

**PENGARUH GELEMBUNG NANO (NANOBUBBLE) NITROGEN  
PADA SISTEM REFRIGERATED SEA WATER (RSW) TERHADAP  
KESEGERAN IKAN TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :  
**RIFQI FAUZAN SYAFI'I  
NIM. 115080300111125**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**PENGARUH GELEMBUNG NANO (NANOBUBBLE) NITROGEN  
PADA SISTEM REFRIGERATED SEA WATER (RSW) TERHADAP  
KESEGRAN IKAN TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh :  
**RIFQI FAUZAN SYAFI'I  
NIM. 115080300111125**



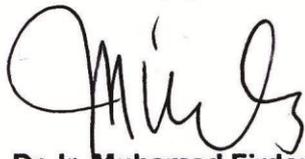
**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**SKRIPSI**  
**PENGARUH GELEMBUNG NANO (NANOBUBBLE) NITROGEN**  
**PADA SISTEM REFRIGERATED SEA WATER (RSW) TERHADAP**  
**KESEGERAN IKAN TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*)**

Oleh :  
**RIFQI FAUZAN SYAFI'I**  
**NIM. 115080300111125**

telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal

**Dosen Penguji i**



**Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP**  
**NIP. 19680919 200501 1 001**  
**Tanggal : 15 JUN 2016**

**Menyetujui,**  
**Dosen Pembimbing I**



**Dr. Ir. Hardoko, MS**  
**NIP. 19620108 199802 1 001**  
**Tanggal : 15 JUN 2016**

**Dosen Penguji II**



**Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes**  
**NIP. 19611022 198802 2 001**  
**Tanggal : 15 JUN 2016**

**Dosen Pembimbing II**



**(Dr. Nurul Taufiq Rochman, M.Eng, Ph.D)**  
**NIP. 19700805 199012 1 001**  
**Tanggal : 15 JUN 2016**



**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan MSP,**

**Dr. Ir. Arning Wihjeng Ekawati, MS**  
**NIP. 19620805 198603 2 001**  
**Tanggal : 15 JUN 2016**

## PERNYATAAN OROSINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Mei 2016

Mahasiswa

Rifqi Fauzan Syafi'i

## UCAPAN TERIMAKASIH

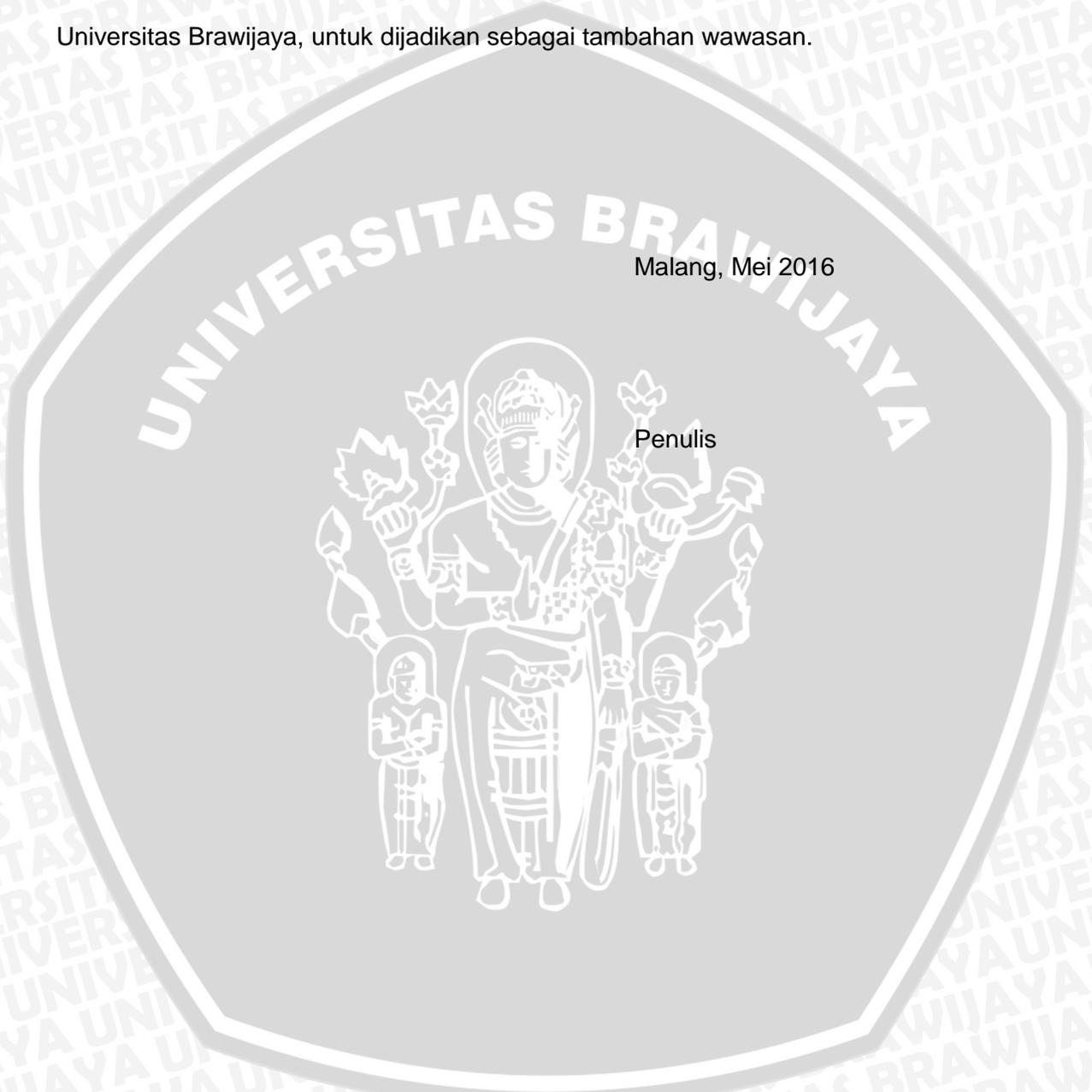
Atas selesainya penulisan ini, Penulis menyadari sepenuhnya bahwa pelaksanaan Penelitian Skripsi ini tidak mungkin berjalan dengan baik tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orangtua di rumah, Ibunda Lilis Pipih Hanifah dan Ayahanda Iskamal Abdullah yang selalu mendoakan, mendukung dan memotivasi dalam kelancaran studi di Universitas Brawijaya ini.
2. Kepada Dewan Masyayikh dan Ustadz Pondok Pesantren Miftahul Huda, Malang selalu mendoakan dan menasihati dalam setiap keadaan.
3. Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS selaku Dosen Pembimbing 1 dan Bapak Dr. Nurul Taufiqu Rochman, M.Eng, Ph.D selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penelitian serta saran dalam mengerjakan laporan ini.
4. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku Dosen Penguji 1 dan Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku Dosen Penguji 2 yang telah berkenan memberikan kritikan dan saran mengenai hasil laporan ini.
5. Dosen-dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan yang dengan penuh keikhlasan dan sabar berbagi pengetahuan dan mendidik kami sehingga dapat memahami berbagai pengetahuan yang sebelumnya kami awam terhadapnya.
6. Untuk teman – teman THP angkatan 2011 terimakasih atas doa dari kalian dan kerjasamanya sehingga saya dapat melaksanakan setiap kegiatan perkuliahan dengan lancar.

Penulis menyadari dalam Laporan Skripsi ini tentunya ada kekurangan, maka diharapkan kritik dan saran sehingga dapat menjadi lebih sempurna. Semoga Laporan Skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan para pembaca sekalian terutama mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, untuk dijadikan sebagai tambahan wawasan.

Malang, Mei 2016

Penulis



## RINGKASAN

**RIFQI FAUZAN SYAFI'I.** Pengaruh Gelembung Nano (*Nanobubble*) Nitrogen pada Sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW) terhadap Kesegaran Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*) (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Hardoko, MS** dan **Dr. Nurul Taufiqu Rochman, M.Eng. Ph.D**).

---

Ikan tuna (*Thunnus* sp.) merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan mampu menembus pasar internasional. Potensi ikan tuna di perairan Indonesia masih cukup besar yang ditunjukkan dengan kenaikan volume produksi ikan tuna pada setiap tahun. Penyimpanan tuna segar dalam perkembangannya masih memiliki banyak permasalahan seiring semakin ketatnya pengawasan terhadap keamanan pangan, kesegaran ikan dan khususnya kandungan histamin. Untuk mengatasi permasalahan tersebut perlu adanya upaya penanganan guna meningkatkan kualitas ikan tuna agar dapat terjaga. Seiring perkembangan teknologi, maka penerapan teknologi gelembung nano nitrogen dapat diaplikasikan pada penyimpanan ikan dengan tujuan dapat menjaga kesegaran ikan sesuai dengan ketentuan Badan Standar Nasional (BSN) Indonesia.

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh gelembung nano nitrogen terhadap kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Sedangkan tujuan khusus dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan pengaruh pemberian gelembung nano nitrogen untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) dan untuk menentukan lama penyimpanan dengan pemberian gelembung nano nitrogen yang efektif untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*).

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Perlakuan yang digunakan pada penelitian terbagi menjadi 2 faktor perlakuan, faktor perlakuan tersebut yaitu perlakuan media penyimpanan (A) dan lama penyimpanan (B). Perlakuan media penyimpanan yang digunakan yaitu media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen (A1) dan media penyimpanan tanpa gelembung nano nitrogen (A2). Sedangkan perlakuan lama penyimpanan yang digunakan yaitu penyimpanan selama 0 hari (B1), 3 hari (B2) dan 6 hari (B3). Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Pengolahan data dilakukan dengan metode Rancang Acak Kelompok (RAK) faktorial dan uji lanjut Tukey. Parameter yang diamati kadar histamin, nilai log TPC, kadar TVB dan nilai skor organoleptik.

Hasil yang didapat pada penelitian ini adalah pada perlakuan penyimpanan dengan ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 0 hari didapat kadar histamin sebesar  $10,55 \pm 0,16$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,04 \pm 0,04$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $12,63 \pm 1,37$  mgN/100g dan rata-rata skor organoleptik  $7,4 \pm 0,40$ . Pada penyimpanan 3 hari didapat kadar histamin sebesar  $7,60 \pm 0,49$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,00 \pm 0,04$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $12,88 \pm 1,75$  mgN/100g dan rata-rata skor organoleptik  $7,5 \pm 0,00$ . Pada penyimpanan 6 hari didapat kadar histamin sebesar  $12,40 \pm 0,09$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,05 \pm 0,05$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $20,23 \pm 0,71$  mgN/100g dan rata-rata skor organoleptik  $6,5 \pm 0,5$ . Sedangkan pada penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 0 hari didapat kadar histamin sebesar  $10,55 \pm 0,16$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,04 \pm 0,04$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $12,63 \pm 1,37$  mgN/100g dan rata-

rata skor organoleptik  $7,4 \pm 0,40$ . Pada penyimpanan 3 hari hari didapat kadar histamin sebesar  $10,95 \pm 0,45$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,05 \pm 0,02$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $18,99 \pm 1,17$  mgN/100g dan rata-rata skor organoleptik  $6,8 \pm 0,03$ . Pada penyimpanan 6 hari hari didapat kadar histamin sebesar  $20,69 \pm 0,25$  mg/kg, nilai log TPC sebesar  $4,10 \pm 0,03$  CFU/g, kadar TVB sebesar  $23,44 \pm 3,23$  mgN/100g dan rata-rata skor organoleptik  $5,7 \pm 1,3$ . Dari hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan gelembung nano nitrogen pada penyimpanan ikan tuna mempertahankan kesegaran ikan lebih baik dibandingkan tanpa penggunaan gelembung nano nitrogen. Penggunaan gelembung nano nitrogen mempertahankan kadar histamin dan kadar TVB tetap rendah dibandingkan tanpa penggunaan gelembung nano nitrogen, namun menunjukkan nilai yang sama terhadap jumlah log TPC dan skor organoleptik perlakuan efektif penggunaan gelembung nano nitrogen pada penyimpanan untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna yaitu penyimpanan selama 3 hari. Pada perlakuan ini hasil yang didapat adalah kadar histamin  $7,60 \pm 0,49$  mg/kg, nilai log TPC  $4,00 \pm 0,04$  CFU/g, kadar TVB  $12,88 \pm 1,75$  mgN/100g dan rata-rata nilai skor organoleptik sebesar  $7,5 \pm 0,0$ .



## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Gelembung Nano (*Nanobubble*) Nitrogen pada Sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW) terhadap Kesegaran Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*)”. Dalam penyusunannya, penulis banyak mengambil literatur-literatur yang bersumber dari *text book*, jurnal, artikel yang dapat mendukung pembuatan proposal tersebut.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan. Semoga Laporan Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya, dan bagi pembaca pada umumnya terutama para mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Malang, Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iii
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	iv
<b>RINGKASAN</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesis.....	6
1.5 Kegunaan Penelitian.....	6
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	7
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Deskripsi Ikan Tuna Sirip Kuning ( <i>Thunnus albacores</i> ).....	8
2.2 Kandungan Kimia Ikan Tuna.....	9
2.3 Kemunduran Mutu Ikan.....	10
2.4 Pendinginan.....	13
2.5 Sistem <i>Refrigerated Sea Water</i> (RSW).....	15
2.6 Persyaratan Mutu Ikan Tuna.....	16
2.7 Histamin.....	19
2.1 Gelembung Nano.....	21
2.8.1 Gelembung Nano sebagai Aplikasi dari Nanoteknologi.....	21
2.8.2 Penerapan Gelembung Nano.....	23
2.1 Nitrogen.....	25
<b>3. METODOLOGI</b>	
3.1 Bahan dan Alat.....	27
3.2 Metode Penelitian.....	28
3.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan.....	28
3.2.2 Prosedur Penelitian.....	30
3.2.2.1 Persiapan Tempat Penyimpanan Ikan Tuna (Freezer).....	30
3.2.2.2 Penyimpanan Ikan Tuna (Freezer).....	31
3.2.3 Parameter Uji.....	32
3.3 Prosedur Analisi Parameter.....	33
3.3.1 Analisis Kadar Histamin berdasarkan SNI No. 1354.10	

(BSN, 2009).....	33
3.3.1.1 Tahap Ekstraksi.....	33
3.3.1.2 Tahap <i>Clean Up</i> atau Tahap Elusi.....	33
3.3.1.3 Tahap Pembentukan.....	34
3.3.2 Analisis TPC berdasarkan SNI No. 01-2332.3 (BSN, 2006).....	34
3.3.3 Analisis Kadar TVB berdasarkan SNI No. 2354.8 (BSN, 2009).....	35
3.3.4 Analisis Organoleptik Skoring berdasarkan SNI No. 01.2346 (BSN, 2006).....	36
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Pengamatan Suhu dan Kadar Oksigen Terlarut.....	38
4.2 Analisis Kadar Histamin.....	39
4.2 Analisis Jumlah Log TPC.....	44
4.3 Analisis Kadar TVB.....	47
4.4 Analisis Kadar Organoleptik.....	52
4.4.1 Kenampakan.....	52
4.4.1.1 Mata.....	52
4.4.1.1 Insang.....	53
4.4.1.1 Lendir Permukaan Badan.....	54
4.4.1.1 Daging.....	55
4.4.2 Bau.....	56
4.4.1 Tekstur.....	57
<b>5. PENUTUP DAN KESIMPULAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	62
<b>LAMPIRAN</b> .....	68

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia ikan tuna (g/100g) .....	10
2. Persyaratan mutu dan keamanan pangan tuna loin segar .....	18
3. Beberapa hasil penelitian kandungan histamin pada ikan.....	20
4. Tingkat toksisitas histamin .....	21
5. Spesifikasi alat pembuat gelembung nano.....	23
6. Rancangan percobaan penelitian .....	29
7. Data pengamatan suhu dan kadar oksigen terlarut media penyimpanan .....	38
8. Lembar penilaian uji organoleptik ikan tuna segar .....	68

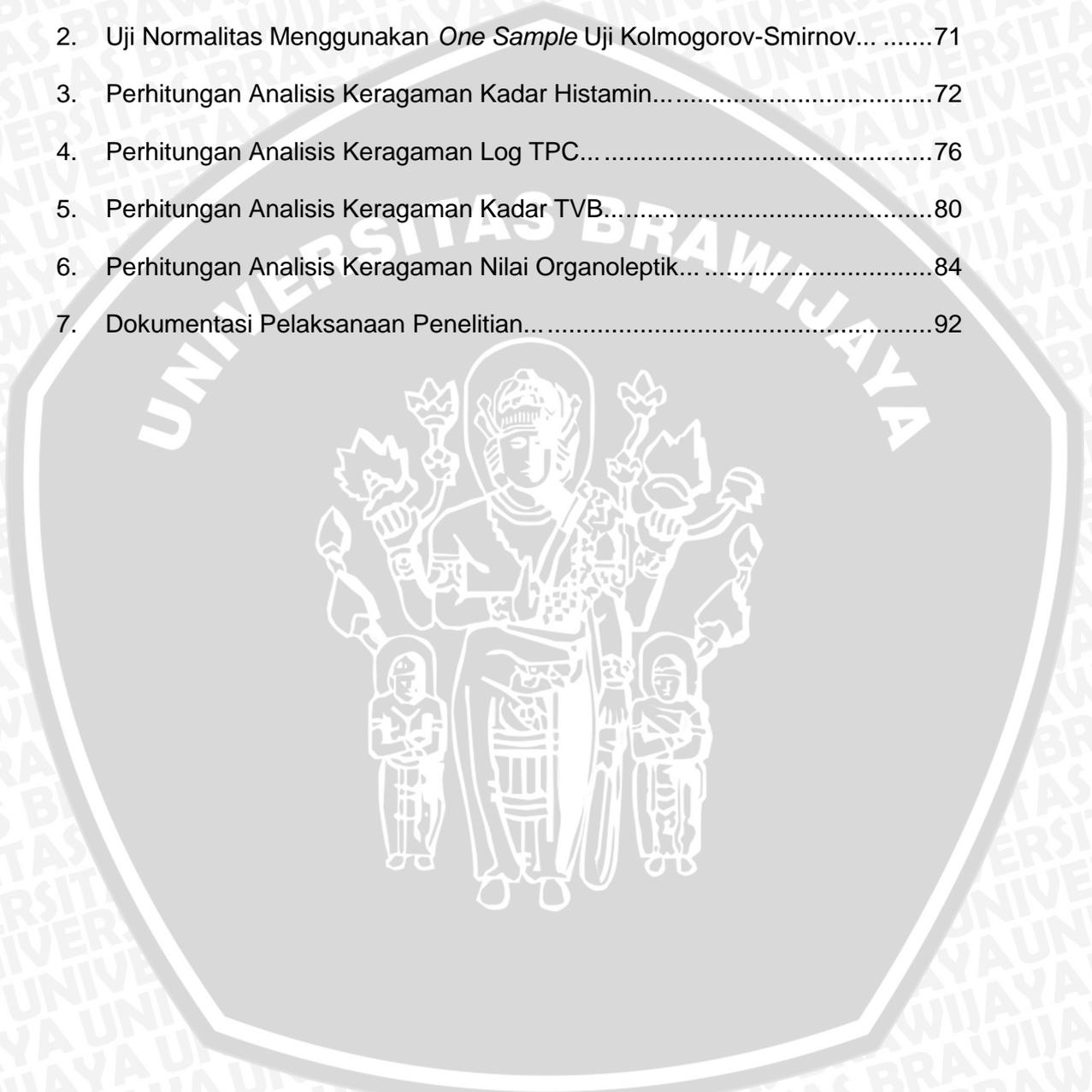


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan tuna sirip kuning ( <i>Thunnus albacares</i> ).....	8
2. Salah satu alat memproduksi gelembung nano .....	22
3. Skema generator gelembung mikro .....	24
4. Diagram skematik yang menunjukkan makro, mikro dan nanobubbles... ..	25
5. Diagram alir persiapan air laut dingin gelembung nano.....	31
6. Diagram alir penelitian .....	32
7. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap kadar histamin ikan tuna .....	40
8. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap jumlah log TPC ikan tuna.....	45
9. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap kadar TVB ikan tuna .....	48
10. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik mata ikan tuna .....	53
11. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik insang ikan tuna.....	54
12. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik lendir permukaan badan ikan tuna .....	55
13. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik daging ikan tuna.....	56
15. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik bau ikan tuna .....	57
15. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik tekstur ikan tuna.....	58

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lembar Penilaian Uji Organoleptik Ikan Tuna Segar (SNI 01-2346-2006)..	68
2. Uji Normalitas Menggunakan <i>One Sample</i> Uji Kolmogorov-Smirnov.....	71
3. Perhitungan Analisis Keragaman Kadar Histamin.....	72
4. Perhitungan Analisis Keragaman Log TPC.....	76
5. Perhitungan Analisis Keragaman Kadar TVB.....	80
6. Perhitungan Analisis Keragaman Nilai Organoleptik.....	84
7. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	92



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan tuna (*Thunnus* sp.) merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan mampu menembus pasar internasional. Potensi ikan tuna di perairan Indonesia masih cukup besar. Hal ini ditunjukkan dengan kenaikan volume produksi ikan tuna pada setiap tahun mengalami kenaikan. Pada tahun 2009 volume produksi ikan tuna mencapai 163.965 ton. Pada tahun 2010 mencapai 166.208 ton, tahun 2011 mencapai 241.364, tahun 2012 mencapai 275.778, tahun 2013 mencapai 305.435, dan pada tahun 2014 mencapai 310.560. Maka dari data volume tersebut rata-rata kenaikan volume produksi mencapai 3,56% setiap tahunnya (KKP, 2014).

Ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) merupakan hasil tangkapan utama yang banyak tertangkap dengan pengoperasian rawai tuna di Samudera Hindia. Potensi penangkapan total ikan tuna sirip kuning di perairan Indonesia sebesar 124.187 ton diantaranya 82.911 ton (66,8%) terdapat di perairan Samudera Pasifik dan selebihnya di Samudera Hindia (Miazwir, 2012). Ikan tuna ini merupakan salah satu jenis ikan tuna yang diimpor keluar negeri. Tuna segar memiliki harga yang relatif memuaskan, namun masih adanya kendala dalam mempertahankan kesegarannya menjadi faktor menurunnya kualitas ikan. Selain itu, persyaratan mutu untuk ekspor ikan tuna segar sangat ketat sehingga hanya ikan tuna dengan mutu terbaik yang bisa diterima jika diekspor segar (Latifah, 2001). Hal ini mengakibatkan terjadinya penolakan ikan tuna segar oleh negara importir.

Pada proses penangkapan, setelah ikan mati akan mengalami perubahan fisik, kimia dan mikrobiologis. Hal ini perlu mendapat perhatian dalam penanganan pasca panen maupun dalam penyimpanan. Seperti halnya produk

biologis lainnya, ikan tuna sirip kuning merupakan komoditi yang mudah sekali mengalami kerusakan terutama dalam keadaan segar sehingga mutunya menjadi rendah (Latifah, 2001). Menurut Suwetja (1990), banyak faktor yang menentukan kecepatan penurunan kesegaran ikan, diantaranya suhu penyimpanan. Pembusukan ikan disebabkan oleh degradasi daging ikan karena aktivitas enzim, perubahan biokimia dan pertumbuhan mikroorganisme (Ariyani *et al.*, 2007). Salah satu parameter penting dalam daging ikan tuna sebagai ikan komoditas ekspor adalah kandungan histamin.

Pembentukan histamin pada produk ikan terkait langsung dengan konsentrasi histidin dalam jaringan, jumlah dan jenis bakteri yang mengandung enzim *histamine decarboxylase* (hdc) atau bakteri pembentuk histamin, lokasi daging dan kondisi lingkungan (Barceloux, 2008). Ikan scromboid seperti tuna mengandung histidin tinggi pada jaringan daging yang dapat mencapai 8% - 9% dari total asam amino bebas (Alasalvar *et al.*, 2011). Pembentukan histamin terjadi dari proses dekarboksilasi histidin oleh mikroorganisme, baik yang terdapat dalam tubuh ikan maupun mikroorganisme dari lingkungan. Bakteri penghasil hdc berperan penting dalam memproduksi histamin. Menurut Trilaksana *et al.* (2009), jumlah bakteri pembentuk histamin sebesar 65,84% dari angka lempeng total (ALT) pada proses pembongkaran tuna di transit. Namun, produksi histamin tidak selalu berkorelasi dengan jumlah bakteri penghasil histamin, karena respon dan kemampuan bakteri dalam menghasilkan histamin bervariasi (Allen, 2004). Menurut Silva *et al.* (1998), menyatakan bahwa kadar histamin cenderung mengalami peningkatan pada kondisi penyimpanan dan penanganan yang tidak baik terkait dengan suhu. Kondisi penyimpanan, terutama suhu, dan lama penyimpanan sangat terkait dengan terbentuknya histamin.

Penanganan menjadi faktor kunci untuk menghambat terbentuknya histamin pada tuna. Histamin umumnya dibentuk pada temperatur tinggi yaitu diatas 20 °C. Pendinginan dan pembekuan yang cepat segera setelah ikan mati merupakan tindakan yang sangat penting dalam upaya mencegah pembentukan histamin (Taylor dan Alasalvar, 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan histamin akan terhambat pada suhu 0°C atau lebih rendah (Price *et al.*, 1991). Pada prinsipnya teknik ini digunakan untuk mendinginkan ikan secepat mungkin ke suhu serendah mungkin, tetapi tidak sampai menjadi beku (Irianto dan Soesilo, 2007). Hasil penelitian mengenai suhu optimum dan batas suhu terendah untuk pembentukan histamin sangat bervariasi. Suhu optimum pembentukan histamin adalah 25°C oleh *Morganella morganii* dan *Proteus vulgaris*, tetapi pada suhu 15°C histamin masih diproduksi dalam level yang signifikan pada daging (Kim *et al.* 2001). Menurut Guizani *et al.* (2005), produksi histamin pada suhu 0°C sebesar 0,61 mg/kg pada hari ke-17, pada suhu 8 °C hari ke-8 produksi histamin meningkat cepat sebanyak 15 mg/100g. Pembentukan histamin terjadi dengan sangat cepat pada penyimpanan suhu 20 °C, yakni naik hingga 10 kali lipat setelah penyimpanan selama 24 jam sebesar 11,14 mg/100 g tuna. Lama penyimpanan mempengaruhi peningkatan kadar histamin ikan tuna. Penyimpanan merupakan faktor yang penting dalam penanganan ikan paska panen karena dampak dari kurang optimalnya penyimpanan yaitu terbentuknya histamin yang berlebih, terdapatnya mikroba pembusuk yang dapat menimbulkan penyakit (Widiastuti dan Sumpeno, 2010). Maka penyimpanan dan penanganannya harus dilakukan dengan tepat untuk menjaga kualitas ikan.

Penyimpanan merupakan faktor yang penting dalam penanganan ikan paska panen karena menjadi faktor penentu dalam mempertahankan kesegaran dan kualitasnya. Nelayan tradisional di Indonesia pada umumnya masih

menggunakan es balok yang terhitung baik secara teknis maupun ekonomis, namun berat esnya akan menjadikan berat kapal bertambah. Selain itu beberapa lama pelayaran akan terbatas karena harus menyesuaikan dengan waktu mencairnya es untuk menghindari tidak berjalannya sistem pendingin tersebut (Kiryanto dan Supriyanto, 2011). Adapun sistem penyimpanan yang lebih efektif untuk penyimpanan ikan selama penangkapan di laut yaitu menggunakan *Refrigerated Sea Water* (RSW). Sistem ini memanfaatkan air laut sebagai media pendingin. Sistem ini dinilai efektif ketika ikan yang akan disimpan berukuran besar, seperti ikan tuna (Sovanda *et al.*, 2013). Sistem penyimpanan ini telah banyak digunakan kapal-kapal yang berukuran sedang dan besar seperti kapal penampung. Sistem RSW ini lebih efektif jika digunakan untuk penyimpanan ikan pada pelayaran lebih lama dan lebih banyak keuntungannya.

Teknologi gelembung nano merupakan salah satu aplikasi dari pengembangan nanoteknologi dengan memperkecil diameter partikel gelembung air lebih kecil sebesar 200 nm atau kurang (Chiba and Takahashi.,2007). Mekanisme alat pembuat gelembung nano dan mikro pada alat pembuat gelembung mikro/nano adalah air laut dan gas masuk pada sebuah pompa yang mempunyai tekanan. Pada pompa terjadi perputaran disepanjang dinding pompa yang menyebabkan gaya sentrifugal yang disebabkan oleh sirkulasi antara cairan dan gas dari pipa *inlet* yang keluar melalui pusaran gas yang terbentuk sepanjang sumbu pusat (Marui, 2013). Melalui proses tersebut itu, maka ukuran gas yang masuk melalui pipa *inlet* dipecah menggunakan tekanan tertentu menghasilkan gelembung lebih kecil berukuran ukuran mikro/nano melalui pipa outlet. Gas yang dapat diaplikasikan menggunakan teknologi ini pada penyimpanan ikan adalah nitrogen.

Nitrogen merupakan salah satu gas yang terdapat di udara sebanyak 78%. Gas nitrogen mempunyai fungsi sebagai bahan untuk pendingin pada penyimpanan bahan-bahan mudah busuk. Selain itu, gas nitrogen dapat menurunkan kadar oksigen. Dengan sifat ini gas nitrogen dapat diaplikasikan pada penyimpanan ikan untuk menurunkan kadar oksigen terlarut dalam air sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri pembusuk selama proses penyimpanan ikan. Namun belum ada penelitian lanjut bahwa dengan rendahnya kadar oksigen terlarut dapat mempertahankan kesegaran ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh rendahnya kadar oksigen terlarut terhadap kesegaran ikan selama penyimpanan ikan tuna. Pada penyimpanan ikan segar *Food and Drug Administration* (FDA, 2011), menetapkan batas kritis suhu untuk pembentukan histamin pada pusat ikan, yakni 4,4°C. Indonesia menetapkan batas kritis suhu pusat ikan tuna juga sebesar 4,4°C (BSN, 2006). Sedangkan Uni Eropa menentukan suhu pusat ikan tuna, yakni suhu lebur es atau sekitar 0-2°C (EU, 2004). Maka suhu penyimpanan *chilling* (0-2°C) dapat dijadikan suhu acuan untuk penyimpanan untuk menjaga kesegaran ikan. Selain suhu penyimpanan, pemberian gelembung nano nitrogen membuat kandungan oksigen terlarut menurun sehingga kondisi penyimpanan menjadi anaerob. Dengan kondisi ini maka aktivitas bakteri aerob dapat dihambat.

Nitrogen mempunyai sifat memberikan pengaruh suhu dingin terhadap lingkungan sekitar sehingga gelembung nano nitrogen dapat masuk kedalam daging ikan sehingga dapat menghambat aktivitas bakteri pembusuk yang ada pada daging ikan. Bakteri pembusuk mengubah penampilan dan sifat fisik beberapa komponen ikan (Ariyani *et al.*, 2007). Maka dengan kondisi suhu penyimpanan dingin dan air laut penyimpanan dengan kadar oksigen terlarut rendah, maka aktivitas penyimpanan ikan dapat menghambat aktivitas bakteri pembusuk dan bakteri pembentuk histamin sehingga kualitas ikan dapat terjaga.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pada penelitian ini didapatkan rumusan masalah yang meliputi:

1. Apakah pemberian gelembung nano nitrogen dapat mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*)?
2. Berapakah lama penyimpanan dengan pemberian gelembung nano nitrogen yang efektif untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini dibagi menjadi dua yaitu tujuan umum dan tujuan khusus, adapun tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh gelembung nano nitrogen terhadap kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Tujuan khusus dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mendapatkan pengaruh pemberian gelembung nano nitrogen untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*).
2. Untuk menentukan lama penyimpanan dengan pemberian gelembung nano nitrogen yang efektif untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*).

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah :

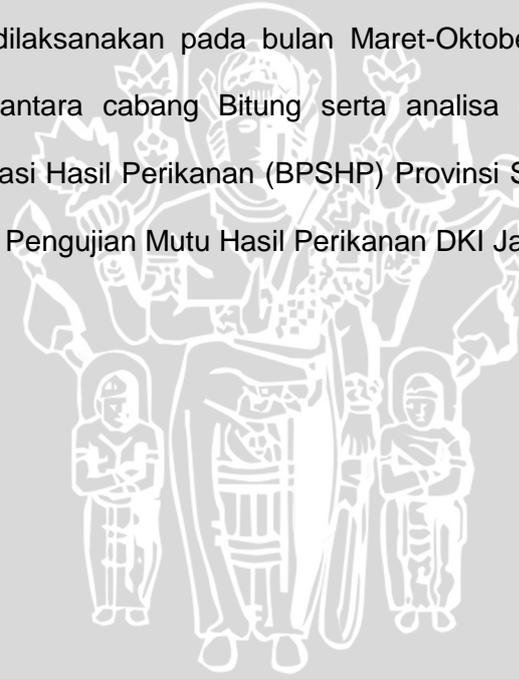
1. Diduga pemberian gelembung nano nitrogen mampu mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*).
2. Diduga salah satu lama penyimpanan perlakuan dengan pemberian gelembung nano nitrogen mampu mempertahankan kesegaran ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*).

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penyimpanan air laut dingin dengan gelembung nano nitrogen pada sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW) terhadap kesegaran ikan tuna (*Thunnus albacares*) sebagai peningkatan komoditi perikanan dan pemanfaatan nanoteknologi dalam bidang pangan. Selain itu, penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi baru bagi mahasiswa, dosen, masyarakat dan industri dalam memanfaatkan gelembung nano nitrogen pada penyimpanan ikan tuna.

### 1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Oktober 2015 bertempat diPT. Perikanan Nusantara cabang Bitung serta analisa dilakukan di Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan (BPSHP) Provinsi Sulawesi Utara dan Balai Pengolahan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan DKI Jakarta, Pluit Jakarta Utara.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*)

Ikan tuna yang hidup di perairan laut Indonesia dikelompokkan menjadi dua jenis, yakni ikan tuna besar dan ikan tuna kecil. Ikan tuna besar meliputi madidihang (*yellowfin tuna*), albakora (*albacore*), tuna mata besar (*big eye tuna*), dan tuna sirip biru selatan (*Southern bluefin tuna*). Sementara itu, ikan tuna kecil terdiri dari cakalang (*skipjack tuna*), tongkol (*Eutynnus affinis*), tongkol kecil (*Auxis thazard*) dan ikan abu-abu (*Thunnus tonggol*) (Ditjen, 2012).

Menurut Wibowo *et al.* (2007), klasifikasi ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Subordo	: Scombridei
Famili	: Scombridae
Genus	: <i>Thunnus</i>
Species	: <i>Thunnus albacares</i> ( <i>yellowfin tuna</i> , madidihang)



Gambar 1. Ikan tuna sirip kuning (*Thunnusalbacares*) (Wibowo, 2007)

Tuna ekor kuning (*yellowfin tuna*) dikenal juga sebagai Madidihang yang secara luas tersebar di perairan Indonesia. Ujung kedua sirip punggung *yellowfin* berwarna kuning cerah. Badan bagian punggung berwarna biru gelap metalik, dan ke bagian perut berwarna kuning hingga keperakan. Pada bagian perut terdapat sekitar 20 buah garis-garis patah vertikal yang khas. Pada ikan yang berukuran besar, 120 cm atau lebih besar, memiliki sirip dorsal kedua dan sirip anus yang panjang hingga dapat mencapai 20% dari panjang tubuhnya (Putro *et al.*, 2007). Ikan tuna termasuk hewan berdarah panas dan sepanjang hidupnya tuna berusaha mempertahankan suhu dalam tubuhnya tetap konstan pada suhu sekitar 28°C. Namun demikian, suhu tubuh rata-rata tuna berubah bergantung suhu air di sekitarnya, tergantung pada aktifitas dan cara makannya. Dalam kondisi tertentu, misalnya dalam keadaan *stress* atau ketika meronta saat ditangkap, suhu tubuh tuna meningkat dalam waktu singkat mencapai 35°C hingga 40°C (Wibowo *et al.*, 2007).

## 2.2 Kandungan Kimia Ikan Tuna

Pada dasarnya komposisi dari daging ikan terdiri dari kadar air sebanyak 66,0 – 84,0%, protein sebanyak 15,0 – 24,0%, lemak sebanyak 0,1 – 22,0%, dan mineral kadarnya 0,8 – 2,0%. Kadar dari masing-masing komponen tersebut berbeda-beda setiap jenis ikan tergantung dari sifat-sifat alamiah dan kebiasaan hidupnya (Murachman, 2006). Salah satunya adalah ikan tuna yang kebiasaan hidupnya sebagai ikan permukaan dan mempunyai pergerakan yang cepat. Disamping itu mempunyai kandungan kimia yang baik sebagai bahan pangan.

Ikan tuna mempunyai kandungan kimia yang baik namun kandungan kimia daging tuna bervariasi menurut jenis, umur, kelamin dan musim. Perubahan yang nyata terjadi pada kandungan lemak sebelum dan sesudah memijah. Kandungan lemak juga berbeda nyata pada bagian tubuh yang satu

dengan yang lainnya. Ketebalan lapisan lemak dibawah kulit berubah menurut umur dan/atau musim. Lemak yang paling banyak terdapat di dinding perut yang berfungsi sebagai gudang lemak (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Ikan tuna merupakan jenis ikan dengan kandungan protein tinggi, berkisar antara 22,6 - 26,2 g/100 g daging dan lemak yang rendah berkisar antara 0,2 - 2,7 g/100 g daging, mineral kalsium, fosfor, besi dan sodium, vitamin A (retinol), dan vitamin B (thiamin, riboflavin, dan niasin). Bagian ikan tuna yang dapat dimakan berkisar antara 50% - 60%. Kadar protein daging putih tuna lebih tinggi daripada daging merahnya. Berbanding terbalik dengan kadar lemaknya yang daging putih tuna lebih rendah dari daging merahnya (Ditjen, 2012). Menurut Wahyuni (2011), ikan tuna tergolong ke dalam ikan dengan protein yang sangat tinggi dan lemak rendah. Komposisi kimia tuna ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Komposisi kimia ikan tuna (g/100g)**

Komponen	Komposisi Kimia (g/100g)		
	Madidihang	Tuna ekor biru	Cakalang
Air	74,0±0,28	70,1±1,98	69,9±0,71
Protein	23,2±1,34	25,5±4,03	26,0±0,28
Lemak	2,4±1,41	2,1±0,92	2,0±0,07
Karbohidrat	1,0±1,27	0,9±1,13	0,7±0,42
Abu	1,3±0,4	1,4±0,21	1,4±0,07

Sumber : Wahyuni (2011)

### 2.3 Kemunduran mutu ikan

Setelah ikan tertangkap dan diangkat dari dalam air maka akan segera mati karena kekurangan oksigen untuk pernafasan. Selanjutnya tubuh ikan akan mengalami serangkaian perubahan yang mengarah kepada kemunduran mutu atau penurunan kesegaran sampai akhirnya rusak atau busuk dan tidak dapat dimanfaatkan untuk dikonsumsi manusia (Sumardi, 2006). Meskipun sudah mati, di dalam tubuh ikan masih berlangsung suatu proses kehidupan yaitu proses enzimatik yang sebenarnya sudah ada sejak ikan masih hidup. Begitu ikan mati,

sistem kendali proses enzimatik hilang sehingga proses enzimatik berjalan tanpa kendali yang mengakibatkan perubahan biokimiawi luar biasa (Wibowo *et al.*, 2007).

Kemunduran mutu ikan dapat disebabkan oleh kerusakan secara biokimiawi maupun secara mikrobiologi (Hadiwiyoto, 1993). Menurut Murniyati dan Sunarman (2000), proses pembusukan ikan berjalan melalui 4 tahap yaitu *hyperaemia*, *rigor mortis*, *autolysis* dan *bacterial decomposition*.

a. *Hyperaemia*

Lendir ikan terlepas dari kelenjar-kelenjarnya di dalam kulit, membentuk lapisan bening yang tebal di sekeliling tubuh ikan. Pelepasan lendir dari kelenjar lendir ini merupakan reaksi alami ikan sedang sekarat terhadap keadaan yang tidak menyenangkan. Jumlah lendir yang terlepas dan menyelimuti tubuh dapat sangat banyak hingga mencapai 1-2,5 persen dari berat tubuhnya. Lendir itu terdiri atas *glukoproteinmucin* yang merupakan substrat yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri.

b. *Rigor mortis*

Fase ini ditandai dengan tubuh ikan yang kejang setelah ikan mati. Ikan dikatakan masih sangat segar dalam fase ini. Tahapan ini ditandai oleh tubuh ikan yang mengembang setelah mati akibat proses-proses biokimia yang kompleks di dalam jaringan tubuh, yang menghasilkan kontraksi dan ketegangan.

Waktu ikan mati, senyawa organik di dalam jaringan dipecah oleh enzim yang masih tetap aktif sejak ikan masih hidup. Pada mulanya, glikogen terhidrolisa menghasilkan akumulasi asam laktat dan penurunan pH. Hal ini selanjutnya merangsang enzim untuk menghidrolisa fosfat organik. Fosfat yang mula-mula terurai ialah *creatine phosphate* dan asam fosfat. Proses ini diikuti oleh adenosin trifosfat (ATP) menjadi adenosin difosfat (ADP) dan asam fosfat.

Kekejangan dimulai dari bagian ekor dan dengan perlahan menjalar ke arah kepala. Keadaan kejang berlangsung bervariasi mulai dari beberapa jam sampai tiga hari. Selain lamanya, selang waktu antara kematian dan dimulainya rigor mortis juga bervariasi. Kedua hal itu dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis ikan, kondisi ikan, tingkat kelelahan, ukuran ikan, cara penanganan ikan dan temperatur penyimpanan.

c. *Autolysis*

Pada tahap ini ikan menjadi lemas kembali setelah mengalami rigor. Autolysis adalah proses penguraian protein dan lemak oleh enzim (protease dan lipase) yang terdapat di dalam daging ikan setelah mati. Karena daging ikan terutama terdiri atas protein, maka proses ini disebut *proteolysis*. Autolysis dimulai bersamaan dengan menurunnya pH. Mula-mula protein dipecah menjadi molekul-molekul makro, yang menyebabkan peningkatan dehidrasi protein dan molekul-molekulnya pecah menjadi proteose, lalu pecah lagi menjadi pepton, polipeptida dan akhirnya menjadi asam amino. Di samping asam amino, autolysis menghasilkan pula sejumlah kecil basa purin dan basa pirimidin yang dibebaskan pada waktu asam nukleat memecah. Bersamaan dengan itu, hidrolisis lemak menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol.

d. *Bacterial decomposition*

Pada tahapan ini bakteri telah terdapat dalam jumlah yang sangat banyak akibat perkembangbiakan yang terjadi pada fase-fase sebelumnya. Aksi bakteri ini dimulai pada saat yang hampir bersamaan dengan autolysis, dan kemudian berjalan sejajar. Bakteri merusak ikan lebih parah dari pada kerusakan yang diakibatkan oleh enzim. Daging ikan yang baru saja mati boleh dikatakan steril, tetapi sejumlah besar bakteri bersarang dipermukaan tubuh, insang dan dalam perutnya. Bakteri itu secara bertahap memasuki daging ikan, sehingga penguraian oleh bakteri mulai berlangsung intensif setelah rigor mortis berlalu,

yaitu setelah daging mengendur dan celah-celah serat-seratnya terisi cairan. Meskipun bakteri menguraikan protein, tetapi substrat yang terbaik baginya ialah hasil-hasil hidrolisis yang terbentuk selama autolysis dan senyawa-senyawa nitrogen non-protein (trimetilamin oksida, histidin, urea) yang terdapat di dalam daging. Daging ikan laut mengandung lebih banyak senyawa non-protein daripada ikan air tawar, dengan demikian ikan laut lebih cepat diuraikan oleh bakteri. Pembusukan ikan-ikan yang banyak mengandung histidin (tuna, saridin, mackarel) berlangsung lebih cepat.

Menurut Adawyah (2011), ikan yang baik adalah ikan yang masih segar. Ikan segar adalah ikan yang masih mempunyai sifat sama seperti ikan hidup, baik rupa, bau, rasa, maupun teksturnya. Ikan segar dapat diperoleh jika penanganan dan sanitasi yang baik, semakin lama ikan dibiarkan setelah ditangkap tanpa penanganan yang baik akan menurunkan kesegarannya. Maka setelah ikan ditangkap harus segera ditangani secara cepat dan benar untuk menjaga mutu ikan tetap baik dan tetap segar.

#### **2.4 Pendinginan**

Pendinginan ikan adalah salah satu cara proses pengawetan yang menggunakan suhu rendah untuk menghambat aktivitas enzim dan mikroba. Tujuannya adalah untuk memperpanjang daya awet (mutu) ikan yang dimaksud. Beberapa faktor dapat mempengaruhi kondisi pendinginan sehingga berdampak pada ikan yang didinginkan adalah tingkat kesegaran ikan awal, perbandingan ikan dan bahan pendingin, suhu awal ikan, jenis pendingin (coolant), pengaruh suhu udara luar dan jenis insulasi serta besar kecil ukuran ikan (Sumardi, 2006).

Kelebihan cara pengawetan ikan dengan pendinginan adalah bahwa dapat kita mendapatkan kemungkinan terbesar untuk dapat mengawet sifat-sifat asli ikan. Ikan dengan sifat-sifat asli (tekstur, rasa, bau, dsb) terutama jenis-jenis

ikan tuna, tenggiri, bawal, kakap, lemuru, kembung dsb. dapat dipasarkan dengan harga yang cukup tinggi. Selain itu pendinginan adalah cara yang murah, cepat dan efektif, serta fleksibel untuk digunakan diatas kapal di daerah penangkapan (Adawyah,2011).

Menurut Ilyas (1983), kemampuan suhu *chilling* untuk mempertahankan ikan tetap segar sangat ditentukan oleh mutu awal ikan, metode pendinginan dan penerapan suhu rendah tersebut hingga ikan siap digunakan (sistem rantai dingin). Metode pendinginan yang biasa digunakan dalam industri perikanan antara lain :

1. Metode pendinginan dengan es atau pengesan (*icing*)

Metode pendinginan dengan es atau pengesan adalah metode yang paling luas dan umum diterapkan dalam industri perikanan. Keunggulan penggunaan es dalam industri perikanan antara lain, harganya yang murah, mudah diperoleh dan mudah dalam penerapannya.

2. Metode pendinginan dengan udara dingin (*chilling in cold air*)

Metode pendinginan dengan udara dingin (*chilling in cold air*) adalah menciptakan udara dingin melalui suatu lilitan atau gulungan pipa evaporator dari suatu unit refrigerasi mekanik pada kamar dingin atau refrigerator. Untuk mempercepat pendinginan produk, refrigerator dilengkapi dengan kipas untuk menghasilkan gerakan udara dingin konveksi.

3. Metode pendinginan dengan air yang didinginkan (*chilling in water*)

Metode pendinginan dengan air yang didinginkan (*chilling in water*) adalah memanfaatkan air yang didinginkan sebagai medium pendinginan guna menurunkan suhu ikan basah serendah mungkin.

## 2.5 Sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW)

Sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW) adalah sebuah teknologi penanganan hasil tangkap yang dirancang khusus, dipasang sebagai tempat menampung ikan / palka kapal dilengkapi dengan seperangkat mesin sehingga ikan hasil tangkapan khususnya jenis ikan tertentu yang mempunyai nilai ekonomis dapat dipertahankan kualitasnya (Budiarto *et al.*, 2013). Sistem ini merupakan sebuah *watercooler chiller* yang dirancang dan diaplikasikan untuk mendinginkan air laut pada sebuah *shell and tube cooler* yang kemudian air laut dingin tersebut digunakan sebagai media untuk mendinginkan ikan segar hasil tangkapan di kapal (Setyoko *et al.*, 2007). Penggunaan alat ini hanya bisa dijumpai pada kapal ikan dengan ukuran besar, sedangkan untuk kapal nelayan tradisional belum menggunakannya.

Penggunaan sistem RSW sangat efektif dalam penyimpanan di kapal. Dengan sistem ini tidak perlu membawa es batu dalam jumlah besar dari darat, melainkan memanfaatkan pendinginan yang langsung dipompa dari air laut. Sistem tersebut memang sangat efektif bila digunakan pada ikan yang berdimensi berukuran besar seperti tuna, akantetapi pada ikan yang berukuran lebih kecil akan timbul permasalahan baru yaitu rasa ikan bertambah asin. Hal tersebut sangat merugikan konsumen yang sudah perusahaan membeli ikan tetapi rasa yang diharapkan kurang maksimal dikarenakan rasa yang sangat asin (Kurniawan *et al.*, 2014). Menurut Budiarto *et al.*(2013), sistem RSW mempunyai beberapa keuntungan diantaranya :

1. Dapat memperpanjang tingkat kesegaran ikan / waktu penyimpanan lebih lama
2. Menghindari adanya kerusakan fisik karena ikan tidak mendapat tekanan dari ikan yang ada di atasnya atau dari es sebagaimana menggunakan es

3. Penurunan suhu akan berlangsung cepat karena seluruh ikan kontak dengan pendingin / proses pendinginan cepat
4. Prosedur penanganan ikan lebih mudah dan cepat, baik dalam pengisian atau pembongkaran sehingga akan menghemat waktu dan tenaga kerja
5. Mutu ikan yang dihasilkan lebih bagus fisiknya

## 2.6 Persyaratan Mutu Ikan Tuna

Untuk mendapatkan tingkat kesegaran ikan yang diharapkan maka perlu dilakukan pengamatan terhadap kualitas dari ikan tuna. Pengamatan untuk menentukan kesegaran dari ikan tuna tergantung terhadap mata, insang, sirip ventral, konsistensi dan penampakan luar. Kesegaran ikan tuna dikategorikan menjadi empat mutu yaitu mutu sangat baik, mutu baik, mutu sedang dan ditolak (Gigirey *et al.*, 1999). Menurut Fadly (2009), secara organoleptik bahan baku tuna loin beku dikelompokkan menurut standar atau kualitas daging yang terbagi menjadi empat tingkat mutu yaitu *grade* A, B, C, dan D. Pengujian tingkatan mutu ikan dilakukan dengan menusukkan *coring tube* yang merupakan suatu alat berbentuk batang, tajam, dan terbuat dari besi. *Coring tube* dimasukkan pada kedua sisi ikan (bagian belakang sirip atau ekor kanan dan kiri) sehingga didapatkan potongan daging ikan tuna yang selanjutnya dilakukan pengujian organoleptik. Ciri-ciri untuk masing-masing *grade* adalah sebagai berikut:

### 1. *Grade* A

Ciri-ciri ikan tuna *grade* A adalah sebagai berikut:

- Warna daging untuk tuna ekor kuning adalah merah seperti darah segar dan untuk tuna mata besar dagingnya berwarna merah tua seperti bunga mawar
- Mata bersih, terang, dan menonjol
- Kulit normal, warna bersih dan cerah

- Tekstur daging untuk tuna ekor kuning keras, kenyal, dan elastis, dan untuk tuna mata besar dagingnya lebut, kenyal dan elastis

- Kondisi ikan (penampakannya) bagus dan utuh

## 2. *Grade B*

Ciri-ciri ikan tuna grade B adalah sebagai berikut:

- Warna daging merah, otot daging agak elastis, jaringan daging tidak pecah
- Mata bersih, terang dan menonjol
- Kulit normal, bersih, dan sedikit berlendir
- Tidak ada kerusakan fisik

## 3. *Grade C*

Ciri-ciri ikan tuna grade C adalah sebagai berikut:

- Warna daging kurang merah
- Kulit normal dan berlendir
- Otot daging kurang elastis
- Kondisi ikan tidak utuh atau cacat, umumnya pada bagian punggung atau dada

## 4. *Grade D*

Ciri-ciri ikan tuna *grade D* adalah sebagai berikut:

- Warna daging agak kurang merah dan cenderung berwarna coklat dan pudar
- Otot daging kurang elastis dan lemak sedikit
- Teksturnya lunak dan jaringan daging pecah
- Terjadi kerusakan fisik pada tubuh ikan yang sudah sobek, mata ikan yang hilang, dan kulit terkelupas

Berdasarkan SNI-7530-1:2009, persyaratan mutu tuna loin segar harus sesuai dengan syarat mutu dan keamanan pangan, seperti yang terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Persyaratan mutu dan keamanan pangan tuna loin segar**

JENIS UJI	SATUAN	PERSYARATAN
a. <b>Organoleptik</b>	Angka 1-9	Minimal 7
b. <b>Cemaran mikroba*</b> :		
- ALT/TPC	Koloni/g	Maksimal $5 \times 10^5$
- <i>Eschericia coli</i>	APM/g	<3
- Salmonella	Per 25 g	negatif
- <i>Vibrio cholera</i>	Per 25 g	negatif
c. <b>Cemaran kimia*</b>		
- Kadmium (Cd)	mg/kg	Maksimal 0,1
- Merkuri (Hg)	mg/kg	Maksimal 1,0
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maksimal 0,4
d. <b>Uji kimia</b>		
- Histamin	mg/kg	Maksimal 50
e. Fisika :		
Suhu pusat	°C	Maksimal 4,4
f. <b>Parasit</b>	Ekor	Maksimal 0

Catatan\* bila diperlukan  
**Sumber:BSN (2009)**

Penanganan ikan tuna yang tepat sangatlah penting untuk mendapatkan mutu ikan tetap tinggi. Untuk mendapatkan hasil tersebut maka diperlukan kehati-hatian dan ketepatan dalam setiap perlakuannya mulai dari penangkapan, pengangkat dan peletakkan di atas kapal, cara mematikan, penyiangan, cara membersihkan, pendinginan dan penyimpanan karena setiap perlakuannya akan mempengaruhi mutu tuna yang dihasilkan. Wibowo *et al.* (2007), memaparkan garis besar pedoman yang harus diikuti untuk mendapatkan hasil tangkapan bermutu adalah sebagai berikut :

1. Penanganan tuna dilakukan sebaik dan seketat mungkin dengan mengikuti cara penanganan yang baik dan benar (*good handling practices/GHP*).

2. Perlakuan terhadap tuna harus hati-hati, lembut, tidak kasar dan tidak terkena panas matahari langsung. Hindari perlakuan yang menyebabkan terjadinya kerusakan fisik.
3. Tuna segera dimatikan dengan cara yang benar dan tuna dalam keadaan setenang dan sesantai mungkin.
4. Lakukan pembuangan darah, hilangkan insang dan isi perut dengan baik dan benar.
5. Bagian dalam dan luar tubuh tuna dicuci bersih.
6. Segera setelah mati, suhu dalam tubuh tuna segera diturunkan dengan *precooling* hingga mendekati 0°C.
7. Segera simpan tuna yang sudah dingin dari *precooling* di dalam palka atau peti berinsulasi dengan menggunakan metoda *chilled seawater* (CSW) atau *refrigated seawater* (RSW), es curai atau pembekuan.
8. Pertahankan suhu tetap rendah tanpa penanganan lagi hingga tiba di pelabuhan.
9. Lakukan pembongkaran ketika suhu udara rendah (malam hari) atau hindari terpaan panas matahari langsung dan perlakukan tuna dengan hati-hati, lembut dan tidak kasar.
10. Pertahankan suhu tuna tetap rendah, segera simpan kembali tuna di dalam peti berinsulasi dengan jumlah es yang cukup hingga sampai di tempat pengolahan atau eksportir.

## 2.7 Histamin

Histamin adalah senyawa amin biogenik yang terbentuk dari asam amino histidin akibat reaksi dengan enzim dekarboksilase (Dahyar, 2009). Pengujian mutu kimia meliputi uji histamin dan kandungan merkuri. Histamin dipilih sebagai salah satu parameter uji karena kandungan histamin dalam kadar tertentu dapat

menyebabkan keracunan pada pencernaan manusia. Selain itu histamin juga dapat digunakan sebagai salah parameter untuk mengamati penurunan mutu ikan karena histamin merupakan produk dari penguraian asam amino bebas (histidin) pada ikan setelah ikan mati. Asam amino histidin adalah monomer pembentuk protein yang dibutuhkan oleh tubuh. Histamin adalah salah satu penyebab paling signifikan dari *foodborne illness* yang terkait dengan pangan laut, walaupun terkadang terjadi kesalahan diagnosis sebagai infeksi *Salmonella* sp. Histamin terbentuk pada ikan rusak/busuk oleh bakteri tertentu yang memiliki enzim histidin dekarboksilase (Wahyuni, 2011).

*Food and Drug Administration* (FDA) menetapkan bahwa untuk ikan tuna dan ikan sejenisnya, 5 mg histamin/100 gram daging ikan merupakan jumlah yang harus diwaspadai dan sebagai indikator terjadinya dekomposisi, sedangkan 50 mg histamin/100 gram daging ikan merupakan jumlah yang membahayakan atau dapat menimbulkan keracunan (FDA, 2001). Beberapa hasil penelitian kandungan histamin pada ikan dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Beberapa hasil penelitian kandungan histamin pada ikan**

Peneliti	Lokasi Penelitian	Jenis Ikan	Histamin (mg/kg)
Guizani <i>et al.</i> , 2005	Muscat, Sultanate of Oman	Yellowfin tuna ( <i>Tunnusalbacares</i> )	27,8
Patage <i>et al.</i> , 2005	Cochin, India	Little tuna ( <i>Euthynnusaffinis</i> ) Indian Mackerel ( <i>Rastrellinger kanagurta</i> )	16,0 17,5
Du <i>et al.</i> , 2002	Gaineville, Florida	Yellowfin tuna ( <i>Tunnusalbacares</i> ) Skipjack Tuna	7,2 8,9
Staruszkiewicz <i>et al.</i> , 2004	Hawai, US	( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) Yellowfin Tuna ( <i>Thunnus albacares</i> )	9,7
Ko, 2006	Banyuwangi, Indonesia	Albacore Tuna ( <i>Tunnus alalunga</i> )	8,9-21,9

Sumber : Dari berbagai sumber

Tingkat kandungan histamin biasanya dipergunakan untuk menandai mutu ikan. Ketika ikan dari famili *Scombridae* (seperti tuna, mackarel dsb.) mengalami kerusakan, beberapa bakteri mengakibatkan kerusakan yang melibatkan saling bereaksi dengan asam amino, ketersediaan histidin dalam ikan dan menghasilkan toksin yang menyebabkan keracunan makanan (Putro, 2007). Tingkat toksisitas histamin dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4. Tingkat toksisitas histamin**

<b>Kadar histamin per 100 g</b>	<b>Tingkat bahaya</b>
Kurang dari 5 mg	Aman dikonsumsi
5-20 mg	Kemungkinan toksik
20-100 mg	Berpeluang toksik
Lebih dari 100 mg	Toksik

**Sumber: Dahyar (2009)**

## **2.8 Gelembung Nano**

### **2.8.1 Gelembung Nanosebagai Aplikasi dari Nanoteknologi**

Gelembung nano adalah gelembung yang memiliki diameter gelembung 200 nm atau kurang. Gelembung ini mempunyai sifat dapat terlarut dalam larutan, contohnya adalah gelembung nano oksigen. Gelembung nano oksigen dapat terlarut dalam larutan air. Selain itu, dengan gelembung yang berukuran nano maka oksigen terlarut dalam waktu yang lebih lama yaitu selama satu bulan atau lebih. Bahkan ketika disimpan dalam kapal biasa, oksigen tidak akan lenyap dari larutan untuk satu bulan atau lebih. (Chiba and Takahashi., 2007). Stabilitas gelembung nano didasarkan pada gaya *Van Der Waals* yaitu keseimbangan tarik dan listrik lapisan tolakan ganda. Gaya tarik *Van Der Waals* timbul dari fluktuasi berkorelasi elektrodinamika dengan kisaran satu nanometer sementara lapisan ganda listrik muncul dari muatan permukaan koloid dengan kisaran 1-100 nanometer (Pandey, 2012).

Gelembung nano merupakan salah satu aplikasi dari pengembangan nanoteknologi. Nanoteknologi adalah desain, karakterisasi, produksi dan aplikasi dari material, alat, atau sistem dengan mengontrol bentuk dan ukuran pada skala nano (ukuran dengan kisaran 1 – 100 nm). Diartikan pula sebagai manipulasi sengaja dan terkontrol, penerapan yang tepat, pengukuran, model, dan penghasilan dari bahan pada skala nano agar menciptakan materi, alat, dan sistem yang pada dasarnya mempunyai ukuran dan fungsi baru (Ramsden, 2009). Nanoteknologi dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan ukuran dalam bentuk nano atau seribu mikrometer sehingga luas materinya pun dapat bertambah dibandingkan dengan ukuran sebelumnya.

Bahan yang diproduksi dengan nanoteknologi mempunyai fungsi yang lebih baik dan jumlah yang lebih banyak. Keuntungan nanoteknologi yaitu melakukan penyusunan atom demi atom atau molekul demi molekul tersebut secara teratur atau terkontrol, supaya tidak terjadi pemborosan material yang tidak perlu, untuk membentuk struktur material yang sesuai dengan keinginan dan kebutuhan sehingga dapat efisien dan optimal dalam pemanfaatan material serta sifat-sifat dan *performance* material dapat ditingkatkan semaksimal mungkin (Akwalia, 2011). Adanya penerapan nanoteknologi terhadap kandungan yang ada pada bahan baku maka fungsi yang terkandung dapat lebih optimal. Tampilan salah satu alat memproduksi gelembung nano dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Salah satu alat memproduksi gelembung nano (NanoX, 2015)**

Adapun spesifikasi dari alat pembuat gelembung nanodapat dilihat pada

Tabel 5.

**Tabel 5. Spesifikasi alat pembuat gelembung nano**

Model alat	NF-WP0.4
Unit pencampuran gas-air	FHMT1 (resin sarang lebah)
Pompa air laut	Titanium untuk pompa bawah air
Tegangan	Fase tunggal AC100V
Kuat arus	6,5 A
Nilai output	0,4 kW
berat	15 kg
laju aliran	70L/min
Dimensi (mm)	P336 x L198 x T239

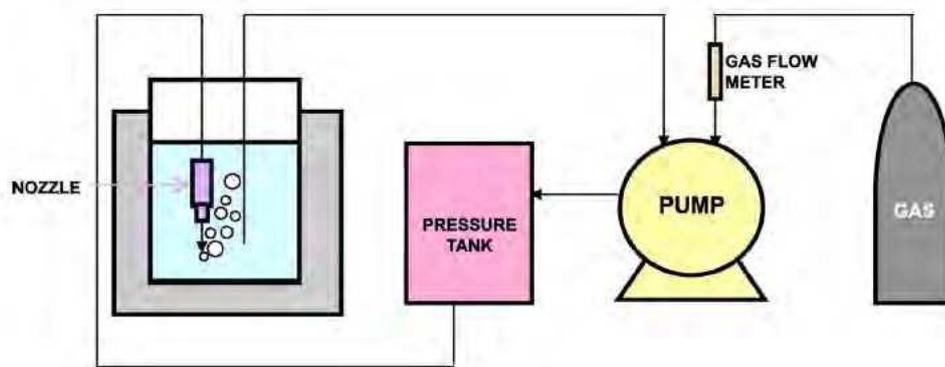
**Sumber: NanoX (2015)**

### 2.8.2 Penerapan Gelembung Nano

Pembuatan partikel nano dapat dilakukan dengan menggunakan dua pendekatan yang lazim disebut sebagai pendekatan *top-down* (misalnya penggilingan mekanik/*mechanical milling* menggunakan *ball-mill*), dan *bottom-up* (misalnya dengan proses *sol-gel*) (Waluyo *et al.*, 2013). Pendekatan *Top-down* (pengecilan ukuran) adalah memecah partikel berukuran besar menjadi partikel berukuran nanometer. Sedangkan pendekatan *Bottom-up* (penyusunan atom-atom) adalah memulai dari atom-atom atau molekul-molekul membentuk partikel berukuran nano yang dikehendaki.

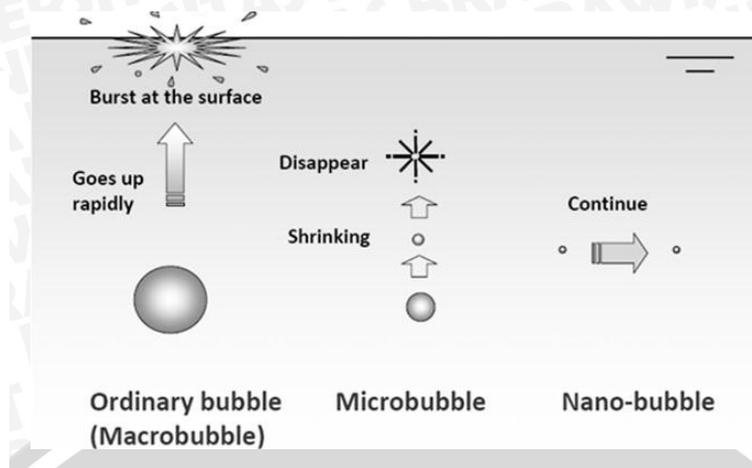
Menurut Ohgaki *et al.* (2010), gelembung nano dalam air telah menjadi fokus perhatian dalam berbagai bidang penelitian karena efek yang menakutkan mereka. Efek aktif untuk makhluk seperti tiram, simbiosis air tawar dan air asin ikan dalam akuarium yang sama; pelestarian saraf vagus tikus, reaksi cepat gas hidrat. Pada saat ini penerapan studi tentang gelembung nano telah jelas asal mulanya. Sistem gascair ini kadang-kadang disebut sebagai larutan gelembung nano.

Menurut Pandey *et al.* (2012), Ada berbagai metode menghasilkan mikro dan nano gelembung, namun biaya produksinya sangat tinggi sehingga penggunaannya terbatas pada aplikasi biomedis. Ada berbagai pembangkit mikro dan nano gelembung yang menghasilkan gelembung mikro dan nano langsung. Skema mikro gelembung pembangkit salah satu metode yang paling efisien untuk menghasilkan mikro hemat energi dan air nano gelembung osilasi fluida ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3. Skema generator gelembung mikro(Pandey, 2012)**

Menurut Agarwal *et al.* (2011), ada beberapa tahapan untuk membuat nanobubble yaitu melalui tahapan gelembung makro, *mikrobubble* (MB dan *nanobubble* (NB). Terdapat perbedaan antara gelembung makro, *mikrobubble* (MB) dan *nanobubble* (NB). *Mikrobubble* (MB) cenderung secara bertahap menurun dalam ukuran dan kemudian runtuh karena stagnasi panjang dan pelarutan gas interior ke dalam air sekitarnya, sedangkan *nanobubble* (NB) tetap seperti selama berbulan-bulan dan tidak meledak sekaligus. Diagram skematik yang menunjukkan gelembung ukurangelembung makro, mikro dan nano dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4. Diagram skematik yang menunjukkan gelembung makro, mikro dan nano (Agarwal *et al.*, 2011)**

## 2.9 Nitrogen

Nitrogen merupakan molekul diatomic yang memiliki ikatan rangkap tiga. Energi ikatannya cukup tinggi sehingga sangat stabil dan sulit bereaksi. Karena itu kebanyakan entalpi dan energi bebas pembentukan senyawa nitrogen bertanda positif. Molekul nitrogen ini sangat ringan dan nonpolar sehingga gaya van der Waals antar molekul sangat kecil. Gas ini masuk dan keluar tubuh manusia sewaktu bernafas tanpa berubah. Gas ini tidak berbau dan tidak berasa (Syukri, 1999). Dalam industri nitrogen dikenal sebagai gas penginert dan juga pendingin. Nitrogen merupakan salah satu gas yang banyak terdapat di alam. Nitrogen pada awalnya didapat sebagai nitrogen ( $N_2$ ) yang terdapat pada atmosfer bumi meliputi 78% (Cotton and Wilkinson., 1930). Gas ini bersifat asfiksian artinya menekan kadar oksigen. Dengan sifat tersebut, maka gas nitrogen dapat menurunkan kadar oksigen pada air dengan cara mengikat kandungan hidrogen pada air.

Salah satu penggunaan penting dari  $N_2(g)$  ialah menyediakan (selubung) lembam untuk atom, elektronik dan proses industri kimia.  $N_2$  cair digunakan sebagai bahan pembeku dalam industri pengolahan makanan. Penggunaan penting lainnya ialah dalam produksi berbagai senyawa nitrogen, terutama

melalui pembuatan  $\text{NH}_3$  (Petrucci, 1992). Nitrogen kurang reaktif pada suhu kamar, disebabkan kekuatan pada  $\text{N} = \text{N}$ . Namun pada suhu yang dinaikan secara perlahan, nitrogen bereaksi dengan sejumlah unsure dengan oksigen menghasilkan nitrit oksida.



Reaksi ini digunakan dalam industry (proses Harber), dan sebagai sumber komersial senyawa nitrogen (Sunarya, 2012).

Adapun analisa kandungannitrogen terlarut organik (DON) dilakukan di berbagai laboratorium seluruh dunia menggunakan salah satu dari tiga kelompok metode: oksidasi UV (UV), oksidasi persulfat (PO), atau pembakaran suhu tinggi (HTC). Pada dasarnya semua metode rutin mengukur jumlah nitrogen terlarut (TDN) dan menghitung DON dengan mengurangi nitrogen anorganik terlarut (DIN) (Sharp *et al.*, 2002).



### 3. METODOLOGI

#### 3.1 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan tuna *yellowfin* (*Thunnus albacare*) segar dengan ukuran 1 kg dari TPI di Bitung. Bahan-bahan yang digunakan untuk penyimpanan ikan tuna adalah air laut, nitrogen ( $N_2$ ), kertas label. Bahan-bahan yang digunakan untuk membawa ikan tuna dari PT ke laboratorium adalah wadah plastik, plastik polypropylene, selotip putih. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengujian kadar histamin adalah metanol, *glass wool*, larutan HCl 1 N, NaOH 1 N, HCl 0,1 N, larutan *ortoaptaladikarbosildehyde* (OPT) 0,1%,  $H_3PO_4$  3,57 N, resin penukar ion (*dowex 1-x800-100-mesh*), dan histamin dihidroklorida. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis *Total Plate Count* (TPC) adalah larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*, dan media *Plate Count Agar* (PCA) merk *Oxoid*. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengujian *total volatile base* (TVB) adalah larutan TCA 7% dan 5%, larutan  $K_2CO_3$ , asam borat 2%, vaseline, indikator *conway*, dan larutan HCL 0,02 N.

Alat-alat yang digunakan untuk penyimpanan ikan tuna adalah *freezer* merk *Chest freezer Sharp FRV-300 volume 300 liter 1100cmx48cm* dengan rentang suhu  $0-2^{\circ}C$ , alat pembuat gelembung nano merk *nanox model NF-WP0,4*, tabung nitrogen, regulator gas, selang gas, kabel konektor, trafo (110 Volt). Alat-alat yang digunakan untuk membawa ikan tuna dari PT ke laboratorium adalah wadah plastik. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian kadar histamin adalah kolom resin dan instrumen spektrofotometer Cary Eclipse FLO811M007 detektor floresens dan waterbath. Alat-alat yang digunakan untuk analisis *Total Plate Count* (TPC) adalah timbangan analitik, homogenizer, cawan petri, inkubator, alat penghitung koloni (*coloni*

counter) serta pH meter. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian *total volatile base* (TVB) adalah blender, buret, corong gelas, erlenmeyer, gelas piala, kertas saring Whattman, labu takar, seperangkat alat destilasi uap, dan timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 gram.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Eksperimen adalah observasi dibawah kondisi buatan dimana kondisi tersebut dibuat oleh peneliti tujuannya adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental (Nazir, 1988). Eksperimen ini dilakukan dengan perlakuan media penyimpanan yang berbeda dan lama penyimpanan yang berbeda.

#### 3.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Perlakuan yang digunakan pada penelitian terbagi menjadi 2 faktor perlakuan, faktor perlakuan tersebut yaitu perlakuan media penyimpanan (A) dan lama penyimpanan (B). Perlakuan media penyimpanan yang digunakan yaitu media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen (A1) dan media penyimpanan tanpa gelembung nano nitrogen (A2). Sedangkan perlakuan lama penyimpanan yang digunakan yaitu penyimpanan selama 0 hari (B1), 3 hari (B2) dan 6 hari (B3). Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

Pengolahan data dilakukan dengan metode Rancang Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan metode analisa yang digunakan adalah sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

- Yijk = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan media penyimpanan dan perlakuan lama penyimpanan pada ulangan ke-k
- $\mu$  = Nilai tengah umum
- $\alpha_i$  = Pengaruh perlakuan media penyimpanan
- $\beta_j$  = Pengaruh perlakuan lama penyimpanan
- $(\alpha\beta)_{ij}$  = Pengaruh perlakuan media penyimpanan dan perlakuan lama penyimpanan
- $\epsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat percobaan dari kombinasi perlakuan media penyimpanan dan perlakuan lama penyimpanan pada ulangan ke-k
- i = Perlakuan media penyimpanan (media penyimpanan air laut ditambah nano nitrogen dan media penyimpanan tanpa nano nitrogen)
- j = Perlakuan lama penyimpanan (lama penyimpanan 0, 3 dan 6 hari)
- k = Ulangan

Sebelum dilakukan analisis ragam dilakukan terlebih dahulu uji kenormalan data dengan uji distribusi normal. Uji kenormalan yang digunakan adalah uji Kolmogorov-Smirnov menggunakan *software* SPSS 16. Setelah itu data terdistribusi secara normal maka dilakukan analisis keragaman (sidik ragam). Perlakuan yang memberikan pengaruh berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) atau sangat nyata ( $P < 0,01$ ), maka dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) yang bertujuan untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter yang dianalisis. Rancangan acak kelompok (RAK) faktorial percobaan dapat dilihat melalui desain percobaan pada Tabel 5.

**Tabel 6. Rancangan percobaan penelitian**

Perlakuan		Lama penyimpanan (B)		
		B1	B2	B3
Media penyimpanan (A)	A1	(A1B1)1	(A1B2)1	(A1B3)1
		(A1B1)2	(A1B2)2	(A1B3)2
		(A1B1)3	(A1B2)3	(A1B3)3
	A2	(A2B1)1	(A2B2)1	(A2B3)1
		(A2B1)2	(A2B2)2	(A2B3)2
		(A2B1)3	(A2B2)3	(A2B3)3

Keterangan:

- A1 = media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen
- A2 = media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen



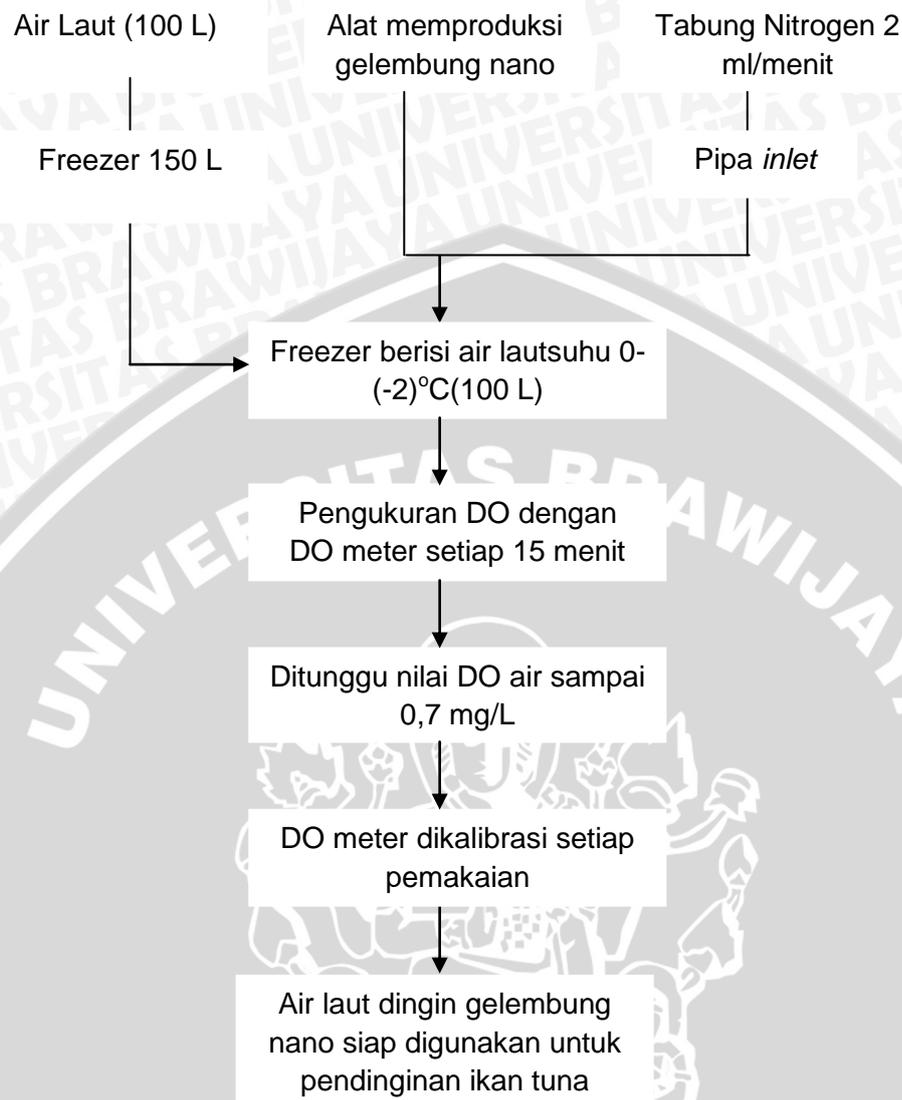
- B1 = penyimpanan 0 hari
- B2 = penyimpanan 3 hari
- B3 = penyimpanan 6 hari

### 3.2.2 Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini terdapat dua prosedur percobaan meliputi proses persiapan media penyimpanan ikan tuna (freezer) dan proses penyimpanan ikan tuna dalam freezer.

#### 3.2.2.1 Persiapan Tempat Penyimpanan Ikan Tuna (Freezer)

Freezer penyimpanan yang digunakan terdiri dari dua dengan perlakuan yang berbeda yaitu media penyimpanan dengan perlakuan media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen. Pada media air laut gelembung nano diproduksi dengan cara memasukkan alat memproduksi gelembung nano ke dalam freezer yang telah diisi dengan air laut  $\pm 150\text{L}$  dengan pengaturan suhu  $\pm 0-(-2)^{\circ}\text{C}$ . Setelah alat tersebut terendam, alat dinyalakan dan gas nitrogen dialirkan ke dalam pipa *inlet* yang dikontrol menggunakan regulator dengan laju alir 2ml/menit. Nilai kelarutan oksigen/*Dissolve Oxygen* (DO) dimonitor dengan alat DO meter yang telah terkalibrasi hingga didapatkan nilai DO kurang dari 0,7mg/L. Setelah DO tercapai, maka alat DO meter dimatikan. Pada media air laut (tanpa gelembung nano) yaitu freezer yang telah diisi dengan air laut  $\pm 150\text{L}$  dengan pengaturan suhu  $-2^{\circ}\text{C}$ . Adapun pembuatan air laut gelembung nano nitrogen dapat dilihat pada Gambar 5.

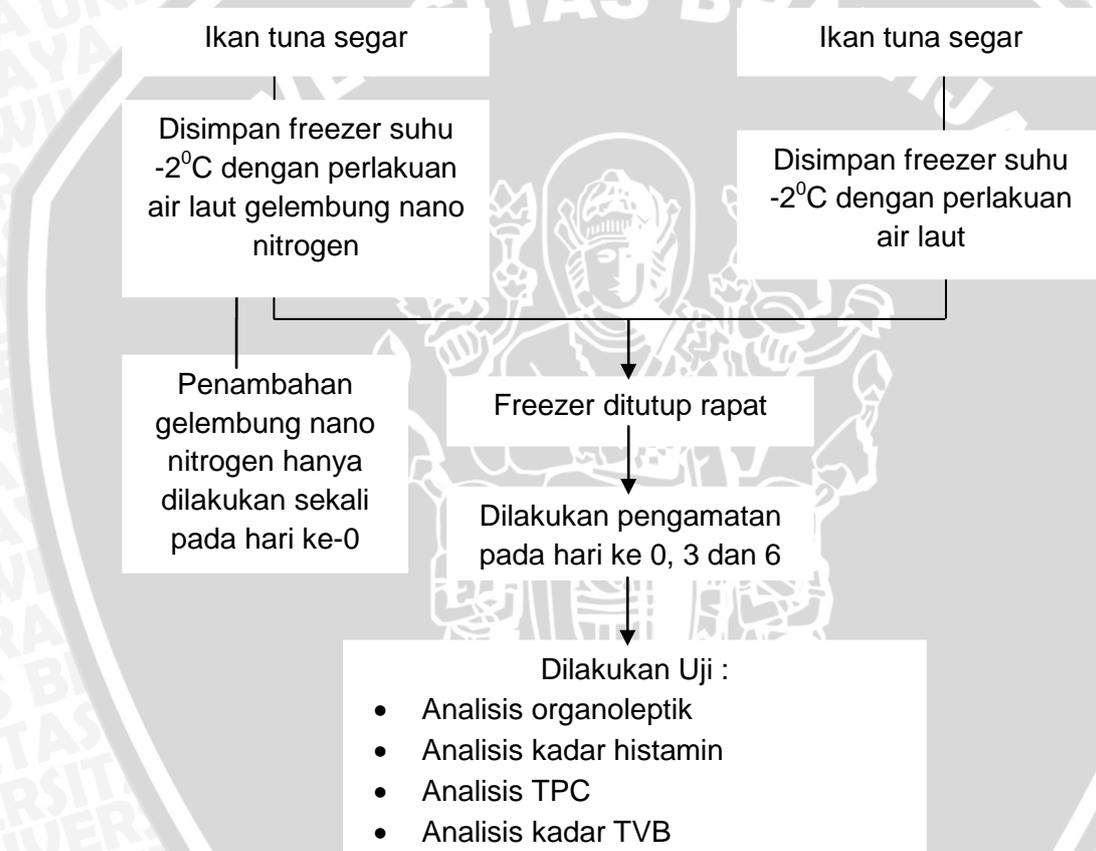


**Gambar 5. Diagram alir persiapan air laut dingin gelembung nano**

### 3.2.2.2 Penyimpanan Ikan Tuna (Freezer)

Setelah ikan tuna disiangi dan dicuci, ikan disimpan dan diberi kode sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan. Penyimpanan dan pengkodean dilakukan sesuai dengan masing-masing perlakuan yang diberikan yaitu penyimpanan ikan ditambah gelembung nano nitrogen (A) dan penyimpanan ikan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen (B).

Ikan tuna disimpan dalam freezer dengan suhu  $-2^{\circ}\text{C}$  untuk menjaga suhu pusat bahan baku  $4,4^{\circ}\text{C}$  agar tetap segarsesuai dengan ketentuan SNI No. 7530.1 (BSN, 2009). Proses penyimpanan ikan tuna dilakukan dengan memperhatikan sanitasi dan higienitas. Pada perlakuan penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen, penambahan gelembung nano nitrogen dilakukan hanya sekali pada hari ke-0 dan pada penyimpanan hari berikutnya tidak ditambahkan gelembung nano nitrogen lagi. Diagram alir penyimpanan ikan tuna dalam freezer dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6. Diagram alir penelitian**

### 3.2.3 Parameter Uji

Parameter uji yang diamati pada penelitian ini adalah: analisa organoleptik, analisa kadar histamin, analisa TPC dan analisa kadar TVB pada lama penyimpanan yang dilakukan yaitu selama 0, 3 dan 6 hari. Serta

penyimpanan pada media penyimpanan media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen dan media penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen.

### 3.3 Prosedur Analisis Parameter

#### 3.3.1 Analisis Kadar Histamin berdasarkan SNI No. 1354.10 (BSN, 2009)

Prinsip penentuan histamin adalah zat histamin dalam contoh dikonversikan ke dalam bentuk -OH, kemudian diisolasi dengan resin penukar ion dan diubah ke bentuk derivatnya dengan *orto ptaaldikarboksilaldehyde* (OPT) dan diukur secara fluorometer. Hasil yang diperoleh dalam ekivalen histamin level. Prosedur kerja analisis histamin terdiri atas tiga tahap yaitu a) Tahap ekstraksi, b) Tahap *clean up* atau elusi, dan c) Tahap pembentukan.

##### 3.3.1.1 Tahap Ekstraksi

Sepuluh gram sampel ditimbang lalu ditambahkan dengan methanol sebanyak 50 ml kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *homogenizer* (blender) kurang lebih 1-2 menit, setelah homogen maka sampel tersebut dipanaskan dalam *water bath* pada suhu 60°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya setelah dingin sampel tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 100ml dan ditambahkan metanol sampai tanda tera lalu dikocok homogen. Setelah itu, larutan sampel disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer*.

##### 3.3.1.2 Tahap *Clean Up* atau Tahap Elusi

Pertama-tama disiapkan kolom kromatografi (panjang 20 cm dan diameter 7 mm) kemudian ke dalam kolom tersebut dimasukkan *glass wool* secukupnya (tingginya 1 cm). Selanjutnya masukkan resin penukar ion (*dowex1-x800-100-mesh*) ke dalam kolom sampai tingginya kurang lebih 8 cm (diusahakan resin tidak sampai kering dengan cara dibilas dengan aquades

karena akan mempengaruhi daya kerja penukar ion tersebut). Selanjutnya sampel dilewatkan ke dalam kolom sebanyak 1 ml dan ditampung hasilnya dalam labu ukur 50 ml yang telah berisi 5 ml HCl 1 N.

### 3.3.1.3 Tahap pembentukan

Ke dalam masing-masing tabung reaksi dipipet sebanyak 10 ml HCl 0,1 N kemudian ditambahkan 5 ml sampel (hasil elusi), 5 ml standar histamin (sebagai larutan standar), dan 5 ml HCl 0,1 N (sebagai blanko). Setelah itu, ditambahkan 3 ml NaOH 1 N lalu dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan lagi *ortoaptalatdikarboksilaldehyde* (OPT) 1 % sebanyak 1 ml lalu dihomogenkan dan didiamkan selama 4 menit. Selanjutnya ditambahkan 3 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3,57 N lalu dihomogenkan. Setelah selesai, sampel siap untuk dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan panjang gelombang emisi 444 nm. Rumus perhitungan kadar histamin (ppm) adalah sebagai berikut :

$$\text{Histamin (ppm)} = \frac{(\text{IU sampel}) \left(\frac{A}{B}\right)}{\text{Bobot sampel}} \times F_p$$

Keterangan :

IU : Absorben sampel

A : Intercept

F<sub>p</sub> : Faktor pengencer

B : Slope

### 3.3.2 Analisis TPC berdasarkan SNI No. 01-2332.3 (BSN, 2006)

Prinsip kerja analisis TPC adalah pertumbuhan mikroorganisme setelah contoh diinkubasi dalam media agar pada suhu 35°C selama 48 jam, maka mikroorganisme tersebut akan tumbuh berkembang biak dengan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung.

Prosedur kerja analisis TPC adalah sampel ditimbang secara aseptik sebanyak 25 gram dan ditambahkan 225 ml larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*, kemudian dihomogenkan selama 2 menit. Homogenat ini merupakan larutan pengenceran  $10^{-1}$ . Dengan menggunakan pipet steril, diambil 1 ml homogenat dan dimasukkan ke dalam botol berisi 9 ml larutan *Butterfield's Phosphate Buffered* sehingga diperoleh contoh dengan pengenceran  $10^{-2}$ . Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali. Kemudian dilakukan hal yang sama untuk pengenceran  $10^{-3}$ , dan seterusnya sesuai kondisi sampel. Selanjutnya untuk metode cawan agar tuang (*pour plate method*), dipipet sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara duplo menggunakan pipet steril. Kedalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel, ditambahkan 12-15 ml media *Plate Count Agar (PCA)* yang sudah didinginkan hingga mencapai suhu  $45^{\circ}\text{C}$ . Setelah agar menjadi padat, cawan petri yang telah berisi agar dan larutan sampel tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik selama 48 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang ada di dalam cawan petri menggunakan alat penghitung koloni. Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 25-250 koloni.

### 3.3.3 Analisis kadar TVB berdasarkan SNI No. 2354.8 (BSN, 2009)

*Total volatile base (TVB)* merupakan jumlah basa nitrogen yang mudah menguap. Analisis ini bertujuan untuk menentukan jumlah kandungan senyawa basa volatil yang terbentuk akibat degradasi protein. Prinsip analisis TVB adalah sampel diekstraksi menggunakan larutan asam perklorat (HClO) 6%. Ekstrak dibasakan dengan penambahan larutan NaOH 20% kemudian dididilasi uap,

destilat ditampung dalam larutan  $H_3BO_3$  3%. Konsentrasi TVB-N dalam destilat ditentukan dengan cara titrasi menggunakan larutan HCl 0,02 N (BSN 2009).

Analisis kadar TVB dilakukan dengan tahapan ekstraksi, destilasi, titrasi, dan perhitungan kadar TVB. Sampel ditimbang sebanyak 10 gram  $\pm$  0,1 gram dengan menggunakan *beaker glass*. Ke dalam sampel ditambahkan 90 ml asam perklorat (HClO) 6%, kemudian dihomogenkan dengan *homogenizer* selama 2 menit dan disaring dengan kertas saring kasar. Ekstrak dapat disimpan paling lama satu minggu pada suhu  $2^{\circ}C - 6^{\circ}C$ .

Ekstrak sebanyak 50 ml dimasukkan ke dalam tabung destilasi dan ditambahkan dengan 3 tetes indikator fenolftalein. Tabung destilasi dipasang pada peralatan destilasi uap dan ditambahkan 10 ml NaOH 20% (pada tahap ini campuran berwarna merah). Penampung erlenmeyer berisi 100 ml H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 3% dan 3-5 tetes indikator tashiro disiapkan (larutan berwarna ungu). Destilasi uap dilakukan selama 10 menit hingga memperoleh destilat 100 ml, sehingga terdapat volume akhir sebanyak 200 ml larutan berwarna hijau. Destilasi larutan blanko sama dengan sampel, tetapi mengganti ekstrak contoh dengan 50 ml PCA 6%.

Titrasi destilat contoh dan blanko dilakukan dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya kembali warna ungu pada cairan yang sama dengan warna blanko yang telah didestilasi.

Kadar TVB-N (mg/100g) =

$$\frac{(\text{vol.titrasi sampel} - \text{vol.titrasi blanko}) \times N \text{ HCl} \times \text{Ar N} \times \text{faktor pengenceran} \times 100}{\text{Bobot sampel}}$$

Keterangan : Ar N : 14,007

Faktor pengenceran : 2

### 3.3.4 Analisis Organoleptik Skoring berdasarkan SNI No. 01.2346 (BSN, 2006)

Metode yang digunakan untuk uji organoleptik adalah dengan *score sheet* berdasarkan SNI 01-2346-2006. Pengujian organoleptik merupakan cara pengujian yang bersifat subjektif menggunakan indra yang ditujukan pada mata, insang, lendir permukaan, badan, daging, bau, dan tekstur. Pada uji organoleptik ini ada beberapa syarat yang harus disepakati oleh panelis, antara lain tertarik dan terampil serta konsisten dalam mengambil keputusan, siap sedia pada saat dibutuhkan dalam pengujian, tidak menolak contoh yang akan di uji, berbadan sehat, bebas dari penyakit THT dan tidak buta warna, serta jumlah panelis minimum untuk satu kali pengujian adalah 6-8 orang (terlatih) atau 15 orang (semi terlatih). Contoh penilaian organoleptik sesuai lampiran 1. Dari data yang diperoleh, kemudian dilakukan analisis kesegaran ikan dengan kriteria sebagai berikut:

Segar : nilai organoleptik berkisar antara 7-9

Agak segar : nilai organoleptik berkisar antara 5-6

Tidak segar : nilai organoleptik berkisar antara 1-3

Analisa statistik yang dilakukan untuk pengujian organoleptik adalah analisa sidik ragam dengan rancangan acak lengkap dan jika hasilnya berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan (Widiastuti dan Sumpeno, 2010).

Lembar penilaian uji organoleptik ikan tuna segar dilihat pada Lampiran 1.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengamatan Suhu dan Kadar Oksigen Terlarut

Pengamatan pada media penyimpanan ikan dimulai dari persiapan media penyimpanan sebelum ikan dimasukkan hingga penyimpanan 6 hari yaitu pada hari ke-3 dan ke-6. Pengamatan meliputi suhu dan kadar oksigen terlarut air laut pada masing-masing perlakuan penyimpanan. Adapun hasil pengukuran suhu dan oksigen terlarut pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7.

**tabel 7. Data pengamatan suhu dan kadar oksigen terlarut media penyimpanan**

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)					
	0		3		6	
	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Suhu (°C)	DO (mg/l)
A1 (Air laut ditambah gelembung nano nitrogen)	-1,4	0,0	-0,9	2,1	-1,5	3,8
A2 (Air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen)	-1,8	4,6	-1,5	5,7	-1,6	7,2

Dari Tabel 7 diketahui bahwa suhu 0-(-2)°C pada masing-masing penyimpanan menghasilkan kadar oksigen terlarut yang terus meningkat seiring lamanya penyimpanan. Pada perlakuan penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen, kadar oksigen terlarut pada air laut penyimpanan meningkat dari 0 mg/l menjadi 2,1 mg/l pada penyimpanan 3 hari dan menjadi 3,8 mg/l pada penyimpanan 6 hari. Sedangkan pada perlakuan penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen, kadar terlarut air laut penyimpanan meningkat dari 4,60 mg/l menjadi 5,7 mg/l pada penyimpanan 3 hari dan menjadi 7,2 mg/l pada penyimpanan 6 hari. Kadar oksigen terlarut air laut diketahui sebesar 5,44 – 6,33 mg/l (Simanjuntak, 2009). Maka dapat diketahui bahwa pada penyimpanan hari ke 3 kadar oksigen sudah mulai meningkat, hal ini berkaitan dengan jumlah kandungan gelembung nano nitrogen pada air sudah dipengaruhi pada

penyimpanan hari ke 3 oleh gas oksigen. Meningkatnya kadar oksigen terlarut pada penyimpanan dimungkinkan karena pengaruh dari udara luar yang masuk ketika freezer dibuka pada setiap pengukuran. Kondisi tersebut mengakibatkan gas oksigen dari udara luar terlarut pada air laut penyimpanan. Menurut Simanjuntak (2009), menyatakan kondisi oksigen terlarut di perairan dipengaruhi antara lain oleh suhu, salinitas, pergerakan massa air, tekanan atmosfer, konsentrasi fitoplankton dan tingkat saturasi oksigen sekelilingnya serta adanya pengadukan massa air oleh angin.

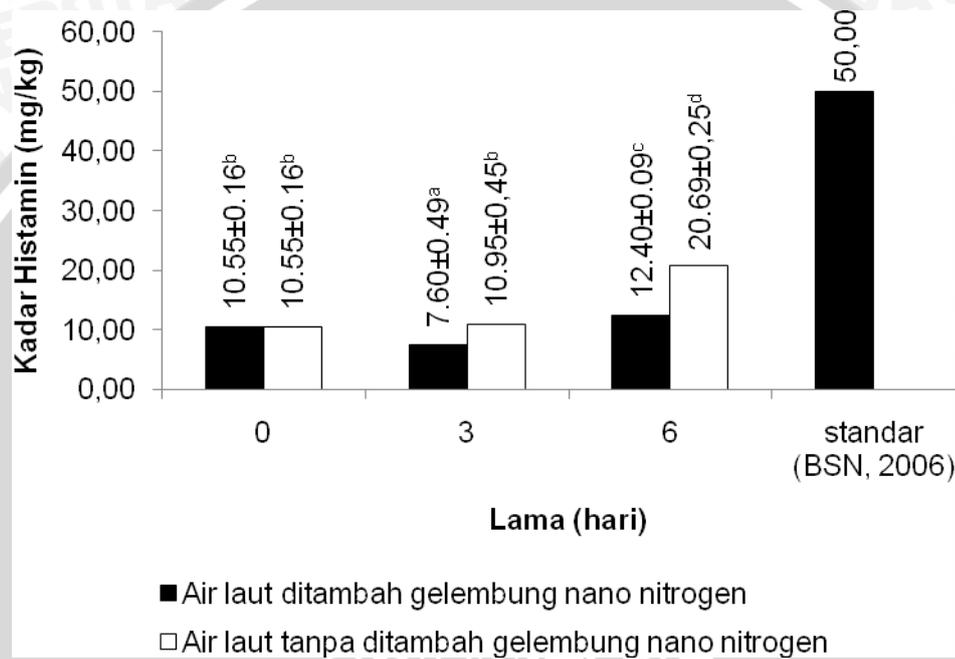
#### 4.2 Analisis Kadar Histamin

Pada data penelitian yang didapat, sebelum dilakukan analisis maka terlebih dahulu dilakukan uji kenormalan data dengan uji distribusi normal. Uji kenormalan yang digunakan adalah uji *Kolmogorov-Smirnov*. Adapun hasil dari uji kenormalan dihasilkan bahwa data-data hasil pengujian terdistribusi secara normal, maka data pengujian dapat dilanjutkan pada analisis keragaman. Hasil uji kenormalan data dapat dilihat pada Lampiran 2.

Kandungan histamin dalam daging ikan tuna merupakan faktor penting pada kualitas daging ikan. Histamin merupakan komponen amin biogenik, yaitu bahan aktif yang diproduksi secara biologis melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas (Keer *et al.* 2002). Histamin merupakan agen penyebab terjadinya keracunan tipe *scombroid* yang berpengaruh pada kesehatan. Keracunan *scombroid* biasanya menyebabkan penyakit dengan berbagai gejala seperti pusing, mual, muntah, diare, kesemutan dan gatal-gatal pada kulit (Chen *et al.*, 2008).

Hasil ANOVA pada Lampiran 3, menunjukkan hasil bahwa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar histamin ikan tuna. Selain itu

interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar histamin ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan media penyimpanan, lama penyimpanan dan peningkatan kadar histamin ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap kadar histamin ikan tuna**

Keterangan : notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan hasil uji lanjut Tukey (Lampiran 3) menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar histamin ikan tuna. Ikan tuna yang disimpan pada media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan 3 hari ( $7,60 \pm 0,49$  mg/kg) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan perlakuan media penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan yang sama ( $10,95 \pm 0,45$  mg/kg). Demikian pula dengan ikan tuna yang disimpan

pada media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan 6 hari ( $12,40 \pm 0,09$  mg/kg) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan perlakuan media penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan yang sama ( $20,69 \pm 0,25$  mg/kg). Terdapatnya perbedaan ini dimungkinkan pengaruh dari interaksi antara media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen yang memiliki kadar oksigen terlarut yang lebih rendah (Tabel 7) dengan suhu penyimpanan *chilling* yaitu  $0-(-2)^{\circ}\text{C}$  sehingga mempengaruhi aktivitas bakteri penghasil histamin. Menurut Effendi (2003), menyatakan bahwa sifat kelarutan gas oksigen lebih rendah daripada sifat kelarutan gas nitrogen. Hampir semua nitrogen digunakan untuk gas pelindung yang bertujuan untuk mencegah bahan bersentuhan langsung oksigen selama pemrosesan atau penyimpanan (Sunarya, 2012). Dengan sifat tersebut, gas nitrogen yang ditambahkan dapat menurunkan kadar oksigen pada air laut menyebabkan oksigen terlarut air turun sehingga mempengaruhi bakteri yang berperan menghasilkan histamin.

Kadar histamin ikan tuna semakin meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan. Hal ini dikarenakan masih adanya aktivitas bakteri penghasil histamin, namun kadar histamin ikan tuna yang disimpan pada perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen yang disimpan selama 0, 3 dan 6 hari tidak melebihi 50 mg/kg, kadar ini sesuai dengan standar yang telah ditetapkan SNI No. 1354.10 (BSN, 2009) dan FDA (FDA, 2011) yaitu 50 mg/kg. Hal ini dikarenakan penggunaan suhu penyimpanan *chilling* yang digunakan ( $0-(-2)^{\circ}\text{C}$ ) pada setiap perlakuan memberikan pengaruh terhadap pembentukan histamin sehingga tidak berlangsung secara optimal. Pertumbuhan bakteri pembentuk histamin berlangsung lebih cepat pada temperatur yang tinggi ( $21,1^{\circ}\text{C}$ ) daripada temperatur rendah ( $7,2^{\circ}\text{C}$ ) (FDA 2001). Guizani *et al* (2005),

menyatakan bahwa kadar histamin fillet ikan tuna yang disimpan pada suhu 0°C dengan kadar awal sebesar 2,78 mg/100 g menjadi 0,61 mg/100 g setelah disimpan selama 17 hari, fillet yang disimpan pada suhu 8°C setelah disimpan selama 8 hari menjadi 15 mg/100 g dan fillet yang disimpan pada suhu 20°C setelah disimpan selama 2 hari menjadi 67,53 mg/100 g.

Grafik pada Gambar 7 menunjukkan bahwa kadar histamin ikan tuna pada perlakuan media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 3 hari memberikan peningkatan kadar histamin paling rendah dan lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen pada lama penyimpanan yang sama. Sedangkan perlakuan media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 6 hari memberikan peningkatan kadar histamin paling tinggi dan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen pada lama penyimpanan yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan sehingga memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar histamin dalam daging ikan tuna. Peningkatan histamin disebabkan oleh beberapa faktor antara lain waktu, suhu, jenis bahan baku, dan banyaknya bakteri penghasil histidin dekarboksilase dalam jaringan daging ikan merupakan faktor yang mempengaruhi dalam pembentukan histamin (Wodi, 2015). Kerr *et al.* (2002), menemukan bahwa kadar histamin ikan tuna yang disimpan pada suhu 0°C dan 4°C dengan penyimpanan selama 0-1 hari tidak mengalami kenaikan dan berada pada kisaran 1-2 ppm.

Dahyar (2009) mengategorikan tingkat toksisitas histamin sesuai dengan kadar histamin per 100 g daging ikan. Kategori aman dikonsumsi adalah kadar histamin pada daging kurang dari 5 mg. Kategori kemungkinan toksik adalah

kadar histamin pada daging kisaran 2 – 20 mg. Kategori berpeluang toksik adalah kadar histamin pada daging kisaran 20 – 100 mg. Sedangkan kategori toksik adalah kadar histamin pada daging ikan lebih dari 100 mg. Berdasarkan kategori tersebut, diketahui kadar histamin perlakuan A1B1, A2B1, A1B2, A1B3 dan A2B2 dikategorikan kemungkinan toksik. Sedangkan perlakuan A2B3 dikategorikan berpeluang toksik. Berdasarkan ketentuan BSN (2009), bahwa kadar histamin yang disarankan pada daging ikan adalah maksimal terkandung 50 mg/kg, maka kadar histamin setiap perlakuan masih dibawah ketentuan tersebut.

Dari hasil analisa data diatas, diketahui bahwa semakin lama penyimpanan ikan tuna memberi pengaruh terhadap peningkatan kadar histamin dalam daging ikan. Hal tersebut terlihat dari rata-rata kadar histamin setiap perlakuan yang mengalami kenaikan pada penyimpanan hari ke-3 dan ke-6. Pada perlakuan penyimpanan air laut yang ditambah gelembung nano nitrogen pada perlakuan 3 hari penyimpanan menunjukkan adanya pengaruh terhadap peningkatan kadar histamin dibandingkan perlakuan penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen. Demikian pula perlakuan penyimpanan air laut yang ditambah gelembung nano nitrogen menunjukkan adanya pengaruh pada perlakuan 6 hari penyimpanan. Namun kadar histamin setiap perlakuan tidak melebihi 50 mg/kg, kadar ini sesuai dengan standar yang telah ditetapkan SNI No. 1354.10 (BSN, 2009). Hal ini dikarenakan selain pengaruh dari oksigen terlarut yang rendah, suhu dingin yang diterapkan pada setiap perlakuan mempengaruhi aktivitas bakteri penghasil histamin sehingga kadar histamin pada setiap perlakuan tetap rendah. Menurut Butler *et al.* (2011<sup>a</sup>), bahwa bakteri bakteri penghasil histamin diklasifikasikan dalam bakteri gram negatif. Menurut Butler *et al.* (2011<sup>b</sup>), bakteri laut gram negatif dan bakteri enterik telah diidentifikasi sebagai bakteri utama yang berperan sebagai pembentuk histamin.

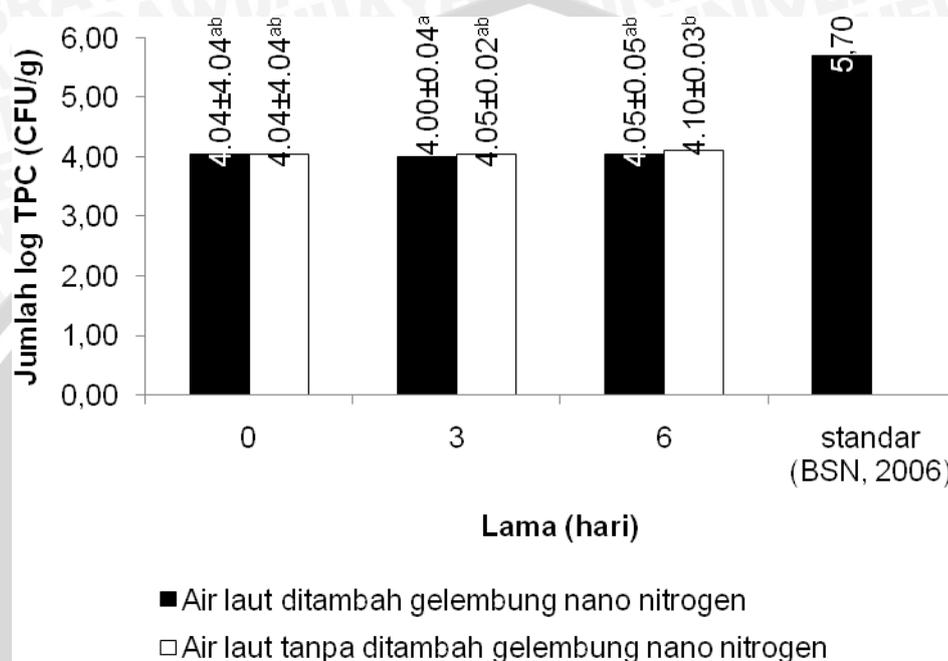
suhu yang dikondisikan tetap dingin dapat menghambat juga aktivitas dari bakteri penghasil histamin lainnya sehingga kadar histamin yang terbentuk dapat dihambat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kanki *et al.* (2002), bahwa bakteri penghasil histamin tersebut mengalami pertumbuhan secara lambat pada suhu 4°C. Menurut Wauters *et al.* (2004), bahwa pada umumnya bakteri yang menghasilkan enzim histidin dekarboksilase (hdc) berasal dari famili Enterobacteriaceae, seperti *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Rotella arnithinolytica* dan *Routella planticola*. Menurut Butler *et al.* (2011<sup>a</sup>), bahwa bakteri penghasil histamin diklasifikasikan dalam bakteri gram negatif. Menurut Butler *et al.* (2011<sup>b</sup>), bakteri laut gram negatif dan bakteri enterik telah diidentifikasi sebagai bakteri utama yang berperan sebagai pembentuk histamin.

#### 4.3 Analisis Jumlah Log TPC

Nilai *Total Plate Count* (TPC) merupakan salah satu parameter tingkat kesegaran ikan. Pengujian TPC dilakukan berdasarkan SNI 01-2332.3-2006 dengan prinsip menghitung jumlah mikroba yang ditumbuhkan pada suatu media nutrisi yang telah melewati proses inkubasi. Pengujian ini digunakan untuk mengetahui mutu mikrobiologis pada suatu bahan pangan ditentukan oleh jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan tersebut. Mutu mikrobiologis pada bahan pangan ini akan menentukan daya simpan dari bahan tersebut ditinjau dari kerusakan oleh mikroorganisme dan keamanan bahan pangan dari mikroorganisme ditentukan oleh jumlah spesies patogenik.

Hasil ANOVA pada Lampiran 4, menunjukkan hasil bahwa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap peningkatan jumlah TPC ikan tuna. Selain itu interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap peningkatan

jumlah TPC ikan tuna. Pengolahan data tidak dilakukan uji lanjut karena hasil analisa tidak memberikan pengaruh yang nyata. Hasil analisa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap peningkatan jumlah TPC ikan tuna memberikan pengaruh tidak nyata dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap jumlah log TPC ikan tuna**

Keterangan : notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Grafik pada Gambar 8 menunjukkan bahwa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan tidak mempengaruhi secara nyata terhadap peningkatan jumlah TPC. Pada grafik menunjukkan bahwa jumlah TPC ikan tuna pada perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen semakin meningkat dengan semakin lama penyimpanan. Peningkatan jumlah TPC pada perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen yaitu dari kisaran 4,0402 CFU/g meningkat menjadi 4,0477 CFU/g, sedangkan pada perlakuan air laut biasa yaitu dari kisaran 4,0402 CFU/g meningkat menjadi 4,1041 CFU/g. Tidak adanya pengaruh perlakuan penyimpanan ditambah

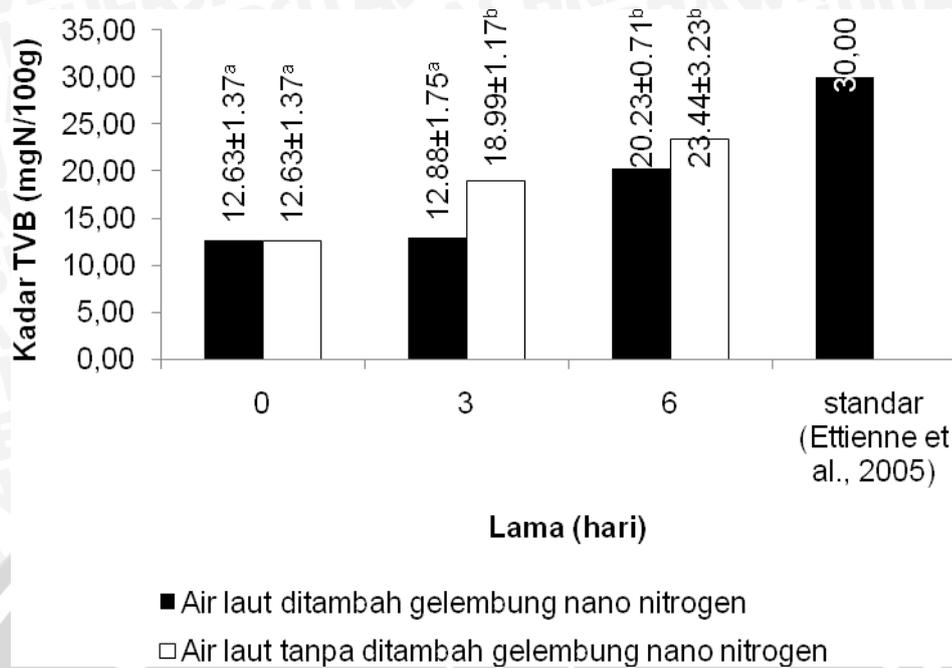
gelembung nano nitrogen terhadap jumlah log TPC dikarenakan kadar oksigen terlarut yang terus meningkat pada setiap lama penyimpanan (Tabel 7). Namun jumlah TPC ikan tuna yang disimpan pada perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan penyimpanan air laut biasa yang disimpan selama 0, 3, dan 6 hari tidak melebihi kadar 5,70 CFU/g, kadar ini sesuai dengan standar yang telah ditetapkan SNI yaitu maksimum  $5 \times 10^5$  CFU/g atau log 5,70 CFU/g (BSN, 2006). Hal ini dikarenakan penggunaan suhu penyimpanan *chilling* yaitu  $0-(-2)^{\circ}\text{C}$  pada setiap perlakuan memberikan pengaruh terhadap aktivitas bakteri sehingga peningkatan jumlah TPC terhambat. Pertumbuhan mikroba pada bahan pangan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ketersediaan nutrisi,  $a_w$ , jumlah oksigen, temperatur dan nilai pH (Wodi, 2015). Menurut Zapata *et al.* (2011) menyatakan bahwa nilai log total mikroba sebesar 4,11 pada daging ikan tuna (*Thunnus albacares*) yang disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa suhu rendah dapat menghambat peningkatan jumlah bakteri.

Ikan tuna sirip kuning adalah spesies yang bersifat pelagis dan *migratory* yang tersebar di daerah tropis dan sub tropis secara luas (Akbar *et al.*, 2014). Menurut Guizani *et al.* (2005), menyatakan bahwa ikan yang berasal dari perairan tropis dan subtropis mengandung mikroba yang didominasi oleh mikroba mesofilik dan psikotropik. Suhu optimal perkembangan bakteri mesofilik adalah  $20^{\circ}\text{C}$  sampai  $45^{\circ}\text{C}$ , sedangkan bakteri psikrofilik pada suhu  $10^{\circ}\text{C}$  sampai  $20^{\circ}\text{C}$  (Tiwari *et al.*, 2009). Maka dengan penyimpanan suhu rendah ( $0-(-2)^{\circ}\text{C}$ ) pada ikan tuna dapat menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya bakteri mesofilik dan psikotropik.

#### 4.4 Analisis Kadar TVB

Total *Volatile Base* (TVB) merupakan jumlah dari amonia, dimetilamin (DMA), trimetilamin (TMA), dan komponen basa lainnya berbasis nitrogen yang bersifat volatil sebagai parameter kualitas ikan (Etienne *et al.*, 2005). Peningkatan kadar TVB sejajar dengan peningkatan kadar TMA selama proses pembusukan (Ali *et al.*, 2010). DMA dan TMA pada produk perikanan segar dan hasil pengolahan ikan adalah *Trimethylamine Oxide* (TMAO) (Jinadasa, 2014). Sedangkan amonia berasal dari degradasi *adenosin monophosphate* (AMP).

Hasil ANOVA pada Lampiran 5, menunjukkan hasil bahwa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar TVB ikan tuna. Selain itu interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar TVB ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan media penyimpanan, lama penyimpanan dan peningkatan kadar TVB ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap kadar TVB ikan tuna**

Keterangan : notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan hasil uji lanjut Tukey (Lampiran 3) menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar TVB ikan tuna. Ikan tuna yang disimpan pada media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan 3 hari ( $12,88 \pm 1,75$  mgN/100g) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan perlakuan media penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan yang sama ( $18,99 \pm 1,17$  mgN/100g). Namun perlakuan ikan tuna yang disimpan pada media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan 6 hari ( $20,23 \pm 0,71$  mgN/100g) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata dengan perlakuan media penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen selama penyimpanan yang sama ( $23,44 \pm 3,23$  mgN/100g). Terdapatnya perbedaan pada penyimpan hari ke 3 dimungkinkan pengaruh dari interaksi antara media penyimpanan ditambah gelembung nano nitrogen yang

memiliki kadar oksigen terlarut yang lebih rendah (Tabel 7) dengan suhu penyimpanan *chilling* yaitu 0-(-2)<sup>0</sup>C sehingga mempengaruhi aktivitas bakteri pembusuk. Namun pada penyimpanan hari ke 6 tidak memberikan pengaruh dikarenakan kondisi kandungan oksigen terlarut pada hari ke 6 yang meningkat (Tabel 7) mendekati kadar oksigen terlarut penyimpanan air laut biasa sehingga peningkatan aktivitas pembentukan TVB oleh bakteri pembusuk tidak memberikan perbedaan yang nyata antara penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan penyimpanan tanpa ditambah gelembung nano nitrogen.

Menurut Huss (1995), menyatakan bahwa kadar TVB akan meningkat karena aktivitas bakteri selama tahap kemunduran mutu lanjut. Maka kedua perlakuan media penyimpanan pada lama penyimpanan hari ke 3 dimungkinkan aktivitas bakteri masuk pada fase lag karena kadar TVB ikan meningkat secara lambat namun peningkatan kadar TVB pada penyimpanan air laut tanpa ditambah nano nitrogen lebih tinggi dibandingkan penyimpanan ditambah nano nitrogen. Setelah itu aktivitas bakteri menunjukkan peningkatan kadar TVB lebih cepat namun tidak terdapat perbedaan antara kedua perlakuan media penyimpanan. Tidak adanya perbedaan ini dimungkinkan akibat dari suhu yang digunakan pada setiap perlakuan sehingga mempengaruhi peningkatan kadar TVB. Menurut FAO (1995), bahwa suhu 0°C dapat menghambat perkembangan bakteri dan memperpanjang fase lag bakteri. Pada penelitian Özogul and Özogul (1999), menyatakan bahwa ikan rainbow trout yang disimpan pada suhu 4-6°C maka nilai TVB-N meningkat perlahan pada hari ke 7-9, setelah itu maka nilai TVB-N meningkat pesat.

Kadar TVB semakin meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan. Ikan tuna yang disimpan pada perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen dan penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung

nano nitrogen selama 0, 3 dan 6 hari menunjukkan kadar TVB dibawah 30 mgN/100g, kadar ini sesuai dengan pernyataan Etienne *et al.* (2005), bahwa kadar TVB yang tergolong masih segar memiliki kandungan dibawah 30 mgN/100g. Hal ini karena semakin tinggi kadar TVB maka tingkat kesegaran ikan semakin menurun sehingga perlu ada perlakuan agar kesegaran ikan dapat terjaga yaitu penggunaan suhu rendah. Pada penelitian ini penggunaan suhu penyimpanan *chilling* adalah 0-(-2)<sup>0</sup>C pada setiap perlakuan sehingga memberikan pengaruh terhadap pembentukan TVB berlangsung tidak secara optimal. Menurut Siburian *et al.* (2012), menyatakan bahwa proses pembusukan ikan oleh bakteri dan fungi dapat dihambat dengan penyimpanan ikan pada suhu 0°C atau lebih rendah lagi.

Grafik pada Gambar 9 menunjukkan bahwa kadar TVB ikan tuna pada perlakuan media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 3 hari memberikan peningkatan kadar TVB paling rendah dan lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen pada lama penyimpanan yang sama. Sedangkan perlakuan media penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen pada penyimpanan selama 6 hari memberikan peningkatan kadar TVB lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan media penyimpana air laut ditambah gelembung nano nitrogen pada lama penyimpanan yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan sehingga memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar TVB dalam daging ikan tuna.

Menurut Affiano (2011), menyatakan tingkat kesegaran hasil perikanan berdasarkan nilai TVB dikelompokkan menjadi empat yaitu ikan sangat segar dengan kadar TVB  $\leq 10$  mg N/100 g, ikan segar dengan kadar TVB 10-20 mg N/100 g, ikan yang berada pada garis batas kesegaran yang masih dapat

dikonsumsi dengan kadar TVB 20-30 mg N/100 g dan ikan busuk yang tidak dapat dikonsumsi dengan kadar TVB > 30 mg N/100g. Berdasarkan pengelompokan tersebut, diketahui kadar TVB perlakuan A1B1, A2B1 dan A1B2 dikelompokkan ikan segar. Sedangkan perlakuan A1B3 dan A2B3 dikelompokkan ikan yang berada pada garis batas kesegaran yang masih dapat dikonsumsi. Menurut Özogul and Özogul (1999), menyatakan bahwa tingkat yang direkomendasikan TVB-N untuk penolakan adalah sebesar 20 mgN/100g. Namun Etienne *et al.* (2005), menyatakan bahwa kadar TVB ikan tuna yang tergolong masih segar memiliki kandungan dibawah 30 mgN/100g.

Dari hasil analisa data diatas, diketahui perlakuan penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar TVB daging ikan tuna pada lama penyimpanan 3 hari, sedangkan tidak memberikan pengaruh pada perlakuan lama penyimpanan 6 hari. Semakin lama penyimpanan ikan tuna memberi pengaruh terhadap peningkatan kadar TVB. Hal tersebut terlihat dari rata-rata kadar TVB setiap perlakuan yang mengalami kenaikan pada penyimpanan hari ke-3 dan ke-6. Dapat diketahui bahwa kadar TVB pada setiap perlakuan selama penyimpanan 6 hari tidak melebihi kadar 30 mgN/100g. Sehingga penyimpanan 6 hari masih efektif dalam mempertahankan kadar TVB. Namun dimungkinkan dengan penyimpanan lebih dari 6 hari dapat menghasilkan kadar TVB lebih dari 30 mgN/100g.

Pada mekanisme terbentuknya TVB, perubahan basa volatil dipengaruhi oleh bakteri yang melibatkan enzim dehidrogenase yang berfungsi menguraikan asam amino dan enzim TMAO-ase yang mereduksi TMAO. Keadaan dan jumlah kadar TVB tergantung pada mutu kesegaran ikan. Semakin rendah mutu ikan, maka kadar TVB semakin meningkat. Suhu adalah salah satu penghambat aktivitas bakteri tersebut. Banyak bakteri tidak dapat tumbuh dan tumbuh sangat lambat pada suhu di bawah 10°C diantaranya organisme psikotrofik. Pada suhu

mendekati 0°C, pertumbuhan bakteri berada pada fase lag karena suhu tersebut memperpanjang fase lag bakteri (Huss 1995). Suhu optimal perkembangan bakteri mesofilik adalah 20°C sampai 45°C, sedangkan bakteri psikrofilik pada suhu 10°C sampai 20°C (Tiwari *et al.*, 2009). Maka pada kondisi suhu dingin aktivitas bakteri menjadi minimal dalam menghasilkan TVB. Kadar TVB dipengaruhi oleh aktivitas bakteri yang melibatkan enzim dehidrogenase dalam menguraikan asam amino dan enzim TMAO-ase yang mereduksi TMAO. Pembentukan TVB oleh bakteri berkaitan dengan enzim dehidrogenase yang akan mengurai asam amino menjadi bigoenik amin dan TMAO-ase yang mereduksi TMAO menjadi DMA dan FA. Oleh karena itu, kemungkinan penyimpanan ikan tuna dengan perlakuan penyimpanan dengan kondisi suhu dingin dapat mempertahankan kadar TVB tetap rendah.

#### **4.5 Analisis Skoring Organoleptik**

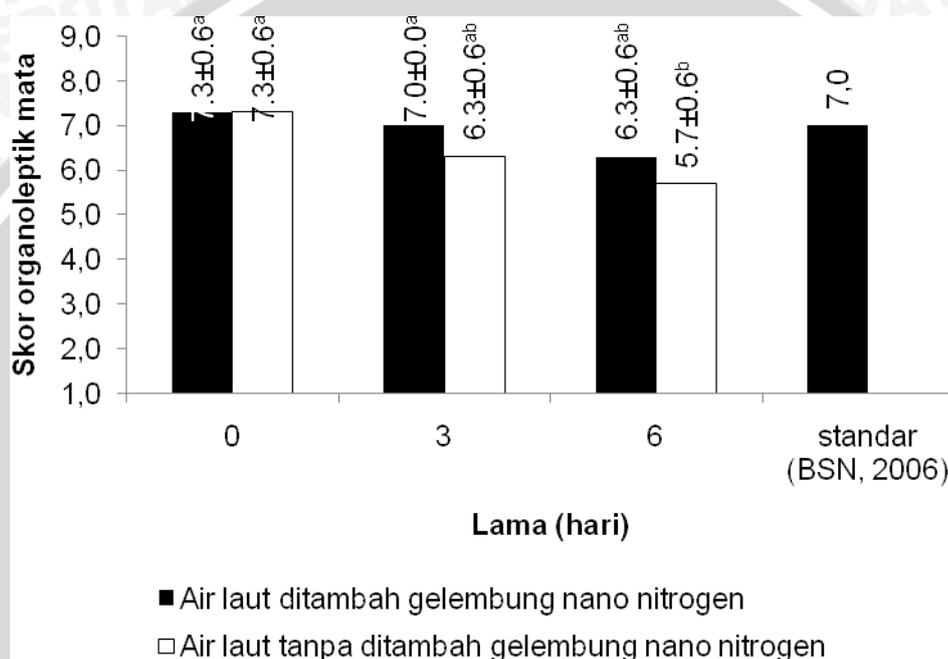
Pengujian organoleptik dilakukan untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap kesegaran ikan tuna dengan penyimpanan air laut yang ditambah gelambug nano nitrogen. Pengujian organoleptik meliputi kenampakan (mata, insang, lendir, daging), bau dan tekstur. Pengujian organoleptik diujikan di Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan (BPSHP) Bitung. Uji yang dilakukan menggunakan uji skoring dengan skala penilaian antara 1-9, dimana semakin besar nilai uji maka kualitas organoleptik semakin baik. Adapun lembar pengujian organoleptik dapat dilihat pada lampiran 1. Hasil analisa data pada parameter uji organoleptik skoring adalah sebagai berikut:

##### **4.5.1 Kenampakan**

###### **4.5.1.1 Mata**

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap

penurunan nilai skor organoleptik mata ikan tuna. Namun perlakuan media penyimpanan dan interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik mata ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik mata ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik mata ikan tuna**

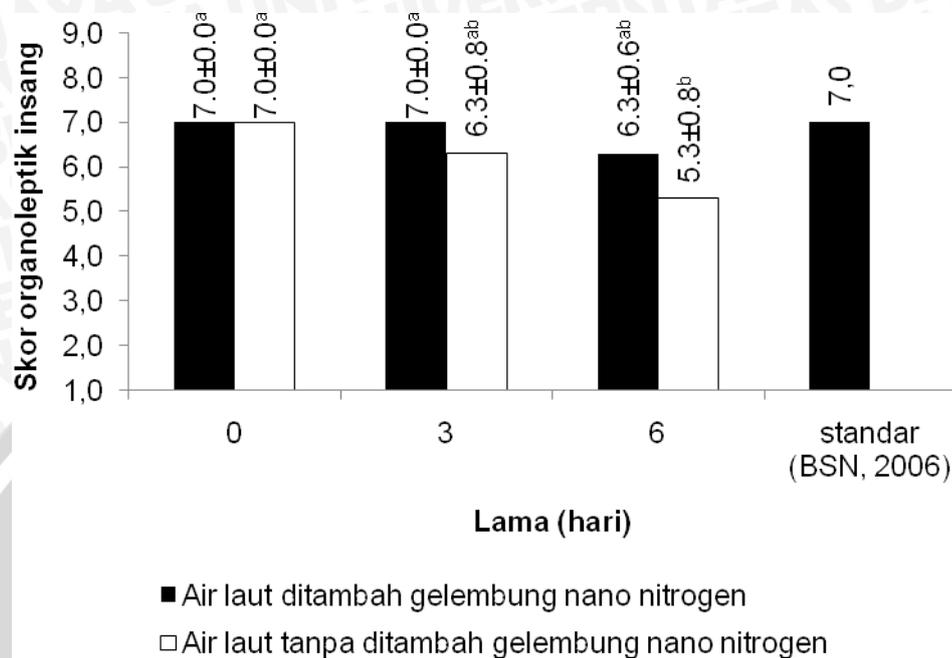
Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p<0,05$ )

#### 4.5.1.2 Insang

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p<0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik insang ikan tuna. Namun perlakuan media penyimpanan dan interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik insang ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey

terhadap perlakuan lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik insang ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 11.



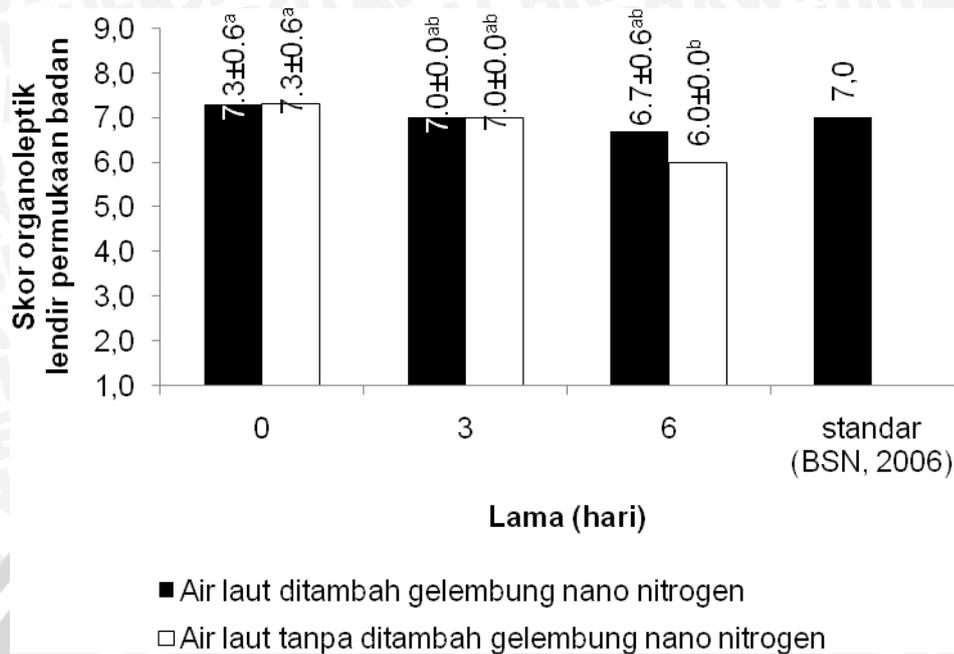
**Gambar 11. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik insang ikan tuna**

Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

#### 4.5.1.3 Lendir Permukaan Badan

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik lendir permukaan badan ikan tuna. Namun perlakuan media penyimpanan dan interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik lendir permukaan badan ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik lendir permukaan badan ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 12.



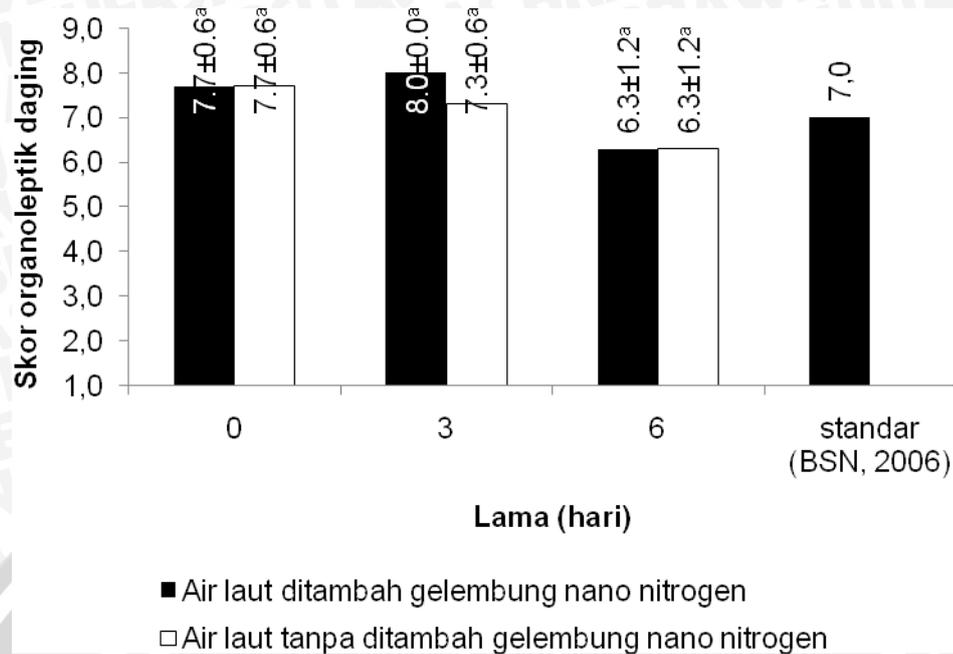
**Gambar 12. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik lendir permukaan badan ikan tuna**

Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

#### 4.5.1.4 Daging

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik daging badan ikan tuna. Namun perlakuan media penyimpanan dan interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik daging ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik daging ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 13.



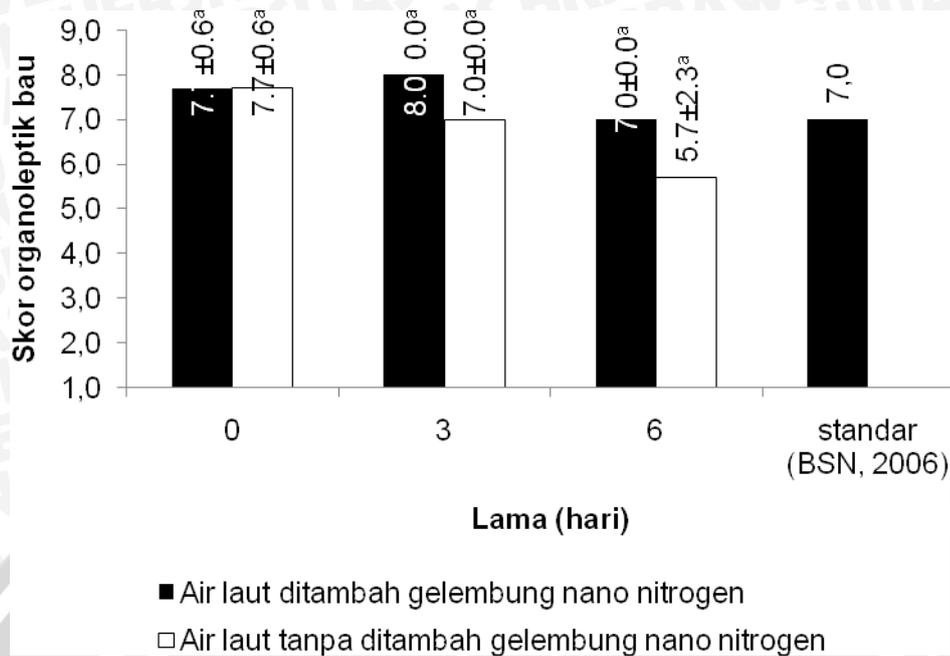
**Gambar 13. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik daging ikan tuna**

Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

#### 4.5.2 Bau

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik daging bau ikan tuna. Selain itu interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik daging ikan tuna. Hasil ANOVA terhadap perlakuan media penyimpanan, lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik bau ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 14.



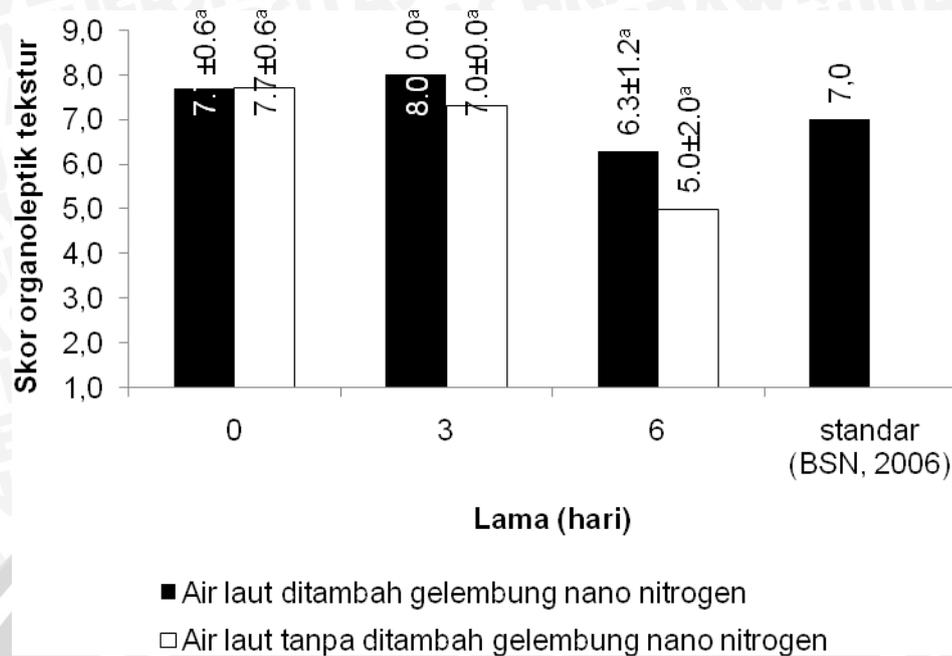
**Gambar 14. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik bau ikan tuna**

Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

#### 4.5.3 Tekstur

Hasil ANOVA pada Lampiran 6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik tekstur badan ikan tuna. Namun perlakuan media penyimpanan dan interaksi antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap penurunan nilai skor organoleptik tekstur ikan tuna. Hasil uji lanjut Tukey terhadap perlakuan lama penyimpanan dan penurunan nilai organoleptik tekstur ikan tuna memberikan pengaruh nyata dapat dilihat pada Gambar 15.



**Gambar 15. Grafik pengaruh media penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap skor organoleptik tekstur ikan tuna**

Keterangan :

- Skor organoleptik 7-9 = segar, 5-6 = agak segar, 1-3 = tidak segar
- notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan grafik pada Gambar 10-15 maka dapat diketahui bahwa nilai skor organoleptik pada parameter uji organoleptik ikan tuna semakin menurun dengan semakin lamanya penyimpanan. Hal ini terlihat pada masing-masing bagian ikan tuna semakin mengalami penurunan skor organoleptiknya pada setiap perlakuan lama penyimpanan. Pada parameter mata, insang, lendir permukaan badan, daging dan tekstur ikan tuna menunjukkan bahwa terjadi penurunan skor organoleptik dan menunjukkan perbedaan yang nyata diantara setiap perlakuan lama penyimpanan. Namun pada parameter organoleptik bau tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini dimungkinkan perubahan bau ikan pada setiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan satu dengan lainnya. Menurut Guizani *et al.* (2005), menemukan bahwa nilai K ikan tuna meningkat seiring lamanya penyimpanan yaitu pada awal penyimpanan sebesar  $17 \pm 4\%$  menjadi 40% setelah penyimpanan 6 hari dan 58% setelah penyimpanan 17 hari.

Nilai K merupakan nilai kesegaran ikan dimana semakin besar persentase nilai K maka kualitas kesegaran ikan semakin menurun.

Berdasarkan grafik pada Gambar 10-15 menunjukkan bahwa perlakuan media penyimpanan air laut ditambah gelembung nano nitrogen tidak memperlihatkan perbedaan dibandingkan dengan perlakuan penyimpanan air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen terhadap nilai skor parameter organoleptik ikan tuna. Hasil uji organoleptik skoring menunjukkan bahwa nilai skor organoleptik mata ikan tuna tidak berbeda nyata antara perlakuan media penyimpanan dan lama penyimpanan. Begitu juga dengan parameter insang, lendir permukaan badan, daging, bau dan tekstur ikan tuna tidak berbeda nyata antara dua perlakuan tersebut. Sehingga perbedaan antara dua perlakuan tersebut tidak menunjukkan berbeda nyata. Selain itu interaksi antara media penyimpanan dan lama penyimpanan tidak menunjukkan berbeda nyata. Hal ini mungkin dikarenakan penambahan gelembung nano nitrogen tidak mempengaruhi kesegaran ikan berdasarkan nilai organoleptik. Selain itu suhu penyimpanan *chilling* yang digunakan ( $0(-2)^{\circ}\text{C}$ ) pada setiap perlakuan memberikan pengaruh terhadap nilai organoleptik ikan tuna sehingga nilai organoleptik antar perlakuan tidak jauh berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Guizani *et al.* (2005), bahwa suhu  $0^{\circ}\text{C}$  merupakan suhu yang efektif untuk menjaga kesegaran ikan dengan peningkatan nilai K relatif rendah. Proses pembusukan ikan oleh bakteri dan fungi dapat dihambat dengan penyimpanan ikan pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  atau lebih rendah lagi (Siburian *et al.*, 2012).

Fadly (2009) mengategorikan tingkat kesegaran ikan sesuai dengan nilai organoleptik yang mencapai 9. Kategori segar adalah nilai organoleptik berkisar 7 – 9. Kategori agak segar apabila nilai organoleptik berkisar 5 – 6, dan kategori tidak segar apabila nilai organoleptik berkisar 1 – 3. Berdasarkan kategori tersebut, diketahui nilai organoleptik perlakuan A1B2 dikategorikan kondisi ikan

masih segar dengan nilai organoleptik sebesar 8. Hasil tersebut diikuti oleh perlakuan A1B1, A2B1, A1B3 dan A2B2 yang dikategorikan kondisi ikan masih segar dengan nilai organoleptik sebesar 7. Sedangkan perlakuan A2B3 dikategorikan kondisi agak segar dengan nilai organoleptik sebesar 6. Berdasarkan ketentuan BSN (2009), kondisi ikan yang disarankan untuk kesegaran ikan adalah ikan dengan nilai organoleptik 7.

Berdasarkan grafik pada Gambar 10-15 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan ikan tuna memberi pengaruh terhadap penurunan nilai organoleptiknya. Hal tersebut terlihat dari rata-rata nilai organoleptik setiap perlakuan yang mengalami penurunan pada penyimpanan hari ke-3 dan ke-6. Perlakuan penyimpanan air laut dingin yang ditambah gelembung nano nitrogen dapat mempertahankan kesegaran ikan tuna sampai penyimpanan selama 6 hari. Sedangkan perlakuan penyimpanan air laut dingin biasa dapat mempertahankan kesegaran ikan tuna sampai hari ke-3. Hal ini menunjukkan meskipun perlakuan media perlakuan tidak berbeda nyata namun perlakuan penyimpanan air laut dingin ditambah gelembung nano nitrogen terlihat bahwa laju penurunan nilai organoleptik lebih lambat dibandingkan dengan penyimpanan air laut tanpa gelembung nano nitrogen. Hal ini dimungkinkan karena struktur daging tuna dipengaruhi oleh kondisi air penyimpanan yang memiliki kandungan oksigen terlarut (DO) rendah pada suhu yang rendah sehingga pengaruhnya terhadap menurunkan nilai organoleptik lebih lambat. Diketahui bahwa proses pembusukan dimulai dengan proses perubahan pada tubuh ikan yang terjadi karena adanya aktivitas enzim, mikroorganisme atau oksidasi oksigen yang mengakibatkan proses perubahan fisik maupun kimiawi berlangsung cepat (Afrianto dan Liviawati, 1989).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Penggunaan gelembung nano nitrogen pada penyimpanan ikan tuna mempertahankan kesegaran ikan lebih baik dibandingkan tanpa penggunaan gelembung nano nitrogen. Penggunaan gelembung nano nitrogen mempertahankan kadar histamin dan kadar TVB tetap rendah dibandingkan tanpa penggunaan gelembung nano nitrogen, namun menunjukkan nilai yang sama terhadap jumlah log TPC dan skor organoleptik.
2. Perlakuan efektif penggunaan gelembung nano nitrogen pada penyimpanan untuk mempertahankan kesegaran ikan tuna yaitu penyimpanan selama 3 hari. Pada perlakuan ini hasil yang didapat adalah kadar histamin  $7,60 \pm 0,49$  mg/kg, nilai log TPC  $4,00 \pm 0,04$  CFU/g, kadar TVB  $12,88 \pm 1,75$  mgN/100g dan rata-rata nilai skor organoleptik sebesar  $7,5 \pm 0,0$ .

### 5.2 Saran

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh gelembung nano nitrogen pada penyimpanan ikan tuna sistem RSW masih belum berpengaruh nyata terhadap kesegaran ikan. Hal ini dimungkinkan pengaruh dari sampel ikan yang diuji menggunakan ikan tuna sirip kuning berukuran kecil sehingga perlu dilakukan penelitian lanjut dengan menggunakan ikan tuna sirip kuning berukuran besar. Selain itu, penyimpanan ikan tuna pada perlakuan ditambah gelembung nano diusahakan tertutup rapat sehingga terkondisi aerob untuk mencegah masuknya oksigen yang dapat meningkatkan kadar oksigen pada air penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R. 2011. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. Bumi Aksara . Jakarta. Hal. 22-23.
- Affiano, I. 2011. Analisis Histamin Tuna (*Thunnus* sp.) dan Bakteri Pembentuknya pada Beberapa Setting Standar Suhu Penyimpanan). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Afrianto, E. dan Liviawaty, E. 1993. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 125 hlm
- Agarwal, A., W. J. Ng., and Y. Liu. 2011. Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment. *Journal Chemosphere*. No. **84** : 1-6.
- Akbar, N., Neviaty P. Z., and Hawis H. M. 2014. Keragaman genetik ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) dari dua populasi di Laut Maluku, Indonesia. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. ISSN 2089-7790.
- Akwalia, P. R. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Zinc Oxide (ZnO) dengan Menggunakan Metode Sol-Gel Berdasarkan Variasi pH. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Alasalvar, C., Shahidi F., Miyashita K., and Wanasundara U. 2011. Handbook of Seafood Quality, Safety, and Health Applications. UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Ali, M. Y., Iqbal S., Ripon K., Adhikari and Omar F. 2010. Post mortem variation in Total Volatile Base Nitrogen and Trimethylamine Nitrogen between Galda (*Macrobrachium rosenbergii*) and Bagda (*Penaeus monodon*). *University Journal Rajshahi*. Volume **28**: 07-10.
- Allen, D. G. 2004. Regulatory control of histamine production in North Carolina harvested mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): a HACCP-based industry survey. Thesis. North Carolina: Graduate Faculty, North Carolina State University.
- Ariyani, F., Jovita T. M., Ninoek I., Dwiytino dan Yusma Y. 2007. Penggunaan Glyroxyl untuk Menghambat Penurunan Mutu Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Segar. *Jurnal Perikanan* Volume **9** (1): 125-133.
- Barceloux, G. D. 2008. Medical Toxicology of Natural Substances. Virginia: John Wiley & Sons, Inc.
- [BSN]. Badan Standardisasi Nasional. 2006. Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan. SNI Nomor 01-2332.3-2006. Jakarta: BSN.

- \_\_\_\_\_. Badan Standardisasi Nasional. 2006. Petunjuk Pengujian Organoleptik dan Sensori. SNI Nomor 01.2346.2006. Jakarta : BSN.
- \_\_\_\_\_. Badan Standardisasi Nasional. 2009. Cara Uji Kimia Bagian 8 : Penentuan Kadar Total Volatile Base Nitrogen (TVB-N) dan Trimetil Amin Nitrogen (TMA-N) pada Produk Perikanan. SNI Nomor 2354.8:2009. Jakarta : BSN.
- \_\_\_\_\_. Badan Standardisasi Nasional. 2009. Cara Uji Kimia Bagian 10 : Penentuan Kadar Histamin dengan Spektrofluorometri dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada Produk Perikanan. SNI Nomor 2354.10:2009. Jakarta : BSN.
- \_\_\_\_\_. Badan Standardisasi Nasional. 2009. Tuna Loin Segar – Bagian 1: Spesifikasi. SNI Nomor 7530.1. Jakarta : BSN.
- Budiarto, U., Kiryanto., dan Heru F. 2013. Rancang Bangun Sistem *Refrigerated Sea Water* (RSW) untuk Kapal Nelayan Tradisional. *Jurnal Kapal*. Volume **10 (1)** : 1-10.
- Butler<sup>a</sup>, K. B., J. L. Jones., Ronald B., and William B. 2011. Development of a Real-Time PCR Assay with an Internal Amplification Control for Detection of Gram-Negative Histamine-Producing Bacteria in fish. *Food Microbiology*. Volume **28**: 356-363.
- Butler<sup>b</sup>, K. B., Jessica L. J., Ronald A. B. J., and William B. III. 2011. Quantification of Total and Specific Gram-Negative Histamine-Producing Bacteria Species in fish using an MPN Real-Time PCR Method. *Food Microbiology*. Volume **28**: 1284-1292.
- Campbel, N. A., J. B. Reece and L. G. Mitchel. 2002. Biologi Fifth Edition. Magnalia Blossom. Cuningham. Diterjemahkan oleh R. Lestari, E. I. M. Adil, N. Anita, Andri, Wishnu F, Wibowo dan W. Manalu. Biologi. Erlangga. Jakarta.
- Chen, H. C., Hsien F. K., Wen C. C., Wen F. L., Deng F. H., Yi C. L., and Yung H. T. 2008. Determination of Histamine and Histamine Forming Bacteria in Tuna Dumpling Implicated in A Food Borne Poisoning. *Food Chemistry*. Volume **106**: 612–618
- Chiba, K., and M. Takahashi. 2007. Oxygen Nanobubble Water and Method Of Producing The Same. Patent Aplication Publication. Pub. No.: US 2007/0286795 A1. United State.
- Cotton, F. A., and G. Wilkinson. 1930. Chemistry Inorganik. (Editor). 1921. Johor Darul Ta'lim. Terjemahan oleh K. Zakaria, N. K. W M. Saiyudi, R. Ali, R. S. Shariffudin. Kimia Tak Organik Lanjutan. Universitas Teknologi Malaysia. Edisi Kelima. *Kimia Tak Organik Lanjutan. Johor Darul Ta'lim Malaysia*. Johor. Hlm. 307-309.

Dahyar, A. D. 2009. Evaluasi Efektivitas Pengendalian Risiko Bahaya Histamin pada Titik Kendali Kritis (Critical Control Point-CCP) Proses Pengolahan Tuna Loin Beku dengan Metode Lean Six Sigma. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor : Bogor.

Dalgaard, P., Emborg J., Kølby A., Sørensen ND., and Ballin NZ. 2008. Improving Seafood Product for The Customer. England: Woodhead Publishing Limited.

Diks, M. E. 1995. Pengetahuan Praktis Teknik Pendinginan dan Reparasinya. Bumi Aksara : Jakarta. 74 halaman.

[Ditjen] Direktur Jendral Kementerian Perdagangan. 2012. Ikan Tuna Indonesia. Warta Ekspor. Ditjen PEN/MJL/003/6/2012. Edisi Juni.

Du, WX., Lin CM., Phu AT., Cornell JA, Marshall MR, and Wei CL. 2002. Development of biogenic amines in yellowfin tuna (*Tunnus albacares*): effect of storage and correlation with decarboxylase-positive bacterial flora. *Journal of Food and Science*. Vol **62** (1): 43-47.

Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 249 halaman. (76).

Etienne, M., Ifremer and Nantes. 2005. Volatile Amines as Criteria for Chemical Quality Assessment. France: Seafood plus Traceability.

[EU] European Union. 2004. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal of the European Union*. No. **226**: 22-82.

Fadly, N. 2009. Asesmen Risiko Histamin Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) Segar Berbagai Mutu Ekspor pada Proses Pembongkaran (Transit). Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor : Bogor.

[FDA] Food and Drug Administration. 2011. Fish and Fisheries Products Hazards and Control Guidance, Fourth Edition. Washington DC: FDA.

Gigirey and Juan M. V. B. D. S. 2014. Chemical Changes and Visual Appearance of Albacore Tuna as Related to Frozen Storage. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*—Volume 64, No. 1 : 1-5.

Guizani, N., Al-Busaidy M. A., Al-Belushi I. M., Mothershaw A., and Rahman M.S. 2005. The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Journal Food Res*. No. **38**: 215-222.

Hadiwiyoto, S. 1993. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Penerbit Liberty. Yogyakarta.

- Huss, H. H. 1995. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, FAO.
- Ilyas S. 1983. *Teknologi Refrigrasi Hasil Perikanan Jilid 1. Teknik Pendinginan Ikan*. Jakarta:CV. Paripurna.
- Jinadasa, B. K. K. K. 2014. Determination of Quality of Marine Fishes Based on Total Volatile Base Nitrogen test (TVB-N). *Nature and Science*. Volume **12**: 1-5.
- Kanki, M., Yoda T., Tsukamoto T and Shibata T. 2002. Klebsiella pneumonia Produces no Histamine: Raoultella planticola and Raoultella ornithinolytica Strains are Histamine Producers. *Applied and Enviromental of Microbiology*. Volume **68** (7): 3462-3466.
- Kameda, N., N. Sogoshi., and S. Nakabashi. 2008. Nitrogen nanobubbles and butane nanodroplets at Si(100). *Journal Surface Science*. No. **602** : 1-6.
- Kerr, M., Lawicki, P., Aguirre, S. and Rayner, C. 2002. Effect on storage conditions on histamine formation in fresh and canned tuna. Victoria : Public Health Division, Victorian Government of Human Services: 1-20.
- Kim, SH., Field K.G, Chang DS, Wei CI, An H. 2001. Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in pacific mackerel during storage. *Journal Food Protein*. Volume **64** (10): 1556–1564.
- Kiryanto, H. S. 2011. Analisa Teknis Dan Ekonomis Perencanaan Sistem Pendingin Ruang Palkah Ikan Dengan Sistem Kompresi Uap Menggunakan Refrigeran R22 (Monokloro Difluoro Metana). *KAPAL-Vol. 8, No.1, : 1-10*.
- Kurniawan, M. A., Alam B. dan Soemartojo W. A. 2014. Desain Sistem Spray RSW (*Refrigerated Sea Water*) Untuk Ruang Palka Kapal Purse Seine 40 GT. *Jurnal Teknik Sistem Perkapalan* Vol. 1, No. 1, (2014) 1-5.
- [KKP] Kementertian Kelautan dan Perikanan. 2014. Kelautan dan Perikanan dalam Angka Tahun 2014. Jakarta: DKP.
- Latifah, L. 2001. Mempelajari Aspek Pengendalian Mutu Proses Pembekuan Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) di PT. Tirta Raya Mina (*Persero*) Pekalongan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lehane, L and Olley J. 2000. Histamine Fish Poisoning Revisited. *J of Food Microbiology*. Volume **58**: 1-37.
- Marui, T. 2013. An Introduction to Micro/Nano-Bubbles and their Applications. *Systemics, Cybernetics And Informatics*. Volume **11**: 68-73.
- Miazwir. 2012. Analisis Aspek Biologi Refroduksi Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacores*) yang Tertangkap di Samudera Hindia. Tesis. Universitas Indonesia. Depok.

- Murachman. 2006. *Fish Handling*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya, Malang.
- Pengawetan Ikan. Percetaan Kanisius. Yogyakarta. Hal. 17-22.
- Nazir, M. 2005. *Metode Penelitian*. Ghalia Indonesia : Bogor Selatan. 419 hlm.
- Ohgaki, K., N. Q. Khank., Y. Joden., A. Tsuji., and T. Nakagawa. 2010. Physicochemical approach to nanobubble solutions. *Journal Chemical Engineering Science*. No. **65** : 1-5.
- Özogul, F and Özogul Y. 2000. Comparison of Methods Used for Determination of Total Basic Nitrogen (TVB-N) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk J Zool*. Volume **24**: 113-120.
- Pandey, P. K., Aman J., and Shruit D. 2012. Micro And Nanobubble Water. *International Journal of Engineering Science and Technology (IJEST)*. Volume **4**. (12): 1-5.
- Petrucci, R. H.1992. *Kimia Dasar*. Jakarta : Erlangga. Hal.122.
- Price, R. J., Melvin E. F., and Bell J.W. 1991. Postmortem changes in chilled round bled and dress albacore. *Journal of Food Science*. No. **35**: 318-321.
- Ramsden, J. 2009. *Applied Nanotechnology : The Conversion of Reasearch Result to Product*. Published by Elsevier. Burlington. Terjemahkan oleh Prof. Hermawan K. Dipojono. Erlangga. *Nanoteknologi Terapan : Konservasi dari Hasil Penelitian Menjadi Produk*. Erlangga. Jakarta. Hlm. 56.
- Setha, B., Amran L., Meta M., and Firdaus. 2014. Inhibition of Histamine Formation on the Frigate Tuna (*Auxis thazard thazard*, L) using Leaf Extract of *Jatropha Curcas*. *International Journal of Advanced Research*. Volume **2** (1): 350-356.
- Setyoko, B., Seno D., dan Rahmat. 2007. Analisa Mesin Pendinginan pada Kapal Ikan (Refrigerated Sea Water). *Jurnal Teknik*. Vol. 28 (3) :1-7.
- Siburian, E. T. P., Pramesti D. dan Nana K. 2012. Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Pertumbuhan Bakteri dan Fungi Ikan Bandeng. *Unnes Journal of Life Science*. Volume **1**: 2.
- Silva, C.C.G., Ponte D.J.B., and Dapkecius M.L.N.E. 1998. Storage temperature effect on histamine formation in big eye tuna and skipjack. *Journal of Food Science* **63** (4): 644-647.
- Simanjuntak, M. 2009. Hubungan Faktor Lingkungan Kimia, Fisika terhadap Distribusi Plankton di Perairan Belitung Timur, Bangka Belitung. *Jurnal Perikanan* **11** (1):31-45.

- Staruszkiewicz, W.F., James D.B., Patricia L.R., Ronald Jr A.B., Lunn L.W., and John C. 2004. Effects of on-board and dockside handling on the formation of biogenic amines in mahimahi (*Coryphaena hippurus*), skipjack tuna (*Kastuwonus pelamis*), and yellowfin tuna (*Tunnus albacares*). *Journal of Food Protection*. Volume **67** (1): 134-141.
- Sunarya, Y. 2012. *Kimia Dasar*. Yrama Widya : Bandung. Hal. 414.
- Suwetja, I.K. 1990. Penentuan Kesegaran Beberapa Jenis Ikan dengan HPLC. *Jurnal Fakultas Perikanan*. Volume **1** (3): 262-263.
- Syukri. 1999. *Kimia Dasar 1*. Institut Teknologi Bandung : Bandung. Hal.579.
- Taylor, T., and Alasalvar C. 2002. *Seafoods: Quality, Technology, and Nutraceutical Applications*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Tiwari R.P., Hoondal G.S., Tewari R. 2009. *Laboratory Techniques in Microbiology and Biotechnology*. New Delhi: Abhishek Publication.
- Trilaksani, W., Bintang M., Monintja D.R., dan Hubeis M. 2009. Asesmen semi-kuantitatif risiko histamin ikan tuna dari tempat pendaratan (transit 14). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Volume **7** (2): 1-20.
- Wahyuni, S. 2011. Histamin Tuna (*Thunnus sp.*) dan Identifikasi Bakteri Pembentuknya Pada Kondisi Suhu Penyimpanan Standar. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Waluyo, T. B. W., Suryadi, Nurul T. R. 2013. Pembuatan Partikel Nano Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Dengan Kombinasi Ball-Milling dan Ultrasonic-Milling. *Prosiding Pertemuan Ilmiah XXVII HFI* : 1-4.
- Wauters, G., Avesani V., Charlier J., Janssens M and Delmée M. 2004. Histidine Decarboxylase in *Enterobacteriaceae* Revisited. *Journal Clin Microbiol*. Volume **42** (12): 5923-5924.
- Widiastuti, I. and Sumpeno P. 2010. Analisis Mutu Ikan Tuna Selama Lepas Tangkap. *Maspari Journal*. Volume **1**: 22-29.
- Wodi, S. I. M. 2015. Profil Protein Larut Air dan Histamin serta Identifikasi Bakteri Penghasil Histidin Dekarboksilase pada Tuna Mata Besar (*Thunnus obesus*). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar Penilaian Uji Organoleptik Ikan Tuna Segar (SNI 01-2346-2006)

Nama panelis : ..... Tanggal: .....

- a. Cantumkan kode contoh pada kolom yang tersedia sebelum melakukan pengujian.
- b. Berilah tanda ( $\sqrt{\quad}$ ) pada nilai yang dipilih sesuai kode contoh yang diuji.

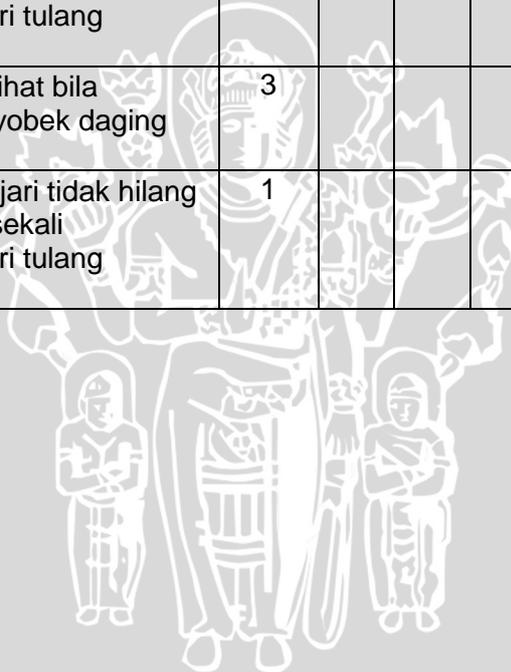
Tabel 8. Lembar penilaian uji organoleptik ikan tuna segar

Spesifikasi	Nilai	Kode Sampel					
		A1 B1	A1 B2	A1 B3	A2 B1	A2 B2	A2 B3
<b>A. Kenampakan</b>							
<b>1. Mata</b>							
• Cerah, bola mata menonjol, kornea jernih.	9						
• Cerah, bola mata rata, kornea jernih.	8						
• Agak cerah, bola mata rata, pupil agak keabu-abuan, kornea agak keruh.	7						
• Bola mata agak cekung, pupil berubah keabu-abuan, kornea agak keruh.	6						
• Bola mata agak cekung, pupil keabu-abuan, kornea agak keruh.	5						
• Bola mata cekung, pupil mulai berubah menjadi putih susu, kornea keruh.	3						
• Bola mata sangat cekung, kornea agak kuning.	1						
<b>2. Insang</b>							
• Warna merah cemerlang, tanpa lendir.	9						
• Warna merah kurang cemerlang, tanpa lendir.	8						
• Warna merah agak kusam, tanpa lendir.	7						
• Merah agak kusam, sedikit lendir.	6						
• Mulai ada perubahan warna, merah	5						



kecoklatan, sedikit lendir, tanpa lendir.							
• Warna merah coklat, lendir tebal.	3						
• Warna merah coklat ada sedikit putih, lendir tebal.	1						
<b>3. Lendir permukaan badan</b>							
• Lapisan lendir jernih, transparan, mengkilat cerah, belum ada perubahan warna.	9						
• Lapisan lendir jernih, transparan, cerah, belum ada perubahan warna.	8						
• Lapisan lendir mulai agak keruh, warna agak putih, kurang transparan.	7						
• Lapisan lendir mulai keruh, warna putih agak kusam, kurang transparan.	6						
• Lendir tebal menggumpal, mulai berubah warna putih, keruh.	5						
• Lendir tebal menggumpal, warna putih kuning.	3						
• Lendir tebal menggumpal, warna kuning kecoklatan	1						
<b>4. Daging (warna dan kenampakan)</b>							
• Sayatan daging sangat cemerlang, spesifik jenis, tidak ada perubahan sepanjang tulang belakang, dinding perut daging utuh.	9						
• Sayatan daging cemerlang, spesifik jenis, tidak ada pemerahan sepanjang tulang belakang, dinding perut utuh.	8						
• Sayatan daging sedikit kurang cemerlang, spesifik jenis, tidak ada pemerahan sepanjang tulang belakang, dinding perut daging utuh.	7						
• Sayatan daging mulai pudar, banyak pemerahan sepanjang tulang belakang, dinding perut lunak.	5						
• Sayatan daging kusam, warna merah jelas sekali sepanjang tulang belakang, dinding perut lunak.	3						
• Sayatan daging kusam sekali, warna merah jelas sekali sepanjang tulang belakang, dinding perut sangat lunak.	1						
<b>B. Bau</b>							
• Bau sangat segar, spesifikasi jenis.	9						
• Segar, spesifik jenis.	8						

• Netral.	7						
• Bau amoniak mulai tercium, sedikit bau asam.	5						
• Bau amoniak kuat, ada bau H <sub>2</sub> S, bau asam jelas dan busuk.	3						
• Bau busuk jelas.	1						
<b>C. Tekstur</b>							
• Padat, elastis bila ditekan dengan jari, sulit menyobek daging dari tulang belakang.	9						
• Agak padat, elastis bila ditekan dengan jari, sulit menyobek daging dari tulang belakang.	8						
• Agak padat, agak elastis bila ditekan dengan jari, sulit menyobek daging dari tulang belakang.	7						
• Agak lunak, kurang elastis bila ditekan dengan jari, agak mudah menyobek daging dari tulang belakang.	5						
• Lunak, bekas jari terlihat bila ditekan, mudah menyobek daging dari tulang belakang.	3						
• Sangat lunak, bekas jari tidak hilang bila ditekan, mudah sekali menyobek daging dari tulang belakang.	1						



**Lampiran 2. Uji Normalitas Menggunakan One Sample Uji Kolmogorov-Smirnov**

**One-sample kolmogorov-smirnov test**

		Histamin	Log TPC	TVB	Organoleptik
N		18	18	18	18
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	12.1239	4.047444E0	6.8944	6.8944
	Std. Deviation	4.21168	.0451279	.81636	.81636
Most Extreme Differences	Absolute	.302	.169	.224	.218
	Positive	.302	.130	.224	.134
	Negative	-.178	-.169	-.173	-.218
Kolmogorov-Smirnov Z		1.283	.717	.951	.925
Asymp. Sig. (2-tailed)		.074	.683	.327	.359

a. Test distribution is Normal.



**Lampiran 3. Perhitungan Analisis Keragaman Kadar Histamin**

Perlakuan	Lama Penyimpanan		
	0	3	6
A (Air laut ditambah gelembung nano nitrogen)	10,49	7,83	12,45
	10,73	7,04	12,29
	10,44	7,94	12,45
B (Air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen)	10,49	11,43	20,63
	10,73	10,88	20,47
	10,44	10,54	20,96

**Between-subjects factors**

		Value Label	N
Media Penyimpanan	1	AirLaut+GelembungNanoNitrogen	9
	2	AirLautBiasa	9
Lama Penyimpanan	1	0Hari	6
	2	3Hari	6
	3	6Hari	6

**Descriptive statistics**

Dependent variable:histamin

Media Penyimpanan	Lama Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
AirLaut+GelembungNa noNitrogen	0Hari	10.5533	.15503	3
	3Hari	7.6033	.49095	3
	6Hari	12.3967	.09238	3
	Total	10.1844	2.11020	9
AirLautBiasa	0Hari	10.5533	.15503	3
	3Hari	10.9500	.44911	3
	6Hari	20.6867	.24987	3
	Total	14.0633	4.97771	9
Total	0Hari	10.5533	.13866	6
	3Hari	9.2767	1.88073	6
	6Hari	16.5417	4.54374	6
	Total	12.1239	4.21168	18

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable:histamin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	2946.223 <sup>a</sup>	6	491.037	5.245E3	.000
MediaPenyimpanan	67.706	1	67.706	723.140	.000
LamaPenyimpanan	180.540	2	90.270	964.140	.000
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	52.180	2	26.090	278.659	.000
Error	1.124	12	.094		
Total	2947.347	18			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = .999)



**Multiple comparisons****Lama penyimpanan**

Dependent variable: histamin

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Lama Penyimpanan	Lama Penyimpanan					
		Lama Penyimpanan					
	0Hari	3Hari	1.2767*	.17666	.000	.8054	1.7480
		6Hari	-5.9883*	.17666	.000	-6.4596	-5.5170
	3Hari	0Hari	-1.2767*	.17666	.000	-1.7480	-.8054
		6Hari	-7.2650*	.17666	.000	-7.7363	-6.7937
	6Hari	0Hari	5.9883*	.17666	.000	5.5170	6.4596
		3Hari	7.2650*	.17666	.000	6.7937	7.7363
LSD	Lama Penyimpanan	Lama Penyimpanan					
		Lama Penyimpanan					
	0Hari	3Hari	1.2767*	.17666	.000	.8918	1.6616
		6Hari	-5.9883*	.17666	.000	-6.3732	-5.6034
	3Hari	0Hari	-1.2767*	.17666	.000	-1.6616	-.8918
		6Hari	-7.2650*	.17666	.000	-7.6499	-6.8801
	6Hari	0Hari	5.9883*	.17666	.000	5.6034	6.3732
		3Hari	7.2650*	.17666	.000	6.8801	7.6499

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .094.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Homogeneous subsets**

Histamin					
	Lama Penyimpanan	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>	3Hari	6	9.2767		
	0Hari	6		10.5533	
	6Hari	6			16.5417
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .094.

**ONEWAY**

**Descriptives**

Histamin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1B1	3	10.5533	.15503	.08950	10.1682	10.9384	10.44	10.73
A1B2	3	7.6033	.49095	.28345	6.3837	8.8229	7.04	7.94
A1B3	3	12.3967	.09238	.05333	12.1672	12.6261	12.29	12.45
A2B1	3	10.5533	.15503	.08950	10.1682	10.9384	10.44	10.73
A2B2	3	10.9500	.44911	.25929	9.8343	12.0657	10.54	11.43
A2B3	3	20.6867	.24987	.14426	20.0660	21.3074	20.47	20.96
Total	18	12.1239	4.21168	.99270	10.0295	14.2183	7.04	20.96

**ANOVA**

Histamin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	300.427	5	60.085	641.747	.000
Within Groups	1.124	12	.094		
Total	301.550	17			

**Homogeneous subsets**

Histamin

	Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Tukey HSD <sup>a</sup>	A1B2	3	7.6033			
	A1B1	3		10.5533		
	A2B1	3		10.5533		
	A2B2	3		10.9500		
	A1B3	3			12.3967	
	A2B3	3				20.6867
	Sig.		1.000	.621	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



**Lampiran 4. Perhitungan Analisis Keragaman Log TPC**

Perlakuan	Lama Penyimpanan		
	0	3	6
A (Air laut nanobubble nitrogen)	4,0000	4,0414	4,0043
	4,0414	3,9542	4,0453
	4,0792	4,0000	4,0934
B (Air laut biasa)	4,0000	4,0414	4,0645
	4,0414	4,0792	4,1271
	4,0792	4,0414	4,1206

**Between-subjects factors**

		Value Label	N
Media Penyimpanan	1,00	AirLaut+GelembungNanoNitrogen	9
	2,00	AirLautBiasa	9
Lama Penyimpanan	1,00	0Hari	6
	2,00	3Hari	6
	3,00	6Hari	6

**Descriptive statistics**

Dependent variable: TPC

Media Penyimpanan	Lama Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
AirLaut+GelembungNanoNitrogen	0Hari	4,0402	,03961	3
	3Hari	3,9985	,04362	3
	6Hari	4,0477	,04460	3
	Total	4,0288	,04348	9
AirLautBiasa	0Hari	4,0402	,03961	3
	3Hari	4,0540	,02182	3
	6Hari	4,1041	,03442	3
	Total	4,0661	,04068	9
Total	0Hari	4,0402	,03543	6
	3Hari	4,0263	,04330	6
	6Hari	4,0759	,04716	6
	Total	4,0474	,04513	18



**Tests of between-subjects effects**

dependent variable: TPC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	294,890 <sup>a</sup>	6	49,148	33930,709	,000
MediaPenyimpanan	,006	1	,006	4,320	,060
LamaPenyimpanan	,008	2	,004	2,711	,107
MediaPenyimpanan *	,003	2	,002	1,080	,370
LamaPenyimpanan					
Error	,017	12	,001		
Total	294,907	18			

a. R Squared = 1,000 (Adjusted R Squared = 1,000)

**Multiple comparisons**

Dependent variable: TPC

	(I) Lama Penyimpanan	(J) Lama Penyimpanan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0Hari	3Hari	,0139	,02197	,805	-,0447	,0726
		6Hari	-,0357	,02197	,274	-,0943	,0230
	3Hari	0Hari	-,0139	,02197	,805	-,0726	,0447
		6Hari	-,0496	,02197	,101	-,1082	,0090
	6Hari	0Hari	,0357	,02197	,274	-,0230	,0943
		3Hari	,0496	,02197	,101	-,0090	,1082
LSD	0Hari	3Hari	,0139	,02197	,538	-,0339	,0618
		6Hari	-,0357	,02197	,131	-,0835	,0122
	3Hari	0Hari	-,0139	,02197	,538	-,0618	,0339
		6Hari	-,0496*	,02197	,043	-,0975	-,0017
	6Hari	0Hari	,0357	,02197	,131	-,0122	,0835
		3Hari	,0496*	,02197	,043	,0017	,0975

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.



**Homogeneous subsets**

**TPC**

	Lama Penyimpanan	N	Subs et	Notasi
			1	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	3Hari	6	4,02 63	a
	0Hari	6	4,04 02	a
	6Hari	6	4,07 59	a
	Sig.		,101	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

**ONEWAY**

**Descriptives**

**TPC**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1B1	3	4,0402	,03961	,02287	3,9418	4,1386	4,00	4,08
A1B2	3	3,9985	,04362	,02518	3,8902	4,1069	3,95	4,04
A1B3	3	4,0477	,04460	,02575	3,9369	4,1585	4,00	4,09
A2B1	3	4,0402	,03961	,02287	3,9418	4,1386	4,00	4,08
A2B2	3	4,0540	,02182	,01260	3,9998	4,1082	4,04	4,08
A2B3	3	4,1041	,03442	,01987	4,0186	4,1896	4,06	4,13
Total	18	4,0474	,04513	,01064	4,0250	4,0699	3,95	4,13



**ANOVA**

**TPC**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,017	5	,003	2,380	,101
Within Groups	,017	12	,001		
Total	,035	17			

**Homogeneous subsets**

**TPC**

	Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05		Notasi
			1	2	
Tukey HSD <sup>a</sup>	A1B2	3	3,9985		a
	A1B1	3	4,0402	4,0402	ab
	A2B1	3	4,0402	4,0402	ab
	A1B3	3	4,0477	4,0477	ab
	A2B2	3	4,0540	4,0540	ab
	A2B3	3		4,1041	b
	Sig.			,508	,369

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



**Lampiran 5. Perhitungan Analisis Keragaman kadar TVB**

Perlakuan	Lama Penyimpanan		
	0	3	6
A (Air laut nanobubble nitrogen)	12,96	10,86	19,81
	13,8	14,02	21,05
	11,12	13,76	19,84
B (Air laut biasa)	12,96	19,64	19,71
	13,8	19,68	25,37
	11,12	17,64	25,23

**Between-subjects factors**

		Value Label	N
Media Penyimpanan	1,00	AirLaut+GelembungNanoNitrogen	9
	2,00	AirLautBiasa	9
Lama Penyimpanan	1,00	0Hari	6
	2,00	3Hari	6
	3,00	6Hari	6

**Descriptive statistics**

Dependent variable: TVB

Media Penyimpanan	Lama Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
AirLaut+GelembungNanoNitrogen	0Hari	12,6267	1,37074	3
	3Hari	12,8800	1,75419	3
	6Hari	20,2333	,70741	3
	Total	15,2467	3,91967	9
AirLautBiasa	0Hari	12,6267	1,37074	3
	3Hari	18,9867	1,16642	3
	6Hari	23,4367	3,22815	3
	Total	18,3500	5,05506	9
Total	0Hari	12,6267	1,22603	6
	3Hari	15,9333	3,60035	6
	6Hari	21,8350	2,72891	6
	Total	16,7983	4,66953	18



### Tests of between-subjects effects

dependent variable:TVB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	5411.755 <sup>a</sup>	6	901.959	283.087	.000
MediaPenyimpanan	43.338	1	43.338	13.602	.003
LamaPenyimpanan	261.114	2	130.557	40.976	.000
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	27.991	2	13.996	4.393	.037
Error	38.234	12	3.186		
Total	5449.989	18			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .989)

### Lama Penyimpanan

#### Multiple comparisons

Dependent variable: TVB

	(I) Media Penyimpanan	(J) Lama Penyimpanan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0Hari	3Hari	-3,3067 <sup>*</sup>	1,03056	,019	-6,0561	-,5573
		6Hari	-9,2083 <sup>*</sup>	1,03056	,000	11,9577	-6,4589
	3Hari	0Hari	3,3067 <sup>*</sup>	1,03056	,019	,5573	6,0561
		6Hari	-5,9017 <sup>*</sup>	1,03056	,000	-8,6511	-3,1523
	6Hari	0Hari	9,2083 <sup>*</sup>	1,03056	,000	6,4589	11,9577
		3Hari	5,9017 <sup>*</sup>	1,03056	,000	3,1523	8,6511
LSD	0Hari	3Hari	-3,3067 <sup>*</sup>	1,03056	,008	-5,5521	-1,0613
		6Hari	-9,2083 <sup>*</sup>	1,03056	,000	11,4537	-6,9629
	3Hari	0Hari	3,3067 <sup>*</sup>	1,03056	,008	1,0613	5,5521
		6Hari	-5,9017 <sup>*</sup>	1,03056	,000	-8,1471	-3,6563
	6Hari	0Hari	9,2083 <sup>*</sup>	1,03056	,000	6,9629	11,4537
		3Hari	5,9017 <sup>*</sup>	1,03056	,000	3,6563	8,1471

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,186.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Homogeneous subsets**

**TVB**

	Lama Penyimpanan	N	Subset			Notasi
			1	2	3	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	0Hari	6	12,6267			a
	3Hari	6		15,9333		b
	6Hari	6			21,8350	c
	Sig.		1,000	1,000	1,000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,186.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

**ONEWAY**

**Descriptives**

**TVB**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1B1	3	12,6267	1,37074	,79140	9,2216	16,0318	11,12	13,80
A1B2	3	12,8800	1,75419	1,01278	8,5223	17,2377	10,86	14,02
A1B3	3	20,2333	,70741	,40843	18,4760	21,9906	19,81	21,05
A2B1	3	12,6267	1,37074	,79140	9,2216	16,0318	11,12	13,80
A2B2	3	18,9867	1,16642	,67343	16,0891	21,8842	17,64	19,68
A2B3	3	23,4367	3,22815	1,86377	15,4175	31,4558	19,71	25,37
Total	18	16,7983	4,66953	1,10062	14,4762	19,1204	10,86	25,37

**ANOVA**

**TVB**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	332,443	5	66,489	20,868	,000
Within Groups	38,234	12	3,186		
Total	370,677	17			



**Homogeneous subsets  
TVB**

	Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a</sup>	A1B1	3	12,6267		a
	A2B1	3	12,6267		a
	A1B2	3	12,8800		a
	A2B2	3		18,9867	b
	A1B3	3		20,2333	b
	A2B3	3		23,4367	b
	Sig.			1,000	,083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



Lampiran 6. Perhitungan Analisis Keragaman Nilai Skor Organoleptik

Perlakuan	0			Me an	3			Me an	6			Me an
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
A (air laut ditambah gelembung nano nitrogen)												
a. Mata	8,0	7,0	7,0	7,3	7,0	7,0	7,0	7,0	6,0	7,0	6,0	6,3
b. Insang	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	6,0	7,0	6,0	6,3
c. Lendir permukaan badan	8,0	7,0	7,0	7,3	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	6,0	6,7
d. Daging	8,0	7,0	8,0	7,7	8,0	8,0	8,0	8,0	5,0	7,0	7,0	6,3
e. Bau	8,0	7,0	8,0	7,7	8,0	8,0	8,0	8,0	7,0	7,0	7,0	7,0
f. Tekstur	8,0	7,0	8,0	7,7	8,0	8,0	8,0	8,0	5,0	7,0	7,0	6,3
Rata-rata	<b>7,8</b>	<b>7,0</b>	<b>7,5</b>	<b>7,4</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>	<b>6,0</b>	<b>7,0</b>	<b>6,5</b>	<b>6,5</b>
B (air laut tanpa ditambah gelembung nano nitrogen)												
a. Mata	8,0	7,0	7,0	7,3	6,0	6,0	7,0	6,3	6,0	6,0	5,0	5,7
b. Insang	7,0	7,0	7,0	7,0	5,0	7,0	7,0	6,3	6,0	5,0	5,0	5,3
c. Lendir permukaan badan	8,0	7,0	7,0	7,3	7,0	7,0	7,0	7,0	6,0	6,0	6,0	6,0
d. Daging	8,0	7,0	8,0	7,7	7,0	8,0	7,0	7,3	7,0	7,0	5,0	6,3
e. Bau	8,0	7,0	8,0	7,7	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	3,0	5,7
f. Tekstur	8,0	7,0	8,0	7,7	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	5,0	3,0	5,0
Rata-rata	<b>7,8</b>	<b>7,0</b>	<b>7,5</b>	<b>7,4</b>	<b>6,5</b>	<b>7,0</b>	<b>7,0</b>	<b>6,8</b>	<b>6,5</b>	<b>6,0</b>	<b>4,5</b>	<b>5,7</b>

Perlakuan	Lama Penyimpanan		
	0	3	6
A(Air laut nanobubble nitrogen)	7,8	7,5	6
	7	7,5	7
	7,5	7,5	6,5
B (Air laut biasa)	7,8	6,5	6,5
	7	7	6
	7,5	7	4,5

**Between-subjects factors**

		Value Label	N
Media Penyimpanan	1,00	AirLaut+GelembungNano Nitrogen	9
	2,00	AirLautBiasa	9
Lama Penyimpanan	1,00	0Hari	6
	2,00	3Hari	6
	3,00	6Hari	6

**Descriptive statistics**

Dependent variable: Organoleptik

Media Penyimpanan	Lama Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
AirLaut+GelembungNanoNitrogen	0Hari	7,4333	,40415	3
	3Hari	7,5000	,00000	3
	6Hari	6,5000	,50000	3
	Total	7,1444	,58119	9
AirLautBiasa	0Hari	7,4333	,40415	3
	3Hari	6,8333	,28868	3
	6Hari	5,6667	1,04083	3
	Total	6,6444	,96839	9
Total	0Hari	7,4333	,36148	6
	3Hari	7,1667	,40825	6
	6Hari	6,0833	,86120	6
	Total	6,8944	,81636	18

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable: Organoleptik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	863,443 <sup>a</sup>	6	143,907	495,283	,000
MediaPenyimpanan	1,125	1	1,125	3,872	,073
LamaPenyimpanan	6,134	2	3,067	10,556	,002
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	,583	2	,292	1,004	,395
Error	3,487	12	,291		
Total	866,930	18			

a. R Squared = ,996 (Adjusted R Squared = ,994)



**Multiple comparisons**

Dependent variable: Organoleptik

	(I) Lama Penyimpanan	(J) Lama Penyimpanan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0Hari	3Hari	,2667	,31121	,676	-,5636	1,0969
		6Hari	1,3500*	,31121	,003	,5197	2,1803
	3Hari	0Hari	-,2667	,31121	,676	-1,0969	,5636
		6Hari	1,0833*	,31121	,012	,2531	1,9136
	6Hari	0Hari	-1,3500*	,31121	,003	-2,1803	-,5197
		3Hari	-1,0833*	,31121	,012	-1,9136	-,2531
LSD	0Hari	3Hari	,2667	,31121	,408	-,4114	,9447
		6Hari	1,3500*	,31121	,001	,6719	2,0281
	3Hari	0Hari	-,2667	,31121	,408	-,9447	,4114
		6Hari	1,0833*	,31121	,005	,4053	1,7614
	6Hari	0Hari	-1,3500*	,31121	,001	-2,0281	-,6719
		3Hari	-1,0833*	,31121	,005	-1,7614	-,4053

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,291.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Homogeneous subsets**

**Organoleptik**

	Lama Penyimpanan	N	Subset		Notasi
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	6Hari	6	6,0833		b
	3Hari	6		7,1667	a
	0Hari	6		7,4333	a
	Sig.		1,000	,676	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,291.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.



**ONEWAY**

**Descriptives**

Organoleptik

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A1B1	3	7,4333	,40415	,23333	6,4294	8,4373	7,00	7,80
A1B2	3	7,5000	,00000	,00000	7,5000	7,5000	7,50	7,50
A1B3	3	6,5000	,50000	,28868	5,2579	7,7421	6,00	7,00
A2B1	3	7,4333	,40415	,23333	6,4294	8,4373	7,00	7,80
A2B2	3	6,8333	,28868	,16667	6,1162	7,5504	6,50	7,00
A2B3	3	5,6667	1,04083	,60093	3,0811	8,2522	4,50	6,50
Total	18	6,8944	,81636	,19242	6,4885	7,3004	4,50	7,80

**ANOVA**

Organoleptik

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,843	5	1,569	5,398	,008
Within Groups	3,487	12	,291		
Total	11,329	17			

**Organoleptik**

	Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05		Notasi
			1	2	
Tukey HSD <sup>a</sup>	A2B3	3	5,6667		b
	A1B3	3	6,5000	6,5000	ab
	A2B2	3	6,8333	6,8333	ab
	A1B1	3		7,4333	a
	A2B1	3		7,4333	a
	A1B2	3		7,5000	a
	Sig.			,158	,276

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



**a. Mata**

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable:Mata

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	806.667 <sup>a</sup>	6	134.444	484.000	.000
MediaPenyimpanan	.889	1	.889	3.200	.099
LamaPenyimpanan	5.333	2	2.667	9.600	.003
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	.444	2	.222	.800	.472
Error	3.333	12	.278		
Total	810.000	18			

a. R Squared = ,996 (Adjusted R Squared = ,994)

**Tukey HSD**

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A2B3	3	5.667	
A1B3	3	6.333	6.333
A2B2	3	6.333	6.333
A1B2	3	7.000	7.000
A1B1	3		7.333
A2B1	3		7.333
Sig.		.077	.257

**b. Insang**

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable:Insang

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	767.000 <sup>a</sup>	6	127.833	383.500	.000
MediaPenyimpanan	1.389	1	1.389	4.167	.064
LamaPenyimpanan	4.333	2	2.167	6.500	.012
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	.778	2	.389	1.167	.344
Error	4.000	12	.333		
Total	771.000	18			



Tukey HSD

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A2B3	3	5.333	
A1B3	3	6.333	6.333
A2B2	3	6.333	6.333
A1B1	3		7.000
A1B2	3		7.000
A2B1	3		7.000
Sig.		.339	.719

c. Lendir permukaan badan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Lendir Permukaan Badan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	858.000 <sup>a</sup>	6	143.000	858.000	.000
MediaPenyimpanan	.222	1	.222	1.333	.271
LamaPenyimpanan	3.111	2	1.556	9.333	.004
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	.444	2	.222	1.333	.300
Error	2.000	12	.167		
Total	860.000	18			

a. R Squared = ,998 (Adjusted R Squared = ,997)

Tukey HSD

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A2B3	3	6.000	
A1B3	3	6.667	6.667
A1B2	3	7.000	7.000
A2B2	3	7.000	7.000
A1B1	3		7.333
A2B1	3		7.333
Sig.		.091	.395

**d. Daging**

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable:Daging

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	946.667 <sup>a</sup>	6	157.778	258.182	.000
MediaPenyimpanan	.222	1	.222	.364	.558
LamaPenyimpanan	7.111	2	3.556	5.818	.017
MediaPenyimpanan *	.444	2	.222	.364	.703
LamaPenyimpanan					
Error	7.333	12	.611		
Total	954.000	18			

a. R Squared = ,992 (Adjusted R Squared = ,988)

**Tukey HSD**

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
A1B3	3	6.333
A2B3	3	6.333
A2B2	3	7.333
A1B1	3	7.667
A2B1	3	7.667
A1B2	3	8.000
Sig.		.168

**e. Bau**

**Tests of between-subjects effects**

Dependent variable:Bau

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	935.000 <sup>a</sup>	6	155.833	155.833	.000
MediaPenyimpanan	2.722	1	2.722	2.722	.125
LamaPenyimpanan	6.333	2	3.167	3.167	.079
MediaPenyimpanan *	1.444	2	.722	.722	.506
LamaPenyimpanan					
Error	12.000	12	1.000		
Total	947.000	18			

a. R Squared = ,987 (Adjusted R Squared = ,981)



## Tukey HSD

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
A2B3	3	5.667	
A1B3	3	7.000	
A2B2	3	7.000	
A1B1	3	7.667	
A2B1	3	7.667	
A1B2	3	8.000	
Sig.		.114	

f. **Tekstur****Tests of between-subjects effects**

Dependent variable: Tekstur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	887.000 <sup>a</sup>	6	147.833	147.833	.000
MediaPenyimpanan	2.722	1	2.722	2.722	.125
LamaPenyimpanan	14.778	2	7.389	7.389	.008
MediaPenyimpanan * LamaPenyimpanan	1.444	2	.722	.722	.506
Error	12.000	12	1.000		
Total	899.000	18			

a. R Squared = ,987 (Adjusted R Squared = ,980)

## Tukey HSD

Perlakuan Penyimpanan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A2B3	3	5.000	
A1B3	3	6.333	6.333
A2B2	3	7.000	7.000
A1B1	3	7.667	7.667
A2B1	3	7.667	7.667
A1B2	3		8.000
Sig.		.058	.376

Lampiran 7. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Tempat Penyimpanan Ikan Tuna (Freezer)

a. Penambahan Gelembung Nano Nitrogen pada Penyimpanan



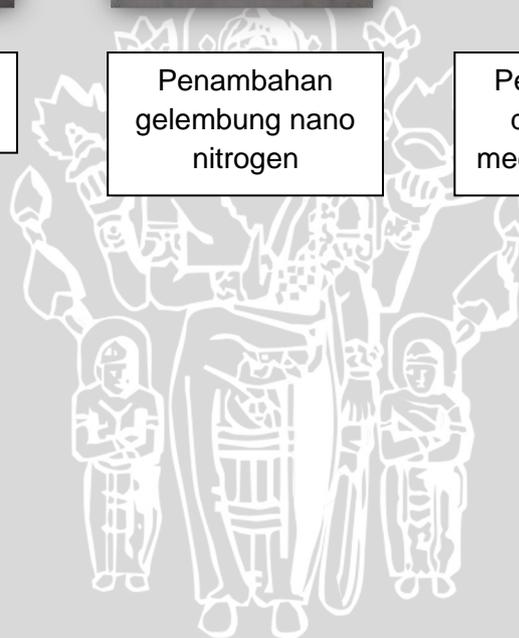
Air laut 100 L  
suhu 0-(-2)°C



Penambahan  
gelembung nano  
nitrogen



Pengukuran suhu  
dan DO air laut  
media penyimpanan



**b. Penyimpanan Ikan Tuna pada Media Penyimpanan**



Ikan segar dari TPI

Sortasi ikan tuna segar

Pendinginan sebelum perlakuan penyimpanan

Disimpan pada media perlakuan dengan suhu -2°C

Sampel ikan uji dibungkus plastik

Sampel diujikan pada lama penyimpanan 0, 3 dan 6 hari

• **Kadar TVB**  
Diuji di Balai Pengujian Mutu Pengolahan Hasil Perikanan dan Kelautan DKI Jakarta

• **Kadar histamin**  
• **Uji TPC**  
• **Uji organoleptik**  
Diuji di Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan (BPSHP)

