

HISTAMIN DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PEMBENTUK HISTAMIN PADA TUNA MATA BESAR (*Thunnus obesus*)

HISTAMINE AND IDENTIFICATION HISTAMINE - FORMING BACTERIA IN *Thunnus obesus*

Stevy Imelda Murniati Wodi¹, Wini Trilaksani², Mala Nurilmala²

¹Teknologi Pengolahan Hasil Laut,

Jurusan Perikanan dan Kebaharian, Politeknik Negeri Nusa Utara

²Departemen Teknologi Hasil Perikanan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Korespondensi : wodiimelda@gmail.com

ABSTRACT

Big eyes tuna (*Thunnus obesus*) is a species that potentially valuable as a source of protein and commercial aspect. In the perspective of quality and safety, inappropriate care during catching and processing leading to microorganism contamination and can cause health problems when the meat is consumed. Histamine content, total Histamine Forming Bacteria (HFB), and Total Plate Count (TPC) are the indicator in food safety and quality standard for tuna's products. This research aims to measured histamine content, total HFB, TPC score and to identify the histamine-forming bacteria in big eyes tuna observed during chilling temperature for nine days. There are three stages, sample preparation, storage, chemical and microbiology analysis. The During the observation period, histamine content, total HFB dan TPC score are increased in all part of the sample. Highest TPC sore is observed at day 9 which is $5,4 \times 10^5$ CFU/g in belly part, $5,1 \times 10^5$ CFU/g in dorsal part and $1,0 \times 10^4$ CFU/g in tail part respectively. For total HFB, $2,7 \times 10^5$ CFU/g in belly part, $1,4 \times 10^5$ CFU/g in dorsal part and $2,3 \times 10^3$ SFU/g in tail part respectively. For histamine content, all parts experienced increasing histamine measured 59,73 ppm, 131,10 ppm, and 96,04 ppm respectively. In this research, *Bacillus subtilis* is identified 99% as histamine forming bacteria in big eyes tuna.

Keyword: bacteria, chilling, histamin, big eye tuna

ABSTRAK

Tuna mata besar (*Thunnus obesus*) merupakan spesies memiliki nilai ekonomis yang tinggi dalam dunia perdagangan. Dalam perspektif *fish quality* dan *safety*, tuna dapat menyebabkan permasalahan kesehatan disebabkan adanya kontaminasi mikroorganisme selama proses penangkapan, penanganan maupun pengolahan. Kadar histamin dijadikan indikator mutu dan keamanan pangan produk tuna, karena histamin yang tinggi menyebabkan efek keracunan pada manusia. Penelitian bertujuan menentukan kadar histamin, total bakteri, total Bakteri Pembentuk Histamin (BPH), serta mengidentifikasi bakteri penghasil histamin selama penyimpanan *chilling* selama sembilan hari. Penelitian dilakukan dalam tiga tahap, yaitu preparasi sampel, penyimpanan sampel, analisis kimia dan mikrobiologi. Selama proses penyimpanan terjadi peningkatan jumlah *Total Place Count* (TPC), BPH dan kadar histamin secara nyata, baik pada bagian perut, punggung maupun ekor. Jumlah TPC tertinggi terjadi pada hari ke-9 yaitu bagian perut $5,4 \times 10^5$ cfu/g, punggung $5,1 \times 10^5$ cfu/g, dan ekor $1,0 \times 10^4$ cfu/g. Sedangkan jumlah BPH hari ke-9 perut $2,7 \times 10^5$ cfu/g, punggung $1,4 \times 10^5$ cfu/g, dan ekor $2,3 \times 10^3$ cfu/g. Kadar histamin setelah penyimpanan hari ke-9 mengalami peningkatan menjadi 59,73 ppm untuk daging bagian perut, 131,10 ppm daging bagian punggung, dan 96,04 ppm daging bagian ekor. Hasil identifikasi bakteri pembentuk histamin menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dengan persentase identifikasi sebesar 99% merupakan bakteri pembentuk histamin pada tuna mata besar.

Kata kunci: bakteri, *chilling*, histamin, tuna mata besar

PENDAHULUAN

Hasil laut (ikan) menjadi salah satu komoditi pangan penting untuk masyarakat dunia (Wodi *et al.* 2018). Perairan Indonesia yang luas dengan sumber daya perikanan yang sangat besar mempunyai potensi dalam penyediaan pangan protein hewani yang sehat untuk masyarakat dunia. Tuna mata besar (*Thunnus obesus*) merupakan salah satu spesies yang mempunyai potensi dalam meningkatkan sumber protein hewani, memiliki nilai ekonomis yang tinggi dalam dunia perdagangan serta merupakan komoditas ekspor terbesar kedua setelah udang (Cahyono *et al.* 2018). Dalam perspektif *fish quality* dan *safety*, tuna mata besar dan produk pangan lainnya dapat menyebabkan permasalahan kesehatan akibat adanya kontaminasi mikroorganisme pembusuk dan patogen selama proses penangkapan, penanganan pengolahan maupun distribusi.

Histamin merupakan parameter penting dalam perdagangan ekspor tuna agar dapat diterima baik di United States (US), Uni Eropa (UE), maupun Jepang yang kadarnya sangat dibatasi. Kadar histamin dijadikan indikator mutu dan keamanan pangan produk tuna, karena histamin yang tinggi menyebabkan efek keracunan pada manusia. Senyawa amina biogenik dari histamin terbentuk dari asam amino histidin akibat reaksi enzim dekarboksilase dengan suhu optimum pertumbuhan adalah 25°C (Kim *et al.* 1999). Suhu dan penyimpanan juga memberikan efek terhadap histamin pada ikan (Silva *et al.* 1998). *The Food and Drug Administration* (FDA 2011) menetapkan batas standar keamanan histamin adalah 5 mg/100 g (50 ppm), sedangkan Uni Eropa menetapkan bahwa kandungan rata-rata histamin dalam ikan tidak boleh lebih dari 10 mg/100 g (100 ppm).

Jenis-jenis bakteri yang terdapat pada tuna yakni *Hafnia alvei*, *Raoultella ornithinolytica*, dan *Raoultella planticola*. *Hafnia alvei* diidentifikasi sebagai bakteri pembentuk histamin yang lemah, sedangkan *Raoultella ornithinolytica* dan *Raoultella planticola* dapat menghasilkan histamin lebih dari 500 ppm dalam media TSBH (Kung *et al.* 2009). Du *et al.* (2002) menemukan *Enterobacter sp*, *P. agglomerans*, *K. varriocola*, dan *S. Marcescens* pada loin tuna. *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, dan *B. Megaterium* yang diisolasi dari produk fermentasi; *Bacillus pumilus*, *Bacillus sp* yang diisolasi dari anggur merupakan

bakteri pembentuk histamin (Kung *et al.* 2007; Chang *et al.* 2009).

Proses kerusakan tuna berlangsung cepat di daerah tropis, karena suhu (>27°C) dan kelembaban yang tinggi merupakan kondisi yang sangat ideal bagi pertumbuhan mikroba dan aktifitas enzim maupun reaksi kimia yang terjadi dalam tubuh ikan (Wodi *et al.* 2014). Proses tersebut semakin dipercepat dengan cara penangkapan yang kurang baik, cara penanganan yang kurang tepat, sanitasi yang tidak memadai serta terbatasnya sarana, distribusi, dan pemasaran. Mengingat permintaan konsumen domestik maupun luar negeri saat ini, menuntut produk tuna dengan mutu prima dan aman, maka penelitian ini dilakukan bertujuan untuk menentukan kadar histamin, total bakteri (TPC), total Bakteri Pembentuk Histamin (BPH), serta mengidentifikasi jenis bakteri pembentuk histamin beberapa bagian tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama sembilan hari pada suhu *chilling*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan alat

Bahan baku yang digunakan adalah tuna mata besar segar (*Thunnus obesus*) yang diperoleh dari Muara Baru. Bahan untuk analisis antara lain metanol, *glass wool*, HCl, NaOH, *orto-ptalatdikarbosildehid* (OPT), H₃PO₄, resin penukar ion, *butterfield's phosphate buffered*, *trypton*, *yeast extract*, L-histidin, CaCO₃, NaCl, agar, dan *phenol red*, PCA, *Trypticase Soy Agar* (TSA), dan *Trypticase Soy Broth Histidine* (TSBH). Alat yang digunakan untuk uji histamin adalah *spektrofluorometer*, *termocouple*, *data logger*, *homogenizer*, *laminary flow*, *inkubator*, *heater*, kolom resin, *stirer*, *autoclave*, *waterbath*, Go Taq® PCR Core System I (Promega).

Prosedur penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahap. Tahap pertama adalah preparasi sampel meliputi pencucian, pemotongan serta pembentukan dalam bentuk loin yang dilakukan di salah satu perusahaan yang ada di Muara baru dan selanjutnya sampel dibawa dengan segera ke Laboratorium BBP2HP Cilangkap dengan menggunakan *styrofoam* yang diberi es curai. Tahap kedua adalah penyimpanan sampel. Sampel yang

sudah berbentuk loin diletakkan dalam plastik *polypropylene* yang dibungkus tissue selanjutnya disimpan dalam *styrofoam* yang diberi es curai dengan lama penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 hari pada suhu *chilling* < 4°C. Tahap ke-3 adalah analisis kimia dan mikrobiologi, meliputi Analisis kadar histamin dengan menggunakan spektrofotometri (SNI 2354.10:2009), analisis *total plate count* menggunakan *Plate Count Agar* (SNI 01-2332.3-2006), analisis total bakteri pembentuk histamin menggunakan *Niven Agar* (Niven *et al.* 1981) dan isolasi serta identifikasi bakteri pembentuk histamin (Kuhnert *et al.* 1996).

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah bagian daging yang terdiri dari perut, punggung, dan ekor. Faktor kedua adalah lama penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 hari. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan jika berpengaruh nyata maka diuji lanjut menggunakan uji *Duncan* (Steel dan Torrie 1993).

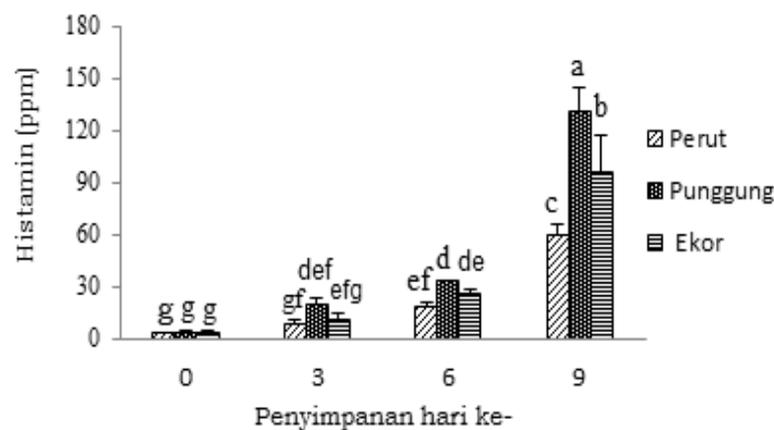
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar histamin

Beberapa jenis ikan terutama kelompok famili *scombroidea* memiliki kandungan histidin bebas yang tinggi, seperti tuna mata besar mencapai 491

mg/100 g, mahi-mahi 344 mg/100 g, cakalang 1192 mg/100 g, tuna ekor kuning 740 mg/100 g, kembung 600 mg/100 g. Hanya ikan yang mengandung histidin bebas di atas 100 mg/100 g yang mampu menghasilkan histamin (Mangunwardoyo *et al.* 2007). Hasil analisis kadar histamin tuna mata besar (*Thunnus obesus*) disajikan pada Gambar 1.

Kadar histamin tuna mata besar yang dianalisis menggunakan metode spektrofotometri selama penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* < 4°C menunjukkan rata-rata kadar histamin daging bagian perut, punggung, dan ekor mengalami peningkatan. Kadar histamin untuk perlakuan penyimpanan hari ke-0 bagian perut sebesar 3,05 ppm, bagian punggung 4,05 ppm, dan bagian ekor 3,46 ppm, setelah perlakuan penyimpanan hari ke-9 mengalami peningkatan menjadi 59,73 ppm untuk daging bagian perut, 131,10 ppm daging bagian punggung, dan 96,04 ppm daging bagian ekor. Hasil analisis ragam pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan bagian daging yaitu perut, punggung, dan ekor serta lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan kadar histamin yang terbentuk. Daging tuna semua bagian (perut, punggung, ekor) yang disimpan pada 0, 3, dan 6 hari tidak melebihi 50 ppm, namun pada penyimpanan hari ke-9 daging tuna pada semua bagian mengalami peningkatan dan telah melebihi batas standar yang telah ditetapkan yaitu 50 ppm.



Gambar 1. Kadar histamin daging tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 hari

Pembentukan histamin dipengaruhi oleh faktor waktu, suhu, jenis bahan baku dan banyaknya bakteri penghasil histidin dekarboksilase dalam daging dan jaringan ikan. Du *et al.* (2002) menyatakan bahwa pada suhu 4°C dengan lama penyimpanan 9 hari tercatat telah terbentuk histamin sebanyak 68,8 ppm dengan Log ALT mendekati 7,5 CFU/g dan Log BPH 5,2 CFU/g. Hal ini membuktikan bahwa, meskipun penyimpanan pada suhu dingin tidak benar-benar mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang memiliki aktifitas histidin dekarboksilase.

Nilai pH

Nilai pH merupakan faktor yang juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Kebanyakan dari enzim tidak aktif atau infaktif pada nilai pH yang ekstrim (Cahyono *et al.* 2018). Hal tersebut dapat disebabkan oleh nilai pH yang ekstrim dapat merusak protein yang merupakan komponen penyusun enzim (Rahman *et al.* 2004).

Selama penyimpanan tuna mata besar terjadi penurunan pH selama waktu penyimpanan pada tiap-tiap bagian. Penurunan pH terjadi akibat penimbunan asam laktat hasil penguraian glikogen yang terdapat dalam daging. Hasil analisis pH tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama perlakuan penyimpanan suhu *chilling* disajikan pada Gambar 2.

Hasil analisis pH tuna mata besar selama penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* menunjukkan rata-rata nilai pH untuk perlakuan penyimpanan hari ke-0 bagian perut 5,98, bagian punggung 5,96, dan bagian ekor 6,09, setelah perlakuan penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 5,82 untuk daging bagian perut, 5,68 daging bagian punggung, dan 5,81 daging bagian ekor. Hasil analisis ragam pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan bagian daging yaitu perut, punggung, dan ekor memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan nilai pH yang terbentuk. pH rendah meningkatkan autooksidasi dari daging ikan sehingga mempengaruhi kelarutan protein (Thiansilakul *et al.* 2011). Proses ikan mati, maka tahap biokimia yang terjadi berlangsung secara anaerobik. Penurunan pH disebabkan terbentuknya asam laktat hasil reaksi pemecahan glukosa oleh enzim yang terdapat dalam daging

(Suwetja 2013). pH daging ikan berkisar antara 7-7,5 dan dapat turun hingga pH 6-5 tergantung jenis spesiesnya.

Nilai Total Plate Count tuna mata besar (*Thunnus obesus*)

Analisis total mikroba/*Total Plate Count* (TPC) bertujuan untuk menentukan secara kuantitatif jumlah koloni mikroorganisme yang tumbuh pada produk secara umum. Adanya pertumbuhan mikroba dalam bahan pangan dapat menyebabkan kerusakan dan kemunduran yang ditandai adanya perubahan-perubahan seperti penampakan, bau, rasa, tekstur, dan terbentuknya komponen-komponen yang bersifat racun (Wodi *et al.* 2016). Kerusakan bahan pangan oleh mikroba menyebabkan bahan pangan menjadi tidak layak untuk dikonsumsi dan berbahaya bagi kesehatan (Supardi dan Sukamto 1999; Hidayat *et al.* 2006). Hasil analisis TPC ikan tuna mata besar (*Thunnus obesus*) dengan lama penyimpanan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1.

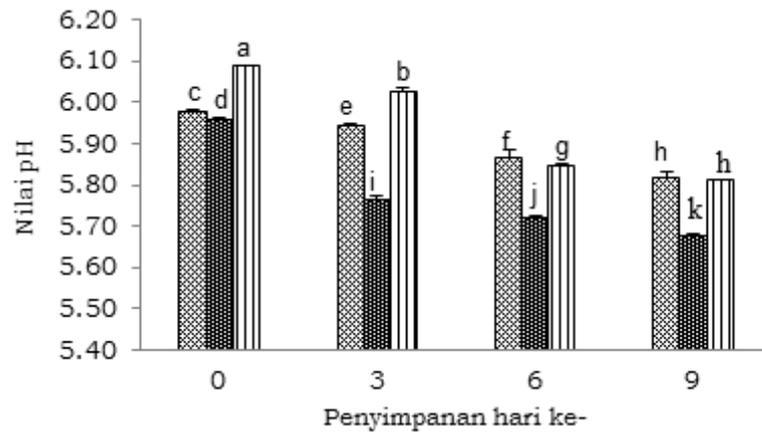
Nilai TPC menunjukkan perbedaan bagian daging dan lama penyimpanan memiliki hubungan terhadap peningkatan jumlah total bakteri. Pada awal penyimpanan nilai TPC relatif tinggi yaitu $9,2 \times 10^3$ cfu/g daging bagian perut, $4,2 \times 10^3$ cfu/g daging bagian punggung dan $3,0 \times 10^3$ cfu/g daging bagian ekor. Sedangkan pada akhir penyimpanan hari ke-9 nilai tertinggi TPC terjadi pada daging bagian perut yaitu sebesar $5,4 \times 10^5$ cfu/g, diikuti oleh daging bagian punggung $5,1 \times 10^5$ cfu/g dan daging bagian ekor $1,0 \times 10^4$ cfu/g. Nilai TPC daging bagian perut dan punggung pada penyimpanan hari ke-9 sudah tidak dapat diterima karena telah melewati batas standar yang telah ditetapkan untuk ikan tuna segar yaitu maksimal 5×10^5 cfu/g atau setara dengan log ALT 5,70 cfu/g (BSN 2006). Lama penyimpanan pada hari ke-9 mengalami peningkatan, hal ini disebabkan selama penyimpanan TPC mengalami fase logaritmik. Menurut Silva *et al.* (1998), pada suhu 0°C nilai log bakteri yang tumbuh pada ikan tuna segar pada penyimpanan 2 hari dan 7 hari berturut-turut sebesar 3,2 cfu/g dan 4 cfu/g.

Semakin menurunnya mutu ikan tuna selama proses penyimpanan, maka kandungan bakteri pembusuk dalam daging ikan tersebut semakin besar. Setelah ikan

mati, seluruh sistem tata tertib enzim yang mengatur siklus hidup ikan menjadi berantakan. Enzim pencernaan yang tadinya mencerna dan merombak makanan dalam usus ikan akhirnya menguraikan tubuh dan jaringan ikan. Setelah masa rigormortis selesai, mulai terjadi penguraian protein kompleks menjadi protein sederhana dan menghasilkan asam-asam amino yang merupakan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri.

Bakteri pembentuk histamin tuna mata besar (*Thunnus obesus*)

Secara umum jumlah bakteri pembentuk histamin yang dapat diterima atau layak untuk konsumsi sama dengan ketentuan jumlah bakteri dengan TPC yaitu tidak melebihi 5×10^5 cfu/g (BSN 2006). Jumlah bakteri pembentuk histamin pada ikan tuna mata besar (*Thunnus obesus*) dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Nilai pH daging tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama penyimpanan 0, 3, 6 dan 9 hari

Tabel 1. Hasil analisis TPC tuna mata besar (*Thunnus obesus*) pada berbagai kondisi perlakuan

Lama Penyimpanan (hari)	Total Plate Count (cfu/g)		
	Perut	Punggung	Ekor
0	$9,2 \times 10^3$	$4,2 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$
3	$4,5 \times 10^4$	$8,3 \times 10^4$	$5,1 \times 10^3$
6	$1,1 \times 10^5$	$7,1 \times 10^4$	$7,2 \times 10^3$
9	$5,4 \times 10^5$	$5,1 \times 10^5$	$1,0 \times 10^4$

Tabel 2. Jumlah bakteri pembentuk histamin ikan tuna mata besar (*Thunnus obesus*) pada berbagai kondisi perlakuan

Lama Penyimpanan (hari)	Total Plate Count (cfu/g)		
	Perut	Punggung	Ekor
0	$5,5 \times 10^1$	$6,1 \times 10^1$	8
3	$6,3 \times 10^1$	$4,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$
6	$2,2 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$7,6 \times 10^2$
9	$2,7 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	$2,3 \times 10^3$

Hasil analisis total Bakteri Pembentuk Histamin (BPH) menunjukkan perbedaan bagian daging dan lama penyimpanan memiliki hubungan terhadap peningkatan jumlah Bakteri Pembentuk Histamin (BPH). Pada awal penyimpanan jumlah BPH cukup rendah yaitu $5,5 \times 10^1$ daging perut, $6,1 \times 10^1$ daging punggung, dan 8 koloni/g daging bagian ekor. Sedangkan pada akhir penyimpanan hari ke-9 nilai tertinggi jumlah BPH terjadi pada daging bagian perut yaitu sebesar $2,7 \times 10^5$, diikuti oleh daging bagian punggung $1,4 \times 10^5$, dan daging bagian ekor $2,3 \times 10^3$ koloni/g. Perbedaan jumlah BPH pada tiap bagian memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap lama waktu penyimpanan. Du *et al.* (2002) menyatakan bahwa bakteri pembentuk histamin ditemukan pada fillet tuna yang disimpan pada suhu 0, 4, 10, dan 22°C. Diduga ada kelompok bakteri lain yang juga mampu menghasilkan histamin tapi tidak terdeteksi oleh media niven agar yang digunakan dalam penelitian ini.

Isolasi dan identifikasi bakteri pembentuk histamin tuna mata besar (*Thunnus Obesus*)

Isolasi merupakan pemisahan mikroba tertentu dari populasi campuran. Proses isolasi ini dilakukan terhadap koloni terpilih yang berwarna merah muda

pada media Niven berdasarkan Niven *et al.* (1981); Hwang *et al.* (2010); dan Kung *et al.* (2009) koloni yang berwarna merah muda kemudian digoreskan dengan metode gores kuadran pada media TSA hingga menghasilkan koloni tunggal dan diinkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media TSA dipindahkan lagi ke media TSA miring untuk dijadikan kultur/stok bakteri yang selanjutnya diidentifikasi. Dari hasil uji BPH dipilih isolat yang mempunyai ciri dan karakter yang sama untuk diidentifikasi jenis bakteri BPH. Hasil isolasi dan ekstrak DNA diamplifikasi menggunakan teknik PCR gen 16S rRNA untuk menghasilkan potongan DNA yang dijadikan target. Hasil identifikasi bakteri pembentuk histamin dapat dilihat pada Gambar 3.

Elektroforegram menunjukkan bahwa DNA ikan tuna dapat teramplifikasi menggunakan pasangan primer 27F dan 1494R. DNA yang telah teramplifikasi dengan sempurna kemudian dilakukan penentuan urutan nukleotida untuk memastikan spesies dari DNA yang teramplifikasi dan mengetahui daerah yang akan dipotong oleh enzim restriksi. Penentuan spesies dilakukan dengan analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yaitu membandingkan dengan database yang ada pada *Genebank*. Hasil analisis BLAST dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 3. Isolat tuna melalui elektroforesis

Tabel 3. Hasil analisis BLAST

Sampel	Hasil analisis BLAST		Homologi	
	27F	14949R	27F	14949R
BH1	<i>Bacillus subtilis</i> (KM234223.1)	<i>Bacillus subtilis</i> (EF032680.1)	99 %	99 %

Hasil penentuan urutan nukleotida DNA yang telah teramplifikasi menunjukkan bahwa DNA spesies bakteri pembentuk histamin yang teramplifikasi dari sampel produk tuna mata besar (*Thunnus obesus*) teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis*. Tingkat kesamaan (homologi) yang diperoleh dari analisis BLAST cukup tinggi, yaitu 99%. Kung *et al.* (2007); Chang *et al.* (2009); Lin *et al.* (2012); dan Tsai *et al.* (2007) menyatakan bahwa *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus* adalah bakteri yang berperan sebagai penghasil histamin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Perbedaan bagian daging dan waktu penyimpanan terbukti meningkatkan kadar histamin pada tuna mata besar yaitu dari kisaran 3,05 ppm (0 hari) meningkat menjadi 131,10 ppm pada bagian punggung (9 hari) yang diikuti oleh pertumbuhan jumlah *Total Plate Count* (TPC) dan Bakteri Pembentuk Histamin (BPH). Hasil penentuan urutan nukleotida DNA yang teramplifikasi menunjukkan bahwa DNA spesies bakteri pembentuk histamin pada tuna mata besar yaitu *Bacillus subtilis*.

Saran

Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut jenis-jenis bakteri yang berperan sebagai pembentuk histamin pada setiap lokasi bagian daging dan isolat yang belum diidentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006. Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan. SNI 01- 2332.3-2006. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Cahyono E, Rahmatu R, Ndobe S. Mantung A. 2018. Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Tuna pada Berbagai Konsentrasi Enzim Papain. *Jurnal FishTech*. 2(7) : 149-153.
- Cahyono E, Wodi SIM, Kota N. 2018. Aplikasi Kitosan Kulit Udang Windu (*Panaeus monodon*) sebagai Pengawet Alami pada Tahu. *Jurnal Ilmiah Tindalung*. 3(2) : 73-77.
- Chang SC, Lin CW, Jiang CM, Chen HC, Shih MK, Chen YY, Tasi YH. 2009. Histamine Production by Bacilli bacteria, Acetic bacteria, and Yeast isolated from Fruit Wines. *J Food Science and technology*. 42 : 280-285.
- Du WX, Lin CM, Phu AT, Cornell JA, Marshall MR, Wei CI. 2002. Development of Biogenic Amines in Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*): Effect of Storage and Correlation with Decarboxylase-positive Bacterial Flora. *J of Food Science*. 67 : 292-301.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2011. Scombrototoxin (Histamine) Formation. Di dalam: Fish and Fishery Product Hazards and Control Guide. Washington: Departemen of Health and Human Service, *Center for Food Safety and Applied Nutrition*.
- Hidayat NS, Suhartini, Padaga MC. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta (ID): Penerbit CV.Andi.hlm8-10.
- Hwang CC, Lee YC, Huang YR, Lin CM, Shiao CY, Hwang DF, Tsai YH. 2010. Biogenic Amines Content, Histamine-forming Bacteria and Adulteration of Bonito in Tuna Candy Products. *J.Food Cont*. 21 : 845-850.
- Kuhnert P, Capaul S, Nicolet J, Frey J. 1996. Phylogenetic Positions of Clostridium Chauvoei and Clostridium Septicum based on 16s rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 46 : 1174-1176.
- Kim SH, An H, Price RJ. 1999. Histamine Formation and Bacterial Spoilage of Albacore Harvested off the U.S Northwest Coast. *J of Food Science*. Vol 64 (2).
- Kung HF, Tsai YH, Wei CI. 2007. Histamine

- and Other Biogenic Amines and Histamine-forming Bacteria in Miso Products. *J Food Chemistry*. 101 : 351-356.
- Kung HF, Wang TY, Huang YR, Lin CS, Wu SW, Lin CM, Tsai YH. 2009. *Isolation and Identification of Histamine-forming Bacteria in Tuna Sandwiches*. *J Food Cont*. 20 : 1013-1017.
- Lin CS, Liu FL, Lee YC, Hwang CC, Tsai YH. 2012. Histamine Contents of Salted Seafood Products in Taiwan and Isolation of Halotolerant Histamine-forming Bacteria. *J Food Chemistry*. 131 : 574-579.
- Mangunwardoyo W, Sophia RA, Heruwati ES. 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim L-histidine Decarboxylase dari Bakteri Pembentuk Histamin. *Makara Sains*. 11 : 104-109.
- Niven CF, Jeffrey MB, Corlett DA. 1981. Differential Plating Medium for Quantitative Detection of Histamine-producing Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 41(1) : 321-322.
- Rahman H. 2004. Mempelajari Penerapan *Good Manufacturing Practices* (GMP) dan Sanitasi pada Divisi Produksi Nata De Coco PT Niramas Utama Bekasi – Indonesia [skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik*. Penerjemah : Sumantri B. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. hlm 748hlm.
- Silva CCG, Ponte DJB, Dapkecius MLNE. 1998. Storage Temperature Effect on Histamine Formation in Big Eye Tuna and Skipjack. *J of Food Science*. 63(4) : 644-647.
- Supardi I, Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung : Penerbit Alumni.
- Suwetja IK. 2013. *Indeks mutu kesegaran ikan*. Bayumedia Publishing: Malang.
- Tsai YH, Kung HF, Chen HC, Chang SC, Hsu HH, Wei CI. 2007. Determination of Histamine and Histamine-forming Bacteria in Dried Milkfish (*Chanos chanos*) Implicated in a Food-borne Poisoning. *Food Chemistry*. 105 : 1289-1296.
- Thiansilakul Y, Benjakul S, Richards M. 2011. Isolation, Characterisation, and Stability of Myoglobin from Eastern Little Tuna (*Euthynnus affinis*) Dark Muscle. *Food Chemistry*. 124 : 254-261.
- Wodi SIM, Trilaksani W, Nurimala M. 2014. Changesin Myoglobin of Big Eye Tuna during Chilling Storage. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. 17(3) : 214-223.
- Wodi SIM, Cahyono E, Mamontho N. 2016. Mutu Ikan Pindang Selar (*Selaroides sp.*) pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi. *Jurnal Ilmiah Tindalung*. 2(1) : 36-41.
- Wodi SIM, Rieuwpassa FJ, Cahyono E. 2018. Peningkatan Kualitas Hasil Tangkapan Melalui Penerapan Sistem Rantai Dingin di Kelurahan Santiago. *Jurnal Ilmiah Tategkorang*. 2(2) : 70-72.