

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Histidin

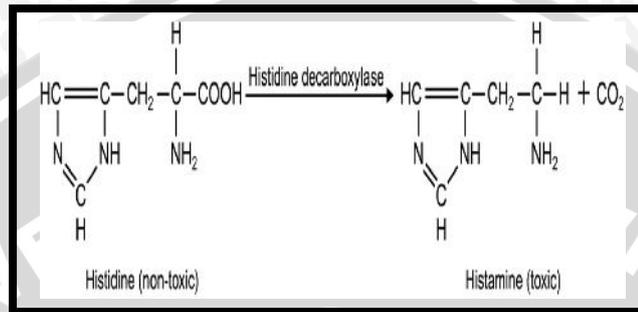
Histidin merupakan satu dari 20 asam amino dasar yang ada dalam protein. Bagi manusia histidin merupakan asam amino yang esensial bagi anak-anak. Rantai samping imidazol dan nilai  $pK_a$  yang relative netral (yaitu 6,0) berarti bahwa perubahan sedikit saja pada pH sel akan mengubah muatannya. Sifat ini menjadikan histidin sering menjadi bagian dari gugus katalitik pada enzim maupun ligan koordinasi pada metaloprotein. Histidin menjadi prekursor histamin, suatu amina yang berperan dalam system saraf dan karnosin suatu asam amino. Terdapat dua enantiomer histidin yaitu D-histidin dan L-histidin, namun yang lebih dominan adalah L-histidin (Agustiana, 2010).

Asam amino ini diperlukan pada saat pertumbuhan untuk memperbaiki jaringan tubuh dan mengubah kelebihan glukosa menjadi glikogen yang diproses di dalam hati. Histidin dikonversi tubuh menjadi histamin, yang merangsang pengeluaran asam lambung. Tetapi juga sering diperlukan suplementasi histidin sendiri pada usia lanjut, karena terjadi gangguan sintesa dan penyerapannya oleh tubuh. Defisiensi histidin dapat berakibat rasa nyeri pada sendi, dan urin yang mengandung histidin menunjukkan adanya gejala *arthritis rheumatoid* (Wikipedia, 2011<sup>e</sup>).

Histidin dapat diubah menjadi histamin selama proses pembusukan oleh bakteri pembentuk histamin yang mengandung enzim histidin dekarboksilase. Pembentukan histamin sering disebabkan oleh suhu ikan yang tinggi setelah penangkapan (Guizani *et al.*, 2005). Senyawa yang bersifat racun tersebut adalah histamin, yang merupakan suatu senyawa hasil perombakan asam amino bebas histidin. Histidin diubah menjadi histamin oleh enzim *histidine*

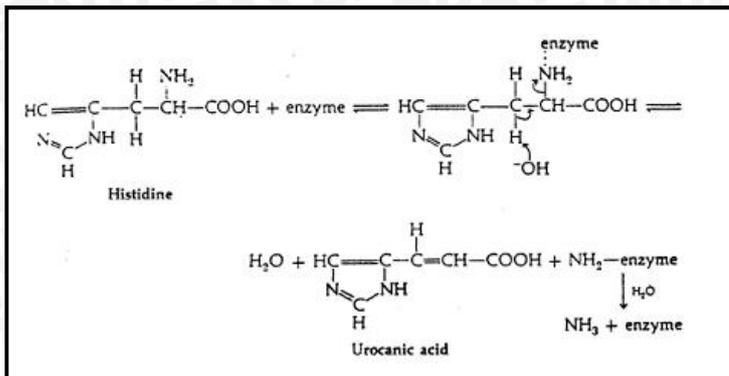
decarboxylase yang dihasilkan oleh bakteri-bakteri pembentuk histamin (Rawles *et al.*, 1995).

Ditambahkan pula oleh Taylor dan Behling (1982), bahwa histamin merupakan perubahan dari histidin yang terbentuk di dalam makanan karena aktivitas bakteri penghasil enzim histidin dekarboksilase.



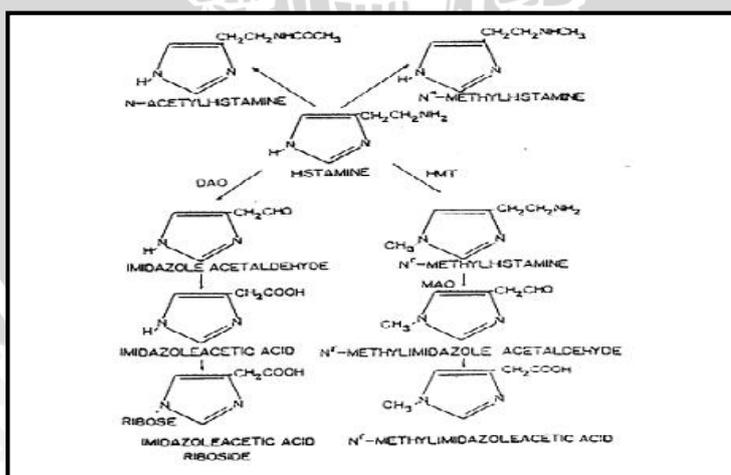
**Gambar 1.** Perubahan Histidin Menjadi Histamin (Mc Lauchlin *et al.*, 2005)

Dekarboksilasi histidin membentuk histamin, yaitu suatu reaksi di jaringan tubuh mamalia yang dikatalis oleh enzim dekarboksilase asam L-amino aromatik yang memiliki spesifitas yang luas. Enzim ini juga mengkatalis reaksi dekarboksilasi dopa, 5-hidroksi-triptofan, fenilalanin, tirosin dan triptofan. Asam amino  $\alpha$ -metil yang menghambat aktivitas dekarboksilasi digunakan di klinik sebagai anti-hipertensi (Rodwell *et al.*, 2003). Ditambahkan oleh Sims *et al.* (1992), histamin dihasilkan dari perombakan histidin yang merupakan prekursor histamin. Dalam tubuh ikan histidin tidak hanya diubah menjadi histamin melalui reaksi dekarboksilasi, namun juga oleh reaksi histidin amonia lisase (HAL) menjadi *urocanic acid* dan amonia. Hal ini dikarenakan histidin amonia lisase (HAL) memiliki distribusi yang luas pada hampir semua bakteri (Lehane and Olley, 1999). Degradasi (perubahan) histidin oleh HAL menjadi *urocanic acid* dan amonia dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



**Gambar 2.** Degradasi Histidin Menjadi *Urocanic acid* dan Amonia oleh HAL (White *et al.*, 1973 dalam Lehane dan Olley, 1999).

Kadar histamin dibawah 100 mg tidak dapat menimbulkan efek toksik, karena adanya mekanisme dari enzim diamine oksidase (DAO) dan histamin N-methyl transferase (HMT) dalam tubuh manusia yang dapat menghancurkan histamin, dimana akan mendegradasi histamin menjadi produk yang tidak berbahaya, seperti : *imidazoleacetic acid*, *methylhistamine*, *methylimidazole acetic acid*, *imidazoleacetic acid riboside*, dan *acethylhistamine*. Kemampuan enzim DAO dan HMT di dalam tubuh manusia juga dapat dihambat oleh putresin dan kadaverin. Proses katabolisme histamin pada tubuh manusia dengan adanya enzim DAO dan HMT (Taylor 1986 dalam Lehane and Olley 1999), dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini :



**Gambar 3.** Proses Katabolisme Histamin Pada Tubuh Manusia (Taylor dalam Lehane dan Olley, 1999).

## 2.2 Biogenic Amine (Histamin)

Histamin merupakan salah satu senyawa yang seringkali dianggap sebagai penyebab utama keracunan makanan yang berasal dari ikan dan produk perikanan (Kusmarwati, 2008). Histamin adalah senyawa amina biogenik yang terbentuk dari asam amino histidin akibat reaksi dengan enzim *decarboxylase*. Amina biogenik diproduksi pada jaringan ikan oleh bakteri dari famili Enterobacteriaceae, seperti *Morganella*, *Klebsiella*, dan *Hafnia* yang menghasilkan enzim histidin *decarboxylase*. Bakteri yang secara alami terdapat pada insang dan usus ikan akan menyebar ke seluruh bagian tubuh selama proses penanganan (Sumner *et al.*, 2004).

Histamin umumnya terbentuk dari fraksi protein yang bereaksi dengan enzim-enzim dan merupakan hasil metabolisme *anaerob post mortem*, yakni terjadi setelah kematian makhluk hidup. Sehingga, kasus alergi hanya terjadi bila makanan hasil laut yang dikonsumsi kadaluarsa atau kualitas tidak lagi baik. Karena komposisi kimiawi berubah oleh aktivitas enzim-enzim atau oleh aktivitas mikroorganisme pembusuk (Agustiana, 2010). Pembentukan histamin pada ikan dipengaruhi 3 faktor, yaitu keberadaan bakteri histidin dekarboksilasi, kandungan histidin bebas pada ikan, dan faktor lingkungan (suhu dan waktu penanganan) (Lehane dan Olley, 1999).

Histamin adalah terdapat pada berbagai bahan pangan seperti ikan, daging merah, keju dan makanan fermentasi (Keer *et al.*, 2002). Seperti masalah yang dihadapi dalam pembuatan ikan pindang adalah terbentuknya suatu senyawa yang dapat menyebabkan keracunan yaitu biogenik amin akibat sanitasi yang buruk selama pengolahan maupun penyimpanan. Senyawa biogenik amin yang sering terbentuk pada ikan pindang adalah histamin (Danur, 1993).

Berbagai jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim histidin dekarboksilase (HDC) termasuk famili Enterobacteriaceae dan Bacillaceae (Staruszkiewicz, 2002 dalam Allen, 2004). Umumnya spesies *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klasiella*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Streptococcus* menunjukkan aktivitas dekarboksilase asam amino (Kanki *et al.*, 2002 dalam Allen, 2004).

Biogenik amina merupakan komponen dasar nitrogen yang dibentuk terutama oleh dekarboksilasi asam amino atau dengan transminasi dari aldehid dan keton. Biogenik amin merupakan sumber nitrogen dan prekursor untuk sintesis hormon, alkaloid, asam nukleat dan protein. Mereka juga dapat mempengaruhi proses dalam organisme seperti pengaturan suhu tubuh, asupan gizi, kenaikan atau penurunan tekanan darah (Karovicova *et al.*, 2003).

Satuan kadar histamin dalam daging ikan dapat dinyatakan dalam mg/100 g ; mg % atau ppm (mg/1000g). Kandungan histidin bebas pada jaringan ikan scombroid lebih tinggi dibandingkan dengan spesies ikan lainnya sehingga meningkatkan potensi peningkatan kadar histamin, khususnya untuk penyimpanan dan penanganan yang salah (Ababuch *et al.*, 1985 dalam Keer *et al.*, 2002).

Menurut Yoguchi *et al.* (1990) yang mengatakan bahwa penyimpanan ikan pada suhu 25°C selama 24 jam dapat meningkatkan kandungan histamin hingga 120 mg/100 g. Ditambahkan oleh Ozogul *et al.*, (2004) ikan yang benar-benar segar kadar histaminnya dibawah 10 mg/100g. Sedangkan Wonggo (1995) menyatakan bahwa pada umumnya kadar histamin yang sudah dianggap berbahaya dan dapat menimbulkan keracunan adalah 50-100 mg/100g. Ditambahkan oleh Sally *et al.* (1980), tingginya kandungan histamin ini disebabkan karena aktifitas bakteri dan enzim yang berperan dalam penguraian

histidin menjadi histamin yang bekerja optimal pada suhu kamar (28-32°C). Suhu optimum untuk produksi histamin dari beberapa jenis ikan berkisar antara 20-30°C.

Kandungan biogenik amin pada makanan, dipengaruhi oleh faktor tertentu seperti pertumbuhan bakteri, tersedianya asam-asam amino bebas, perkembangan mikrobia, availabilitas dari amino asam bebas, adanya enzim dekarboksilase dan kondisi suhu. Enzim yang dilibatkan dalam produksi histamin, adalah *histidine decarboxylase*, dimana suhu optimumnya adalah 15°C - 30°C. Pertumbuhan bakteri akan terhenti pada suhu di bawah 5°C, tetapi aktivitas *enzymatic* akan tetap berlanjut, yang akan menghasilkan dalam produksi amin selanjutnya (Ahmed, 1991).

Histamin merupakan senyawa yang penting dalam racun scromboid (racun yang ada di dalam ikan jenis scromboidae), tetapi gejalanya tidak tampak ketika diaplikasikan dengan obat anti-histamin. Histamin bukan hanya senyawa yang responsiv untuk racun scromboid, karena tidak begitu beracun bila ikan tersebut dimakan secara langsung atau dalam keadaan segar. Racun histamin akan bertambah ketika bersama dengan senyawa amin yang lain, seperti putrescine dan cadaverin (Rodriguez *et al.*, 1994).

### 2.3 Bakteri Penghasil Histamin

Bakteri yang memiliki enzim histidin dekarboksilase atau biasa disebut bakteri penghasil histamin, sebagian besar termasuk ke dalam famili Enterobacteriaceae . Diketahui banyak jenis bakteri yang mampu menghasilkan histidin dekarboksilase seperti *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumonia*, *Hafnia alvei*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus* spp., *Enterobacter aerogeneses*, *Klebsiella* spp., *Aeromonas* spp., *Escherichia* spp., *Salmonella*

spp., *Shiegella* spp., *Photobacterium* spp., dan *Vibrio* (Wei *et al.*,1990 dalam Kusmarwati, 2008).

Bakteri penghasil histamin adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim histidin dekarboksilase, suatu enzim yang diperlukan dalam proses dekarboksilasi, perubahan dari histidin menjadi histamin. Pada ikan-ikan Scombroidae, adanya bakteri penghasil histamin akan menyebabkan terbentuknya histamin karena histidin bebas yang terdapat dalam daging ikan diubah menjadi histamin (Indriati *et al.*, 2006).

Menurut Huss (1994), bakteri penghasil histamin termasuk pada golongan Enterobacteraceae, beberapa *Vibrio* sp, *Clostridium* dan *Lactobacillus* sp. Penghasil histamin paling banyak dalah *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumonia* dan *Hafina alvei*. Bakteri utama yang merupakan bakteri histidin dekarboksilase, yang dapat meningkatkan kandungan histamin pada ikan, yaitu *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumonia* dan *Hafnia alvei* (Taylor 1983). Keer *et al.* (2002) menambahkan jenis bakteri yang mampu memproduksi histamin dari histidin dalam jumlah tinggi yaitu *Proteus morganii* (*bigeye*, *skipjack*), *Enterobacteri aerogenes* (*skipjack*), *Clostridium perfringens* (*skipjack*).

### 2.3.1 Bakteri *Bacillus* sp

Menurut Holt *et al.* (1994), *Bacillus* sp merupakan bakteri aerob, gram positif, berbentuk batang dengan ukuran diameter 1,2-1,5 mikrometer dan panjang 2,0-2,4 mikrometer, bentuk sel-sel silindris sampai oval atau bentuk pear, dan motil endospora kebanyakan dibentuk dalam waktu 48 jam dengan Suhu optimum untuk pertumbuhannya antara 28°C – 35°C dan suhu maksimumnya antara 40°C – 45°C. Dalam media glukosa agar, bentuk batangnya terkadang lebih panjang dan besar diameter sampai 3 µm/ lebih pada beberapa strain. *Bacillus* sp memerlukan aerasi untuk memacu pertumbuhan,

spora bervariasi dari oval pendek hingga memanjang pada beberapa strain, tudung spora terwarnai dengan fuchsin. Pada nutrient agar tampak tumbuh bertumpuk-tumpuk, non spreading, mengkilap, kadang-kadang rugose samping. Pada media agar biasanya berwarna kuning pada inkubasi lama pertumbuhan dan medium menjadi coklat atau hitam.

Klasifikasi bakteri *Bacillus megaterium* dalam Zipcodezoo (2011<sup>a</sup>), adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus megaterium</i>

Mikroba yang berperan dalam pelarutan fosfat adalah bakteri, jamur dan aktinomisetes. Dari golongan bakteri antara lain: *Bacillus firmus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. polymixa*, *B. megatherium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* dan *Mycobacterium* (Nursanti dan Madjid, 2009).

Bakteri *Bacillus megaterium* ini akan tumbuh pada media glukosa. Selain itu media juga mengandung asam dari arabinose, silose dan manitol. Pertumbuhan bakteri pada media mengalami peleburan secara aktif dari nutrisi gelatin, casein dicerna secara aktif dan fenilalanin diaminasi, nitrat diasimilasi tetapi bukan akumulasi nitrit pada medium (Holt *et al.*, 1994).

*Bacillus* merupakan bakteri yang berbentuk basil dimana bakteri jenis ini merupakan bakteri pengurai dari protein menjadi senyawa sederhana, *Bacillus* sendiri terbagi atas 2 golongan yaitu yang bersifat proteolitik dan patogen dimana bakteri jenis patogen seperti *Bacillus anthracis* yang merupakan bakteri berbahaya pembawa penyakit antraks khususnya pada hewan ternak seperti sapi, sedangkan yang bersifat proteolitik yaitu yang mampu menguraikan protein dan

dapat menghasilkan senyawa lain seperti penisilin dan lain sebagainya. Sebagai contoh sebagai berikut :

- *Bacillus brevis*, menghasilkan terotrisin
- *Bacillus subtilis*, menghasilkan basitrasin
- *Bacillus polymyxa*, menghasilkan polimixin



Gambar 4. *Bacillus megaterium*

### 2.3.2 *Enterobacter* sp

*Enterobacter gergoviae* adalah bakteri gram-negatif, fakultatif-anaerob, berbentuk batang dan merupakan bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae. Beberapa koloni dari bakteri ini patogen dan menyebabkan infeksi oportunistik dalam. Kandung kemih dan saluran pernafasan adalah bagian yang sering terinfeksi. Akan tetapi, bakteri *Enterobacter gergoviae* juga mempunyai manfaat lain yaitu sebagai pelarut zat P dalam meremediasi tanah tercemar (Wikipedia, 2010<sup>a</sup>).

Nursanti dan Madjid (2009) mengatakan bahwa, bakteri pelarut P (*Pseudomonas putida* dan *Enterobacter gergoviae*) mampu meningkatkan kelarutan P pada tanah ultisol. *Enterobacter gergoviae* tidak memfermentasi D-sorbitol. Untuk penghasil  $\beta$ -xilosidase dan gelatinase hasil dari bakteri ini adalah negatif dan positif. Bakteri ini merupakan bakteri penghasil ODC dan LDC, tetapi tidak menghasilkan ADH.

*Enterobacter gergoviae* adalah urease-positif, sedangkan spesies *Enterobacter* lainnya adalah urease-negatif. *Enterobacter gergoviae* kadang muncul menjadi patogen oportunistik dan telah diisolasi dari urin, nanah, dahak, darah dan spesimen klinis lainnya. Spesies ini telah terlibat dalam sebuah wabah nosokomial infeksi saluran kemih (Richard *et al.*, 1976 dalam Krieg, 1989).



**Gambar 5.** *Enterobacter gergoviae*

Klasifikasi bakteri *Enterobacter gergoviae* dalam Wikipedia (2010<sup>d</sup>), adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Enterobacter</i>
Spesies	: <i>Enterobacter gergoviae</i>

### 2.3.3 Bakteri *Planococcus* sp

*Planococcus* sp. dapat ditemukan pada tanah yang hiper salin, barang-barang yang mengandung garam tinggi dan makanan laut makarel (Rodriguez, 1988). Klasifikasi bakteri *Planococcus citreus* dalam Zipcodezoo (2011<sup>b</sup>), adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Hemiptera
Famili	: Pseudococcidae
Genus	: <i>Planococcus</i>
Spesies	: <i>Planococcus citreus</i>



**Gambar 6.** *Planococcus citreus*

*Planococcus* sp. 1, bentuk selnya bulat, diameter koloninya 1,0-1,2  $\mu\text{m}$ . koloni muncul di atas permukaan media NA. Warna koloninya orange. penataan selnya strepto, termasuk kepada bakteri gram positif, berdasarkan pergerakannya termasuk ke dalam bakteri yang mampu bergerak (motilitas positif). Kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob. Katalase positif. Temperatur optimumnya adalah 27-37 $^{\circ}\text{C}$ . *Planococcus* sp. 2, bentuk selnya bulat, diameter koloninya 1,0-1,2  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA. Warna koloninya putih keruh, penataan selnya mono, diplo dan strepto, termasuk kepada bakteri gram positif, berdasarkan pergerakannya termasuk ke dalam bakteri yang mampu bergerak (motilitas positif). Kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob. Katalase positif, gelatin positif, temperatur optimumnya adalah 27-37 $^{\circ}\text{C}$  (Usu, 2011).

*Planococcus citreus* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat atau kokus yang berhabitat di lautan yang sangat toleran dengan kondisi garam yang tinggi dan tidak bersifat patogen terhadap tanaman (Holt *et al.*, 1994).

#### 2.4 *In Vitro*

*In vitro* ( bahasa Latin : dalam kaca) dilakukan tidak dalam hidup organisme tetapi dalam lingkungan terkontrol, misalnya di dalam tabung reaksi atau cawan petri . Banyak percobaan biologi seluler dilakukan di luar organisme atau sel, karena kondisi pengujian mungkin tidak sesuai dengan kondisi di dalam

organisme, ini dapat mengakibatkan hasil yang tidak sesuai dengan situasi yang muncul dalam organisme hidup. Akibatnya, hasil eksperimen tersebut sering dijelaskan dengan *in vitro* (Pharmacy, 2011).

Jenis penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh dari variabel eksperimental pada subset dari bagian pokok suatu organisme. Hal ini cenderung untuk memfokuskan pada organ, jaringan, sel, komponen sel, protein dan biomolekul. Dalam penelitian *in vitro* yang lebih cocok dibandingkan *in vivo* penelitian untuk menyimpulkan mekanisme tindakan biologis (Veterine, 2010).

*In vitro* (bahasa Latin : dalam kaca) dilakukan tidak dalam hidup organisme tetapi dalam lingkungan terkontrol, misalnya di dalam tabung reaksi atau cawan petri. Banyak percobaan biologi seluler dilakukan di luar organisme atau sel, karena kondisi pengujian mungkin tidak sesuai dengan kondisi di dalam organisme. Dapat mengakibatkan hasil yang tidak sesuai dengan situasi yang muncul dalam organisme hidup. Akibatnya, hasil eksperimen tersebut sering dijelaskan dengan *in vitro* (Putera, 2010).

*In vitro* (dari bahasa Latin, berarti "di dalam kaca") adalah istilah yang dipakai dalam biologi untuk menyebutkan kultur suatu sel, jaringan, atau bagian organ tertentu di dalam laboratorium. Istilah ini dipakai karena kebanyakan kultur artifisial ini dilakukan di dalam alat-alat laboratorium yang terbuat dari kaca, seperti cawan petri, labu erlenmeyer, tabung kultur, botol, dan sebagainya. Kultur jaringan dan berbagai variasinya biasa disebut sebagai pembiakan *in vitro* (Wikipedia, 2011<sup>b</sup>).

Kultur *In Vitro* adalah suatu teknik untuk mengisolasi, sel, protoplasma, jaringan, dan organ dan menumbuhkan bagian tersebut pada nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman pada kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman sempurna kembali (Hamdan, 2008).

## 2.5 Metabolit Primer dan Metabolit Sekunder

### 2.5.1 Metabolit Primer

Metabolit primer adalah persenyawaan-persenyawaan yang merupakan produk akhir atau produk antara yang dihasilkan dari proses metabolisme sel, yang mempunyai bobot molekul rendah sebagai penyusun molekul yang lebih besar, atau dikonversi menjadi koenzim. Diantaranya asam organik, nukleotida dan vitamin (Judoamidjojo, 1992).

Metabolit primer adalah senyawa yang termasuk produk akhir yang mempunyai berat molekul rendah dan dihasilkan pada fase eksponensial oleh mikroba. Senyawa digunakan sebagai bahan dasar pembangun makromolekul atau dikonversikan menjadi koenzim. Contohnya asam-asam organik seperti asam sitrat, asam fumarat dan asam amino. Dalam memproduksi senyawa metabolit primer harus dipilih mikroba yang potensial untuk digunakan sebagai *bacteriosin* (Dharma, 2005).

Metabolit primer adalah senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dibutuhkan oleh mikroba tersebut untuk pertumbuhannya. Metabolit primer antara lain asam laktat dan alkohol (Kunaepah, 2008).

### 2.5.2 Metabolit Sekunder

Menurut Sumarno (1992), metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh suatu sel atau organ suatu organisme tetapi tidak dimanfaatkan langsung sebagai sumber energi sel atau organ yang membuatnya. Senyawa itu memainkan senyawa penting dalam kehidupan organisme yang bersangkutan. Metabolit sekunder ini bersifat spesifik sehingga setiap sel dalam suatu organisme belum tentu memilikinya. Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam setiap jenis organisme yang berbeda, hal ini karena kemampuan sel dalam organ untuk melakukan biosintesis metabolit sekunder

tersebut sangat tergantung akan jenis enzim yang tersedia. Ciri khusus metabolit sekunder antara lain :

1. Struktur kimianya bermacam-macam, dan penyebarannya sangat terbatas dalam organisme ataupun dalam organ tertentu dalam suatu makhluk hidup.
2. Pembentukannya secara biosintesis sangat dipengaruhi oleh enzim, dan aktivitasnya serta genetik tertentu.
3. Maupun faktor pembeda antar sel dalam perkembangan suatu organism
4. Kurang penting bagi sel penghasil, tetapi sangat berguna dalam seluruh kesatuan kehidupan organisme penghasil

Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme yang disintesis oleh beberapa mikroba tertentu yang tidak merupakan kebutuhan pokok mikroba untuk hidup dan tumbuh. Beberapa contoh metabolit sekunder adalah antibiotika, pigmen, vitamin dan steroid. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, namun metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup. Metabolit ini tidak diproduksi pada waktu pertumbuhan sel secara cepat (pada fase logaritmik atau tropase), tetapi biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhan (pada idiofase). Biasanya pada akhir siklus pertumbuhan sel mikroba (Judoamidjojo, 1992).

Metabolit sekunder pada suatu organisme hidup merupakan suatu senyawa kimia yang diproduksi sebagai respon terhadap lingkungannya, salah satunya sebagai sistem pertahanan diri (Sijabat, 2009).

Metabolit sekunder merupakan hasil metabolisme yang tidak digunakan untuk proses pertumbuhan, tetapi misalnya untuk pertahanan diri, contohnya adalah protein, asam lemak, karbohidrat, senyawa antimikroba, dan lain-lain. Umumnya metabolit sekunder berasal dari metabolit primer dimana memiliki karakter yang unik pada setiap mikroorganisme karena bergantung pada

lingkungan tempat hidupnya. Contoh metabolit sekunder dari mikroorganisme antara lain antibiotik, pigmen dan vitamin (Wibowo, 2006).

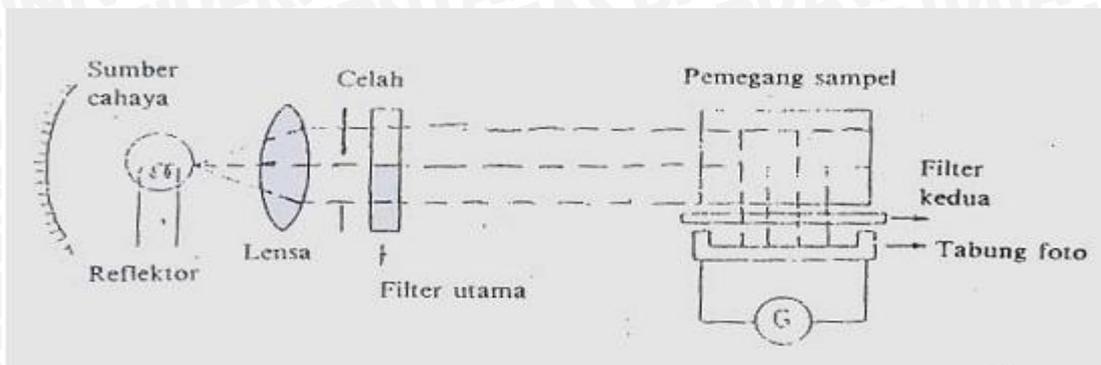
Menurut Dharma (2005), mikroba mampu mensintesis senyawa metabolit sekunder pada fase pertumbuhan stasioner. Senyawa metabolit sekunder tersebut digunakan sebagai nutrisi darurat untuk mempertahankan hidupnya. Metabolit sekunder dapat tergolong sebagai antibiotik biopestisida, mikotoksin, pigmen, alkaloid dan enzim.

## 2.6 Uji Spektrofluorometri

Spektrofluorometri adalah metode analisis kimia kuantitatif yang berdasarkan *fluorescence*. *Fluorescence* dan *phosphorescence* adalah bagian dari photoluminescence, yaitu tipe spektroskopi optik dimana sebuah molekul tereksitasi dengan mengabsorpsi ultraviolet, sinar tampak dan radiasi inframerah dekat. Molekul tereksitasi akan kembali kepada keadaan dasar atau ke tingkat eksitasi lebih rendah, dengan mengemisikan sinar. Sinar yang diemisikan inilah yang akan diukur (Muslim, 2010).

Dalam diktat kuliah (2007), Pada umumnya cahaya yang diemisikan oleh larutan berfluoresensi mempunyai intensitas maksimum pada panjang gelombang yang biasanya 20 nm hingga 30 nm lebih panjang dari panjang gelombang radiasi eksitasi (gelombang pita penyerapan sinar yang membangkitkannya). Pengukuran intensitas fluoresensi dapat dilakukan dengan suatu fluorometer filter sederhana. Instrument yang dipergunakan bermacam-macam mulai dari yang paling sederhana (filter fluorometer) sampai ke yang sangat kompleks yaitu spektrofotometer.

Komponen-komponen utama dari masing-masing instrument ini yaitu :



**Gambar 7.** Diagram Optik Fluorometer

Menurut Wanenoor (2010), peralatan pokok spektrofluorometer adalah :

- Sumber spektrum yang kontinyu misalnya dari jenis lampu merkuri atau xenon.
- Monokromator (M1) untuk menyinari sampel dengan panjang gelombang tertentu.
- Monokromator kedua (M2) yang pada iradiasi konstan dapat dipakai menentukan panjang gelombang spectrum fluoresensi sampel.
- Detector berupa fotosel yang sangat peka misalnya fotomultiplier merah untuk panjang gelombang lebih besar dari pada 500 nm.
- Amplifier untuk mengandakan radiasi dan meneruskan ke pembacaan.



**Gambar 8.** Alat Spektrofluometri (Perkin; Elmer, 1981).

Metode spektrofotometri adalah suatu metode pengukuran berdasarkan sinar yang berfluoresensi. Fluoresensi adalah gejala dari suatu molekul setelah radiasi cahaya, melepas kembali radiasi tadi dengan panjang gelombang yang lebih panjang. Fluoresensi akan nampak jelas apabila penyerapan sinar pada daerah ultraviolet dan melepaskannya dalam daerah gelombang (Wanenoer, 2010).

