jeroan ikan cakalang menggunakan garam 25% (b/b) dengan lama fermentasi 0, 2, 4, 6, dan 8 hari dalam wadah tidak tertutup rapat. Proses ini mengacu pada proses fermentasi yang biasa dilakukan secara tradisional oleh penduduk Ternate. Analisa yang dilakukan adalah kadar air dan protein, nilai pH, kadar histamin, total mikroba, dan uji *Salmonella* (BSN, 2007).

Tahap ketiga adalah penyimpanan bakasang hasil fermentasi terpilih selama 0, 30, 60, dan 90 hari. Analisa yang dilakukan pada tahap ini adalah protein, nilai pH, kadar histamin, total mikroba. Tahap terakhir adalah perbandingan bakasang hasil penelitian dengan bakasang komersial. Pada tahap ini bertujuan membandingkan bakasang hasil penelitian terbaik dengan bakasang komersial (dibuat secara tradisional) yang sudah disimpan selama satu bulan. Hal ini dilakukan karena bakasang yang diproduksi secara tradisional oleh masyarakat biasanya masih dikonsumsi selama satu bulan. Pada tahap ini dilakukan uji secara mikrobiologis (total mikroba) dan kimiawi (protein, nilai pH, TVB, kadar histamin), pada kedua bakasang tersebut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik jeroan ikan cakalang sebagai bahan baku bakasang

Kadar air jeroan hasil penelitian adalah 77.38% (bb) dan kadar protein 52.23% (bk). Tingginya kadar air menyebabkan jeroan cakalang sesuai untuk diolah menjadi produk fermentasi. Kadar protein yang tinggi menguntungkan dalam pembuatan bakasang, karena jeroan merupakan sumber enzim proteolitik yang tinggi terutama pada bagian pilorikaeka, lambung dan usus (seperti enzim tripsin, kimotripsin dan pepsin). Data hasil penelitian tentang karakteristik bahan baku yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik bahan baku

Komposisi	Nilai
Kadar air (% bb)	77.38±1.67
Kadar Protein (% bk) <sup>1)</sup>	52.23±1.92
Nilai pH	6.22±0.13
Nilai TVB (mg N/100g)	22.61±0.56
Histamin (ppm)	19.38±3.01
Total mikroba/TPC (CFU/g)	4.17 x 10 <sup>4</sup>

Keterangan: <sup>1)</sup> Persen basis kering, nilai rata-rata ± SD, n = 3

Ikan hidup mempunyai nilai pH 7, namun setelah mati sisa glikogen diuraikan menjadi asam piruvat, kemudian menjadi asam laktat. Nilai pH tubuh ikan pada fase ini menurun menjadi 6.2-6.6. Purwaningsih *et al.* (2006) menyatakan bahwa nilai pH ikan bergantung pada jumlah glikogen yang ada dan kekuatan penyangga (*buffering power*) pada daging ikan. Kekuatan penyangga pada daging ikan disebabkan oleh ketersediaan protein, asam laktat, asam fosfat, *trimethyl amine oxyde* (TMAO), dan basa-basa volatil. Fase ini disebut fase *rigormortis*. Nilai pH jeroan ikan cakalang yang digunakan

sebagai bahan bakasang 6.22 menandakan kondisi bahan baku berada pada fase *rigormortis*.

Berdasarkan tingkat kesegarannya, jeroan ikan cakalang yang digunakan tergolong segar karena memiliki nilai TVB <30 mg N/100 g. Batas maksimum untuk produk perikanan dan hasil laut seperti udang, ikan, *oyster*, dan *scallop* yang bermutu baik adalah 30 mg N/100 g (Direktorat Jenderal Perikanan, 1986). Menurut Mah dan Hwang (2009) pembentukan TVB disebabkan oleh peruraian *Trimethyl Amine* (TMA) dan asam amino menjadi senyawa basa nitrogen yang mudah menguap seperti amonia, monoamin, dimetilamin, trimetilamin, dan senyawa biogenik amin lainnya oleh aktivitas mikroba dan enzim yang berasal dari bahan baku.

Parameter lain yang perlu diperhatikan dari bahan baku adalah kadar histamin. Histamin merupakan senyawa amin biogenik yang terdapat dalam daging dan bagian lainnya seperti jeroan yang dapat menyebabkan keracunan. Kadar histamin yang dihasilkan dari pengujian jeroan ikan cakalang (19.38 ppm) masih dalam batas aman. Batas kandungan histamin yang ditetapkan oleh Ditjen P2HP DKP (2007<sup>b</sup>) adalah 100 ppm untuk hasil dan produk perikanan. Menurut McLauchlin *et al.* (2005) pembentukan histamin pada jeroan berkaitan dengan jumlah bakteri alami yang terdapat pada jeroan dan aktivitas enzim histidin dekarboksilase penghasil histamin. Park *et al.* (2010) menyatakan bahwa salah satu cara yang paling efektif untuk menghambat perkembangan histamin untuk bahan baku adalah dengan penyimpanan pada suhu -4°F (4.4°C) selama penanganan sampai ke konsumen. Oleh karena itu, melakukan rantai dingin pada saat penanganan sampai ke konsumen merupakan faktor yang kritis. *Commission Regulation* (2005) menetapkan bahwa suhu pada saat penanganan hasil perikanan dan hewan maksimum adalah 0-1°C.

Total mikroba pada jeroan yang digunakan sebagai bahan baku masih memenuhi persyaratan kesegaran ikan, yaitu dengan total mikroba <10<sup>5</sup> CFU/g. Hal ini sesuai dengan standar (BSN, 2006), batas maksimum TPC untuk ikan segar adalah 5.0x10<sup>5</sup> CFU/g. Akan tetapi, hasil penelitian Prester *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa karakteristik secara mikrobiologis yang baik belum tentu menunjukkan kondisi bahan baku baik, karena indeks amin biogenik (histamin, putresin, tyramin, dan kadaverin) mempunyai korelasi yang tinggi terhadap kandungan endotoksin dari cumi-cumi ( $r=0.978$  dengan  $p<0.001$ ) dan *musky octopus* ( $r=0.874$  dengan  $p<0.01$ ), bahkan kandungan endotoksin yang tinggi berkorelasi dengan dekomposisi bahan dan peningkatan kandungan histamin. Hal ini yang perlu

diwaspadai pada pengolahan bahan pangan, khususnya hasil perikanan.

### Karakteristik hasil fermentasi

Penelitian ini menggunakan kadar garam 25%, sesuai dengan kebiasaan masyarakat di Maluku dalam pembuatan bakasang pada interval 25-30%, dan berdasarkan penelitian pada produk yang sejenis (*dayok*) penggunaan garam untuk fermentasi terbaik 25%. Penelitian terhadap produk fermentasi jeroan ikan tuna (*Thunnus albacares*) dikenal dengan *dayok* pada konsentrasi garam yang berbeda (10.00, 17.50 dan 25%) selama 7 hari pada suhu kamar yang dilakukan oleh Besas dan Dizon (2012), menunjukkan bahwa nilai TPC, bakteri asam laktat, dan histamin menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi garam. Kadar histamin selama fermentasi dengan garam 17.5% mendekati standar dari FDA yaitu 50 ppm, tetapi untuk konsentrasi 25% kadar histamin produk di bawah standar FDA. Penggunaan garam untuk *dayok* disarankan  $\geq 17.5\%$  karena dapat meminimalkan kandungan histamin produk.

Hasil analisa kimia dan mikrobiologi pada jeroan ikan cakalang selama fermentasi disajikan pada Tabel 2. Selama proses fermentasi terjadi perubahan secara nyata terhadap kadar air, protein, histamin, dan log total mikroba, sedangkan pH dan jumlah *Salmonella* tidak dipengaruhi secara nyata.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap kadar air. Dalam penelitian ini kadar air mengalami penurunan dari 77.38% menjadi 71.57%. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa bakasang yang diperoleh dari lama fermentasi 6 dan 8 hari memiliki kadar air lebih rendah daripada bakasang yang difermentasi selama 2 dan 4 hari. Hal ini disebabkan oleh penetrasi garam ke jeroan ikan semakin sempurna dengan semakin lama waktu fermentasi sehingga menurunkan kadar air jeroan ikan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rabie *et al.* (2009) bahwa kandungan air dari produk fermentasi tradisional *feseekh* di Mesir selama pengolahan (20 hari) dan penyimpanan (40-60 hari) mengalami penurunan.

Kadar protein bakasang juga dipengaruhi oleh lama fermentasi. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa bakasang dengan lama fermentasi 0, 2, dan 4 hari berbeda dengan 6 dan 8 hari. Hal ini dimungkinkan karena proses fermentasi meniru proses yang biasa dilakukan oleh masyarakat, yaitu menggunakan wadah yang tidak tertutup rapat, sehingga memungkinkan peruraian protein terjadi dan nitrogen/senyawa turunannya menguap saat fermentasi selama 6 dan 8 hari.

Tabel 2. Karakteristik kimia dan mikrobiologi jeroan dan perubahannya selama proses fermentasi

Parameter	Lama Fermentasi (Hari ke-)				
	0	2	4	6	8
Kadar air (% bb)	77.38±1.67 <sup>a</sup>	74.56±1.35 <sup>ab</sup>	72.79±0.76 <sup>bc</sup>	72.14±0.96 <sup>c</sup>	71.57±0.63 <sup>c</sup>
Kadar protein (% bk)	52.23±1.92 <sup>a</sup>	50.94±1.72 <sup>a</sup>	50.87±0.25 <sup>a</sup>	49.26±0.57 <sup>b</sup>	48.72±0.59 <sup>b</sup>
Nilai pH	6.02±0.06 <sup>a</sup>	5.76±0.07 <sup>a</sup>	5.78±0.09 <sup>a</sup>	5.81±0.07 <sup>a</sup>	5.83±0.01 <sup>a</sup>
Histamin (ppm)	19.38±1.30 <sup>a</sup>	22.46±1.38 <sup>a</sup>	24.56±1.35 <sup>a</sup>	28.26±1.31 <sup>b</sup>	30.18±1.34 <sup>b</sup>
Log total mikroba (CFU/g)	4.62±0.66 <sup>a</sup>	4.82±0.15 <sup>ab</sup>	4.86±0.08 <sup>ab</sup>	5.05±0.03 <sup>b</sup>	5.15±0.06 <sup>b</sup>
Salmonella	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Keterangan: Angka-angka pada baris yang sama diikuti huruf *superscript* yang berbeda (a,b,c) menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p<0.05$ ), nilai rata-rata ± SD, n = 3

Chen *et al.* (2010) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, garam yang masuk ke dalam jaringan jeroan menimbulkan berbagai perubahan kimia yang mengakibatkan beberapa komponen seperti protein terekstrak, lemak dan karbohidrat diubah menjadi senyawa lebih sederhana oleh enzim yang terdapat dalam jeroan ataupun oleh mikro-organisme yang tumbuh. Segera setelah penarikan air, sebagian protein dalam jaringan ikan terlarut ke dalam cairan garam, atau bahkan menguap jika telah terbentuk N bebas atau turunannya. Hasil riset Rabie *et al.* (2009) menunjukkan bahwa produk fermentasi dari ikan dengan menggunakan garam di Mesir (*feseekh*) selama pengolahan (20 hari) dan penyimpanan (40-60 hari) mempunyai kandungan total amin biogenik antara 84 ppm sampai 1.633 ppm. Amin biogenik utama yang terdeteksi adalah kadaferin dengan konsentrasi 21 sampai 997 ppm, dan kandungan histamin 211 ppm. Asam amino bebas yang dominan adalah leusin, asam glutamat, lisin, alanin, valin, asam aspartat, isoleusin dan sitrullin.

Nilai pH jeroan selama proses fermentasi berubah dari 6.02 pada awalnya menjadi 5.83 pada akhir fermentasi, tetapi kisaran nilai tersebut masih dalam kondisi sedikit asam. Pada penelitian ini nilai pH tidak dipengaruhi oleh lama fermentasi. Selama fermentasi terbentuk asam-asam organik terutama asam laktat dari golongan bakteri asam laktat dan bakteri pembentuk asam lainnya. Kondisi tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Ennouali *et al.* (2006) bahwa pH pada fermentasi limbah ikan yang disimpan pada suhu ruang (30-33°C) turun di awal fermentasi dan stabil setelah hari ke tiga yaitu 4.2. Kandungan bakteri mesofilik adalah  $2.4 \times 10^6$  sampai  $4.58 \times 10^7$  CFU dan ragi  $1.30 \times 10^3$  sampai  $1.59 \times 10^5$ . Bakteri *anaerobic sulphur-reducing* (ASR) turun dari  $1.9 \times 10^4$  menjadi nol, sedangkan untuk total *coliforms* dan *fecal coliforms* adalah nol. Menurut Ndaw *et al.* (2008) untuk produk fermentasi nilai pH turun dari 6.08 menjadi 4.3 setelah minggu ke 2, bebas dari bakteri *Coliforms* dan tidak ada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., serta *Sulphyte-Reducing Clostridia* (SRC). Hasil penelitian Griswold *et al.* (2006) menemukan bakteri asam laktat dapat menghasilkan energi dari metabolisme dan meningkatkan keasaman melalui jalur katabolik, asam amino diubah menjadi komponen amin biogenik, meliputi: histamin, tiramin, putresin, cadaverin, dan  $\beta$ -phenylethilamin, hasil dari dekarboksilasi histidin, tirosin, ornithin, lisin dan  $\beta$ -phenilalanin.

Kadar histamin juga meningkat selama proses fermentasi yaitu semula 19.38 menjadi 31.18 ppm, tetapi nilai tersebut masih dalam batas aman karena masih berada di bawah batas nilai yang ditetapkan oleh Ditjen P<sub>2</sub>HP DKP (2007<sup>b</sup>) yaitu 100 ppm untuk hasil dan produk perikanan. Keberadaan histamin selama proses fermentasi pada saat pembuatan bakasang memang perlu dipantau karena bahan baku yang digunakan adalah dari famili scombroidae yang biasanya banyak mengandung histidin. Histidin dalam bahan pangan, terutama hasil perikanan, diubah menjadi histamin jika ada enzim histidin dekarboksilase. Hal ini terjadi jika penanganan bahan tersebut tidak baik, atau bila ada bakteri yang mampu menguraikan histidin menjadi histamin, yang merupakan komponen penyebab keracunan. Hal ini didukung oleh Dissaraphong *et al.* (2006) dan Jiang *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa

keberadaan histamin dalam jumlah besar pada ikan golongan scombroid dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian. Ikan-ikan tersebut antara lain adalah *skipjack tuna*, *mackerel*, *yellowfin*, *bluefin*, dan *tuna albacore*.

Menurut Hsu *et al.* (2009) bakteri dalam fermentasi ikan, khususnya *Pediococcus acidilactid*, *Holobacterium*, dan *Staphylococcus*; sangat potensial dalam membentuk histamin. Penelitian lain yang mendukung adalah Tsai *et al.* (2006) yang berhasil mengidentifikasi bakteri pembentuk histamin paling banyak yaitu dari golongan *Enterobacter* sp., *Klebsiella pneumonia* dan *Proteus morgani*. Menurut Jiang *et al.* (2007) peningkatan kandungan histamin pada *yu-lu* berkorelasi positif dengan adanya mikroba pembentuk enzim histidin dekarboksilase dalam jumlah yang banyak seperti *Staphylococcus pasteur* dan *Bacillus megaterium*.

Selama proses fermentasi terjadi peningkatan log total mikroba dari 4.62 ( $4.17 \times 10^4$ ) CFU/g menjadi 5.15 ( $1.42 \times 10^5$ ) CFU/g. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap total mikroba yang tumbuh. Peningkatan total mikroba disebabkan oleh penggunaan garam tinggi menyebabkan hanya mikroorganisme tertentu yang mampu tumbuh. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ichimura *et al.* (2003) bahwa fermentasi dapat terjadi karena aktivitas mikroba pada substrat organik yang sesuai. Penelitian lain yang dilakukan oleh Kilinc *et al.* (2006) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glukosa yang digunakan dalam fermentasi, maka semakin tinggi jumlah bakteri asam laktat dan halofilik. Penelitian Thienchai dan Chaiyanan (2012) berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi ikan. Jenis bakteri yang diidentifikasi adalah *Lactobacillus pantarum*, merupakan bakteri yang diisolasi dari *ka-pi* (produk fermentasi dari udang) dan *Tetragenococcus halophilus* adalah bakteri yang diisolasi dari fermentasi ikan *anchovy*.

*Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif. Pengujian jumlah *Salmonella* terhadap bahan pangan sangat penting, karena bakteri tersebut dapat menyebabkan sakit pada manusia. Menurut Bouchrif *et al.* (2009) penyebaran *Salmonella* sangat luas dan dapat bertahan dengan baik pada beberapa jenis bahan pangan hasil peternakan, perikanan dan makanan sehari-hari. Penelitian Pui *et al.* (2011) menunjukkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* telah merambah seluruh dunia dan memberikan efek negatif pada perekonomian. Penelitian lain yang dilakukan oleh Boyen *et al.* (2008) menunjukkan bahwa tiga jenis *Salmonella* yang sering berjangkit mengenai manusia setiap tahun adalah *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* dan *Salmonella Heidelberg*. Kothari *et al.* (2008) menyatakan bahwa penderita karena *Salmonella* di Indonesia jika dibandingkan dengan negara lain masih tinggi, yaitu pada tahun 2008 laju insiden penderita 81.7 per 100.000 populasi, di India 2214.2 per 100.000 populasi, di Singapura 4.7 per 100.000 populasi, di Malaysia 0.77 per 100.000 populasi, sedangkan di Vietnam 22.3 per 100.000 populasi. Newell *et al.* (2010) menyatakan bahwa *Salmonella Typhi* dan *Salmonella Paratyphi A* tidak ditemukan dalam perut binatang, infeksi *Salmonella* terjadi karena mengonsumsi makanan yang penanganannya tidak benar sehingga bisa menginfeksi secara individual.

Hasil uji terhadap *Salmonella* pada penelitian ini selama fermentasi menunjukkan hasil yang negatif, hal ini mengindikasikan bahwa bahan baku jeroan ikan yang digunakan tidak terkontaminasi oleh *Salmonella*. Kemungkinan lain adalah *Salmonella* tidak mampu tumbuh pada media garam tinggi karena dalam fermentasi bakasang digunakan kadar garam 25%. Hal ini didukung oleh penelitian Sarojnalini dan Suchitra (2009) dalam fermentasi pembuatan *Ngari* selama 40 hari dan dilanjutkan 5 sampai 6 bulan, mempunyai kandungan TPC  $1.0 \times 10^8$  CFU/g, tetapi tidak ada bakteri *Coliforms*, *Escherichia coli* dan *Salmonella* selama fermentasi. Menurut Amagliani (2011) bahwa kondisi pertumbuhan bakteri *Salmonella* adalah pada suhu 5 sampai 45°C dan mampu bertahan pada pembekuan atau mati dalam waktu yang cukup lama, dan tanpa mempengaruhi karakteristik fisik dari makanan. *Salmonella* sensitif terhadap suhu tinggi dan bisa dimatikan pada suhu  $\geq 70^\circ\text{C}$ . *Salmonella* hidup pada pH 4 sampai dengan 9, dengan pH optimum 6.5 sampai 7.5 dengan aktivitas air ( $a_w$ ) tinggi yaitu 0.94 sampai 0.99 namun masih dapat bertahan pada  $a_w < 0.2$  seperti pada pangan yang kering. Penghambatan terbaik untuk bakteri *Salmonella* adalah pada suhu  $> 70^\circ\text{C}$ , pH  $< 3.8$  dan aktivitas air ( $a_w$ )  $< 0.94$ . Berdasarkan pada hasil pengujian baik secara kimia maupun secara mikrobiologis, ditentukan bahwa bakasang terbaik untuk dilakukan penyimpanan atau penelitian lanjut adalah bakasang yang difermentasi selama 4 hari.

#### Penambahan karakteristik selama penyimpanan bakasang

Bakasang terpilih kemudian disimpan selama 0, 30, 60, dan 90 hari, yang selanjutnya dilakukan analisa pada masing-masing sampel berdasarkan lama penyimpanannya. Hasil analisa kimia dan mikrobiologi pada bakasang yang telah difermentasi selama penyimpanan disajikan pada Tabel 3.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan air bakasang. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kadar air produk yang disimpan selama 0 hari berbeda dengan kadar air yang lain, dan peningkatan kadar air selama penyimpanan bakasang diperoleh selama pengamatan. Hal ini diduga selama penyimpanan telah terjadi penguraian senyawa organik makromolekul oleh enzim hidrolase dengan menghasilkan molekul air.

Tabel 3. Karakteristik kimia dan mikrobiologi jeroan dan perubahannya selama penyimpanan

Parameter	Lama Penyimpanan (Hari)			
	0	30	60	90
Kadar air (%)	75.02±1.67 <sup>a</sup>	76.45±1.34 <sup>b</sup>	77.25±0.88 <sup>b</sup>	77.25±1.23 <sup>b</sup>
Kadar protein (% bk)	48.68±0.76 <sup>a</sup>	46.98±0.81 <sup>b</sup>	45.47±1.02 <sup>c</sup>	43.68±0.87 <sup>d</sup>
Nilai pH	5.72±0.57 <sup>a</sup>	5.78±0.86 <sup>a</sup>	6.13±0.58 <sup>b</sup>	6.99±0.87 <sup>bc</sup>
Histamin (ppm)	23.23±1.03 <sup>a</sup>	28.97±1.32 <sup>b</sup>	35.58±1.45 <sup>c</sup>	48.43±0.97 <sup>d</sup>
Log total mikroba CFU/g)	2.38±0.56 <sup>a</sup>	4.66±0.61 <sup>b</sup>	7.14±0.77 <sup>c</sup>	8.14±0.86 <sup>d</sup>

Keterangan: Angka-angka pada baris yang sama diikuti huruf *superscript* yang berbeda (a,b,c) menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ), nilai rata-rata ± SD, n = 3

Faktor lama penyimpanan juga memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan protein bakasang. Penyimpanan menyebabkan penurunan kandungan protein bakasang. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kadar protein bakasang yang disimpan selama 0, 30, 60, dan 90 hari masing-masing berbeda. Hal ini disebabkan oleh adanya perubahan sifat fisiko-kimia maupun mikrobiologi, sehingga pemecahan makromolekul protein, peptida dan asam amino berubah menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh enzim yang terdapat dalam jeroan atau oleh mikroba karena disimpan pada suhu kamar. Penurunan ini didukung oleh penelitian Mojica *et al.* (2005) yang melaporkan bahwa fermentasi menyebabkan perubahan pada struktur protein seperti fragmentasi, *cross-linking*, agregasi, dan oksidasi, serta berbagai efek dari perubahan protein secara natural, kondisi fisik, organoleptik dari produk. Penelitian lain yang mendukung dilakukan oleh Al-Bulushi *et al.* (2009) yang menemukan bahwa proses penyimpanan terhadap produk yang telah diolah dapat menyebabkan protein dan lemak terurai menjadi komponen-komponen turunannya yang mempunyai berat molekul rendah dan berkontribusi terhadap *flavour*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Taorem dan Sarojnalini (2012) bahwa selama proses fermentasi *ngari* terjadi perubahan protein yang disebabkan oleh aktivitas mikroba dari inokulum untuk fermentasi dan mikroba tersebut menggunakan protein untuk aktivitas metabolismenya. Kehilangan komponen nitrogen dalam produk fermentasi dari ikan dimungkinkan karena adanya dekomposisi protein dalam jaringan ikan. Proses degradasi ini menimbulkan karakteristik *flavour* pada produk akhir. Degradasi protein ikan yang difermentasi juga menghasilkan komponen volatil dari asam amino. Penurunan kadar protein ini juga diikuti oleh kenaikan kadar histamin selama penyimpanan; semakin lama produk disimpan, maka kadar histamin semakin besar. Menurut Spano *et al.* (2010) perubahan komponen daging ikan digolongkan berdasarkan struktur kimianya menjadi: golongan alifatik (putresin, kadaverin, spermin, dan spermidin), golongan aromatik (tiramin dan fenil etilamin), serta golongan heterosiklik (histamin dan triptamin); sedangkan penggolongan berdasarkan jenis amin menjadi monoamin (tiramin dan fenil etilamin), diamine (putresin dan cadaverin) atau poliamin (spermin dan spermidin).

Nilai pH bakasang mengalami peningkatan seiring dengan lama penyimpanan. Peningkatan nilai pH setelah awal fermentasi terlampaui berkaitan dengan nilai log total mikroba yang tinggi. Mikroba tersebut mampu mendegradasi protein, peptida dan asam amino menjadi derivatnya. Hal ini didukung oleh penelitian dari Kilinc *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa peningkatan nilai pH selama penyimpanan pada produk fermentasi berhubungan dengan degradasi protein, peptida dan asam amino menjadi derivatnya yang bersifat basa-basa volatil seperti amonia, indol, H<sub>2</sub>S, merkaptan, fenol, kresol dan skatol. Lebih lanjut dinyatakan bahwa pengaruh lama penyimpanan terhadap peningkatan dan penurunan nilai pH berhubungan dengan kandungan nitrogen dan adanya glukosa yang digunakan dalam fermentasi sebagai sumber karbon.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan histamin bakasang. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kadar histamin bakasang yang disimpan selama 0, 30, 60, dan 90 hari masing-

masing berbeda. Kadar histamin bakasang meningkat seiring dengan lama penyimpanan. Peningkatan nilai-nilai tersebut masih dalam batas aman berdasarkan standar yang ditetapkan Ditjen P2HP DKP (2007<sup>b</sup>), maksimum kadar histamin pada hasil dan produk perikanan adalah 100 ppm. Peningkatan kadar histamin berkorelasi positif dengan peningkatan total mikroba. Hal ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Zarei *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa kandungan histamin yang tinggi pada produk sejenis kecap ikan (*Iranian fish sauce*) berkorelasi positif dengan jumlah bakteri terutama *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat.

Peningkatan kadar histamin pada produk yang disimpan selama 90 hari diduga karena suhu penyimpanan pada suhu kamar. Hal ini dimaksudkan supaya dapat memberikan gambaran kepada masyarakat dan hasil penelitian ini bisa diaplikasikan oleh masyarakat. Penelitian lain yang mendukung dilakukan oleh Hsu *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa suhu optimum pembentukan histamin adalah 26-28°C. Penelitian lain tentang histamin dilakukan Chong *et al.* (2011) menemukan bahwa penanganan bahan pangan yang kurang baik meningkatkan kandungan histamin pada bahan dan produk. Menurut Dissaraphong *et al.* (2006) peningkatan histamin terkait dengan keberadaan dan kelimpahan asam amino bebas histidin, keberadaan mikroorganisme yang mampu mendekarboksilasi asam amino histidin, kondisi pH dan suhu yang memungkinkan bakteri dapat tumbuh dan memproduksi enzim selama proses fermentasi dan penyimpanan. Menurut Kimura *et al.* (2003) bakteri penghasil histamin yang diisolasi dari produk fermentasi didominasi oleh bakteri asam laktat, yaitu: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, dan *Tetragenococcus muriticus*.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan log total mikroba bakasang. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa log total mikroba bakasang yang disimpan selama 0, 30, 60, dan 90 hari masing-masing berbeda; log total mikroba bakasang meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan. Mengacu pada BSN (1996), batas maksimum TPC untuk produk petis udang adalah 10<sup>5</sup> CFU/g. Artinya, nilai pada akhir penyimpanan bakasang selama 90 hari sudah melebihi standar yang ditetapkan. Total mikroba yang tinggi berkaitan dengan karakteristik bahan baku (jeroan) yang banyak mengandung mikroflora alami. Pada awal penyimpanan, pertumbuhan mikroba berada dalam fase lag (adaptasi), bakteri belum melakukan pembelahan, tetapi terjadi peningkatan massa-volume (ukuran sel berubah, bukan jumlah sel). Pada fase tersebut bakteri lebih banyak melakukan adaptasi dengan lingkungan. Selanjutnya setelah lama penyimpanan 30 hari sampai akhir penyimpanan, total mikroba secara tajam mengalami lonjakan jumlah biomassa sel karena ketersediaan nutrisi dan oksigen masih cukup untuk dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk berkembang biak. Kandungan total mikroba yang tinggi ketika lama penyimpanan 60 dan 90 hari diduga karena pertumbuhan bakteri halofilik dan halotoleran yang menyebabkan peningkatan nilai pH dan kandungan histamin serta penurunan kandungan protein bakasang. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Taorem dan Sarojnalini (2012) yang menunjukkan bahwa selama fermentasi terjadi peningkatan TPC, karena bakteri

memainkan peran penting dalam proses fermentasi ikan. Menurut Kung *et al.* (2005) selama penyimpanan protein, peptida dan asam amino terurai oleh aktivitas mikroorganisme yang menghasilkan produk-produk basa volatil dengan berat molekul rendah. Beberapa jenis bakteri pembentuk histamin dari hasil perikanan yang berhasil diidentifikasi oleh Tsai *et al.* (2007) adalah golongan *Enterobacter* sp, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus morgani*, *Corynebacterium*, dan *Micrococcus*. Menurut Kanki *et al.* (2007), bakteri *Raoultella planticola*, *Morganella morgani*, *Hafnia alvei*, dan *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium damsela* yang diisolasi dari ikan laut merupakan bakteri halotoleran. Adapun bakteri halotoleran penghasil histamin seperti *Photobacterium phosphoreum* dan *Raoultella planticola* mempunyai *histidine decarboxylase* (HDC) yang mengubah histidin menjadi histamin. Faktor yang menentukan akumulasi histamin adalah produksi HDC pada saat *autolysis* dan konsentrasi bakteri penghasil histamin yang tumbuh. Dua jenis enzim HDC yang mengkatalisa proses dekarboksilasi dari histidin menjadi histamin yaitu  $\alpha$ -*pyridoxal-5'-phosphate* (PLP)-*dependent enzyme* dan *pyruvoyl-dependent enzyme*. Bakteri Gram negatif seperti *Enteric bacteria* dan *Photobacterium* mempunyai enzim PLP-*dependent*.

Enzim HDC mampu bekerja pada kadar garam tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian pada kecap ikan yang dilakukan oleh Kimura *et al.* (2003), pembentukan histamin pada kecap ikan terjadi dan tidak dapat dicegah sampai pada konsentrasi NaCl 20%. Jenis bakteri yang teridentifikasi adalah *Tetragenococcus muriticus* dan *T. Halophilus*. Penelitian lain yang mendukung temuan ini dilakukan oleh Jiang *et al.* (2007) pada *yu-lu* (produk fermentasi ikan dari China) yang difermentasi menggunakan garam 30% selama 187 hari, terjadi peningkatan kadar histamin secara nyata pada hari ke-60.

#### Perbandingan dengan produk komersial

Pada tahap ini dilakukan perbandingan antara bakasang komersial yang diperoleh dari pengrajin bakasang lokal di Ternate yang sudah disimpan selama 30 hari dengan produk terbaik hasil penelitian yang juga sudah disimpan selama 30 hari pada kondisi penyimpanan sama. Dalam penelitian ini pembuatan bakasang dilakukan di laboratorium dengan meniru proses pembuatan bakasang yang biasa dilakukan oleh masyarakat secara tradisional, tetapi berbeda dalam hal asal bahan baku dan kondisi air pencucian. Bahan baku bakasang komersial berasal dari daerah Maluku, sedangkan bahan baku bakasang penelitian berasal dari Muara Baru, Jakarta. Air yang digunakan dalam proses pencucian bahan baku pada bakasang komersial, adalah air yang belum diketahui kelayakannya sebagai air minum, sedangkan bakasang penelitian dicuci dengan air bersih/PDAM. Hasil analisa perbandingan produk secara kimiawi dan mikrobiologi disajikan pada Tabel 4.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kadar protein, histamin, total mikroba, dan nilai pH berbeda nyata antara bakasang hasil penelitian dengan bakasang komersial, kecuali kadar air. Kadar air penting dalam bahan pangan karena dapat mempengaruhi tekstur, penampakan, dan citarasa makanan. Pada penelitian ini kadar air bakasang hasil penelitian tidak berbeda dengan kadar air dari bakasang komersial. Kandungan protein dalam bahan pangan bervariasi baik dalam jumlah

maupun jenisnya. Kandungan protein bakasang hasil penelitian (46.98% bk) lebih tinggi dibandingkan bakasang yang dibuat menurut metoda komersial yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat Maluku Utara (42.48% bk). Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan perubahan secara fisiko-kimia pada saat proses pemasakan jeroan ikan cakalang dan selama penyimpanan. Jumlah kandungan protein berbanding terbalik dengan kandungan histamin dari produk masing-masing bakasang. Bakasang hasil penelitian mempunyai kandungan protein lebih tinggi dengan kadar histamin yang lebih rendah ( $28.97 \pm 3.73$  ppm); sebaliknya, bakasang tradisional mempunyai kandungan protein yang lebih rendah tetapi mengandung histamin sangat tinggi ( $303.37 \pm 3.73$  ppm).

Tabel 4. Perbandingan bakasang hasil penelitian dengan bakasang komersial

Parameter	Perlakuan/ Penelitian	
	Fermentasi 4 Hari (30 Hari)	Komersial (30 Hari)
Kadar air (% bb)	$76.45 \pm 1.12^a$	$74.26 \pm 1.09^a$
Kadar protein (% bk)	$46.98 \pm 1.16^a$	$42.48 \pm 1.06^b$
Nilai pH	$4.78 \pm 0.02^a$	$6.21 \pm 0.02^b$
Histamin (ppm)	$28.97 \pm 1.37^a$	$303.37 \pm 1.33^b$
Log total mikroba (CFU/g)	$4.66 \pm 0.03^a$	$7.36 \pm 0.06^b$

Keterangan: <sup>a</sup> Persen basis kering, nilai rata-rata  $\pm$  SD, n = 3

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting dalam penentuan mutu bahan pangan, demikian pula selama proses fermentasi nilai pH bahan juga sangat menentukan mutu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH bakasang penelitian rendah, sedangkan bakasang komersial menghasilkan pH lebih tinggi, tetapi nilai ini masih dalam kisaran normal. Hal ini didukung oleh Anihouvi *et al.* (2006), yang meneliti *lanhouin* yang diambil dari pasar menunjukkan nilai pH rata-rata 7, aw berkisar antara 0.65-0.87, kadar air antara 50.1-56.6% serta protein antara 24.6-26.5%. Hasil penelitian Mohamed *et al.* (2012) menunjukkan bahwa *budu* yang diperoleh dari pasar di Malaysia mempunyai nilai pH antara 4.50 dan 4.92. Produk tersebut mengandung 44 komponen volatil, diantaranya sebagai komponen aroma adalah 3-methyl-1-butanol, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, dimethyl disulfide, 3-(methylthio)-propanal, asam 3-methylbutanoic dan benzaldehyde. Penelitian lain yang dilakukan Kopermsub dan Yunchalard (2008) menunjukkan bahwa fermentasi produk pangan tradisional Thailand yaitu *plaasom*, mempunyai nilai pH bahan 6.3 dan saat proses fermentasi nilai pH turun dengan cepat sampai mencapai 4.5 karena proses penyempurnaan fermentasi. Pada tahap kesempurnaan fermentasi nilai maksimum untuk *total viable counts* (TVC) adalah 6.83 log CFU/g dan *lactic acid bacteria* (LAB) adalah 6.72 log CFU/g.

Pengujian kadar histamin merupakan bagian penting pada hasil perairan. Kadar hitamin bakasang hasil penelitian masih di bawah standar yang diizinkan, tetapi kadar histamin bakasang komersial sudah di atas ambang batas aman sebagai bahan pangan. Kadar histamin dari produk bakasang komersial yang tinggi mengindikasikan penanganan bahan baku dan cara pengolahan produk yang kurang baik, terkait dengan sanitasi dan hiegene, sehingga mendukung pertumbuhan bakteri penghasil histamin untuk berkembang biak. Menurut Zaman *et al.* (2009) keracunan histamin akibat dari konsumsi ikan *scombroid*

(tuna, bonito, dan mackerel) yang kaya akan histidin sering disebabkan oleh penanganan yang tidak baik sehingga bakteri penghasil histamin memproduksi histamin dalam jumlah besar. Menurut Borade *et al.* (2007) selama fermentasi bakteri mengubah asam amino histidin menjadi histamin. Implikasi dari toksin yang dihasilkan oleh ikan famili *scombroidae* dan *scomberesocidae* (tuna, *mackerel*, *skipjack*, *bonito*) dan *non-scombroid fish* (*mahi-mahi*, *bluefish*, *herring*, *anchovies*, *sardines*) adalah sama.

Menurut CDC (2010) makanan yang mengandung histamin tinggi dapat menimbulkan reaksi alergi atau keracunan. Waktu yang dibutuhkan hingga terjadi keracunan histamin beberapa menit sampai 3 jam setelah konsumsi ikan yang mengandung histamin lebih dari 500 mg/kg, hal ini dapat bervariasi bergantung pada kesensitifan masing-masing individu. Tanda-tanda keracunan histamin kadang mirip dengan gejala keracunan akibat dari *Salmonella* dan alergi makanan lainnya. Menurut Gonzaga *et al.* (2009) keracunan histamin dari makanan yang mengandung histamin tinggi tidak dapat dikurangi karena histamin stabil dalam temperatur tinggi. Oleh karena itu, perilaku konsumen merupakan kunci utama dalam memutuskan rantai keracunan ini.

Beberapa penelitian terhadap produk fermentasi ikan di beberapa negara menunjukkan kadar histamin melewati batas yang ditentukan. Penelitian yang dilakukan oleh Tsai *et al.* (2006) pada produk tradisional yang ada di pasar Taiwan berupa produk fermentasi dari ikan (kecap ikan, terasi, dan terasi udang) mengandung histamin berturut-turut sebesar 394, 263, dan 382 ppm. Penelitian lain yang dilakukan oleh Naila *et al.* (2011) terhadap produk fermentasi ikan di Maladewa menunjukkan bahwa tiga jenis kecap ikan, dua jenis terasi, dan dua jenis terasi udang mempunyai kandungan histamin tinggi yaitu lebih dari 500 ppm. Selain itu, sekitar 7.4% sampel produk fermentasi ikan mempunyai histamin lebih dari 1.000 ppm, bahkan salah satu jenis bumbu berupa pasta ikan (*rihaakuru*) yang berasal dari ikan tuna mengandung histamin sangat tinggi, yaitu 5.487 ppm. Kandungan histamin dari *rihaakuru* yang tinggi dikarenakan oleh bakteri Gram negatif yang tumbuh sebelum proses atau pada saat proses awal fermentasi. Penelitian lain yang dilakukan oleh Zhai *et al.* (2012) terhadap tiga jenis produk yang sering dikonsumsi di China Selatan yaitu ikan yang digarami dan difermentasi, ikan kaleng, dan ikan yang dikemas, menunjukkan bahwa 49 sampel produk yang dibeli dari pasar mengandung histamin sebesar 167.86-484.42 ppm. Penelitian terhadap kadar histamin pada produk fermentasi ikan yang dilakukan oleh Huang *et al.* (2010) menunjukkan bahwa kadar histamin pada fermentasi ikan yang dibuat dari *anchovies* adalah 155-579 ppm, sedangkan kadar histamin pada produk ikan kering secara umum yaitu 63.1-479.0 ppm.

Mikroba merupakan salah satu penyebab utama gangguan kesehatan yang berasal dari pangan. Nilai log total mikroba pada bakasang hasil penelitian ini masih aman, sedangkan untuk bakasang komersial sudah melewati batas yang ditetapkan oleh BSN (2007). Hal ini mengindikasikan bahan baku yang digunakan oleh pengolah bakasang tradisional kurang segar dan tidak ditangani dengan baik. Waktu fermentasi pada bakasang komersial dibandingkan penelitian ini lebih pendek, yaitu 2 hari. Adapun faktor-faktor yang mem-

pengaruhi pertumbuhan bakteri adalah waktu dan suhu inkubasi, pH, kandungan nutrisi, cahaya, media (garam, gula, dan asam), serta oksigen. Hal lain yang menyebabkan peningkatan total mikroba diduga karena perlakuan pemasakan jeroan yang kurang sempurna sehingga menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme yang ada dalam bahan pangan (bakasang) mengalami peningkatan. Kandungan mikroba yang tinggi pada produk komersial ini berkorelasi positif dengan tingginya kandungan histamin mengindikasikan kemungkinan pada produk komersial banyak mengandung bakteri penghasil histamin. Menurut Zaman *et al.* (2009) beberapa bakteri penghasil histamin adalah *Raoultella planticola*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, dan *Photobacterium phosphoreum*. Enteric bacteria seperti *R. planticola* dan *M. morganii* merupakan bakteri dominan pada ikan, selain jenis *P. phosphoreum* dan *Photobacterium damsela*.

Manfaat dari penelitian ini secara ilmiah adalah dapat mengetahui perubahan kadar histamin dan total mikroba pada produk bakasang. Adapun batasan kandungan histamin yang aman pada produk tuna yang biasa digunakan adalah 30 mg/100 g, bila kurang dari 5 mg/100 g aman untuk dimakan, dan 5-20 mg/100 g tidak beracun dan aman untuk dikonsumsi, 20-100 mg/100 g ada kemungkinan beracun, pada kandungan lebih dari 100 mg/100 g beracun dan tidak boleh dikonsumsi selain pertimbangan sensitivitas konsumen terhadap histamin (Rahimi, 2012).

## KESIMPULAN

Lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap kadar protein, kadar air, total mikroba, dan kadar histamin bakasang. Kadar protein bakasang menurun selama proses fermentasi dari 52.23% menjadi 48.72%, sedangkan kadar histamin bakasang meningkat dari 19.38 ppm menjadi 31.18 ppm tetapi masih dalam batas aman. Lama penyimpanan bakasang pada suhu kamar memberikan pengaruh nyata pada kadar air, protein, dan histamin, demikian pula pH serta total mikroba. Kadar protein bakasang menurun selama proses fermentasi dari 48.68% menjadi 43.68%, sedangkan kadar histamin bakasang meningkat dari 23.23 ppm menjadi 48.43 ppm. Bakasang hasil penelitian mempunyai kandungan protein lebih tinggi, sedangkan kandungan histamin dan mikroba lebih rendah dibandingkan bakasang komersial yang dibuat oleh masyarakat Ternate. Bakasang hasil penelitian memiliki kandungan histamin ( $28.97 \pm 3.73$  ppm) di bawah batas aman yang ditetapkan oleh Ditjen P2HP DKP (2007<sup>b</sup>) dan standar FDA, dengan nilai TPC ( $4.56 \times 10^4$  CFU/g) masih sesuai dengan standar (BSN, 1996 dan BSN, 2007). Metode pembuatan bakasang pada penelitian ini dapat direkomendasikan untuk diaplikasikan pada masyarakat. Berdasarkan hasil penelitian, waktu fermentasi yang baik dalam pembuatan bakasang adalah 4 hari, dengan lama penyimpanan produk maksimal 30 hari.

## DAFTAR PUSTAKA

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical

of Chemist. The Association of Official Analytical Chemist, Inc. Arlington, Virginia, USA.

Al-Bulushi I, Poole S, Deeth HC, Dykes GA. 2009. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation – a review. *Crit Rev Food Sci* 49: 369-377. DOI: 10.1080/10408390802067514.

Amagliani G, Brandi G, Schiavano GF. 2011. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. *Food Res Int* 10: 30-45. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.022.

Anihouvi V, Ayernor GS, Hounhouigan JD, Sakyi-Dawson E. 2006. Quality characteristic of lanhouin: A traditionally processed fermented fish product in the Republic of Benin. *Afr J Food Agric Nutr Develop* 6: 1-15.

Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari N, Yasni S, Budiyanto S. 1989. Analisis Pangan. 76-79. IPB Press. Bogor.

Kilinc B, Cakli S, Tolasa S, Dincer T. 2006. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. *Eur Food Res Technol* 222: 604-613. DOI: 10.1007/s00217-005-0198-4.

Besas JR, Dizon EI. 2012. Influence of salt concentration on histamine formation in fermented tuna viscera (Dayok). *Food Nutr Sci* 3: 201-206. DOI: 10.4236/fns.2012.32029.

Borade PS, Ballary CC, Lee DKC. 2007. A fishy cause of sudden near fatal hypotension. *Resuscitation* 72: 158-160. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2006.05.021.

Boyen F, Haesebrouck F, Maes D, Van Immerseel F, Ducatelle R, Pasmans F. 2008. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. *Vet Microbiol* 130: 1-19. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.12.017.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1996. SNI: 01-2718-1996. Petis Udang. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006. SNI: 01-2332.1-2006. Penentuan Coliform dan *Escherchia coli* pada Produk Perikanan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2007. SNI: 01-2338-2007. Pengujian Mikroba Kontaminan pada Produk Perikanan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Bouchrif B, Paglietti B, Murgia M, Piana A, Cohen N, Ennaji M, Rubino S, Timinouni M. 2009. Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco. *J Infect Dev Countrie* 28: 35-40.

[CDC] Center for Disease Control. 2010. Epidemiological notes and reports on scombroid fish poisoning. Atlanta, GA, USA: center for disease control and prevention. [www.cdc.gov/mmwr.htm](http://www.cdc.gov/mmwr.htm). [22 January 2010].

Chen HC, Huang YR, Hsu HH, Lin CS, Chen WC, Lin CM, Tsai YH. 2010. Determination of histamine and biogenic amines in fish cubes (*Tetrapturus angustirostris*) implicated in a food-borne poisoning. *Food Control* 21: 13-18. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.03.014.

Chong CY, Bakar FA, Russly AR, Jamilah B, Mahyudin NA. 2011. The effects of food processing on biogenic amines formation. *Int Food Res* 18: 867-876.

- [CR] Commission Regulation. 2005. Directives concerning food hygiene and health conditions for the production and placing on the market of certain products of animal origin intended for human consumption. Official J Eur Union L 388: 28-59.
- Direktorat Jenderal Perikanan. 1986. Kumpulan Standar Mutu Hasil Perikanan. Jakarta.
- Dissaraphong S, Benyakul S, Vissessanguan W, Kishimura H. 2006. The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation on the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. *Bioresource Technol* 97: 2032-2040. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.10.007.
- [DKP] Dinas Kelautan dan Perikanan. 2007<sup>a</sup>. Laporan Statistik Perikanan Tangkap. Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Maluku Utara, Temate.
- [DKP] Departemen Kelautan dan Perikanan. 2007<sup>b</sup>. Program Monitoring Hasil Perikanan. Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan (Ditjen P2HP), Jakarta.
- Ennouali M, Elmoualdi L, labioui H, Ouhsine M, Elyachioui M. 2006. Biotransformation of the fish waste by fermentation. *Afr J Biotech* 5: 1733-1737.
- Gonzaga VE, Lescano AG, Huaman AA, Mulanovich GS, Blazes DL. 2009. Histamine levels in fish from markets in Lima, Peru. *J Food Prot* 72: 1112-1115.
- Griswold AR, Jameson-Lee M, Burne RA. 2006. Regulation and physiologic significance of the agmatine deiminase system of *Streptococcus mutans* UA159. *J Bacteriol* 188: 834-841. DOI: 10.1128/JB.188.3.834-841.2006.
- Hsu HH, Chuang TC, Lin HC, Huang YR, Lin CM, Kung HF, Tsai YH. 2009. Histamine content and histamine-forming bacteria in dried milkfish (*Chanos chanos*) products. *Food Chem* 114: 933-938. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.10.040.
- Huang YR, Liu K J, Hsieh HS, Hsieh CH, Hwang DF, Tsai YH. 2010. Histamine level and histamine-forming bacteria in dried fish products sold in Penghu Island of Taiwan. *Food Control* 21: 1234-1239. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.02.008.
- Ichimura T, Hu J, Duong QA, Maruyama S. 2003. Angiotensin inverting enzyme inhibitory activity and insulin secretion stimulative activity of fermented fish sauce. *Biosci Bioeng* 96: 496-499. DOI: 10.1016/S1389-1723(03)70138-8.
- Jiang JJ, Qing XZ, Zhi WZ, Li YZ. 2007. Chemical and sensory changes associated Yu-lu-atradisional Chinese fish sauce. *Food Chem* 104: 1629-1634. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.03.024.
- Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Baba E. 2007. Histidine decarboxylases and their role in accumulation of histamine in tuna and dried saury. *Appl Environ Microbiol* 73: 1467-1473. DOI: 10.1128/AEM.01907-06.
- Kimura B, Konagaya Y, Fujii T. 2003. Histamine formation by *Tetragenococcus muritacticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *J Food Microbiol* 70: 71-77. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00514-1.
- Kopermsub P, Yunchalard S. 2008. Safety control indices for *plaa-som*, a Thai fermented fish product. *Afr J Microbiol Res* 2: 018-025.
- Kothari A, Pruthi A, Chugh TD. 2008. The burden of enteric fever. *J Infect Developing Countries* 2: 253-259. DOI: 10.3855/jidc.218.
- Kung HF, Tsai YH, Hwang CC, Lee YH, Hwang JH, Wei CI, Hwang DF. 2005. Hygienic quality and incidence of histamine forming *Lactobacillus* species in natural and processed cheese in Taiwan. *J Food Drug Anal* 13: 51-56.
- Mah JH, Hwang HJ. 2009. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xyloso* as a protective culture. *Food Control* 20: 796-801. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.10.005.
- McLauchlin J, Little CL, Grant KA, Mithani V. 2005. Scombrotoxic fish poisoning. *Public Health* 28: 61-62. DOI: 10.1093/pubmed/fdi063.
- Mohamed HN, Man YC, Mustafa S, Manap YA. 2012. Tentative identification of volatile *flavour* compounds in commercial budu, a Malaysian fish sauce, using GC-MS. *Molecules* 17: 5062-5080. DOI: 10.3390/molecules17055062.
- Mojica ERE, Nato AQ, Ambas MET, Feliciano CP, Francisco MLDL, Deocariz CC. 2005. Application of irradiation as pretreatment method in the production of fermented fish paste. *J Appl Sci Res* 1: 90-94.
- Naila A, Flint S, Fletcher GC, Bremer PJ, Meerdink G. 2011. Biogenic amines and potential histamine – forming bacteria in rihaakuru (a cooked fish paste). *Food Chem* 128: 479-484. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.057.
- Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, Opsteegh M, Langelaar M, Threfall J, Scheutz F, Giessen JVD, Kruse H. 2010. Food-borne diseases-the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol* 139: S3-S15. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021.
- Ndaw A, Zinedine A, Faid M, Bouseta A. 2008. Effect of controlled lactic acid bacteria fermentation on the microbiological and chemical quality of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*). *Acta Microbiol Immunol Hung* 55: 21-27. DOI: 10.1556/AMicr.55.2008.3.2.
- Park JS, Lee CH, Kwon EY, Lee HJ, Kim JY, Kim SH. 2010. Monitoring the contents of biogenic amines in fish and fish products consumed in Korea. *Food Control* 21: 1219-1226. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.02.001.
- Prester L, Orct T, Macan J, Vukusic J, Kipicic D. 2010. Determination of biogenic amines and endotoxin in squid, musky octopus, norway lobster, and mussel stored at room temperatur. *Archiv Indust Hygiene Toxicol* 61: 389-397. DOI: 10.2478/10004-1254-61-2010-2049.
- Pui CF, Wong WC, Chai LC, Tunung R, Jeyaletchumi P, Hidayah NMS, Ubong A, Farinazleen MG, Cheah YK, Son R. 2011. *Salmonella*: A foodborne pathogen. *Int Food Res J* 18: 465-473.
- Purwaningsih S, Garwan R, Santoso J. 2011. Karakteristik organoleptik bakasang jeroan Cakalang (*Katsuwonus*

- pelamis*, Lin) sebagai pangan tradisional Maluku Utara. J Gizi dan Pangan 6: 13-17.
- Purwaningsih S, Heni T, Kurnia G. 2006. Kandungan gizi dan mutu ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) selama transportasi. J Pascapanen Biotek Kelautan Perikanan 2: 86-91.
- Rabie M, Sarkadi LS, Siliha H, El-seedy S, El-Badawy AA. 2009. Changes in free amino acids and biogenic amines of Egyptian salted-fermented fish (Feseekh) during ripening and storage. Food Chem 115: 635-638. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.12.077.
- Rahimi E, Nayeypour F, Alian F. 2012. Determination of histamine in canned tuna fish using ELISA method. American-Eurasian J Toxicol Sci 4: 64-66.
- Sarojnalini, Suchitra T. 2009. Microbial profile of starter culture fermented fish product 'Ngari' of Manipur. Indian J Fish 56: 123-127.
- Spano G, Russo P, Funel AL, Lucas P, Alexandre H, Grandvalet C, Coton E, Coton M, Barnavon L, Bach B, Rattray F, Bunte A, Magni C, Lendero V, Alvarez M, Fernandez M, Lopez P, Palencia PF, Corbi A, Trip H, Lolkema JS. 2010. Biogenic amines in fermented foods. Euro J Clin Nutr 64: S95-S100. DOI:10.1038/ejcn.2010.218.
- Taorem S, Sarojnalini CH. 2012. Effect of temperature on biochemical and microbiological qualities of ngari. Nat Sci 10: 32-40.
- Thienchai S, Chaiyanan S. 2012. Anchovy paste production from lactic acid fermentation of Anchovy fish found in the Gulf of Thailand. KRU Res J 17: 556-564.
- Tsai YH, Lin CY, Chien LT, Lee TM, Wei CI, Hwang DF. 2006. Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. Food Chem 98: 64-70. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.04.036.
- Yuliana N. 2007. Profil fermentasi rusif yang dibuat dari ikan teri (*Stolephorus* sp). Agritech 27: 12-17.
- Zaman MZ, Abdulmir AS, Bakar FA, Selamat J, Bakar J. 2009. A Review: microbiological, physicochemical and health impact of high level of biogenic amines in fish sauce. Appl Sci 6: 1199-1211.
- Zarei M, Najafzadeh H, Eskandari MH, Pashmforoush M, Anayati A, Gharibi D, Fazlara A. 2012. Chemical and microbial properties of mahyaveh, a traditional Iranian fish sauce. Food Control 23: 511-514. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.08.023.
- Zhai H, Yang X, Li L, Xia G, Cen J, Huang H, Hao S. 2012. Biogenic amines in commercial fish and fish products sold in southern China. Food Control 25: 303-308. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.10.057.