# BAB II
# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1. Ikan Tuna

Ikan Tuna *(Thunnus sp.)* merupakan jenis ikan yang bernilai ekonomis tinggi dan merupakan jenis ikan yang paling banyak dicari di laut Indonesia. Ikan tuna tergolong ikan *long distance migratory*, memiliki sifat kosmopolitan yang mampu hidup di perairan beriklim tropis, subtropis, dan sedang (*temperate*) (Kutun, 2018).

Pada tahun 2023, produksi ikan tuna komersial global mencapai sekitar 7 juta ton. Dari jumlah tersebut, 57% terdiri dari jenis skipjack (Katsuwonus pelamis), yang merupakan tuna paling banyak ditangkap karena ketersediaannya yang melimpah dan harganya yang terjangkau. Sebanyak 30% dari produksi global merupakan jenis *yellowfin (Thunnus albacares*), yang populer untuk konsumsi segar dan produk premium seperti sashimi. Selanjutnya, 8% dari total produksi terdiri dari jenis *bigeye (Thunnus obesus*), yang memiliki nilai tinggi dalam pasar sashimi karena tekstur dan rasa dagingnya. Selain itu, *jenis albacore (Thunnus alalunga*) menyumbang sekitar 4% dari produksi dan umumnya digunakan dalam produk tuna kaleng putih (*white meat tuna*). Adapun jenis *bluefin (Thunnus spp*.), yang merupakan tuna termahal terutama untuk pasar sushi dan sashimi kelas atas, hanya menyumbang 1% dari total tangkapan tuna di dunia (ISSF, 2023).

Jenis potongan ikan tuna yang biasa diekspor adalah tuna bentuk loin. Bentuk loin adalah ikan tuna potongan daging tanpa kulit, kepala, ekor, dan tulang, yang diambil dari bagian punggung dan perut ikan sepanjang tulang belakang. Berikut jenis - jenis potongan ikan tuna bentuk loin (Rimbawan, 2016) :

1. Bentuk Steaks adalah ikan tuna yang terlebih dahulu dibetuk loin kemudian diiris-iris secara melintang dan tegak lurus dengan ketebalan tertentu, sehingga hasil irisan berentuk lembaran-lembaran daging. Selain itu juga yang diiris dalam bentuk segitiga sesuai dengan keadaan ikan dan ukuan yang telah dituntuan. Tujuan dari pemotongan bentuk steaks adalah agar ikan dapat disiapkan untuk dimasak dengan ukuran

dan ketebalan yang dibuat seragam. Dengan demikian, proses memasak dapat dilakukan secara merata. Pemotongan ini juga dipilih karena bentuknya yang tebal dan utuh sehingga dapat digunakan untuk olahan panggang atau bakar, di mana tekstur daging perlu dipertahankan selama proses pemanasan.Adapun bentuk steaks dapat dilihat pada Gambar 2.1 di bawah ini.



**Gambar 2. 1 Ikan Tuna Bentuk Steak**

2. Bentuk Saku Adalah pembekuan ikan tuna yang awalnya bentuk loin, selanjutnya dilakukan *trimming* dan *skinning* kemudian disortir dan dibentuk seperti jajar genjang. Tujuan dari pemotongan ini adalah agar bentuk yang dibuat menjadi bersih dan seragam, terutama untuk memenuhi standar ekspor. Bentuk yang telah dirapikan dan dihilangkan kulitnya memudahkan produk untuk dikemas dan dikonsumsi, sehingga sering digunakan untuk produk siap saji maupun berbagai olahan. Adapun bentuk saku dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini



**Gambar 2. 2 Ikan Tuna Bentuk Saku**

Volume ekspor produk perikanan yang dikirim ke berbagai negara belum sebanding dengan nilai ekspor yang diperoleh Indonesia dalam bentuk devisa. Rendahnya nilai ekspor disebabkan bahan baku yang diekspor pada umumnya masih dalam kondisi utuh (segar dan beku) sehingga harga dalam satuan bobot menjadi rendah. Dalam pemilihan ikan tentunya para konsumen

sangat menitikberatkan dalam kualitas ikan yang baik dengan karakteristik ikan yang segar tanpa terkontaminasi apapun. Menurut SNI 2729:2013 atau Standar Nasional Indonesia tentang ikan segar, definisi dari ikan segar sendiri itu adalah semua jenis ikan yang belum pernah mengalami proses pengawetan kecuali pembekuan (*chilling*). Sedangkan mutu atau kualitas ikan tersebut dapat dikatakan masih segar dapat dilihat dari beberapa aspek seperti utuh, mata cerah atau cemerlang, bau segar sesuai jenis ikannya, tekstur ikan yang elastis dan padat/kompak. Berikut merupakan Ciri-ciri Ikan Segar yang bersumber dari SNI 2729:2021, dapat dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2. 1 Ciri – ciri Ikan Segar**

| Ciri-ciri Ikan Segar | | |
|---|---|---|
| Jenis | : | berisirip |
| Asal | : | perairan yang tidak tercemar |
| Bentuk | : | Utuh |
| Mutu | : | Mata cerah, cemerlang, Elastis, padat dan kompak |

Dalam pengujian komoditi perikanan juga perlu diperhatikan batas keamanan serta mutu kualitas ikan sehingga ikan tersebut dapat diekspor dalam kondisi terbaik. Persyaratan mutu dan keamanan ikan segar yang harus dijadikan parameter dalam proses pengujian dapat meliputi parameter uji *organoleptic*, cemaran mikroba, cemaran logam, residu kimia, kimia, racun hayati dan *parasite*. Dan setiap jenis ikan memiliki karakteristik pengujian yang berbeda-beda sehingga diperoleh hasil uji yang maksimal. Berikut disajikan suatu gambar tabel terkait parameter persyaratan mutu dan keamanan ikan segar yang diperoleh dari buku standar nasional Indonesia mengenai ikan segar. Berikut merupakan Table dari parameter keamanan dan mutu ikan segar yang bersumber dari SNI 2729:2021, dapat dilihat pada Tabel 2.2.

**Tabel 2. 2 Persyaratan mutu dan keamanan ikan segar**

| Parameter Uji | Satuan | Persyaaratan | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **a. Sensori** | | Minimum 7,0[1] | | | |
| **b. Cemaran Mikroba** | | **n** | **c** | **m** | **M** |
| • Angka Lempeng Total (ALT)[6] | Koloni/g | 5 | 2 | $10^5$ | $10^6$ |
| • Escherichia coli[6] | APM/g | 5 | 2 | 1 | 10 |
| • Salmonella[7] | per 25 g | 5 | 0 | Negatif | - |
| **c. Cemaran logam** | | | | | |
| • Merkuri (Hg) | mg/kg | Maksisum 0,50<br>Maksisum 1,00[3] | | | |
| • Timbal (Pb) | mg/kg | Maksisum 0,30 | | | |
| • Kadmium (Cd) | mg/kg | Maksisum 0,30 | | | |
| **d. Parasit[2]** | | | | | |
| • Parasit[4] | ekor/kg | Maksisum 1 | | | |
| **e. Histamin[5]** | | | | | |
| • Histamin | mg/kg | Maksisum 100 | | | |

1. Untuk setiap parameter sensori Jika diperlukan

2. Untuk bahan baku ikan predator

3. Berbentuk kapsuler (kista) dengan diameter > 3 mm atau parasit non kapsuler (cacing) yang panjangnya > 10 mm Untuk ikan scombroid, clupeidae, scombresocidae, pomatomidae, coryphaenedae

4. Untuk pengujian kuantitatif yang persyaratannya jumlah koloni menggunakan 3 kelas sampling. Persyaratan cemaran mikroba

n adalah jumlah contoh yang diuji

c adalah jumlah contoh yang diperbolehkan berada pada nilai marginal (antara m dan M) m adalah nilai hasil uji minimal

5. M adalah nilai hasil uji maksimal pada nilai marginal tangar

6. Untuk pengujian kualitatif yang persyaratannya positif atau negatif menggunakan 2 kelas sampling. Persyaratan cemaran mikroba

n adalah jumlah contoh yang diuji

c adalah jumlah contoh yang tidak boleh positif m adalah persyaratan yang harus dipenuhi

Penanganan komoditi perikanan, khususnya ikan tuna, tidak boleh dilakukan secara sembarangan karena dapat menurunkan kualitas produk. Ikan tuna termasuk dalam kelompok ikan *scombroid*, yaitu jenis ikan yang rentan terhadap pembentukan histamin apabila tidak ditangani dengan baik. Oleh karena itu, suhu penyimpanan ikan *scombroid* harus dijaga secara ketat antara 0 °C hingga 4,4 °C di setiap tahapan proses penanganan, mulai dari penangkapan, pengangkutan, hingga penyimpanan, untuk menghambat peningkatan kadar histamin (Tahmouzi, 2013). Selain pengendalian suhu,

semua peralatan yang digunakan dalam penanganan ikan segar juga harus memenuhi persyaratan tertentu. Peralatan tersebut harus memiliki permukaan yang halus, rata, tidak berkarat, tidak retak, tidak menyerap air, tidak mengelupas, serta tidak menjadi sumber kontaminasi mikroba. Selain itu, peralatan harus mudah dibersihkan dan tidak mempengaruhi mutu produk ikan. Seluruh peralatan wajib dalam keadaan bersih sebelum, selama, dan sesudah digunakan (FAO, 2020).

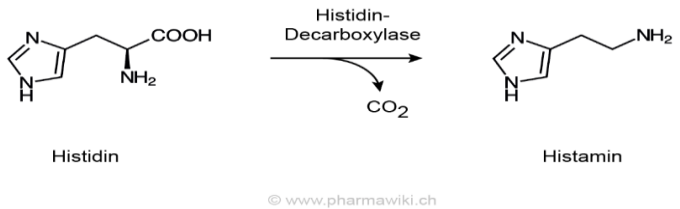
## 2.2. Histamin

Ikan Tuna begitu banyak peminatnya baik di dalam negeri maupun di luar negeri dikarenakan rasa yang enak. Produk olahan ikan tuna harus memiliki jaminan kualitas dan keamanan pangan yang tinggi. Pengelolaan ikan yang buruk mulai dari pemilihan, pengemasan, pendistribusian dapat menyebabkan penolakan ekspor ikan tuna di pasar internasional dikarenakan produk ikan tuna yang terkontaminasi. Kontaminasi pada produk perikanan seringkali menjadi penyebab kasus infeksi atau keracunan, baik oleh mikroba patogen yang menyebabkan infeksi maupun oleh mikroba yang menghasilkan toksin. Salah satu bentuk keracunan yang terjadi karena intoksikasi adalah keracunan histamin (Mawuntu, 2022; NCBI., 2023).

Histamin adalah senyawa biologis yang dapat ditemukan dalam makanan laut, termasuk udang. Ini merupakan hasil dari dekomposisi protein tertentu dalam makanan laut, terutama ikan dan *seafood*. Histamin juga merupakan produk sampingan dari metabolisme asam amino histidin. Kandungan histamin dalam makanan laut, seperti udang, dapat bervariasi tergantung pada sejumlah faktor, termasuk kesegaran, penyimpanan, dan penanganan. Histamin dalam makanan laut dapat menjadi perhatian kesehatan karena konsumsi histamin berlebih dapat menyebabkan reaksi alergi yang dikenal sebagai keracunan histamin. Oleh karena itu, penting untuk memahami dan mengelola kandungan histamin dalam makanan laut dengan cermat (Oktariani, 2022).

Makanan laut yang terkontaminasi bakteri pembentuk histamin dapat menghasilkan histamin dalam jumlah berbahaya jika tidak disimpan atau ditangani dengan benar. Histamin dapat menyebabkan gejala seperti sakit

perut, mual, muntah, diare, dan ruam kulit jika dikonsumsi. Keracunan histamin, yang dikenal sebagai *Histamine Fish Poisoning* (HFP), terjadi ketika seseorang mengkonsumsi ikan atau produk perikanan yang mengandung histidin bebas. Histidin bebas ini berperan sebagai prekursor histamin, yang jika dikonsumsi dapat menyebabkan keracunan pada manusia (Setyarini, 2019). Histamin adalah amina biogenik yang dibiosintesis dalam tubuh dari asam amino histidin melalui dekarboksilasi yang dikatalisis secara enzimatis dan ini memainkan peran penting dalam perkembangan reaksi alergi. Pemecahan metabolik histamin terjadi di satu sisi melalui deaminasi oksidatif oleh *diamina oksidase* (DAO) dan di sisi lain dengan bantuan metilasi cincin oleh *histamin N-metiltransferase* (HNMT) (Setyarini, 2019).




**Gambar 2. 3 Senyawa Histidin dan Histamin**

Bakteri juga memiliki enzim yang dapat mengubah histidin menjadi histamin. Inilah salah satu alasan mengapa makanan yang difermentasi dan disimpan mengandung histamin. Ikan yang masih segar cenderung memiliki kandungan histamin yang rendah, biasanya kurang dari 10 ppm (*Code of Practice for Fish and Fishery Products* 2020). SNI 2729:2013 mengatur bahwa syarat mutu dan keamanan produk ikan segar membatasi kadar histamin maksimum menjadi 100 mg/kg atau setara dengan 100 ppm (Setyarini, 2019). Hal ini bertujuan untuk memastikan keamanan konsumen dan mencegah keracunan histamin akibat produk perikanan yang mengandung histamin dalam jumlah berbahaya.

## 2.3. Pengujian histamin

Pengujian histamin pada produk ikan tuna menjadi hal yang penting untuk dilakukan guna memastikan kualitas dan keamanan produk. Histamin terbentuk sebagai hasil dekomposisi histidin oleh aktivitas bakteri pada ikan yang disimpan pada suhu yang tidak tepat. Dan suhu yang tepat untuk

menyimpan daging ikan tuna pada suhu 4-5 ºC dan (-2)-1 ºC. Berdasarkan SNI 2729:2021 tentang Pengujian Histamin pada Ikan dan Produk Ikan, batas maksimum kandungan histamin yang diizinkan dalam produk ikan adalah 100 mg/kg. Pengujian histamin ini penting untuk menghindari keracunan histamin yang dapat menyebabkan gejala seperti mual, muntah, dan reaksi alergi. Oleh karena itu, pengujian histamin pada produk ikan tuna dilakukan untuk memastikan bahwa produk tersebut aman untuk dikonsumsi dan memenuhi standar yang telah ditetapkan.

### 2.3.1 SNI 2354.10: 2016

SNI 2354.10: 2016 menjelaskan tentang dua metode utama untuk pengujian kadar histamin pada produk perikanan yaitu Spketroflorometri dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

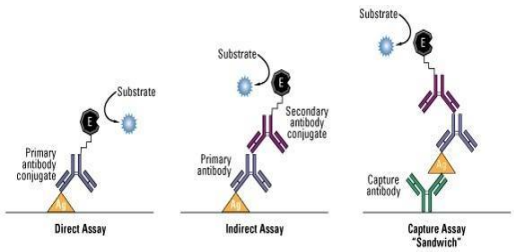
A. Spektroflorometri: Metode ini mendeteksi histamin berdasarkan intensitas fluoresensi yang dihasilkan setelah bereaksi dengan pereaksi khusus. Prosesnya meliputi persiapan sampel, reaksi kimia, dan pembacaan hasil menggunakan spektrofluorometer. Metode ini lebih sederhana namun sensitif untuk konsentrasi histamin tertentu.
B. KCKT: Teknik ini memisahkan dan mengukur histamin berdasarkan interaksinya di kolom kromatografi dengan fase gerak. Sampel yang telah diekstraksi dan dimurnikan diinjeksikan ke alat KCKT, kemudian hasilnya dianalisis secara kuantitatif.

Kedua metode ini digunakan untuk memastikan bahwa kadar histamin dalam produk perikanan tidak melebihi batas maksimum 100 mg/kg, sesuai dengan persyaratan keamanan pangan. Standar ini penting untuk mendukung mutu dan keamanan produk ekspor dan lokal.

### 2.3.2 Metode ELISA

ELISA adalah metode yang digunakan melalui pendekatan serologis berdasarkan reaksi spesifik antara antigen dan antibodi. Metode ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. ELISA bekerja dengan

mengamati interaksi antara antigen antibodi yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang berlabel enzim yang dapat berubah warna akibat adanya reaksi dengan substrat. Warna yang timbul dapat diukur dengan pembacaan nilai absorbansi pada ELISA plate reader (Thompson, 2010). Enzim yang umum digunakan dalam metode ELISA adalah *beta galaktosidase*, *alkalin fosfatasei* dan *peroksidase*. Kurva kalibrasi dapat dibuat yang menunjukkan hubungan antara absorbansi, kemudian absorbansi yang diperoleh dari contoh diinterpolasikan pada kurva tersebut. Setiap kali sebelum penambahan antibodi dilakukan pencucian untuk menghilangkan antibiotik yang tidak terikat, oleh karena itu metode ELISA tidak langsung memerlukan tahap analisis yang lebih lama (Zhao, 2019).




**Gambar 2. 4 Metode ELISA**

Metode ELISA dilakukan dengan membandingkan dengan konsentrasi standar yang diketahui. Apabila sinyal yang diberikan contoh lebih kuat daripada standar maka disebut positif, apabila lemah disebut negatif. Selain itu dapat juga ditentukan konsentrasi antibodi/antigen dalam contoh. Terdapat beberapa jenis metode ELISA diantaranya yaitu (Fitria Ayu K, 2018).

A. *Direct ELISA*

Metode ini menggunakan antibodi primer yang dilabeli enzim langsung untuk mendeteksi antigen yang melekat di permukaan. Kelebihan dari metode ini yaitu Cepat dan sederhana untuk Kekurangan seperti kurang sensitif karena hanya satu antibodi

yang terlibat.Contoh penggunaan yaitu digunakan untuk deteksi antigen dalam sampel murni.

B. *Inderect* ELISA

Secara umum *indirect* ELISA digunakan untuk penetapan konsentrasi antibodi dalam darah. Darah diinkubasikan pada *well*, setelah itu ikatan antibodi yang lemah dicuci. Antibodi kedua ditambahkan untuk mendeteksi ikatan antibodi. Enzim ini dapat merubah substrat menjadi berwarna. Setelah reaksi selesai dilakukan penetapan dengan *elisa plate reader*.

C. *Sandwich* ELISA

Keuntungan dari penggunaan *sandwich* elisa yaitu dapat digunakan untuk campuran atau contoh yang tidak murni dan tetap selektif mengikat tiap antigen dalam contoh. Konjugat antibodi universal dapat digunakan sebagai antibodi kedua meskipun berlawanan dengan antibodi primer. Metode ini lebih sensitif daripada metode tidak langsung dan metode *competitive*, Metode *sandwich* ELISA meliputi beberapa hal, yaitu;

a. *Plate* yang dilapisi penangkap antibodi,
b. Contoh yang ditambahkan dan sejumlah antigen yang terkandung terikat pada penangkap antibodi,
c. Pendeteksi antibodi ditambahkan dan mengikat antigen, enzim yang mengikat antibodi yang lain ditambahkan dan mengikat pendeteksi antibodi,
d. Substrat ditambahkan dan diubah oleh enzim menjadi bentuk yang dapat dideteksi (produk berwarna),
e. Untuk penetapan secara kuantitatif produk warna diukur absorbansinya.

D. *Competitive* ELISA

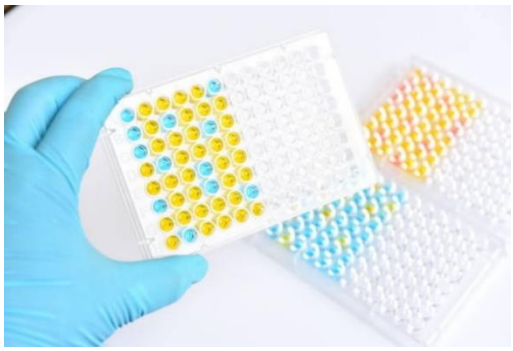
Penetapan *competitive* ELISA dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut;

a. Antibodi tidak berlabel (contoh) yang mengandung antigen diinkubasi,

b. Ikatan kompleks antibodi terjadi saat ditambahkan pada antigen pada *well*,
c. *Plate* dicuci untuk membuang antibodi tak berikatan (antigen dalam contoh) dan antibodi akan bersaing untuk terikat pada antigen pada *well*,
d. Antibodi kedua yang spesifik terhadap antibodi pertama ditambahkan dan antibodi kedua akan berpasangan dengan enzim,
e. Substrat ditambahkan yang dapat menghasilkan produk warna sebagai sinyal.

Pengujian kadar histamin dilakukan dengan menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Metode ini memiliki berbagai keunggulan, antara lain dapat digunakan untuk mendeteksi beragam kontaminan atau residu dalam makanan, seperti alergen, antibiotik, toksin, dan zat berbahaya lainnya (Fitria Ayu K, 2018). ELISA bekerja berdasarkan prinsip dasar interaksi spesifik antara antigen dan antibodi yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat, menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabeli enzim. Enzim tersebut akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna, yang kemudian dapat diamati secara kualitatif maupun dibaca secara kuantitatif melalui nilai absorbansi (OD) menggunakan ELISA plate reader. Dalam penelitian ini digunakan jenis ELISA kompetitif (competitive ELISA), yang sesuai untuk mendeteksi senyawa kecil seperti histamin yang hanya memiliki satu epitope. Prinsip kerja ELISA kompetitif melibatkan kompetisi antara histamin dalam sampel dan histamin yang telah dikonjugasi dengan enzim (HRP) untuk berikatan dengan antibodi spesifik di sumur mikrotiter. Semakin tinggi konsentrasi histamin dalam sampel, semakin sedikit konjugat enzim yang terikat, sehingga warna yang terbentuk menjadi semakin pucat. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 450 nm, dan nilai OD yang diperoleh akan dibandingkan dengan kurva standar untuk kemudian dihitung konsentrasi histaminnya dalam satuan ppm atau mg/kg. Metode ini dikenal memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi karena dapat

mendeteksi kadar histamin yang sangat rendah dengan gangguan minimal dari senyawa lain (Tafesh, 2021; Zhang, 2019).



**Gambar 2. 5 Proses Pengerjaan ELISA**