REGULASI FDA TERKAIT PELABELAN ALERGEN PADA SISTEM JAMINAN KEAMANAN PANGAN : STUDI KASUS CCP PADA LOIN BEKU TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)

FDA Regulation on Allergen Labeling in Food Safety Assurance System: Case Study of CCP in Frozen Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Loin

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA

L012221011

PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025

REGULASI FDA TERKAIT PELABELAN ALERGEN PADA SISTEM JAMINAN KEAMANAN PANGAN : STUDI KASUS CCP PADA LOIN BEKU TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA

L012221011

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025

FDA Regulation on Allergen Labeling in Food Safety Assurance System: Case Study of CCP in Frozen Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Loin

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA

L012221011

FISHERIES SCIENCE MASTER STUDY PROGRAM
FACULTY OF MARINE SCIENCE AND FISHERIES
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2025

PERNYATAAN PENGAJUAN

REGULASI FDA TERKAIT PELABELAN ALERGEN PADA SISTEM JAMINAN KEAMANAN PANGAN : STUDI KASUS CCP PADA LOIN BEKU TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Perikanan

Disusun dan diajukan oleh

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA

L012221011

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025

TESIS

REGULASI FDA TERKAIT PELABELAN ALERGEN PADA SISTEM JAMINAN KEAMANAN PANGAN : STUDI KASUS CCP PADA LOIN BEKU TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA
L012221011

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Magister pada 13 Januari 2025 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Ilmu Perikanan
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Prof. Dr. Ir. Metusalach, M.Sc	**Dr. Fahrul S.Pi., M.Si**
NIP. 19600525 198601 1 001	NIP. 19740419 2000604 1 001
Ketua Program Studi Magister Ilmu Perikanan ,	Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin
Dr. Ir. Badraeni, M.P	**Prof. Safruddin, S.Pi., MP.,Ph.D**
NIP. 19651023 199103 2 001	NIP 19750611200312 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini menyatakan bahwa, tesis berjudul “Regulasi FDA Terkait Pelabelan Alergen Pada Sistem Jaminan Keamanan Pangan : Studi Kasus CCP Pada Loin Beku Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*) adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Ir. Metusalach, M.Sc dan Fahrul S.Pi., M.Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 03 Februari 2025

Annisa Narapuspa Razak Mustafa
L012221011

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan Hidayah-NYA Tesis yang berjudul "**Regulasi FDA Terkait Pelabelan Alergen Pada Sistem Jaminan Keamanan Pangan : Studi Kasus CCP Pada Loin Beku Tuna Sirip Kuning** (*Thunnus albacares*)*"* pada 2024, dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Perikanan pada Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat dirampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. Ir. Metusalach, M.Sc sebagai pembimbing utama dan Dr. Fahrul, S.Pi., M.Si sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan banyak terima kasih kepada mereka. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada Dr. Nursinah Amir, S.Pi., M.P., Dr. Ir. Ophirtus Sumule, DEA dan Dr. Syahrul, S.Pi., M.Si, selaku para penasehat yang memberikan pengetahuan dan masukan berupa saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis. Ucapan terima kasih juga saya haturkan kepada seluruh staf dan pengajar Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan khususnya para dosen Program Studi Magister Ilmu Perikanan yang turut membantu dan memberikan saran pada penyusunan tesis ini saya ucapkan terima kasih.

Akhirnya, kepada kedua orang tua saya tercinta bapak H. Abd. Razak Mustafa dan ibu (alm) Hj. Siti Narwiyani, saudara tercinta Ahmad Razak Mustafa dan Saskia Sapitri saya mengucapkan terima kasih atas segala doa, motivasi dan pengorbanan secara moril dan materil selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada teman-teman S2 Ilmu Perikanan yang turut membantu, memberikan motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis

Annisa Narapuspa Razak Mustafa

ABSTRAK

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA. **Regulasi FDA terkait pelabelan alergen pada sistem jaminan keamanan pangan : studi kasus CCP pada loin beku tuna sirip kuning** (*Thunnus albacares*) (dibimbing oleh Metusalach dan Fahrul).

Latar Belakang. Persyaratan label alergen menjadi salah satu persyaratan wajib yang harus dipenuhi oleh unit pengolahan ikan untuk mengekspor produk ke negara tujuan seperti Amerika Serikat. Ikan tuna sirip kuning merupakan salah satu produk unggulan ekspor Indonesia yang 70% dikirim ke negara Amerika Serikat, Jepang dan Eropa. Pengendalian alergen harus dilakukan di unit pengolahan untuk memastikan produk yang dihasilkan aman dikonsumsi dan memenuhi persyaratan ekspor yaitu mencantumkan alergen pada label . **Tujuan**. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis komponen dan pengendalian alergen di unit pengolahan ikan. **Metode.** Metode penelitian yang digunakan adalah studi kasus dengan teknik *purposive sampling*. Penelitian dilakukan dengan cara mengikuti langsung alur proses penanganan loin beku tuna sirip kuning mulai dari tahap awal produksi hingga tahap akhir kemudian menganalisis penentuan bahaya CCP menggunakan *decision tree*. Dilakukan uji komponen alergen meliputi protein parvalbumin, histamin dan logam berat yaitu merkuri, timbal, kadmium, arsen pada bahan baku dan produk akhir. **Hasil.** Hasil analisa dari komponen alergen terdapat pada ikan tuna sirip kuning meliputi protein parvalbumin (10 kDa), histamin serta logam berat (merkuri, timbal, kadmium dan arsen) dan untuk parameter histamin dan logam berat telah sesuai dengan standar SNI 4104 : 2015. Pengendalian alergen telah dilakukan di unit pengolahan mulai dari asal bahan baku atau dari pemasok hingga produk siap untuk di ekspor. Bahaya alergen masuk dalam kategori bahaya *Critical Control Point* di tahap pengemasan dan pelabelan maka wajib dicantumkan di label. **Kesimpulan.** Komponen alergen yaitu protein parvalbumin, histamin dan logam berat (merkuri, timbal, kadmium dan arsen) terdapat pada ikan tuna sirip kuning dan pengendalian alergen telah dilakukan di unit pengolahan ikan (CV. Prima Indo Tuna) yaitu dilakukan *swab* protein pada setiap peralatan yang bersentuhan langsung dengan produk, terdapat *approval supplier* untuk bahan baku, pemberian pelatihan kepada karyawan terkait alergen dan terdapat deklarasi alergen dari *supplier* bahan pengemas. Alergen memiliki status sebagai CCP pada tahap pengemasan dan pelabelan sehingga alergen harus dicantumkan pada label sesuai dengan regulasi FDA.

Kata kunci : Label, alergen, ikan tuna sirip kuning, CCP

ABSTRACT

ANNISA NARAPUSPA RAZAK MUSTAFA. **FDA Regulation Regarding Allergen Labeling in Food Safety Assurance System: CCP Case Study on Frozen Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) loin** (supervised by Metusalach and Fahrul)**.**

Background. Allergen label requirements are one of the mandatory requirements that must be met by fish processing units to export products to destination countries such as the United States. Yellowfin tuna is one of Indonesia's leading export products, 70% of which is sent to the United States, Japan and Europe. Allergen control must be carried out in the processing unit to ensure that the products produced are safe for consumption and meet export requirements, namely listing allergens on the label. **Aim**. This study aims to analyze the components and control of allergens in fish processing units. **Method**. The research method used is a case study with a purposive sampling technique. The study was conducted by directly following the flow of the frozen yellowfin tuna loin handling process from the initial stage of production to the final stage and then analyzing the determination of CCP hazards using a decision tree. Allergen component tests were carried out including parvalbumin protein, histamine and heavy metals, namely mercury, lead, cadmium, arsenic in raw materials and final products. **Results**. The results of the analysis of allergen components found in yellowfin tuna include parvalbumin protein (10 kDa), histamine and heavy metals (mercury, lead, cadmium and arsenic) and for histamine and heavy metal parameters have been in accordance with SNI 4104: 2015 standards. Allergen control has been carried out in the processing unit starting from the origin of raw materials or from suppliers to products ready for export. Allergen hazards are included in the Critical Control Point hazard category at the packaging and labeling stage, so they must be included on the label. **Conclusion**. Allergen components, namely parvalbumin protein, histamine and heavy metals (mercury, lead, cadmium and arsenic) are found in yellowfin tuna and allergen control has been carried out in the fish processing unit (CV. Prima Indo Tuna), namely protein swabs are carried out on every piece of equipment that comes into direct contact with the product, there is supplier approval for raw materials, training is provided to employees regarding allergens and there is an allergen declaration from the packaging material supplier. Allergen is a CCP and therefore it has to be listed on the label following the FDA regulation.

Keywords : Labels, allergens, yellowfin tuna, CCP

DAFTAR ISI

Halaman
HALAMAN JUDUL i
PERNYATAAN PENGAJUAN iv
HALAMAN PENGESAHAN v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS vi
UCAPAN TERIMA KASIH vii
ABSTRAK viii
ABSTRACT ix
DAFTAR ISI x
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan dan Manfaat 2
1.4 Hipotesis 3
1.5 Landasan Teori 4
1.5.1 Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*) 4
1.5.2 Persyaratan Mutu Loin Tuna 5
1.5.3 Persyaratan Ekspor Tuna 6
1.5.4 *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) 8
1.5.5 Penentuan *Critical Control Point* (CCP) 10
1.5.6 Alergen 11
1.6 Kerangka Penelitian 13
BAB II METODE PENELITIAN 15
2.1 Tempat dan Waktu 15
2.2 Bahan dan Alat 15
2.3 Metode Penelitian 15
2.4 Parameter Penelitian 15
2.4.1 Parvalbumin 15
2.4.2 Histamin 16
2.4.3 Cemaran Logam Berat 17
2.4.4 Penentuan Bahaya Signifikan 19
2.5 Analisa Data 19
BAB III HASIL 20
3.1 Komponen Alergen pada Ikan Tuna Sirip Kuning 20
3.1.1 Parvalbumin 20
3.1.2 Histamin 20
3.1.3 Logam Berat 21
3.2 Implementasi Pengendalian Alergen pada Unit Pengolahan 22
3.2.1 Asal Bahan Baku 22
3.2.2 Penerimaan Bahan Baku 22
3.2.3 Proses Produksi 22
3.2.4 Akhir Proses 23
3.3 Penentuan Bahaya Alergen sebagai *Critical Control Point* (CCP) 24

BAB IV PEMBAHASAN 32
4.1 Komponen Alergen pada Ikan Tuna SIrip Kuning 32
4.1.1 Parvalbumin 32
4.1.2 Histamin 33
4.1.3 Kandungan Logam Berat 33
4.2 Implementasi Pengendalian Alergen 34
4.2.1 Asal Bahan Baku 35
4.2.2 Penerimaan Bahan Baku 35
4.2.3 Proses Produksi 35
4.2.4 Akhir Proses 35
4.3 Penentuan Bahaya Alergen sebagai *Critical Control Point* 35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 37
5.1 Kesimpulan 37
5.2 Saran 37
DAFTAR SINGKATAN 38
DAFTAR PUSTAKA 39
LAMPIRAN 45

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman
1. Persyaratan Mutu dan Keamanan Tuna Loin Beku 6
2. Persyaratan Ekspor Tuna 7
3. Perubahan dosis alergen 12
4. Hasil Uji Histamin Ikan Tuna Sirip Kuning 20
5. Hasil Uji Cemaran Logam Berat 21
6. Analisis bahaya alergen pada alur proses di CV. Prima Indo Tuna 24

DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman

1. Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus Albacares*) 4
2. *Decision tree Codex Alimentarius* 11
3. Kerangka Pikir 14
4. Hasil SDS – PAGE Parvalbumin Ikan Tuna Sirip Kuning 20
5. *Swab* protein pada peralatan 22
6. Deklarasi alergen dari *supplier* kemasan 23
7. Hasil analisis status CCP pada alur proses loin beku tuna sirip kuning .. 31

BAB I. PENDAHALUAN

1.1 Latar Belakang

Produk olahan perikanan rentan terhadap bahaya keamanan pangan yang dapat menyebabkan produk tidak aman untuk dikonsumsi (Sari *et al.*, 2022). Industri pengolahan hasil perikanan harus memenuhi dan menerapkan Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan agar produk yang dihasilkan aman dikonsumsi serta memenuhi tuntutan pasar ekspor. Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang bisa diterapkan pada pengolahan hasil perikanan adalah *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) (Ramli & Muqsith, 2022)

Sistem Jaminan Mutu HACCP mengatur tentang keamanan pangan. *Food allergen* saat ini sudah dikategorikan sebagai isu keamanan pangan. Standar keamanan pangan seperti ISO 22000:2007 menyatakan bahwa alergen adalah *food safety hazard*. Alergi pangan adalah alergi yang disebabkan oleh alergen yang terdapat dalam bahan pangan (Suseno *et al.*, 2017). Reaksi alergi sebagian besar yang terjadi merupakan reaksi alergi yang ringan, tetapi alergi pangan dapat berdampak fatal bagi kesehatan manusia (Sari *et al*., 2021). Kasus alergi pangan di Indonesia meningkat sebesar 30% per tahunnya dan penelitian yang dilakukan di RSCM menemukan 49% dari responden memiliki alergi pangan (Agung *et al*., 2024). Ikan merupakan salah satu jenis pangan yang dapat menyebabkan alergi. Alergi terhadap ikan merupakan salah satu penyakit akibat adanya kelainan sistem kekebalan tubuh manusia yang menganggap protein ikan adalah zat berbahaya yang masuk ke tubuh. Sebanyak 95% alergi terhadap ikan disebabkan oleh protein parvalbumin, sedangkan sisanya disebabkan oleh protein-protein lain seperti tropomiosin, aldolase, enolase, dan kolagen (Mukherjee *et al*., 2023). Alergen pada ikan selain parvalbumin juga terdapat histamin dan logam berat. Kadar histamin yang tinggi pada ikan dapat menyebabkan reaksi alergi seperti gatal-gatal, ruam kulit dan anafilaksis (Noor *et al*., 2019). Logam berat dapat bersifat racun seperti Hg, Cd, Pb dan lain-lain yang menimbulkan efek kesehatan bagi manusia dan bertindak sebagai penyebab alergi (Said, 2018).

Pertimbangan mengenai alergen hendaknya masuk dalam program HACCP yang ada di Unit Pengolahan Ikan dan memerlukan perhatian khusus pada identifikasi serta pengendalian bahaya kimia yang bersifat alergen serta peluang kontaminasi silangnya. UU Pangan dan Peraturan Pemerintah Indonesia tentang Label dan Iklan Pangan belum secara detail mengatur terkait kewajiban pencantuman peringatan bahan alergen (Muhammad *et al*., 2023). Pengendalian alergen akan dicapai melalui pelaksanaan program prasyarat melalui kontrol HACCP yang memastikan pelabelan produk diterapkan. Pelabelan produk, kontrol label, dan kontrol kontak-silang alergen merupakan komponen penting dari manajemen risiko alergen (La Vieille *et al*., 2023). Alergen terdapat pada produk perikanan dan salah satu komoditi ekspor unggulan di Indonesia adalah ikan tuna.

Tujuan utama ekspor perikanan Indonesia adalah Amerika Serikat, Uni Eropa dan Jepang (Prabandari & Darmawan, 2024). Amerika Serikat dengan standar *Food and Drug Administration (*FDA) merupakan salah satu negara tujuan ekspor pangan yang memiliki undang-undang pelabelan alergen dan perlindungan konsumen yang

menyatakan bahwa semua produk pangan yang diedarkan di Amerika harus memenuhi persyaratan pelabelan yang mencantumkan secara jelas komponen alergen dan lemak trans. Alergi pangan di Amerika Serikat berdampak terhadap sekitar 2% orang dewasa dan 8% anak-anak dan jumlah ini selalu meningkat setiap tahunnya (Loh & Tang, 2018). Negara lain seperti Jepang, prevalensi alergi pangan meningkat secara signifikan dari tahun 2010 hingga 2019 sebanyak 1,7 kali lipat (Yoshisue *et al*., 2024).

Amerika dan Eropa merupakan pengimpor ikan tuna terbesar didunia (Normah *et al*., 2022). Wilayah penghasil ikan tuna terbesar pada tahun 2021 berada di Sulawesi Selatan dengan volume produksi sebesar 56.205 ton (Baihaqi *et al*., 2024). Ikan tuna di Sulawesi Selatan melimpah diantaranya di perairan Bulukumba, Bone, dan Palopo (Salim, 2024). Sejumlah jenis ikan tuna yang ditangkap di Indonesia, ikan tuna sirip kuning atau *yellow fin* merupakan salah satu diantaranya. Perusahaan ekspor tuna yang berada di Sulawesi Selatan salah satunya adalah CV. Prima Indo Tuna, yang pasar utamanya ke negara Amerika dan Eropa.

Tahun 2019 hingga 2021 terjadi 156 kasus penolakan ekspor tuna dari Indonesia ke Amerika yang disebabkan oleh empat kategori penyebab penolakan yaitu adanya bakteri patogen, kandungan histamin, pembusukan, dan kesalahan pelabelan (Sahara *et al*., 2022). Menurut Blickem *et al*., (2022), penyebab utama penarikan kembali produk tuna di Amerika selain adanya bakteri *Listeria monocytogenes* adalah jenis alergen yang tidak diumumkan di label, dan peningkatan konsentrasi histamin. Pada tahun 2014 – 2017 terdapat 13 kasus penolakan produk tuna dari Indonesia karena kandungan logam berat merkuri yang melebihi standar (Handayani *et al*., 2019).

Kasus penolakan terkait komponen alergen telah banyak ditemukan dan persyaratan label alergen menjadi persyaratan wajib pada produk ekspor khusus untuk pasar Amerika, bahan alergen wajib dicantumkan pada label namun belum tercantum di SNI. SNI merupakan acuan awal dan persyaratan utama yang harus dipenuhi sebelum mengirim produk Indonesia ke negara tujuan ekspor. Kasus penolakan produk di Indonesia belum secara spesifik membahas mengenai pelabelan alergen. Namun, bahaya alergen dapat berakibat fatal apabila tidak dikendalikan dengan baik. Hal ini menjadi dasar perlu dilakukan penelitian ini untuk menganalisis pengendalian alergen dengan menggunakan sistem HACCP agar memastikan produk yang diekspor aman dikonsumsi serta menjadi acuan dalam informasi terkait alergen di Standar Nasional Indonesai (SNI). Oleh karena itu, untuk mengatasi kesenjangan tersebut perlu dilakukan peneltitian terkait regulasi FDA terkait pelabelan alergen pada sistem jaminan keamanan pangan.

1.2 Rumusan Masalah

Kasus alergi pangan meningkat setiap tahunnya di Indonesia dan Amerika serta dapat membahayakan konsumen. Alergi pangan disebabkan karena mengonsumsi makanan yang mengandung alergen. Ikan tuna dalam bentuk loin merupakan komoditas ekspor yang mengandung protein alergen dan dapat menimbulkan reaksi alergi. Pengendalian alergen diperlukan pada unit pengolahan ikan tuna loin untuk menghasilkan produk yang aman dikonsumsi sehingga perlu adanya analisis pada pengendalian alergen di unit pengolahan ikan. Berikut rumusan masalah pada penelitian ini:

1. Apa saja kandungan alergen dalam loin beku tuna sirip kuning ?
2. Bagaimana implementasi sistem keamanan pangan dalam analisa bahaya dan monitoring alergen pada pengolahan loin beku tuna sirip kuning?
3. Bagaimana penentuan bahaya alergen sebagai bahaya CCP dengan menggunakan *decision tree* ?

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menganalisis kandungan alergen pada loin beku tuna sirip kuning.
2. Menganalisis implementasi sistem keamanan pangan pada pengolahan loin beku tuna sirip kuning.
3. Menentukan status bahaya alergen apakah sebagai CCP atau bukan CCP dengan menggunakan *desicison tree.*

Manfaat dari penelitian ini diharapkan menjadi acuan dalam persyaratan parameter alergen pada SNI produk Loin Beku Ikan Tuna agar menghasilkan produk yang aman dikonsumsi dan sesuai dengan persyaratan ekspor negara tujuan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Kandungan alergen pada loin beku tuna sirip kuning sesuai standar keamanan pangan.
2. Sistem keamanan pangan pada pengolahan loin beku tuna sirip kuning terimplementasi dengan baik dalam manajemen alergen.
3. Bahaya alergen teridentifikasi sebagai bahaya *Critical Control Point* (CCP).

1.5 Landasan Teori

1.5.1 Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*)

Ikan tuna merupakan komoditas ikan yang paling utama di dunia. Produk ini menempati urutan ketiga dalam komoditas internasional (Normah *et al*., 2022). Beberapa jenis ikan tuna ditangkap di Indonesia dan ikan tuna jenis sirip kuning atau *yellow fin tuna* (*Thunnus albacares*) merupakan salah satu diantaranya (Handoko *et al.*, 2021). Tubuh ikan tuna sirip kuning memiliki corak warna kekuningan yang tidak dimiliki ikan tuna jenis lainnya. Tuna sirip kuning (Gambar 1) memiliki keunikan warna pada sirip dorsal, sirip anal, sirip tambahan dorsal (dorsal vinlet) dan anal vinlet, juga sirip ekor yang berwarna kekuningan. (Dwigita AW *et al*., 2022).

Gambar 1. Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*)

Ikan tuna sirip kuning merupakan spesies ikan yang bermigrasi dan mendiami zona *epipelagic* sampai kedalaman 200 m di bawah permukaan laut. Ikan tersebut banyak ditemui di perairan laut tropis dan subtropis seluruh dunia (Artetxe-Arrate *et al*., 2019). Ikan tuna sirip kuning merupakan ikan pelagis besar yang secara biologis memiliki kemampuan renang 80km/jam dengan bentuk torpedo sehingga menjadikan tuna ini bermigrasi di pelintas negara dan daerah (Hursepuny *et al*., 2021).

Pengolahan Tuna Loin (*Thunnus* sp) segar terdiri dari beberapa tahapan proses sesuai SNI 4104-2015 (Badan Standarisasi Nasional, 2015) sebagai berikut :

a. Penerimaan Bahan Baku

Ikan Tuna yang diterima dalam keadaan segar yang dikemas dengan menerapkan rantai dingin. Proses pembongkaran bahan baku dilakukan dengan cepat dan hati-hati serta menerapkan rantai dingin dengan suhu < 4ºC. Menurut SNI 4104: 2015. Penanganan di pusat pendaratan ikan juga perlu memerhatikan proses-proses seperti pembongkaran ikan dari dalam palka dengan baik dan pendinginan tetap dilakukan untuk mengatasi penurunan kualitas ikan, sehingga ikan tetap segar sampai dikonsumsi.

b. Pencucian

Pencucian dilakukan menggunakan air yang mengalir. Pencucian ini dimaksudkan untuk menjaga bahan baku yang diterima dalam kondisi bersih dan hati-hati.

c. Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk membuang kepala dan isi perut. Penyiangan dilakukan secara cepat, cermat dan bersih sehingga tidak menyebabkan pencemaran pada tahap berikutnya. Selama penyiangan suhu ikan dipertahankan pada suhu pusat produk < 4ºC. Tujuan dari penyiangan yaitu untuk mendapatkan ikan yang bersih, tanpa kepala dan isi perut serta mereduksi kontaminasi bakteri.

d. Pencucian II

Ikan dicuci dengan hati-hati menggunakan air bersih dingin yang mengalir secara cepat untuk mempertahankan suhu pusat produk < 4º C.

e. Pembuatan Loin

Proses pembuatan tuna loin dilakukan dengan cara membelah ikan menjadi empat bagian secara membujur. Proses pembuatan loin dilakukan secara cepat dan menerapkan sistem rantai dingin.

f. Pengulitan dan Perapihan

Pengulitan dan perapihan dilakukan untuk mendapatkan loin yang rapi dan bebas dari kulit, tulang, dan daging merah serta terhidar dari kontaminasi bakteri. Proses ini juga dilakukan dengan menerapkan sistem rantai dingin dengan suhu produk < 4,4º C.

g. Pembungkusan

Pembungkusan (*wrapping*) dilakukan dengan tujuan mendapatkan loin dalam kemasan sehingga terhindar dari kontaminasi bakteri dan tetap mempertahankan suhu pusat produk < 4º C. Plastik yang digunakan harus sesuai dengan ukuran ikan. Plastik yang digunakan membungkus harus dalam keadaan bersih dan saniter. Proses pembungkusan dilakukan dengan cepat dan hati-hati

h. Pembekuan

Pembekuan dilakukan menggunakan alat pembeku *Air Blast Freezer* (ABF). Loin yang sudah dibungkus dimasukkan kedalam ABF secara cepat. Pada proses ini suhu pusat ikan akan menurun mencapai - 18ºC.

1.5.2 Persyaratan Mutu Loin Tuna Menurut SNI 4104 : 2015

Standar Nasional Indonesia (SNI) mengatur tentang persyaratan mutu dan keamanan produk perikanan termasuk tuna loin beku. Standar ini sebagai acuan keamanan pangan untuk dikonsumsi serta menjadi persyaratan produk yang akan diekspor. Berikut tabel persyaratan dan keamanan tuna loin beku menurut SNI.

Tabel 1. Persyaratan Mutu dan Keamanan Tuna Loin Beku.

Parameter Uji	Satuan	Persyaratan
a. Sensori	-	Min. 7 (Skor 1- 9)
b. Kimia		
- Histamin	mg/kg	Maks. 100
c. Cemaran mikroba		
- ALT	Koloni/g	Maks 5.0 x 10^6
- *Escherichia coli*	APM/g	< 3
- *Salmonella*	Per 25 g	Negatif
- *Coliform*	APM/g	< 3
- *Vibrio Cholerae*	Per 25 g	Negatif
- *Vibrio Parahaemolyticus*	APM/g	< 3
d. Cemaran logam		
- Arsen	mg/kg	Maks. 0,5
- Kadmium	mg/kg	Maks. 0,1
- Merkuri	mg/kg	Maks. 1,0
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,4
e. Fisik		
- Suhu pusat	° C	Maks. -18
f. Parasit	Ekor	0

Sumber : SNI 4104 : 2015

1.5.3 Persyaratan Ekspor Tuna

Persyaratan ekspor terbagi menjadi beberapa bagian yaitu dokumen, kualitas dan keamanan (*quality and safety*) pangan, keberlanjutan (*sustainability*), sertifikat pihak ketiga (*third party certification*) dan ketelusuran (*traceability*). Berikut beberapa peraturan persyaratan ekspor tuna tujuan Uni Eropa, Amerika Serikat dan Jepang yang digambarkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Persyaratan Ekspor Tuna

No.	Persyaratan	Uni Eropa	Amerika Serikat	Jepang
1.	*Quality and Safety*	GMP-SSOP, HACCP	GMP-SSOP, HACCP	GMP-SSOP, HACCP
		HC gabungan (karantina dan mutu) dari aplikasi TRACES berdasaran regulasi (EU) 2019/628	*Country of Origin Labeling* (COOL) requirements	Persyaratan Pelabelan
		Memiliki nomor registrasi (Approval Number)	Memiliki No registrasi FDA	Kuota impor
2.	*Sustainability*	Big Eye Statistical Document (IOTC)	Big Eye Statistical Document (IOTC)	Big Eye Statistical Document (IOTC)
		CDS (SBT-CCSBT)	CDS (SBT-CCSBT)	CDS (SBT-CCSBT)
3.	Third Party Certification	ISO 22000	ISO 22000	ISO 22000
		MSC	-	MELJ
4.	Traceability	Catch Certification (SHTI)	Seafood Import Monitoring Programe (SIMP)	SHTI tidak wajib

Sumber : (Astagia *et* al., 2022)

Persyaratan kualitas dan keamanan (*quality and safety*) pangan oleh negara Amerika Serikat, Uni Eropa dan Jepang yaitu eksportir telah memberlakukan GMP (*Good Manufacturing Practice*) atau cara mengolah ikan yang baik, memenuhi syarat HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*) dan SSOP (*Standard Sanitation Operating Procedure*) atau prosedur sanitasi standar. Hal tersebut dibuktikan dengan UPI (Unit Pengolahan Ikan) telah memperoleh sertifikat HACCP dan SKP (Sertifikat Kelayakan Pengolahan).

Persyarataan kedua kualitas dan keamanan (*quality and safety*) produk tuna yang diekspor UPI ke Amerika Serikat adalah COOL (*Country of Origin Labelling*). COOL adalah undang-undang pelabelan konsumen yang mewajibkan importir untuk mengidentifikasi negara asal makanan yang masuk ke Amerika Serikat.

Persyaratan ketiga kualitas dan kemanan (*quality and safety*) produk tuna yang diekspor ke Amerika adalah memiliki nomor registrasi FDA (*Food and Drugs Administration*). Permohonan untuk pembuatan nomor diajukan langsung kepada FDA

dengan melampirkan Nama UPI, kota, negara bagian atau provinsi, kode pos nomor telepon, nomor fax, penanggungjawab, jenis pengolahan produk pangan, seluruh nama merek dagang yang digunakan, kategori produk dan pernyataan yang menyatakkan bahwa informasi yang didaftarkan diyakini benar dan akurat dan pihak tersebut mempunyai kewenangan untuk memasukkan pendaftaran (Astagia *et al*., 2022).

Berdasarkan peraturan, Indonesia, Jepang, Amerika Serikat dan Uni Eropa telah menetapkan standar yang ketat terhadap produk perikanan yang dipasarkan di negara atau wilayah masing-masing termasuk produk tuna. Setiap negara menetapkan standarnya yang mencakup beberapa aspek, seperti prosedur pemantauan, pengujian dan pemeriksaan. Umumnya, bukti kesesuaian dengan standar diwujudkan dalam bentuk sertifikasi. Kegagalan memenuhi sertifikat mengakibatkan penolakan produk, yang pada gilirannya berkontribusi terhadap hilangnya pangan dalam kegiatan perdagangan internasional (Sahara *et al*., 2022).

1.5.4 *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP)

Hazard Analysis Critical Control Point merupakan sebuah pendekatan untuk penilaian bahaya keamanan pangan dan membangun sistem kontrol yang berfokus pada tindakan pengendalian untuk bahaya yang signifikan selama proses produksi untuk menjamin produk yang dihasilkan aman dikonsumsi (Ferris, 2022)

Beberapa aspek kunci dari *Good Hygiene Praactice* (GHP) sebagai tindakan pengendalian yang diterapkan pada *Critical Control Point* dalam sistem HACCP menurut Codex Alimentarius 2020 :

a. Kontrol waktu dan suhu

Kontrol waktu dan suhu yang tidak memadai, misalnya selama pemasakan, pendinginan, proses dan penyimpanan merupakan salah satu kegagalan kontrol operasional yang paling umum. Ini memungkinkan kontaminasi atau pertumbuhan mikroorganisme yang dapat menyebabkan bahaya pada pangan atau pembusukan makanan. Sistem harus ada untuk memastikan bahwa suhu dikontrol secara efektif di tahap yang dapat berpotensi timbul bahaya pada keamanan dan kesesuaian makanan.

b. Tahap proses tertentu

Terdapat langkah proses untuk makanan tertentu yang berkontribusi pada produksi produk makanan yang aman dan sesuai. Ini bervariasi tergantung pada produk dan dapat mencakup langkah-langkah utama seperti memasak, mendinginkan, membekukan, mengeringkan, dan mengemas.

Komposisi suatu makanan dapat menjadi penting dalam mencegah pertumbuhan mikroba dan produksi toksin, misalnya dalam formulasinya dengan menambahkan bahan pengawet, termasuk asam, garam, bahan tambahan makanan atau senyawa lainnya. Ketika formulasi digunakan untuk mengendalikan patogen bawaan makanan (misalnya menyesuaikan pH atau aW ke tingkat yang mencegah pertumbuhan), sistem harus tersedia untuk memastikan bahwa produk diformulasikan dengan benar dan parameter pengendalian dipantau.

c. Spesifikasi mikrobiologi, fisik, kimia dan alergen

Spesifikasi mikrobiologi, fisik, kimia dan alergen digunakan untuk keamanan atau kesesuaian makanan, spesifikasi tersebut harus didasarkan pada prinsip dan keadaan ilmiah yang baik, parameter pengambilan sampel, metode analisis, batas yang dapat diterima dan prosedur pemantauan. Spesifikasi dapat membantu memastikan bahwa bahan baku dan bahan lainnya sesuai dengan tujuan dan kontaminan telah diminimalkan.

d. Kontaminasi Mikrobiologis

Sistem harus ada untuk mencegah atau meminimalkan kontaminasi makanan oleh mikroorganisme. Kontaminasi mikrobiologis terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain perpindahan mikroorganisme dari satu pangan ke pangan lain, misalnya: melalui kontak langsung ata tidak langsung dari karyawan, permukaan peralatan kontak langsung dengan produk, percikan serta partikel udara.

Bahan baku yang belum diproses dapat menjadi sumber kontaminasi, harus dipisahkan dari makanan siap saji, baik secara fisik maupun waktu, dengan pembersihan yang efektif dan secara berkala. Permukaan, peralatan dan perlengkapan harus dibersihkan secara menyeluruh dan bila perlu didesinfeksi setelah persiapan bahan baku, terutama pada bahan baku dengan potensi bahaya mikrobiologis yang tinggi seperti daging, unggas, dan ikan yang telah ditangani atau diproses. Pada area proses, akses perlu dibatasi atau dikendalikan untuk tujuan keamanan pangan. Misalnya, karyawan wajib mengenakan pakaian pelindung yang bersih (memiliki warna yang berbeda dari setiap area proses yang berbeda), termasuk penutup kepala, alas kaki, dan sarung tangan.

e. Kontaminasi Fisik

Sistem harus ada di seluruh tahapan proses untuk mencegah kontaminasi oleh bahan asing, seperti barang milik karyawan, terutama benda keras atau tajam, misalnya perhiasan, kaca, pecahan logam, tulang, plastik, potongan kayu, yang dapat menyebabkan cedera atau menimbulkan bahaya tersedak. Pada proses pengolahan, strategi pencegahan yang sesuai seperti pemeliharaan dan pemeriksaan peralatan secara teratur harus dilakukan. Alat deteksi yang dikalibrasi harus digunakan jika diperlukan (misal. detektor logam, detektor sinar-X). Harus ada prosedur yang wajib diikuti oleh karyawan jika terjadi kerusakan (misalnya kerusakan wadah kaca atau plastik).

f. Kontaminasi Kimia

Wajib memiliki sistem untuk mencegah atau meminimalkan kontaminasi makanan oleh bahan kimia berbahaya, misalnya bahan pembersih, pelumas non-makanan, residu bahan kimia dari pestisida dan obat hewan seperti antibiotik. Senyawa pembersih beracun, disinfektan, dan bahan kimia pestisida harus diidentifikasi, disimpan dengan aman dan digunakan dengan cara melindungi dari kontaminasi makanan, permukaan kontak langsung peralatan pada makanan dan bahan kemasan. Bahan tambahan makanan dan bahan pembantu yang berpotensi berbahaya jika digunakan secara tidak benar harus dikendalikan sehingga hanya digunakan sesuai peruntukannya.

g. Manajemen Alergen

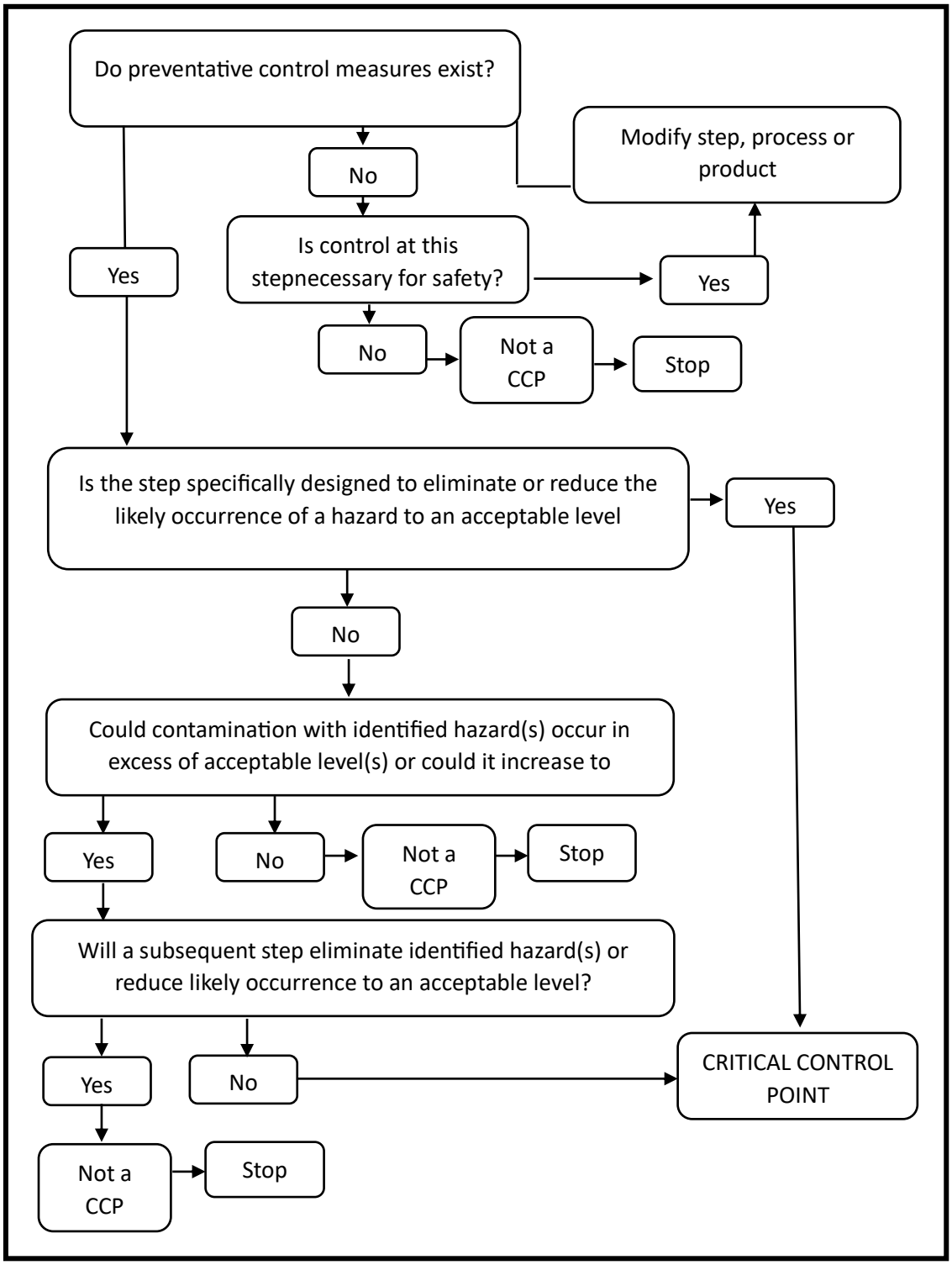
Sistem wajib mempertimbangkan sifat alergen dari beberapa makanan. Adanya alergen, misalnya kacang polong, susu, telur, krustasea, ikan, kacang tanah, kedelai dan gandum serta sereal lain yang mengandung gluten dan turunannya harus diidentifikasi dari bahan baku, bahan tambahan dan produk lainnya. Sistem manajemen alergen harus tersedia pada saat penerimaan, selama proses dan penyimpanan untuk mengatasi alergen yang diketahui. Sistem manajemen ini harus mencakup kontrol yang diterapkan untuk mencegah adanya alergen dalam makanan yang tidak diberi label. Kontrol untuk mencegah kontak silang dari makanan yang mengandung alergen dengan makanan lain harus diterapkan, misalnya pemisahan baik secara fisik maupun waktu (dengan pembersihan yang efektif antara makanan dengan profil alergen yang berbeda). Makanan harus dilindungi dari kontak silang alergen yang tidak diinginkan dengan praktik pembersihan dan pergantian jalur dan/atau pengurutan produk. Jika kontak silang tidak dapat dicegah meskipun kontrol diterapkan dengan baik, konsumen harus diberi tahu. Jika diperlukan para karyawan harus menerima pelatihan khusus tentang kesadaran alergen dan praktik manufaktur/proses makanan terkait dan tindakan pencegahan untuk mengurangi risiko konsumen mengalami alergi.

h. Kedatangan Bahan Baku

Bahan baku dan bahan tambahan yang telah disetujui yang dapat diterima. Bahan baku dan bahan tambahan yang diterima harus sesuai dengan spesifikasi keamanan pangan, dan harus diverifikasi jika diperlukan. Kegiatan jaminan kualitas pemasok, seperti audit, mungkin sesuai untuk beberapa bahan. Bahan baku atau bahan lain harus sesuai, dan diperiksa (misalnya pemeriksaan visual untuk kemasan yang rusak selama transportasi, alergen yang digunakan berdasarkan tanggal dan dinyatakan, atau pengukuran suhu untuk makanan yang didinginkan dan dibekukan) untuk tindakan yang tepat sebelum diproses. Jika perlu, pengujian laboratorium dapat dilakukan untuk memeriksa keamanan pangan dan kesesuaian bahan baku atau bahan tambahan. Pengujian ini dapat dilakukan oleh pemasok yang memberikan Sertifikat Analisis, pembeli, atau keduanya. Tidak boleh ada bahan masuk yang diterima oleh perusahaan jika diketahui mengandung kontaminan kimia, fisik atau mikrobiologis yang tidak dapat dikurangi ke tingkat yang dapat diterima dengan kontrol yang diterapkan selama penyortiran dan/atau proses jika sesuai. Stok bahan baku dan bahan lainnya harus tunduk pada perputaran stok yang efektif. Dokumentasi informasi penting untuk bahan yang masuk (misalnya detail pemasok, tanggal penerimaan, jumlah, dll.) harus dipelihara.

1.5.5 Penentuan CCP (*Critical Control Point*) atau Titik Kendali Kritis

Critcal Control Point merupakan suatu titik (tahapan proses) yang harus dikendalikan, dicegah dan dihilangkan potensi bahayanya karena dapat mengakibatkan risiko bahaya sehingga tidak dapat diterima oleh keamanan pangan (Sari *et al.*, 2022). Bahaya dianalisis penyebab terjadinya, setelah itu diidentifikasi peluang terjadinya dan kategori risiko bahaya tersebut untuk menentukan signifikansi bahaya dan pertimbangan dalam penetapan CCP (Sipahutar *et al*., 2022). Penentuan CCP menggunakan *decision tree* berdasarkan *Codex Alimentarius*



Gambar 2. *Decision tree Codex Alimentarius*

1.5.6 Alergen

Alergen merupakan zat yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan antibody IgE sehingga menyebabkan reaksi alergi. Alergen didefinisikan sebagai bahan atau senyawa yang menyebabkan alergi dan atau intoleransi. Konsumsi pangan yang mengandung bahan alergen dapat memberikan risiko kesehatan bagi konsumen yang memiliki alergi dan atau intoleransi. Senyawa yang umunya bersifat alergen adalah glikoprotein atau polipeptida yang larut dalam air. Glikoprotein yang bersifat alergen umumnya memiliki berat molekul antara 10 – 70 kDa (Cianferoni *et al*., 2009). Berat molekul alergen sangat beragam. Sebagai contoh ikan mujair memiliki protein alergen yang berat molekulnya sekitar 17 kDa – 114 kDa (Liu *et al*., 2013) dengan alergen mayor yang berat molekul 32 kDa. Alergen mayor merupakan alergen yang dapat mengikat antibody IgE penderita alergi lebih dari 50% (McSherry *et al*., 2008). Ikan tenggiri memiliki protein alergen dengan berat molekul 20 kDa (Hamada *et al*., 2001). Makanan dengan kadar protein tinggi berpotensi sebanyak 70% dapat menyebabkan alergi (Lockey *et al*., 2008). Penderita alergi sebanyak 49% sensitif terhadap alergen makanan (Candra *et al*., 2011) Orang dewasa lebih banyak yang sensitif terhadap alergen makanan yaitu sebesar 70,6% dibandingkan anak-anak yang hanya 29,4%. Jenis makanan yang paling banyak menyebabkan alergi pada anak-anak dan dewasa adalah udang, kepiting, putih telur, susu sapi dan maizena.

Pelabelan Alergen Pangan dan Perlindungan Konsumen Act (FALCPA) telah mengidentifikasi kedalam delapan kelompok makanan sebagai pokok makanan alergen (FDA, 2022) :

a. Kerang Crustacea (misalnya, kepiting, lobster, atau udang);
b. Telur;
c. Ikan (mis., ikan bersirip);
d. Susu;
e. Kacang kacangan;
f. Kedelai;
g. Kacang pohon (mis. almond, pecan, atau kenari); dan
h. Gandum.

Program pengendalian alergen diatur oleh *Voluntary Incidental Trace Allergen Labeling* (VITAL) yang merupakan proses penilaian risiko alergen berbasis ilmiah yang digunakan oleh industri makanan di Amerika Serikat, Selandia Baru, Australia dan sejumlah besar perusahaan di negara lain (Remington *et al*., 2020). Tujuan dari program VITAL adalah untuk memastikan bahwa makanan olahan aman bagi sebagian besar konsumen yang menderita alergi makanan dengan memberikan kriteria pelabelan pencegahan yang memungkinkan konsumen menghindari pembelian makanan yang mungkin berbahaya bagi mereka (Holzhauser *et al*., 2020). Hingga saat ini, versi terbaru dari program VITAL sedang digunakan, yaitu VITAL 3.0. Perubahan dosis alergen yang dapat menyebabkan reaksi alergi pada orang yang sensitif dalam versi baru 3.0 dari program VITAL® dibandingkan dengan versi 2.0 ditunjukkan pada Tabel 3.

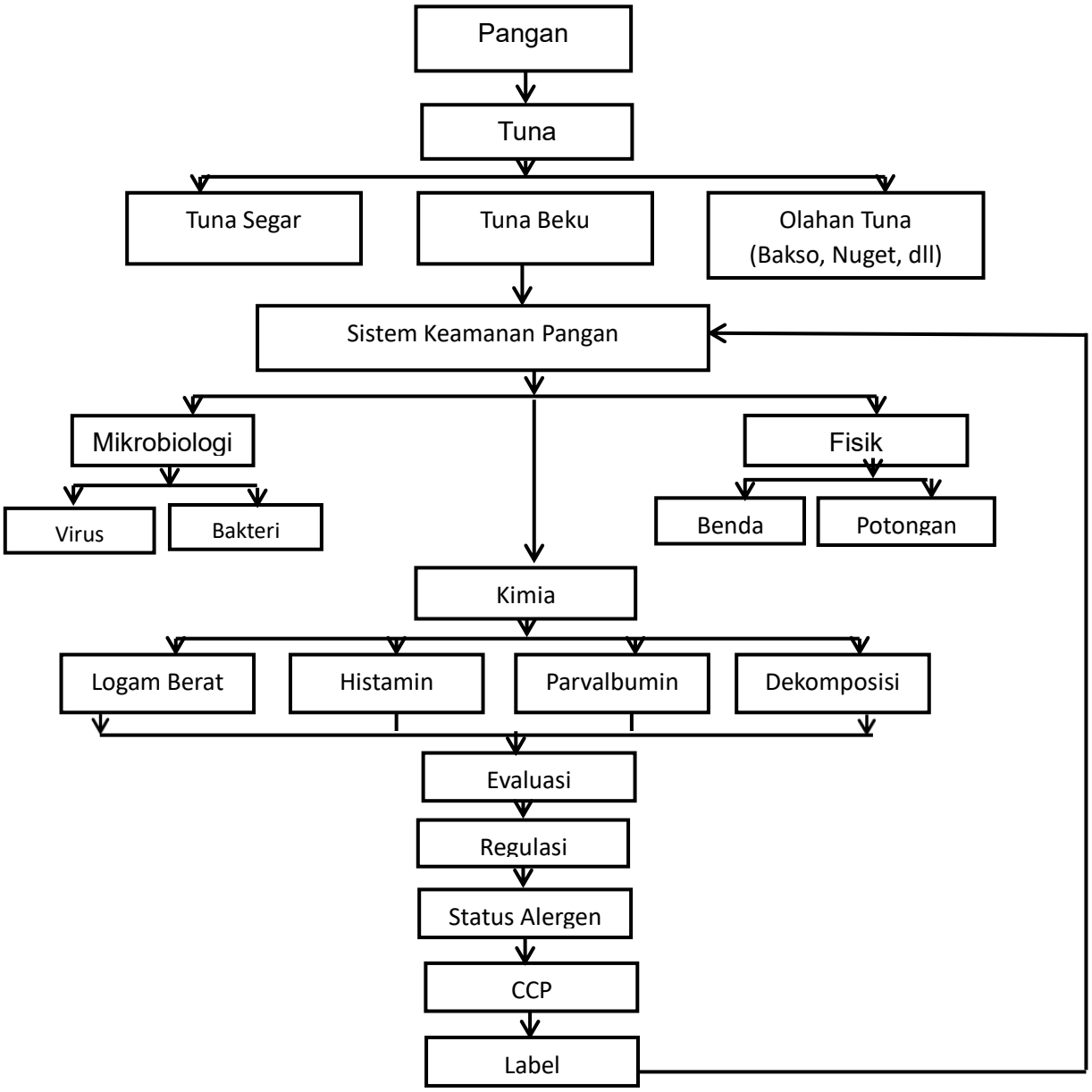
Tabel 3. Perubahan dosis alergen yang dapat menyebabkan reaksi alergi pada orang yang sensitif dalam program VITAL 3.0 yang baru dibandingkan dengan versi 2.0

Alergen	Dosis Referensi (mg protein)	
	VITAL 2.0 (lama)	VITAL 3.0 (baru)
Serelia yang mengandung gluten (termasuk gandum)	1.0	0.7
Kedelai	1.0	0.5
Wijen	0.2	0.1
Kacang Mete	0.1	0.05
Kenari	0.1	0.03
Dosis Referensi telah meningkat		
Telur	0.03	0.2
Susu	0.1	0.2
Ikan	0.1	1.3
Crustacea	10	25

Sumber : (Kryuchenko *et al*., 2022)

1.6 Kerangka Pikir Penelitian

Kerangka pikir penelitian mengenai regulasi FDA terkait pelabelan alergen dan pengendalian alergen melalui sistem HACCP pada loin beku tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) di unit pengolahan ikan dapat dilihat pada **Gambar 3**. Alergen termasuk dalam isu keamanan pangan yang merupakan bahaya yang dapat mengancam kesehatan. Reaksi alergi dapat berdampak buruk bahkan mematikan bagi konsumen yang memiliki riwayat alergi. Namun, keberadaan dan pengendalian alergen kurang diterapkan dan dipahami oleh produsen. Alergen di unit proses pengolahan ikan harus dikendalikan agar produk yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi. Pengendalian alergen dituangkan dengan implementasi GMP dan SSOP di unit pengolahan dan kandungan alergen wajib tercantum di label kemasan produk. Bahaya alergen diidentifikasi sebagai bahaya CCP, dimana pada tahap pengemasan dan pelabelan memerlukan monitoring dan tindakan pencegahan sebagai manajemen risiko.



Gambar 3. Kerangka Pikir

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Pengamatan pengendalian alergen pada Unit Pengolahan Ikan dilakukan di CV. Prima Indo Tuna Makassar. Pengujian protein alergen parvalbumin di Laboratorium Biomolekuler Hasil Perairan Institut Pertanian Bogor dan pengujian histamin dan cemaran logam, Arsen, Merkuri, Timbal, Kadmium (As, Hg, Pb, Cd) di Balai Pembinaan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Makassar. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di CV. Prima Indo Tuna pada bahan baku maupun pada produk akhir. Penelitian ini dilaksanakan pada Februari – Juni 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam pengujian yakni loin ikan tuna sirip kuning dan es curah. Alat yang digunakan adalah *cool box* dan timbangan.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Pengambilan sampel

Metode yang digunakan yaitu metode *purposive sampling* dengan pengambilan sampel di unit pengolahan ikan pada bahan baku serta produk akhir yang telah melalui proses penanganan dan siap ekspor. Sampel berasal dari tiga wilayah berbeda yaitu Bone, Bulukumba dan Palopo. Pengambilan sampel dari tiga wilayah berbeda merupakan *supplier* utama dari Unit Pengolahah CV. Prima Indo Tuna dan menjadi perbandingan penanganan dan kualitas dari tiga *supplier* tersebut.

Sampel dalam bentuk loin kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* untuk menjaga suhu tetap dingin selama dalam perjalanan ke laboratorium.

2.4 Parameter Penelitian

2.4.1 Parvalbumin

Sampel ikan tuna dilakukan preparasi untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi dan dilakukan uji kadar protein.

1. Ekstraksi Protein

Ekstraksi sampel dlakukan berdasarkan penelitian Kobayashi *et al*., (2016) yang dimodifikasi pada perbandingan penambahan larutan penyangga dan kecepatan serta waktu sentrifugasi. Sampel loin ikan tuna diambil sebanyak 10 gr untuk selanjutnya dicampurkan dengan larutan *buffer* Tris HCl 0.01 M (pH 7.4) dengan perbandingan 1:4 kemudian sampel dihomogenkan menggunakan *homogenizer*. Sampel yang telah homogen lalu disentrifugasi pada suhu 4ºC dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang dihasilkan dari proses sentrifugasi adalah ekstrak sampel dengan tanpa perlakuan suhu. Kandungan protein sarkoplasma pada ekstrak daging ditentukan dengan uji Bradford dan SDS-PAGE.

2. Uji Kadar Protein (Bradford 1976)

Pengujian kadar protein pada daging ikan tuna dilakukan menggunakan Bovine serum albumin (BSA) sebagai standar. Larutan pereaksi Bradford dibuat dengan mencampurkan 10 mg Coomasie briliant blue (CBB) ke dalam 50 ml etanol 95% asam fosfat 85% sebanyak 10 ml dengan campuran larutan. Larutan kemudian ditambahkan aquadesh hingga menjadi 100 ml. Larutan standar dibuat dengan mencampurkan 50 mg BSA dengan 25 ml aquadesh untuk didapatkan konsentrasi 2 mg/ml. Larutan standar diencerkan sehingga didapatkan konsentrasi 0.75 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.125 mg/ml dan 0.1 mg/ml. Pengujian dengan metode Bradford dilakukan dengan mencampurkan 5 ml pereaksi. Bradford ke dalam 2 ml sampel, 2 ml standar dengan berbagai konsentrasi dan 2 ml Tris HCl (blanko). Campuran larutan dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang 595 mm.

3. Uji Sodium Dodesilsulfat Poliakrilamida Gel Elektroforesis (SDS – PAGE)

Uji profil protein dengan SDS-PAGE diawali dengan pembuatan separating gel dengan stacking gel. Separating gel 15% dibuat dengan cara mencampurkan 1.75 ml akuades, 3.75 ml 30% acrylamid, 1.85 ml 1.5 Tris-HCl (pH 8.8), 75 µL 10% SDS, 75 µL 10% APS dan 7.5 µL TEMED. Larutan separating gel yang telah dibuat kemudian dimasukkan kedalam alat SDS-PAGE menggunakan mikropipet. Larutan stacking gel didiamkan hingga terbentuk gel selama ± 30 menit. Sampel sebanyak 10 µg dicampurkan sampel buffer dengan perbandingan 1:1. Sampel dihomogenkan dengan vortex dan dilakukan spin down. Sampel dipanaskan dengan thermostat pada suhu 95ºC selama 10 menit. Sampel sebanyak 20 µL dimasukkan ke dalam polyacrylamide gels. Elektroforesis dilakukan menggunakan arus 400 dengan voltase 85 volt selama 15 menit dan dilanjutkan menggunakan arus 400 mA dengan 170 volt selama 60 menit. Elektroforesis dihentikan apabila warna penanda mencapai batas ± 0.5 cm dari bagian bawah gel. Gel diwarnai dengan larutan staining (0.05% CBB, 40% methanol, 10% asam asetat dan 50% akuades) selama 90 menit. Gel dilakukan penghilangan warna 1 (destaining 1) (40% methanol, 10% asam asetat dan 50% aquades) selama 30 menit dan dilanjutkan dengan dengan penghilangan warna 2 (destaining 2) (20% methanol, 10% asam asetat dan 70% aquades selama 30 menit. Gel direndam dalam 5% asam asetat selama 15 menit. Gel dilakukan scanning dan pita protein kemudian diukur menggunakan software Photocapt.

2.4.2 Histamin (SNI 2354 : 2016)

Prinsip metode ini adalah histamin diekstrak dari jaringan daging sampel menggunakan methanol, sekaligus mengkonversi histamin ke dalam bentuk hidroksida (OH) kemudian dimurnikan melalui resin penukar ion dan diubah ke bentuk derivatnya dengan senyawa Orto-ptalatdikarbosildehid (OPT).

Prosedur analisis kadar histamin yang dilakukan yaitu secara spektroflorometri, yakni sampel diblender hingga homogen, kemudian ditimbang sebanyak 10 ± 0,1 g dalam gelas beaker 250 ml dan ditambahkan 50 ml metanol. Sampel dalam keadaan tertutup dipanaskan di dalam *waterbath* selama 15 menit pada suhu 60ºC dan didinginkan dalam suhu kamar. Sampel tersebut dituang ke dalam labu takar 100 ml dan tepatkan hingga tanda volume labu dengan metanol. Setelah itu dilakukan penyaringan

menggunakan kertas saring dan filtratnya ditampung dalam botol contoh. Filtrat dapat disimpan dalam refrigerator. Pada tahap persiapan kolom resin yaitu gelaswool yang telah diberi aquades dimasukkan ke dalam kolom resin setinggi 1,5 cm. Resin netral dalam medium air dimasukkan ke kolom resin setinggi ± 8 cm dengan volume air di atas resin setinggi 1 cm tetap dipertahankan dan jangan dibiarkan kering. Labu takar 50 ml yang berisi 5 ml HCl 1 N diletakkan di bawah kolom resin untuk menampung elusi contoh yang dilewatkan pada kolom resin.

Tahap pemurnian contoh yaitu filtrat contoh sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam kolom resin, kran kolom resin dalam posisi terbuka dan hasil elusi dibiarkan menetas (hasil elusi) lalu ditampung dalam labu takar 50 ml. Aquades ditambahkan pada saat tinggi cairan ± 1 cm di atas resin dan cairan dibiarkan terelusi.Prosedur tersebut diulangi hingga hasil elusi dalam labu takar tepat 50 ml. Hasil elusi (contoh) dapat disimpan dalam *refrigerator*. Selanjutnya dilakukan pembentukan senyawa turunan (derivatisasi) dimana tabung reaksi 50 ml masing-masing untuk contoh disiapkan untuk sampel, standar dan blanko. Filtrat sampel, larutan standar kerja dan blanko (HCl 0,1 N) dimasukkan masing-masing sebanyak 5 ml. Ke dalam tabung reaksi 3 ml NaOH 1 N dan diaduk, kemudian didiamkan selama 5 menit, 1 ml OPT 0,1% lalu diaduk dan didiamkan selama 4 menit, 3 ml H_3PO_4 3,57 N dan diaduk. Pengukuran flourescene dilakukan terhadap sampel, standar dan blanko sesegera mungkin dengan alat spektroflurometer pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan emisi 444 nm dalam waktu 90 menit. Kandungan histamin dihitung menggunakan persamaan kurva standar sebagai berikut :

$Y = a + bx$

Keterangan :

y = flouresensi sampel
a = intersep
b = slope
x = konsentrasi sampel yang dihitung

Perhitungan histamin dilakukan sebagai berikut :

Konsentrasi histamin mg/(100 g) = A (volume akhir (ml)-fd))/(berat sampel (g)

A = konsentrasi (x) yang dapat perhitungan (mg/ml)

2.4.3 Kandungan Logam Berat

1. Analisis Merkuri (Hg) dan Arsen (As)

Logam berat yang diuji adalah Hg dan As menggunakan prinsip destruktif yaitu dengan cara penggabungan kering pada temperatur 450ºC dilanjutkan dengan pelarutan asam. Logam yang terlarut kemudian dihitung dengan menggunakan alat AAS (*Atomic Absorption Spektroscopy*) dengan panjang gelombang maksimum 228,8 nm. Uji merkuri menggunakan prinsip reaksi antara senyawa merkuri dengan $NaBH_4$ $SnCl_2$ dalam keadaan asam akan membentuk gas atomic Hg. Jumlah yang terbentuk sebanding dengan absorban Hg yang dibaca menggunakan AAS tanpa nyala pada

panjang gelombang maksimum 253,7 nm. Nilai Hg berdasarkan rumus sebagai berikut :

Kandungan merkuri (Hg) dan arsen (As) (mg/kg) = C/W x V x fp
Keterangan :
C = konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam µg/ ml
V = volume larutan akhir, dinyatakan dalam milimeter (ml)
W = bobot sampel, dinyatakan dalam gram (g)
fp = faktor pengenceran

2. Analisis Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) (SNI 2354 : 2011)

a) Pengabuan Kering (*dry ashing*)
1) Timbang produk basah sebanyak 5 gram atau produk kering sebanyak 0,5 gr dalam cawan porselen dan catat beratnya (w)
2) Uapkan *spiked* di atas hot plate pada suhu 100ºC sampai kering
3) Masukkan contoh dan *spiked* kedalam tungku pengabuan dan tutup separuh permukaan. Naikkan suhu tungku pengabuan dan tutup separuh sampai mencapai 450ºC dan mempertahankan selama 18 jam
4) Keluarkan contoh dan *spiked* ke dalam tungku pengabuan dan didinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin tambahkan 1 ml HNO_3 65%, goyangkan secara hati-hati sehingga 100ºC sampai kering
5) Setelah kering masukkan kembali contoh dan *spiked* ke dalam tungku pengabuan. Naikkan suhu secara bertahap 100ºC setiap 30 menit sampai 450ºC dan pertahankan selama 3 jam
6) Setelah abu terbentuk sempurna berwarna putih, dinginkan contoh dan *spiked* goyangkan secara hati-hati sehingga semua abu larut dalam asam. Uapkan diatas *hot plate* pada suhu 100ºC sampai kering.
7) Tambahkan 10 ml HNO_3 dan didinginkan pada suhu ruang selama 1 jam, matrix modifier, tepatkan sampai tanda batas dengan menggunakan HNO_3 0,1 M.

b) Destruksi basah menggunakan *microwave*
1) Timbang contoh basah sebanyak 2 g atau contoh kering sebanyak 0,2 g – 0,5 g ke dalam tabungan sampel (*vessel*) kemudian dicatat beratnya (w).
2) Untuk kontrol positif (spiked 0,1 mg/kg), tambahkan masing-masing 0,2 ml larutan standar Pb dan Cd 1 mg/l atau larutan standar Pb dan Cd 200 µg/l sebanyak 1 ml ke dalam contoh kemudian di vortex
3) Tambahkan secara berurutan 5 ml – 10 ml HNO3 65% dan 2 ml H2O2
4) Lakukan destruksi dengan mengatur program microwave (sesuaikan dengan microwave yang digunakan)
5) Pindahkan hasil destruksi ke labu takar 50 ml dan tambahkan larutan matrik modifier,tepatkan sampai tanda batas dengan air deionisasi
6) Pembacaan kurva kalibrasi dan contoh pada AAS
7) Siapkan larutan standar kerja Pb dan Cd masing-masing minimal 5 (lima) titik konsentrasi

8) Baca larutan standar kerja, contoh dan spiked pada alat spektrofotometer serapan atom graphite furnace pada panjang gelombang 283,3 nm untuk Pb dan 228,8 nm untuk Cd

Perhitungan Konsentrasi Pb atau Cd µg/g = (D – E) x Fp x V
W

Keterangan :
D : konsentrasi contoh µg/l dari hasil pembacaan AAS
E : konsentrasi blanko contoh µg/l dari hasil pembacaan
Fp : faktor pengenceran
V : volume akhir larutan contoh yang disiapkan (ml), harus diubah ke dalam satuan filter
W : berat contoh (g)

2.4.4 Penentuan bahaya signifikan

Bahaya signifikan merupakan bahaya yang diidentifikasi oleh analisis bahaya sebagai bahaya yang mungkin terjadi pada tingkat yang tidak dapat diterima jika tidak ada pengendalian. Bahaya signifikan ditentukan dengan adanya *probability* dan *severity*. Jika perkalian *probability* dan *severity* mengindikasikan bahaya tersebut signifikan maka perlu menetapkan metode pengendalian terhadap bahaya tersebut.
Probability adalah peluang terjadinya suatu bahaya terhadap keamanan pangan. Jenis probability telah ditetapkan tiga kategori yaitu:

a. *Low* (L) adalah peluang terjadinya rendah (0 dalam 6 bulan)
b. *Medium* (M) adalah peluang terjadinya cukup sering (1-3 kali dalam 6 bulan)
c. *High* (H) adalah peluang terjadinya sangat sering (4-10 kali dalam 6 bulan).

Severity adalah besarnya tingkatan bahaya yang dapat berefek pada kesehatan jika bahaya tersebut ada. Jenis severity, penetapan kategori yaitu:

a. *Low* (L) adalah tidak menyebabkan dampak kesehatan yang berbahaya apabila bahaya tersebut ada
b. *Medium* (M) adalah dapat menyebabkan bahaya bagi kesehatan yang bersifat berat atau kronis jika bahaya tersebut ada, tetapi tidak dapat menyebabkan kematian
c. *High* (H) adalah dapat menyebabkan kematian jika bahaya tersebut ada.

2.5 Analisa Data

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode studi kasus dengan pengamatan dan pengambilan sampel secara *purposive smapling* dan disajikan deskriptif dengan menggambarkan dan menjelaskan kajian teori yang sifatnya konseptual berdasarkan pustaka. Penelitian dilakukan dengan cara mengikuti langsung alur proses penanganan tuna loin beku mulai dari tahap awal produksi hingga produksi akhir kemudian menganalisis penentuan CCP menggunakan *decision tree* kemudian selanjutnya melakukan pengujian pada komponen alergen. Data yang diperoleh terdiri dari data primer dan data sekunder dan diamati menggunakan tabel pohon keputusan dan data deskripsi. Data primer diperoleh dengan melakukan wawancara dan observasi langsung di lapangan, analisa bahaya, identifikasi titik kendali kritis, pengawasan terhadap titik kendali kritis.