

Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Penurunan Kadar Histamin Pada Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

^{1*}Febryna Aurora Valent, ^{1,2}I Made Oka Adi Parwata, ^{1,2}Wiwik Susanah Rita

¹Program Studi Kimia FMIPA, Universitas Udayana, Bali-Indonesia

²Magister Kimia Terapan, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Denpasar, Bali-Indonesia

*Email: febryna.auroravalent@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman kelor merupakan suku Moringaceae yang telah menjadi obyek pada banyak penelitian karena mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, dan senyawa fenolik lain yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penurunan kadar histamin pada ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum ekstrak etanol daun kelor dan penentuan kadar total flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun kelor. Variasi konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan adalah 0%, 7%, 8%, 9%, 10%, dan 15% dengan lama perendaman selama 0, 30, 60, dan 90 menit. Kadar histamin diuji dengan alat *Biofish* dan hasilnya dianalisis dengan menggunakan *Two Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan yang berarti sebagai respon terhadap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak dan lama perendaman memiliki perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dan konsentrasi minimum ekstrak yang dapat menurunkan kadar histamin adalah 8%. Kadar total flavonoid pada ekstrak etanol daun kelor yang digunakan adalah 3177,11 mg/100 g QE.

Kata kunci: *Sardinella longiceps*, *Moringa oleifera*, histamin, flavonoid

ABSTRACT

Moringa plants are Moringaceae tribes that have been the object of many studies because they contain active compounds such as flavonoids, saponins, tannins, and other potentially antibacterial phenolic compounds. The aim of this research is to know the potency of moringa leaf ethanol extract (Moringa oleifera) to decrease histamine levels in lemuru fish (Sardinella longiceps). This study also aims to determine the minimum concentration of moringa leaf ethanol extract and the determination of total flavonoid content contained in ethanol extract of moringa leaf. Variations of ethanol extract concentration used were 0%, 7%, 8%, 9%, 10%, and 15% with soaking time for 0, 30, 60, and 90 min. Histamine levels were tested with a Biofish tool and the results were analyzed using Two Way ANOVA to determine the significant differences in response to the treatment. The results showed that variation of extract concentration and soaking time had significant difference ($P < 0,05$) and the minimum concentration of extract which could decrease histamine level was 8%. The total flavonoid content of moringa leaf ethanol extract used was 3177.11 mg/100 g QE.

Keywords: *Sardinella longiceps*, *Moringa oleifera*, histamine, flavonoids

PENDAHULUAN

Ikan lemuru merupakan sumber daya ikan pelagis yang mempunyai nilai ekonomis penting. Jenis ikan lemuru yang tertangkap di perairan Indonesia diantaranya adalah *Sardinella longiceps*, *S. aurita*, *S. leiogaster*, *S. sirm*, dan *S. clupeioides*. Ikan lemuru biasa mendiami daerah yang mengalami proses kenaikan massa air, hal ini bertujuan untuk

mencapai biomassa yang tinggi, sehingga perubahan lingkungan perairan mempunyai kontribusi yang besar terhadap kelangsungan hidup ikan lemuru (Burhanuddin *et. al.*, 1984). Tubuh ikan merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk maupun mikroba yang lain. Pada ikan lemuru terdapat beberapa bakteri merugikan yang menyebabkan turunnya kualitas ikan. Beberapa bakteri

tersebut adalah *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii*, dan *Escherichia coli* (Afrianto, 1989).

Bakteri *M. morganii* hidup pada golongan ikan schombroid dan memungkinkan terbentuknya histamin (*Schombroid poisoning*). Histamin dapat terbentuk akibat adanya perombakan histidin menjadi histamin oleh beberapa bakteri yang memiliki enzim histidin dekarboksilase. Histamin dapat menyebabkan alergi pada sebagian orang (Yuko *et. al.*, 2012). Perkembangan bakteri yang menyebabkan kerusakan pada ikan dapat ditekan dengan beberapa cara salah satunya dengan penambahan senyawa yang berpotensi sebagai bakterisida. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai bakterisida adalah kelor. Tanaman kelor merupakan suku Moringaceae yang telah menjadi obyek pada banyak penelitian karena sangat beragam kegunaannya (Vieira, 2010).

Moringa oleifera memiliki kandungan antioksidan diantaranya, saponin, alkaloid, fitosterol, tanin, fenolik dan flavonoid (Rajanandh *et. al.*, 2012). Menurut Bukar *et al.* (2010), daun kelor mempunyai senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Oluduro (2011), telah menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) mampu menghambat beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur *Aspergillus flavus*.

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa ikan lemuru memiliki beberapa bakteri yang dapat merusak dan menurunkan kualitas produk, seperti bakteri *Bacillus subtilis*, *M. morganii* dan *E. coli*, yang ditandai dengan naiknya kadar histamin pada ikan. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa daun kelor mampu menghambat beberapa jenis bakteri. Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian tentang potensi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penurunan kadar histamin pada ikan lemuru (*Sardinella longiceps*).

METODE

Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi persiapan alat dan bahan, serta persiapan daun kelor yang akan dijadikan ekstrak dan ikan lemuru yang akan diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun kelor.

Metode Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan ekstrak etanol daun kelor, yang mana ekstrak kental dihasilkan dari 250 g sampel serbuk daun kelor yang dimaserasi oleh 5000 mL etano 96%, kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dari ekstrak kental yang dihasilkan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam sampel daun kelor. Pada skrining fitokimia ini dilakukan uji untuk golongan flavonoid, alkaloid, dan saponin.

Pada penelitian ini dilakukan uji kandungan total flavonoid pada sampel ekstrak etanol daun kelor menggunakan metode $AlCl_3$, yang mana senyawa standar yang digunakan adalah quersetin. Larutan standar dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 0, 10, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Larutan uji dibuat dengan cara menimbang 0,1 g ekstrak kental etanol daun kelor kemudian diencerkan dengan etanol 50% sebanyak 5 mL. Campuran yang terbentuk kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk penentuan kadar flavonoid. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 500 μ L etanol 50% dengan 500 μ L $AlCl_3$. Larutan standar dan larutan uji diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 415 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai ordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (X). Kadar flavonoid dapat dihitung menggunakan persamaan (1) (Azizah *et. al.*, 2014):

$$F = \frac{c \times V \times fp \times 100\%}{m} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

F : jumlah flavonoid metode $AlCl_3$
c : kesetaraan Quersetin (mg/mL)
m : berat sampel (mg)
V : volume total ekstrak (mL)
fp : faktor pengenceran

Selanjutnya dilakukan pengujian kadar histamin pada ikan lemuru menggunakan alat *Biofish*, yang mana sebelumnya disiapkan 3 ikan lemuru dengan berat 150 g, lalu diberi perlakuan menggunakan ekstrak etanol daun kelor berkonsentrasi 0%, 10%, dan 15% dengan lama perendaman selama 0, 30, 60, dan 90 menit. Pada setiap variasi waktu, pengujian

kadar histamin dari masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan.

Pada uji konsentrasi minimum ekstrak etanol daun kelor yang mampu menurunkan kadar histamin ikan lemuru, digunakan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 7%, 8%, dan 9% dengan variasi lama perendaman 0, 30, 60, dan 90 menit, serta dilakukan 3 kali pengulangan dalam setiap pengujiannya.

Variabel Penelitian

Variabel dari penelitian kadar histamin yaitu penurunan kadar histamin pada ikan lemuru dengan pemberian ekstrak etanol daun kelor pada beberapa variasi konsentrasi dan lama perendaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak etanol daun kelor positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pandey *et. al.* (2012) dan Mboto *et. al.* (2009) yang menyatakan bahwa daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan senyawa fenolik lainnya.

Pada uji kandungan senyawa flavonoid, hasil positif ditunjukkan karena memberikan warna hijau kekuningan dengan pereaksi NaOH 10%, warna hijau merahan untuk uji dengan pereaksi Wilstatter, dan warna hijau kemerahan pada uji Bate Smith Metcalfe. Pada uji kandungan senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif karena terbentuk endapan putih pada pereaksi Mayer dan endapan coklat pada pereaksi Wagner. Positif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil saat

dilakukan pengocokan setelah ditambahkan akuades.

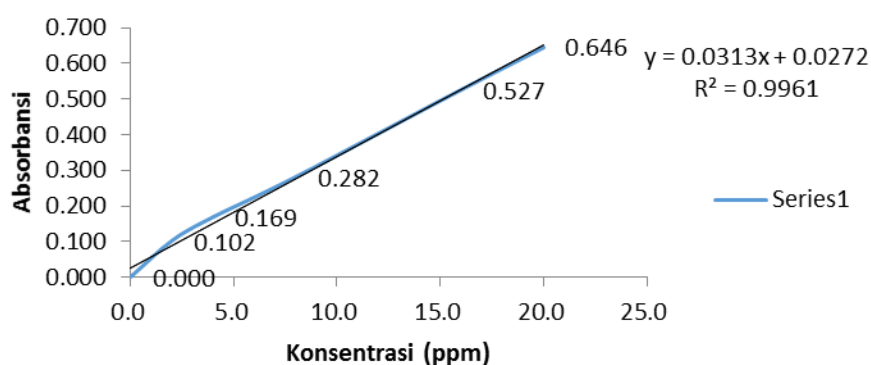
Penentuan Kandungan Total Flavonoid Metode $AlCl_3$

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar quersetin dapat dilihat pada Tabel 1. Dari absorbansi yang terdapat pada tabel tersebut dapat dihitung kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0313x + 0,0272$ dengan nilai koefisien kolerasi (R^2) = 0,9961. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil absorbansi dari larutan standar quersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0.000
10	0.102
20	0.169
40	0.282
80	0.527
100	0.646

Absorbansi untuk larutan uji ekstrak etanol daun kelor adalah 0,456. Absorbansi tersebut digunakan untuk mencari nilai kesetaraan dengan quersetin dengan cara memasukkan nilai absorbansi kedalam rumus regresi linear dan diperoleh konsentrasi sebesar 0,0137 mg/mL. Dari kesetaraan quersetin tersebut kemudian dapat dihitung nilai kandungan total flavonoid pada larutan uji dengan menggunakan persamaan (1) dan diperoleh hasil sebesar 3177,11 mg/100 g.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi

Uji Kadar Histamin

Pada hasil pengujian kadar histamin ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) diketahui bahwa kadar histamin berangsur-angsur menurun sesuai dengan tingginya konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan lamanya perendaman yang digunakan. Hasil dari uji kadar histamin dalam ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan kadar histamin pada ikan lemuru yang tidak diberi perlakuan, dan terjadi penurunan kadar histamin pada ikan lemuru dengan penambahan ekstrak berkonsentrasi 10% dan 15%. Hasil tersebut tidak terlepas dari peran senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun kelor.

Bahan aktif seperti flavonoid dan saponin yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kelor telah menghambat kerja dari bakteri pembentuk histamin pada ikan lemuru. Moussaoui *et al.* (2010) melaporkan bahwa flavonoid apigenin,

luteolin, apigenin 7-O-glukosida, dan apigenin-7-O-glukoronida yang berasal dari ekstrak *Launea resedifolia* (O.K.) memiliki aktivitas antibakteri yang potensial terhadap bakteri patogen *Morganella morganii* (Bakteri pembentuk histamin), *Streptococcus Sp.*, *Enterobacter Sp.*, dan *Proteus mirabilis*. Berkurangnya bakteri pembentuk histamin pada ikan lemuru menyebabkan terhentinya perombakan asam amino histidin pada ikan menjadi histamin oleh *L-histidine decarboxylase* (HDC), sehingga terjadi penurunan kadar histamin pada ikan.

Selanjutnya hasil pengujian kadar histamin dianalisis menggunakan uji *Two Way* ANOVA, dan dapat dinyatakan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan waktu perendaman memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) untuk menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru.

Tabel 2. Hasil pengujian kadar histamin dengan variasi konsentrasi dan waktu

Waktu Perendaman (Menit ke-)	Kadar Histamin Ikan Lemuru (mg/Kg)								
	Ekstrak 0%			Ekstrak 10%			Ekstrak 15%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	4	5	5	8	8	9	6	7	8
30	6	8	8	5	6	8	3	4	5
60	8	9	10	3	4	5	2	2	3
90	11	11	12	2	2	3	1	1	2

Keterangan : variasi ekstrak (0%, 10%, dan 15%)
lama perendaman (0, 30, 60, dan 90 menit)

Uji Konsentrasi Minimum Ekstrak Etanol Daun Kelor yang Dapat Menurunkan Kadar Histamin Pada Ikan Lemuru

Setelah diketahui bahwa ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi sebesar 10% dapat menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru, maka dibuatlah ekstrak dengan konsentrasi dibawah 10% untuk mencari konsentrasi minimum ekstrak etanol daun kelor yang mampu menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru. Pada penelitian ini dibuat larutan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 7%, 8%, dan 9%, serta variasi waktu yang digunakan adalah 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 3.

Pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 9%

dan 8% mampu menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru, namun pada konsentrasi 7% kadar histamin pada ikan berangsur-angsur meningkat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 8% yang menjadi konsentrasi minimum yang mampu menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru.

Selanjutnya hasil pengujian kadar histamin dianalisis menggunakan uji *Two Way* ANOVA, dan dapat dinyatakan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) untuk menurunkan kadar histamin pada ikan lemuru, namun waktu perendaman tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) dalam penurunan kadar histamin pada ikan lemuru.

Tabel 3 Hasil Pengujian Konsentrasi Minimum Ekstrak Etanol Daun Kelor

Waktu Perendaman (Menit ke-)	Kadar Histamin Ikan Lemuru (mg/Kg)								
	Ekstrak 7%			Ekstrak 8%			Ekstrak 9%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	5	6	6	5	6	7	6	7	7
30	6	7	7	4	5	6	5	6	6
60	6	8	8	3	5	5	4	5	5
90	7	8	9	2	4	4	3	4	5

Keterangan : variasi ekstrak (7%, 8%, dan 9%)
lama perendaman (0, 30, 60, dan 90 menit)

KESIMPULAN

Terjadi kenaikan kadar histamin pada ikan lemuru yang tidak diberi perlakuan (konsentrasi ekstrak 0%), dan terjadi penurunan kadar histamin pada ikan lemuru dengan penambahan ekstrak berkonsentrasi 10% dan 15%. Konsentrasi 8% merupakan konsentrasi minimum ekstrak etanol daun kelor yang mampu menurunkan kadar histamine pada ikan lemuru. Kandungan total flavonoid dari ekstrak etanol daun kelor dengan menggunakan metode $AlCl_3$ adalah 3,1771% atau 3177,11 mg/100 g QE.

TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Drs. I Made Dira Swantara, M.Si., Dr. Drs. Manuntun Manurung, M.S., Dra. Ida Ayu Raka Asiti Asih, M.Si., serta kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian dan penerbitan jurnal ini.

REFERENSI

- Afrianto, E., dan Liviawaty, E. (1989). Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Yogyakarta : Kanisius.
- Azizah, D.N., Kumolowati, E., Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Total Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*). Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi., 2(2), 45-49.
- Bukar, A., Uba, T.I., and Oyeyi. (2010). Antimicrobial Profile of *Moringa oleifera lam.* Extracts Against Some Food – Borne Microorganisms. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences., 3(1), 43-48.
- Burhanuddin, M.H., Martosewoyo, S., Djamali, A. (1984). Beberapa aspek biologi ikan lemuru (*Sardinella sirm*) di perairan Panggang. Prosiding Seminar Perikanan Lemuru. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Hlm 312.
- Mboto, C. I., Eja, M. E., Adegoke, A. A., Iwaat, G. D., Asikong, B. E., Takon, I., Udo, S. M., and Akeh, M. (2009). Phytochemical Properties and Antimicrobial Activities of Combined effect of Extracts of the Leaves of *Garcinia kola*, *Vernonia amygdalina* and Honey on Some Medically Important Microorgnisms. Sfr. J. Microbiol., 3(9), 557-559.
- Moussaoui, F., Zellagui, A., Segueni, N., Touil, A., and Rhouati, S. (2010). Flavonoid Constituents from Algerian *Launaea resedifolia* (O.K.) and Their Antimicrobial Activity. Rec. Nat. Prod., 4(1), 91-95.
- Oluduro, and Anthonia, O. (2011). Evaluation of Antimicrobial Properties and Nutritional Potentials of *Moringa oleifera* Lam. Leaf in South-Western Nigeria. Malaysian Journal of Microbiology., 8, 59-60.
- Pandey, A., Pandey, R.D., Tripathi, P., Gupta, P.P., Haider, J., Bhatt, S., and Singh, A.V. (2012). *Moringa oleifera* Lam. (Sahijan) - A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Retrospection. J. Medicinal Aromatic Plants., 1(1), 1-8.
- Rajanandh, M., Satishkumar, M., Elango, K., and Suresh, B. (2012). *Moringa oleifera Lam.* A Herbal Medicine for Hyperlipidemia: A pre-clinical Report. Department of Pharmacology. India : J.S.S University.

- Vieira, G.H.F. (2010). Antibacterial effect (in vitro) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negatif bacteria. J. Inst. Med. Trop de Sao Paulo., 52(3), 32-129.
- Yuko, T., Hajime, T., Takashi, K., Bon, K. (2012). Analysis of The Growth of Histamine Producing Bacteria and Histamine Accumulation in Fish During Storage at Low Temperatures. J. Food Control., 26(1), 174-177.