

Ind. J. Chem. Res., 2015, 2, 190 - 196**EFFECT OF TAMARIND (*Tamarindus indica* L.) EXTRACT TO HISTAMINE CONTENT IN BULLET TUNA (*Auxis rochei*)****Pengaruh Ekstrak Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Terhadap Kandungan Histamin Daging Ikan Komu (*Auxis rochei*)****Nikmans Hattu¹, Jolantje Latupeirissa¹, Astrid Latupeirissa¹**¹*Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Pattimura University, Kampus Poka, Jl. Ir. M. Putuhena, Ambon 97134** *Corresponding author, e-mail: nickhattu@fmipa.unpatti.ac.id*

Received: October 2014 Published: January 2015

ABSTRACT

The research to determine histamine content in bullet of tuna (*Auxis rochei*) with variation of tamarind (*Tamarindus indica* L.) extract concentrations and time of marinate has been done. The histamine content is determined quantitatively by using ultraviolet-visible spectrophotometer with the calibration curve method. The result showed that histamine content in bullet tuna marinated in tamarind extract with varied concentrations of 5%, 10%, 15%, and 20% within 10 minutes, are 37.4561, 35.3041, 23.8778, and 22.1186 mg/100 g respectively. While, the concentrations of histamine in bullet tuna marinated in 20% of tamarind extract with variation of 10, 20, 30, 40, and 50 minutes, are 22.2965, 19.7544, 17.6925, 11.5865, and 8.0396 mg/100 g respectively. A qualitatively, visual comparison of colour intensity of samples with reference colour scale of the standard solution concentration can be used to determine concentrations of histamine without the aid of a spectrophotometer.

Keywords: *Bullet tuna, histamine, tamarind, spectrophotometer.*

PENDAHULUAN

Ikan merupakan kelompok utama biota laut yang memiliki jumlah spesies terbanyak (lebih dari 2000 spesies) setelah moluska atau kerang-kerangan (2500 spesies). Beberapa spesies diketahui mempunyai nilai ekonomi di bidang perikanan, yang dikategorikan ke dalam 5 kelompok, yaitu ikan pelagis besar, ikan pelagis kecil (ikan yang hidup pada atau dekat permukaan laut), ikan karang, ikan hias, dan ikan demersial (ikan yang hidup di atau dekat dasar laut) (Dahuri, 2003).

Ikan merupakan makanan fungsional yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat setiap harinya, terutama di Maluku. Ikan yang terdapat di perairan Maluku beraneka ragam, mulai dari jenis ikan pelagis, ikan karang sampai dengan ikan demersial atau ikan dasar. Ikan pelagis merupakan jenis ikan yang banyak diperoleh di pasar komersial. Selain itu, ikan-ikan jenis ini bernilai ekonomis tinggi, sehingga banyak juga dipasok untuk kebutuhan ekspor.

Pada beberapa jenis ikan, khususnya dari famili *scombroidae* yang memiliki daging merah, kerusakan oleh aktivitas bakteri maupun enzim dapat menghasilkan racun yang disebut scombrotoksin. Senyawa yang bersifat racun tersebut adalah histamin (Rawles dkk., 1995).

Gejala klinis keracunan akibat mengkonsumsi makanan/produk makanan yang mengandung histamin dalam jumlah tinggi berupa muntah-muntah, rasa terbakar pada kerongkongan, bibir bengkak, sakit kepala, kejang, mual, muka dan leher kemerahan, gatal-gatal, serta badan lemas. Gejala keracunan histamin sekilas mirip dengan gejala alergi yang dialami oleh orang yang sensitif terhadap makanan dan produk olahan yang berasal dari ikan dan makanan laut lainnya. Sehingga orang sering keliru membedakan gejala keracunan histamin dengan alergi (Taylor, 1986). Salah satu faktor pembentukan histamin yaitu tingkat histidin yang tinggi dalam daging ikan scombroid seperti makarel, tuna, sarden dan

spesies lain. Ini yang menyebabkan keracunan (Lehane dan Olley, 1999).

Dotulong (2009) telah melakukan penelitian mengenai pengaruh asam asetat terhadap kadar histamin ikan tongkol (*Auxis thazard*) asap. Hasilnya mengungkapkan bahwa semakin tinggi konsentrasi asam asetat dan semakin lama perendaman menghasilkan kadar histamin yang semakin rendah pada ikan tongkol asap. Pada suhu ruang (30 °C), semakin lama waktu penyimpanan, konsentrasi histamin pada ikan komu (*Auxis rochei*) semakin meningkat. Setelah 6 jam, ikan tidak bisa dikonsumsi karena kandungan histamin yang cukup tinggi (≥ 50 mg/100 g) (Gaspersz, 2012).

Samudra (1992) melakukan penelitian mengenai pengaruh asam jawa terhadap pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam jawa bersifat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Efek penghambatan yang disebabkan asam jawa karena pengaruh pH yang ditimbulkannya, bukan karena aktivitas senyawa antimikroba.

Kadar histamin dianalisis Mangunwardoyo dkk., (2007) menggunakan modifikasi metode spektrofotometri menurut Hardy dan Smith (1976). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 495 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan menggunakan larutan diazonium sebagai pereaksi. Sementara itu, Gaspersz (2012) dan Oucif dkk., (2012) menggunakan metode kolorimetri yang menggunakan pereaksi warna p-fenildiazonium sulfonat yang mampu bereaksi dengan histamin dan sampel ikan, dan diukur dengan panjang gelombang 497,8 nm.

Penelitian mengenai histamin pada ikan komu telah dilakukan oleh peneliti terdahulu, namun demikian penelitian mengenai pengaruh asam terhadap kandungan histamin pada ikan komu masih terbatas, sementara pemakaian asam pada ikan sudah menjadi kebiasaan konsumen. Selain itu, ikan komu termasuk jenis ikan scombroidae yang berpotensi menimbulkan keracunan histamin. Informasi tentang perkembangan histamin akan sangat diperlukan untuk menghindari kemungkinan terjadinya keracunan. Untuk itu, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul "Pengaruh Ekstrak Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap

Kandungan Histamin Daging Ikan Komu (*Auxis rochei*)".

METODOLOGI

Bahan

Peralatan-peralatan gelas (Pyrex), Neraca Analitik (Adventure Pro AV264C), Blender (Miyako), Pemanas Listrik (Cimarec 2), Refrigerator (LG), Sentrifuge (Labofuge 200-Heraeus), Spektrofotometer UV-Vis (Apel PD-303S Spectrophotometer).

Alat

Sampel ikan komu (*Auxis rochei*), Asam jawa (*Tamarindus indica* L.), Asam sulfanilat (E. Merck), Asam klorida (E. Merck), Natrium nitrit (E. Merck), Natrium klorida (E. Merck), Natrium sulfat anhidrous (E. Merck), Natrium fosfat monohidrat (E. Merck), Natrium karbonat (E. Merck), n-butanol (E. Merck), Histamin dihidroklorida (E. Merck), Akuades, Kertas saring Whatman No. 42, pH Indikator Universal.

Prosedur Kerja

Persiapan sampel

Ikan komu dicuci bersih, diambil daging ikan bagian dorsal (tanpa kulit) diambil dari bagian tubuh ikan komu. Selanjutnya diiris tipis dan direndam pada larutan ekstrak asam jawa 5%, 10%, 15%, dan 20% (b/v), selama 10 menit kemudian dicuci kembali dengan akuades. Asam jawa diambil daging buahnya dan ditimbang sebesar 5 g untuk konsentrasi 5%, 10 g untuk konsentrasi 10%, 15 g untuk konsentrasi 15%, dan 20 g untuk konsentrasi 20%. Daging buah asam jawa diletakkan dalam gelas piala dan ditambahkan dengan akuades kemudian dihancurkan daging buahnya dan diaduk. Air hasil adukan disaring dengan kain saring untuk mendapatkan ekstrak asam jawa kemudian dimasukkan ke dalam labu takar hingga volume mencapai hampir 100 mL. Jika volume telah hampir mencapai 100 mL maka air dalam labu ukur dikeluarkan kembali dan melarutkan daging buah yang ada dalam gelas piala dan disaring lagi. Jika telah terlarut seluruhnya, ditambah dengan akuades hingga tanda batas. Ukur pH-nya. Percobaan dilakukan untuk tiga kali ulangan. Selanjutnya terhadap salah satu hasil dilakukan variasi untuk waktu perendaman selama 10, 20, 30, 40, dan 50 menit.

Pembuatan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat

Campuran 1,5 mL asam sulfanilat 0,9% (b/v) dalam HCl 4% dan 1,5 mL NaNO₂ 5% (b/v) direndam dalam air es selama 5 menit. Larutan NaNO₂ 5% 6 mL ditambahkan dan didiamkan selama 5 menit. Volume ditepatkan menjadi 50 mL dengan akuades dingin. Kemudian, pereaksi disimpan dalam rendaman es selama 15 menit. Selanjutnya didiamkan selama 12 jam dan siap digunakan.

Ekstraksi histamin

Irisan tipis daging ikan komu ditimbang sebanyak kurang lebih 5 g. Sampel dihomogenkan dengan 20 mL larutan NaCl 0,85% (b/v) selama 2 menit menggunakan *blender*. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge* 75 mL dan disentrifuge pada 5300 rpm selama 1 jam. Supernatan yang terbentuk dibuat menjadi 25 mL dengan larutan NaCl 0,85%. Ekstrak digunakan untuk analisis selanjutnya.

Dalam tabung reaksi, 1 mL ekstrak diencerkan menjadi 2 mL dengan larutan NaCl 0,85 % dan 0,5 g campuran garam (berisi 6,25 g Na₂SO₄ anhidrat yang ditambahkan 1 g Na₃PO₄·H₂O), larutan tercampur secara merata. Kemudian ditambahkan 2 mL n-butanol dan dikocok sekuat mungkin selama 1 menit dan didiamkan selama 2 menit dan dihomogenkan agar terjadi kerusakan pada gel protein. Tabung kemudian dikocok beberapa menit dan disentrifuge pada 3100 rpm untuk 10 menit. Butanol yang terletak di bagian atas (sekitar 1 mL) dipindahkan ke dalam tabung bersih dan kering. Selanjutnya diuapkan menjadi benar-benar kering. Residu dilarutkan di dalam 1 mL akuades dan kemudian direaksikan dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat.

Analisis secara spektrofotometri

Tabung reaksi yang bersih berisi 5 mL larutan Na₂CO₃ 1,1% ditambahkan perlahan-lahan 2 mL pereaksi p-fenildiazonium sulfonat dan dicampur. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan residu yang diperoleh dari proses ekstraksi ke dalam tabung. Absorbansi dari warna yang dihasilkan diukur secepatnya setelah 5 menit pada panjang gelombang 497,8 nm menggunakan akuades sebagai blanko.

Konsentrasi histamin dalam sampel diperoleh dari kurva standar untuk pengukuran absorbansi pada 497,8 nm dengan analisis regresi.

Histamin dihidroklorida (165,5 mg, BM = 184 g/mol) dilarutkan dalam 100 mL akuades sampai mencapai konsentrasi 1000 ppm histamin bebas. Larutan histamin standar 1000 ppm kemudian diencerkan dengan akuades untuk memperoleh konsentrasi 100 ppm, yang akan diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 5, 10, 20, 40, 60, dan 80 ppm.

Sebanyak 1 mL larutan standar histamin dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, 60, dan 80 ppm direaksikan dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 497,8 nm (sesuai dengan prosedur III.3.4). Selanjutnya dibuat kurva absorbansi versus konsentrasi histamin.

Data hasil analisis kadar histamin dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS. Analisis meliputi analisis sidik ragam atau ANOVA. Apabila hasil analisis data menunjukkan hasil yang berbeda nyata, maka dilakukan 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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kualitatif Histamin

Analisis kualitatif kandungan histamin menggunakan metode kolorimetri. Prinsip kerjanya yaitu ekstraksi histamin, diikuti dengan sentrifugasi, ekstraksi dengan n-butanol dan penguapan sebelum reaksi kolorimetri dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat. Intensitas warna dari kuning hingga orange dapat diperiksa secara visual dengan perbandingan skala warna (Etienne dkk., 2006).

Dalam penelitian ini dibuat larutan standar histamin dengan 6 konsentrasi berbeda, yaitu 5, 10, 20, 40, 60, dan 80 ppm. Larutan standar ini direaksikan dengan pereaksi p-fenildiazonium sulfonat sehingga timbulnya warna kuning hingga orange yang mengidentifikasi adanya histamin. Dalam Gaspersz (2012), intensitas warna yang dihasilkan pada tiap konsentrasi histamin dalam sampel berbanding lurus dengan

skala warna referensi dan absorbansi dari histamin standar yang diukur pada panjang gelombang 497,8 nm pada konsentrasi yang sama.

Ekstraksi histamin daging ikan dengan larutan NaCl 0,85% (b/v) diamati untuk mendapatkan ekstrak histamin yang diinginkan. Ijong dan Ohta (1996) menyatakan bahwa garam merupakan bahan bakteriostatik. Garam berperan sebagai penghambat selektif pada mikroorganisme tertentu. Mikroorganisme pembusuk paling mudah terpengaruh walau dengan kadar garam yang rendah sekalipun. Selain itu, garam dapat mempengaruhi aktivitas air dari bahan, sehingga dapat mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme (Buckle dkk., 2007).

Analisis Kuantitatif Histamin

Analisis kuantitatif kandungan histamin menggunakan metode kurva kalibrasi. Enam konsentrasi larutan standar histamin dianalisis pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 497,8 nm untuk mengetahui nilai absorbansinya. Pada plot kalibrasi, hubungkan konsentrasi histamin dengan nilai absorbansi pada spektrofotometer. Selanjutnya hitung konsentrasi histamin sampel.

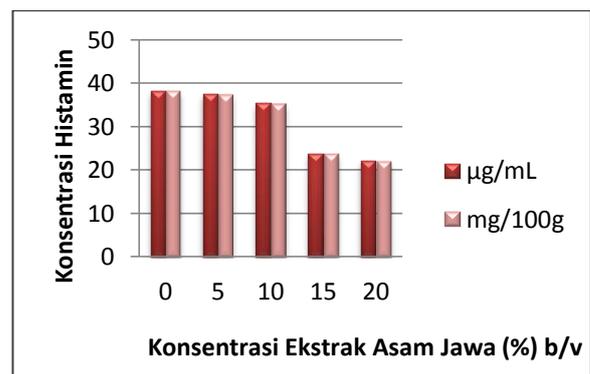
Hasil analisis kandungan histamin rata-rata dalam daging ikan komu berdasarkan variasi konsentrasi ekstrak asam jawa diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis kandungan histamin ikan komu yang direndam selama 10 menit

Perlakuan	Konsentrasi histamin	
	$\mu\text{g/mL}$	$\text{mg}/100\text{ g}$
Kontrol	38,2777	38,2157
Penambahan ekstrak asam jawa 5%	37,5000	37,4561
Penambahan ekstrak asam jawa 10%	35,3888	35,3041
Penambahan ekstrak asam jawa 15%	23,8888	23,8778
Penambahan ekstrak asam jawa 20%	22,1666	22,1186

Berdasarkan Tabel 1 dengan penambahan variasi konsentrasi ekstrak asam jawa, kandungan histamin dalam daging ikan komu menurun dari 37,4561 mg/100 g sampai 22,1186 mg/100 g sampel. Kandungan tertinggi ditemukan pada sampel daging ikan komu yang

ditambahkan larutan ekstrak asam jawa 5%, sedangkan kandungan terendah ditemukan pada sampel daging ikan komu yang ditambahkan larutan ekstrak asam jawa 20%. Data analisis kandungan histamin menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi ekstrak asam jawa yang ditambahkan pada sampel daging ikan komu maka semakin rendah kandungan histamin dalam sampel daging ikan komu tersebut. Hal ini menggambarkan bahwa pH rendah (berkisar antara 2 sampai 4) pada ekstrak asam jawa dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun enzim. Hubungan perubahan kandungan histamin daging ikan komu terhadap konsentrasi ekstrak asam jawa diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Perubahan Konsentrasi Histamin Ikan Komu terhadap Konsentrasi Ekstrak Asam Jawa

Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa kandungan histamin ikan komu mengalami penurunan setelah direndam selama 10 menit dalam larutan ekstrak asam jawa. Namun, kandungan histamin ikan komu yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 5% dan 10% tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap ikan komu kontrol (ekstrak asam jawa 0%) dalam pencegahan pembentukan histamin. Ikan komu kontrol yang mengandung 38,2157 mg/100 g histamin, setelah direndam dalam ekstrak asam jawa 5% dan 10% mempunyai kadar histamin 37,4561 mg/100 g dan 35,3041 mg/100 g. Berbeda dengan kandungan histamin ikan komu yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 15% dan 20% yang berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap ikan komu kontrol (ekstrak asam jawa 0%) dalam pencegahan pembentukan histamin. Ikan komu kontrol mengandung 38,2157 mg/100

g histamin, setelah direndam dalam ekstrak asam jawa 15% dan 20% mempunyai kadar histamin 23,8778 mg/100 g dan 22,1186 mg/100 g, jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 5% dan 10%.

Penentuan konsentrasi histamin awal pada saat ikan dibeli dan dimasukkan ke dalam kotak pendingin, kemudian dibawa ke laboratorium dan dipreparasi. Konsentrasi histamin sebesar 38,2157 mg/100 g, yang menunjukkan bahwa konsentrasi histamin dalam daging ikan komu cukup tinggi, namun masih di bawah batas maksimum kadar histamin yang diizinkan terdapat dalam bahan makanan oleh FDA, sehingga masih layak untuk dikonsumsi.

Penambahan asam berarti menurunkan pH yang disertai dengan naiknya konsentrasi ion hidrogen (H^+), dan dijumpai bahwa pH rendah lebih besar penghambatannya pada pertumbuhan mikroorganisme. Asam digunakan sebagai pengatur pH dan bersifat toksik untuk mikroorganisme dalam bahan pangan (Cahyadi, 2006). Penggunaan asam seperti ekstrak asam jawa dapat mendenaturasi protein, sehingga akan menurunkan daya ikat air. Layly (2002) menyebutkan bahwa adanya pemberian ekstrak asam jawa dapat mempengaruhi kadar air ikan yang dihasilkan, sehingga dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak asam jawa yang digunakan, semakin rendah kadar air yang dihasilkan.

Dari penelitian ini terlihat konsentrasi histamin terendah adalah sampel ikan komu yang direndam dengan larutan ekstrak asam jawa 20% selama 10 menit, yaitu 22,1666 $\mu\text{g/mL}$. Oleh karena itu, sampel ini dilakukan variasi waktu perendaman selama 10, 20, 30, 40, dan 50 menit.

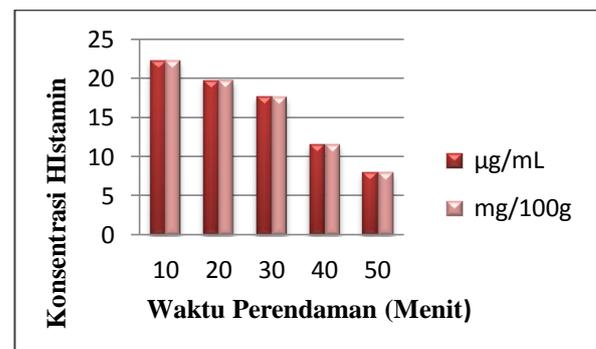
Untuk variasi waktu ini, dibuat larutan standar baru. Kurva kalibrasinya diperlihatkan pada Lampiran 2. Harga koefisien determinasi ($R^2 = 0,958$) dari kurva kalibrasi yang mendekati satu. Hasil perhitungan kandungan histamin dengan variasi konsentrasi asam jawa ditentukan dengan menggunakan metode kurva kalibrasi dengan mensubstitusi nilai y (absorbansi) yang diperoleh dari pengukuran absorbansi terhadap persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

Hasil analisis kandungan histamin rata-rata dalam daging ikan komu berdasarkan variasi waktu perendaman diperlihatkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis kandungan histamin ikan komu yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 20%

Waktu perendaman (menit)	Konsentrasi histamin	
	$\mu\text{g/mL}$	mg/100 g
10	22,3332	22,2965
20	19,7777	19,7544
30	17,7221	17,6925
40	11,6110	11,5865
50	8,0555	8,0396

Berdasarkan Tabel 2, dengan penambahan variasi waktu perendaman, kandungan histamin dalam daging ikan komu menurun dari 22,2965 sampai 8,0396 mg/100 g sampel. Kandungan tertinggi ditemukan pada sampel daging ikan komu yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 20% selama 10 menit sedangkan kandungan terendah ditemukan pada sampel daging ikan komu yang direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 20% selama 50 menit. Semakin lama waktu perendaman sampel daging ikan komu maka semakin rendah kandungan histamin dalam sampel daging ikan komu tersebut. Hal ini disebabkan karena perendaman yang lama menyebabkan ekstrak asam jawa bekerja efektif. Ekstrak asam jawa yang meresap dalam daging ikan menghambat pertumbuhan mikroba maupun aktivitas enzim yang mengurai histidin menjadi histamin. Hubungan perubahan kandungan histamin daging ikan komu terhadap waktu perendaman dengan larutan ekstrak asam jawa 20% ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Perubahan Konsentrasi Histamin Ikan Komu terhadap Waktu Perendaman

Berdasarkan Gambar 2, terlihat bahwa terjadi penurunan kandungan histamin ikan komu setelah direndam dalam larutan ekstrak asam jawa 20%. Namun, kandungan histamin ikan komu yang direndam selama 20 dan 30 menit tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap kandungan histamin ikan komu yang direndam selama 10 menit dalam pencegahan pembentukan histamin. Ikan komu yang direndam selama 10 menit mengandung 22,2965 mg/100 g histamin, setelah direndam selama 20 dan 30 menit mempunyai kadar histamin 19,7544 mg/100 g dan 17,6925 mg/100 g. Berbeda dengan kandungan histamin ikan komu yang direndam selama 40 dan 50 menit berpengaruh nyata ($p<0,05$) terhadap kandungan histamin ikan komu yang direndam selama 10 menit. Ikan komu yang direndam selama 10 menit mengandung 22,2965 mg/100 g histamin, setelah direndam selama 40 dan 50 menit mempunyai kadar histamin 11,5865 mg/100 g dan 8,0396 mg/100 g, jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang selama 10 dan 20 menit. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman yang lama menyebabkan larutan ekstrak asam jawa efektif bekerja.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kandungan histamin yang terdapat dalam daging ikan komu dengan variasi konsentrasi ekstrak asam jawa 5%, 10%, 15%, dan 20% (b/v) dengan waktu perendaman 10 menit adalah 37,4561; 35,3041; 23,8778; dan 22,1186 mg/100 g sampel ikan komu. Kandungan histamin yang terdapat dalam daging ikan komu dengan variasi waktu perendaman 10, 20, 30, 40, dan 50 menit pada konsentrasi ekstrak asam jawa 20% adalah 22,2965; 19,7544; 17,6925; 11,5865; dan 8,0396 mg/100 g sampel ikan komu.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak asam jawa dan semakin lama perendaman, maka semakin rendah kandungan histamin yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., dan Wooton, M. 2007. *Ilmu Pangan*. Alih bahasa: Purnomo, H., dan Adiono. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Cahyadi, W. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta.
- Dahuri, R. 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Dotulong, V. 2009. *Studi Kadar Histamin Ikan Tongkol (Auxis thazard) Asap yang Diawetkan dengan Asam Asetat*. Warta WIPTEK No.33/Th.2009/MARET).
- Etienne, M., Ifremer., dan Nantes. 2006. *Methodology for Histamine and Biogenic Amines Analysis. Seafoodplus Project 6.3 Valid*. Prancis.
- Gaspersz, N., 2012. Penentuan Kadar Histamin dalam Daging Ikan Komu (*Auxis rochei*) Berdasarkan Waktu dengan Metode Spektrofotometri Sinar Tampak. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura. Ambon.
- Hardy, R. and Smith, J.G.M. 1976. The Storage of Mackerel (*Scromber scombrus*) Development of Histamine and Rancidity. *J. Sci. Food Agric.* 27:595-599.
- Ijong, F. G., dan Ohta, Y. 1996. Physicochemical and Microbiological Changes Associated with Bakasang Processing-A Traditional Indonesian Fermented Fish Sauce. *Journal of Science Food Agriculture* 71: 69-74.
- Layly, A. R. 2002. Keberadaan Merkuri dan Pengaruh Perendaman Larutan Asam terhadap Kandungan Gizi serta Daya Cerna Protein pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*). *Skripsi*. Jurusan Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.
- Lehane, L., dan Olley, J. 1999. *Histamine (scombroid) fish poisoning a review in a risk*. National Office of Animal and Plant Health. Canberra.

- Mangunwardoyo, W., Sophia, R. A., dan Heruwati, E. S. 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim L-Histidine Decarboxylase dari Bakteri Pembentuk Histamin. *Makara Sains*, Vol. 11, No. 2, November 2007: 104-109.
- Oucif, H., Ali-Mehidi, S., dan Abi-Ayad, S-M. E-A. 2012. Lipid Oxidation and Histamine Production in Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) Versus Time and Mode of Conservation. *Journal of Life Sciences* 6 (2012) 713-720.
- Rawles, D.D., Flick, G.J., and Martin. 1995. Biogenic amines in fish shellfish. *Adv. Food. Nutr. Res.* 39:329-364.
- Taylor, S. L. 1986. Histamine Food Poisoning : Toxicology and Clinical Aspects. *Critical Review in Toxicology.* 17: 91-128.