

PEMBENTUKAN FORMALDEHID ALAMI PADA BEBERAPA JENIS IKAN LAUT SELAMA PENYIMPANAN DALAM ES CURAI

Natural Development of Formaldehyde on Some Kinds of Seawater Fish during Storage in Crushed Ice

Jovita Tri Murtini^{1*}, Rudi Riyanto¹, Nandang Priyanto¹, dan Irma Hermana¹

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. K.S. Tubun Petamburan VI, Jakarta Pusat, Indonesia

* Korespondensi Penulis: jovita.tri@gmail.com

Diterima: 8 Agustus 2014; Disetujui: 7 November 2014

ABSTRAK

Penelitian kadar formaldehid alami pada beberapa jenis ikan laut selama penyimpanan dalam es curai telah dilakukan untuk mengetahui intensitas pembentukan formaldehid alami oleh ikan setelah mati. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk menduga kemungkinan dilakukannya penyalahgunaan formalin pada ikan. Penelitian dilakukan terhadap ikan laut hidup yang terdiri dari 6 jenis ikan yaitu bawal bintang (*Trachinotus blochii*), kakap putih (*Lates calcarifer, bloch.*), cobia (*Rachycentron canadum*), bandeng (*Chanos chanos*), kerapu cantrang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*), dan kakap merah/jenaha (*Lutjanus johnii*). Pengambilan sampel di lapangan dilakukan secara bertahap dan setiap pengambilan terdiri dari dua jenis ikan. Ikan tersebut dibawa ke laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) dalam keadaan hidup, kemudian ikan dimatikan dengan cara hipotermal (dimasukkan dalam air es dengan suhu 0–4°C selama 30 menit). Setelah mati ikan dibagi menjadi 3 kelompok dan disimpan dalam peti insulasi yang berisi es dengan perbandingan ikan : es adalah 1 : 3. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 18 hari. Parameter yang diamati adalah kadar formaldehid, trimetil amin (TMA), trimetil amin oksida (TMAO) dan kadar *total volatile base* (TVB) serta komposisi proksimat pada hari pertama. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan formaldehid alami pada hari ke 12 penyimpanan pada bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah, dan kerapu cantrang berturut-turut adalah 0.954; 1.572; 0.964; 0,715; 1.381; dan 1.303 ppm. Pada saat itu kondisi ikan masih segar dengan kandungan TVB di bawah 20 mN% kecuali ikan cobia (28,94 mgN%). Kandungan TMA berkisar 6,09–11,81 mgN% dan TMAO 3,22–11,3 mgN% dan selama penyimpanan cenderung meningkat.

KATAKUNCI: formaldehid, TMA, TMAO, TVB

ABSTRACT

Research on the development of natural formaldehyde on some kinds of seawater fish during storage in crushed ice has been done to know the intensity of formaldehyde produced naturally by the fish after death. This research was carried out on live marine fish consisting of 6 species i.e. star pomfret (*Trachinotus blochii*), barramundi (*Lates calcarifer, bloch.*), cobia (*Rachycentron canadum*), milk fish (*Chanos chanos*), grouper (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*), and red snapper/jenaha (*Lutjanus johnii*). Field sampling is done in different occasions and at each occasion two kinds of fish were sampled. The live fish were brought to the Research and Development Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology (BBP4BKP) laboratory, then the fish were killed by hypothermal method (put in ice water at 0–4 °C for 30 minutes). Then the fish were divided into 3 groups and stored in a coolbox filled with ice with the ratio fish and ice of 1 : 3. Observations were made every 3 days for 18 days. The parameter analyzed were formaldehyde, trimethylamine (TMA), trimethylamine oxide (TMAO), and total volatile base (TVB) content while proximate composition was assessed at the first day. Result of the experiment showed that the content of natural formaldehyde on day 12 of star pomfret, barramundi, cobia, milk fish, red snapper and grouper were 0.954; 1.572; 0.964; 0,715; 1.381; 1.303 ppm, respectively. At that time the fish was still fresh with TVB content of below 20 mgN% (except cobia which was 28,94 mgN%). The TMA content ranged between 6,09–11,81 mgN% and the TMAO ranged at 3.22–11,3 mgN% and tended to increase during storage.

KEYWORDS: formaldehyde, TMA, TMAO, TVB

PENDAHULUAN

Ikan merupakan bahan makanan yang sangat mudah mengalami kerusakan sehingga memerlukan penanganan yang khusus untuk mempertahankan mutunya. Jika tingkat kesegaran ikan sudah mulai menurun atau jika ikan tidak cepat diolah, maka akan mempengaruhi mutu produk olahan yang dihasilkan dan produk akan lebih cepat mengalami proses pembusukan (Rahayu *et al.*, 1992). Pengawetan yang paling aman adalah menggunakan es sehingga suhu ikan dapat dipertahankan di bawah 4 °C. Pada prakteknya penggunaan es sering tidak dilakukan karena harus menambah biaya untuk mengadakan es tersebut. Oleh karena itu, nelayan sering menggunakan pengawet yang lain agar ikan tetap segar, salah satu contoh pengawet yang sering disalahgunakan adalah formalin. Formalin ini sangat membahayakan kesehatan konsumen, karena formalin ini termasuk senyawa berbahaya dalam kategori karsinogen yang dapat menyebabkan kanker dan penyakit lain (OSHA dan EPA *dalam* Hesis, 2011).

Penggunaan formalin sebagai bahan tambahan makanan telah dilarang sejak tahun 1988, melalui Peraturan Menteri Kesehatan RI No.: 722/Menkes/Per/IX/1988 tentang bahan tambahan makanan, yang diperbaharui melalui Peraturan Menteri Kesehatan RI No.: 1168/Menkes/Per/X/1999. Dalam peraturan ini kandungan formalin pada pangan harus nol, sementara setelah mati ikan akan memproduksi formaldehid secara alami. Fakta bahwa formaldehid dapat terbentuk secara alami pada ikan (Satelo *et al.*, 1995; Yasuhara & Shibamoto., 1995; Tunhun *et al.*, 1996; Riyanto *et al.*, 2006; Rachmawati *et al.*, 2007; Murtini *et al.*, 2013) mengindikasikan perlunya penafsiran tentang penetapan kandungan formalin (formaldehid) dalam peraturan yang ditetapkan. *Zero tolerance* yang diwajibkan dalam peraturan bukan *zero tolerance* kandungan formaldehid tapi *zero tolerance* formaldehid yang sengaja ditambahkan karena dalam kenyataannya formaldehid dapat terbentuk selama proses kemunduran mutu ikan.

Pada waktu mendeteksi kandungan formaldehid pada ikan, formaldehid yang terdeteksi adalah formaldehid total yang berasal dari formaldehid yang ditambahkan dan formaldehid alami. Pembentukan formaldehid alami dapat berlangsung selama proses pembusukan, makin busuk ikan, makin tinggi kandungan formaldehid alaminya padahal formaldehid yang ditambahkan tidak dapat dibedakan dengan formaldehid alami dalam pengujian. Sebetulnya dengan analisis dimetilamine (DMA) maka dapat diprediksi apakah formaldehid yang ada merupakan formaldehid yang dihasilkan secara alami atau formaldehid yang sengaja ditambahkan, akan tetapi

sudah lama standar DMA itu tidak diproduksi lagi sehingga analisis kandungan DMA tidak dapat dilakukan.

Secara alamiah formaldehid pada ikan terbentuk melalui reaksi reduksi trimetilamin oksida (TMAO) menjadi formaldehid secara enzimatik dengan hasil samping dimetilamin/DMA (Satelo *et al.*, 1995). TMAO seperti kebanyakan metilamin berasal dari derivat trimetilamonium dari grup kolin, sementara kolin sendiri dalam ikan akan dioksidasi lebih lanjut menjadi trimetilamin (TMA) oleh bakteri yang ada dalam usus hewan laut. TMA akan terakumulasi dalam ikan busuk sebagai hasil degradasi bakteri kolin serta pemecahan TMAO ke TMA (Seibel & Walsh, 2002). Semua basa-basa volatil (yang terdeteksi sebagai TVBN), TMAO, TMA, DMA, dan formaldehid merupakan senyawa-senyawa yang muncul sebagai hasil penguraian daging ikan baik oleh bakteri ataupun enzim (Wakelam *et al.*, 1993 *dalam* Seibel & Walsh, 2002).

Sedikitnya informasi hasil penelitian yang mengkaji intensitas pembentukan formaldehid secara alami selama proses pembusukan ikan menjadikan sulitnya pendugaan apakah formaldehid merupakan hasil metabolisme secara alami atau ditambahkan secara sengaja. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan formaldehid alami yang dapat terbentuk pada beberapa jenis ikan laut sehingga diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan masukan bagi kebijakan pengaturan formaldehid yang diijinkan pada produk perikanan.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian yang digunakan adalah enam jenis ikan laut hidup yaitu bawal bintang (*Trachinotus blochii*), kakap putih (*Lates calcarifer, bloch.*), cobia (*Rachycentron canadum*), bandeng (*Chanos chanos*), kerapu cantrang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*), dan kakap merah/jenaha (*Lutjanus johnii*). Ikan hidup diperoleh dari Pulau Seribu (Pulau Kelapa) dan Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya Karawang, Jawa Barat. Pengambilan sampel di lapangan dilakukan secara bertahap dan setiap pengambilan terdiri dari dua jenis ikan. Berat ikan yang digunakan berturut-turut sebagai berikut : bawal bintang 486,67±23,09 g, kakap putih 490,00±10,00 g, cobia 1320,00±132,29 g, bandeng 191,67±11,05 g, kerapu cantrang 361,67±12,58 g dan kakap merah 410,00±10,00 g per ekor. Ikan dibawa ke laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) dengan cara dikemas dalam kantong plastik yang berisi air dan

oksigen kemudian dimatikan dengan cara hipotermal (dimasukkan dalam air es dengan suhu di bawah 4 °C selama 30 menit), setelah mati ikan dibagi 3 kelompok sebagai ulangan kemudian disimpan di dalam peti insulasi yang berisi es curai secara berlapis dengan perbandingan ikan dan es 1:3. Parameter yang dianalisis adalah kadar formaldehid (Siang, N C., 1992), kadar TMA (metode Conway), kadar TMAO (metode Conway) dan kadar TVB (metode Conway). Pada hari pertama dilakukan analisis komposisi proksimat (kadar air menurut SNI 01-2354.2-2006 (BSN, 2006a), kadar abu menurut SNI 01-2354.1-2006 (BSN, 2006b), kadar protein menurut SNI 01-2354.3-2006 (BSN, 2006c) dan kadar lemak menurut SNI 01-2354.4-2006 (BSN, 2006d)). Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 18 hari. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan data dianalisis secara statistik dengan *analysis of varian (anova)* kemudian diteruskan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada ikan setelah mati segera terjadi perubahan-perubahan mutu yang mengarah pada kebusukan yang disebabkan oleh aktivitas enzim, biokimia, fisik dan mikrobiologi. Hal-hal lain yang menyebabkan kebusukan pada ikan adalah proses yang merupakan penguraian lemak dan proses oksidasi, serta kerusakan fisik ikan pada saat ditangkap. Komposisi kimia dari ikan sangat penting dalam menunjang kesehatan manusia (Chalamaiah et al., 2012). Hasil analisis kandungan nutrisi enam jenis ikan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa daging ikan yang memiliki kadar air paling rendah (67,90%) adalah ikan bawal bintang sedangkan yang tertinggi (78,91%) adalah ikan kakap putih, sedangkan kadar abu berkisar 1,20–1,72% dan kadar protein berkisar 18,93–22,62%. Kadar lemak bawal bintang (10,81%) paling tinggi di antara ke enam jenis ikan, dan dari kadar lemaknya maka bawal bintang termasuk ikan berlemak tinggi. Pada ikan keberadaan beberapa senyawa yang ada di dalam daging seperti senyawa nitrogen non-protein, seperti *trimethylamine-oxide* (TMAO), kreatinin, metionin, asam lemak bebas, sistin, histamin, serta karnosin, dan senyawa basa nitrogen volatil seperti urea merupakan faktor dominan yang ikut menentukan pertumbuhan mikroorganisme yang menyebabkan kebusukan ikan selama penyimpanan (Huss, 1994; Huss, 1995).

Kandungan formaldehid pada enam jenis ikan selama penyimpanan pada es curai disajikan pada Gambar 1. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perubahan kandungan formaldehid yang terbentuk pada penyimpanan dalam es berbeda nyata ($p < 0,05$) setelah 6 hari untuk kerapu cantrang, 9 hari untuk kakap putih dan kakap merah, 15 hari untuk bawal bintang dan bandeng, dan 18 hari untuk ikan cobia, bandeng, bawal bintang, dan kakap putih. Pada hari ke nol hingga 12 hari penyimpanan kandungan formaldehid ikan bawal bintang berbeda nyata dengan kakap putih ($p < 0,05$), sedangkan pada akhir penyimpanan hari ke 18 bawal bintang berbeda nyata dengan kakap merah ($p < 0,05$). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kandungan lemak yang sangat tinggi antara ikan bawal bintang (>10%) dengan ikan yang lainnya (<4%), yang mengakibatkan kandungan formaldehid menjadi jauh berbeda.

Tabel 1. Komposisi proksimat ikan kakap putih, bawal bintang, cobia, bandeng, kakap merah, dan kerapu cantrang

Table 1. Proximate composition of barramundi, star pomfret, cobia, milk fish, red snapper and grouper

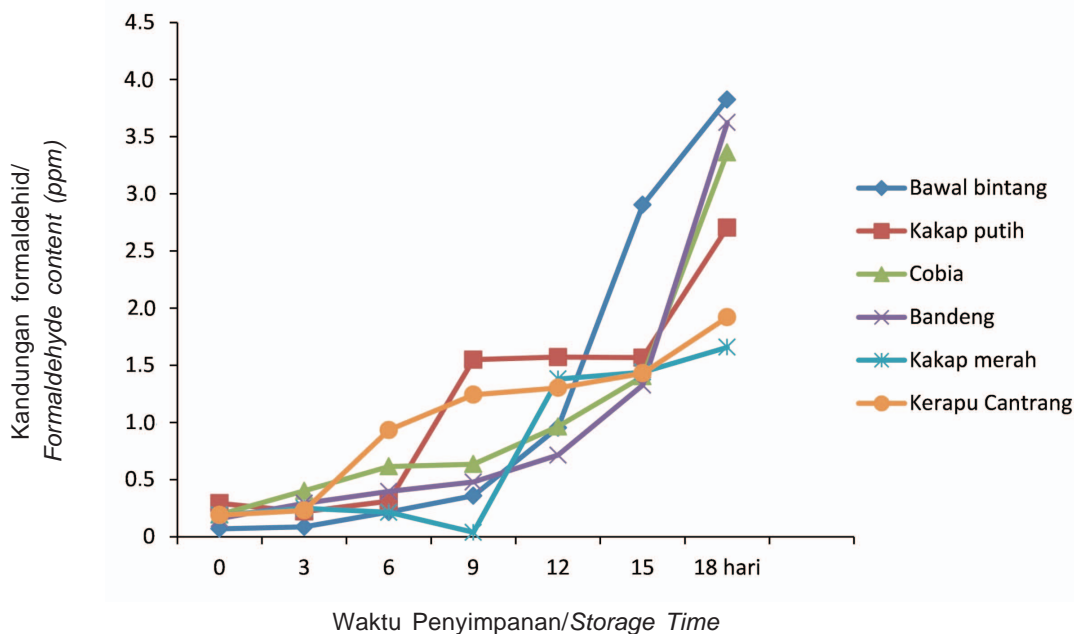
No	Jenis Ikan/Kinds of Fish	Kadar Air/ Moisture Content	Kadar Abu/ Ash Content	Protein (%)	Lemak/Fat (%)
1	Kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>)	78.91	1.12	19.90	0.84
2	Bawal bintang (<i>Trachnotu blochii</i>)	67.90	1.62	20.67	10.81
3	Cobia (<i>Rachycetruon canadum</i>)	75.50	1.52	18.76	4.32
4	Bandeng (<i>Chanos-chanos</i>)	73.23	1.53	22.62	2.53
5	Kakap merah (<i>Luchanus johnii</i>)	75.04	1.72	21.21	1.50
6	Kerapu cantrang (<i>Epinephelus fuscoguttatus - lanceolatus</i>)	77.18	1.20	18.93	2.40

Kandungan lemak daging berkorelasi langsung dengan total mikrobial yang tumbuh pada daging ikan. Pada tahapan tertentu dari proses pembusukan mikrobial, enzim lipase diproduksi dalam jumlah banyak yang lebih lanjut enzim tersebut akan memecah lemak menjadi asam lemak bebas, gliserol, dan senyawa lain. Kemungkinan penguraian lebih lanjut asam amino bebas menjadi kolin yang kemudian diuraikan menjadi TMAO oleh enzim dehidrogenase, dan berlanjut pada pembentukan formaldehid dan DMA akibat penguraian TMAO secara enzimatik (Yuliana, 2007 dalam Susanti, 2013). Hal ini kemungkinan merupakan jalur pola pembentukan formaldehid yang menjadi sebab mengapa kandungan formaldehid alami pada ikan dengan kadar lemak yang tinggi cenderung lebih tinggi pula dibandingkan dengan ikan yang berkadar lemak rendah (Noordiana *et al.*, 2011).

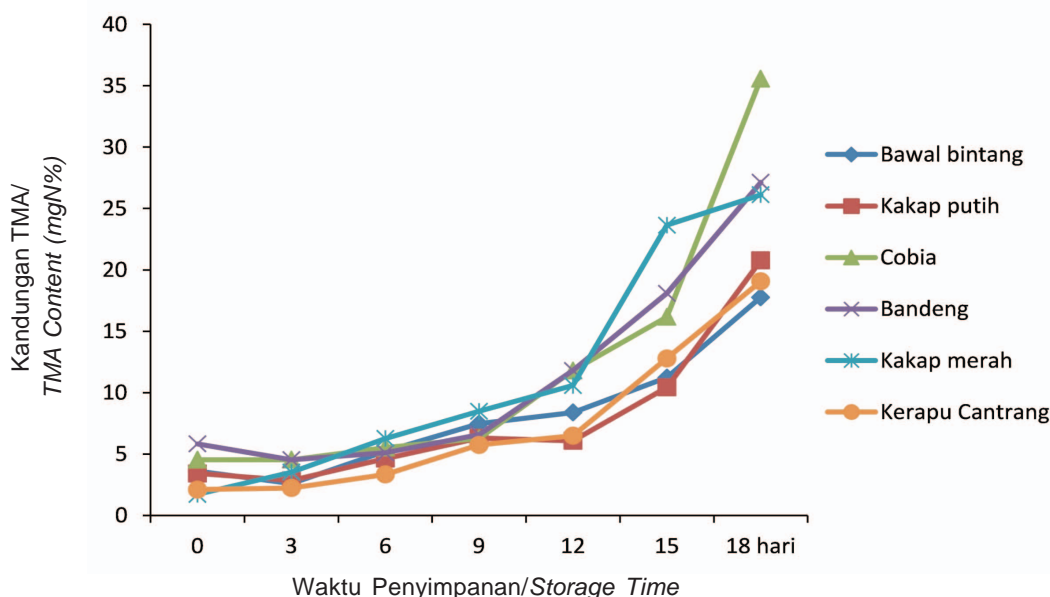
Gambar 1 menunjukkan bahwa kandungan formaldehid ikan yang disimpan pada es curai pada hari ke 12 untuk bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah dan kerapu cantrang berturut-turut adalah 0,954; 1,572; 0,964; 0,715; 1,381; dan 1,303 ppm. Pada saat itu, kondisi ikan masih cukup segar dilihat dari nilai TVB daging ikan yang masih di bawah 20 mgN% kecuali untuk ikan cobia yang nilai TVB-nya telah mencapai 28,94 mgN%. Efektifitas penggunaan suhu dingin dalam menghambat penurunan mutu ikan dapat terlihat dari kandungan formaldehid yang terbentuk masih dalam level yang

rendah pada penyimpanan hari ke 12, hal ini disebabkan karena aktivitas enzim yang menguraikan TMAO sedikit terhambat karena penggunaan suhu dingin. Formaldehid meningkat tajam setelah penyimpanan hari ke 15. Hal tersebut mungkin disebabkan kandungan mikroba pembusuk sudah dalam jumlah yang cukup optimal untuk melakukan perombakan daging ikan secara maksimal sehingga laju pembentukan formaldehid juga meningkat. Selain itu, perombakan daging ikan juga dapat terjadi karena hasil kerja enzim autolitik yang memecah *trimethylamine-oxide* (TMAO) menjadi *dimethylamine* (DMA) dan formaldehid (FA), yang menyebabkan tekstur ikan menjadi kaku, kering, dan keras (Huss, 1995). *World Health Organization* (WHO) menginformasikan bahwa kandungan formaldehid bervariasi tergantung produk makanannya. Pada produk ikan kandungan formaldehid alami yang dapat terdeteksi pada ikan bervariasi dari konsentrasi 1-98 ppm (*World Health Organization*, 1989).

Hasil pengujian TMA pada enam jenis ikan selama penyimpanan pada es curai disajikan pada Gambar 2. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa kandungan TMA meningkat selama penyimpanan dingin, hal ini seiring dengan meningkatnya kandungan TVB. Pembentukan TMA terjadi melalui beberapa tahapan, pertama terjadinya oksidasi kolin oleh bakteri yang memotong gugus *trimethylammonium* dari kolin sehingga terbentuk *trimethylamine-oxide* (TMAO). TMAO yang terbentuk lalu secara enzimatik mengalami reaksi



Gambar 1. Kandungan formaldehid (ppm) berbagai jenis ikan selama penyimpanan dalam es curai.
 Figure 1. Formaldehyde content (ppm) of various kinds of fish during storage in crushed ice.



Gambar 2. Kandungan TMA (mgN%) berbagai jenis ikan selama penyimpanan dalam es curai.
 Figure 2. TMA content (mgN%) of various kinds of fish during storage in crushed ice.

reduksi membentuk TMA. TMA merupakan senyawa yang memberikan karakteristik bau amis (*fishy*) dari ikan (Satelo *et al.*, 1995; Hesis, 2011).

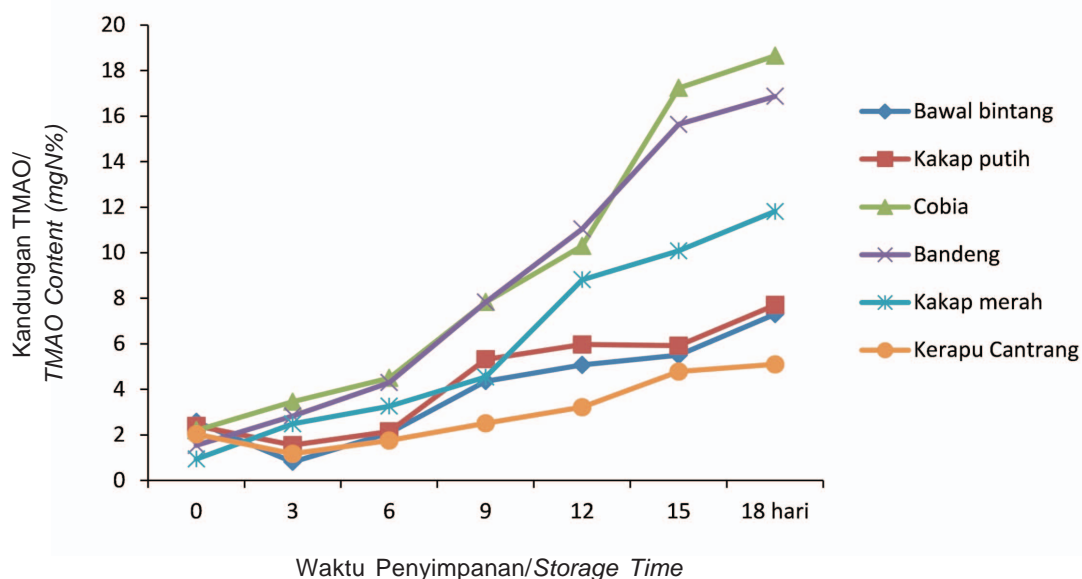
Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kandungan TMA pada hari ke 0 sampai hari ke 18 penyimpanan bawal bintang tidak berbeda nyata dengan kakap putih tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan ke 4 jenis ikan lainnya (kerapu cantrang, cobia, bandeng, kakap merah). Kandungan TMA ikan yang disimpan pada suhu dingin pada hari ke 12 untuk bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah dan kerapu cantrang berturut-turut 8,39; 6,09; 11,81; 11,81; dan 6,50 mgN%.

TMA ini merupakan bagian dari TVB oleh sebab itu kandungan TMA selalu lebih rendah dari TVB. TMA ini merupakan hasil dari reduksi TMAO oleh enzim. Pada kasus pembusukan ikan, mikroorganisme memanfaatkan atom oksigen yang disumbangkan oleh TMAO dalam kondisi *anaerob* dan mengakibatkan peningkatan pembentukan TMA (Adams & Moss, 2008). Jenis mikroba yang berperan pada proses pembusukan ikan sebagian besar terdiri dari bakteri gram-negatif dari jenis *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Shewanella*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Flavobacterium* dan *Cytophaga*. Jenis mikroba pembusuk *aerob* dari ikan yang disimpan di es terdiri terutama dari jenis *Pseudomonas spp.* dan *Shewanella putrefaciens* (Levin, 1968; Gram *et al.*, 1987).

Secara alamiah formaldehid pada ikan terbentuk melalui reaksi reduksi trimetilamin oksida (TMAO) menjadi formaldehid secara enzimatis dengan hasil samping dimetilamin atau DMA (Satelo *et al.*, 1995).

Pemecahan TMAO menjadi formaldehid dan DMA terjadi karena adanya enzim TMAase. Apabila yang bekerja untuk pemecahan TMAO adalah bakteri maka hanya akan terbentuk trimetilamin (TMA). Bila penyimpanan ikan dilakukan pada suhu ruang, pemecahan oleh bakteri lebih dominan dibandingkan pemecahan karena aktivitas enzim. Sedangkan bila penyimpanan ikan dilakukan pada suhu dingin aktivitas bakteri sedikit terhambat dan aktivitas enzim untuk memecah TMAO menjadi lebih tinggi (Yasuhara & Shibamoto, 1995; Tunhun *et al.*, 1996). Hal ini yang menjadikan nilai TMA tetap meningkat selama penyimpanan karena meskipun aktivitas bakteri untuk memecah TMAO terhambat, tapi pemecahan TMAO secara enzimatis tetap berlangsung.

Pembentukan formaldehid alami dapat berlangsung selama proses pembusukan, semakin busuk ikan maka semakin tinggi kandungan formaldehid alaminya. Sebetulnya dengan melakukan analisis dimetilamin (DMA) dapat diketahui perbedaan antara formaldehid yang dihasilkan oleh metabolisme ikan dengan formaldehid yang sengaja ditambahkan, akan tetapi standar DMA sudah tidak diproduksi lagi sehingga analisis kandungan DMA tidak dapat dilakukan. Karena pemecahan TMAO menjadi formaldehid dan DMA disebabkan oleh enzim TMAase yang lebih dominan dalam penyimpanan suhu dingin (Yasuhara & Shibamoto, 1995; Tunhun *et al.*, 1996), maka sama halnya dengan TMA, kandungan formaldehid juga meningkat selama penyimpanan. Selama masa penyimpanan dingin, dekomposisi TMAO pada ikan dan hasil laut lainnya akan



Gambar 3. Kandungan TMAO (mgN%) berbagai jenis ikan selama penyimpanan dalam es curai.
 Figure 3. TMAO content (mgN%) of various kinds of fish during storage in crushed ice.

menghasilkan TMA, DMA, dan formaldehid (Puspitasari, 2012).

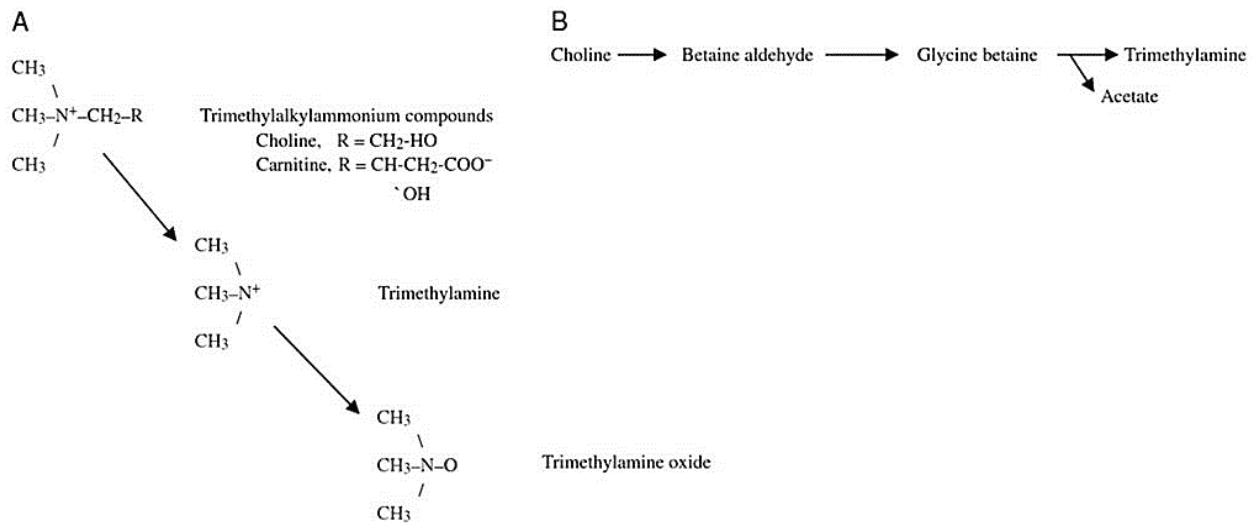
Data pengukuran TMAO pada enam jenis ikan selama penyimpanan pada es curai disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada penyimpanan hari ke nol hingga hari ke 12 kandungan TMAO bawal bintang tidak berbeda nyata dengan kakap putih, tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dari ke 4 jenis ikan lainnya (kerapu cantrang, cobia, bandeng, kakap merah). Dari Gambar 3 terlihat bahwa kandungan TMAO ikan yang disimpan pada suhu dingin pada hari ke 12 untuk bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah dan kerapu cantrang berturut-turut adalah 5,07; 5,97; 10,30; 11,04; 8,81; dan 3,22 mgN%.

Berdasarkan grafik pada Gambar 3 terlihat bahwa TMAO juga mengalami peningkatan selama proses penyimpanan dalam es curai untuk keenam jenis ikan yang dicobakan. Senyawa TMAO ini selalu ada dalam ikan yang sudah mati maupun masih hidup dikarenakan adanya senyawa lipoprotein dalam ikan. Karena proses destruksi daging ikan pada suhu dingin juga dipengaruhi oleh adanya kerja enzim (Yasuhara & Shibamoto, 1995; Tunhun, *et al.*, 1996), maka dalam proses perombakan protein daging ikan senyawa lipoprotein sangat mungkin diuraikan menjadi kolin kemudian diuraikan menjadi TMAO oleh enzim dehidrogenase, kemudian direduksi menjadi TMA sebagai senyawa yang sebagian besar terdapat pada spesies ikan laut (Yuliana, 2007 dalam Susanti, 2013). Hal ini berarti selalu ada pembentukan TMAO dan TMA dengan proses yang berbeda selama masih

ada aktivitas enzim yang berlangsung. Kandungan TMAO selalu lebih kecil daripada TMA dikarenakan TMA dapat terakumulasi sedangkan TMAO adalah senyawa yang dapat pecah menjadi TMA karena aktivitas bakteri.

Senyawa TMAO seperti kebanyakan metilamin berasal dari derivat trimetilamonium dari grup kolin. Kolin dioksidasi menjadi trimetilamin oleh bakteri dalam usus hewan laut. Akumulasi TMA dalam ikan busuk merupakan akibat dari degradasi bakteri kolin, serta pemecahan TMAO ke TMA (Seibel & Walsh, 2002). Hidrolisis fosfatidilkolin oleh fosfolipase c dan d, kemungkinan juga merupakan sumber yang penting dari kolin bebas untuk sintesis TMAO (Wakelam *et al.*, 1993 dalam Seibel & Walsh, 2002). TMAO terdegradasi dengan adanya sistein dan indikator ion Fe menjadi formaldehid, DMA dan TMA (Suwetja, 2011).

Setelah ikan mati, TMAO akan terurai oleh enzim reduktase menjadi TMA yang dapat dilakukan oleh dua tipe enzim endogenous atau eksogenous. Kemudian TMA terurai lagi menjadi unsur-unsur yang lebih sederhana yaitu di metilamin, mono metilamin dan formaldehid. Selain itu juga terjadi reaksi antara asam formiat dan NADH sehingga terbentuk citokrom tipe c, yang akan membentuk TMAO reduktase. Enzim inilah yang mengkatalisis perombakan TMAO menjadi TMA. TMAO diubah menjadi TMA oleh aktivitas bakteri *Pseudomonas sp.*, *Achromobacter Lactobacilus* dan *Aeromonas sp.* Di sisi lain TMA adalah prekursor terbaik terbentuknya TMAO dengan adanya enzim monoksigenase (Suwetja, 2011) yang



Gambar 4. Diagram alur yang mungkin terjadi untuk pembentukan *trimethylamine* (TMA) dan *trimethylamine oxide* atau TMAO (Seibel & Walsh, 2002).

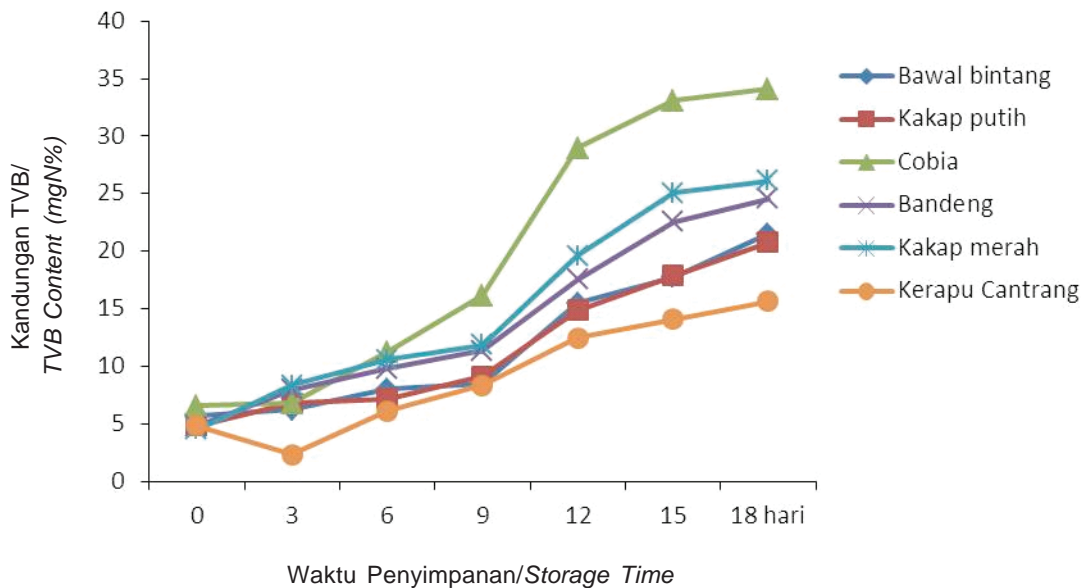
Figure 4. Diagram showing the possible pathways for *trimethylamine* (TMA) and *trimethylamine oxide* or TMAO production (Seibel & Walsh, 2002).

memungkinkan terjadinya reaksi balik pembentukan TMAO.

Aktivitas TMAOase sangat tinggi ditemukan di ginjal, limpa dan lambung dinding ikan cod. Ikan cod memiliki konsentrasi TMAO yang tinggi dalam jaringan otot. Begitu juga cumi-cumi (*cephalopoda*) mengandung TMAO yang sangat tinggi. Konsentrasi TMAO dan lipid berkorelasi dengan kedalaman habitat, musim ukuran, gaya hidup (Seibel & Walsh, 2002). TMAO dalam ikan berfungsi sebagai osmoregulasi

untuk mencegah dehidrasi pada lingkungan air laut (Puspitasari, 2012). Terbentuknya TMA dari penguraian senyawa lipoprotein menjadi kolin kemudian diuraikan menjadi TMAO oleh enzim dehidrogenase (Yuliana, 2007 dalam Susanti, 2013) memungkinkan menjadi penyebab kenapa kandungan TMAO juga meningkat selama proses penyimpanan sama dengan hasil pengamatan TMA, TVB, dan formaldehid.

Menurut Seibel & Walsh (2002), ada dua jalur yang mungkin terjadi untuk pembentukan *trimethylamine*



Gambar 5. Kandungan TVB (mgN%) berbagai jenis ikan selama penyimpanan dalam es curai.
Figure 5. TVB content (mgN%) of various kinds of fish during storage in crushed ice.

(TMA) dan *trimethylamine oxide* (TMAO). Jalur pertama adalah melalui perombakan senyawa *trimethylalkylammonium* (contohnya kolin) menjadi TMA oleh mikroba intestinal (Gambar 4 A). Jalur lain yang mungkin adalah konversi kolin menjadi glisin betain melalui betain aldehyd dan betain sebagian dikonversi menjadi TMA (Gambar 4 B). Pada kedua kasus tersebut TMA dioksidasi oleh trimetilamin oksigenase menjadi TMAO.

Pembentukan senyawa TVB pada ikan selama penyimpanan mengalami kenaikan di samping formaldehyd, TMAO dan TMA. Hal ini disebabkan karena selama proses kemunduran mutu ikan akan terbentuk basa-basa volatil (*volatile bases*) akibat dekomposisi protein oleh aktivitas bakteri dan enzim. TVB merupakan senyawa hasil degradasi protein yang menghasilkan sejumlah basa yang mudah menguap seperti amoniak, histamin, hidrogen sulfida, dan trimetilamin yang berbau busuk (Karungi *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2010). Kandungan TVB merupakan indikator pembusukan ikan, kadar 30 mgN% merupakan batas ikan untuk dinyatakan busuk (SNI 01-2729-1992). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kandungan TVB berbeda nyata ($p < 0,05$) pada penyimpanan hari ke 3 pada kakap merah, hari ke 6 pada cobia, hari ke 12 untuk kakap putih dan bandeng. Pada awal penyimpanan bawal bintang tidak berbeda nyata dengan cobia tetapi berbeda nyata dengan ke 4 jenis lainnya. Setelah penyimpanan hari 12 dan ke 18 bawal bintang berbeda dengan cobia. Kandungan TVB terus meningkat selama penyimpanan, hal ini disebabkan karena terjadinya kemunduran mutu atau pembusukan (Gambar 5).

Dari Gambar 5 terlihat bahwa kandungan TVB ke enam jenis ikan meningkat selama penyimpanan pada es curai, terutama ikan cobia setelah penyimpanan 9 hari meningkat dengan tajam dan pada hari ke 12 kandungan TVB sudah di atas 28 mgN%, yang menunjukkan sudah sangat mundur mutunya. Ke lima jenis ikan yang lainnya pada hari ke 12 penyimpanan es curai masih di bawah 20 mgN%. Pada penyimpanan hari ke 12 ke lima jenis ikan masih dalam keadaan segar dikarenakan kandungan TVB nya masih di bawah 20 mgN%. Kandungan TVB pada hari ke 12 untuk bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah dan kerapu cantrang berturut-turut adalah 15,47; 14,89; 28,94; 17,57; 19,59; dan 12,47 mgN%. Hal ini berarti ketahanan atau daya awet setiap jenis ikan berbeda-beda, ditunjukkan dari kandungan TVB yang terbentuk.

KESIMPULAN

Formaldehid pada ikan yang disimpan pada es curai tetap terbentuk selama proses penyimpanan

yang terlihat dari kecenderungan kenaikan jumlah formaldehyd yang terukur pada daging ikan. Kandungan formaldehyd alami yang disimpan pada es curai pada hari ke 12 untuk bawal bintang, kakap putih, cobia, bandeng, kakap merah dan kerapu cantrang berturut-turut adalah 0,954; 1,572; 0,964; 0,715; 1,381; dan 1,303 ppm. Pada saat ini kondisi ikan masih segar dengan kandungan TVB di bawah 20 mN% kecuali ikan cobia 28,94.mgN%. Kandungan TMA berkisar 6,09–11,81 mgN%, TMAO 3,22–11,3 mgN%, dan TVB 4,80–28,94 mgN%, dan selama penyimpanan ketiganya cenderung meningkat.

Nilai TMAO juga meningkat selama proses penyimpanan pada es curai. Terbentuknya TMA dari penguraian senyawa lipoprotein menjadi kolin kemudian diuraikan menjadi TMAO oleh enzim dehidrogenase dapat menjadi penyebab mengapa kandungan TMAO juga meningkat selama proses penyimpanan sama dengan hasil pengamatan TMA, TVB, dan formaldehyd. Hal ini juga senada dengan hasil penelitian lain yang menyatakan bahwa pada beberapa ikan kandungan TMAO sangat tinggi seperti pada ikan cod dan cumi-cumi. Adanya kemungkinan pembentukan TMAO dari sumber kolin mungkin dapat menjadi dasar fakta tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.M. & Moss, O.M. (2008). *Food Microbiology*, 3rd edn. University of Surrey, Guildford (UK): RSC publishers. p. 139-145.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2006a). *Cara Uji Kimia-Bagian 2 : Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan*. No. SNI 01-2354.2-2006. Badan Standarisasi Nasional. 4 pp.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2006b). *Cara Uji Kimia-Bagian 1 : Penentuan Kadar Abu pada Produk Perikanan*. No. SNI 01-2354.1-2006. Badan Standarisasi Nasional. 4 pp.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2006c). *Cara Uji Kimia-Bagian 4 : Penentuan Kadar Protein dengan Metode Total Nitrogen pada Produk Perikanan*. No. 01-2354.4-2006. Badan Standarisasi Nasional. 4 pp.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2006d). *Cara Uji Kimia-Bagian 3 : Penentuan Kadar Lemak Total pada Produk Perikanan*. No. 01-2354.3-2006. Badan Standarisasi Nasional. 6 pp.
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–38. doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.100
- Gram, L., Trolle, G. & Huss, H.H. (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 4 : 65–72.

- Hesis. (2011). *Formaldehyde*. Hazard Evaluation System & Information Service. California Departement of Public Health. California Departement of Industrial Relation. Diakses pada tanggal 10 Mei 2013.
- Huss, H.H. (1994). *Assurance of Seafood Quality*. FAO Fisheries Technical paper. 334 pp.
- Huss, H.H. (eds) (1995). *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. FAO Fisheries Technical Paper, no. 348., FAO, Rome, Italy. 195 pp.
- Karungi, C., Byaruhanga Y.B., & Moyunga J.H. (2003). Effect of pre-icing duration on quality deterioration of iced perch (*Lates niloticus*). *J Food Chemistry*. 85: 13–17.
- Kementerian Kesehatan. (1999). *Peraturan Menteri Kesehatan: 1168/MENKES/PER/X/1999 Tentang : Perubahan Atas No : 722/MENKES/PER/IX/1988 Tentang : Bahan Tambahan Makanan*.
- Levin, R.E. (1968). Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. 1. Methodology. *Appl. Microbiol.* 16: 1734–1737.
- Liu S., Fan W., Zhong S., Ma C., Li P., Zou K., Peng Z., & Zhu M. (2010). Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0° C based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*. 9(5): 692–701.
- Murtini, J.T., Poernomo, A., Indriati, N., Riyanto, R., Priyanto, N., Hermana, I., & Putri, A.K. (2013). Laporan Teknis TA 2013 *Kajian Keamanan Produk Perikanan dari Cemaran dan Penggunaan Bahan Berbahaya serta Pengembangan Metode Uji*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 44 p
- Noordiana, N., Fatimah, A.B., & Farhana Y.C.B. (2011). Formaldehyde content and quality characteristics of selected fish and seafood from wet markets. *International Food Research Journal*. 18: 125–136.
- Puspitasari, SAP. (2012). *Pengawetan Suhu Rendah pada Ikan dan Daging*. Skripsi. Ilmu Gizi Fakultas kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang. 27 pp.
- Rachmawati, N., Riyanto, R., & Ariyani, F. (2007). Pembentukan formaldehid pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) selama penyimpanan pada suhu kamar. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2(2): 137–143
- Rahayu, WPS., Ma'oen, Suliantari, & Fardiaz, S. (1992). *Bahan pengajaran teknologi fermentasi produk perikanan*. Departemen P dan K. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB, Bogor. p. 5–12.
- Riyanto, R., Kusmarwati, A., & Dwiyoitno. (2006). Pembentukan formaldehid pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) selama penyimpanan suhu dingin. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2): 111–116
- Satelo, CG., Pineiro, C., & Peres-Martin, RI. (1995). *Denaturation of fish protein during frozen storage : role of formaldehyde*. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*. 200: 14–23
- Seibel, B.A. & Walsh, P.J. (2002). Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage. *The Journal of Experimental Biology*. The Company of Biologists Limited 2002. 306: 297–306.
- Siang, N.C. 1992. Determination of Formaldehyde in Fish Meat using Nash'S Reagent In Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. 2nd Edition. *Marine Fisheries Research Departement South Asian Fisheries Development Center Singapore in collaboration with Japan International Cooperaion Agency*.
- Susanti M., 2013. *Mutu Ikan Tongkol (Euthynnus Affinis C.) di Kabupaten Gunung Kidul dan Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta*. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya. Yogyakarta. p. 10–25
- Suwetja. 2011. *Biokimia Hasil Perikanan*. Media Prima Aksara. Jakarta p. 170–173.
- Tunhun, D., Kanont, S., Chaiyawat, M., & Raksakulthai, (1996). Detection of illegal addition of formaldehyde to fresh fish. *Asean Food Journal*. 11(2): 74–77
- World Health Organization. (1989). Environmental health criteria 89. Formaldehyde. Geneva, Switzerland: WHO. Available at: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc89.htm>. Diakses pada tanggal 27 Oktober 2012.
- Yasuhara, A. & Shibamoto, T. (1995). Quantitative analysis of volatile aldehydes formed from various kinds of fish flesh during heat treatment. *J. Agric. Food Chem.* 43: 94–97.