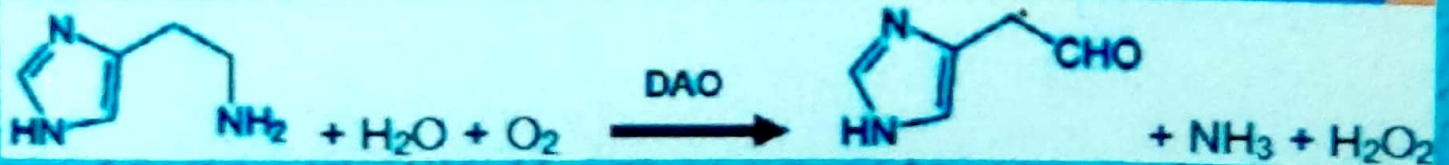
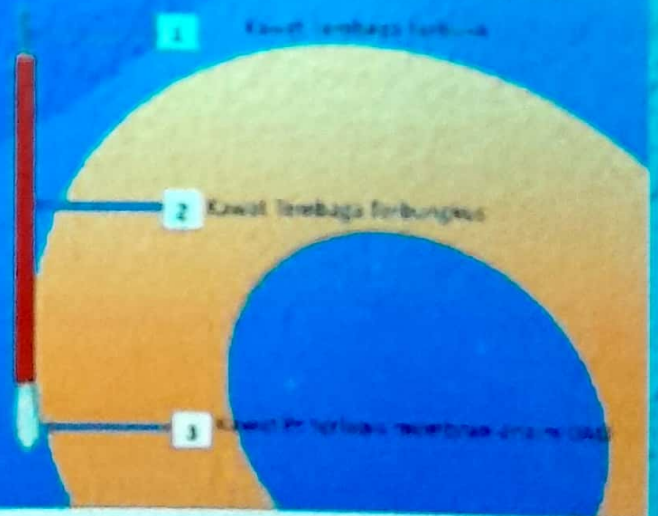


DESAIN ELEKTRODA ENZIM DIAMIN OKSIDASE DENGAN MEMBRAN KITIN UNTUK BIOSENSOR KESEGARAN IKAN TUNA DAN CAKALANG SECARACEPAT



BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN DAERAH
PROVINSI SULAWESI SELATAN
2014

LAPORAN PENELITIAN

DESAIN ELEKTRODA ENZIM DIAMIN OKSIDASE DENGAN MEMBRAN
KITIN UNTUK BIOSENSOR KESEGRAN IKAN TUNA DAN
CAKALANG SECARACEPAT



BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN DAERAH
(BALITBANGDA)
PROVINSI SULAWESI SELATAN

2014

**DESAIN ELEKTRODA ENZIM DIAMIN OKSIDASE DENGAN MEMBRAN
KITIN UNTUK BIOSENSOR KESEGERAN IKAN TUNA DAN
CAKALANG SECARA CEPAT**

Tim Peneliti: Abdul Karim, Indah Raya, Erna Mayasari, Nurfika Ramdani,
Abdur Rahman Arif

Penyelarasakhir : Nur Ina

Tim Editing:

Nur Ina, Muslih Radi Abdullah, Faisah, Nur Anti

Diterbitkan Oleh:

**Badan Penelitian dan Pengembangan
Daerah Provinsi Sulawesi Selatan**

Cetakan Pertama Oktober 2014

Hak Cipta@2014

**Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah (Balitbangda)
Provinsi Sulawesi Selatan**

**Hak Cipta dilindungi Undang-Undang Dilarang mengutip
atau menyebarkan sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa
izin tertulis dari penerbit**

ISBN 978-979-716-085-2

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penelitian dan penyusunan laporan ini dapat terlaksana dengan baik.

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan karena semakin menurunnya volume ekspor ikan tuna dan cakalang dari Indonesia, sementara potensi ikan tuna dan cakalang untuk keperluan ekspor masih sangat besar. Potensi ikan tuna dan cakalang dapat dimaksimalkan jika kualitas khususnya kadar histamin dapat ditekan serendah mungkin. Kadar histamin dapat diketahui dengan cepat menggunakan alat biosensor histamin. Bagian terpenting dari biosensor histamin adalah elektroda enzim DAO.

Penelitian ini akan memperoleh komposisi membrane elektroda enzim DAO yang tepat untuk mendeteksi histamin yang ada di dalam sampel ikan. Desain elektroda enzim DAO diharapkan dapat menghasilkan prototype elektroda enzim DAO yang dapat dijadikan dasar untuk pengukuran histamin yang terdapat pada ikan tuna dan cakalang.

Kegiatan ini terlaksana atas bantuan dan kerjasama yang baik antara Balitbangda Provinsi Sulawesi-Selatan dengan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) UNHAS, serta semua pihak yang telah membantu dan mendukung penelitian ini.

Akhir kata terima kasih kepada Pemerintah Provinsi Sulawesi-Selatan dan LP2M-UNHAS yang telah memfasilitasi secara finansial maupun non finansial kegiatan ini. Harapan ke depan semoga penelitian ini dapat memberikan solusi terhadap permasalahan ekspor ikan tuna dan

Meunasah, Desember 2014
Kepala Badan

J. D. S. Muhammad Firda, M.Si
Pangkat Pembina Utama Muda
NIP. 19631231 198803 1 132

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendesain elektroda enzim diaminoksidase (DAO) yang diharapkan dapat digunakan sebagai biosensor kesegaran ikan tuna dan cakalang secara cepat. Penelitian ini diawali dengan mengisolasi kitin dari limbah kulit/ kepala udang, selanjutnya dibuat elektroda enzim DAO dengan membran kitin-selulosa asetat dalam berbagai perbandingan konsentrasi. Elektroda enzim DAO sebagai biosensor histamine dibandingkan dengan spektrofotometri sebagai metode standar yang digunakan untuk analisis histamin berdasarkan metode SNI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitin dapat diperoleh dari limbah kulit/ kepala udang dengan residu 28,29% dan perbandingan kitin selulosa asetat yang tepat sebagai membran elektroda enzim DAO adalah 2:1. Perbandingan hasil pengukuran histamine menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan antara metode elektroda enzim DAO dengan spektrofotometri.

Kata kunci: diaminoksidase, histamin, membran, elektroda enzim

ABSTRACT

The research aim to design of diamine oxidase enzyme electrode (DAO) expecting to be used as biosensors tuna and skipjack tuna fish freshness rapidly. The first is isolating chitin from waste leather/shrimp shell. The DAO enzyme- electrode made chitin-cellulose acetate membrane in many variance concentrations. DAO enzyme biosensor electrode as histamine compared with spectrophotometry using as a standard method for the histamine analysis, SNI method. The results showed that chitin can be obtained from waste shrimp shell with residue is 28.29% and the ratio of chitin and cellulose acetate membranes in DAO enzyme electrode are 2 : 1. The histamine measurement results showed that there is no significant differences with DAO enzyme electrode with spectrophotometry method.

Keywords: diamine oxidase, histamine, membrane, enzyme electrode

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
SUSUNAN TIM PENELITI	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Sensor Elektrokimia (Biosensor)	6
B. Histamin	12
C. Enzim Diamin Oksidase	18
D. Ikan Tuna dan Cakalang	23
E. Kitin dan Kitosan	25
F. Glutaraldehyd	28
G. Kerangka Pemikiran, Hipotesis dan Definisi Operasional	30
III. METODOLOGI PENELITIAN	34
A. Desain Penelitian	34
B. Waktu dan Tempat Penelitian	34
C. Alat dan Bahan yang Digunakan	34
D. Prosedur Kerja	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
V. KESIMPULAN, SARAN DAN REKOMENDASI	50
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	59

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produk perikanan merupakan salah satu andalan ekspor untuk memperoleh pendapatan nasional. Salah satu jenis produk perikanan yang potensial untuk diekspor adalah ikan tuna dan cakalang. Namun, ekspor tuna segar telah terhambat oleh beberapa masalah kualitas, khususnya karena tingginya kandungan histamin dan logam berat. *Food and Drug Administration* (FDA) melaporkan bahwa selama periode tahun 2001-2005, ada 350 kasus penolakan tuna di AS karena masalah tersebut. Demikian juga, dalam beberapa tahun terakhir, ekspor tuna dari Indonesia ke Negara-negara anggota Uni Eropa telah mengalami RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) dan suspensi ekspor oleh Komisi Eropa. (Widiastuti dan Putro, 2012).

Ikan tuna dan cakalang merupakan family Scombridae, mengandung histidin bebas yang tinggi dalam jaringan dagingnya. Melalui proses dekarboksilasi histidin akan menghasilkan histamine yang dalam konsentrasi tertentu yang dapat menimbulkan reaksi alergi atau keracunan yang gejalanya dapat berupa sakit kepala, kejang, mual, muka dan leher kemerah-merahan, tubuh gatal-gatal, mulut dan kerongkongan terasa terbakar, bibir membengkak, badan lemas dan muntah-muntah (Eitnenmiller et al., 1982)

Histamin adalah senyawa amina biogenic yang dapat digunakan sebagai indikator kesegaran/kerusakan ikan. Kandungan histamin pada ikan segar adalah rendah tetapi pada ikan busuk atau rusak kandungannya menjadi tinggi (Nogous et al., 1990). Pembentukan histamin setiap spesies

berbeda tergantung dari kandungan histidin bebasnya, tipe dan banyaknya bakteri yang menunjang proses dekarboksilasi, pH dan temperature.

Pada daging ikan mekanisme pembentukan histamin bias berupa autolysis maupun karena aktivitas mikroba (Kimata, 1981). Autolisis daging ikan mulai berlangsung secara bikimia setelah ikan mati, terutama pada daging sekitar perut. Kecepatan proses autolisis dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah proses autolisis dapat diperlambat tetapi tidak dapat dihentikan sama sekali (Ilyas, 1983).

Penelitian telah banyak dilakukan guna menemukan metode terbaik untuk mendeteksi dan menentukan tingkat histamin dalam ikan dan makanan turunannya. Saat ini analisis histamin dapat dilakukan dengan metode KCKT dan spektrofotometri BSN, (2009). Kedua metode ini membutuhkan tenaga khusus yang terlatih dan terampil karena metodenya memerlukan preparasi awal sampel yang cukup rumit, disamping itu juga peralatannya relatif mahal. Untuk mengurangi waktu yang diperlukan pada analisis dan untuk menawarkan metode skrining cepat pada pengujian kualitas industri makanan, beberapa metode enzimatik dan sejumlah sensor enzim telah diuraikan sejauh ini oleh beberapa peneliti (Wimmerova et al, 1999). Aplikasi biosensor secara umum menunjukkan berbagai keuntungan seperti memungkinkan analisis yang lebih cepat dengan preparasi/pengolahan sampel yang kurang bahkan tidak diperlukan (Lange, dan Wittmann, 2001)

Analisis dengan biosensor diharapkan dapat menggantikan instrument kimia dengan metode klasik dan juga alternative lain karena instrument kimia modern pengadaannya relative lebih mahal. Suatu kelebihan analisis biosensor karena mudah dibawa ke lapangan, relative

biaya pengadaannya murah dan cukup sensitive untuk mengidentifikasi zat atau senyawa kimia tertentu. Analisis biosensor dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti penggunaan transduser elektrokimia (amperometrik, potensiometrik), termal dan sebagainya. Desain transduser dengan metode amperometrik atau potensiometrik dapat dilakukan dengan pengembangan elektroda enzim.

Elektroda enzim yang efektif, sensitive, dan akurat sangat ditentukan oleh komposisi membrane. Membrane secara umum sulit didefinisikan secara tepat, namun pada sensor elektrokimia dapat dinyatakan sebagai suatu rintangan selektif diantara dua fasa (Holme, 1993). Elektroda enzim yang akan dikembangkan dalam penelitian ini adalah elektroda enzim untuk analisis histamin dalam ikan tuna dan cakalang. Kadar histamin dalam ikan dan makanan turunannya sangat menentukan derajat kesegaran dan keamanan bahan makanan. Kadar normal histamin dalam ikan tuna dan cakalang segar tidak lebih dari 200 ppm (Noltkamper, 2002)

Pada penelitian ini, sebuah biosensor enzim berbasis amperometri histamin akan dikembangkan, yaitu biosensor untuk mendeteksi dan menentukan kandungan histamin pada ikan tuna dan cakalang. Prinsip-prinsip dasar yang digunakan sama dengan biosensor biosensor lainnya, kecuali pada biosensor ini diperlukan diamine oksidase yang diimmobilisasi pada lapisan membrane menggunakan metode voltametri siklik dan potensiometrik. Oleh karena membrane elektroda merupakan tempat timbulnya potensial atau arus yang dihasilkan oleh reaksi yang dikatalisis oleh enzim yang terdapat pada membrane elektroda dengan larutan yang dianalisis maka parameter membrane elektroda sangat menentukan kinerja biosensor. Penggunaan biosensor histamin dengan elektroda enzim diamine

oksidase yang diamobilisasikan pada membran kitin dan glutaraldehid dapat dilakukan.

Kitin dapat diisolasi dan diperoleh dengan mudah dari limbah kulit/kepala udang di kawasan industri Makassar. Pemanfaatan limbah kulit/kepala udang ini selain memberikan nilai tambah secara ekonomi sekaligus juga membantu mengurangi atau menghilangkan dampak negatif limbah pengolahan udang tersebut. Kitin dan selulosa asetat memiliki kestabilan yang baik terhadap berbagai macam zat kimia, mempunyai kekuatan mekanik yang baik dan tahan terhadap tekanan tinggi sehingga dapat menahan materi yang sangat kecil. Penggunaan glutaraldehid dilakukan karena sifatnya sebagai ikatan pembawa yang berfungsi sebagai pereaksi bifungsional antara enzim dan katin-selulosa asetat.

Desain elektroda enzim diamin oksidase dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama dilakukan desain elektroda enzim diamin oksidase yang diaplikasikan pada berbagai larutan standar histamin. Pada tahap kedua dilakukan optimalisasi kinerja elektroda enzim dan dibandingkan dengan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometri atau KCKT. Hasil desain dengan kinerja yang maksimal akan digunakan untuk menganalisis histamin yang terdapat pada ikan tuna atau cakalang.

B. Rumusan Masalah

1. Berapa komposisi membran kitin dan selulosa asetat yang optimal dalam mendesain elektroda enzim diamin oksidase untuk biosensor histamin
2. Apakah dengan melakukan optimalisasi biosensor histamin yang meliputi sensitivitas, waktu respon, selektivitas dan masa pakai

membran elektroda dapat diperoleh kinerja biosensor histamine yang maksimal?

3. Apakah hasil desain biosensor histamin dapat digunakan untuk analisis histamin yang terdapat pada ikan tuna dan cakalang?

C. Tujuan Penelitian

1. Mementukan komposisi membran kitin dan glutaraldehid yang optimal dalam pembuatan elektroda enzim diamin oksidase untuk biosensor histamin
2. Membuat biosensor histamin yang mempunyai kinerja maksimal dengan sensitivitas tinggi, waktu respon cepat, dan masa pakai yang lebih lama.
3. Mendesain biosensor histamin yang dapat digunakan untuk analisis histamine yang menentukan tingkat kesegaran ikan tuna dan cakalang.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan bermanfaat dan memeberikan kotribusi terhadap:

1. Pengembangan dan pemanfaatan teknologi biosensor khususnya biosensor elektrokimia berbasis amobilisasi enzim untuk memantau tingkat kesegaran ikan tuna dan cakalang secara cepat dan murah.
2. Peningkatan pendapatan nasional melalui peningkatan kualitas dan potensi ekspor ikan tuna dan cakalang secara nasional.
3. Pemberian nilai tambah pada pengolahan udang dengan memanfaatkan limbahnya sebagai sumber kitin untuk membran elektroda biosensor.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sensor Elektrokimia (Biosensor)

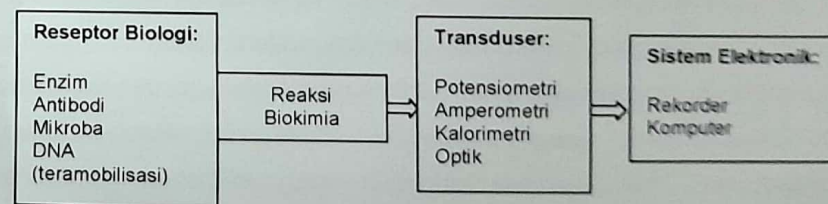
Sensor elektrokimia secara umum didefinisikan sebagai alat yang mampu menangkap fenomena fisika atau kimia kemudian mengubahnya menjadi sinyal elektrik baik arus listrik maupun tegangan (Adrian, 2002). Terdapat tiga jenis sensor utama elektrokimia : potensiometrik, amperometrik dan konduktometrik. Sensor potensiometrik berdasarkan pengukuran perbedaan potensial antara dua elektroda (elektroda indikator dan elektroda pembanding), sensor amperometrik keberadaannya berdasarkan reaksi oksidasi-reduksi dari spesi elektroaktif, arus resultan yang diukur. Sedangkan sensor konduktometrik dilibatkan dalam pengukuran konduktifitas pada seri-seri frekuensi (Janata at al. 2009). Klasifikasi sensor kimia berdasarkan sifat-sifatnya : elektrik, optik, termal atau massa dan didesain untuk mendeteksi dan merespon analit dalam gas-gas, bentuk cair atau padat (Janata at al., 2009; Yuliarto, 2005).

Biosensor termasuk sensor kimia yang terdiri dari *biological treatmen* sebagai pengenalan molekul/senyawa yang akan diukur dan transduser yang menangkap sinyal dari *biological treatmen* itu. Biosensor sendiri didefinisikan sebagai suatu perangkat sensor yang menggabungkan senyawa biologi dengan suatu transduser. Dalam proses kerjanya senyawa aktif biologi akan berinteraksi dengan molekul yang akan dideteksi yang disebut molekul sasaran. Hasil interaksi yang berupa besaran fisik seperti panas, arus listrik, potensial listrik atau lainnya akan dimonitor oleh transduser. Besaran tersebut kemudian diproses sebagai sinyal sehingga diperoleh hasil yang dapat dimengerti.

1. Prinsip kerja biosensor

Pada dasarnya biosensor terdiri dari tiga unsur yaitu unsur biologi (reseptor biologi), transduser, dan sistem elektronik pemroses sinyal. Unsur biologi yang umumnya digunakan dalam mendesain suatu biosensor dapat berupa enzim, organel, jaringan, antibodi, bakteri, jasad renik, dan DNA. Unsur biologi ini biasanya berada dalam bentuk teramobilisasi pada suatu transduser. Amobilisasi sendiri dapat dilakukan dengan berbagai cara baik dengan (1) adsorpsi fisik, (2) menggunakan membran atau perangkat matriks atau (3) membuat ikatan kovalen antara biomolekul dengan transduser.

Untuk transduser, yang banyak digunakan dalam suatu biosensor adalah transduser elektrokimia, optoelektronik, kristal piezoelektronik, *field effect* transistor dan temistor. Proses yang terjadi dalam transduser dapat berupa *calorimetric* biosensor, *potentiometric* biosensor, *amperometric* biosensor, *optical* biosensor maupun *piezo-electric* biosensor. Sinyal yang keluar dari transduser ini kemudian diproses dalam suatu sistem elektronik misalnya *recorder* atau komputer. Skema umum biosensor dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema umum biosensor

2. Sensor potensiometri

Sensor-sensor potensiometri merupakan sensor yang paling praktis penerapannya sejak awal 1930-an karena sensor ini mudah digunakan, dikenali dan biayanya murah. Ada 3 jenis dasar perangkat potensiometri yaitu; elektroda selektif ion, elektroda kawat terlapis dan transistor efek medan.

Elektroda selektif ion adalah elektroda indikator yang mampu mengukur secara selektif aktivitas dari spesies-spesies ionik khusus. Dalam pernyataan klasik, elektroda-elektroda merupakan perangkat berdasarkan membran, terdiri atas material-material konduksi ion selektif yang memisahkan sampel dari dalam elektroda. Elektroda pertama merupakan elektroda kerja yang potensialnya ditentukan oleh lingkungannya, sedang elektroda pembanding memiliki potensial yang konstan, maka nilai perbedaan potensial (potensial kedua sel) adalah nilai potensial oleh larutan yang hanya mengandung ion analit.

Strategi-strategi yang berbeda untuk produksi suatu elektroda adalah yang selektif terhadap suatu spesies dan secara primer berdasarkan komposisi material membran. Penelitian dalam bidang ini telah dibuka untuk semua segi aplikasi untuk analit-analit yang hampir tidak terbatas jumlahnya, dimana yang membatasi hanyalah seleksi dopan dan matriks ionofor dari membran. Berdasarkan pada sifat alami membran, elektroda selektif ion (ESI) dapat dibagi menjadi 3 golongan yaitu; elektroda gelas, cair atau padat. Lebih dari dua lusin ESI Orion, Radiometer, Corning, Beckman, Hitachi dan lainnya digunakan secara luas untuk analisis ion-ion organik dan spesies kationik atau anionik dari berbagai efluen bervariasi,

juga dalam pabrik dan monitoring obat, menggunakan elektroda membran (Wang, 2000).

Perangkat potensiometri yang paling luas digunakan adalah elektroda pH, yang telah digunakan dalam beberapa dekade. Kesuksesannya dihubungkan dengan keuntungan yang tidak perlu diragukan lagi, seperti kemudahan, kecepatan, nondestruktif, biaya murah, kemampuan aplikasi pada kisaran konsentrasi yang luas dan terutama selektivitasnya yang sangat tinggi untuk ion-ion hidrogen. Elektroda gelas, berdasar atas membran gelas sensitif ion yang tipis adalah yang paling umum dan tersedia dalam berbagai bentuk dan ukuran. Pengukuran pH juga dapat dilakukan menggunakan sensor-sensor potensiometri yang lainnya. Aplikasi elektroda gelas untuk kation monovalen lainnya, termasuk sensor-sensor natrium, litium, ammonium dan kalium yang berdasarkan atas komposisi-komposisi gelas baru, juga telah dilaporkan. Walaupun penggunaan elektroda membran gelas untuk mengukur pH larutan memiliki berbagai kesuksesan, pemanfaatannya dibatasi untuk pengukuran dalam media aqua. Penentuan ion hidrogen dalam larutan non aqua memerlukan koreksi-koreksi.

Elektroda membran cair, yang berdasarkan atas zat-zat yang cair yang tidak dapat bercampur dengan air dan terisi dalam membran polimerik, telah digunakan secara luas untuk pengukuran potensiometri langsung dari beberapa kation polivalen dan anion-anion tertentu. Membran polimerik digunakan untuk memisahkan larutan uji dari komponen terdampar yang mengandung larutan ion target. Pengenalan membran aktif dapat dilakukan oleh penukar ion cair atau senyawa makrosiklik netral yang

memiliki dimensi berukuran molekul yang mengandung lubang untuk mengelilingi ion-ion target (Wang, 2000).

Kemajuan dalam penelitian elektroda potensiometrik dapat dilihat dalam hasil kerja beberapa kelompok peneliti asal Brasil. Konstruksi elektroda potensiometrik selektif ion hidrogen yang berdasarkan atas ionofor tridodesilamin dan terdispersi dalam membran polivinilklorida atau film poli(1-aminoantrasen) telah digambarkan (Yuliarto, 2005). Rodweder, 2002 telah menunjukkan penggunaan elektroda selektif ion berlapis epoksi grafit untuk penentuan kation dengan menggunakan formasi pasangan ion dengan kation tricaprilmetilaminium pada suatu matriks polivinilklorida (Kouassi, 2005). Penggunaan yang sukses dari elektroda film yang tipis yang dimodifikasi dengan nikel (II) heksasianoferat untuk penentuan kalium telah dikemukakan oleh Stradiotto dan kawan-kawan tahun 1999 (Brahim, 2002).

Sensor potensiometrik yang berdasarkan pada membran padat menarik untuk dikembangkan. Elektroda kawat terlapis (EKT) pertama sekali diperkenalkan oleh Freiser pada pertengahan 1970. Dalam bentuk klasiknya, konduktor secara langsung dilapisi dengan membran polimer selektif ion yang sesuai (biasanya polivinilklorida, polivinilbenzilklorida) atau asam poliakrilik untuk membentuk sistem elektroda yang sensitif terhadap konsentrasi elektrolit (Yuliarto, 2005). Respon elektroda kawat terlapis sama dengan elektroda selektif ion klasik yang bertumpu pada kemampuan deteksi dan kisaran konsentrasi. Keuntungan besarnya adalah desain tersebut menghilangkan kebutuhan elektroda pembanding internal, menghasilkan keuntungan selama proses miniaturisasi. Hal ini secara

khusus berguna untuk monitoring biomedik pada klinik invitro dan invivo dari analit yang berbeda-beda jenisnya (Cohen, 1980).

Transduser potensiometri mengukur perbedaan potensial di antara dua elektroda yaitu elektroda kerja dan elektroda referensi yang dicelupkan dalam suatu larutan pada aliran arus yang sebenarnya nol. Elektroda referensi mempunyai potensial konstan dan reproduibel yang tidak tergantung pada lingkungannya. Potensial elektroda kerja adalah potensial pada *interface* antara fasa padatan dan fasa cairan dimana reaksi oksidasi dan reduksi terjadi. Misalnya pada *interface* di antara kawat penghantar dan system redoks, ada suatu pertukaran elektron di antara kawat dan senyawa yang dioksidasi dan direduksi. Kesetimbangan tercapai ketika laju oksidasi sama dengan laju reduksi dan komposisi larutan di sekeliling elektroda adalah konstan. Kesetimbangan potensial kemudian ditunjukkan sesuai dengan hukum Nernst bagi sistem; Oks + ne \rightleftharpoons Red, sebagai:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Oks]}{[Red]}$$

Keterangan:

E	= elektroda potensial terukur
E ₀	= elektroda potensial standar
R	= tetapan gas ideal = 8,314 j mol ⁻¹ K ⁻¹
T	= suhu mutlak 298 K
F	= tetapan faraday (96.500 coulomb ekivalen ⁻¹)
[Oks]	= konsentrasi bentuk teroksidasi
[Red]	= konsentrasi bentuk tereduksi

Pengubahan matriks polimer dari sensor potensiometrik oleh amobilisasi material biomedik dan biologis digunakan untuk mengubah

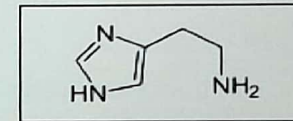
pola-pola selektivitas ESI matriks. Aplikasi untuk sistem termasuk penentuan enzim *immunoassays*. Jadi dapat disimpulkan bahwa sensor-sensor potensiometrik sudah sangat penting sejak tahun 1930, ketika komersialisasi elektroda gelas dihasilkan dalam penemuan salah satu perusahaan instrumen analitik yang paling sukses (Beckman Instruments). Sejarah juga menunjukkan sejak tahun 1960, ketika elektroda selektif ion melakukan perubahan terhadap analisis yang sulit dari ion-ion anorganik sampai sekarang, pertumbuhan paten untuk perumusan, pertumbuhan paten perumusan-perumusan yang berbeda dari elektroda gelas, untuk elektroda-elektroda yang berbeda jenis membrannya, ukuran dan bentuknya memberi bukti potensiometrik ion sensing yang tersedia secara komersil. Sistem-sistem ini cenderung biayanya relatif rendah, mudah digunakan, bekerja otomatis dan mudah untuk pengambilan sampel yang cepat, dengan penggunaan matriks yang rendah dan dapat diaplikasikan pada volume yang kecil. Keuntungan-keuntungan ini membuat sensor potensiometrik menjadi pilihan ideal untuk pengukuran klinik, industri dan lingkungan dimana kecepatan, kemudahan dan akurasi begitu esensial.

B. Histamin

Histamin, $C_5H_9N_3$ merupakan komponen amin biogenik yaitu bahan aktif yang diproduksi secara biologis melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas serta terdapat pada berbagai bahan pangan, seperti ikan, daging merah, keju dan makanan fermentasi (Keer et al. 2002). Keracunan histamin merupakan suatu intoksikasi akibat mengkonsumsi ikan laut yang umumnya berasal dari famili scombroid, seperti tuna, mackerel, cakalang, dan sejenisnya. Histamin merupakan senyawa amin

biogenik yang terbentuk dari asam amino histidin akibat reaksi dengan enzim dekarboksilase (Dalgaard et al. 2008).

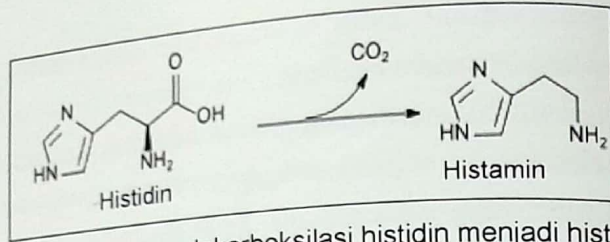
Indriati et al. (2006) menyatakan bahwa histamin merupakan salah satu senyawa biogenik amin yang dianggap sebagai penyebab utama keracunan makanan yang berasal dari ikan, terutama dari kelompok scombroid. Histamin merupakan komponen yang kecil, mempunyai berat molekul rendah (111 g/mol) yang terdiri dari cincin imidazol dan sisi rantai etilamin. Histamin juga merupakan komponen yang tidak larut air. Histamin merupakan salah satu amin biogenik yang mempunyai pengaruh terhadap fisiologis manusia. Struktur kimia histamin dapat dilihat pada Gambar 2 (Keer et al. 2002).



Gambar 2. Histamin, 2-(4-Imidazol)-etilamin

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

Proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin dapat terjadi melalui dua cara yaitu autolisis dan aktivitas bakteri. Proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin dapat dilihat pada Gambar 3 (Keer et al. 2002).



Gambar 3. Proses dekarboksilasi histidin menjadi histamin

1. Pembentukan histamin akibat aktivitas bakteri

Setelah ikan mati, sistem pertahanan tubuhnya tidak bisa lagi melindungi dari serangan bakteri, dan bakteri pembentuk histamin mulai tumbuh dan memproduksi enzim dekarboksilase yang akan menyerang histidin dan asam amino bebas lainnya menjadi histamin. Histamin umumnya dibentuk pada temperatur tinggi (>20 °C). Pendinginan dan pembekuan yang cepat, segera setelah ikan mati merupakan tindakan yang sangat penting dalam upaya mencegah pembentukan scombrotoksin (histamin). Histamin tidak akan terbentuk bila ikan selalu disimpan di bawah suhu 5 °C. Pembekuan yang terlalu lama (24 minggu) diduga akan menginaktivkan bakteri pembentuk enzim dekarboksilase dan diduga pula dapat mengurangi pembentukan histamin. Penelitian lebih lanjut menyebutkan bahwa kenaikan pembentukan histamin dapat terus berjalan walaupun dalam keadaan penyimpanan beku (Taylor dan Alasalvar 2002).

Selama proses kemunduran mutu, bakteri memproduksi enzim dekarboksilase yang akan mengubah histidin bebas dan asam amino lain pada daging ikan menjadi histamin dan amin biogenik lain seperti putresin (dari ornitin), kadaverin (dari lisin), serta spermidin dan spermin (dari arginin) (Lehane dan Olley 2000). Bakteri pembentuk histamin secara alami terdapat pada insang dan isi perut ikan. Kemungkinan besar insang dan isi perut merupakan sumber bakteri ini karena jaringan otot ikan segar

biasanya bebas dari mikroorganismenya. Bakteri ini akan menyebar ke seluruh bagian tubuh selama proses penanganan. Penyebaran bakteri biasanya terjadi pada saat proses pembuangan insang (gilling) dan penyiangan (gutting) (Sumner et al. 2004). Bakteri pembentuk histamin umumnya adalah bakteri mesofilik (Shahidi dan Botta 1994).

Berbagai jenis bakteri mampu menghasilkan enzim histidin dekarboksilase (Hdc) termasuk bakteri Enterobacteriaceae dan Bacillaceae (Allen 2004). Umumnya genus *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Streptococcus* menunjukkan aktivitas dekarboksilase asam amino (Kanki et al. 2002). Bakteri pembentuk histamin dapat tumbuh pada kisaran suhu yang cukup luas. Pertumbuhan bakteri pembentuk histamin berlangsung lebih cepat pada temperatur yang tinggi (21,1 °C) dibandingkan pada temperatur rendah (7,2 °C) (FDA, 2001).

Laporan mengenai temperatur optimum dan batas suhu terendah pembentukan histamin sangat bervariasi. Suhu optimum pembentukan histamin adalah pada suhu 25 °C (Keer et al. 2002). Penyimpanan ikan pada suhu 25 °C selama 24 jam dapat meningkatkan kandungan histamin yang terkandung hingga 120 mg/100 g (Yoghuci et al. 1990). Menurut Fletcher et al. (1995) pembentukan histamin pada suhu 0-5 °C sangat kecil bahkan dapat diabaikan. Hasil penelitian Price et al. (1991) juga menunjukkan bahwa pembentukan histamin akan terhambat pada suhu 0 °C atau lebih rendah. Oleh karena itu, Food And Drug Administration (FDA) menetapkan batas kritis suhu untuk pertumbuhan histamin pada tubuh ikan yaitu 4,4 °C (FDA, 2001).

2. Reaksi fisiologis histamin

Keracunan histamin disebabkan oleh konsumsi ikan yang mengandung histamin dengan level yang tinggi (Bremer et al. 2003). Gejala keracunan histamin meliputi sakit kepala, kejang, mual, wajah dan leher kemerah-merahan, tubuh gatal-gatal, mulut dan kerongkongan terasa terbakar, bibir membengkak, badan lemas dan muntah-muntah (Eitenmiller et al. 1982). Gejala keracunan histamin dapat terjadi sangat cepat, sekitar 30 menit setelah mengkonsumsi ikan yang mengandung histamin tinggi. (Bremer et al. 2003).

Histamin pada ikan yang busuk dapat menimbulkan keracunan jika terdapat sekitar 100 mg dalam 100 g sampel daging ikan yang diuji (Kimata 1961). Food And Drug Administration (FDA) menetapkan bahwa untuk ikan tuna, mahi-mahi dan ikan sejenis, 5 mg histamin/100 g daging ikan merupakan level yang harus diwaspadai sebagai indikator terjadinya dekomposisi, sedangkan 50 mg histamin/100g daging ikan merupakan level yang membahayakan atau dapat menimbulkan keracunan. Oleh karena itu, jika ditemukan ikan dengan kandungan 5 mg histamin/100 g daging ikan pada satu unit, maka kemungkinan pada unit yang lain, level histamin dapat mencapai lebih dari 50 mg/100 g (FDA, 2001). Tingkat bahaya histamin per 100 g daging ikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat bahaya histamin per 100 g daging ikan (Shalaby, 1996 dalam Sumner et al. 2004)

Kadar histamin per 100 g	Tingkatan bahaya
< 5 mg	Aman dikonsumsi
5-20 mg	Kemungkinan toksik
20-100 mg	Berpeluang toksik
> 100 mg	Toksik

3. Keracunan histamin

Keracunan histamin, juga dikenal sebagai keracunan ikan Scombroid, overdosis histamin, keracunan ikan semu alergi atau mahi-mahi memerah adalah salah satu yang paling umum toksisitas terkait dengan ikan. Keracunan secara langsung berhubungan dengan penanganan yang tidak benar dan pendinginan yang tidak memadai. Histidin dekarboksilase ditemukan dalam E. coli dan spesies Proteus dan Klebsiella, mengubah histidin yang ada dalam jaringan ikan menjadi histamin. Bakteri juga hidup pada jaringan ikan. Tanpa pendinginan yang memadai, bakteri ini berkembang biak, meningkatkan laju konversi histidin menjadi histamin sehingga meningkatkan kadar histamin pada ikan.

Keracunan histamin digambarkan sebagai keracunan kimia yang dibawa makanan. Sekarang paling sering dilaporkan dengan ikan dari keluarga Scombridae dan Scomberesocidae. Ini termasuk tuna, mackerel, cakalang, dan bonito. Nonscombroid ikan seperti mahi-mahi, bluefish, amberjack, herring, sarden dan teri, serta keju Swiss juga telah terlibat sebagai penyebab scombrotoksis (Hughes dan Potter, 1991). Keracunan histamin bisa diakibatkan oleh penyimpanan atau pengolahan ikan yang tidak tepat. Keracunan sebenarnya disebabkan oleh konsumsi dari racun dalam jaringan ikan itu. Bahan kimia lainnya telah ditemukan dalam daging ikan membusuk, namun hubungannya dengan keracunan Scombroid belum jelas. Umumnya, gejala keracunan histamin atau ikan scombroid adalah rasa pedastajam saat makan ikan, pembilasan (wajah kemerahan dan kadang-kadang leher, lengan dan bagian atas perut), sakit kepala berat, palpitasi (detak jantung cepat), kram perut dan / atau diare,

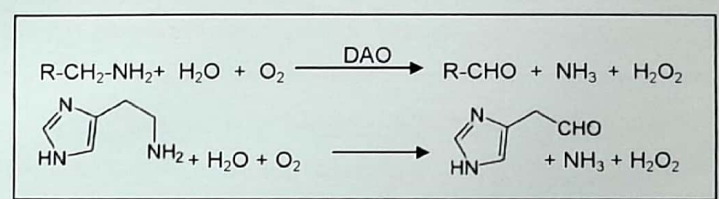
gatal pada wajah atau sekitar mulut, sensasi terbakar di tenggorokan atau kekeringan pada mulut, kesulitan menelاندan / atau pernapasan, kelemahan otot dan mual (Wu et al, 1997).

Gejala-gejala yang tercantum di atas biasanya timbul dalam waktu satu jam setelah makan ikan membusuk tetapi pengaruhnya dapat berkisar dari beberapa menit sampai beberapa jam. Hal ini sering berlangsung selama 8 sampai 12 jam, setelah itu penderita akan pulih. Perawatan biasanya diberikan kepada pasien adalah obat yang mengandung anti histamin, yang telah ditunjukkan untuk membantu dalam banyak kasus. Namun, dalam kasus yang lebih serius, perhatian medis yang segera mungkin diperlukan. Tingkat beracun untuk histamin diperkirakan sebesar 200-500 mg / kg (200-500 ppm) (Noltkamper, 2002) dan sekarang diatur pada konsentrasi 200 mg / kg (200 ppm). Batas regulasi untuk kandungan histamin pada ikan bervariasi di masing-masing negara. Di Amerika Serikat, 200 ppm menunjukkan kesalahan penanganan ikan, sementara 500 ppm menunjukkan tingkat bahaya yang harus ditangani. Di Jerman dan Swedia, 200 ppm histamin dalam hasil ikan dilakukan penolakan (Azudin, M.N. and Saari, N, 1988).

C. Enzim Diamin Oksidase

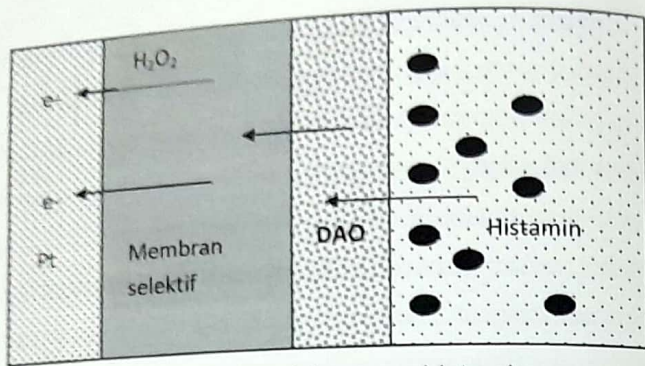
Enzim diamin oksidase (DAO, EC 1.4.3.6) atau amina O₂ oksidoreduktase (deaminating) merupakan anggota dari kelas enzim yang mengandung tembaga amina oksidase dan mengkatalisis deaminasi oksidatif amina biogenik histamin dan lainnya. Nama lainnya adalah diamino oxhydrase, histaminase, deaminase histamin, histaminoksidase, amina oksidoreduktase, oksigen amina oksidase, Cu-amina oksidase, dan lain-lain. Diamin oksidase awalnya dikenal sebagai enzim yang

menurunkan kadar histamin sebelumnya disebut histaminase. Sekarang diketahui memiliki sisi-aktif kofaktor Topa-quinon, dibentuk pasca-translasiional dengan memodifikasi residu tirosin. Meskipun diaminoksidase tampaknya memainkan peran penting dalam katabolisme histamin, namun juga efisien mengubah banyak diamin disamping histamin dan dinyatakan dalam banyak jaringan, menunjukkan bahwa mungkin memiliki fungsi tambahan. Enzim mengkatalisis reaksi deaminasi oksidatif dari amina utama untuk membentuk aldehida yang sesuai, amonia dan hydrogen peroksida (Gambar 4) (Wilflingseder dan Schwelberger, 2000).



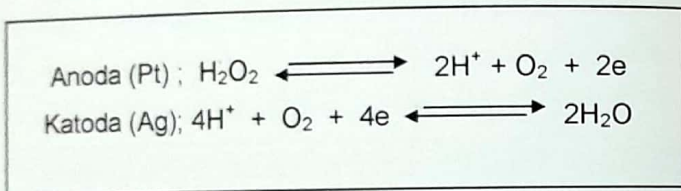
Gambar 4. Reaksi deaminasi oksidatif amina biogenik

Pengukuran konsumsi oksigen atau produksi hidrogen peroksida umumnya digunakan untuk pengujian dari aktivitas enzim. Hidrogen peroksida yang terbentuk pada lapisan membran enzim dalam kondisi tertentu akan berdifusi menuju elektroda Pt (anoda) seperti terlihat pada Gambar 5. Jumlah H₂O₂ yang terbentuk setara dengan histamin yang ada di dalam larutan (Mulchandani at al. 2001).



Gambar 5. Skema biosensor histamin

Selanjutnya elektron mengalir dari anoda Pt ke katoda Ag/AgCl dan terjadi reaksi reduksi (Gambar 6).



Gambar 6. Reaksi oksidasi reduksi H_2O_2

Enzim Cu-amina oksidase telah ditemukan di beberapa mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, berbagai tanaman dan hewan (Wimmerovadan Macholan, 1999). Analisis gen dan cDNA encoding tembaga amina oksidase mengungkapkan bahwa semua anggota keluarga enzim ini memiliki urutan homolog yang distabilkan oleh beberapa residu asam amino. Residu yang tertinggal tampaknya penting bagi struktur protein secara keseluruhan dan untuk fungsi katalitiknya dan termasuk tirosin yang dikonversi ke Topa-quinon, tiga residu histidin yang mengikat ion tembaga dan residu asam aspartat penting bagi konversi substrat (Wilflingseder dan Schwelberger, 2000). Diaminoksidase adalah terjadi secara luas dalam tanaman Leguminaceae (kacang-kacangan), seperti

Cicer arietinum, Lathyrus sativus dan Vigna radiata (kacang hijau) (Choudhary et al, 1999).

Pengungkapan Topa-quinon sebagai kofaktor organik (Janes et al., 1990) dan penentuan urutan asam amino dari beberapa amina oksidase (Rossi et al., 1992, Mu et al, 1994, Tipping dan McPherson, 1995) membawa aspek baru kedalam studi sifat dan struktur molekul dari enzim ini. Untuk formasi dari Topa-quinon berasal dari residu tertentu dalam protein asalnya, mekanisme self-oksidasi dikatalisis oleh ion tembaga telah diusulkan (Cai dan Klinman, 1994; Matsuzaki et al, 1994). Ion tembaga dan kofaktor kuinon berperan dalam reaksi katalitik yang mengikuti mekanisme ping-pong (Hartman dan Klinman, 1991). Penelitian elektron paramagnetik resonansi (EPR) telah menunjukkan terjadinya Cu(I)/Topa-semi-quinone sebagai perantara dalam siklus katalitik enzim pada perubahan substrat (Dooley et al, 1991; Turowski et al, 1993).

Diamina oksidase pertama kali dimurnikan oleh Mann (1955) dari kecambah kacang. Setelah itu, enzim telah dimurnikan untuk homogenitas dan ditandai dari berbagai tanaman sumber. Enzim yang mengoksidasi diamina, seperti histamin, dan juga beberapa monoamina primer, dengan sedikit atau tidak ada aktivitas terhadap amina sekunder dan tersier (Chang et al., 2008). Namun, diamina oksidase tersedia secara komersial adalah dari ginjal babi. Diamina oksidase ini memiliki aktivitas spesifik yang rendah, bahkan ketika dimurnikan. Berbeda pada enzim dari tanaman yang homogen. PSAO telah digunakan dalam amperometri biosensor untuk uji amina biogenik dan untuk pengujian dan beberapa pseudo substrat dan obat-obatan (Wimmerova dan Macholan, 1999).

Struktur kristal amina oksidase dari *E. coli* telah ditentukan baik dalam bentuk aktif dan tidak aktif (Parson et al., 1995). Setiap subunit dari jamur yang berbentuk dimer terdiri atas empat domain: C-terminal besar β -sandwich domain, yang berisi sisi aktif dan menyediakan antarmuka dimer, dan tiga lebih kecil dari perifer α/β domain. Sisi aktif terdapat dalam protein dan ditempatkan terpisah sekitar 35 Å, dihubungkan dengan sepasang lengan β -hairpin. Tembaga langsung terikat ke Topakuinon dalam bentuk tidak aktif.

Struktur amina oksidase dari kecambah kacang (*Pisum sativum*) telah dilaporkan. Struktur protein sangat mirip dengan enzim dari *E. coli*, dan studi memberikan informasi tambahan tentang pengaturan dan mekanisme katalitik dari sisi aktif (Kumar et al., 1996). Amina oksidase yang mengandung tembaga telah diisolasi dari sebagian besar kecambah anggota Fabaceae tersebut, khususnya kacang dan lentil (Medda et al., 1995). Dua tanaman dari genus *Lathyrus* juga telah diketahui mengandung tembaga amina oksidase. Enzim dari *Lathyrus sativus* pertama kali dilaporkan oleh Suresh dkk., (1976). Spesifisitas substrat dan sensitivitas enzim ini untuk beberapa inhibitor agak mirip dengan enzim oksidase dari lentil dan kacang (Medda et al., 1995).

Beberapa sifat molekul enzim ini telah ditentukan dengan menggunakan metode pemurnian yang dapat meningkatkan dan memberikan homogenitas enzim (Padiglia et al., 1991). Enzim ini adalah homodimer dari 70 sampai 90 kDa/ subunit, masing-masing berisi ion tembaga tunggal dan kofaktor terikat secara kovalen dibentuk pascasintesis modifikasi residu tyrosyl katalitik untuk 2,4,5-trihidroksi-phenilalaninekuinon (TPQ). Massa molekul 150 kDa ditentukan oleh

permeasi gelkromatografi dan 72 kDa ditemukan oleh natrium dodesilsulfat-poliakrilamidagel elektroforesis (SDS-PAGE) menegaskan struktur dimer enzim. Sama halnya telah ditemukan untuk amina oksidase dari bibit *Lathyrus cicera*, yang dimurnikan dengan menggunakan prosedur yang sama (Cogoni et al., 1989).

Dalam jaringan mamalia, enzim Cu-amina oksidase lebih baik monoamina atau diamin sebagai substrat. DAO mamalia adalah glikoprotein homodimerik dengan subunit dengan berat molekul relatif sekitar 100.000 dihubungkan oleh disulfida obligasi. Struktur DAO primer sangat dilestarikan pada mamalia. Ini memiliki sebuah sinyal peptida klasik dan N-glikosilasi menunjukkan bahwa protein memasuki jalur khusus. Ini adalah enzim terdapat dalam hati ditemukan di dalam sel. Dalam ginjal bagian usus, itu terlokalisasi dalam struktur vesikular pada kedekatan dengan plasmamembran. Terakhir studi kristalografi Cu-amina oksidase dari mikroorganisme dan tanaman telah sangat besar memberikan kontribusi terhadap pemahaman enzim dan organisasi struktural pada protein (Wilflingseder dan Schwelberger, 2000).

D. Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L)

Ikan cakalang atau skipjack tuna merupakan jenis tuna kecil, pelagic dan serakah (voracious) serta dapat berenang jauh dengan kecepatan 27 km/jam dan hidup bergerombol dengan jumlah yang besar. Nama skipjack tuna untuk masing-masing Negara berbeda-beda, yaitu : stripped tuna (Australia), atun (Chili), oceanic bonito (Kanada), aku (Hawaii), katsuo (Jepang), palajawan (Filipina) dan cakalang di Indonesia (Kaseger, 1986). Demikian pula skipjack tuna untuk masing-masing daerah berbeda-beda, yaitu : cakalang, jupal (Makassar, Bugis, Mandar), buju

(Gorontalo), cakalang, tongkol krai (Jakarta), buanbee, clorengan (Madura), cahalang dolangan, kausa, hetung di Sangihetalaud (Burhanuddin, dkk, 1984)

Skombroid yang berasal dari famili scombrosidae dan scombridae mengandung banyak histidin bebas dalam jaringan dagingnya, seperti cakalang, marlin, dan sardin. Hal ini sesuai bahwa ikan-ikan yang suka berpindah-pindah seperti tuna, cakalang, dan kembung, jaringan ototnya mengandung histidin bebas yang tinggi (Pan, 1984). Secara umum kadar asam amino bebas pada beberapa jenis ikan dapat dilihat pada Tabel 2 (Kanosa and Yamaguchi 1982 dalam Genisa, 2000).

Tabel 2. Kadar asam amino beberapa jenis ikan

Asam Amino	Kadar AA (mg/100 g)		Tuna Mata Besar
	Tongkol	Cakalang	
Taurin	65	50	21
Aspartat	3	1	1
Treonin	10	8	8
Serin	6	5	5
Prolin	8	8	2
Glutamat	20	9	20
Glisin	10	4	11
Alanin	26	23	22
Valin	9	9	14
Metionin	6	5	9
Isoleusin	5	6	6
Leinus	9	10	11
Tirosin	4	4	6
Fenil alanin	3	4	5
Lisin	48	33	4
Histidin	1090	1340	745

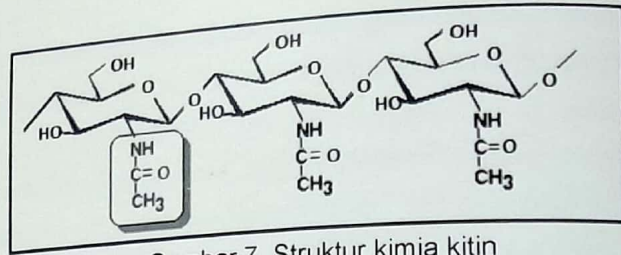
Kedudukan ikan cakalang dalam dunia hewan adalah sebagai berikut (Matsumoto, et al., 1984) :

Serie	: Pisces
Klas	: Teleostomi
Subklas	: Actinopteriigii
Ordo	: Perciformes
Subordo	: Scombroidei
Famili	: Scombridae
Sub family	: Scombrinae
Tribe	: Thunii
Genus	: Katsuwonus
Spesis	: Pelamis

Genus katsuwonus ini mudah diketahui karena hanya terdiri dari satu spesis, sedangkan genus-genus lainnya terdiri dari 2-7 spesis.

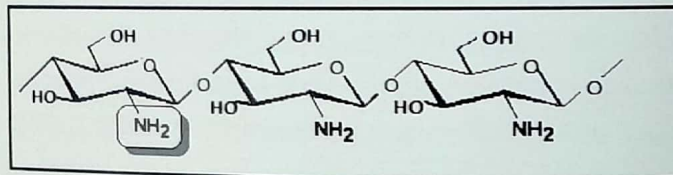
E. Kitin dan Kitosan

Kata kitin berasal dari bahasa Yunani, khiton yang berarti baju dari besi karena sesuai dengan fungsinya sebagai jaket pelindung untuk hewan-hewan golongan invertebrata. Kitin merupakan polimer yang paling melimpah di laut dan kedua di bumi, hanya dilampaui oleh selulosa. Kitin merupakan bagian konstituen organik yang sangat penting pada kerangka hewan golongan arthropoda, molusca, nematoda, crustasea, alga, protista, beberapa kelas serangga dan jamur (Durkin at al, 2009). Kitin merupakan senyawa penyusun rangka, terdiri atas satuan dasar asetil glukosamin yang berikatan (1-4) β , seperti yang terlihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur kimia kitin

Kitin berbentuk kristal berwarna putih, tidak berasa dan tidak berbau. Kitin tidak larut dalam air, asam anorganik encer, alkali encer dan pekat, alkohol dan pelarut organik lainnya yang bersifat polikationik. Kitin merupakan polimer (1-4)-2-asetamido-2-deoksi- β -D-glukosamin yang dapat dicerna oleh manusia, sedangkan kitosan merupakan kitin yang dihilangkan gugus asetilnya dengan menggunakan basa kuat. Kitosan (Gambar 8) memiliki lebih banyak kandungan nitrogen dari pada kitin. Gugus amina dan hidroksil di dalam kitosan menjadikan kitosan bersifat lebih aktif dan bersifat polikationik. Sifat tersebut dapat dimanfaatkan sebagai koagulan logam berat.



Gambar 8. Struktur Kimia Kitosan

Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, H_2SO_4 , tetapi sedikit larut dalam HCl , HNO_3 , dan 0,5% H_3PO_4 . Kitosan juga tidak larut dalam pelarut organik seperti alkohol, tetapi kitosan larut dengan baik dalam asam format berkonsentrasi (0,2-100) %.

Kitosan tidak beracun dan memiliki berat molekul sekitar $1,2 \times 10^5$ gram/mol, bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi (Baker at al, 2007). Kitosan telah banyak dimanfaatkan dalam beragam industri, antara lain sebagai agen-penstabil rasa dalam industri makanan, bahan aditif untuk shampoo dan kosmetik, bahan anti bakteri, adsorben untuk penghilang logam berat dan pemurnian air. Kitosan memiliki gugus amina, adanya unsur N menjadikan kitosan bersifat sangat reaktif dan bersifat basa (Raafat at al, 2008).

1. Sifat fisika-kimia kitin

Kitin merupakan padatan yang berbentuk amorf, tidak larut dalam air, asam encer, alkali pekat maupun encer, alkohol dan pelarut-pelarut organik lainnya. Tetapi kitin dapat larut dalam HCl , H_2SO_4 pekat dan H_3PO_4 . Untuk melarutkan kitin tidak mudah, sehingga perlu disesuaikan konsentrasi pelarut yang sesuai untuk melarutkan kitin (Windholz, 1983). Kitin merupakan bahan yang tidak beracun bahkan mudah terurai secara hayati (biodegradable).

Kitin mempunyai reaktivitas kimia yang lebih rendah dibandingkan dengan selulosa dan kitosan sehingga dalam pemanfaatannya kitin biasanya terlebih dahulu dilakukan modifikasi kimia seperti deasetilasi, asilasi, karboksimetilasi, sulfasi dan lain lain. Modifikasi yang sering dilakukan adalah deasetilasi yang dapat dilakukan dengan cara kimiawi maupun enzimatik. Proses deasetilasi secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan basa misalnya $NaOH$ yang dapat menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi yang tinggi, yaitu mencapai 85-93% (Baker at al, 2007).

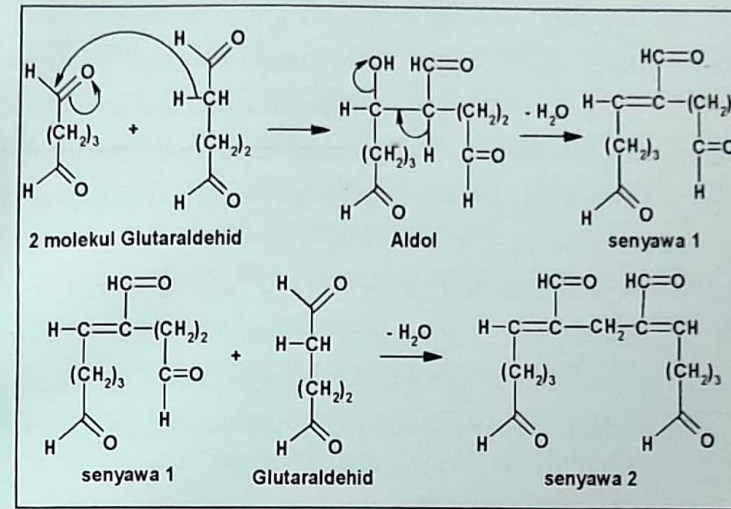
2. Proses isolasi kitin dan kitosan

Isolasi kitin dilakukan secara bertahap. Tahap awal dimulai dengan pemisahan protein dengan larutan basa, yang disebut dengan tahap deproteinasi. Deproteinasi bertujuan untuk memisahkan protein pada bahan dasar cangkang. Efektifitas prosesnya tergantung pada konsentrasi NaOH yang digunakan. Tahap kedua yaitu demineralisasi. Tahap demineralisasi bertujuan untuk memisahkan mineral organik yang terikat pada bahan dasar, yaitu CaCO_3 sebagai mineral utama dan $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah minor.

F. Glutaraldehid

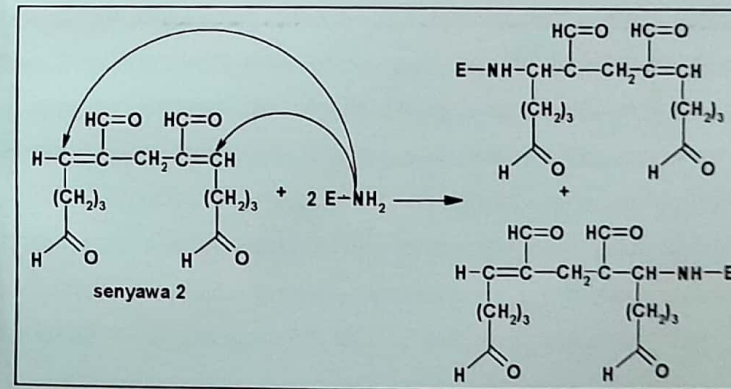
Glutaraldehid adalah senyawa organik dengan rumus $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ atau $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{CHO})_2$, secara sistematis disebut sebagai pentana-1,5-dial. Glutaraldehid merupakan cairan berminyak tidak berwarna, digunakan untuk mensterilkan peralatan medis dan gigi. Hal ini terutama tersedia sebagai larutan berair, dan kelompok larutan aldehyd yang terhidrasi enzim (Kohlpaintner et al, 2005)

Glutaraldehid diproduksi secara industri oleh oksidasi siklopentana dan dengan reaksi Diels-Alder dari akrolein dan metil vinil eter diikuti oleh hidrolisis. Reaksi antara glutaraldehid dengan molekul enzim pada proses amobilisasi belum jelas, tetapi diduga bahwa glutaraldehid akan teradsorpsi secara fisik pada permukaan dan pori membran. Pada keadaan menempel, monomer glutaraldehid dapat mengalami polimerisasi oleh reaksi kondensasi aldol yang menghasilkan alfa, beta-tak jenuh poli-glutaraldehid (senyawa 2) seperti terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Polimerisasi glutaraldehid

Selanjutnya polimer glutaraldehid dengan gugus amino dari protein akan terikat secara kovalen seperti terlihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengikatan enzim pada glutaraldehid

Glutaraldehid sering digunakan dalam aplikasi biokimia sebagai crosslinker homobifungsional amina-reaktif. Suatu larutan glutaraldehid dari

konsentrasi 0,1% sampai 1,0% dapat digunakan untuk sistem desinfeksi dan sebagai pengawet untuk penyimpanan jangka panjang. Glutaraldehid digunakan dalam mikroskop elektron biologis sebagai fiksatif baik sendiri atau dicampur dengan formaldehid. Fiksasi biasanya diikuti dengan dehidrasi jaringan dalam etanol atau aseton, diikuti oleh embedding dalam resin epoksi atau resin akrilik.

Glutaraldehid juga digunakan dalam SDS-PAGE untuk memperbaiki protein dan peptida sebelum pewarnaan. Biasanya, gel diperlakukan dengan larutan glutaraldehid 5% selama kurang lebih setengah jam, setelah itu harus dicuci untuk menghilangkan noda kuning yang dibawanya dengan buffer tris.

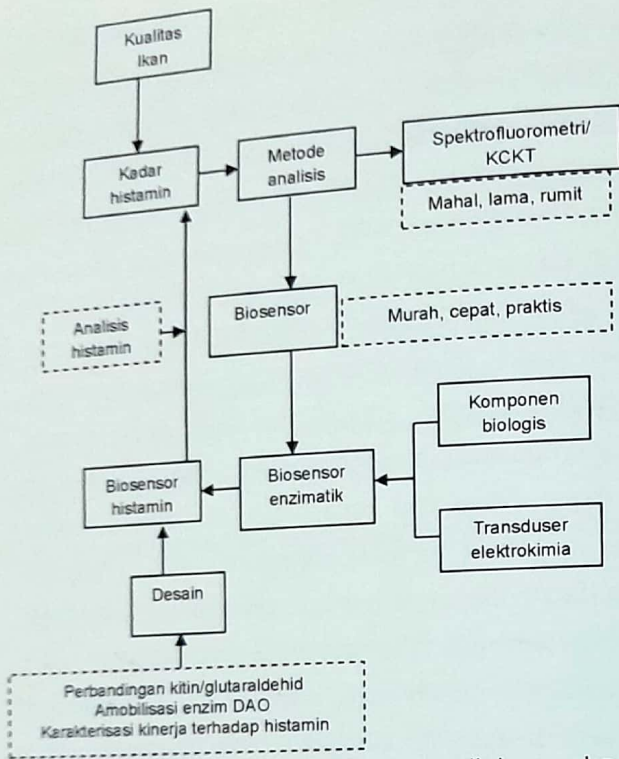
G. Kerangka Pemikiran, Hipotesis dan Definisi Operasional

1. Kerangka pemikiran

Kadar histamin dalam ikan sangat menentukan tingkat kesegaran dan keamanan ikan untuk dikonsumsi. Dalam beberapa tahun terakhir banyak terjadi penolakan ekspor ikan tuna oleh negara inportir seperti Amerika Serikat dan Masyarakat Ekonomi Eropah karena tingginya kadar histamin dan logam berat pada ikan. Kadar histamin yang tinggi dapat menyebabkan beberapa gangguan kesehatan khususnya alergi dan keracunan bagi yang mengkonsumsinya. Analisis kadar histamin dalam ikan dan bahan makanan turunannya penting dilakukan untuk dapat memantau dan mengontrol tingkat/derajat kesegarannya. Sekarang ini banyak dikembangkan metode analisis dengan biosensor. Keunggulan dari analisis dengan biosensor adalah respon yang cepat, selektif, sederhana dan biayanya relatif lebih murah.

Pengembangan biosensor yang didasarkan pada amobilisasi enzim dimaksudkan untuk mengatasi beberapa masalah seperti; kehilangan enzim (khususnya jika menggunakan enzim yang harganya cukup mahal), pemeliharaan untuk menjaga kestabilan enzim dan usia pemakaian biosensor, mengurangi waktu respon enzim dan dapat dioperasikan dengan mudah serta dapat dibawa kelapangan.

Amobilisasi enzim diamin oksidase pada bahan pendukung kitin dan glutaraldehid dapat dilakukan dalam pembuatan elektroda membran biosensor histamin. Proses reaksi kimia berlangsung di dalam membran, oleh karena itu komposisi membran kitin-glutaraldehid akan sangat mempengaruhi kinerja elektroda atau biosensor yang dihasilkan. Kinerja biosensor yang optimal dapat dilihat dari sensitivitas, selektivitas, waktu respon dan masa pakai elektroda tersebut. Membran kitin memiliki kestabilan yang tinggi terhadap berbagai macam zat kimia, mempunyai kekuatan mekanik yang baik sehingga tahan terhadap tekanan tinggi dan selektif sehingga dapat menahan materi yang sangat kecil. Penggunaan glutaraldehid dilakukan karena sifatnya sebagai ikatan pembawa yang berfungsi sebagai pereaksi bifungsional antara enzim dan kitin. Diagram alir kerangka pikir dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram alir kerangka pikir

2. Hipotesis

- Komposisi membran kitin-selulosa asetat dan glutaraldehid menentukan kinerja biosensor histamin.
- Kinerja biosensor histamin yang maksimal dapat diketahui dengan melakukan karakterisasi biosensor yang meliputi; sensitivitas, selektivitas, waktu respon dan masa pakai membran elektroda biosensor.
- Biosensor elektrokimia yang optimal dapat digunakan untuk analisis histamin dalam ikan tuna dan cakalang serta makanan turunannya

3. Definisi Operasional

a. Biosensor

Biosensor adalah suatu perangkat alat sensor yang menggabungkan senyawa aktif biologi dengan suatu transduser. Dalam proses kerjanya senyawa aktif biologi (enzim DAO) akan berinteraksi dengan molekul yang akan dideteksi yaitu histamin. Hasil interaksi yang berupa besaran fisik yaitu arus dan potensial listrik akan dimonitor oleh transduser. Besaran tersebut kemudian diproses sebagai sinyal sehingga diperoleh hasil yang dapat dimengerti. Pada penelitian ini interaksi dimonitor oleh potensiostat dalam bentuk sinyal voltammogram siklik dan direkam oleh komputer.

b. Histamin

Histamin adalah senyawa kimia yang dapat bersifat racun pada konsentrasi tertentu, merupakan hasil perombakan asam amino bebas histidin yang biasanya terdapat pada kelompok ikan skombroid seperti tuna, cakalang, marlin dan sardiin. Histidin diubah menjadi histamin oleh enzim histidin dekarboksilase yang dihasilkan oleh bakteri pembentuk histamin pada ikan yang tidak segar.

c. Enzim DAO

Enzim DAO adalah enzim yang akan mengoksidasi histamin menjadi aldehid, ammonia dan H_2O_2 yang akan memberikan sinyal pada potensiostat.

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan pola dan tahap-tahap sebagai berikut : isolasi kitin, pembuatan elektroda enzim DAO/ biosensor histamine, karakterisasi biosensor histamin dan tahap terakhir adalah uji coba pemakaian biosensor histamin terhadap sampel ikan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mulai dilakukan di laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA UNHAS pada bulan Maret 2014 meliputi penyiapan alat dan bahan, isolasi kitin , desain dan pembuatan biosensor histamin. Karakterisasi dan uji coba biosensor histamin dilakukan di laboratorium Terpadu Jurusan Kimia FMIPA UNHAS. Sampel ikan diambil dari PT Prima Indo Tuna dan pelelangan ikan Paotere Makassar.

C. Alat dan Bahan yang Digunakan

1. Alat-alat

Voltameter siklik – eDAQ ED410-159, pH meter/potensiometer Orion 710 A, elektroda enzim, spektrofotometer, pengaduk magnetik, spektrofotometer IR Shimadzu Prestige-21, spektrofotometer UV/Vis, oven, neraca analitik, stopwatch, statif, solder, lemari pendingin, dan peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

2. Bahan-bahan

AgCl, KCl, kawat Pt, kawat Cu, kawat Ag, aquades, HCl, NaOH, timah, glutaraldehid (GA), selulosa asetat, aseton, histamin, kadaverin,

histidin, diamin oksidase (DAO), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, aquades, kulit/kepala udang.

D. Prosedur Kerja

1. Penyiapan alat dan bahan penelitian

Alat dan bahan penelitian dipersiapkan untuk mendesain peralatan biosensor, mulai dari alat dan bahan untuk isolasi kitin, pembuatan biosensor enzim DAO, karakterisasi biosensor histamin maupun alat dan bahan untuk menganalisis histamin dalam sampel ikan tuna dan cakalang.

2. Pembuatan larutan buffer fosfat

a. Penyiapan larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 M.

Sejumlah 2,7598 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya diencerkan dengan aquades hingga tanda garis (larutan A)

b. Penyiapan larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M.

Sejumlah 1,7799 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya diencerkan dengan aquades hingga tanda garis (larutan B)

Pembuatan larutan buffer fosfat dilakukan dengan mencampurkan larutan A dan larutan B sesuai dengan perbandingan masing-masing untuk buffer pH 6 hingga 8 dengan interval pH 0,5 unit.

3. Isolasi kitin dari limbah udang

a. Deproteinasi.

Limbah udang diambil cangkangnya, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering. Selanjutnya dicuci dalam air panas dua kali, lalu direbus selama 10 menit, kemudian ditiriskan dan dikeringkan. Bahan yang sudah kering digiling

sampai menjadi serbuk ukuran 60 mesh. Serbuk tersebut dicampur dengan larutan NaOH 4,5% dengan perbandingan berat antara NaOH dan serbuk cangkang udang adalah 6:1. Selanjutnya diaduk dengan magnetik stirrer selama 1 jam, dibiarkan sebentar, lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 1 jam. Campuran kemudian disaring, terdapat residu dan filtrat. Residu didinginkan sehingga diperoleh residu padatan. Residu padatan kemudian dicuci dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam atau dijemur sampai kering.

b. Demineralisasi.

Sebanyak 20 gram serbuk cangkang udang hasil deproteinasi dicampur dengan asam klorida 2,5 M dengan perbandingan 10:1 (HCl:serbuk cangkang udang hasil deproteinasi). Campuran kemudian diaduk menggunakan magnetik stirer sekitar 1 jam, dibiarkan sebentar, kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 1 jam. Residu berupa padatan dicuci dengan akuades sampai pH netral. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam atau dijemur sampai kering.

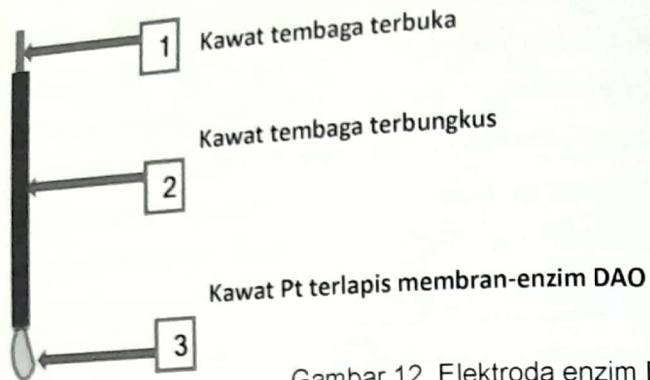
4. Desain biosensor histamin

Kawat tembaga berlapis dengan plastik ukuran 5 cm diameter 1 mm disambungkan kawat Pt ukuran 1,5 cm diameter 0,4 mm dengan cara dipatri menggunakan kawat timah. Selanjutnya ujung kawat Pt dilengkungkan kembali ke titik patri (elektroda Pt, Ep). Bagian kawat Pt elektroda Ep dicelupkan dalam larutan homogen kitin-selulosa asetat, CA (1:1, 2:1, 3:1) dalam aseton. Segera setelah lapisan membran terbentuk, elektroda dicelupkan ke dalam air berulang-ulang. Selanjutnya pada bagian kawat yang telah dilapisi membran kitin-selulosa asetat direndam dalam larutan glutaraldehid, GA (15, 20, 25 %) selama 6 jam. Setelah lapisan

membran yang mengandung glutaraldehid terbentuk, elektroda dicuci dengan buffer fosfat pH 7,0 (Em). Elektroda enzim DAO dibuat dengan merendam Em dalam buffer fosfat pH 7,0 yang mengandung enzim DAO selama 16 jam. Desain elektroda enzim DAO dapat dilihat pada Gambar 12 dan perbandingan konsentrasi bahan membran berbagai tipe elektroda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan konsentrasi bahan membran berbagai tipe elektroda

Tipe Elektroda	Perbandingan konsentrasi bahan membrane	
	Kitin:Selulosa asetat	Glutaraldehid (%)
Ea ₁	1:1	15
Ea ₂	2:1	
Ea ₃	3:1	
Eb ₁	1:1	20
Eb ₂	2:1	
Eb ₃	3:1	
Ec ₁	1:1	25
Ec ₂	2:1	
Ec ₃	3:1	



Gambar 12. Elektroda enzim DAO

a. Pengukuran arus dan potensial secara voltameteri siklik.

Disiapkan larutan standar histamin: 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 ppm. Selanjutnya untuk masing-masing elektroda enzim dilakukan pemindaian potensial dari $-1,5$ ke $+2,0$ V dengan kecepatan 100 mV/detik mulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi yang lebih tinggi. Hasil berupa voltamogram baik siklik maupun deferensial (DP) dianalisis untuk memperoleh perubahan arus puncak yang disebabkan oleh perubahan konsentrasi larutan yang digunakan.

b. Karakterisasi biosensor histamin

Karakterisasi biosensor histamin untuk mengetahui kinerja biosensor yang telah didesain dilakukan melalui uji faktor linieritas, batas deteksi, kisaran pengukuran, waktu respon, dan usia pemakaian biosensor. Hasil desain biosensor yang memberikan kinerja yang maksimal akan digunakan untuk mengukur kadar histamin dalam ikan tuna dan cakalang. Selanjutnya elektroda enzim DAO yang optimal akan dibandingkan dengan spektrofotometer.

5. Pengukuran histamin ikan tuna dan cakalang

a. Penyiapan sampel ikan tuna dan cakalang.

Sampel ikan tuna dan cakalang diperoleh dari PT Prima Indo Tuna dan pelepasan ikan Paotere Makassar disimpan dalam termos es. Selanjutnya sampel ikan tuna dan cakalang dibawa ke laboratorium dan dibagi dua kelompok. Kelompok pertama disimpan dalam lemari pendingin dan kelompok kedua disimpan pada suhu kamar. Selanjutnya dianalisis kadar histamin pada 0, 3, 6, 9 dan 12 jam, untuk penyimpanan pada suhu kamar dianalisis pada 12, 24, 36, 48 dan 60 jam untuk penyimpanan pada lemari pendingin. Suhu dan waktu penyimpanan sampel ikan dapat dilihat pada Tabel 4.

b. Preparasi sampel ikan tuna dan cakalang.

Sebanyak 25 gram daging sampel ikan tuna dan cakalang diblender dengan 100 mL buffer fosfat pH tertentu (pH optimumnya) sampai terbentuk bubur yang homogen. Selanjutnya disaring dan filtrat akan digunakan dalam pengukuran histamin.

c. Perbandingan elektroda enzim DAO dengan spektrofotometer.

Dilakukan pengukuran histamin untuk setiap konsentrasi larutan standar dan sampel ikan tuna dan cakalang menggunakan elektroda enzim DAO yang optimal dan Spektrofotometer. Hasil pengukuran dibandingkan satu sama lain.

Tabel 4. Suhu dan waktu penyimpanan sampel ikan tuna dan cakalang

Suhu Penyimpanan (°C)	Waktu Penyimpanan (jam)	Suhu Penyimpanan (°C)	Waktu Penyimpanan (jam)
5 (lemari pendingin)	12	30 (suhu kamar)	0
	24		3
	36		6
	48		9
	64		12

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Isolasi Kitin

Isolasi kitin dari limbah udang dilakukan dengan dua cara yang berbeda yaitu:

1. Cara 1, dilakukan dengan proses demineralisasi terlebih dahulu dilanjutkan dengan proses deproteinasi (kitin A)
2. Cara 2, dilakukan dengan proses deproteinasi terlebih dahulu dilanjutkan dengan proses demineralisasi (kitin B)

Hasil yang diperoleh dari kedua cara tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil isolasi kitin dari limbah udang

Parameter uji	Kitin A	Kitin B	SNI
N total (%)	6,70	5,72	6-7
Abu (%)	1,87	1,04	<2
Air (%)	2,30	2,74	<10
Derajat deasetilasi (%)	26,5	40,6	<50
Rendamen (%)	30,31	28,29	

Pada Tabel 5 terlihat bahwa dua cara yang digunakan dalam isolasi kitin dari limbah kulit/kepala udang menunjukkan hasil yang memenuhi syarat sesuai dengan SNI. Namun demikian ada catatan yang penting diperhatikan khususnya kalau dilihat dari dua parameter uji yaitu derajat deasetilasi dan rendamen.

Derajat deasetilasi kitin B 40,6 % jauh lebih besar dari kitin A 26,5 %. Semakin besar derajat deasetilasi menunjukkan banyak gugus asetil pada rantai polimer kitin yang terlepas sehingga menjadikan polimer kitin mempunyai gugus amin bebas yang juga lebih banyak, dengan demikian kitin menjadi lebih reaktif. Berdasarkan pada derajat deasetilasi maka dapat dipilih metode dan cara yang tepat sesuai dengan peruntukan kitin yang

diisolasi. Pada penelitian ini digunakan kitin B yang diharapkan lebih kuat berinteraksi dengan bahan lainnya pada pembuatan elektroda membran DAO, walaupun rendamannya lebih kecil daripada kitin A.

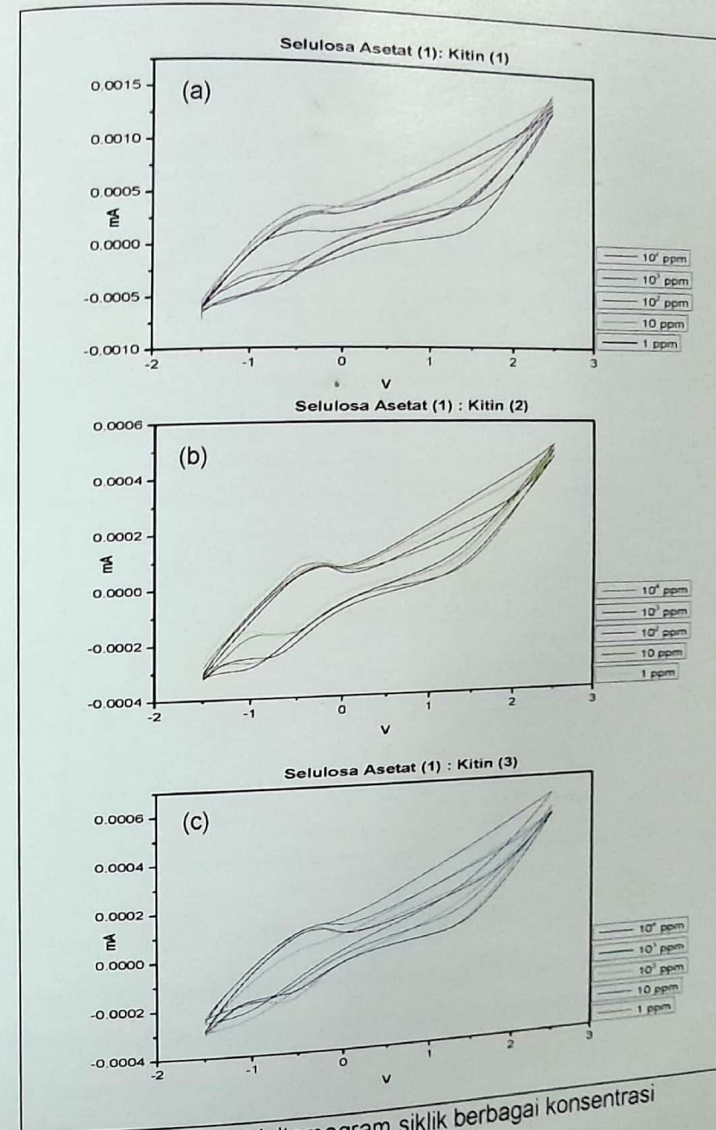
Rendamen kitin A lebih besar sekitar 2 % dari kitin B (Kitin A 30,31 % dan kitin B 28,29 %). Perbedaan 2 % ini secara ekonomi cukup dapat diperhitungkan dalam pemilihan metode dan cara isolasi kitin. Hal ini penting apalagi kalau hasilnya dimaksudkan untuk digunakan pada pemakaian kitin yang kurang reaktif seperti pada proses pengawetan.

B. Hasil Desain dan Karakterisasi Biosensor Histamin

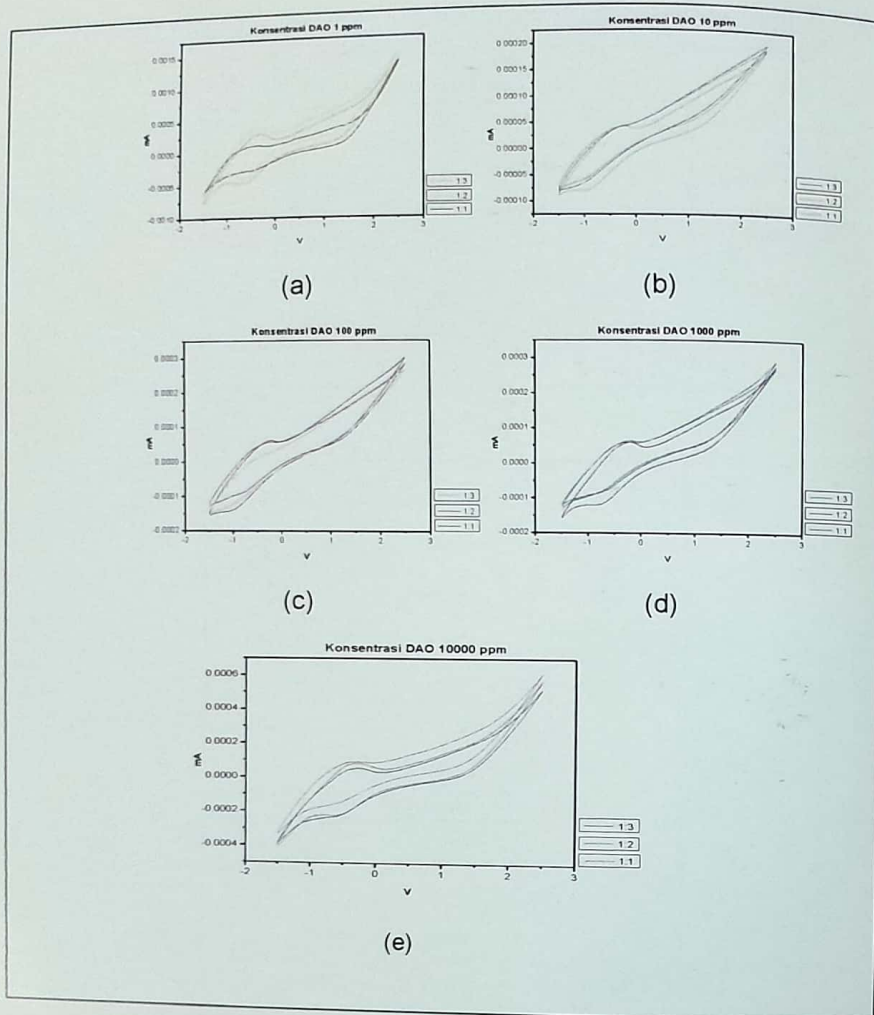
Hasil pengukuran (voltammogram) berbagai konsentrasi histamin pada berbagai perbandingan membran ditunjukkan dalam Gambar 13. Pada Gambar 13 terlihat bahwa pada perbandingan kitin-selulosa asetat 2:1(13b) menunjukkan arus puncak yang lebih jelas dan teratur dibandingkan dengan 1:1 (13a) dan 3:1 (13c). Berdasarkan hasil ini maka dapat dikatakan bahwa membran dengan perbandingan 2:1 lebih baik dibandingkan dengan perbandingan 1:1 dan 3:1.

Voltammogram berbagai perbandingan membran kitin-selulosa asetat pada berbagai konsentrasi histamin ditunjukkan pada Gambar 14. Pada Gambar 14 terlihat bahwa untuk perbandingan kitin-selulosa asetat 1:1, arus puncak hanya terjadi pada konsentrasi histamin 10.000 ppm (14e). Pada perbandingan kitin-selulosa asetat 2:1, arus puncak terjadi pada seluruh konsentrasi (14a,14b,14c,14d,14e). Sedangkan pada perbandingan kitin-selulosa asetat 3:1, arus puncak terjadi pada konsentrasi 1 ppm dan 10.000 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa perbandingan kitin selulosa asetat 2:1 lebih baik daripada perbandingan lainnya dan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai membran

elektroda enzim DAO.



Gambar 13. Voltammogram siklik berbagai konsentrasi histamin



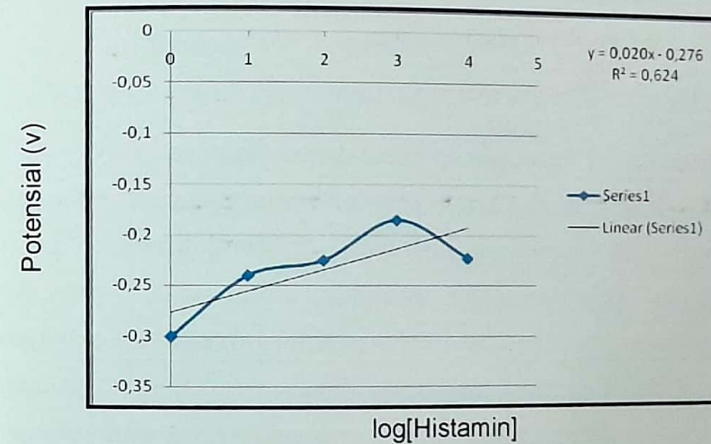
Gambar 14. Voltamogram siklik berbagai perbandingan membran membran

Hasil karakterisasi elektroda membran 2:1 setelah ditabulasi pada arus puncak dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Arus puncak dan potensial pada berbagai konsentrasi histamin

No	[Histamin] (ppm)	Log [Histamin]	Arus (mA)	Potensial (v)	Waktu (det.)
1	1	0	0.112	-0.300	12,0
2	10	1	0.067	-0.240	12,6
3	100	2	0.056	-0.225	12,8
4	1000	3	0.085	-0.185	13,2
5	10000	4	0.134	-0.223	12,1

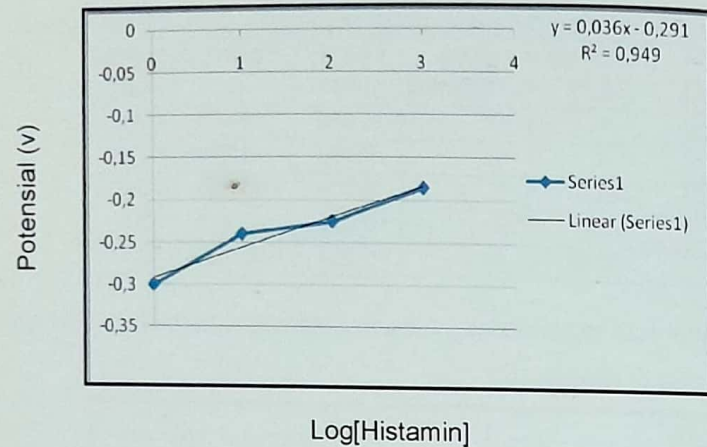
Setelah diplot antara log[Histamin] dengan potensial diperoleh grafik seperti yang terlihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik hubungan antara log[Histamin] dengan potensial

Pada Gambar 15 terlihat bahwa potensial cenderung naik dengan naiknya konsentrasi histamin dari 1 ppm sampai 1000 ppm, namun kembali turun pada konsentrasi histamin 10.000 ppm. Gambar 15 juga menunjukkan tidak liniernya grafik yang dihasilkan ($R^2 = 0,6246$). Jika diplot dari konsentrasi histamin 1 ppm sampai pada konsentrasi histamin

1000 ppm, maka akan diperoleh grafik seperti yang terlihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik hubungan antara log[Histamin](2) dengan potensial

Pada Gambar 16 menunjukkan linieritas hubungan yang tinggi ($R^2 = 0,9495$) antara log[Histamin] dengan potensial yang dihasilkan. Gambar 15 dan Gambar 16 memberikan informasi bahwa hubungan antara log[Histamin] dan potensial pada elektroda enzim DAO linier dari konsentrasi histamin 1 ppm sampai 1000 ppm. Dengan demikian elektroda enzim DAO dapat digunakan dalam penentuan konsentrasi histamin secara voltametri siklik sampai pada konsentrasi 1000 ppm dengan waktu respon sekitar 12 detik. Jika konsentrasi histamin lebih besar dari 1000 ppm maka sampelnya harus diencerkan terlebih dahulu sebelum diukur.

C. Hasil Pengukuran Histamin Ikan Tuna dan Cakalang

Hasil pengukuran konsentrasi histamin sampel ikan tuna dan cakalang pada suhu dingin 5°C dan suhu kamar 29°C ditunjukkan pada Tabel 7. Dalam Tabel 7 terlihat bahwa pada suhu dingin 5°C , konsentrasi histamin semua sampel masih memenuhi persyaratan standar SNI (50 ppm). Namun demikian perlu diperhatikan bahwa selang waktu 72 jam sudah mulai menunjukkan kenaikan histamin yang cukup signifikan dari waktu sebelumnya yaitu 3,6 ppm menjadi 6,53 ppm pada cakalang dan 2,46 ppm menjadi 5,9 ppm pada tuna.

Tabel 7. Hasil pengukuran histamin dengan elektroda enzim DAO

NO	Kode Sampel	[Histamin] (ppm)	Keterangan
1	C00	0.47	Sampel cakalang 0 jam
2	C01	0.8	Cakalang 5°C 12 jam
3	C02	2.56	24 jam
4	C03	3.6	48 jam
5	C04	6.53	72 jam
6	T00	2.24	Sampel tuna 0 jam
7	T01	2.31	Tuna 5°C 12 jam
8	T02	2.43	24 jam
9	T03	2.46	48 jam
10	T04	5.9	72 jam
11	C11	30.14	Cakalang 29°C 12 jam
12	C12	54.61	24 jam
13	C13	1577.05	48 jam
14	C14	3185.04	72 jam

Pada suhu kamar 29°C , sampel cakalang langsung menunjukkan konsentrasi histamin yang cukup tinggi yaitu 30,14 ppm pada waktu penyimpanan 12 jam dan pada waktu 24 jam sudah melampaui

persyaratan standar SNI yaitu 54,61 ppm yang selanjutnya pada waktu penyimpanan 48 jam dan 72 jam menunjukkan konsentrasi histamin yang sangat tinggi dan tidak dapat lagi untuk dikonsumsi.

D. Perbandingan antara Biosensor dengan Spektrofotometri

Perbandingan antara hasil pengukuran histamin yang menggunakan biosensor dengan spektrofotometri dapat dilihat pada Tabel 8. Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa hasil pengukuran konsentrasi histamin dengan menggunakan biosensor (histamin A) yang telah dibuat yaitu elektroda enzim DAO tidak berbeda secara signifikan dengan spektrofotometri (histamin B).

Tabel 8. Hasil pengukuran histamin dengan biosensor dan spektrofotometri

NO	Kode Sampel	[Histamin] A (ppm)	[Histamin] B (ppm)
1	C00	0.47	0.39
2	C01	0.8	0.75
3	C02	2.56	2.45
4	C03	3.6	2.99
5	C04	6.53	5.4
6	T00	2.24	2.25
7	T01	2.31	2.30
8	T02	2.43	2.39
9	T03	2.46	2.47
10	T04	5.9	5.85
11	C11	30.14	29.6
12	C12	54.61	53.5
13	C13	1577.05	1560.3
14	C14	3185.04	3136.8

Keterangan : A = pengukuran dengan biosensor

B = pengukuran dengan spektrofotometri

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa elektroda enzim DAO dapat dipakai untuk menentukan konsentrasi histamin dalam sampel ikan tuna atau cakalang dengan menggunakan potensiostat (voltametri siklik). Hasil analisis dengan biosensor cenderung sedikit lebih rendah dibanding spektrofotometri tetapi masih dalam batas-batas yang dapat dipakai. Kecendrungan ini mungkin disebabkan oleh masih adanya sedikit senyawa amina lain yang turut terdeteksi, dengan demikian tetap harus diusahakan supaya spesifitas dan selektifitasnya semakin sempurna. Namun demikian masa pakai elektroda relatif lama yaitu 6 bulan dan waktu analisis yang diperlukan jauh lebih cepat yaitu 2 jam dibandingkan dengan spektrofotometri 2 hari.

V. KESIMPULAN, SARAN DAN REKOMENDASI

A. KESIMPULAN

1. Kitin yang diisolasi dari limbah kulit/kepala udang dengan rendamen 28,29 % dapat digunakan dalam pembuatan elektroda enzim diamin oksidase untuk biosensor histamin
2. Komposisi membran elektroda enzim diamin oksidase yang tepat adalah pada perbandingan kitin-selulosa asetat 2:1 dengan sensitifitas tinggi (1 ppm), waktu respon yang cepat (12 detik) dan masa pakai cukup lama (6 bulan)
3. Biosensor histamin yang dihasilkan dapat digunakan untuk analisis histamin sekaligus menentukan tingkat kesegaran ikan tuna dan cakalang.

B. SARAN

Perlu pengembangan dan pemanfaatan teknologi biosensor khususnya biosensor elektrokimia berbasis amobilisasi enzim untuk memantau tingkat kesegaran ikan tuna dan cakalang secara cepat dan murah.

C. REKOMENDASI

Rekomendasi kebijakan yang diusulkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penggalakan kelompok usaha seperti koperasi untuk mengolah limbah udang menjadi kitin yang dapat dimanfaatkan pada berbagai keperluan seperti pembuatan biosensor enzimatik, pengawetan dan lain-lain

2. Biosensor enzim DAO dapat dikembangkan dan diproduksi sehingga para pelaku usaha dibidang perikanan khususnya eksportir/importir tuna dan cakalang dapat memanfaatkan biosensor enzimatik untuk mengetahui kadar histamin dalam ikan tuna dan cakalang secara cepat.

Burhanuddin, R.M., Mortosewojo, S. dan Djamali, A., 1984, Suku Scombridae; Tinjauan Mengenai Ikan Tuna, Cakalang dan Tongkol, LON-LIPI, Jakarta

Cai, D. and Klinman, J. P., 1994, Evidence for a Self-catalytic Mechanism of 2,4,5-trihydroxyphenylalanine Quinone Biogenesis in Yeast Copper Amine Oxidase. *J. Biol. Chem.* 269: 32039-32042

Chang, A., Scheer, M., Grote, A., Schomburg, I., Schomburg, D., 2008, Brenda, Amenda and Frenda the enzyme information system: new content and tools in 2009. *Nucleic Acids Res.* 37:588-592.

Choudhary, A., Singh, R.P., 2013, Cadmium-induced Changes in Diamine Oxidase Activity and Polyamine Levels in *Vigna radiata* Wilczek Seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 156: 704-710

Cogoni, A., Farci, R., Medda, R., Rinaldi, A. and Floris, G., 1989, Amine Oxidase from *Lathyrus cicera* and *Phaseolus vulgaris*: Purification and Properties. *Prep. Biochem.* 19: 95-112.

Cohen, A., Hertz, H.S., Mandel, J., 1980, Total Serum Cholesterol by isotope Dilution/Mass spectrometry. *Clin Chem.* 26: 854-859

Dalgaard, P., Emborg, J., Kjolby, A., Sorensen, N.D., Ballin, N.Z. 2008. Histamine and biogenic amines : formation and importance in seafood. T Borresen, edited, *Improving Seafood Product for the Customer*. North America :Woodhead Publish CRC Press LLC.

Dooley, D. M., McGuirl, M., Brown, D. E., Turowski, P., McIntire, W. S. and Knowles, P. F., 1991, A Cu(I)-semiquinone State in Substrate-reduced Amine Oxidases. *Nature.* 349: 262-264.

Durkin, CA ,Thomas, M., and E. Virginia Armbrust, E.V., 2009, Chitin in Diatoms and Its Association with the Cell Wall, *Eukaryot Cell* 8(7): 1038-1050.

Eggins, B. R., 1996, Biosensors: An Introduction. First Edition. New York, United States of America: John Wiley & Sons Ltd and B.G. Teubner.

Eitenmiller, R.R., Orr, J.H., Wallis, W.W., 1982, Histamine formation in fish: Microbiological and biochemical condition. editor Martin, R.E. at al, Chemistry and Biochemistry of Marine Product, Connecticut: AVI Publishing Company

FDA, 2001, Scombrototoxin (Histamine) formation. In Fish and fishery products hazard and controls guidance (3.rd. ed.). Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition.

Fenge, I. D., Wegener, D., 1984, Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Berlin: Walter de Gruyter.

Fletcher, G.C., Summer, G., Winchester, R.V., and Wong, R.J., 1995. Histamine and histidine in New Zealand marine fish and shellfish species, particularly Kahawai (*Arripis trutta*). J. Aquat. Food prod. Technol. 4(2): 533-574.

Genisa, J., 2000, Produksi Histamin pada Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L) Selama Lepas Tangkap, Disertasi, PPS-UNHAS, Makassar

Hatzinikolaou, D.G. and Marcis, B.J., 1995, Factors Regulating Production of Glukosa Oksidase by *Aspergillus niger*, Enzym, Microb. Technol., 17, 530-534

Hughes, J. M. and Potter, M. E. 1991. Scombroid-fish Poisoning: From Pathogenesis to Prevention. 324(11): 766-768.

Ilyas, S., 1983, Pemanfaatan Pasca Panen Cakalang dan Tuna, Penanganan Pengolahan dan Pemasarannya. Prosiding Puditban Buku II, Jakarta

Indriati, N., Rispayeni, Heruwati, E.S., 2006, Studi bakteri pembentuk histamin pada ikan kembung pada selama proses pengolahan, Jurnal Pascapanen dan bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 2(1): 88-99.

Janata, J., and Czechoslov, C., 2009, Potentiometry in gas phase Chem. Commun., 74, 1623-1634

Janes, S. M., Mu, D., Wemmer, D., Smith, A. J., Kaur, S., Maltby, D., Burlingame, A. L. and Klinman, J. P., 1990, A New Redox Cofactor in Eukaryotic Enzymes: 6-Hydroxydopa at the Active Site of Bovine Serum Amine Oxidase. Science. 248: 981-987.

Kaseger, B.E., 1986, Silase Limbah Ikan Cakalang (*Katsuwonus velamis* L), FPS, IPB-Bogor

Kerr, M., Lawicki, P., Aguirre, S., Rayner, C., 2002. Effect on Storage Conditions on Histamine Formation in Fresh and Canned Tuna. Victoria: Public Health Division, Victorian Government of Human Services: 9-10.

Kimata, M., 1961. The histamine problem. Borgstorm G., editor. Fish as Food. Vol1. New York Academic Press.

Kohlpaintner, C., Schulte, M., Falbe, J., Lappe, P., and Weber, J., 2005, Aldehydes Aliphatic, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Wiley-VCH

Kumar, V., Dooley, D. M., Freeman, H. C., Guss, J. M., Harvey, I., McGuire, M. A., Wilce, M. C. J. and Zubak, V. M., 1996, Crystal Structure of a Eukaryotic (Pea 74 Seedling) Copper-containing Amine Oxidase at 2.2 Å Resolution. Structure. 4: 943-955.

Lange, J. and Wittmann, C., 2001, Enzyme Sensor Array for the Determination of Biogenic Amines in Food Samples. Analytical and Bioanalytical Chemistry.

Lehane, L., Olley, J., 2000, Histamine fish poisoning revisited. *J of Food Microbiol.* 58(2): 1-37.

Matsumoto, M.W, Skillman, R.A and Dizon, A.R, 1984, Synopsis of Biological Data on Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*), NOAA, Technical Report NMSF Circular.

Matsuzaki, R., Suzuki, S., Yamaguchi, K., Fukui, T. and Tanizawa, K., 1995, Spectroscopic Studies on the Mechanism of the Topa Quinone Generation in Bacterial Monamine Oxidase. *Biochemistry.* 34: 4524-4530.

Medda, R., Padiglia, A. and Floris, G., 1995, Plant Copper amine Oxidases. *Phytochemistry.* 39: 1-9.

Mu, D., Medzihradsky, K. F., Adams, G. W., Mayer, P., Hines, W. M., Burlingame, A. J., Smith, A. J., Cai, D. and Klinman, J. P., 1994, Primary Structure for Mammalian Cellular and serum copper Amine Oxidase. *J. Biol, Chem.* 296: 9926-9932.

Nogous, V.M.F., Carou, M.C.V. and Font, A.M., 1990, A Research Note; Histamin and Tyramin in Proserved and Semiproserved Fish Product, *J. Food Sci.*, 54(6): 1653-1655

Othman, N., Bakar, F.A., Salleh, A.B., Heng, L.Y., and Wagiran R., 2006, A Preliminary Investigation on Histamine Biosensor Constructed from Diamine Oxidase Immobilised onto an Oxygen Probe, *Malaysia Journal of Analytical Science*, 10: 137-142

Pan, G. S., 1984, Effects On Histamine Formation in Tuna, Bonito and Mackerel, Departement of Mar, Fd, Sci, National Taiwan Collage of Marine Food Science and Technologi Keelung Taiwan, Roc, Unpublished

Padiglia, A., Cogoni, A. and Floris, G., 1991, Characterization of Amine Oxidases from Pisum, Lens, Lathyrus and Cicer. *Phytochemistry.* 30: 3895-3897.

Parsons, M. R., Convery, M. A., Wilmot, C. M., Yadav, K. D. S., Blakeley, V., Corner, A. S., Philips, S. E. V., McPherson, M. J. and Knowels, P. F., 1995, Crystal Structure of a Quino enzyme: Copper Amine Oxidase of *E. coli* at 2Å Resolution. *Structure.* 3: 1171-1184.

Public Health Division, 2002. Investigation of Biogenic Amines in fish and Fish Products. First Edition. State of Victoria: Victorian Government Department of Human Services.

Raafat, D., Bargaen, K.V., Haas, A., and Sahl, H.G., 2008, Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound, *Appl Environ Microbiol*, 74:3764-3773

Rossi, A., Petruzelli, R. and Finazzi-Agro, A., 1992, cDNA Derived Amino Acid Sequence of Lentil Seedlings Amine Oxidase. *FEBS Lett.* 301: 253-257.

Shahidi, F., Botta, J.R., 1994, *Seafoods: Chemistry, Processing Technology, and Quality.* 1st edition, Springer Science + Business Media, British Library

Sumner, J., Ross, T., Ababouch, L., 2004, Application of Risk Assessment in the Fish Industry. Rome: FAO

Suresh, M. R., Ramakrishna, S. and Adiga, P. R., 1976, Diamine Oxidase of *Lathyrus sativus* Seddlings. *Phytochemistry.* 15: 483-485.

Taylor, T., Alasalvar, C., 2002, *Seafood-Quality, Technology and Nutraceutical Applications.* Springer, Berlin

Tipping, A. J. and McPherson, M. J., 1995, Cloning and Molecular Analysis of the Pea Seedling Copper Amine Oxidase. *J. Biol. Chem.* 270: 16939-16946

Tombelli, S. and Mascini, M., 1998, Electrochemical Biosensors for Biogenic Amines: A Comparison between Different Approaches. *Analytica Chimica Acta.* 358: 277-284

Turowski, P. N., McGuirl, M. A., and Dooley, D. M., 1993, Intra Molecular Electron Transfer Rate between Active-site Copper and Topa Quinone in Pea Seedling Amine Oxidase. *J. Biol. Chem.* 268: 17680-17682

Widiastuti, I dan Putro, S., 2010, Analisis Mutu Ikan Tuna Selama Lepas Tangkap, *Maspari Journal*, 1: 19-24

Wilflingseder, D. and Schwelberger, G., 2000, High Efficient Purification of Porcine Diamine Oxidase. *Journal of Chromatography.* 737: 161-166.

Wimmerova, M. and Macholan, L., 1999, Sensitive Amperometric Biosensor for the Determination of Biogenic and Synthetic Amines Using Pea Seedlings Amine Oxidase: A Novel Approach for Enzyme Immobilization. *Biosensor and Bioelectronics.* 14: 695-702

Wu, M. L., Yang, C. C., and Deng, J. F., 2004, Prolonged hemolysis and methemoglobinemia following organic copper fungicide ingestion, *Vet Human Toxicol*, 46(6):321-323

Yoguchi, R., Okuzumi, M., Fujii, T., 1990, Seasonal variation in number of mesophilic and halophilic histamine-forming bacteria on marine fish. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 56: 1473-1479.

Yuliarto, B. 2005, Teknologi Sensor Kimia dari Elektronik sampai Teknologi Nano, *Warta Sains dan Teknologi ISTECS-Japan, Dimensi*, 6 (2): 5-9

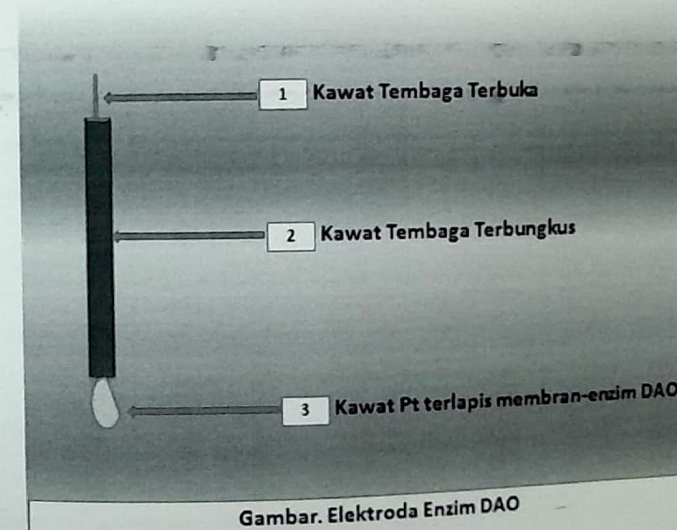
Lampiran 1

DESKRIPSI SINGKAT ALAT BIOSENSOR HISTAMIN

Biosensor histamin terdiri atas tiga bagian utama yaitu :

1. Elektroda enzim DAO (bagian ini yang didesain). Pada bagian ini enzim DAO akan mengoksidasi histamin dari sampel.
2. Potensiostat, berperan merubah data reaksi kedalam bentuk voltammogram siklik yang dapat dipantau melalui komputer.
3. Komputer untuk merekam dan menyimpan data dari potensiostat.

Elektroda enzim DAO terdiri atas kawat tembaga 5 cm yang disambung dengan kawat Pt 2,5 cm dengan cara dipatri. Bagian ujung kawat Pt dilengkungkan kembali ke titik patri, yang selanjutnya dilapisi dengan membran kitin-selulosa asetat dan enzim DAO. (lihat gambar)



Gambar. Elektroda Enzim DAO

Untuk pengukuran histamin pada sampel ikan dilakukan dengan cara mencelupkan bagian kawat Pt terlapis membran-enzim DAO (3) pada larutan ekstrak daging ikan dalam buffer fosfat 7,0. Selanjutnya bagian kawat tembaga terbuka (1) dihubungkan dengan potensiostat dan dipantau/direkam pada komputer.

Biosensor histamin dengan elektroda enzim DAO didesain sebagai peralatan sederhana untuk mendeteksi kandungan histamin yang terdapat pada ikan dan produk perikanan lainnya sehingga dapat dengan mudah digunakan oleh personil pengawas mutu.

Biosensor histamin dengan elektroda enzim DAO dapat digunakan untuk mendeteksi histamin pada sampel dengan konsentrasi 1 – 1000 ppm sehingga dapat direkomendasikan sebagai alat uji cepat dan murah karena kemampuan deteksinya berada pada konsentrasi standar produk perikanan, SNI 100 ppm.

Biosensor histamin dengan elektroda enzim DAO dapat menekan biaya analisis histamin. Sebagai perbandingan biaya analisis histamin dengan spektrofotometri rp. 100.000,-/sampel, dengan alat ini dapat ditekan hingga rp.25.000,-/sampel. Demikian juga biaya investasi awalnya 10 kali lebih murah dibandingkan dengan spektrofotometri.

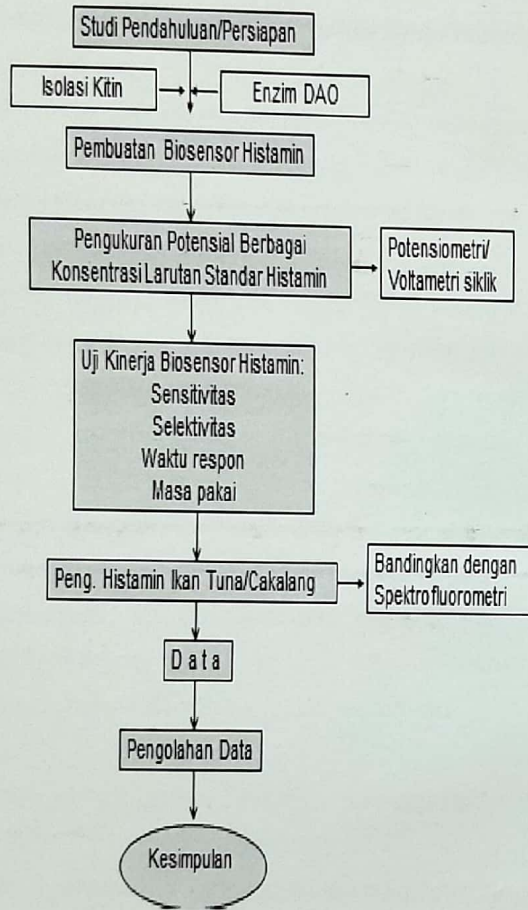
Keunggulan Teknologi :

1. Analisis histamin dengan biosensor histamin menggunakan elektroda enzim DAO dapat dilakukan dengan cepat dan murah
2. Dapat dengan mudah digunakan tanpa memerlukan keterampilan dan keahlian khusus yang terlatih
3. Waktu analisis jauh lebih cepat (2 jam) dibandingkan dengan spektrofotometri sampai 2 hari

4. Dapat mendeteksi histamin dalam sampel dengan konsentrasi 1 – 1000 ppm, sehingga dapat direkomendasikan sebagai alat uji histamin karena batas deteksinya berada pada batas konsentrasi histamin yang diperbolehkan untuk bahan makanan khususnya ikan (SNI, 100 ppm).

Lampiran 2

DIAGRAM ALIR METODOLOGI PENELITIAN



Lampiran 3

JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

No	KEGIATAN	WAKTU (Tahun 2014)												
		FEB	MAR	APR	MEI	JUN	JUL	AGS	SEP	OKT				
1	Persiapan													
2	Seminar Awal/ROPP													
3	Pengumpulan Data													
4	Seminar Antara													
5	Tabulasi Data													
6	Analisis data													
7	Penyusunan dan Penggandaan Laporan													
8	Seminar Akhir													
9	Penyerahan Laporan													

Lampiran 4.

PROFIL LEMBAGA (COMPANY PROFILE)

Lembaga Penelitian Universitas Hasanuddin dibentuk berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia No. 0154/0/1983, tanggal 5 Maret 1983 tentang Organisasi dan Tata Kerja Unhas yang mana telah mengalami beberapa kali perubahan dan tambahan. Perubahan terakhir berdasarkan Surat Keputusan Mendiknas R.I No. 192/0/2003 tanggal 16 Desember 2003 tentang Organisasi dan Tata Kerja Unhas, dimana dalam ketentuan tersebut diatur tentang kedudukan, tugas pokok dan fungsi lembaga.

Tujuan Lembaga Ini adalah untuk melaksanakan amanah tridharma Perguruan Tinggi khususnya di bidang penelitian sebagai salah satu tugas pokok Perguruan Tinggi. Untuk melaksanakan amanah tersebut maka kami berusaha terus untuk mengembangkan lembaga ini dari segi organisasi maupun infrastruktur /fasilitas lembaga.

Sebelum tahun 2000, lembaga penelitian unhas membawai pusat-pusat penelitian yakni: Pusat Studi Sumber Daya Alam dan Lingkungan, Pusat Studi Lingkungan, Pusat Studi Wanita, Pusat Studi Kependudukan, Pusat Studi Pengembangan Pedesaan dan Kawasan, Pusat Studi Gizi dan Pangan, Pusat Studi Kesehatan Reproduksi dan Unit Kajian Lebah Madu.

Selama lima tahun terakhir lembaga ini menunjukkan kemajuan pesat, baik dari segi infrastruktur maupun kelembagaan, dan pada akhirnya terdapat perubahan dan pengembangan unit-unit lembaga, dimana pusat studi berubah menjadi Pusat-Pusat Penelitian berdasarkan ketentuan dan tuntutan perubahan. Selain itu penambahan Pusat Penelitian seperti : Pusat Penelitian Terumbu Karang dan Pusat Penelitian Hukum dan HAM.

Pengembangan Unit-Unit Kajian meliputi 16 unit kajian serta devisi-devisi sebanyak 8 devisi. Seiring dengan pengembangan kelembagaan, terdapat pula pengembangan Sumber Daya Manusia berupa Dosen sebagai pelaksana peneliti, dimana tahun ke tahun terdapat terdapat pengembangan dosen baik yang berkualifikasi magister maupun yang berkualifikasi Doktor. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Struktur Lembaga Penelitian Unhas.

Lampiran 5

ORGANISASI PELAKSANA KEGIATAN PENELITIAN

No.	POSISI DAN NAMA	BIDANG KEAHLIAN/TUGAS
I.	Penanggung jawab : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) Universitas Hasanuddin	
II.	Pelaksana Kegiatan :	
	1. Ketua Tim: Drs. Abdul Karim, M.Si	Biokimia/ Bioteknologi
	2. Anggota :	
	a. Dr. Indah Raya, M.Si	Kimia Anorganik
	b. Erna Mayasari, S.Si, M.Si	Kimia Material
	c. Abdur Rahman Arif, S.Si, M.Si	Biokimia/ Bioteknologi
	d. Nurfika Ramdani, S.Si	Kimia Material
III.	Tenaga Penunjang :	
	1. Mahdalia, S.Si	Analist
	2. Idris Khairun	Administrasi

