

**KADAR HISTAMIN PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN**

**Vista Dwi Setyarini<sup>1</sup>, Indah Lestari<sup>2</sup>, Christ Kartika**

Rahayuningsih<sup>3</sup> Jurusan Analis Kesehatan

Poltekkes Kemenkes Surabaya

**Abstrak**

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu produk perikanan yang mudah mengalami pembusukan dan kerusakan yang ada kaitannya dengan keracunan histamin. Keracunan yang disebabkan oleh histamin disebut juga HFP (*Histamin Fish Poisoning*). Sedangkan histamin dapat terbentuk dari histidin bebas yang mengalami proses dekarboksilasi oleh bakteri yang memiliki enzim histidin dekarboksilase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar histamin udang vannamei dan juga bakteri pembentuknya.

Penelitian ini menggunakan sampel udang vannamei yang diambil dari tambak Wonorejo dan dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Surabaya dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Analis Kesehatan pada bulan Januari sampai Juli 2018. Kadar histamin ditetapkan dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) sedangkan metode pengujian bakteri menggunakan media niven termodifikasi.

Hasil penelitian ini didapatkan kadar histamin pada udang yang didiamkan pada suhu 25- 28 °C selama 7 jam mengalami kenaikan sebesar 0,2 mg/kg. Pada uji mikrobiologi pada udang segar dan tidak segar terdapat bakteri *Escherichia coli* yang masing-masing menunjukkan hasil negatif tidak adanya perubahan warna pada media niven. Analisa data yang dilakukan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar histamin pada udang segar dan tidak segar.

**Kata kunci :** *Histamin, Bakteri, Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei), Media Niven, Enzim*

**Pendahuluan**

Produk perikanan merupakan salah satu jenis pangan yang perlu mendapat perhatian terkait dengan keamanan pangan. Mengingat di satu sisi, Indonesia merupakan negara maritim terbesar di Asia Tenggara sehingga sektor perikanan memegang peranan penting dalam perekonomian nasional. Namun di sisi lain, produk perikanan dapat menjadi media perantara bagi bakteri patogen dan parasit karena produk perikanan memiliki kandungan air yang cukup tinggi, sehingga cocok untuk media pertumbuhannya, dimana produk perikanan mudah mengalami proses pembusukan dan dapat mengakibatkan keracunan pada manusia (Jihan, 2015).

Kasus infeksi atau keracunan produk perikanan sering terjadi akibat mengkonsumsi makanan yang telah terkontaminasi, baik oleh mikroba patogen penyebab infeksi maupun mikroba penghasil toksin (Dwiyitno, 2010). Salah satu kasus

keracunan karena intoksikasi adalah keracunan histamin. Permasalahan histamin ini termasuk tiga besar problem kesehatan publik yang kerap muncul dari makanan laut (Januar, 2009). Berita Aceh Tribunnews, 31 Agustus 2015 tentang kasus keracunan yang menimpa puluhan siswa SMA Modal Bangsa PT Arun Lhokseumawe terjadi akibat ikan sarden yang mereka konsumsi mengandung histamin. Hal itu sesuai pemeriksaan BPOM Aceh terhadap sampel ikan yang hasilnya diterima dan dipastikan oleh Dinkes Lhokseumawe.

Keracunan yang disebabkan oleh histamin atau yang disebut *histamin fish poisoning* (HFP) terjadi setelah mengkonsumsi ikan atau produk perikanan yang mengandung histidin bebas. Histidin bebas ini merupakan prekursor histamin yang menyebabkan keracunan pada manusia jika dikonsumsi (Lukman, 2014). Setelah ikan mati, enzim-enzim dari bakteri yang tumbuh di dalamnya dapat dengan segera mengkatalisis reaksi yang

menghasilkan amina biogenik, termasuk histamin, yang bersifat toksin. Sedangkan Januar (2009) mengatakan bahwa ikan yang masih segar memiliki kandungan histamin lebih kecil dari 10 ppm. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 2729 Tahun 2013 bahwa syarat mutu dan keamanan produk ikan segar kadar histamin maksimum 100 mg/kg atau setara dengan 100 ppm.

Masalah yang terjadi di masyarakat pada umumnya adalah menjual produk perikanan di pasar tradisional dalam keadaan terbuka dan dalam suhu ruang berjam-jam sehingga mudah tercemar oleh mikroorganisme yang dapat menyebabkan kebusukan (Yulian, 2014). Salah satu produk perikanan tersebut adalah udang. Udang juga merupakan produk yang mudah mengalami pembusukan. Kebusukan dan kerusakan ikan ada kaitannya dengan kadar histamin karena keracunan histamin tidak hanya disebabkan oleh kelompok ikan yang secara alami mengandung histamin, tetapi juga bisa disebabkan oleh ikan yang kurang segar mutunya dan terbentuk selama proses pengolahan ikan. Makin tinggi tingkat kerusakan ikan, makin banyak histamin yang terbentuk pada ikan (Mauliyani dkk, 2016).

Proses pembentukan histamin pada ikan sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim *L-Histidine Decarboxylase* (HDC). Berbagai jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim HDC, termasuk kelompok Enterobacteriaceae, misalnya: *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter intermedium*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Morganella morganii* (Mangunwardoyo, 2007). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Mangunwardoyo dkk (2007) bahwa kadar histamin yang dibentuk *R. terrigena* sebesar 132,49 mg/100mL; *M. testaceum* sebesar 189,56 mg/100mL; *B. mcbrellneri* sebesar 163,09 mg/100mL; *M. diversus* sebesar 102,52 mg/100mL; *Staphylococcus* spp. sebesar 124,37 mg/100mL; dan *M. morganii* sebesar 92,49 mg/100mL.

Gejala klinis keracunan akibat mengkonsumsi makanan atau produk makanan yang mengandung histamin dalam jumlah tinggi berupa muntah-muntah, rasa terbakar pada kerongkongan, bibir bengkak, sakit kepala, kejang, mual, muka dan leher kemerahan, gatal-gatal, serta badan lemas (Nikmans dkk.,2015). Selain analisis histamin, menurut Ibnu (2011) bahwa jenis

bakteri pembentuk histamin juga penting diketahui untuk menghambat bakteri spesifik pembentuknya serta dalam melakukan pengujian mikrobiologi untuk pangan laut harus diketahui target bakteri yang diinginkan, sehingga karakterisasi bakteri tersebut harus diketahui. Sehingga pada penelitian kali ini tidak hanya dilakukan analisa kadar histamin saja, namun identifikasi bakteri pembentuknya. Jenis bakteri yang sama, kandungan protein yang sama tinggi dan juga banyaknya kasus alergi udang dengan gejala yang sama seperti gejala keracunan histamin sehingga dimungkinkan udang vannamei mengandung histamin. Dari latar belakang tersebut maka apakah udang mengandung histamin yang berbahaya bagi kesehatan dan apakah bakteri yang terdapat pada udang dapat membentuk histamin. Masih belum adanya penelitian yang mengujikan kadar histamin pada udang vannamei dan juga identifikasi bakteri pembentuknya sehingga setelah adanya penelitian ini diharapkan diketahui kadar histamin pada udang vannamei segar dan tidak segar serta bakteri pembentuknya.

## Metode Penelitian

### Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan pendekatan komparatif dan menggunakan teknik analisa kuantitatif dan kualitatif

### Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang didapatkan di Tambak udang Wonorejo, Surabaya.

Sampel yang digunakan adalah sampel udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebanyak 500 gram yang diambil secara *Purposive Sampling* yaitu sampel sesuai dengan keinginan dan tujuan peneliti. Sampel udang segar diambil langsung dari tambak Wonorejo dalam keadaan tetap hidup, pada udang tidak segar diambil dari tambak Wonorejo dan didiamkan selama 7 jam di suhu 25-28 °C.

### Persiapan Sampel

Udang vannamei dipisahkan antara kulit dan kepala sehingga yang diperoleh hanya daging udang saja, kemudian daging udang dihaluskan menggunakan *food processor*. Sampel yang telah dihaluskan di

masuk ke dalam wadah plastik yang sudah diberi label agar mempermudah pada saat proses pengujian, barulah sampel dilakukan penimbangan.

#### Analisis Kadar Histamin

Menimbang 5 gram sampel yang sudah di blender lalu masukkan ke dalam tabung polypropylene 50 mL. Sampel yang sudah ditimbang kemudian ditambahkan pelarut metanol 75% dan ditepatkan hingga 25 mL. Menghomogenkan dengan vortex lalu *head over head* selama 15 menit agar sampel homogen dengan sempurna. Lalu masukkan pada water bath dengan suhu 60 °C selama 30 menit. Kemudian *head over head* kembali selama 15 menit agar sampel yang mengendap dapat homogen kembali. Pisahkan ekstrak dengan sampel dengan sentrifugasi kecepatan 4000 rpm selama 10 menit hingga natan dan supernatan terpisah. Ambil supernatan sebanyak 1,5 mL lalu pindahkan ke dalam microtube 2 mL. Sentrifuge kembali dengan kecepatan 14500 rpm selama 10 menit hingga dihasilkan ekstrak bening.

Ekstrak bening hasil ekstraksi dipindahkan ke dalam vial sebanyak 500 µL kemudian ditambahkan NaOH 1N sebanyak 100 µL. Menghomogenkan dengan vortex. Vial-vial yang sudah siap kemudian diletakkan dan didata di rak HPLC dan diurutkan sesuai dengan nomor yang sudah diberi kode untuk memudahkan proses pembacaan hasil. HPLC dijalankan sesuai dengan prosedur. Pembacaan dilakukan menggunakan detektor fluoresensi dengan eksitasi 350 nm dan emisi 450 nm. Setelah komponen dalam sampel berhasil dipisahkan dan dibaca oleh detektor, tahap selanjutnya adalah proses identifikasi. Hasil analisa HPLC secara kuantitatif diperoleh dalam bentuk signal kromatogram. Dalam kromatogram terdapat peak-peak yang menggambarkan banyaknya jenis komponen dalam sampel

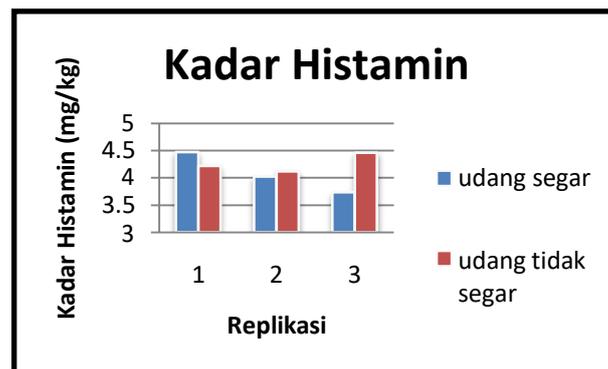
#### Uji Bakteri Pembentuk Histamin

Membuat media niven yang dimodifikasi. Komposisi medium Niven yang dimodifikasi terdiri dari: 0,1% Tripton; 0,3% *Yeast extract*; 1,8 % L-Histidin-2HCl; 0,5% NaCl; 0,1% CaCO<sub>3</sub>; 2,5 % Agar; dan 0,003% fenol merah, dilarutkan dalam 1 Lakuades pada pH 6,4. Isolat – isolat bakteri ditumbuhkan dalam tabung berisi 5 mL yang berisi Nutrient Agar (NA) dengan metode kuadran, sampai diperoleh koloni bakteri

tunggal. Bakteri yang diperoleh kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi medium Niven Agar termodifikasi pada pH 6,4 dengan 3 kali pengulangan, dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C.

#### Hasil

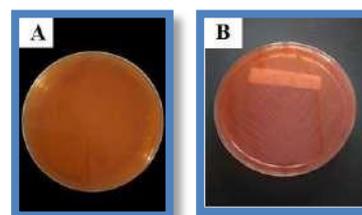
Pengukuran kadar histamin pada udang vannamei segar dan udang vannamei yang tidak segar dapat diperoleh hasil sebagai berikut



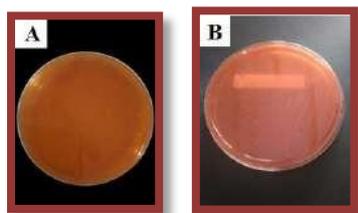
Gambar 4.1 Kadar histamin pada

udang vannamei segar dan tidak segar

Pada uji mikrobiologi udang vannamei segar dan udang vannamei tidak segar didapatkan hasil bahwa didalam udang vannamei segar maupun udang vannamei tidak segar terdapat bakteri *Escherichia coli* dan setelah diuji pada media niven hasil sebagai berikut



Gambar 4.2 Media niven sebelum ditanam bakteri (A) dan media niven setelah ditanam isolat bakteri *Escherichia coli* dari udang segar (B)



**Gambar 4.3** Media niven sebelum ditanam bakteri (A) dan media niven setelah ditanam isolat bakteri *Escherichia coli* dari udang

Hasil dari media niven yang sudah ditanam dengan isolat bakteri *Escherichia coli* dari udang segar dan tidak segar kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C menunjukkan tidak adanya perubahan warna sehingga warna media tetap kuning. Hasil positif apabila media berubah warna dari kuning menjadi pink, sedangkan hasil negatif apabila warna media tidak berubah. Sehingga bakteri *Escherichia coli* didalam udang vannamei segar tidak dapat membentuk histamin.

#### Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada gambar 4.1 bahwa kadar histamin pada udang segar setelah dirata-rata diperoleh dengan nilai 4,07 mg/kg. Sedangkan rata-rata kadar histamin pada udang *vannamei* tidak segar yaitu diperoleh dengan nilai 4,27 mg/kg. Kemudian diperoleh hasil penelitian berupa adanya perbedaan kadar histamin udang tidak segar 0,2mg/kg lebih tinggi daripada udang segar.

Perbedaan kadar histamin udang tidak segar 0,2 mg/kg lebih tinggi daripada udang segar hal ini terjadi akibat pertumbuhan bakteri penghasil histamin yang meningkat pada udang tidak segar. Peningkatan dikarenakan pada udang tidak segar didiamkan pada suhu 25-28 °C, bakteri pembentuk histamin dapat tumbuh lebih cepat pada temperatur tinggi dibandingkan temperatur rendah. Bakteri pembentuk histamine umumnya adalah bakteri mesofilik yaitu bakteri yang tumbuh optimum pada suhu 30-37 °C. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Affiano (2011) dalam penelitiannya yang berjudul "Analisis Perkembangan Histamin Tuna (*Thunnus* sp) dan Bakteri Pembentuknya pada Beberapa Setting Standar Suhu Penyimpanannya" bahwa suhu optimum pembentuk histamin adalah 25 °C karena penyimpanan ikan pada

suhu 25 °C selama 24 jam dapat meningkatkan kandungan histamin yang terkandung hingga 120mg/100g °C.

Histamin merupakan komponen amin biogenik yaitu bahan aktif yang diproduksi secara biologis melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas. Proses dekarboksilase histidin menjadi histamin dapat terjadi melalui aktivitas bakteri yang memproduksi enzim dekarboksilase. Peningkatan histamin dipengaruhi oleh 3 faktor, yaitu keberadaan bakteri histidin dekarboksilase, kandungan histidin bebas pada ikan, dan faktor lingkungan (suhu dan waktu penanganan). Kadar histidin bebas pada setiap produk perikanan tidak sama dikarenakan faktor waktu dan suhu penanganan. Pada udang *vannamei* segar waktu penanganan diupayakan sesingkat mungkin karena menggunakan udang *vannamei* hidup yang langsung diperiksa dalam keadaan baru mati sehingga masih sedikit aktivitas bakteri di dalam udang tersebut. Kadar histidin bebas kemungkinan masih sedikit dan bakteri pembentuk histamin masih belum berkembang banyak sehingga kadar histamin pada udang segar didapatkan sebanyak 4,02mg/kg. Berbeda dengan udang *vannamei* tidak segar yang didiamkan selama 7 jam, udang mengalami fase menuju pembusukkan dimana asam amino histidin dapat terurai menjadi histidin bebas. Kemungkinan kadar histidin bebas pada udang tidak segar lebih tinggi daripada udang segar selain itu pada pendiaman selama 7 jam menyebabkan bakteri pembentuk histamin berkembang sehingga didapatkan kadar histamin lebih tinggi daripada kadar histamin udang segar yaitu 4,27mg/kg. Namun, meskipun demikian kadar histidin bebas pada udang termasuk rendah karena daging udang berwarna putih sedangkan kadar histidin yang tinggi ditemukan pada daging ikan yang berwarna gelap. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Purwaningsih (2013) dalam penelitiannya bahwa peningkatan histamin terkait dengan keberadaan dan kelimpahan asam amino histidin bebas. Sedangkan, Keer dkk (2002) dalam penelitiannya juga mengatakan bahwa kandungan histidin bebas dalam daging ikan tuna segar berkisar dari 745 sampai 1460 mg/100g. Ikan-ikan berdaging putih kandungan histidin bebasnya rendah dan ketika busuk tidak menghasilkan histamin sampai 10 mg/100g setelah dibiarkan 48 jam pada suhu 25 °C.

Kenaikan kadar histamin pada udang tidak segar tidak terlalu tinggi yaitu hanya mengalami kenaikan sebesar 0,2mg/kg dikarenakan potensi bakteri pembentuk histamin yang ada pada udang lemah. Bakteri pembentuk histamin memiliki potensi membentuk histamin yang berbeda-beda setiap jenis. Karena bakteri pembentuk histamin memiliki enzim histidin dekarboksilase yang memiliki aktivitas berbeda-beda. Hal ini sesuai dengan penelitian Prasetiawan dkk (2013) bahwa faktor peningkatan kadar histamin disebabkan karena kerja enzim histidin dekarboksilase dan tersedianya substrat enzim histidin dekarboksilase yang ada pada bakteri.

Proses identifikasi bakteri pembentuk histamin dilakukan mulai dari proses isolasi dan identifikasi pada udang segar dan tidak segar terhadap 6 bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella* hingga didapatkan isolat murni dari udang segar maupun udang tidak segar. Pada udang segar dan udang tidak segar ditemukan bakteri *Escherichia coli* yang jumlah bakterinya melebihi batas standar yaitu 3 MPN/g (SNI 2729:2013), kemudian isolat bakteri *Escherichia coli* dari udang vannamei segar dan tidak segar ini ditanam pada media niven dengan hasil bakteri *Escherichia coli* pada udang segar maupun udang tidak segar tidak dapat membentuk histamin. Namun dalam proses isolasi dan identifikasi bakteri kemungkinan masih ada bakteri lain vannamei ada di dalam udang vannamei selain *Escherichia coli* yang berpotensi besar dalam pembentukan histamin ini tetapi tidak masuk dalam parameter uji isolasi dan identifikasi bakteri. Hal ini didukung oleh Fatuni (2014) dalam pernyataannya bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* dan *Enterobakter aerogenes* termasuk penghasil histamin yang paling banyak sedangkan *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* dan *Clostridium freundii* menghasilkan histamin lebih rendah. Dalam pengujian isolasi dan identifikasi bakteri ini kesalahan peneliti hanya dilakukan parameter uji jenis bakteri pembentuk histamin lemah, padahal kemungkinan masih ada jenis bakteri pembentuk histamin kuat yang ada pada udang vannamei sehingga menghasilkan kadar sebesar 4,07 mg/kg pada udang vannamei segar dan kadar sebesar 4,27 pada udang vannamei tidak segar. Sehingga pada

penelitian berikutnya perlu adanya isolasi dan identifikasi kembali dengan jenis bakteri yang lebih banyak seperti *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Hafnia alvei*, *Photobacterium damsela* dan *Klebsiella oxytoca*.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa berdasarkan analisis pada 4.1.1 bahwa hasil kadar histamin pada udang vannamei segar dan udang vannamei tidak segar tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

## Kesimpulan dan saran

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang kadar histamin serta identifikasi bakteri pembentuk histamin dapat diambil kesimpulan sebagai berikut

1. Pada udang vannamei segar terdapat bakteri *Escherichia coli* namun bakteri tidak dapat membentuk histamin.
2. Pada udang vannamei tidak segar terdapat bakteri *Escherichia coli* namun bakteri tidak dapat membentuk histamin.
3. Kadar histamin pada udang vannamei segar adalah 4,07 mg/kg
4. Kadar histamin pada udang vannamei tidak segar adalah 4,27 mg/kg
5. Tidak ada perbedaan secara signifikan antara kadar histamin pada udang vannamei segar dan udang vannamei tidak segar.

### Saran

1. Kepada masyarakat untuk lebih memperhatikan lama penyimpanan suatu produk perikanan karena kadar histamin dapat meningkat karena pengaruh suhu.
2. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan melakukan penelitian dengan isolasi dan identifikasi bakteri pada udang vannamei dengan jenis bakteri selain 6 bakteri yang sudah dilakukan oleh peneliti dan bakteri yang berpotensi membentuk histamin kuat sehingga ditemukan isolasi bakteri yang lebih variatif untuk pengujian ke media niven nanti. Selain itu diharapkan peneliti selanjutnya melakukan penelitian terhadap kadar histamin pada produk perikanan lainnya yang mengandung kadar histamin lebih tinggi seperti produk fermentasi hasil perikanan contohnya peda, pindang, dan terasi.

**Daftar Pustaka**

- Bah, 2015. Keracunan Siswa Arun Akibat Histamin, Tribunnews.
- Dwiyitno., 2010. Identifikasi Bakteri Patogen Pada Produk Perikanan Dengan Teknik Molekuler. *Squalen*. Agustus,5(2).
- Fatuni Y.S, Suwandi R, Jaecob A.M., 2014. Identifikasi Kadar Histamin dan Bakteri Pembentuk Histamin Dari Pindang Bandeng Tongkol, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2).
- Januar, H. I., 2009. Perbandingan Beberapa Metode Analisis Histamin untuk Produk Perikanan. *Squalen*, Agustus.4(2).
- Keer, M., Paul, L. & Sylvia, A. (2002). *Effect of Storage Condition on Histamin Formation in Fresh and Canned Tuna*. Commission by Food Safety Unit. [www.foodsafety.vic.gov.au](http://www.foodsafety.vic.gov.au).
- Mangunwardoyo, W, Sophia R.A, Heruwati E.S., 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim *L-Histidine Decarboxylase* Dari Bakteri Pembentuk Histamin, *MAKARA Sains*, 11(2). Jakarta : Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi, Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Prasetiawan, N.R., Agustini, Tri W., Maruf, Widodo F., 2013. Penghambatan Pembentukan Histamin Pada Daging Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) Oleh Quercetin Selama Penyimpanan, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* Vol 16 (2). Semarang: Universitas Diponegoro.
- Purwaningsih, Sri., Santoso, Joko., Garwan, Rahmatia., 2013. Perubahan Fisiko-kimiawi, Mikrobiologis dan Histamin Bakasang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*, Lin) Selama Fermentasi dan Penyimpanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol 24 (2). Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Standar Nasional Indonesia (SNI) , 2013. Nomor 2729, Jakarta : BSN (Badan Standarisasi Nasional)
- Wicaksono, Dhias., 2009. Asesmen Risiko Histamin Selama Proses Pengolahan Pada Industri Tuna Loin. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Wiranti,J., 2015. *Pengujian Histamin Pada Produk Perikanan di UPT Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (PPMHP)*, Surabaya Jawa Timur.