

KANDUNGAN KIMIA, FITOKIMIA DAN TOKSISITAS IKAN BUNTAL PISANG DARI KABUPATEN CIREBON

Chemical Compound, Phytochemical and Toxicity on Green Rough- backed Puffer from Cirebon District

Ginanjari Pratama*, Nurjanah, Ruddy Suwandi, Agoes Mardiono Jacoeb

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680
telepon 0251-8622915, faks. 0251-8622916

*Korespondensi: ginanjaripratama@yahoo.com

Diterima 15 April 2014/Disetujui 05 Agustus 2014

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji rendemen, kandungan gizi dan uji in vitro ekstrak ikan buntal ikan buntal pisang dari perairan Kabupaten Cirebon. Metode yang digunakan pada penelitian ini meliputi analisis proksimat, analisis fitokimia dan uji in vitro ekstrak dari ketiga bagian ikan buntal pisang (daging, jeroan dan kulit). Ikan buntal pisang yang digunakan berukuran (10-13) cm. Rendemen yang didapatkan yaitu daging 37,80%, tulang 45,71%, jeroan 7,25% dan kulit 9,23%. Ikan buntal pisang memiliki potensi terbesar kandungan proteinnya, berkisar 18,54%-25,31%. Seluruh ekstrak memiliki kandungan alkaloid dan memiliki sedangan ekstrak daging pada uji molisch. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa daging ikan buntal pisang memiliki kandungan tetrodotoksin tetapi jumlahnya belum diketahui. Nilai LC_{50} pada ekstrak daging sebesar 104.3498 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak jeroan sebesar 105.4564 $\mu\text{g/mL}$, dan ekstrak kulit sebesar 104.9637 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menggambarkan bahwa ekstrak daging, jeroan dan kulit pada ikan buntal pisang tidak toksik, walaupun terdapat indikasi adanya tetrodotoksin pada dagingnya.

Kata kunci: ekstrak, fitokimia, ikan buntal pisang, kandungan gizi

Abstrak

This aims of study was to assess yield, nutrient content and in vitro assay of extract on green rough-backed puffer from Cirebon district. The method used in this study was the proximate analysis, phytochemicals, and BSLT test of extracts on three parts of puffer fish (meat, viscera and skin). Puffer fish used measure around 10-13 cm. The yield obtained was meat 37.80%, bone 45.71%, viscera 7.25% and skin 9.23%. Protein content showed greatest potential, protein in the fish meat was 18.54% while the skin was 25.31%. Phytochemical test showed the entire extract has a positive value for alkaloids and have a negative value on the other reagents, except meat extract on molisch test. Phytochemical test results indicated that the meat of green rough-backed puffer contain tetrodotoxin, but the amount was unknown. LC_{50} values in meat extract was 104.3498 $\mu\text{g/mL}$, extract the viscera of 105.4564 $\mu\text{g/mL}$, and the skin extract was 104.9637 $\mu\text{g/mL}$. These results showed that the extract of meat, viscera and skin of the puffer fish is not toxic, although there are indications of tetrodotoxin in the flesh.

Keywords: extracts, phytochemical, green rough-backed puffer, nutrient content

PENDAHULUAN

Puffer fish (Tetraodontiformes) dalam bahasa Indonesia disebut ikan buntal merupakan ikan yang memiliki adaptasi tingkah laku dan anatomi yang tinggi pada perairan karang. Jenis ikan ini umumnya menetap di perairan karang, hanya beberapa jenis yang tidak menetap di perairan karang

antara lain trigger fish dan molas yang dapat hidup di perairan laut yang luas (Grzimek 1974).

Ikan buntal merupakan ikan yang mempunyai nilai gizi yang tinggi. Ikan ini sangat digemari di Jepang sebagai menu masakan yang mempunyai cita rasa yang sangat lezat dan bergizi. Harga menu masakan

dari daging ikan buntal pisang di Jepang cukup mahal yaitu 10.500 yen atau sekitar Rp 840.000,00 (Suryati dan Prianto 2008). Salah satunya adalah ikan buntal jenis *Takifugu rubripes*. *T. rubripes* memiliki kandungan gizi pada dagingnya yaitu, air 78,9%, protein 16,5%, lemak 0,7%, karbohidrat 2,5% dan abu 1,4% (Saito dan Kunisaki 1998).

Ikan buntal terkenal dengan kandungan racunnya yaitu tetrodotoksin (TTX). Racun ini merupakan neurotoksin dan belum ada penawar racunnya (Nieto *et al.* 2012). Noguchi dan Arakawa (2008) menyatakan bahwa kandungan tetrodotoksin yang terdapat ikan buntal dipengaruhi oleh makanannya sedangkan menurut Williams (2010) selain dari makanan bisa juga berasal dari kondisi perairannya.

Jenis ikan buntal yang ditemukan beracun adalah ikan buntal pisang (*Tetraodon lunaris*). Ikan buntal pisang merupakan ikan buntal yang mempunyai kandungan racun yang tinggi pada jaringan ototnya yaitu lebih dari 1000 MU/g, sedangkan pada kulit ikan ini mempunyai kandungan racun antara 100-1000 MU/g. Tingkat toksisitas yang rendah terdapat pada bagian ovarium, testis, hati dan usus ikan ini yaitu kurang dari 10 MU/g. Darah ikan buntal pisang tidak mengandung tetrodotoksin (Noguchi dan Arakawa 2008). Ikan tersebut merupakan ikan yang terkenal di Jepang dengan nama dokusabafugu (*Tetraodon lunaris*, *Gastrophysus lunaris*, *Lagocephalus lunaris*) (Abe 1960). Ikan ini ditemukan di Kamboja (Ngy *et al.* 2008), Thailand (Chulanetra *et al.* 2011), Taiwan (Hwang *et al.* 1992), dan Florida (Deeds *et al.* 2008).

Ikan buntal pisang secara empiris sangat digemari oleh nelayan-nelayan di daerah Gebang, Kabupaten Cirebon. Nelayan di daerah Cirebon mengonsumsi daging ikan ini karena rasanya yang lezat. Penelitian yang dilakukan oleh Noguchi dan Arakawa (2008) sangat bertolak belakang dengan hal tersebut,

karena kandungan tetrodotoksin pada ikan ini sangat tinggi di dalam jaringan ototnya.

Informasi mengenai rendemen, kandungan gizi dan racun dari ikan buntal pisang di perairan Indonesia belum banyak dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji rendemen, kandungan gizi dan uji *in vitro* ekstrak ikan buntal pisang dari perairan Kabupaten Cirebon.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan buntal pisang dari perairan Gebang, Kabupaten Cirebon, Jawa Barat. Bahan-bahan yang digunakan yaitu akuades, H₂SO₄ pekat, etanol, asam asetat, air laut dan bahan untuk pengujian fitokimia. Alat-alat yang digunakan yaitu sentrifugasi Himac CR21G, gelas piala, pipet mikro, oven Yamato DV 41, dan shaker Wise ShakeSHO-1D.

Metode Penelitian

Analisis Proksimat (AOAC 2005)

Analisis proksimat adalah analisis yang dilakukan untuk memprediksi komposisi kimia suatu bahan termasuk didalamnya analisis kandungan air, lemak, abu, protein dan karbohidrat.

Ekstrak Tetrodotoksin (Zhou dan Shun 2003) yang dimodifikasi

Sampel yang digunakan berasal dari tiga bagian ikan buntal pisang yaitu daging, kulit dan jeroan. Sebanyak 100 g dari masing-masing bagian dicincang halus, lalu ditambah 150 mL air deionisasi dan 0,15 mL asam asetat. Campuran dimaserasi 150 rpm selama 10 jam pada suhu kamar, lalu disaring menggunakan nylon ukuran 100 mesh yang ditahan dengan saringan *stainless steel* ukuran 40 mesh. Sebanyak 150 mL air deionisasi ditambahkan ke dalam residu, kemudian dilakukan pengekstraksian kembali sebanyak empat kali. Filtrat lalu dipanaskan pada suhu 80 °C selama 5 menit, lalu didinginkan.

Analisis Fitokimia (Harborne 1987)

Identifikasi senyawa kimia tetrodotoksin secara kualitatif dilakukan menggunakan uji fitokimia yang difragmentasi maupun yang tidak difragmentasi dilakukan terhadap senyawa-senyawa yaitu alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, molisch, benedict, biuret dan ninhidrin.

Uji Toksisitas In vitro dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* (Meyer *et al.* 1982; McLaughlin *et al.* 1998; dan Carballo *et al.* 2002)

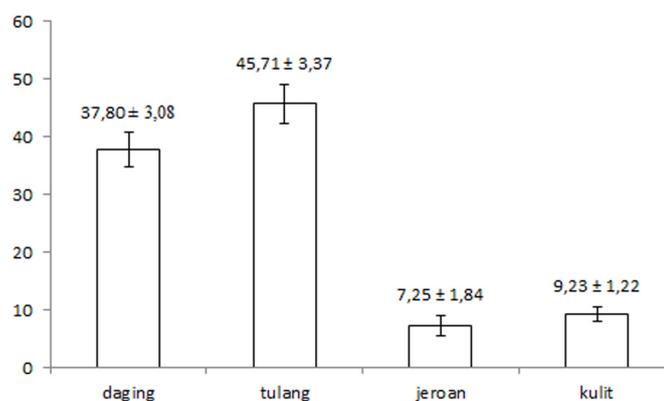
Menurut Carballo *et al.* (2002), metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* biasanya digunakan dalam uji pendahuluan untuk penapisan aktivitas farmakologis pada produk alam. Uji ini digunakan larva *A. Salina* sebagai hewan uji. Mula-mula telur *A. Salina* ditetaskan di dalam air laut di bawah lampu TL 40 watt selama 48 jam. Sebanyak 10 ekor larva *A. Salina* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan larutan ekstrak sampel dengan konsentrasi masing-masing 5 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 500 ppm; dan 1000 ppm dan ditambahkan air laut sampai volume 5 mL. Air laut tanpa pemberian ekstrak (0 ppm) digunakan sebagai kontrol. Semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu TL 40 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah *A. Salina* yang mati pada tiap konsentrasi penentuan harga LC_{50} (ppm) dilakukan menggunakan analisis probit dan persamaan regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ukuran dan Rendemen Ikan Buntal Pisang

Hasil penelitian Sulistiono *et al.* (2001) diketahui bahwa indeks kematangan gonad *T. lunaris* terjadi pada bulan Mei di perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur. Penelitian tersebut berbanding lurus dengan hasil pengambilan sampel yang didapatkan pada bulan Juni di Kabupaten Cirebon dengan panjang 10 sampai 13 cm dan berat 20 sampai 44 g. Hasil rata-ran ukuran panjang ikan buntal pisang yaitu $(11,20 \pm 0,93)$ cm dan bobotnya yaitu $(30,33 \pm 7,44)$ g. Nunez-Vazquez *et al.* (2012) menyatakan bahwa panjang $10,56 \pm 8,96$ cm dan bobot $(34,04 \pm 3,9)$ g adalah ikan buntal juvenil. Penambahan panjang ikan buntal pisang lebih cepat dari penambahan bobot tubuhnya (Suryati dan Prianto 2008). Panjang total tubuh ikan akan berpengaruh terhadap rasio berat lambung/berat badan (Yusfiati *et al.* 2006) sehingga sangat berpengaruh terhadap kandungan gizi dan kandungan tetrodotoksin yang dikandung oleh ikan buntal (Nunez-Vazquez *et al.* 2012).

Rendemen tertinggi ikan buntal pisang adalah tulang dan kepala yaitu 45,17%. Abe (1960) menyatakan bahwa kepala ikan buntal lebih besar bila dibandingkan dengan bagian tubuh lainnya. Pemanfaatan kepala dan tulang dari ikan buntal pisang belum banyak dikembangkan sehingga belum menghasilkan nilai ekonomis yang tinggi pada bagian ini. Rendemen terendah adalah jeroan ikan buntal



Gambar 1 Rendemen ikan buntal pisang

pisang yaitu 7,25%. Rendemen daging ikan buntal pisang adalah 37,80%. Daging ikan inilah yang menjadi primadona bagi para pencinta makanan karena rasanya yang lezat dan nikmat, sehingga mampu memikat para konsumennya. Rendemen kulit ikan ini tidak berbeda dengan nilai rendemen jeroan ikan buntal pisang yaitu sebesar 9,23%. Rendemen ikan buntal pisang dapat dilihat Gambar 1.

Karakteristik Kimia

Ikan buntal pisang memiliki kandungan gizi pada dagingnya yaitu air 80,02%, abu 1,15%, lemak 0,11%, protein 18,54% dan karbohidrat 0,18% (Tabel 1). Kandungan protein daging ikan buntal pisang perairan Kabupaten Cirebon lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikan buntal pisang yang berasal dari Parengipettai, India, sedangkan lemaknya lebih kecil. Ikan buntal pisang yang berasal dari India memiliki kandungan gizi pada dagingnya yaitu air 80,32%, abu 0,96%, lemak 11,25%, protein 9,2% dan karbohidrat 1,96% (Eswar *et al.* 2014).

Protein pada daging ikan buntal pisang lebih tinggi bila dibandingkan dengan *T. rubripes* dan *L. lunaris* dari India. Protein menjadi salah satu primadona yang menjanjikan dari daging ikan buntal ini. Kandungan asam amino daging ikan buntal pisang yang tertinggi adalah asam glutamat yaitu 1,319 mg/100 g (Pratama 2010). Kandungan asam glutamat yang tinggi ini menyebabkan rasa dari daging ikan ini sangat lezat, sehingga masyarakat di Gebang sangat menyukainya.

Kandungan yang tertinggi pada jeroan ikan buntal pisang adalah lemaknya. Lemak pada ikan buntal pisang yaitu 5,62%. Kandungan lemak yang tinggi pada jeroan

ikan buntal pisang tidak terlepas dari ukuran dan umur dari ikan buntal itu sendiri (Sirisha dan Rao 2013). Lemak yang tinggi dari jeroan ikan buntal merupakan salah satu potensi untuk dijadikan minyak ikan, terlepas dari racun yang dikandungnya.

Kulit ikan buntal pisang merupakan salah satu potensi yang sangat tinggi untuk pembuatan gelatin dan kolagen (Handoko *et al.* 2011). Kulit ikan ini sangat elastis layaknya kulit ikan belut. Ikan ini mempunyai duri di sekitar punggung dan perutnya (Grzimek 1974). Kandungan protein pada kulit ikan buntal yaitu 25,31%.

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia yang berfungsi untuk mengetahui senyawa aktif dari ekstrak yang diperoleh secara kualitatif. Pengujian fitokimia menggunakan ekstrak kasar tetrodotoksin dengan menggunakan metode ekstrak Zhou dan Shun (2003) yang telah dimodifikasi. Tabel 2 menunjukkan hasil uji fitokimia dari bagian-bagian ikan buntal pisang.

Uddin *et al.* (2013) menyatakan bahwa jenis racun tetrodotoksin pada uji fitokimia terdeteksi pada uji alkaloid. Tetrodotoksin akan aktif apabila adanya glikosida (karbohidrat), karena racun tersebut dapat disintesis bila terdapat kuinon atau karbohidrat (Bane *et al.* 2014). Penelitian Uddin *et al.* (2013) menunjukkan bahwa nilai uji fitokimia yang memiliki kandungan racun dari ikan buntal jenis *Tetraodon cutcutia* adalah hatinya, karena memiliki nilai positif pada uji alkaloid dan glikosida. Hasil uji fitokimia ikan buntal pisang yang didapatkan dari seluruh pengujian ekstrak daging, jeroan dan kulit memiliki nilai positif untuk pereaksi alkaloid, sedangkan pereaksi lain memiliki

Tabel 1 Analisis proksimat bagian-bagian ikan buntal pisang (g/100g)

Analisis Kimia	Air	Abu	Lemak	Protein	Karbohidrat
Daging	80,02 ± 0,29	1,15 ± 0,09	0,11 ± 0,01	18,54 ± 0,19	0,18 ± 0,09
Jeroan	78,88 ± 1,76	3,05 ± 0,05	5,62 ± 0,26	8,34 ± 0,20	4,11 ± 1,70
Kulit	65,27 ± 0,52	1,27 ± 0,05	0,27 ± 0,01	25,31 ± 0,29	7,87 ± 0,32

Tabel 2 Hasil uji fitokimia dari bagian-bagian ikan buntal pisang

Pereaksi	Ekstrak daging	Ekstrak jeroan	Ekstrak kulit
Alkaloid			
- Wagner	+	-	+
- Dragendorff	+	+	+
- Meyer	+	+	+
Steroid/Terpenoid	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Saponin	-	-	-
Fenol Hedrokuinon	-	-	-
Molisch	+	-	-
Benedict	-	-	-
Biuret	-	-	-
Ninhidrin	-	-	-

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

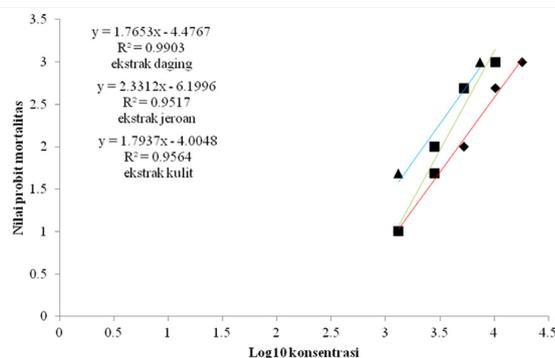
nilai negatif kecuali ekstrak daging pada uji molisch. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa daging ikan buntal pisang memiliki kandungan tetrodotoksin tetapi jumlahnya belum diketahui. Pernyataan dari Noguchi dan Arakawa (2008) yang menyebutkan bahwa racun ikan buntal pisang terdapat pada jaringan ototnya sesuai dengan hasil yang didapatkan dari penelitian ini.

Uji *in vitro*

Pengujian *in vitro* (LC_{50}) menggunakan larva *A. salina*. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan 10 ekor larva udang ke dalam pelat uji yang berisi ekstrak

tetrodotoksin dan air laut dengan konsentrasi (0; 5; 10; 100; 500; dan 1000) ppm.

Hasil uji *in vitro* dengan larva *A. Salina* menunjukkan nilai kematian terbanyak pada ekstrak daging. Larva *A. Salina* tersebut merupakan indikator toksisitas dari ekstrak ikan buntal pisang dari beberapa bagian yang diujikan. Nilai yang terdapat pada Gambar 2 menunjukkan LC_{50} yang terdapat pada ekstrak daging sebesar 104.3498 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak jeroan sebesar 105.4564 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan ekstrak kulit sebesar 104.9637 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil tersebut menggambarkan bahwa ekstrak daging, jeroan dan kulit pada ikan buntal pisang tidak toksik, walaupun



Keterangan: ◆ ekstrak daging, ■ ekstrak jeroan, ▲ ekstrak kulit, — Log.(ekstrak daging), — Log.(ekstrak daging), — Log.(ekstrak kulit)

Gambar 2 Hasil uji *in vitro* ekstrak bagian-bagian ikan buntal pisang.

terdapat indikasi adanya tetrodotoksin pada daging. Hasil penelitian Uddin *et al.* (2013) menunjukkan bahwa toksisitas LC_{50} dari hati ikan buntal *T. cutcutia* adalah 0,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa hati ikan buntal *T. cutcutia* sangat toksik. Menurut Meyer (1982) tingkat (LC_{50}) ketoksitasian diatas 1000 ppm tidak toksik.

KESIMPULAN

Rendemen pada ikan buntal pisang meliputi daging 37,80%, tulang 45,71%, jeroan 7,25% dan kulit 9,23%. Kandungan protein pada daging dan kulit ikan ini memiliki nilai yang tinggi yaitu 18,54% dan 25,31%. Uji fitokimia menunjukkan bahwa alkaloid dan molisch terdeteksi pada dagingnya. Hasil ini menunjukkan bahwa kandungan tetrodotoksin terdapat pada daging ikan buntal pisang tetapi belum diketahui jumlahnya. Nilai LC_{50} pada ekstrak daging sebesar 104.3498 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak jeroan sebesar 105,4564 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan ekstrak kulit sebesar 104,9637 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Nilai tersebut menggambarkan bahwa seluruh bagian ikan buntal pisang tidak toksik.

Ucapan Terima kasih

Peneliti berterima kasih kepada Dikti, karena telah membantu penelitian melalui program penelitian BOPTN.

DAFTAR PUSTAKA

Abe T. 1960. Taxonomic studies on the puffers from Japan and Adjacent Regions-Corrigenda and Addenda. Part II. *Japanese Journal of Ichthyology* 8: 3-6.

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington, Virginia (USA): Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.

Bane V, Lehane M, Dikshit M, O'Riordan A, Furey A. 2014. Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection. *Toxins*. 6:693-755.

Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia

Gravalos MD. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect in vitro cytotoxicity in marine natural product (methodology article). *Bioorganic Marine Chemistry Biotechnology* 2(1): 1-5.

Chulanetra M, Sookrung N, Srimanote P, Indrawattana N, Thanongsakrikul J, Sakolvaree Y, Nguan MC, Kurazono H, Chaicumpa W. 2011. Toxic Marine puffer fish in Thailand seas and tetrodotoxin they contained. *Toxins* 3:1249-1262.

Deeds JR, Landsberg JH, Etheridge SM, Pitcher GC, Longan SW. 2008. Non-traditional vectors for paralytic shellfish poisoning. *Marine Drugs* 6:308-348.

Eswar A, Kathirvel K, Anbarasu R, Ramamoorthy K, Sankar G, Suvitha S, Manikandarajan S. 2014. Proximate composition and fatty acid analysis of puffer fish, *Lagocephalus inermis* (Temminck and Schlegel, 1850) and *Lagocephalus lunaris* (Bloch and Schneider, 1801) from Parangipettai, Southeast coast of India. *International Letters of Natural Sciences* 12(1):21-29.

Grzimek B. 1974. Animal Life Encyclopedia. Vol. 5 Fishes II and Amphibians. New York: Van Nostrand Reinhold Company.

Handoko T, Rusli SO, Sandy I. 2011. Pengaruh jenis dan konsentrasi asam, temperatur dan waktu ekstraksi terhadap karakteristik fish glue dari limbah ikan tenggiri. *Reaktor* 13(4):237-241.

Harborne JB. 1987. Metode fitokimia. Padwaminata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.

Hwang DF, Kao CY, Yang HC, Jeng SS, Noguchi T. 1992. Toxicity of puffer in Taiwan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(8):1541-1547.

Mc Laughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drugs Information Journal* 32: 513-524.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nicholas DE, Mc Laughlin JL. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*

- 45(3):31-34.
- Ngy L, Taniyama S, Shibano K, Yu CF, Takatani T, Arakawa O. 2008. Distribution of tetrodotoxin in puffer fish collected from coastal waters of Sihanouk Ville, Cambodia. *Journal Food Hygiene Society Japan* 49(5): 361-365.
- Nieto FR, Cobos EJ, Tejada MA, Fernandez CS, Cano RG, Cendan CM. Tetrodotoxin (TTX) as a therapeutic agent for pain. *Marine Drugs* 10:281-305.
- Noguchi T, Arakawa O. 2008. Tetrodotoxin-distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication. *Marine Drugs*. 6:220-242.
- Nunez-Vazquez E, Garcia-Ortega A, Campa-Cordova AI, de la Parra IA, Ibarra-Martinez L, Heredia-Tapia A, Ochoa JL. 2012. Toxicity of cultured bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*. *Marine Drugs*. 10:329-339.
- Pratama G. 2010. Pengaruh penggorengan terhadap karakteristik asam amino ikan buntal pisang (*Tetraodon lunaris*) dari perairan Kabupaten Cirebon, Jawa Barat. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Saito M, Kunisaki N. 1998. Proximate composition, fatty acid composition, free amino acid contents, mineral contents, and hardness of muscle from wild and cultured puffer fish *Takifugu rubripes*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 64(1):116-120.
- Sirisha RI, Rao PY. 2013. Length-weight relationship and growth of the green rough-backed puffer *Lagocephalus lunaris* (Bloch and Schneider 1801), off Visakhapatnam, East coast of India. *Advances in Applied Science Research* 4(4):123-128.
- Sulistiono, Kurniati TH, Riani E, Watanabe S. 2001. Kematangan gonad beberapa jenis ikan buntal (*Tetraodon lunaris*, *T. fluviatilis*, *T. reticularis*) di perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 1(2): 25-30.
- Suryati NK, Prianto E. 2008. Panjang bobot dan komposisi makanan ikan buntal pisang *Lagocephalus lunaris* (*Tetraodontidae*) di sungai Musi, Sumatera Selatan. *Jurnal Litbang Perikanan Indonesia* 14(3):279-283.
- Uddin M, Pervin R, Kabir Y, Absar N. 2013. Preliminary screening of secondary metabolites and brine shrimp lethality bioassay of warm-water extract of puffer fish organs tissue, *Tetraodon cutcutia*, available in Bangladesh. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* 2(5):14-18.
- Williams BL. 2010. Behavioral and chemical ecology of marine organisms with respect to tetrodotoxin. *Marine Drugs*. 8:381-398.
- Yusfiati, Sigit K, Affandi R, Nurhidayat. 2006. Anatomi pencernaan ikan buntal pisang (*Tetraodon lunaris*). *Jurnal Iktiologi Indonesia* 6(1):11-21.
- Zhou M dan Shun FHK, penemu; Nanning (CN) dan North Point (HK). 2003 Apr 22. Method of Extracting Tetrodotoxin. United States Patent US00652191B1.