

Intisari

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri pembentuk histamin (BPH) psikrotrof dari tuna mata besar dengan menggunakan medium pra-penapisan Niven dan EMB (*eosine methylene blue*), serta mengidentifikasi BPH yang didapat berdasarkan karakteristik biokimia dan molekuler. BPH diisolasi dari tuna mata besar yang telah dinkubasi pada suhu 16 °C selama 5 hari. Isolat BPH positif dari medium Niven dan EMB kemudian ditumbuhkan dalam medium TSBH (*trypticase soya broth histidine*) pada suhu 5, 16, dan 30 °C untuk diuji aktivitasnya dalam membentuk histamin menggunakan analisis densinometri menggunakan KLT (kromatografi lapis tipis). BPH terpilih selanjutnya diidentifikasi secara biokimia dan molekuler. BPH dengan kemampuan pembentukan histamin yang tinggi diperoleh dari medium Niven sebanyak 16 isolat (39,02%) dan dari medium EMB sebanyak 3 isolat (5,35%). Aktivitas pembentukan histamin tertinggi diperoleh pada suhu 30 °C dan selanjutnya dilakukan pengujian biokimia untuk seluruh isolat pada suhu tersebut. Karakterisasi presumtif biokimia dari 19 isolat diperoleh sebanyak 6 isolat yang memiliki perbedaan karakteristik biokimia, yaitu oksidase, motilitas, kemampuan menghidrolisis gelatin, dan kemampuan tumbuh dalam NaCl 10%. Isolat tersebut berasal dari medium Niven dengan kode TMB-N4, TMB-N9, TMB-N25, dan TMB-N26 serta dari medium EMB dengan kode TMB-E38 dan TMB-E40. Hasil pengujian molekuler untuk 6 isolat diperoleh Genus *Morganella* dengan persentase kemiripan >99% serta karakterisasi biokimia yang mengarah pada spesies *Morganella morganii* subsp. *sibonii*. Perolehan bakteri *Morganella morganii* subsp. *sibonii* baik dari medium EMB dan Niven mengindikasikan bahwa bakteri tersebut merupakan organisme penting dalam pembentukan histamin pada ikan yang mengalami kondisi penyalahgunaan suhu selama penanganan.

Kata kunci : isolasi, niven, *eosine methylene blue*, bakteri pembentuk histamin psikrotrofik, *Morganella morganii* subsp. *sibonii*

Abstract

The purpose of this study were to isolate psychrotrophic histamine forming bacteria (HFB) from Bigeye tuna using Niven and EMB (eosine methylene blue) medium, and to identify the HFB based on biochemical and molecular characteristic. HFB was isolated from Bigeye tuna which was incubated at 16 °C for 5 days. The positive result of HFB from Niven and EMB medium was subsequently grown in TSBH (trypticase soya broth histidine) medium at 5, 15, and 30 °C to observe the ability of HFB in producing histamine using densinometry analysis by TLC (thin layer chromatography). The selected isolate was identified based on biochemical and molecular method. HFB with high activity in producing histamine were obtained from Niven medium as much as 16 isolates (39,02%) and 3 isolates (5,35%) from EMB medium. The highest activity of histamine formation was observed at 30 °C, therefore further biochemical assay were carried out at this temperature for all isolates. The presumptive biochemical characterization from 19 isolates was able to categorize isolates into 6 groups based on their biochemical characteristics of oxidase activity, motility, ability of hydrolyzing gelatin, and ability of growing in 10% NaCl. The representative of isolates from each group were chosen, namely TMB-N4, TMB-N9, TMB-N25, and TMB-N26 from Niven medium; TMB-E38 and TMB-E40 from EMB medium. Molecular analysis of 16s rRNA partial sequence shows that all isolates were >99% similar to *Morganella* and further biochemical analysis refered a close characteristic to *Morganella morganii* subsp. *sibonii*. This study implies that *Morganella morganii* subsp. *sibonii* plays an important role for the formation of histamine in fish which exposed to temperature abuse during handling.

Key words : isolation, niven, *eosine methylene blue*, psychrotrophic histamine forming bacteria, *Morganella morganii* subsp. *sibonii*