

Aspek clostridium botulinum pada pengawetan ikan dengan iradiasi dan pengembangan metode penentuan toxin secara in vitro

F. Suhadi, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=74212&lokasi=lokal>

Abstrak

Tujuan penelitian ini ialah :

(1) Mempelajari aspek *C. botulinum* pada pengawetan ikan dengan proses radurisasi, khususnya terhadap bahaya keracunan toksin botulinum;

(2) Pengembangan metode penentuan toksin secara in vitro, berdasarkan sifat hambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase oleh pengaruh toksin botulinum;

(3) Sebagai latar belakang dipelajari pula sebaran tipe-tipe *C. botulinum* di wilayah perairan Indonesia bagian barat.

C. botulinum yang terdapat dalam sampel lumpur dan organisme laut yang berasal dari wilayah perairan Indonesia bagian barat terutama bukan tipe E dan bersifat proteolitik.

Pembentukan toksin pada ikan segar yang disimpan pada suhu 10,5 dan 7,400 terjadi sebelum atau setelah ikan menjadi busuk, bergantung pada perlakuan jenis ikan, dosis iradiasi, strain, dan tingkat inokulasi spora. Sedangkan bila penyimpanan dilakukan pada suhu 5,60C pembentukan toksin terjadi setelah ikan menjadi busuk, tanpa mempertimbangkan perlakuan yang digunakan dalam percobaan. Peranan dosis radurisasi berpengaruh hanya terhadap peningkatan daya simpan ikan; sedang perlakuan suhu rendah, selain.meningkatkan daya simpan, juga menghambat proses pembentukan toksin.

Pembentukan toksin botulinum tipe B proteolitik pada ikan pindang yang mengandung garam kurang dari 1,0 persen terjadi sebelum atau setelah ikan menjadi busuk, bergantung pada tingkat inokulasi spora. Sedangkan pada sampel yang mengandung garam antara 4-6 persen, pembentukan toksin terjadi setelah ikan menjadi busuk, tanpa mempertimbangkan strain dan tingkat inokulasi spora. Proses radurisasi dan penggaraman bersifat sinergis, baik terhadap peningkatan daya simpan ikan pindang, maupun terhadap penundaan pembentukan toksin.

Isolasi dan pemurnian toksin *C. botulinum* tipe B menghasilkan sekitar 20 ml filtrat, dengan aktivitas spesifik sekitar $1,2 \times 10^7$ MLD per ml ($1,0 \times 10^7$ MLD per mg protein). Kromatografi toksin hasil isolasi melalui kolom Sephadex G-200 menunjukkan pola protein berpuncak tunggal, dan mendekati bentuk simetris. Uji elektroforesis disk gel poliakrilamid dan uji imunodifusi gel agar, berturut-turut menghasilkan pita protein dan garis presipitasi tunggal.

Toksin botulinum bersifat menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase. Pengaruh toksin tipe E ($3,0 \times 10^{-3}$ mg) dan tipe B ($3,0 \times 10^{-4}$ - $3,0 \times 10^{-3}$ mg) terhadap aktivitas enzim 0,175 unit, berturut-turut

mengakibatkan hambatan berkisar antara 10-16 dan 17-20 persen. Metode hambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase dapat digunakan untuk penentuan kuantitatif toksin dalam ekstrak biakan *C. botulinum*, tetapi tidak dalam ekstrak ikan yang bersifat toksik.

<hr>

The Aspect of *Clostridium Botulinum* in Fish Preservation by Irradiation and the development of in Vitro Toxin Assay The objectives of this investigation were:

(1) To study the aspect of *C. botulinum* in fish preservation by radurization process especially on botulism hazard;

(2) The development of in vitro toxin assay, based on the activity inhibition of acetylcholinesterase, caused by botulinum toxin; (3) distribution of *C. botulinum* types in western part of Indonesian waters, as the background of the investigation.

The presence of *C. botulinum* in samples of sediment and marine organisms, collected from fishing areas of the western part of Indonesian waters was especially proteolytic non type E.

Toxin formation by non-proteolytic strain of

C. botulinum type B in fish under storage at 10,5 and 7,4°C was detected before or after the samples were spoiled, depending on fish species, irradiation dose, bacterial strain, and spores inoculum's level. When the samples were stored at 5,60C, the toxin was detected after the samples was spoiled, regardless the treatments conducted in this experiment. Radurization dose 'caused the extension of storage life, while the effect of storage at low temperatures caused both the extension of storage life and the delayed toxin formation.

The toxin formation by proteolytic strain *C. botulinum* type B in radurized Pindang fish (the salt content less than 1%) was detected before or after the samples were spoiled, depending on the level of spore's inoculum. Samples with salt content around 4-5%, the toxin were detected after the samples was spoiled, regardless the bacterial strain and spores inoculum level. Radurization process and salt making synergistically extended the storage life and delayed the toxin formation.

The isolation and purification of type B toxin resulted in filtrate with spesific activity of 1,2x10⁷ MLD per ml (1,0x10⁷ MLD per mg protein). Chromatography of the filtrate through Sephadex G-200 column showed a single peak pattern. Agar gel immunodiffusion test with filtrate G-200 showed a single precipitation line.

Botulinum toxin inhibited the activity of acetylcholinesterase. The effect of type E toxin E (3,0x10⁻³ - 3,0x10⁻³ mg) and type B toxin B (3,0x10⁻⁴ - 3,0x10⁻³mg) on 0,175-unit enzyme produced the inhibition around 10-16 and 17-20 percent.

The acetylcholinesterase activity inhibition method could be applied for quantitative analysis of botulinum toxin in extract culture, but not for fish extract.