

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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).

Ada dua macam histidin dalam daging ikan, yaitu histidin bebas yang akan diubah menjadi histamin dan histidin terikat dalam protein (Sims *et al.*, 1992). Histidin bebas yang terdapat dari daging ikan erat sekali hubungannya dengan terbentuknya histamin dalam daging. Semua daging yang berwarna gelap tinggi kandungan histidin bebasnya (Keer *et al.*, 2002).

Histamin merupakan komponen yang kecil, mempunyai berat molekul rendah yang terdiri atas cincin imidazol dan sisi rantai etilamin dimana salah satu amin biogeniknya berpengaruh pada efek fisiologis manusia dan juga termasuk dalam komponen tidak larut air (Aflal *et al.*, 2006). Histamin adalah senyawa biogenik amin hasil perombakan asam amino histidin bebas yang berada dalam daging ikan yang diproduksi secara biologis oleh bakteri melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas (Keer *et al.*, 2002). Faktor-faktor yang mempengaruhi perombakan histidin menjadi histamin adalah faktor waktu,

temperatur, jenis dan banyaknya mikroflora bakteri yang terdapat dalam tubuh ikan (Sims *et al.*, 1992).

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*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Photobacterium*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Streptococcus* menunjukkan aktivitas dekarboksilase asam amino (Kanki *et al.*, 2002 dalam Allen, 2004).

Bakteri jenis *Acinetobacter baumannii* dapat mengkatalis senyawa L-Histidin sehingga pembentukan histamin dapat dipercepat sedangkan bakteri *Nitrococcus* sp merupakan bakteri pengurai nitrit yang memiliki kemampuan yang rendah dalam menguraikan histidin. Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme yang disintesis oleh beberapa mikroba tertentu yang tidak merupakan kebutuhan pokok mikroba untuk hidup dan tumbuh. 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) (Judoamidjojo, 1992).

Penelitian ini menggunakan teknik *in vitro* yang bertujuan agar dapat digunakan sebagai alternatif dalam penguraian histidin oleh bakteri karena lebih murah, cepat dan hasil yang akurat dibandingkan teknik *in vivo*. Menurut Putera (2010), *in vivo* (bahasa Latin "dalam hidup") adalah eksperimen dengan menggunakan keseluruhan hidup organisme sebagai lawan dari sebagian organisme yang mati, atau *in vitro* dalam lingkungan yang terkendali. Untuk melihat peranan penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter baumannii* terhadap penguraian histidin menjadi histamin dilakukan percobaan dengan menggunakan teknik *in vitro*. Teknik *in vitro* adalah teknik

yang dilakukan tidak dalam hidup organisme tetapi dalam lingkungan terkontrol, misalnya di dalam tabung reaksi atau cawan petri. Salah satu jenis metode yang termasuk dalam teknik *in vitro* adalah metode spektrofotometri. Spektrofotometri 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 (Widodo, 2010). Kurangnya pengetahuan mengenai penguraian histidin dengan menggunakan mikroba tersebut melatar belakangi penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Saat ini usaha dalam pembentukan histamin telah banyak dilakukan salah satunya adalah dengan cara bioaugmentasi, tetapi cara tersebut belum banyak dilakukan dan diketahui manfaatnya oleh masyarakat. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai pembentukan histamin dari histidin murni dengan penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter baumannii* dengan metode *in vitro* dimana metabolit bakteri dapat menghasilkan enzim yang lebih spesifik seperti enzim dekarboksilase dibandingkan bakteri itu sendiri sehingga dari uraian di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- apakah penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp mampu mempengaruhi pembentukan histamin dari histidin murni?
- pada lama waktu berapakah proses metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp memberikan hasil yang maksimal terhadap pembentukan histamin dari histidin murni?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- untuk mengetahui bahwa penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp mampu mempengaruhi pembentukan histamin dari histidin murni.
- untuk mengetahui lama waktu proses metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp dalam memberikan hasil yang maksimal pada pembentukan histamin dari histidin murni.

1.4 Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini adalah :

- diduga penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter baumannii* mampu mempengaruhi pembentukan histamin dari histidin murni.
- diduga pada lama waktu tertentu proses metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp dapat memberikan hasil yang maksimal pada pembentukan histamin dari histidin murni.

1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada pihak-pihak yang berkepentingan tentang manfaat dari penambahan metabolit dari bakteri *Nitrococcus* sp dan *Acinetobacter* sp terhadap pembentukan histamin dari histidin murni secara *in vitro*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan UPT Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya pada bulan Agustus sampai Desember 2011.