KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI DAN KIMIA INASUA IKAN BABI (*RUVETTUS TYDEMANI* WEBER) DENGAN DAN TANPA NIRA KELAPA

MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PORKFISH (*RUVETTUS TYDEMANI* WEBER) INASUA WITH AND WITHOUT COCONUT SAP

Ferymon Mahulette^{1*}, Tri Santi Kurnia²

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Pattimura, Jl. M. Putuhena, Ambon 97233, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi FITK IAIN Ambon. Jl. Dr. H. T. Taher, Maluku 97128, Indonesia

ABSTRAK

Inasua ikan babi (*Ruvettus tydemani*) adalah produk fermentasi ikan yang sangat digemari masyarakat Teon, Nila, dan Serua (TNS) di Maluku Tengah. Produk fermentasi ini diolah dengan menambahkan garam saja (inasua tanpa nira) atau garam dan nira kelapa (inasua nira). Inasua ikan babi sejak lama dikonsumsi masyarakat TNS tetapi karakteristik mikrobiologi dan kimia produk fermentasi ini belum pernah diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan karakteristik mikrobiologi dan kimia inasua ikan babi untuk mengetahui kelayakan produk ini sebelum dikonsumsi. Analisis Mikrobiologi menggunakan metode hitungan cawan pada media *Nutrient agar* (NA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), *de Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sedangkan analisis kimia meliputi uji kadar histamin, *Total Volatile Base-Nitrogen* (TVB-N), *Trimethylamine-Nitrogen* (TMA-N), asam lemak bebas dan mineral. Sebanyak 7 isolat ditemukan pada inasua tanpa nira, sedangkan inasua nira hanya ditemukan 6 isolat yang didominasi oleh *Staphylococcus* dan *Bacillus*. Kadar TVB-N dan TMA-N inasua tanpa nira sedikit lebih tinggi dibanding inasua nira, sebaliknya kadar histamin dan asam lemak bebas inasua nira lebih tinggi dibandingkan inasua tanpa nira. Secara umum inasua nira memiliki jumlah bakteri patogen lebih sedikit dibandingkan inasua nira, sebaliknya karakteristik kimia inasua tanpa nira lebih aman untuk dikonsumsi dibandingkan inasua nira.

Kata kunci: inasua ikan babi; histamin; karakteristik mikrobiologi; nira kelapa

ABSTRACT

Porkfish (Ruvettus tydemani) inasua is a fermented fish product that is very popular in the Teon, Nila and Serua (TNS) communities in Central Maluku. This fermented product is processed by adding salt only (inasua without sap) or salt and coconut sap (inasua with sap). Porkfish inasua has long been consumed by the TNS community, but the microbiological and chemical characteristics of this fermented product have never been studied. This study aims to describe the microbiological and chemical characteristics of porkfish inasua to determine the feasibility of this product before consumption. Microbiological analysis used the plate count method on Nutrient agar (NA), Mannitol Salt Agar (MSA), de Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA) and Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) media while chemical analysis included histamine, Total Volatile Base-Nitrogen (TVB-N), Trimethylamine-Nitrogen (TMA-N), free fatty acids and mineral content. A total of 7 isolates were found in the inasua without sap, while only 6 isolates were found in the inasua with sap, which were dominated by Staphylococcus and Bacillus. The TVB-N and TMA-N contents of inasua without sap were slightly higher than inasua with sap, on the other hand the histamine and free fatty acids contents inasua with sap were higher than inasua without sap. Generally, the inasua with sap has the number of pathogenic bacteria is less than the inasua sap, on the contrary, the chemical characteristics of the inasua without sap is safer for consumption than the inasua with sap.

Keywords: coconut sap; histamine; microbiological characteristics; porkfish inasua;

^{*}) Penulis Korespondensi.

E-mail: ferymonm@gmail.com

Telp: +62-85243183442

Pendahuluan

Kepulauan Maluku memiliki hasil perikanan yang melimpah, terutama berbagai jenis ikan. Salah satu jenis ikan yang jarang dimanfaatkan adalah ikan babi (*Ruvettus tydemani* Weber). Ikan babi adalah ikan berminyak (*oilfish*) yang banyak ditemukan di sekitar Perairan Laut Banda. Konsumsi ikan ini dalam jumlah yang banyak menyebabkan diare berminyak (*Kerionrhea*) sehingga masyarakat Teon, Nila dan Serua (TNS) di Maluku Tengah mengolah ikan babi menjadi produk fermentasi yang disebut inasua (Mahulette et al., 2016). Di daerah lain ikan ini dimanfaatkan sebagai pencakar karena memiliki efek laksatif (Nunkoo et al., 2017).

Masyarakat TNS sejak dahulu mengonsumsi inasua tetapi penelitian tentang inasua berbahan dasar ikan babi belum pernah dilakukan. Hal ini dianggap sebagai kebaruan dari penelitian ini.

Pengolahan inasua dilakukan secara tidak terkontrol karena menggunakan teknik dan peralatan tradisional. Hal ini memungkinkan adanya bakteri patogen dan pembusuk ditemukan dalam produk fermentasi ini. Dalam fermentasi inasua berbahan dasar ikan gurara (*Lutjanus vitta*) ditemukan bakteri patogen, seperti *Staphylococcus* dan *Escherichia*. Kedua jenis bakteri ini diduga berasal dari pengolahan inasua yang kurang higienis. (Mahulette et al., 2018).

Pengolahan inasua umumnya hanya menggunakan garam sebagai pengawet, tetapi sebagian masyarakat juga menambahkan nira kelapa sehingga dikenal dua jenis produk yaitu inasua tanpa nira dan inasua nira. Selain mengandung gula-gula sederhana, nira kelapa juga mengandung sejumlah mikroba yang berperan dalam fermentasi sehingga diduga kedua jenis inasua ini memiliki karakteristik mikrobiologi dan kimia yang berbeda. Karakterisasi secara mikrobiologi dan kimia terhadap suatu produk pangan sangat penting dilakukan untuk mengetahui kelayakan produk tersebut sebelum dikonsumsi.

Metode Penelitian

Pengambilan dan preparasi sampel

Sampel inasua ikan babi diambil dari pengrajin tradisional di Desa Ameth, Kecamatan TNS-Waipia Maluku Tengah. Sebanyak 1 kg daging ikan babi diolah menjadi inasua dengan menambahkan garam sebanyak 25% (Mahulette

et al., 2018) dari berat ikan. Ikan yang telah ditambahkan garam selanjutnya dibagi secara merata dan dimasukkan dalam dua wadah yang berbeda. Wadah kedua ditambahkan nira kelapa dan dianggap sebagai inasua dengan nira kelapa, sedangkan wadah pertama dianggap sebagai inasua tanpa nira kelapa. Sampel inasua kemudian dibiarkan mengalami fermentasi dalam wadah kedap udara pada suhu ruang ($\pm 26^{\circ}\text{C}$) selama 3 bulan.

Analisis mikrobiologi

Sebanyak 25 g sampel inasua ikan babi dicampur dengan 225 ml larutan pepton steril (0.1% w/v) dan digerus secara aseptik selama 3 menit. Sebanyak 1 ml sampel inasua yang telah dihomogenisasi dan diencerkan secara berseri dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian media *de Man*, *Rogosa* and *Sharp agar* (MRSA) yang mengandung CaCO_3 1% (b/v) dan NaCl 3% (b/v) dituang ke dalam cawan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam (Fan dan Song, 2013). Sebanyak 0.1 ml sampel inasua juga disebar masing-masing pada cawan petri yang mengandung media *Manitol Salt Agar* (MSA) dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam (Rattanasuk et al. 2015). Koloni yang memiliki karakteristik morfologi berbeda dalam cawan dianggap sebagai isolat kemudian ditandai dan dihitung jumlahnya. Semua isolat yang diperoleh selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram, pewarnaan endospore dan uji katalase menggunakan hidrogen peroksida 3%. Angka lempeng total bakteri ditentukan dengan menginokulasikan 0,1 ml sampel pada media *Nutrient Agar* (NA).

Analisis kimia

Penentuan kadar histamin menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan SNI 2354.10.2009 sedangkan kadar *Total volatile base-nitrogen* (TVBN) dan *Trimethylamine* (TMA) menggunakan metode Conway berdasarkan SNI 2354.8.2009. Penentuan kadar asam lemak bebas berdasarkan Standar Pertanian Indonesia-Bidang Perikanan (SPI-KAN) tahun 1988. Analisis histamin, TVB-N, TMA-N, dan asam lemak bebas dilakukan pada Laboratorium Pengujian Mutu dan Pengembangan Produk Kelautan dan Perikanan (PMP2KP) Banyuwangi. Penentuan kadar mineral menggunakan metode spektrofotometri serapan atom (AAS) yang

dilakukan pada Laboratorium Terpadu Institut Pertanian Bogor.

Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 7 isolat ditemukan pada inasua tanpa nira dan 6 isolat pada inasua nira. Jumlah koloni tertinggi adalah isolat 01 yaitu 3.5×10^7 CFU/g pada inasua tanpa nira dan 3.1×10^7 CFU/g pada inasua nira. Secara umum jumlah bakteri yang ditemukan pada inasua tanpa nira lebih tinggi dibandingkan inasua nira (Tabel 1). Hal ini disebabkan fermentasi inasua tanpa nira hanya

menggunakan satu pengawet yaitu garam sedangkan inasua nira menggunakan garam dan nira kelapa. Selain mengandung karbohidrat sederhana, nira kelapa juga merupakan sumber mikroba yang didominasi oleh khamir dan bakteri asam laktat (Kadere dan Kutima, 2012). Kedua mikroba ini menghasilkan alkohol dan asam selama fermentasi nira kelapa berlangsung. (Kapilan et al., 2015). Fermentasi inasua nira dalam waktu yang lama mampu mengeliminasi sejumlah mikroba akibat akumulasi alkohol dan asam.

Tabel 1. Karakteristik makroskopis bakteri yang diisolasi dari inasua ikan babi

Sampel	Media	Kode	Karakteristik koloni			Uji Katalase	Total koloni (CFU/g)
			Bentuk	Warna	Tepian		
Inasua tanpa nira	NA	IS-01	Bundar	Putih	Licin	+	3.5×10^7
	MRSA	IS-02	Bundar	Putih susu	Licin	+	3.7×10^6
		IS-03	Bundar	Putih pucat	Licin	+	3.0×10^5
	MSA	IS-04	Bundar	Putih	Licin	+	2.3×10^7
		IS-05	Bundar	Kuning	Licin	+	1.7×10^7
	EMBA	IS-06	Bundar	Hitam	Licin	+	2.3×10^6
		IS-07	Bundar	Merah muda	Licin	+	3.2×10^6
Inasua nira	NA	IS-01	Bundar	Putih	Licin	+	3.1×10^7
	MRSA	IS-02	Bundar	Putih susu	Licin	+	6.3×10^6
	MSA	IS-04	Bundar	Putih	Licin	+	1.6×10^7
		IS-05	Bundar	Kuning	Licin	+	4.0×10^6
	EMBA	IS-06	Bundar	Hijau Metalik	Licin	+	1.2×10^6
		IS-07	Bundar	Merah muda	Licin	+	1.9×10^6

Bakteri berperan dalam fermentasi inasua ikan babi. Umumnya bakteri yang berperan dalam fermentasi ikan adalah bakteri asam laktat (Ingratubun et al., 2013), tetapi bakteri ini sulit ditemukan dalam fermentasi inasua ikan babi. Hal ini disebabkan ikan babi adalah ikan berminyak sehingga bakteri yang ditemukan dalam produk fermentasi ini harus memiliki aktivitas lipolitik yang tinggi. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan lipolitik yang sangat rendah (Dincer dan Kivanc, 2017).

Bakteri yang berperan dalam fermentasi inasua ikan babi didominasi oleh *Staphylococcus* dan *Bacillus* (Tabel 2). *Staphylococcus* umumnya ditemukan dalam sejumlah produk fermentasi ikan. Kadar garam yang tinggi dalam pengolahan inasua mendukung pertumbuhan bakteri ini. Selain itu, adanya *Staphylococcus* berasal dari kontak dengan manusia karena pengolahan inasua yang tidak terkontrol (Mahulette et al., 2018). Umumnya *Staphylococcus* memiliki kemampuan lipolitik yang tinggi (Winny et al., 2012). Bakteri lain yang mendominasi inasua adalah *Bacillus*. Bakteri ini memiliki aktivitas

lipolitik yang tinggi dibanding bakteri lain yang ditemukan dalam inasua ikan gurara (Anggriani et al., 2020).

Kadar histamin inasua tanpa nira adalah 13.82 mg/kg lebih rendah dibanding inasua nira yaitu 27.66 mg/kg. Kadar histamin dalam fermentasi ikan yang tidak terkontrol sangat dipengaruhi oleh jenis ikan, kadar histidin bebas dalam otot dan adanya bakteri penghasil histamin (Dissaraphong et al., 2006). *Staphylococcus* mampu menghasilkan histamin sebagai produk dekarboksilasi histidin (Kung et al., 2012). Meskipun demikian, pengawetan dengan kadar yang tinggi mampu menekan aktivitas bakteri-bakteri tersebut menghasilkan histamin (Hernandez-Herrero et al., 1999). Garam-garam tersebut menarik air dan bahan terlarut dari dalam sel melalui osmosis sehingga menghambat aktivitas dekarboksilasi histidin oleh bakteri (Besas dan Dizon, 2012). Kadar histamin kedua produk inasua ini masih berada di bawah ambang batas yang ditetapkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA), yaitu 50 mg/kg (FDA, 2011).

Tabel 2. Karakteristik mikroskopis bakteri yang diisolasi dari inasua ikan babi

Sampel	Media	Kode	Gram	Spora	Bentuk Sel	Penataan	Genus (Estimasi)
Inasua tanpa nira	NA	IS-01	+	-	Kokus	Bergerombol	<i>Staphylococcus</i>
	MRSA	IS-02	+	+	Basil	Duplo	<i>Bacillus</i>
		IS-03	+	+	Basil	Berantai	<i>Bacillus</i>
	MSA	IS-04	+	-	Kokus	Berantai	<i>Staphylococcus</i>
		IS-05	+	-	Kokus	Berantai	<i>Staphylococcus</i>
	EMBA	IS-06	-	-	Basil	Duplo	<i>Escherichia</i>
		IS-07	-	-	Basil	Duplo	<i>Enterobacter</i>
Inasua nira	NA	IS-01	+	-	Kokus	Bergerombol	<i>Staphylococcus</i>
	MRSA	IS-02	+	+	Basil	Duplo	<i>Bacillus</i>
	MSA	IS-04	+	-	Kokus	Berantai	<i>Staphylococcus</i>
		IS-05	+	-	Kokus	Berantai	<i>Staphylococcus</i>
	EMBA	IS-06	-	-	Basil	Duplo	<i>Escherichia</i>
		IS-07	-	-	Basil	Duplo	<i>Enterobacter</i>

Kadar TVB-N dan TMA-N menentukan kesegaran ikan untuk dikonsumsi. Semakin tinggi kadar kedua senyawa ini menunjukkan semakin rendah kualitas produk ikan fermentasi. Kadar TVB-N dan TMA-N inasua tanpa nira sedikit lebih tinggi dibandingkan inasua nira (Tabel 3). Peningkatan senyawa-senyawa ini disebabkan proses autolisis dan pembusukan oleh bakteri selama fermentasi sehingga menghasilkan senyawa-senyawa basa sederhana yang mudah menguap (Ozogul dan Ozogul, 2000). Pengawetan inasua tanpa nira yang hanya menggunakan garam menyebabkan autolisis dan pembusukan oleh bakteri berlangsung lebih cepat dibandingkan inasua nira.

Tabel 3. Hasil analisis kimia kualitas inasua ikan babi (berat basah)

Parameter	Jenis Inasua	
	Inasua Tanpa Nira	Inasua Nira
Histamin (mg/kg)	13.82±0.04	27.66±0.02
TVBN (mg-N/100g)	54.46±0.23	54.27±0.12
Asam lemak bebas (%)	1.48±0.07	1.52±0.02
TMAN (mg-N/100g)	41.29±0.01	40.20±0.04

Inasua mengandung sejumlah mineral yang dibutuhkan bagi tubuh. Secara umum mineral yang dikelompokkan sebagai makronutrien lebih banyak terkandung dalam inasua tanpa nira (Tabel 4). Hal ini disebabkan pengolahan inasua ini hanya menggunakan garam. Selain tersusun dari dua komponen utama, yaitu natrium (Na) dan klor (Cl), garam juga mengandung unsur-unsur makro seperti kalium, magnesium dan

kalsium (Naffes et al., 2013). Kadar besi inasua nira lebih tinggi dibanding inasua tanpa nira karena unsur mikro ini juga ditemukan dalam nira kelapa (Asghar et al., 2019).

Tabel 4. Hasil analisis mineral dalam inasua ikan babi (% , berat basah)

Parameter	Jenis Inasua	
	Inasua Tanpa Nira	Inasua Nira
Natrium (Na)	9.150±0.17	4.460± 0,04
Kalium (K)	0.346±0.25	0.273±0.01
Magnesium (Mg)	0.146±0.04	0.741±0.01
Besi (Fe)	0.0057±0.01	0.0083±0.12

Kesimpulan

Karakteristik mikrobiologi dan kimia inasua tanpa nira dan inasua nira berbeda. Bakteri yang ditemukan dalam inasua ikan babi didominasi oleh *Staphylococcus* dan *Bacillus*. Adanya kedua bakteri dalam produk ikan fermentasi ini karena memiliki aktivitas lipolitik yang tinggi. Bakteri-bakteri ini lebih banyak ditemukan dalam inasua tanpa nira dibanding inasua nira. Kadar TVB-N dan TMA-N inasua tanpa nira sedikit lebih tinggi dibanding inasua nira, sebaliknya kadar histamin dan asam lemak bebas inasua nira lebih tinggi dibanding inasua tanpa nira. Dengan demikian, karakteristik mikrobiologi inasua nira lebih baik dibanding inasua tanpa nira, sebaliknya inasua tanpa nira memiliki karakteristik kimia lebih baik dibanding inasua nira.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan FKIP Universitas Pattimura atas dana Hibah Penelitian Dosen tahun 2020 yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Daftar Pustaka

- Anggriani, L., Budiarti, S. & Mubarik, R.M. 2020. Lipase-production ability of bacteria from inasua (fish fermented product) from Central Moluccas, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(2): 622-628
- Asghar, M.T., Yusof, Y.A., Mokhtar, M.N., Ya'acob, M.E., Ghazali, H.M., Chang, L.S. & Manaf, Y.N. 2020. Coconut (*Cocos nucifera* L) sap as a potential source of sugar: antioxidant and nutritional properties. *Food Science and Nutrition*. 8:1777-1787.
- Besas, J.R & Dizon, E.I. 2012. Influence of salt concentration on histamine formation in fermented tuna viscera (dayok). *Food and Nutrition Sciences*. 3:201-206.
- Dincer, E. & Kivanc, M. 2018. Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish Pastirma. *Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Science and Technology*. 7(1):12-19.
- Dissaraphong, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Kishimura H. 2006. The influence of storage condition of tuna viscera before fermentation on the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. *Bioresource Technology*. 97 (16): 2032-2040.
- Fan, L. & Song, J. 2013. Antimicrobial microbes-bacteriocin producing lactic acid bacteria. In. Mendez-Vilas, A (Ed). *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. (pp. 899-909) Badajoz: Formatex Research Center.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2011. Scombrototoxin (histamine) formation. In. Leonard, B. (Ed). *Fish and Fishery Product Hazards and Controls Guidance* 4th Ed. (pp. 113-152). Washington: Departement of Health and Human Services, Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Herrero, M.M.H., Sagues, A.H.R, Jerez, J.J.L & Ventura, M.T.M. 1999. Halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria isolated during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Food Protection*. 62(5):509-514.
- Ingratubun, J.A., Ijong, F.G. & Onibala, H. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada bakasang sebagai starter mikrob produk fermentasi. *Aquatic Science and Management*. 1:48-56.
- Kadere, T.T. & Kutima, P.M. 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria in coconut toddy (mnasi). *Journal of Asian Scientific Research*. 2(12): 807-819
- Kapilan, R., Kailayalingam, R., Mahilrajan, S. & Srivijeindran, S. 2015. Determination of efficient fermentation inhibitor of sweet sap of *Cocos nucifera* and optimation of concentration for quality outputs in Nothern Sri Lanka. *International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences*. 2(7): 166-174.
- Kung, HF., Tsai, Y.H., Chang, S.C. & Hong, T.Y. 2012. Biogenic amine content, histamine forming bacteria, and adulteration of pork in tuna sausage product. *Journal of Food Protection*. 75(10):1814-1822.
- Mahulette, F., Mubarik, N.R., Suwanto, A. & Widanarni (2016). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from inasua. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 1(2):71-76.
- Mahulette, F., Mubarik, N.R., Suwanto, A. & Widanarni. (2018). Diversity of lactic acid bacteria in inasua fermentation. *Iranian Journal of Microbiology*. 10(5):258-265.
- Nafees, M., Khan, N., Rukh, S. & Bashir A. 2013. Analysis of rock and sea salts for various essentials and inorganic elemnts. *Journal of Science and Technology Univ. Peshawar*. 37(1): 9-20.
- Nunkoo, I., Weston, M.J., Reed, C.C., Lingen, C.D. & Kerwath, S. 2017. First account of the metazoan parasite fauna of oilfish *Ruvettus pretiosus* Coco, 1829 (Perciformes: Gempylidae) in South

- African waters. *African Zoology*. 52(4): 237-241.
- Ozogul, F. & Ozogul, Y. Comparision of methods used for determination of total volatile base nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*. 24: 113-130
- Rattanasuk, S., Boonbao, J., Sankumpa, N. & Surasilp, T. 2015. Foodborne pathogens in fermented fish purchase. In *Proceeding of International Conference on Science and Technology* (pp. 178-181). Yogyakarta, Indonesia. Pascasarjana Universitas Gadjah Mada,
- Winny, X.,Khosasih, V., Suwanto, A. & Kim, H.K. 2012. Characterization of lipase from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from Human Facial Subaceous Skin. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22(1): 84-91.