

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Histamin merupakan salah satu komponen dari kelompok amina biogenik yang terdapat dalam berbagai makanan, seperti keju, sayuran, ikan, dan lain-lain. Amina biogenik seperti histamin, tyramine, putresin, dan lain-lain dapat terbentuk dalam makanan sebagai hasil dari proses metabolisme mikroorganisme (Anggawati, 1998). Histamin terbentuk melalui dekarboksilasi terhadap asam amino histidin oleh enzim dekarboksilase eksogenus yang dihasilkan oleh mikroba pada ikan (Ndaw *et al.*, 2007).

Histamin bebas dapat ditemukan secara alami dalam makanan selama pemrosesan atau penyimpanan makanan. Histamin dengan konsentrasi tinggi dalam makanan berkaitan dengan fermentasi mikroba. Dengan demikian, histamin dapat digunakan sebagai indikator kualitas higienis makanan. Keberadaan histamin pada bahan pangan menunjukkan tingkat kebusukan bahan makanan tersebut (Huss, 1994). Histamin stabil terhadap pemanasan dan tahan terhadap proses pengalengan makanan (McLauchin *et al.*, 2005)

Dalam hal konsumsi ikan, menurut *Food and Drug Administration* (FDA), kadar histamin di atas 200 mg/kg dapat menyebabkan penyakit yang disebut keracunan tipe scombroid yaitu sejenis alergi yang diakibatkan oleh racun ikan. Beberapa gejala penyakit ini adalah gatal-gatal pada tubuh bagian atas, penurunan tekanan darah, sakit kepala, pusing, gatal-gatal pada kulit,

mual, muntah, diare dan gangguan pernapasan. Di Amerika Serikat, FDA mengatur batas maksimum histamin



mual, muntah, diare dan gangguan pernapasan. Di Amerika Serikat, FDA mengatur batas maksimum histamin 50 mg/kg (5 mg/100 g) untuk ikan segar dan ikan kaleng. Di Brazil, Kementerian Pertanian dan Peternakan Brazil telah memberikan batas maksimum histamin 100 mg/kg pada otot ikan segar dan ikan beku, serta untuk ikan kaleng. Sedangkan menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor 01-2360 tahun 2008, batas maksimum histamin dalam ikan di Indonesia sebesar 100 mg/kg.

Berbagai metode analisis telah dikembangkan untuk mendeteksi histamin antara lain: Frattini dan Lionetti, (1998) menentukan histamin dan histidin dalam sampel ikan tuna, diantaranya menggunakan *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) derivatisasi dengan *O-phthalaldehyde* dan deteksi fluorescence atau deteksi UV yang bebas dari pengganggu spesies lain. Dalam metode ini, pemisahan antara histamin dan histidin cukup baik dan dapat dideteksi dengan baik kadar histamin dan histidinya dengan sensitivitas yang cukup tinggi. Namun dalam metode ini pada langkah derivatisasi mengalami kesulitan dalam parameter linearitas dan reproduibilitinya karena ketidakstabilan yang tinggi dari turunan *O-phthalaldehyde*.

Pérez *et al.*, (2013) mengembangkan dan mengoptimalkan metode *biosensorbienzymatic* menggunakan senyawa *diamine oxidase* (DOx) dan *horseradish peroxidase* (HRP) untuk mendeteksi kandungan histamin di dalam sampel ikan. Pada metode ini analisisnya membutuhkan waktu yang singkat, batas deteksi yang rendah, serta dihasilkan sensitivitas yang tinggi.

Namun pada metode ini membutuhkan langkah preparasi sampel yang cukup banyak, serta metode ini hanya dapat diaplikasikan pada beberapa sampel seperti ikan sarden dan makarel sedangkan dalam ikan asin, tuna dan udang kurang menghasilkan korelasi yang baik.

Dari berbagai metode tersebut dikembangkanlah metode spektrofotometri yang lebih sederhana yaitu dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Metode ini diharapkan memberikan respon tertentu ketika analit direaksikan dengan suatu pereaksi tertentu. Prinsip kerja dari metode ini adalah terjadinya perubahan warna yang signifikan apabila suatu analit bereaksi dengan pereaksi tertentu (Park *et al.*, 2010).

Keunggulan dari metode ini dibandingkan dengan metode-metode yang lain adalah memiliki prosedur yang sederhana, operasional yang cepat dengan hasil yang cepat, biaya operasional yang murah, dan tidak membutuhkan teknisi dengan kemampuan khusus atau peralatan yang mahal (Park *et al.*, 2010).

Pengembangan metode ini dibuat dengan menggunakan pereaksi Cu(II) dan alizarin *red S* untuk mendeteksi kadar histamin tersebut secara spesifik dan mudah. Selama ini masih belum terdapat metode yang dapat mendeteksi kadar histamin dengan cepat dan mudah. Pereaksi Cu(II) yang digunakan sebagai pengompleks dalam bentuk senyawa tembaga (II) sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Senyawa $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ adalah senyawa yang murah dan mudah didapat. Sedangkan pereaksi alizarin *red S* merupakan turunan antrakuinon yang telah digunakan secara luas pada kimia analitik terutama

sebagai agen pengkhelat dan juga sebagai kromofor (Sufyani and Sukesi, 2009).

Rao dan Mathur (1970) mengamati termodinamika dari interaksi ion logam transisi dengan histamin. Histamin sebagai ligan dan ion Cu(II), Mn(II), Co(II), Ni(II) dan Zn(II) sebagai logam pengkompleks, dengan menggunakan rasio perbandingan antara ligan-logam sebesar 5:1. Untuk menentukan kestabilan logam dan proton dalam pelarut air yang mengandung KNO₃. Hampir semua ion logam mengikat amonia sebagai ligan kompleks, amina memainkan peran utama dalam pengembangan kimia koordinasi, sehingga dengan mudah terbentuk dari rasio logam-nitrogen yang dapat ditentukan dengan analisis unsur.

Alizarin *red S* dapat mengikat ion Cu(II) membentuk senyawa kompleks Cu(II)-alizarin *red S* (ARS). Pereaksi Cu(II)-ARS yang bermuatan positif dapat bereaksi dengan atom nitrogen (N) dalam histamin yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga akan membentuk kompleks Cu(II)-ARS-Histamin (His). Hasil reaksi Cu(II)-ARS dengan histamin akan dapat dengan mudah dideteksi secara visual dan secara spektrofotometri dengan melihat dan mengukur absorbansi dari perubahan warna kompleksnya. Dengan penggunaan pereaksi Cu(II)-ARS diharapkan dapat mendeteksi histamin dengan cepat.

Paramater yang diteliti dalam penelitian ini adalah panjang gelombang maksimum dari larutan kompleks Cu(II)-ARS-His, konsentrasi pereaksi Cu(II), konsentrasi alizarin *red S*, pH larutan serta waktu reaksi untuk

pembentukan kompleks Cu(II)-ARS-His. Dari parameter tersebut, masing-masing dicari kondisi optimumnya, kemudian ditentukan validitas metode yang meliputi linieritas, sensitivitas, limit deteksi, limit kuantitasi, akurasi (*recovery*), dan presisi (koefisien variasi).

1.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah Cu(II) dan alizarin *red S* dapat digunakan sebagai pereaksi untuk mendeteksi histamin?
2. Bagaimanakah kondisi optimum yang meliputi panjang gelombang maksimum dari larutan kompleks Cu(II)-ARS-His, pH, konsentrasi optimum dari pereaksi Cu(II), pereaksi alizarin *red S* dan waktu reaksi untuk mendeteksi histamin?
3. Bagaimanakah parameter validasi yang meliputi linieritas, sensitivitas, limit deteksi, limit kuantitas, akurasi, presisi (koefisien variasi) dan selektivitas metode spektrofotometri menggunakan pereaksi Cu(II) dan alizarin *red S* untuk mendeteksi histamin?

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kemampuan Cu (II) dan alizarin *red S* dapat sebagai pereaksi untuk mendeteksi histamin.
2. Menentukan kondisi optimum yang meliputi panjang gelombang maksimum dari larutan kompleks Cu(II)-ARS-His, pH, konsentrasi

optimum dari pereaksi Cu(II), pereaksi alizarin *red S* dan waktu reaksi untuk mendeteksi histamin.

3. Menentukan parameter validasi yang meliputi linieritas, sensitivitas, limit deteksi, limit kuantitas, akurasi, presisi (koefisien variasi) dan selektivitas metode spektrofotometri menggunakan pereaksi Cu(II) dan alizarin *red S* untuk mendeteksi histamin.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengembangkan metode yang lebih sederhana, sensitif dan selektif yang dapat diaplikasikan untuk penentuan kadar histamin, terutama dalam produk ikan.