

AKTIVITAS PENGHAMBATAN BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN DAN ANTIOKSIDAN KAPANG ENDOFIT KUNYIT SEBAGAI PENGAWET ALAMI

(The Inhibition Activity of Histamine-Producing Bacteria and Antioxidant Endophytic Fungi from Turmeric as Natural Preservative)

Eris Septiana dan Partomuan Simanjuntak

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, JL. Raya Bogor KM 46 Cibinong, Jabar 16911, Indonesia
e-mail: septiana.eris@gmail.com

Naskah diterima 26 Januari 2016, revisi akhir 11 April 2016 dan disetujui untuk diterbitkan 12 April 2016

ABSTRAK. Aktivitas mikroorganisme dan proses oksidasi dapat menyebabkan kerusakan pangan. Bahan alam yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan berpotensi sebagai bahan pengawet alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapang endofit asal tanaman kunyit yang memiliki aktivitas antibakteri penghasil histamin dan antioksidan. Aktivitas antibakteri penghasil histamin dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas, sedangkan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas. Pada metode difusi cakram kertas didapatkan 3 isolat yang memiliki diameter daya hambat tertinggi sampai konsentrasi 20.000 ppm yaitu berasal dari akar (15 mm), bunga (14 mm) dan rimpang (13 mm). Pada uji antioksidan didapatkan nilai IC_{50} terendah yaitu isolat yang berasal dari akar (39,52 ppm), bunga (157,93 ppm) dan rimpang (96 ppm). Isolat kapang endofit yang berasal dari akar, bunga dan rimpang memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan pengawet makanan alami.

Kata kunci: antibakteri, antioksidan, endofit, kunyit, pengawet

ABSTRACT. Microorganisms activity and oxidation process can contribute to food spoilage occurrence. Natural source that have antimicrobial activity and antioxidant are potential as a natural preservative. The aims of this study are to investigate the endophytic fungi from turmeric plant which have antibacterial toward histamine-producing bacteria and antioxidant activity. Antibacterial activity of histamine-producing bacteria was done by paper disc diffusion, whereas the antioxidant activity was performed by free radical scavenging method. In the paper disc diffusion method were obtained 3 isolates which have the highest diameter of inhibition at concentration of 20.000 ppm: from root (15 mm), flower (14 mm) and rhizome (13 mm). Also at the antioxidant assay, the lowest IC_{50} values were isolates from root (39,52 ppm), flower (157,93 ppm) and rhizome (96 ppm). Endophytic fungi from root, flower and rhizome had antimicrobial and antioxidant activity thus they could potentially used as a natural food preservative.

Keywords: antibacterial, antioxidant, endophyte, preservative, turmeric

1. PENDAHULUAN

Banyak produk makanan yang rentan terhadap kerusakan terutama yang diakibatkan oleh faktor alami, diantaranya ialah kebusukan dan kandungan bahan kimia yang melebihi ambang batas. Sebagian besar kasus kebusukan produk makanan disebabkan oleh mikroorganisme,

baik bakteri maupun fungi (Lucera, *et al.*, 2012). Untuk mengantisipasi kerusakan produk makanan, diperlukan adanya bahan pengawet yang dapat memperpanjang umur simpan produk makanan. Beberapa pengawet makanan yang banyak digunakan meliputi asam lemah seperti asam asetat, laktat, benzoat dan sorbet yang berpotensi meninggalkan residu yang

berbahaya terhadap kesehatan (Gupta, *et al.*, 2014). Oleh karena itu diperlukan alternatif bahan pengawet alami yang lebih aman bagi kesehatan.

Prinsip umum yang diketahui dari bahan pengawet dalam mengawetkan produk makanan diantaranya ialah dengan menekan pertumbuhan mikroorganisme penyebab kebusukan makanan ataupun dengan cara mencegah oksidasi produk makanan. Menurunnya mutu produk makanan akibat kebusukan yang disebabkan oleh mikroorganisme merupakan masalah global karena selain akan menurunkan kelayakan konsumsi juga dapat meningkatkan resiko penyakit dan racun yang diakibatkan oleh aktivitas agens biologi (Winnett, *et al.*, 2014). Salah satu mikroorganisme yang penting dalam kerusakan produk makanan ialah bakteri *Morganella morganii*. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri penghasil histamin yang berupa senyawa yang terbentuk dari dekarboksilasi histidin oleh enzim *L-Histidine Decarboxylase* dalam daging ikan golongan skombroid (Kusmawarti & Indriati, 2008). Pada kadar yang melebihi ambang batas penerimaan tubuh, histamin akan menyebabkan gejala keracunan.

Beberapa produk makanan yang beredar di masyarakat sebagian besar merupakan produk yang mengandung lemak dan karbohidrat yang mudah mengalami kerusakan. Kerusakan yang sering terjadi pada produk makanan dengan bahan tersebut ialah ketengikan. Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menanggulangi masalah ketengikan ialah dengan penambahan senyawa antioksidan yang dapat melindungi produk makanan dari oksidasi (Erminawati & Naufalin, 2013). Antioksidan merupakan senyawa yang bekerja dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa lain yang bersifat oksidan untuk menghambat aktivitas oksidasinya (Sashikumar, *et al.*, 2009). Metode peredaman senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) merupakan pengujian yang mudah dan dapat dipertanggungjawabkan untuk pengujian aktivitas antioksidan (Suhaj, 2006).

Senyawa antioksidan yang ada kemudian merombak senyawa radikal dengan cara memberikan atom hidrogen atau elektron dan menangkap senyawa radikal bebas sehingga terbentuk senyawa non radikal (Stoilova, *et al.*, 2007).

Pencarian bahan alam baru yang relatif lebih aman dibandingkan dengan bahan sintesis yang umum digunakan dalam pengawetan makanan sangat digalakkan. Pencarian bahan alam tersebut salah satunya diawali dengan data empiris berupa penggunaan secara tradisional oleh masyarakat secara turun temurun. Salah satu bahan alam berupa tanaman yang secara tradisional digunakan dalam pengawetan makanan ialah tanaman kunyit (Purwani & Muwakhidah, 2008). Potensi tumbuhan obat untuk pengawet makanan seperti kunyit juga berhubungan dengan mikroorganisme yang hidup di jaringan tumbuhan inangnya atau disebut sebagai mikroba endofit. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu tanpa membahayakan inangnya (Hallmann, *et al.*, 1997). Mikroba endofit sangat sinergis dengan inangnya dan mampu menghasilkan senyawa khusus, seperti metabolit sekunder, untuk melindungi inangnya dari serangan hama dan penyakit (Taechowisan, *et al.*, 2005). Salah satu mikroba endofit yang banyak dimanfaatkan ialah kapang endofit. Beberapa manfaat kapang endofit diantaranya sebagai antibiotik, antivirus, antikanker, antioksidan, antidiabetes, immunosupresif dan insektisida (Strobel, & Daisy, 2003). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapang endofit dari tumbuhan kunyit yang berpotensi sebagai pengawet alami melalui aktivitas antibakteri penghasil histamin dan antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

Isolat Kapang Endofit

Isolat kapang endofit yang digunakan merupakan koleksi laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Isolat kapang endofit yang digunakan yaitu

berasal dari akar (CIA3), infloresen (CII1), batang (CIBt1), bunga (CIBn2), rimpang (CIR1) yang diisolasi dari tanaman kunyit asal Bogor, Jawa Barat.

Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Penghasil Histamin

Bakteri uji penghasil histamin *Morganella morganii* FNCC 0122 didapatkan dari *Food and Nutrition Culture Collection*, PAU Pangan dan Nutrisi UGM. Bakteri kemudian ditumbuhkan pertama kali di media agar-agar *Niven* yang dimodifikasi untuk meyakinkan bahwa bakteri uji tersebut menghasilkan histamin (Mangunwardoyo, *et al.*, 2007).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram kertas (Kim, *et al.*, 2014). Isolat kapang endofit kemudian difermentasi dalam 100 mL media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dalam labu Erlenmeyer, digoyang dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari pada suhu ruang. Isolat kemudian ditumbuhkan kembali di dalam 1 L media PDB di dalam labu Erlenmeyer, digoyang pada 120 rpm selama 8 hari pada suhu ruang. Pada saat pemanenan, miselium disaring menggunakan saringan hampa udara yang dilewatkan pada kertas saring steril untuk memisahkan antara filtrat dan biomassa. Filtrat kemudian diekstraksi dengan etil asetat, biomassa yang telah dikeringkan juga diekstrak dengan etil asetat. Masing-masing ekstrak dengan seri konsentrasi 10.000, 15.000 dan 20.000 ppm digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji di dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol konsentrasi 32 ppm dan pelarut etil asetat sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat (mm) di sekitar cakram kertas setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C diukur dan dicatat. Hanya isolat yang memiliki aktivitas antimikroba yang dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan.

Uji Aktivitas Antioksidan

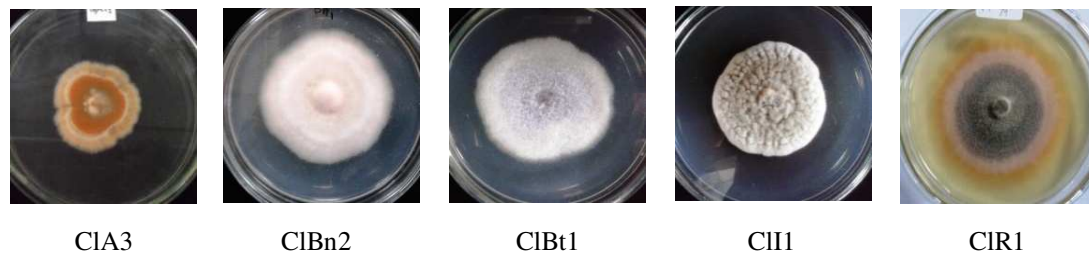
Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan senyawa DPPH (Tiwari, *et al.*, 2006) dengan modifikasi pada panjang gelombang dari 515 nm menjadi 517 nm hanya untuk isolat yang memiliki aktivitas antimikroba. Konsentrasi larutan uji sebesar 10, 25, 50 dan 100 ppm, asam askorbat (vitamin C) sebagai baku pembanding sebesar 4, 6 dan 8 ppm, serta DPPH kontrol 0,04 mM. Seluruh sampel larutan uji, kontrol dan asam askorbat (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan seluruh sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan (1) dan nilai IC₅₀ yang merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% diperoleh dari pembuatan kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan persen aktivitas antioksidan (sumbu y). Serapan kontrol adalah serapan larutan DPPH 0,04 mM dan serapan perlakuan adalah serapan seri konsentrasi ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit atau baku pembanding vitamin C.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Penghasil Histamin

Uji antibakteri dengan metode difusi cakram kertas dari ekstrak etil asetat isolat kapang endofit terpilih umur 15 hari (Gambar 1) menunjukkan bahwa hanya tiga ekstrak yaitu CIA3, CIBn2 dan CIR1 yang memberikan hasil positif terhadap bakteri uji *M. morganii* yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas dengan kontrol positif kloramfenikol 32 ppm. Etil asetat sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas sehingga tidak memiliki aktivitas antibakteri (Tabel 1).

$$\text{aktivitas antioksidan} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan perlakuan}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$



Gambar 1. Isolat kapang endofit tanaman kunyit asal Bogor yang digunakan dalam penelitian (CIA3: diisolasi dari bagian akar, CIBn2: diisolasi dari bagian bunga, CIBt1: diisolasi dari bagian batang, CII1: diisolasi dari bagian infloresen, CIR1: diisolasi dari bagian rimpang)

Tabel 1. Diameter zona hambat (mm) ekstrak etil asetat kapang endofit terhadap *M. morganii* FNCC 0122 menggunakan metode difusi cakram kertas setelah inkubasi 24 jam

Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Diameter daya hambat (mm)	
		Filtrat	Biomassa
CIA3	10.000	12±0,44**	10,5±0,79**
	15.000	14±0,92**	11±0,66**
	20.000	15±0,26**	12±0,85**
CIBn2	10.000	12±0,36**	9±0,10*
	15.000	13±0,20**	10±0,36*
	20.000	14±0,78**	11,5±0,46**
CIBt1	10.000	0	0
	15.000	0	0
	20.000	0	0
CII1	10.000	0	0
	15.000	0	0
	20.000	0	0
CIR1	10.000	10±0,72*	9±0,36*
	15.000	11±0,69**	9,5±0,40*
	20.000	13±0,75**	10±0,17*
Kloramfenikol	32	16±2,65**	
Etil asetat		0	

Keterangan: * = aktivitas sedang, ** = aktivitas kuat, Kloramfenikol = kontrol positif, etil asetat = kontrol negative.

Kode isolat: CI = *Curcuma longa*; A3 = akar ke-3; Bn2 = bunga ke-2; Bt1 = batang ke-1; I1 = infloresen ke-1; R1= rimpang ke-1

Secara umum, kemampuan daya antibakteri berdasarkan diameter daya hambatnya dapat digolongkan menjadi beberapa tingkatan yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat (>20 mm) (Davis, & Stout 1971). Dalam taraf konsentrasi tertinggi (20.000ppm), ekstrak filtrat dan biomassa kapang endofit CIA3, CIBn2, dan CIR1 memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap bakteri *M. morganii*. Penelitian sejenis yang pernah dilakukan ialah penelitian yang dilakukan oleh

Septiana (2014) yang melaporkan bahwa ekstrak air kapang endofit CIA3 dan CIBn2 pada taraf konsentrasi 20.000 ppm memiliki aktivitas yang sedang terhadap bakteri *M. morganii*, oleh karena itu ekstrak etil asetat memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan dengan ekstrak air.

Bakteri *M. morganii* merupakan bakteri penghasil histamin yang umum digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan penghambatan pembentukan histamin pada produk perikanan (Mangunwardoyo, *et al.*, 2007).

Bakteri ini banyak ditemukan pada ikan segar seperti tuna, mahi-mahi dan *mackerel* (Niven, *et al.*, 1981). Penggunaan bakteri *M. morgani* sebagai model dalam penelitian yang berhubungan dengan histamin disebabkan karena bakteri ini memiliki enzim histidin dekarboksilase yang memungkinkan untuk menghasilkan histamin dalam kadar yang tinggi (Indriati, *et al.*, 2006). Kemampuan ekstrak kapang endofit asal tanaman kunyit dalam menghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin memberikan kesempatan yang lebih luas dalam pencarian bahan pengawet alami melalui kemampuan sebagai antibakteri.

Kerusakan makanan terutama daging disebabkan oleh mikroba dan bahan pembusuk kimiawi yang pada akhirnya mengakibatkan tersebarnya penyakit,

kerugian secara ekonomi dan terganggunya keamanan pangan (Falowo, *et al.*, 2014). Salah satu penyebab kerusakan akibat aktivitas mikroba ialah bakteri golongan *psychrophile*, *psychrotrophic*, *mesophile* dan *thermophile* yang dapat bertahan di bawah kondisi pengolahan yang bervariasi dan menyebabkan kebusukan. Bakteri pembusuk daging dapat dikurangi dengan menggunakan antioksidan alami (Sant'Ana, *et al.*, 2014).

Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa seluruh ekstrak etil asetat filtrat dan biomassa kapang endofit tanaman kunyit yang memiliki aktivitas antimikroba juga memiliki aktivitas antioksidan (Tabel 2). Secara umum,

Tabel 2. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat filtrat dan biomassa kapang endofit terpilih asal tanaman kunyit dengan vitamin C sebagai pembanding

No.	Kode Isolat	Konsentrasi (ppm)	Penghambatan (%)	IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
1	CIA3 filtrat	10	22,68±0,292	39,52	aktif
		25	37,53±0,292		
		50	62,47±0,583		
		100	91,03±0,146		
2	CIA3 biomassa	10	2,68±0,583	200,64	Tidak aktif
		25	3,92±0,292		
		50	8,56±0,437		
		100	15,15±0,146		
3	ClBn2 filtrat	10	7,11±0,146	157,93	Tidak aktif
		25	7,22±0,292		
		50	14,54±0,146		
		100	27,11±0,437		
4	ClBn2 biomassa	10	6,08±0,437	415,23	Tidak aktif
		25	5,98±0,292		
		50	6,70±0,437		
		100	10,72±0,292		
5	ClR1 filtrat	10	6,91±0,437	96,00	aktif
		25	18,14±0,292		
		50	30±0,146		
		100	49,48±0,292		
6	ClR1 biomassa	10	3,09±0,583	197,26	Tidak aktif
		25	4,33±0,292		
		50	6,08±0,437		
		100	15,88±0,583		
7	Vitamin C	4	85,05±0,437	3,99	Sangat aktif
		6	96,60±0,437		
		8	97,73±0,583		

aktivitas antioksidan ekstrak filtrat kapang endofit pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan ekstrak biomassa. Hasil uji aktivitas antioksidan juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit CIA3 dan CIR1 menghasilkan aktivitas antioksidan kategori aktif dengan IC_{50} sebesar 39,52 ppm. Menurut Minami, *et al.* (1994), kekuatan aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan ke dalam kategori sangat aktif jika memiliki $IC_{50} < 10$ ppm, aktif jika memiliki $IC_{50} < 100$ ppm dan tidak aktif jika memiliki $IC_{50} > 100$ ppm. Secara keseluruhan, aktivitas antioksidan sampel masih sangat jauh di bawah kontrol positif yaitu vitamin C (asam askorbat) yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,99 ppm.

Penggunaan metode peredaman DPPH merupakan metode yang umum digunakan dalam penelitian uji antioksidan. Prinsip kerja metode ini ialah adanya interaksi antioksidan dengan DPPH yang menyebabkan senyawa DPPH yang berwarna ungu akan dirombak menjadi senyawa α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl yang berwarna kuning (Akowuah, *et al.*, 2005). Efek antioksidan dalam metode peredaman radikal bebas DPPH terjadi karena kemampuan suatu senyawa dalam mendonasikan hidrogen (Chen, *et al.*, 2008). Kapang endofit asal tanaman *Rhodiola crenulata*, *R. angusta* dan *R. sachalinensis* dilaporkan mempunyai kemampuan antioksidan yang baik (Cui, *et al.*, 2015). Bustanussalam, *et al.* (2015) melaporkan bahwa kapang endofit asal tanaman kunyit yang diisolasi dari daerah selain Bogor yaitu Sukabumi dan Cibinong juga memiliki aktivitas antioksidan.

Penggunaan bahan yang berpotensi antioksidan untuk pengawetan produk makanan dikarenakan kemampuan antioksidan dalam mencegah ketengikan. Produk makanan yang mudah mengalami ketengikan ialah yang mengandung lemak seperti daging, baik hewan darat ataupun ikan. Oksidasi merupakan salah satu penyebab utama dari kebusukan pada daging. Hal ini terjadi karena daging merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki kandungan lemak tak jenuh, pigmen hem, katalis logam yang tinggi

(Falowo, *et al.*, 2014). Kerusakan oksidatif pada beberapa tipe daging dapat dilihat dari perubahan warna, terbentuknya aroma tak sedap, terbentuknya senyawa beracun, masa simpan yang pendek, berkurangnya nutrisi (Contini, *et al.*, 2014). Proses oksidasi ini akan diinaktivasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Erminawati & Naufalin, 2013). Oleh karena itu, bahan alami yang mempunyai kemampuan antioksidan yang tinggi sangat berpotensi untuk diaplikasikan sebagai pengawet alami.

Pengawetan bahan makanan dari kerusakan selama proses produksi, penyimpanan dan penjualan merupakan hal yang penting dalam industri makanan. Perhatian terhadap mikroba patogen dan perusak pangan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya penyebaran penyakit yang terbawa oleh makanan (Ye, *et al.*, 2013). Meskipun peningkatan penggunaan pengawet kimia secara efektif mampu mencegah pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme perusak pangan, akan tetapi masalah keamanan yang berkaitan dengan pengawet kimia masih menjadi perhatian serius (Deba, *et al.*, 2008). Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa kombinasi dan aplikasi antioksidan alami yang berbeda dapat menurunkan kerusakan daging dan meningkatkan waktu simpan yang pada akhirnya akan mengurangi kehilangan secara finansial, ongkos pekerja, meyakinkan sisi keamanan pangannya serta meningkatkan kegunaan fungsional daging (Falowo, *et al.*, 2014).

Selain untuk daging, pengawet juga bisa untuk mengawetkan bahan pangan yang lain seperti biji-bijian. Bahaya kerusakan bahan pangan dari biji-bijian yang paling mendapat perhatian ialah terbentuknya toksin. Beberapa penelitian juga telah melaporkan bahwa kapang endofit mampu menghambat terbentuknya toksin dengan menghambat pertumbuhan kapang patogen penghasil toksin (Ji, *et al.*, 2004). Oleh karena itu pemanfaatan senyawa kimia alami dari kapang endofit yang mempunyai kemampuan antimikroba dan antioksidan sekaligus menjadi sangat dibutuhkan sebagai pengawet alami bahan pangan.

4. KESIMPULAN

Kapang endofit yang berasal dari akar, bunga dan rimpang tanaman kunyit asal Bogor memiliki aktivitas antibakteri penghasil histamin tertinggi sampai 20.000 ppm pada ekstrak etil asetat filtrat masing-masing sebesar 15, 14 dan 13 mm. Sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi dari ekstrak etil asetat filtrat isolat yang berasal dari akar, bunga dan rimpang dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 39,52; 157,93 dan 96 ppm. Oleh karena itu kapang endofit asal tanaman kunyit berpotensi digunakan sebagai bahan pengawet makanan alami serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aplikasi langsung ekstrak kapang endofit aktif pada ikan segar.

DAFTAR PUSTAKA

- Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities of polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry*, 93(2), 311-317.
- Bustanussalam, Rachman, F., Septiana, E., Lekatompessy, S.J.R., Widowati, T., Sukiman, H.I., & Simanjuntak, P. (2015). Screening for endophytic fungi from turmeric plant (*Curcuma longa* L.) of Sukabumi and Cibinong with potency as antioxidant compounds producer. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(1), 42-45.
- Chen, Y., Xie, M.Y., Nie, S.P., Li, C., & Wang, Y.X. (2008). Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*. *Food Chemistry*, 107, 231-241.
- Contini, C., Alvarez, R., O'Sullivan, M., Dowling, D.P., Gargan, S.O., & Monahan, F.J. (2014). Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat Science*, 96, 1171-1176.
- Cui, J.L., Guo, T.T., Ren, Z.X., Zhang, N.S., & Wang, M.L. (2015). Diversity and antioxidant activity of culturable endophytic fungi from Alpine plants of *Rhodiola crenulata*, *R. angusta*, and *R. sachalinensis*. *PLOS ONE*, 10(3), e0118204.
- Davis, W.W., & Stout, T.R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22, 659-665.
- Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M., & Tawata, S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. Var. *Radiata*. *Food Control*, 19, 346-352.
- Erminawati, & Naufalin R. (2013). Sifat fisikokimia dan aktivitas antioksidan sarang semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai pengawet alami panga. Dalam Anonymous (Eds.), Seminar PATPI: Peran teknologi dan industry pangan untuk percepatan tercapainya kedaulatan pangan Indonesia (hal. 229-243). Jember: PATPI cabang Jember.
- Falowo, A.B., Fayemi, P.O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: a review. *Food Research International*, 64, 171-181.
- Gupta, C., Prakash, D., & Gupta, S. (2014). Studies on the antimicrobial activity of Tamarind (*Tamarindus indica*) and its potential as food bio-preservative. *International Food Research Journal*, 21, 2437-2441.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., & Kloepper, J.W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 895-914.
- Indriati, N., Rispayeni, & Heruwati, E.S. (2006). Studi bakteri pembentuk histamin pada ikan kembung peda selama proses pengolahan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 1(2), 117-123.
- Kim, D.H., Kim, K.B.W.R., Cho, J.Y., & Ahn, D.H. (2014). Inhibitory effects of brown algae extracts on histamine production in mackerel muscle via inhibition of growth and histidine decarboxylase activity of *Morganella morganii*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(4), 465-474.

- Kusmawarti, A., & Indriati, N. (2008). Daya hambat ekstrak bahan aktif biji picung (*Pangium edule* Reinw.) terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamin. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 3, 29-35.
- Li, J.J., Song, Y.C., & Tan, R.X. (2004). A potent feed preservative candidate produced by *Calcarisporium* sp., an endophyte residing in stargrass (*Cynodon dactylon*). *Journal of Applied Microbiology*, 96: 352-358.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., & Del Nobile, M.A. (2012). Food application of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-13.
- Mangunwardoyo, W., Sophia, R.A., & Heruwati, E.S. (2007). Seleksi dan pengujian aktivitas enzim *L-Histidine Decarboxylase* dari bakteri pembentuk histamine. *Makara Sains*, 11(2), 104-109.
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshizawa, T., Sugiura, M., Nakagawa, Y., & Tago, H. (1994). Antioxidant xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry*, 36(2), 501-506.
- Niven, C.F., Jeffrey, M.B., & Corlett, D.A. (1981). Differential plating medium for quantitative detection of histamine producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1), 321-322.
- Purwani, E., & Muwakhidah. (2008). Efek berbagai pengawet alami sebagai pengganti formalin terhadap sifat organoleptik dan masa simpan daging dan ikan. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 9, 1-14.
- Sant'Ana, A.S., Franco, B.D.G.M., & Schaffner, D.W. (2014). Risk of infection with *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* due to consumption of ready-to-eat leafy vegetables in Brazil. *Food Control*, 42, 1-8.
- Sashikumar, J.M., Maheshu, V., & Jayadev, R. (2009). In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Berberia tinctoria* Lesch root and root bark. *India Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 3(2), 53-58.
- Septiana, E. (2014). *Keragaman cendawan endofit asal tanaman kunyit (Curcuma longa) dan aktivitas penghambatannya terhadap pembentukan histamin*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., & Gargova, S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extracts (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*, 102(3), 764-770.
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67, 491-502.
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 531-537.
- Taechowisan, T., Lu, C., Shen, Y., & Lumyong, S. (2005). 4-Arylcoumarins from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Annals of Microbiology*, 55, 63-66.
- Tiwari, V., Shanker, R., Srivastava, J., & Vanker, P.S. (2006). Change in antioxidant activity of spices-turmeric and ginger on heat treatment. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry*, 5(2), 1313-1317.
- Winnett, V., Boyer, H., Sirdaarta, J., & Cock, I.E. (2014). The potential of *Tasmania lanceolata* as a natural preservative and medicinal agent: antimicrobial activity and toxicity. *Pharmacognosy Communications*, 4, 42-52.
- Ye, C.L., Dai, D.H., & Hu, W.L. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *Food Control*, 30, 48-53.