

ANALISIS BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN PADA IKAN TONGKOL DI PERAIRAN PASIE NAN TIGO KOTO TANGAH PADANG SUMATERA BARAT

Oleh:

Romi Kurniawan¹⁾, Dessy Yoswaty²⁾, Syahril Nedi²⁾

ABSTRACT

Tuna is one food that is consumed and if left at room temperature, then a process of deterioration to rot. Fish that has undergone a process of decay, when consumed can cause poisoning. Poisoning is caused by contamination with pathogenic bacteria decarboxylated amino acid histidine by the enzyme histidine decarboxylase produce histamine. The purpose of this study was to analyze the growth of histamine-forming bacteria in tuna that can cause disruption to public health. The method used in this study is an experimental method with a non-factorial completely randomized design by using 6 samples of tuna and 3 repetitions. Analysis of total histamine forming bacteria that has been done, where the selection results showed that a total of 6 samples of bacteria tuna ranged between 4.4×10^4 - 1.83×10^6 cells / gram. The total yield of bacteria that form is still below the threshold (less than or equal to 10^6). The results of this research can be a guide for further research using niven medium was modified in order to detect histamine-forming bacteria better.

Kata kunci : Ikan tongkol, histamin, dan bakteri.

1). Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

2). Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Ikan merupakan bahan makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai salah satu sumber protein hewani disamping sumber protein nabati. Ikan tongkol (*Eutynnus pelamys*) merupakan salah satu jenis ikan yang banyak terdapat di Propinsi Sumatera Barat serta merupakan hasil tangkapan yang utama bagi para nelayan. Kontribusi terbesar produksi perikanan di Provinsi Sumatera Barat dengan jumlah produksi 74.331 ton. Menurut Statistik Perikanan Tangkap Sumatera Barat, di Kabupaten Pesisir Selatan terdapat 98.432 ton ikan tangkap (Dinas Perikanan dan Kelautan 2011).

Ikan juga merupakan bahan makanan yang cepat mengalami proses pembusukan dibandingkan dengan bahan makanan lain. Bakteri dan perubahan kimiawi pada ikan mati yang menyebabkan pembusukan (Suriawiria, 2005). Ikan tongkol yang tergolong famili *scombroidea* jika dibiarkan pada suhu kamar, maka

segera akan terjadi proses pembusukan serta kandungan air yang cukup tinggi pada tubuh ikan juga merupakan media yang cocok untuk kehidupan atau pertumbuhan bakteri pembusuk atau mikroorganisme yang lain, sehingga ikan sangat cepat mengalami proses pembusukan dan menjadi tidak segar lagi. Jika ikan tongkol yang telah mengalami proses pembusukan ini dikonsumsi akan menyebabkan keracunan.

Keracunan disebabkan oleh kontaminasi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Enterobacteriaceae* dan lain-lain. Keracunan yang sering terjadi pada ikan tongkol yaitu keracunan histamin (*scombroid fish poisoning*). Ikan jenis ini mengandung asam amino histidin yang dikontaminasi oleh bakteri dengan mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase sehingga menghasilkan histamin (Meryandini *et al.* 2009). Menurut Madigan dan Martiko (2003), histamin merupakan modifikasi dari asam amino yang mengakibatkan alergi dengan gejala-gejala, seperti sulit bernafas, kulit merah/panas, gatal-gatal, timbul lendir, kudis dan mata berair.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol yang dapat menyebabkan gangguan terhadap kesehatan masyarakat. Manfaat dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi tentang pertumbuhan bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol yang dapat menyebabkan keracunan dan meningkatkan kesadaran masyarakat bagaimana cara melakukan pengolahan dan pemilihan ikan tongkol yang berkualitas baik.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan mulai dari tanggal 25 April sampai tanggal 15 Juni 2012 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Provinsi Sumatera Barat, secara geografis terletak pada posisi 0⁰53'47'' LU - 0⁰54'28'' LU dan 100⁰21'01'' BT - 100⁰22'24'' BT. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode survei. Sumber data terdiri atas data primer dan sekunder, dimana data primer diperoleh melalui pengamatan langsung di lapangan, kemudian dilanjutkan dengan menganalisis sampel di Laboratorium Terpadu Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau.

Pengukuran kualitas perairan laut dilakukan secara langsung pada perairan pantai Kelurahan Pasie Nan Tigo Kecamatan Koto Tangah Kota Padang. Peralatan untuk pengukuran kualitas air laut yaitu pengukuran suhu menggunakan *thermometer*, pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, salinitas dilakukan dengan menggunakan *Handrefractometer*, kecerahan perairan dilakukan dengan menggunakan *Secchi disc*, dan kedalaman dilakukan dengan menggunakan *Eccho sounder*.

Alat yang digunakan untuk analisis bakteri pembentuk histamin yaitu sarung tangan, inkubator, autoklaf, pipet tetes, botol, plastik sampel steril, mikroskop, tabung reaksi, kompor listrik, colony counter, cawan petri, jarum oase, aluminium foil, tissue, kapas, pisau, pinset, timbangan, mortal steril, kontainer (*cool box*) dan lampu bunsen.

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap *non factorial*. Sampel ikan yang diuji pada penelitian ini adalah ikan tongkol (*Eutynnus pelamys*) segar dengan ukuran ± 1 kg/ekor sebanyak 6 ekor, yang diperoleh dari TPI di Kelurahan Pasie Nan Tigo Kecamatan Koto Tangah Kota Padang Provinsi Sumatera Barat.

Sampel ikan tongkol segar diambil utuh tanpa dibersihkan dan dipotong, sampel dimasukkan ke dalam ice box yang steril. Berat sampel ikan tongkol segar ditimbang dan dicatat (± 1 kg/ekor), dimasukkan kedalam kontainer dan dibawa ke laboratorium selama kurang dari 12 jam. Sebelum pengambilan sampel, semua plastik/botol sampel disterilkan dengan chromic acid atau rinsed (HNO_2) 10% sel. Peralatan ini dibilas dengan air destilasi sebanyak 3 kali, dikeringkan dalam oven pada suhu 30°C .



Larutan niven agar disiapkan dan campurkan semua bahan, yaitu 5,0 g/l trypton, 5,0 g/l yeast ekstrak, 23,5 g/l L-histidin, 5,0 g/l NaCl, 15 g/l technical agar, 0,2 g/l cresol red, kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan diencerkan dengan aquades sebanyak 1 liter kemudian dipanaskan hingga mendidih, lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 2 jam (Lampiran 5).

Medium niven dibuat 3 kali pengulangan, dari setiap pengulangan dimasukkan sebanyak 1 ml larutan sampel ke dalam cawan petri, lalu niven agar cair (dengan suhu ruang, + 30.5°C) dituangkan ke dalam cawan petridis, ditunggu sampai membeku. Setelah membeku, koloni bakteri yang telah tumbuh pada media NA (natrium Agar) dipindahkan ke media Niven agar yang telah membeku dengan cara metode gores, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24-48 jam.

Satu koloni bakteri yang tumbuh pada media nivens direnokulasi lagi ke media nivens yang baru dan dibuat metode gores untuk masing-masing koloni yang berbeda. Kemudian diinkubasi lagi pada suhu 35 °C selama 24-48 jam, dan direnokulasi lagi sampai 3 kali pengulangan.

Setelah itu di inkubasi, dan jumlah koloni dihitung yang merah muda dengan latar belakang kuning dan *orange*.



Cara menghitung koloni akan lebih mudah dan cepat jika pengenceran dilakukan secara desimal. Penghitungan jumlah koloni dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah koloni} = \text{jumlah koloni} \times 1/\text{factor pengenceran per cawan}$$

Uji Konfirmasi pada L. Histidine Decarboxylase Broth dilakukan dengan satu koloni bakteri yang tumbuh pada media nivens direnokulasi lagi ke media nivens yang baru dan dibuat metode gores untuk masing-masing koloni yang

berbeda. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Satu loop penuh dari koloni bakteri yang tumbuh pada media nivenis yang ada pada cawan Petridis, dibuat metode gores dipindahkan ke dalam L. histidine decarboxylase broth pada tabung reaksi dan dibuat 3 kali ulangan, dan diinkubasi tabung reaksi dalam incubator pada suhu 35 °C selama 24-48 jam. Reaksi positif apabila warna broth berubah dari merah jambu kecoklatan (jernih) ke warna ungu tua jernih.

Identifikasi Isolat Bakteri Pembentuk Histamin dengan Serangkaian Uji Kimia diantaranya adalah pewarnaan gram, uji Motilitas, Katalase, Oksidase, Sulfida (H₂S), Indole, uji Methyl Red (MR Test), uji Reduksi Nitrat dan uji Dekarboksilase. Menurut Irianto (2006), langkah-langkah pengecatan gram adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Langkah-Langkah Pengecatan Gram

Perlakuan	Waktu	Bakteri	
		Gram Positif	Gram negative
Kristal violet cuci dengan air	1 menit	Ungu	Ungu
Larutan iodine Cuci dengan air dan keringkan	15 detik	-	-
Dekolorisasi dengan alcohol Cuci dengan air dan keringkan	15 detik	Ungu	Warna Luntur
Zat warna kontras Cuci dengan air dan keringkan	15 detik	Ungu	Warna Kontras

Uji Anaerob menggunakan media agar steril didinginkan sampai suhu 45⁰C dalam *water bath*. Inokulasi 2 tetes kultur bakteri kedalam tabung yang berisi media agar. Kemudian tabung diputar dengan kuat tangan kekiri dan kekanan agar bakteri merata. Inkubasi pada suhu 30 ⁰C selama 24 sampai 48 jam. Apabila koloni menumpuk didasar (bakteri anaerob), bila tumbuh dipermukaan (bakteri aerob), bila menyebar dalam media dan permukaan (anaerob fakultatif).

Perhitungan total bakteri dilakukan pada hari pertama inkubasi sampai hari ketujuh inkubasi untuk mengetahui banyaknya jumlah bakteri yang tumbuh pada medium NA. Perhitungan bakteri dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Totl.koloni(CFU/gr ikan tongkol)} = \frac{\text{jmlh koloni/cawan petri} \times \text{Fak pengenceran}}{\text{gr ikan tongkol}}$$

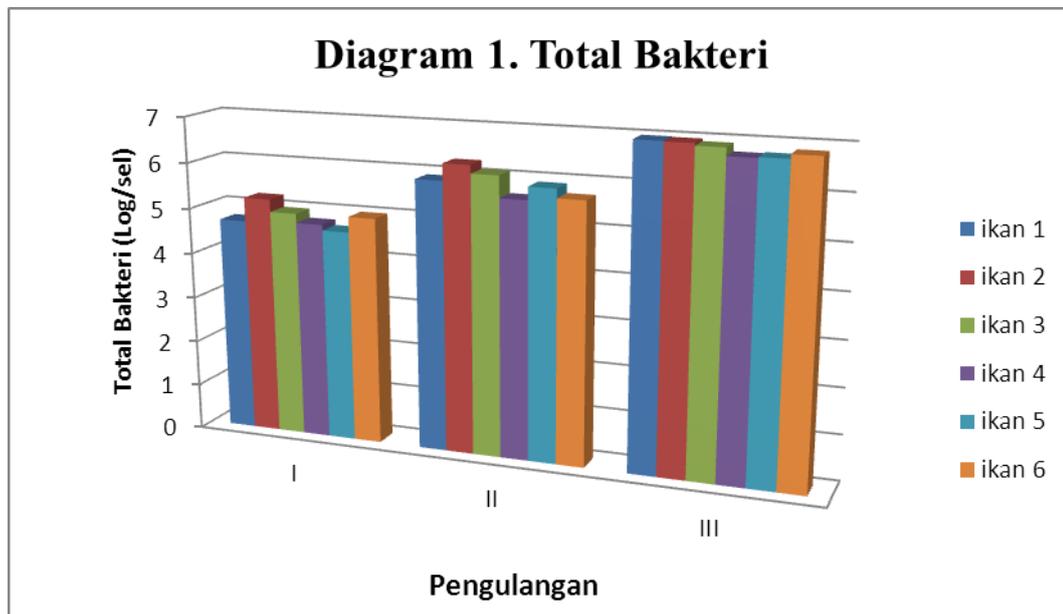
Hasil pengamatan bakteri pembentuk histamin menunjukkan bahwa keseluruhan bakteri yang telah isolasi dari ikan tongkol segar dengan 3 kali pengulangan (10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5}), mempunyai kemampuan untuk memproduksi histamin. Hasil pengamatan bakteri pembentuk histamin dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Analisis Total Bakteri Pembentuk Histamin

Sample Ikan	Ulangan dan Total Bakteri (sel/gram)		
	I	II	III
Ikan 1	5.2×10^4	7.9×10^5	9.5×10^6
Ikan 2	1.73×10^5	1.83×10^6	9.2×10^6
Ikan 3	9.3×10^4	1.22×10^6	8.2×10^6
Ikan 4	5.8×10^4	4.1×10^5	5.5×10^6
Ikan 5	4.4×10^4	7.8×10^5	5.8×10^6
Ikan 6	9.7×10^4	5.0×10^5	7.2×10^6

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa jumlah total bakteri dari 6 sampel ikan tongkol dan 3 kali pengulangan berkisar antara 4.4×10^4 – 1.83×10^6 sel/gram. Jumlah bakteri pembentuk histamin terendah pada pengulangan I terdapat pada ikan 5 yaitu 4.4×10^4 sel/gram dan tertinggi terdapat pada ikan 2 yaitu 1.73×10^5 sel/gram. Pada pengulangan ke II, jumlah bakteri terendah terdapat pada ikan 4 yaitu 4.1×10^5 sel/gram dan tertinggi terdapat pada ikan 2 yaitu 1.83×10^6 sel/gram. Pada pengulangan III jumlah bakteri terendah terdapat pada ikan 4 yaitu 5.5×10^6 sel/gram dan jumlah bakteri tertinggi terdapat pada ikan 1 yaitu 9.5×10^6 sel/gram. Hasil total bakteri yang terbentuk masih dibawah ambang batas. Menurut Wibowo dan Ristanto (1988), menyatakan bahwa ikan berkualitas baik apabila jumlah bakteri/gram sampel kurang dari atau sama dengan 10^6 .

Rata – rata total bakteri pembentuk histamin dapat dilihat pada Diagram 1. berikut.



Berdasarkan diagram 1. diatas, dapat dilihat bahwa total bakteri pembentuk histamin terendah pada pengulangan I, dan yang tertinggi pada pengulangan III.

Hasil uji konfirmasi bakteri pembentuk histamin pada semua sampel penelitian yaitu terdapat bakteri pembentuk histamin dalam medium L. Histidin Decarboxylase Broth, dimana sampel diamati pada ulangan 1, 2, dan 3. Hal ini menunjukkan bakteri pembentuk histamin positif pada semua sampel dengan ditandai terjadinya perubahan warna ungu pada medium.

Menurut Yoswaty (2005), menyebutkan ada beberapa jenis ikan dari famili Scombridae mempunyai kandungan histidin bebas yang tertinggi seperti tongkol mencapai 491 mg/100g daging, mahi-mahi 344 mg/100g, cakalang 1192 mg/100g, tuna ekor kuning 740 mg/100g, kembung 600 mg/100g dan albakor 2 g/100g. Ikan yang mengandung histidin bebas lebih dari 100 mg/100g daging, maka mampu menghasilkan histamin.

Pertumbuhan bakteri pembentuk histamin juga dapat dilihat dari uji biokimia isolat yang menggunakan beberapa bahan kimia, dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Isolat

Uji biokimia	Isolat					
	Ikan 1	Ikan 2	Ikan 3	Ikan 4	Ikan 5	Ikan 6
Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+
Katalase	-	-	-	-	-	-
Oksidase	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indol	+	+	+	+	+	+
Methyl red	-	-	-	-	-	-
Nitrat	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dekarboksilase	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anaerob	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Keterangan: ND : tidak ada data

+ : terjadi perubahan

- : tidak terjadi perubahan

Berdasarkan Tabel 3 diatas dapat dilihat bahwa pewarnaan gram dengan menggunakan kristal violet dan larutan iodium dihasilkan sel berwarna biru. Pewarnaan dengan menggunakan larutan pemucat (alkohol 95%) sel tidak berwarna, sedangkan pewarnaan dengan safranin dihasilkan sel berwarna merah. Jadi kesimpulan dari pewarnaan dengan menggunakan beberapa larutan, didapatkan bakteri gram negatif.

Hasil uji negatif pada uji katalase, uji dan uji *methyl red*. Isolat yang memberikan hasil uji positif yaitu pada uji Motility, uji Oksidase, dan uji Indol. Uji H₂S, Nitrat, Dekarboksilase, dan Anaerob tidak ada data, karena larutan yang akan digunakan tidak tersedia di laboratorium terpadu.

Penyebab perbedaan bakteri dalam pewarnaan Gram adalah struktur dinding sel dan komposisi dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram negatif mengandung lipid dalam presentase lebih tinggi dibanding yang dikandung bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang lebih tipis dibanding dinding sel bakteri Gram positif. Perlakuan dengan alkohol terhadap bakteri Gram negatif menyebabkan larutnya lipid/lemak oleh larutan pemucat (alkohol) atau dengan kata lain lipid terekstraksi sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel Gram negatif.

Pengukuran parameter lingkungan diperairan Pasie Nan Tigo dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Parameter Kualitas Perairan

Waktu	Ulangan	Salinitas (‰)	Suhu (⁰C)	pH	Kedalaman (M)
Pagi	I	28	27	6	10
	II	27	29	7,5	10
	III	29	30	7,3	10
Rata- rata		28	28,6	6,93	10
Siang	I	29	29	7,5	10
	II	29	30	7	10
	III	28	30	6,8	10
Rata- rata		28,6	29,6	7,1	10
Malam	I	28	28	7,8	10
	II	29	29	7	10
	III	27	27	7,3	10
Rata- rata		28	28	7,36	10

Hasil pengukuran parameter perairan pada pagi, siang dan malam hari, dapat dilihat bahwa rata – rata salinitas lingkungan perairan di perairan Pasie Nan Tigo berkisar antara 28 – 28,6 ‰, rata – rata suhu lingkungan perairan berkisar antara 28 - 29,6⁰C, rata – rata pH lingkungan perairan berkisar antara 6,93 – 7,36 sedangkan rata – rata kedalaman perairan pasie nan tigo adalah 10m.

Salinitas pada suatu tempat berubah menurut ruang dan waktu secara harian sesuai dengan pasang surut perairan dan waktu pengukuran. Apabila terdapat konsentrasi DO sangat rendah, maka mikroorganisme aerobik tidak dapat hidup dan berkembang biak, tetapi sebaliknya yang bersifat anaerobik akan menjadi aktif memecah bahan organik secara anaerobik tanpa oksigen.

Jumlah dan jenis mikroorganisme di dalam air dipengaruhi oleh faktor fisika dan kimia seperti suhu, pH, tekanan osmotik, tekanan hidrostatik, aerasi dan penetrasi sinar matahari serta jenis bahan polutan yang masuk ke perairan tersebut.

Kualitas perairan di pasie nan tigo memiliki salinitas antara 28 – 28,6 ‰, yang berarti bahwa salinitas didaerah tersebut tidak dipengaruhi oleh aliran sungai. Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktifitas ion hydrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hydrogen diperairan tersebut.

Kedalaman perairan sangat berpengaruh terhadap kualitas air pada lokasi tersebut. Lokasi yang dangkal akan lebih mudah terjadinya pengadukan dasar akibat dari pengaruh gelombang yang pada akhirnya kedalaman perairan lebih dari 3 m dari pengaruh gelombang yang pada akhirnya kedalaman perairan lebih dari dasar jaring. Oleh karena itu diperlukan suatu cara tertentu untuk menentukan kualitas perairan baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang bakteri pembentuk histamin pada ikan tongkol di perairan Pasie Nan Tigo, ditemukan bahwa bakteri pembentuk histamin terdapat pada ke 6 sampel ikan tongkol. Faktor penyebab adanya bakteri pembentuk histamin berhubungan dengan keadaan parameter fisika-kimia. Hal ini terlihat dari parameter kualitas perairan yang masih dalam kisaran keadaan optimal dalam menopang kehidupan mikroorganisme pada perairan tersebut.

Total bakteri pembentuk histamin dari 6 sampel ikan tongkol dan 3 kali pengulangan di dapatkan total hasil terendah pada pengulangan I, ikan 5 yaitu 4.64 sel/gram dan tertinggi pada pengenceran III, ikan 1 yaitu 6.97 sel/gram. Hasil total bakteri pembentuk histamin tersebut masih layak dikonsumsi, karena jumlah tersebut masih dibawah ambang batas.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dilanjutkan dengan cara penggunaan medium Niven yang telah dimodifikasi, supaya mampu mendeteksi bakteri pembentuk histamin dengan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaraneni, S.R. 2002. Persistence of pesticides in water, sediment and fish from fish farms in Kolleru Lake India. *Journal of food science and technology* 82(8): 918-923.
- Cappuccino, J. G. & N. Sherman. 2001. *Microbiology: a laboratory manual*. New York: State University of New York.
- Dinas Perikanan dan Kelautan. 2011. *Laporan tahunan*. Sumatera Barat: Dinas Perikanan Daerah Tingkat I Propinsi Sumatera Barat.
- Djuhandha, T. 1981. *Dunia Ikan*. Bandung: Penerbit CV. Armico.

- Feliatra. 2000. Identifikasi bakteri patogen (*vibrio sp*) di perairan Nongsa Batam Propinsi Riau. *Journal Natur Indonesia*. Volume II Nomor 1 Oktober 1999 - Februari 2000. Lemlit UNRI.
- Food Chemistry. 2008. Determination of histamine and histamine-forming bacteria.
- I G. Pandit, S. The Effect Of Dressing and Storage Temperature on Chemical, Microbiological and Organoleptic Quality of Frigate Mackerel Fish
- Indriati, N., Rispayeni. & Heruwati, E.S. 2006. Studi Pembentuk Histamin pada Ikan Kembung Peda Selama Pengolahan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* Vol. 1 No. 2.
- Kim, S.H., Barros-Velazquez, J., Ben-Gigrey, B., Eun, J.B., Jun, S.H., Wei, C.I. and An, H.J. 2003. Identification of the main bacteria contributing to histamine formation in seafood to ensure products safety. *J. food Sci. Biotechnol.* 12(4): 451-460.
- Junianto. 2003. *Teknik Penanganan Ikan*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Keer M, Paul L, Sylvia A .2002. *Effect of Storage Condition on Histamin Formation in Fresh and Canned Tuna. Commision by Food Safety Unit*. Dalam www.foodsafety.vic.gov.au. (12 April 2008).
- Kunarso, D. H. 1989. teknik membrane filter untuk mendeteksi bakteri pencemar. *Oceana*. 4: 133-134.
- Lehane, L. & Olley, J. 2000. Histamine Fish Poisoning Revisited. *Int. J. Food Microbiol.* 58: 1-37.
- Madigan, M. T., dan J. M. Martinko., 2003. *Biology of Microorganisms*. Southern Illinois University Carbondale. Tenth Edition. 1019 hal.
- Mangunwardoyo W, Sophia RA, Heruwati ES. 2007. Seleksi dan pengujian aktivitas enzim l-histidine decarboxilase dari bakteri pembentuk histamin. *Macara, Sains* 11: 104-109.
- Meryandini Anja *et al.* 2009. Isolasi bakteri dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 2009; 13: 33-38.
- Nursyirwani. 1992. *Pembentukan histamin secara bakteriologis pada ikan atlantik makarel (Scomber scombrus)*. Efek waktu dan kalium sorbat dalam penanganan. Pekanbaru: Lembaga Penelitian Universitas Riau.

- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Rinto. 2007 Kandungan Histamin selama Proses Produksi dan Penyimpanan Produk Perikanan. Unsri: Dipublikasikan dalam Konggres Ilmu Pengetahuan Wilayah Indonesia Barat.
- Saanin, T. 1984. *Taksonomi dan kunci identifikasi ikan: bagian I*. Bandung: Bina Cipta.
- Setiyono IK. 2006. Factors affecting histamine level in Indonesian canned albacore tuna (*Thunnus alalunga*). [tesis]. Departemen of Marine Biotechnology. University of Tromse. Norway.
- Sugandhi. 2007. *Permasalahan dan kiat eksportir tuna. Seminar Tuna Nasional Dalam Menghadapi Era Globalisasi*. Jakarta : Asosiasi Tuna Nasional.
- Sumner J, Ross T, Ababouch L. 2004. *Application of Risk Assessment in the Fish Industry*. Roma: FAO.
- Suriawiria. 2005. Pengujian Mutu Hasil perikanan yang aman bagi Kesehatan. Jakarta: Jasa Boga.
- Tibbetts, J. 2001. Aquaculture: satisfying the global appetite. *Environmental health perspectives* 109 (7): 318-323.
- Yoswaty, D. 2005. Analisis Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan Tongkol diperairan Pantai Kecamatan Dumai Barat. Pekanbaru: Penelitian PHK-A2