

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Histamin termasuk dalam golongan amin biogenik dan disintesis dari asam amino histidin. Histamin ini dihasilkan oleh sel mast, basophil, platelets, neuron histaminergik, dan sel enterokromafin, yang mana histamin ini disimpan di dalam vesikel intraseluler dan dilepaskan pada saat terdapat rangsangan. Histamin merupakan mediator yang poten untuk terjadinya berbagai reaksi biologis. Histamin bekerja dengan cara berikatan dengan reseptornya. Sejauh ini terdapat 4 sub tipe reseptor antihistamin yang sudah dikenali yaitu Reseptor Histamin 1, 2, 3, dan 4 (H1R, H2R, H3R, H4R) yang terdapat pada berbagai jaringan target. Ikatan histamin dengan reseptornya akan menyebabkan kontraksi sel otot polos, vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskular, peningkatan sekresi mukus, takikardi, perubahan tekanan darah, aritmia, serta menstimulasi sekresi asam lambung (Raithel *et al.*, 1998). Histamin melalui metabolisme nutrisi akan menghasilkan asam lambung, tetapi apabila terdapat kadar berlebih, maka dapat bersifat beracun. Histamin pada kadar tertentu dapat bersifat beracun seperti menyebabkan alergi, sakit kepala, sesak napas, diare, dan gangguan pencernaan yang lain. Tiga faktor yang mempengaruhi pembentukan histamin di dalam makanan yaitu: (a) tersedianya asam amino bebas; (b) kehadiran dan perkembangan bakteri penghasil enzim dekarboksilase; dan (c) adanya kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroba serta proses dekarboksilasi asam amino tersebut (Kusche *et al.*, 2008). Kadar histamin yang terdapat pada ikan dapat dipakai sebagai indikator tingkat kerusakan produk perikanan. Sementara itu, kadar histamin melebihi ambang 15 mg/100g sudah mulai terbentuk kerusakan, pada kadar lebih dari 50 mg/100g akan berbahaya untuk kesehatan, dan jika melebihi kadar 100 mg/100g akan bersifat racun yang berbahaya pada manusia (SNI 01-2360, 1991). Menurut Scoging (1998), produk perikanan dengan kadar histamin kurang dari 10 mg/100g masih aman untuk dikonsumsi. Oleh karena itu, deteksi histamin secara cepat dan sensitif sangat dibutuhkan dalam analisis klinis dan makanan.

Beberapa metode kromatografi telah digunakan untuk mendeteksi histamin pada beberapa produk pangan, seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Shakila, *et.al.*, 2001 & Tsai, *et.al.*, 2005), kromatografi lapis tipis (TLC) (Shakila, *et.al.*, 2001), kromatografi gas (GC) (Henion, *et.al.*, 1981) dan elektroforesis (Krizek, *et.al.*, 2004; Kvasnicka & Voldrich, 2006; & Yahya, *et.al.*, 2016). Metode kolorimetri juga digunakan untuk tujuan ini. Metode spektrofotometri dijadikan salah satu metode yang menarik untuk digunakan pada penelitian ini, didasarkan pada pertimbangan bahwa beberapa sentra produksi perikanan terutama pelabuhan pengekspor dan sentra penangkapan ikan secara tradisional, memiliki instrumen analisis mutu yang minim sebagaimana persyaratan beberapa institusi dan lembaga standarisasi nasional maupun internasional. Oleh karena itu, metode spektrofotometri digunakan sebagai salah satu alternatif untuk deteksi histamin karena dapat dilakukan secara langsung, cepat, spesifik, dengan sensitivitas tinggi dengan nilai LOD sebesar 1,1 mg/kg pada ikan tuna (Gagic *et al.*, 2018).

Penelitian di bidang nanoteknologi telah berkembang pesat dalam dekade terakhir (Duncan 2011). Teknologi yang terbilang baru tersebut sudah merambah ke berbagai sektor kehidupan seperti tekstil, pangan, kosmetik, kesehatan, kemasan pangan, dan berbagai produk konsumen lainnya. Inovasi terbaru dalam nanoteknologi tersebut membuat material berbasis nano memiliki potensi sebagai material pendukung dalam metode deteksi histamin karena dengan adanya sifat unik material nano, material nano dapat difungsikan secara sederhana untuk meningkatkan sensitivitas serta mampu mengikat histamin dengan afinitas yang sesuai (Gagic *et al.*, 2018).

Carbon dots (CDs) telah menjadi sebagai salah satu penemuan yang paling menarik dalam pencarian nanomaterial modern (Yu *et al.*, 2017 & Algarra *et al.*, 2014). CDs ditemukan sejak tahun 2004 secara tidak sengaja sebagai salah satu zat yang dihasilkan dari proses purifikasi atau pemurnian jenis nanomaterial *singlewalled carbon nanotubes* (SWNT) (Pan *et al.*, 2020), (Pires *et al.*, 2015). CDs adalah alternatif terbaru dari nanomaterial yang telah ditemukan dan menggambarkan beberapa kelebihan dibanding nanopartikel lain (Ngu *et al.*, 2016).

CDs adalah nanopartikel yang memancarkan cahaya atau berpendar, tidak beracun dibandingkan jenis nanopartikel lain yang serupa seperti *quantum dots* (Algarra, dkk., 2014). *Carbon dots* dianggap memiliki potensi untuk mendeteksi sebuah substansi karena toksisitas rendah, sifat fotoluminesensi yang kuat dan biokompatibilitas yang baik untuk aplikasi di bidang sensor, katalisis, *imaging*, dan biomedis (Sharma dan Das, 2019). Sifat *photoluminescence* (PL) merupakan ciri khas CDs yang ditentukan oleh struktur dari nanopartikel tersebut. Oleh karena itu, sifat PL dari CDs perlu ditingkatkan dengan memperhatikan proses awal sintesis untuk mengontrol strukturnya (Zhou *et al.*, 2017).

Metode yang digunakan dalam sintesis CDs diklasifikasikan ke dalam dua cara, yaitu metode *top-down* dan *bottom-up* (Baker & Baker, 2010). Sintesis nanopartikel dengan cara memecah partikel berukuran besar lalu dipolimerisasi menjadi partikel berukuran nanometer disebut metode *top-down*. Metode *top-down* diantaranya terdiri dari metode *arc discharge* (Małolepszy *et al.*, 2018), *laser ablation* (Biazar *et al.*, 2018), *electrochemical oxidation* (Tan *et al.*, 2015), *chemical oxidation* (Zhou *et al.*, 2007), dan *ultrasonic synthesis* (Wang *et al.*, 2015). Metode *bottom-up* menggunakan atom-atom atau molekul-molekul kecil sebagai prekursor yang mengandung karbon dan agen pasivasi yang dikarbonisasi untuk membentuk CDs berukuran nanometer yang dikehendaki, seperti *microwave synthesis method* (Zhu *et al.*, 2009), *thermal decomposition* (Wang *et al.*, 2015), *hydrothermal synthesis* (Zhang *et al.*, 2010), *pyrolysis synthesis method* (Zheng *et al.*, 2015) dan *solvothermal method* (Qian *et al.*, 2014). Metode *bottom up* lebih banyak digunakan daripada *top-down*. Metode *bottom up* lebih banyak digunakan karena melibatkan adanya agen pasivasi yang mengandung gugus nitrogen sebagai auksokrom yang nantinya mampu meningkatkan sifat foto luminesensi CDs. Dimana hal tersebut akan sangat berguna jika digunakan untuk mendeteksi senyawa yang dikehendaki. Selain itu, sintesis dengan metode *bottom-up* akan mempermudah dalam mengontrol komposisi kimia dan karakter fisik dari *carbon dots* yang disintesis (Zhang *et al.*, 2017). Metode pirolisis termasuk dalam metode *bottom-up* yang mempunyai banyak keunggulan antara lain yaitu sederhana, dan

mempermudah untuk dilakukan peneliti serta dapat membentuk pola alami heteroatom dari prekursor terutama pada proses doping (Wu *et al.*, 2017).

Faktor yang mempengaruhi sifat optik dari *carbon dots* selain jenis metode sintesis yakni salah satunya adalah pemilihan bahan yang menjadi prekursor *carbon dots*. Sintesis *carbon dots* berasal dari senyawa organik sederhana seperti senyawa alkana beserta turunannya maupun berasal dari senyawa organik kompleks biopolimer seperti polisakarida dan lainnya. Prekursor dari *carbon dots* adalah senyawa karbon dari material senyawa organik. Contoh material yang dilaporkan telah berhasil dijadikan sebagai precursor *carbon dots* antara lain adalah polietilen imina bercabang dengan metode hidrotermal untuk aplikasi *bioimaging*, *gene delivery* (Hu *et al.*, 2014), polietilen glikol dengan metode ultrasonic untuk aplikasi fotokatalis (Park *et al.*, 2015), *polyamidoamine dendrimer* dengan metode hidrotermal untuk deteksi Fe^{3+} dan juga tinta, asam sitrat dengan doping etilendiamin dengan metode hidrotermal untuk deteksi Fe^{3+} (Zhu *et al.*, 2015) dan lain lain. Kebanyakan prekursor yang digunakan sebagai bahan sintesis *carbon dots* adalah jenis polimer kompleks karena strukturnya yang besar sehingga lebih dapat membentuk *template* pada *carbon dots* dengan struktur yang lebih jelas. Disamping itu, Asam hialuronat (HA) sebagai salah satu zat utama yang terkandung di kulit tubuh manusia, merupakan zat non toksik yang termasuk dalam makromolekul polisakarida asam *biodegradable* alami dengan viskoelastisitas yang unik dengan imunogenisitas terbatas yang terikat dengan CD44 yang merupakan reseptor sel kanker. (Abdullah *et al.*, 2013 & Goh *et al.*, 2012). Beberapa penelitian yang berbasis HA *nanogels* untuk *bioimaging* dan *drug delivery* telah mengundang perhatian karena kemampuan biokompatibilitasnya yang sempurna dan juga memiliki fungsi kimiawi yang melimpah. (Jia *et al.*, 2016 & Kang *et al.*, 2018), (Krishna *et al.*, 2013 & Sharker *et al.*, 2015).

Nilai *quantum yield* (QY) adalah kriteria kunci evaluasi kerja *photoluminescence* dari suatu *carbon dots* yang disinari cahaya UV. Jika QY bernilai rendah dengan kisaran (<10%), maka harus ditingkatkan dengan cara pasivasi permukaan atau dengan cara doping heteroatom ataupun monoatom.

Metode pasivasi permukaan pada umumnya memanfaatkan molekul *polyethylene glycol* (PEG) dan amina untuk membentuk perangkat energi emisi permukaan yang mampu mengendalikan mekanisme PL (Wang *et al.*, 2010). Pada umumnya, nilai QY yang tadinya terbilang rendah akan meningkat menjadi 30% (beberapa penelitian bahkan mencapai nilai 50-80%) dengan metode pasivasi permukaan. Cara lainnya adalah dengan menambah dopan berupa senyawa heteroatom misalnya: nitrogen, sulfur, boron untuk mengubah tingkat energi serta karakteristik elektron (Barman *et al.*, 2014, Liu *et al.*, 2014, Xu *et al.*, 2015, Peng *et al.*, 2020).

Zinc merupakan elemen yang sangat penting dalam berbagai proses biologis dan telah dilaporkan bahwa memiliki tingkat toksisitas yang rendah. Hal tersebut menjadi sebuah keunggulan tersendiri untuk memaksimalkan potensi seng sebagai dopan untuk menambah karakter. Cheng dkk. (2016) melaporkan bahwa CDs yang didoping Zn disintesis dari kitosan/kompleks logam untuk *cell imaging*. Xu dkk. (2016) menyintesis CDs yang didoping Zn menggunakan metode hidrotermal menghasilkan CDs dengan *quantum yield* sebesar 32,3% dengan warna biru yang diaplikasikan sebagai *biosensor* reaksi fenton. Xu dkk. (2018) melaporkan bahwa CDs yang terdoping atom Zn menggunakan metode hidrotermal telah menghasilkan 35% *quantum yield* dengan warna pendaran putih kebiruan untuk deteksi ion Hg^{2+} . Tammina dkk. (2019) melaporkan bahwa *N doped* Zn-CDs berbahan glukosamin hidroklorida yang disintesis memiliki sifat fotoluminesensi yang baik dengan nilai *quantum yield* sebesar 74% untuk deteksi ion Fe^{3+} dan antibakteri *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Kharangarh dkk. (2019) melaporkan Zn(II)-GQDs disintesis dengan menggunakan *Graphene Oxide* (GO) dan *Zinc Oxide* (ZnO) bubuk sebagai bahan sumber karbon dengan metode sintesis hidrotermal menghasilkan warna biru pekat ketika disinari sinar uv dan sinar biru pekat pada panjang gelombang 380 nm dapat diaplikasikan sebagai *bioimaging*.

Pada penelitian terbaru yang dilakukan oleh Shi dkk. (2020) menyebutkan bahwa sintesis *carbon dots* dari asam sitrat yang ditambahkan dengan *N-acetylcysteine* (NAC) menggunakan metode hidrotermal dapat digunakan untuk deteksi histamin secara fluoresensi. Hasil sintesis NAC-CDs ditambahkan dengan peptida

(NAC-CDs/Pep) untuk memadamkan fluoresensi pada NAC-CDs melalui interaksi transfer elektron. Selain itu, peptida memiliki afinitas tinggi terhadap histamin. Deteksi histamin dilakukan dengan pendekatan *biopanning* yang memungkinkan adanya interaksi yang kuat antara peptida dan target sehingga histamin dapat terdeteksi dengan melihat fluoresensi CDs yang semula padam lalu dengan adanya interaksi tersebut maka fluoresensi CDs dapat pulih kembali (NAC-CDs/Pep/His). Selanjutnya, aplikasi peptida bersama dengan nanopartikel magnetik berlapis emas (MNP@Au-NPs) dirancang untuk pemurnian dan analisis sampel ikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa CDs dan sistem sensor peptida dapat mendeteksi histamin pada konsentrasi yang lebih rendah dengan sensitivitas dan selektivitas yang tinggi (Shi *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini telah selesai dilakukan sintesis Zn-CDs berbahan dasar asam hialuronat terdoping dengan metode pirolisis sebagai deteksi histamin pada ikan secara spektrofotometri UV-Vis. Adanya interaksi antara logam Zn dengan gugus imidazol pada histamin membuat sintesis Zn-CDs penting dilakukan untuk mengembangkan metode yang cepat, dan sensitif untuk deteksi histamin dalam menjaga keamanan pangan. Karakteristik Zn-CDs hasil sintesis dikarakterisasi dengan menggunakan *x-ray diffractometer* (XRD), spektrofotometer Raman, spektrofotometer *Fourier-transform infrared* (FTIR), *Atomic Force Microscope* (AFM), spektrofotometer dan spektrofotometer UV-Vis. Tahap dalam mendeteksi histamin menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah melalui pengujian absorbansi berbagai konsentrasi histamin, parameter validasi berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar sehingga didapat nilai $y = bx + a$ dan R^2 .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah *zinc carbon dots* (Zn-CDs) dapat disintesis dari asam hialuronat (HA) dan seng asetat dihidrat $[Zn(CH_3CO_2)_2 \cdot 2H_2O]$ sebagai dopan Zn dengan metode pirolisis?
2. Bagaimana karakteristik material hasil sintesis *zinc carbon dots* (Zn-CDs) dari asam hialuronat (HA) dan seng asetat dihidrat

[Zn(CH₃CO₂)₂·2H₂O] sebagai dopan Zn yang meliputi struktur fasa partikel, mode vibrasi ikatan antar atom, komposisi struktur, ukuran partikel dan morfologi secara 3 dimensi, gugus fungsi, transisi elektron pada panjang gelombang eksitasi dan emisi, serta sifat fluoresensi?

3. Bagaimana sensitivitas *zinc carbon dots* (Zn-CDs) untuk deteksi histamin secara spektrofotometri UV-Vis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mempelajari sintesis *zinc carbon dots* (Zn-CDs) dari asam hialuronat (HA) dan seng asetat dihidrat [Zn(CH₃CO₂)₂·2H₂O] sebagai dopan Zn dengan metode pirolisis.
2. Mengkaji karakteristik struktur fasa partikel, mode vibrasi ikatan antar atom, komposisi struktur, ukuran partikel dan morfologi secara 3 dimensi, gugus fungsi, transisi elektron pada panjang gelombang eksitasi dan emisi, serta sifat fluoresensi material hasil sintesis *zinc carbon dots* (Zn-CDs) dari asam hialuronat (HA) dan seng asetat dihidrat [Zn(CH₃CO₂)₂·2H₂O] sebagai dopan Zn.
3. Mempelajari sensitivitas *zinc carbon dots* (Zn-CDs) untuk deteksi histamin secara spektrofotometri UV-Vis.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan berdasarkan analisis struktur dan karakteristik *zinc carbon dots* (Zn-CDs) yang dihasilkan dengan metode sintesis pirolisis. Penelitian ini akan memiliki beberapa manfaat diantaranya yaitu:

1. Sintesis Zn-CDs dari asam hialuronat sebagai prekursor karbon dan seng asetat dihidrat sebagai dopan logam seng untuk deteksi histamin dapat dilakukan dengan baik karena menggunakan cara yang tepat, memiliki sensitivitas yang baik, mampu berikatan dengan histamin berdasarkan afinitasnya, dan membutuhkan waktu yang singkat untuk deteksi histamin.

2. Sintesis Zn-CDs dengan metode pirolisis dapat dilakukan secara sederhana, udah dan murah untuk dilakukan dalam mengatur pola struktur Zn-CDs hasil sintesis terutama pada proses *doping*.
3. Sintesis Zn-CDs dapat digunakan untuk *biosensing* sampel dengan kadar air tinggi seperti histamin pada ikan.