

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan yang sangat luar biasa salah satunya adalah kekayaan alam yang sangat kaya akan keanekaragaman, sehingga Indonesia dilimpahi banyak hasil dari kekayaan alamnya. Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar dengan luas wilayah laut yang dapat dikelola sebesar 5,8 juta km², sehingga sektor perikanan dan kelautan menjadi sangat strategis (Putri *et al.*, 2021).

Ikan merupakan komoditi yang mudah membusuk sehingga sangat sulit untuk mempertahankan kesegaran ikan sampai ke tangan konsumen untuk itu prinsip penanganan ikan segar adalah cepat, bersih, hati-hati, dan penerapan rantai dingin (Imbir 2014). Ikan segar merupakan sesuatu yang memiliki resiko kontaminasi yang sangat tinggi, di karenakan ikan segar atau ikan mentah yang baru mati proses metabolisme yang sudah tidak terkontrol sehingga proses katabolisme/perombakan yang terjadi, banyak dimana hasil proses katabolisme dari ikan mentah merupakan substrat pertumbuhan untuk mikroba, sehingga produk ikan mentah lebih cepat rusak atau busuk dari pada produk ikan olahan. Selain itu pH, suhu, dan kontaminasi silang juga proses sangat berpengaruh pada kontaminasi dan pertumbuhan mikroba (Jaka, 2018).

Ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) merupakan salah satu sumberdaya perairan yang bernilai ekonomis penting di Sulawesi Selatan. Perikanan cakalang umumnya ada pada beberapa daerah di Sulawesi Selatan dan Sulawesi Barat yang termasuk kedalam perairan Selat Makassar bagian selatan. Perairan Selat Makassar merupakan bagian dari Wilayah Pengelolaan Perikanan (WPP) 713 selain Teluk Bone, Laut Flores, dan Bali (Amir *et al.*, 2015).

Tempat Pelelangan Ikan (TPI) merupakan salah satu elemen mata rantai sistem logistik produk ikan laut tangkap. TPI memegang peran cukup penting dalam kegiatan perikanan tangkap karena merupakan fasilitas yang mempertemukan pelaku penangkapan ikan laut dengan para pedagang lapis pertama, yang mampu mendorong dinamika perekonomian wilayah pesisir. TPI biasanya terletak didalam pelabuhan/pangkalan pendaratan ikan. Transaksi penjualan ikan dilakukan baik secara lelang maupun tidak (Tandibura, 2024). TPI Paotere sendiri merupakan tempat pelelangan ikan yang cukup dikenal dan berpengaruh di Makassar karena hasil tangkapan yang selalu berlimpah. Potensi sumber daya alam berupa hasil laut yang tak terbatas jumlahnya ini dapat dijadikan sebagai tulang punggung kekuatan perekonomian Kota Makassar (Hamzyna *et al.*, 2023). TPI Paotere kota Makassar merupakan pelelangan perikanan yang dengan aktivitas pendaratan sampai pada aktivitas pemasaran. Data laporan tahunan 2014 menunjukkan bahwa jumlah produksi yang didaratkan di TPI Paotere sebesar 7.393 ton. Hal ini menjadikan TPI Paotere kota Makassar sebagai salah satu pelelangan perikanan yang memberikan kontribusi signifikan dalam sistem logistik ikan nasional (Arief *et al.*, 2017).

Ikan cakalang merupakan komoditas yang memiliki nilai gizi tinggi tapi mudah rusak karena mengandung banyak protein yang tinggi (Mawaddah *et al.*, 2023). Ikan cakalang memiliki kandungan air 73,03%, protein 20,15%, karbohidrat 2,35%, lemak 3,39%, abu

1,94% menurut (Utari *et al.*, 2022). Ikan cakalang memiliki kandungan protein tinggi yang baik untuk tubuh manusia sehingga ikan cakalang tergolong sumberdaya perikanan pelagis penting dan merupakan salah satu komoditi ekspor non migas. Ikan yang baru ditangkap mengandung mikroba yang secara alami pada tiga bagian utama yaitu, kulit, insang, dan isi perut.

Mutu adalah tingkat kualitas hasil perikanan yang mencerminkan kesesuaian produk terhadap standar keamanan pangan, kesegaran, nilai gizi, dan persyaratan konsumen, yang dinilai berdasarkan parameter fisik, kimia, mikrobiologis, dan penanganan pascapanen (sari *et al.*, 2020). Mutu ikan sangat dipengaruhi oleh cara penangkapan, pengolahan, penyimpanan, serta distribusi hasil perikanan. Mutu yang baik menjamin produk yang aman, layak konsumsi, dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat kesegaran dan kecepatan penurunan mutu ikan baik bersifat internal maupun eksternal. Faktor internal yaitu jenis dan kondisi biologis ikan, sedangkan faktor eksternal yaitu proses kematian, waktu, cara penanganan, dan fasilitas penanganan (Metusalach *et al.*, 2014). Perubahan yang dialami ikan berlangsung dalam tiga fase, yaitu fase prerigor mortis, rigor mortis, dan post-rigor mortis (Suprayitno, 2020).

Kontaminasi bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Listeria*, serta residu kimia berbahaya dapat mengakibatkan dampak serius terhadap kesehatan masyarakat, seperti keracunan makanan dan penyakit lain yang berhubungan dengan konsumsi produk perikanan yang tercemar. Oleh karena itu, penting untuk melakukan pengukuran risiko secara komprehensif di setiap tahapan rantai pasok ikan segar guna meminimalkan potensi bahaya.

Histamin merupakan senyawa amino biogenik yang dihasilkan oleh dekarboksilasi histidin oleh bakteri tertentu seperti *Morganella Morgani* dan *Klebsiella Pneumoniae*. Pembentukan histamin sering terjadi pada ikan dari Famili *Scombridae*, termasuk cakalang, yang memiliki kadar histidin bebas yang tinggi dalam dagingnya. Histidin merupakan asam amino standart di dalam protein yang memiliki pH sekitar 6. Asam amino histidin terdapat pada ikan yang merupakan komponen utama dari buffer non karbonat yang akan melindungi ikan dari perubahan pH (Palawe *et al.*, 2020). Histidin juga merupakan sumber terbentuknya histamin yang dikatalis oleh enzim dekarboksilase eksogenus yang dihasilkan oleh mikroba pada ikan. Dekarboksilasi adalah reaksi kimia di mana gugus karboksil (COOH) dikeluarkan dari molekul sebagai karbon dioksida (CO₂), yang merupakan metode yang lebih ekonomis, tidak memerlukan kondisi operasi yang tinggi dibandingkan dengan hidrideoksigenas (Auliastuti *et al.*, 2019). Keracunan histamin (*Scombroid poisoning*) merupakan salah satu jenis keracunan makanan yang paling umum terkait konsumsi ikan (Mawaddah *et al.*, 2023). Pembentukan histamin dipengaruhi oleh suhu dan waktu penyimpanan. Suhu di atas 15°C sangat ideal untuk pertumbuhan bakteri penghasil *histidin dekarboksilase*. Menurut Utari (2022), penyimpanan ikan cakalang pada suhu ruang dalam waktu lebih dari 4 pukul dapat menyebabkan peningkatan kadar hisamin secara signifikan. Oleh karena itu, pendinginan cepat dan penyimpanan pada suhu rendah sangat penting untuk mencegah pembentukan histamin. Badan Standar Nasional telah menetapkan batas maksimum histamin dalam ikan segar sebesar 100mg/kg (SNI 2354.10:2016). Pemantauan kadar histamin pada ikan cakalang diperlukan untuk memastikan keamanan konsumsi. Penelitian ini akan menguji kadar histamin sebagai bagian dari evaluasi keamanan

pangan, sekaligus memberikan rekomendasi bagi para pedagang dan pihak terkait dalam menerapkan penanganan yang dapat mencegah pembentukan histamin.

Penanganan ikan yang benar merupakan kunci utama dalam mempertahankan kesegaran dan keamanan pangan. Prinsip dasar penanganan ikan segar meliputi bersih (*Clean*), hati-hati (*Careful*), penerapan rantai dingin (*Cool Chain*) dan cepat (*Quick*). Menurut Metusalach *et al.*, (2014), penurunan suhu segera setelah ikan ditangkap dapat memperlambat aktivitas enzim dan mikroba yang menyebabkan pembusukan. Penggunaan es dalam jumlah yang cukup dan merata sangat dianjurkan untuk mempertahankan suhu ikan mendekati 0°C. Selain kontrol suhu, kebersihan alat dan lingkungan penanganan juga sangat penting. Penelitian Jaka (2018) menunjukkan bahwa kontaminasi silang dari peralatan yang tidak steril dapat meningkatkan jumlah mikroba pada ikan segara. Oleh karena itu, penerapan *Good Handling Practices* (GHP) harus dilakukan oleh semua pihak yang terlibat dalam rantai pasok ikan. Penerapan prinsip penanganan yang baik, tidak hanya bergantung pada ketersediaan fasilitas, tetapi juga pada pengetahuan dan kesadaran para pelaku. Pelatihan dan pendampingan bagi nelayan dan pedagang mengenai teknik penanganan yang higienis dan efisien sangat diperlukan. Penelitian Wahyuni dan Sumarmi (2018) menekankan bahwa pentingnya edukasi dalam meningkatkan kualitas penanganan ikan segar, yang pada akhirnya berdampak pada peningkatan mutu dan keamanan produk.

Penurunan mutu pada ikan segar terjadi melalui tiga mekanisme utama, yaitu enzimatik, kimiawi, dan mikrobiologis. Proses enzimatik dimulai segera setelah ikan mati, ditandai dengan fase *rigor mortis* dan diikuti oleh pemecahan protein oleh enzim proteolitik. Proses kimiawi seperti oksidasi lemak, juga berkontribusi terhadap penurunan mutu, terutama pada ikan berlemak tinggi seperti cakalang (Suprayitno, 2020). Namun, kontaminasi mikrobiologi merupakan faktor utama yang mempercepat pembusukan dan berpotensi menimbulkan bahaya Kesehatan. Mikroba alami yang terdapat pada insang, kulit, dan saluran pencernaan ikan, dapat berkembang biak dengan cepat jika ikan disimpan pada suhu yang tidak terkontrol. Menurut SNI 2332.3:2015, Angka Lempeng Total (ALT) digunakan sebagai indikator jumlah mikroba dalam produk perikanan. Nilai ALT yang tinggi menunjukkan bahwa ikan telah terkontaminasi dan beresiko tidak aman untuk dikonsumsi. Selain ALT, keberadaan bakteri *coliform* juga menjadi indikator higienitas penanganan. Menurut Anshor *et al.*, (2025), rantai pasok ikan segar rentan terhadap kontaminasi mikroba jika tidak dikelola dengan baik.

Publikasi mengenai kualitas ikan segar khususnya yang dijual di tempat pelelangan ikan atau Pasar telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Ritongga (2021) melaporkan bahwa ikan kembung lelaki yang dijual di Pasar Tradisional Daya tergolong segar berdasarkan pengujian organoleptik, suhu, pH, ALT, *coliform* dan *Escherichia Coli*. Hal yang berbeda dilaporkan oleh Abdullah (2023) bahwa mutu ikan kembung lelaki yang dipasarkan di TPI Paotere berdasarkan waktu tergolong sudah tidak layak dikonsumsi berdasarkan pengujian ALT, *coliform*, organoleptik, suhu, dan pH. Ikan tidak akan bisa dipertahankan apabila penanganan dan pengolahan tidak cepat dilakukan, oleh sebab itu setiap penanganan hasil perikanan yang memegang peranan penting adalah mutu (Husen 2024). Oleh sebab itu dari latar belakang masalah tersebut, hal ini memacu peneliti untuk melakukan penelitian mutu Ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) Segar yang dipasarkan di tempat pelelangan ikan Paotere Kota Makassar.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat dirumuskan berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan adalah bagaimana mutu ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) yang dipasarkan di tempat pelelangan ikan Paotere Kota Makassar?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan mutu ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) segar yang dipasarkan di tempat pelelangan ikan Paotere Kota Makassar.

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai bahan acuan dalam melakukan penelitian serta memberikan informasi yang dapat menambah wawasan, khususnya bagi nelayan dan pedagang agar dapat mempertahankan kualitas ikan cakalang dalam keadaan aman di konsumsi hingga ke tangan konsumen.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juni 2025. Pengambilan sampel ikan cakalang serta pengecekan suhu dan pH dilakukan di tempat pelelangan ikan Paotere Kota Makassar. Pengujian mikrobiologi dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan Sulawesi Selatan. Serta pengujian histamin yang dilakukan di Laboratorium Balai Penerapan Mutu Produk Perikanan Sulawesi Selatan.

2.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan dalam Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Alat dan kegunaan

No	Alat	Kegunaan
1	<i>Scoresheet</i>	Sebagai panduan dalam lembar penilaian organoleptik
2	Timbangan digital scale	Menimbang sampel penelitian
3	Penggaris	Mengukur panjang sampel
4	<i>Handphone</i>	Dokumentasi segala kegiatan
5	<i>Cool box</i>	Untuk menyimpan ikan dan es
6	Termometer portabel	Mengukur suhu ikan
7	pH meter portabel	Mengukur pH ikan

Tabel 2. Bahan dan kegunaan

No	Bahan	Kegunaan
1	Es	Untuk pendinginan
2	Ikan cakalang	Sebagai bahan utama dalam penelitian
3	<i>Plate Count Agar</i> (PCA)	Sebagai media pengujian ALT
4	Larutan <i>butterfield's phosphate buffer</i>	Sebagai pelarut dalam pengujian ALT dan coliform
5	Larutan NaOH dan HCl	sebagai pelarut dalam pengujian histamin

2.3 Metode Pengambilan Data

Teknik pengambilan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah :

2.3.1 Observasi

Observasi adalah proses pengumpulan data dengan mengamati kondisi tempat pelelangan ikan dan juga mengamati penanganan ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) pada saat didaratkan dan dijual. *Form* data observasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

2.3.2 Wawancara

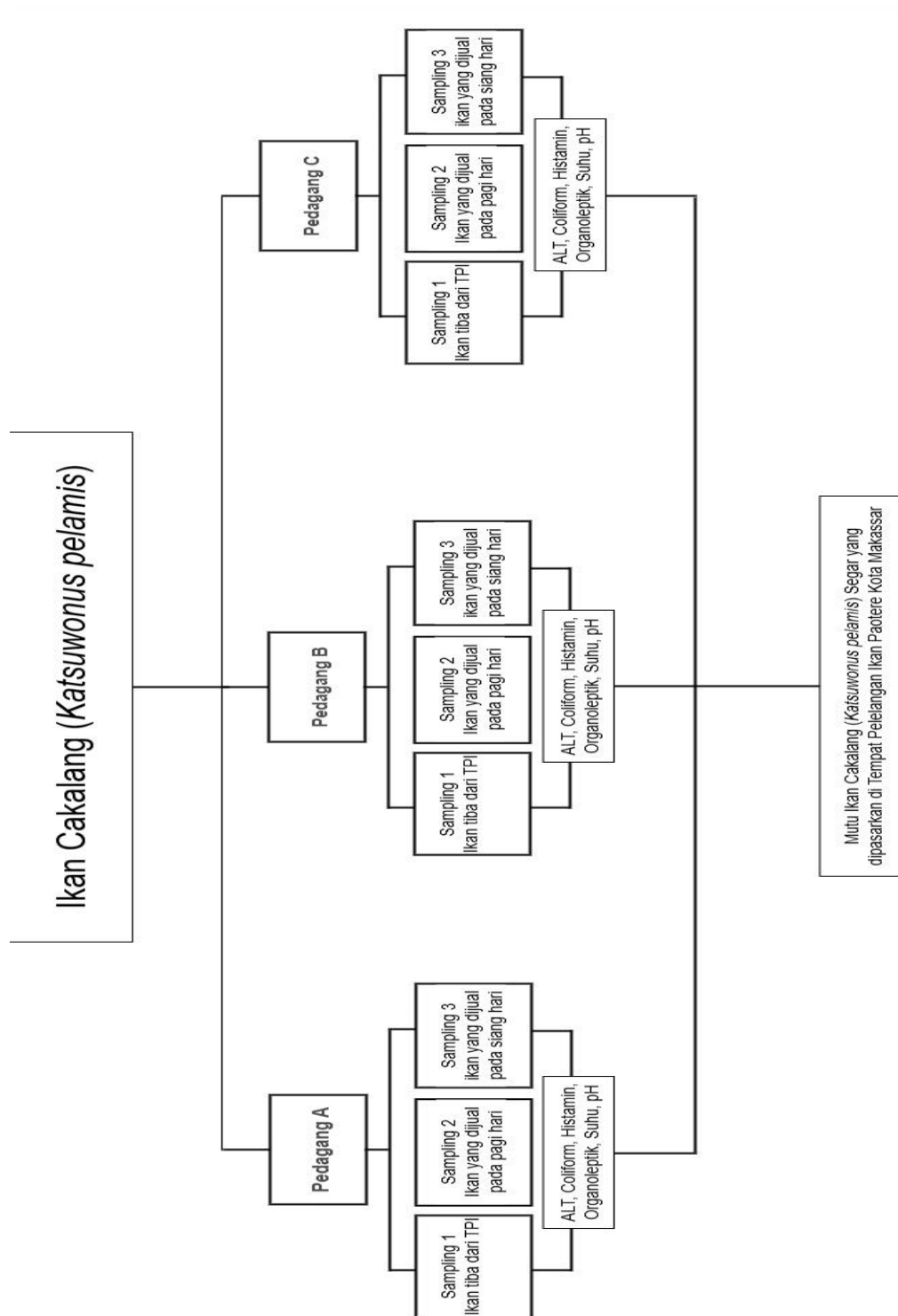
Wawancara adalah proses pengumpulan data melalui tanya jawab secara lisan dengan pihak penjual ikan sehingga memberikan keterangan terkait prosedur yang diterapkan sehingga menjadi tujuan untuk mendapatkan informasi. *Form* kuisisioner wawancara dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

2.3.3 Teknik Sampling

Purposive sampling adalah teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini. Teknik *Purposive sampling* dilakukan untuk melihat kriteria ikan yang masih segar dan utuh tanpa kerusakan fisik seperti sisik tidak mudah lepas, mata ikan masih jernih, dan daging ikan masih elastis. Dimana sampling dilakukan dalam 3 kali seminggu selama total 3 minggu pada pedagang ikan yang berbeda tiap pekannya. Pengambilan sampel dilakukan pada saat ikan didaratkan pada TPI Paotere dengan menentukan nelayan atau pedagang yang sama ditemui pada saat dilapangan. Hasil pengamatan dilapangan diketahui bahwa panjang ikan cakalang segar ialah ± 27 cm dengan berat 235 gram.

Pengambilan sampel dilakukan 3 kali sampling yaitu, sampling 1 pada saat pendaratan ikan di TPI Paotere pukul 05.00 Wita. Sampling 2 pada saat penjualan ikan pukul 08:00 Wita. Sampling 3 pada saat penjualan akhir ikan di TPI Paotere pukul 11:00 Wita. Dilakukan pengujian mikrobiologi sebagai parameter utama dalam penelitian ini yang meliputi pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dan *coliform* serta parameter pendukung dalam pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kualitas kadar histamin dan kesegaran ikan secara fisik menggunakan pengujian histamin, organoleptik, suhu, dan pH. Pada setiap sampling, jumlah ikan cakalang yang diambil tiap samplingnya sebanyak 5 ekor ikan, 3 ekor untuk uji organoleptik, ALT, dan *coliform*; 1 ekor untuk uji histamin; dan 1 ekor untuk pengujian suhu dan pH. Pada pengujian suhu dan pH dilakukan pada saat sampling, sedangkan untuk pengujian organoleptik yang meliputi pengamatan pada kenampakan, tekstur, bau, dan daging. Serta ALT, dan *coliform* dilakukan di Laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan Sulawesi Selatan dan untuk pengujian histamin dilakukan di Laboratorium Balai Penerapan Mutu Produk Perikanan Sulawesi Selatan.

Sampel yang diperoleh kemudian diukur suhu dan pengecekan pH pada ikan cakalang. Setelah itu sampel dimasukkan ke dalam plastik zipper lalu dimasukkan ke dalam *coolbox* dan diberikan es untuk mempertahankan kesegaran ikan pada saat sebelum dibawa ke laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan untuk diuji parameter organoleptik, ALT, dan *coliform*. Sedangkan laboratorium Balai Penerapan Mutu Produk Perikanan untuk diuji parameter histamin. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

2.4 Parameter Pengujian

Parameter pengujian sampel yang menggunakan parameter mikrobiologi sebagai parameter utama dalam penelitian ini yang meliputi pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dan *coliform* sebagai berikut :

2.4.1 Parameter Angka Lempeng Total (SNI 2332.3-2015)

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan metode konvensional untuk mengetahui jumlah total mikroorganisme aerob mesofilik yang terdapat dalam sampel yang dilakukan pada cawan tuang yang mengacu pada SNI 2332.3 Tahun 2015 pada produk perikanan. Pengujian dilakukan di laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Sulawesi Selatan. Berikut merupakan prosedur kerja dari parameter uji Angka Lempeng Total (ALT) :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan:

N = Jumlah koloni produk (kloni/ml atau koloni/g)

$\sum C$ = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = pengenceran pertama yang dihitung

- Persiapan pengujian

- Untuk contoh dengan berat lebih kecil atau sama dengan 1 kg atau 1 L sampai dengan 4,5 kg atau 4,5 L ditimbang contoh padat sebanyak 25 g atau contoh cair sebanyak 25 mL dari contoh yang akan diuji, kemudian dimasukkan dalam wadah atau plastik steril dan tambahkan 225 mL Larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*.
- Untuk contoh dengan berat lebih besar dari 4,5 kg atau 4,5 L ditimbang contoh padat sebanyak 50 g atau contoh cair sebanyak 50 mL, kemudian masukkan dalam wadah atau plastik steril dan tambahkan 450 mL Larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*.
- Dihomogenkan selama 2 menit. Homogenat ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1}
- Dengan menggunakan pipet steril, ambil 10 mL homogenat diatas dan dimasukkan ke dalam 90 mL Larutan *Butterfield's Phosphate Buffered* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2}
- Siapkan pengenceran selanjutnya (10^{-3}) dengan mengambil 10 mL contoh dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 90 mL Larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*.
- Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali.
- Selanjutnya dilakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dst sesuai dengan kondisi contoh.

- Tahap pengujian

A) ALT Aerob

- a. Pipet 1 mL dari setiap pengenceran diatas dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Dilakukan secara duplo untuk setiap pengenceran.
- b. Ditambahkan 12 mL 15 mL *Plate Count Agar* (PCA) ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi contoh. Supaya contoh dan media PCA tercampur sempurna, dilakukan pemutaran cawan ke depan-ke belakang dan ke kiri-ke kanan.
- c. Inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik. Masukkan ke dalam inkubator pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk bakteri mesofilik atau pada suhu $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk bakteri termofilik selama 48 pukul ± 2 pukul.

B) ALT Anaerob

- a. Dituang 6 mL - 7 mL media (PCA) ke dalam cawan petri steril, sebarakan dengan cepat dan ratakan.
- b. Pada saat media agar telah membeku, pipet secara aseptik 1 mL contoh yang telah dihomogen dari masing-masing pengenceran pada bagian tengah cawan petri. Dilakukan secara duplo.
- c. Tuangkan 15 mL *Thioglycolate* agar ke dalam cawan petri. Campur dengan baik dan putar dengan hati-hati.
- d. Inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi tidak terbalik dalam anaerobic jar dan dimasukkan kedalam inkubator pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk bakteri mesofilik atau $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk bakteri termofilik selama 48 pukul ± 2 pukul.

2.4.2 Parameter *Coliform* (SNI 2332.1-2015)

Pengujian *Coliform* menggunakan metode konvensional untuk mendeteksi keberadaan bakteri coliform yang berfungsi sebagai indikator pencemaran sanitasi dan kualitas higienis pada ikan yang mengacu pada SNI 2332.1 Tahun 2015 pada produk perikanan. Pengujian dilakukan di laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Sulawesi Selatan. Berikut merupakan prosedur kerja dari parameter uji *Coliform* :

- Uji pendugaan *coliform*

- a. Siapkan pengenceran 10^{-2} dengan cara melarutkan 1 mL larutan 10^{-1} ke dalam 9 mL larutan pengencer *Butterfield's phosphate buffer*. Lakukan pengenceran selanjutnya sesuai dengan pendugaan kepadatan contoh. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali.
- b. Pindahkan dengan menggunakan pipet steril, sebanyak 1 mL larutan dari setiap pengenceran ke dalam 3 atau 5 tabung *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) yang berisi tabung Durham. Media *lactose broth* juga dapat digunakan.
- c. Diinkubasikan tabung-tabung tersebut pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Perhatikan gas yang terbentuk setelah inkubasi 24 pukul ± 2 pukul. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabung Durham. Inkubasikan kembali tabung-tabung negatif selama 24 pukul dan catat hasilnya pada 48 pukul ± 3 pukul.
- d. Dilakukan "uji penegasan koliform" untuk tabung-tabung positif.

- Uji Penegasan *coliform* (*confirmed coliform*)
 - a. Diinokulasikan tabung-tabung LTB yang positif ke tabung-tabung BGLB Broth yang berisi tabung durham dengan menggunakan jarum ose. Diinkubasi BGLB Broth yang telah diinokulasi pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Periksa tabung-tabung BGLB yang menghasilkan gas selama $48\text{ pukul} \pm 3\text{ pukul}$ pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabung durham.
 - b. Tentukan nilai angka paling memungkinkan (APM) untuk *coliform* berdasarkan jumlah tabung-tabung BGLB yang positif dengan menggunakan Angka Paling Memungkinkan (APM). Nyatakan angka *coliform* sebagai “APM/g”.

2.5 Parameter penunjang

Parameter penunjang adalah faktor-faktor pendukung dalam pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kualitas kadar histamin dan kesegaran ikan secara fisik menggunakan pengujian histamin, organoleptik, suhu, dan pH sebagai berikut :

2.5.1 Parameter Histamin (SNI 2354.10-2016)

Pengujian histamin menggunakan metode *spectrofluorescence* untuk menganalisis dan mengidentifikasi kadar histamin dalam ikan yang berpotensi menghasilkan senyawa amin biogenik akibat proses pembusukan yang mengacu pada SNI 2354.10 Tahun 2016 dilakukan di laboratorium Balai Penerapan Mutu Produk Perikanan (BPMPP) Sulawesi Selatan. Berikut merupakan prosedur kerja dari parameter uji histamin.

- Prosedur
 - a. NaOH 1 N :
Dilutkan 4 g NaOH dalam 100 ml aquades.
 - b. HCl 0,1 N :
Dilutkan 8 ml HCl 12,5 N (37%) dalam 1.000 ml. aquades.
 - c. Orto-ptalatdikarbosilaldehid (OPT) 0,1% :
Larutkan 0,1 g OPT dalam 100 ml metanol, larutan ini disiapkan pada kondisi segar dalam setiap analisa.
 - d. Asam Fosfat (H_3PO_4) 3,57 N :
Dilutkan 121,8 ml H_3PO_4 (85%) menjadi 1.000 ml aquades, standarkan larutan ini dengan mengambil 5 ml dan titrasi dengan NaOH 1 N dengan indikator fenolftalin.
 - e. Resin penukar ion jenis Dowex 1 - X8 50-100 mesh.
 - f. Pembuatan larutan standar histamin: Larutan stok 1 mg/ml (1.000 ppm)
Timbang teliti 169,1 mg histamin 2 HCl (Histamin dihidroklorid), larutkan dan tepatkan menggunakan HCl 0,1 N dalam labu takar 100 ml sampai batas volume.
Siapkan larutan ini dalam kondisi segar setiap minggu dan disimpan dalam refrigerator. larutan stok 10 µg/ml (10 ppm)
Pipet 1 ml larutan stok (1.000 ppm) masukkan ke dalam labu takar 100 ml dan tambahkan larutan HCl 0,1 sampai batas volume. Siapkan larutan ini dalam kondisi segar setiap minggu dan disimpan dalam refrigerator.
 - g. Larutan kerja :
Buat larutan kerja 0,1 µg/mL (0,1 ppm); 0,2 µg/mL (0,2 ppm) dan 0,3 µg/mL (0,3 ppm).

Siapkan larutan kerja ini setiap hari (setiap akan digunakan). Apabila larutan kerja tersebut menghasilkan fluoresensinya yang maksimal pada pembacaan dengan instrumen, maka larutan kerja tersebut dapat diencerkan sesuai dengan keperluan.

- Prosedur analisis
 - a. Blender contoh hingga homogen.
 - b. Timbang seksama lebih kurang 10 g contoh dalam beaker glass 250 mL dan tambahkan 50 mL metanol, blender hingga homogen.
 - c. Panaskan diatas waterbath selama 15 menit pada suhu 60 °C dijaga sampel dalam kondisi tertutup, dinginkan hingga suhu kamar.
 - d. Tuangkan contoh ke dalam labu takar 100 mL dan tepatkan hingga volume labu dengan metanol.
 - e. Saring menggunakan kertas saring dan filtratnya ditampung dalam botol contoh. Pada tahap ini filtrat contoh dapat disimpan dalam refrigerator.
- Perhitungan
 - a. Nilai konsentrasi dan fluoresensi dari larutan standar kerja dimasukkan ke dalam program linear kalkulator.

$$y = a + bx$$

Keterangan: y: fluoresensi
 a: intersep
 x: konsentrasi
 b: slope

- b. Setelah dapat nilai x kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran dan dikonversi dalam satuan berat. Kandungan histamin dinyatakan dalam satuan µg/g atau mg/kg:

$$\text{Konsentrasi histamin } (\mu\text{g/g}) = A \times \frac{\text{volume akhir (ml)} - fp}{\text{gram}}$$

Keterangan: A: Konsentrasi (x) yang didapat dalam perhitungan (µg/ml).

2.5.2 Parameter Organoleptik (SNI 2729-2021)

Pengujian organoleptik adalah salah satu metode pengujian mutu suatu produk dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk menilai mutu organoleptik dengan melihat tabel *scoresheet* terhadap ikan cakalang dengan nilai 1 sampai 9 yang mengacu pada SNI 2729 Tahun 2021 yang meliputi kenampakan, daging, bau dan tekstur. Pengujian dilakukan di laboratorium Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Sulawesi Selatan.

Jenis panelis yang digunakan dalam penelitian ini adalah panelis terbatas dengan kriteria panelis terdiri dari 3-5 orang yang memiliki kepekaan yang tinggi serta keputusan diambil dengan berdiskusi diantara anggota-anggotanya. Adapun panelis dalam penelitian ini sebanyak 5 orang.

2.5.3 Pengukuran Suhu (Metode AOAC 1995)

Pengukuran suhu dilakukan berdasarkan prosedur yang mengacu dalam AOAC (1995), dimana pada pengukuran suhu dilakukan pada daging ikan diukur menggunakan *portabel thermometer*, sensor pada *thermometer* dimasukkan hingga mencapai titik pusat *thermal* ikan.

2.5.4 Pengukuran pH (Metode AOAC 1995)

Pengukuran pH dilakukan berdasarkan prosedur yang mengacu dalam AOAC (1995), dimana pada pengukuran pH dilakukan pada daging ikan diukur menggunakan pH meter portabel.

2.6 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis data parameter Angka Lempeng Total (ALT), *coliform*, histamin, organoleptik, suhu, dan pH dijelaskan secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel untuk menggambarkan kualitas ikan cakalang segar.