

**AKTIVITAS PROTEOLITIK KAPANG ENDOFIT MANGROVE
PADA FERMENTASI TEPUNG IKAN**

SKRIPSI

VALLERY TESALONIKA

26040117130070



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2023

**AKTIVITAS PROTEOLITIK KAPANG ENDOFIT MANGROVE
PADA FERMENTASI TEPUNG IKAN**

VALLERY TESALONIKA

26040117130070

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Departemen Ilmu Kelautan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Aktivitas Proteolitik Kapang Endofit
Mangrove Pada Fermentasi Tepung
Ikan
Nama Mahasiswa : Vallery Tesalonika
Nomor Induk Mahasiswa : 26040117130070
Departemen / Program Studi : Ilmu Kelautan/S1 Ilmu Kelautan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Mengesahkan:

Pembimbing I



Prof. Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D.
NIP. 196903231995121001

Pembimbing II



Dr. Ir. Ervia Yudiati, M.Sc.
NIP. 196401311989022001

Dekan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro



Prof. Ir. Tri Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196508211990012001

Ketua
Departemen Ilmu Kelautan



Dr. Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil.
NIP. 196406051991031004

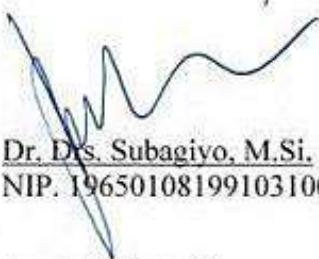
HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Aktivitas Proteolitik Kapang Endofit
Mangrove Pada Fermentasi Tepung
Ikan
Nama Mahasiswa : Vallery Tesalonika
Nomor Induk Mahasiswa : 26040117130070
Departemen / Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Skripsi ini telah disidangkan dihadapan Tim Penguji
Pada Tanggal: 23 Juni 2023

Mengesahkan:

Ketua Penguji



Dr. Drs. Subagivo, M.Si.
NIP. 196501081991031001

Anggota Penguji



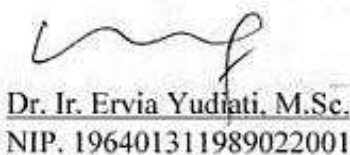
Prof. Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D.
NIP. 196903231995121001

Sekretaris Penguji



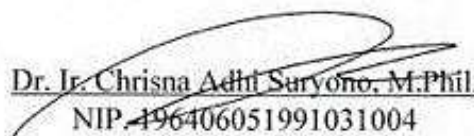
Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si.
NIP. 196511101993032001

Anggota Penguji



Dr. Ir. Ervia Yudiati, M.Sc.
NIP. 196401311989022001

Ketua
Program Studi Ilmu Kelautan



Dr. Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil.
NIP. 196406051991031004

PERNYATAAN KEASLIAN ILMIAH

Dengan ini saya, Vallery Tesalonika, menyatakan bahwa karya ilmiah/skripsi yang berjudul Aktivitas Proteolitik Kapang Endofit Mangrove Pada Fermentasi Tepung Ikan adalah asli karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya. Penelitian dalam karya ilmiah/skripsi ini merupakan bagian dari PENELITIAN HIBAH BERBASIS OUTPUT SKEMA : C yang didanai oleh Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah/skrpsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, September 2023

Penulis



Vallery Tesalonika

26040117130070

ABSTRAK

(Vallery Tesalonika. 26040117130070. Aktivitas Proteolitik Kapang Endofit Mangrove Pada Fermentasi Tepung Ikan. Agus Trianto & Ervia Yudiati).

Kapang endofit mangrove dengan karakteristik ekologisnya yang berada di habitat ekstrim dikenal memiliki potensi aktivitas enzimatik salah satunya yaitu enzim protease. Protease memecah protein menjadi peptida atau asam amino. Tepung ikan saat ini merupakan sumber protein utama pada pakan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas proteolitik kapang endofit mangrove setelah masa penyimpanan 2 tahun, mengetahui karakteristik tepung ikan paska fermentasi menggunakan kapang endofit mangrove, dan mengetahui profil asam amino tepung ikan yang telah difermentasi menggunakan isolat kapang endofit mangrove. Penelitian ini menggunakan kapang dari koleksi laboratorium Marine Natural Product UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro dan dilakukan peremajaan dengan media *Malt Extract Agar* (MEA). Uji aktivitas proteolitik dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) dengan mengukur zona hidrolisis kapang, kemudian isolat yang memiliki potensi aktivitas proteolitik diaplikasikan pada proses fermentasi tepung ikan. Hasil fermentasi dianalisis kandungan asam amino menggunakan metode UPLC. Penelitian ini dilakukan dengan 6 tahap yaitu peremajaan kapang, uji aktivitas protease, kultur cair, fermentasi, analisis asam amino, dan analisis data. Pada uji aktivitas, didapatkan 1 isolat yang memiliki aktivitas proteolitik dari 4 isolat dengan enzim indeks $1,75 \pm 0,05$ mm. Kapang ini kemudian dipilih untuk dilakukan kultur cair dengan media *Malt Extract Broth* (MEB) sebagai starter fermentasi untuk diinokulasikan ke tepung ikan pada proses fermentasi. Tepung ikan setelah fermentasi bertekstur padat dengan warna cokelat pudar. Analisis asam amino dari tepung ikan fermentasi dengan hasil 13 jenis asam amino dengan asam amino tertinggi Glisin dengan konsentrasi yaitu $2860,67 \pm 44,40$ mg/kg dan L-Lisin paling sedikit yaitu $660,88 \pm 2,87$ mg/kg. Fermentasi menghasilkan seluruh jenis asam amino menurun dibandingkan dengan kontrol. Penurunan tertinggi yaitu pada L-Arginin sebanyak 40% dan penurunan paling sedikit yaitu L-Prolin sebanyak 9%. Tepung ikan fermentasi menghasilkan 5 jenis asam amino esensial, yaitu L-Valin, L-Arginin, Glisin, L-Lisin, dan L-Treonin. Asam amino esensial tertinggi yaitu Glisin dan amino esensial terendah yaitu L-Lisin. Penurunan juga terjadi pada 5 jenis asam amino esensial yaitu antara 14—40%. Penurunan terendah yaitu pada asam amino esensial L-Lisin (14%). Penurunan tertinggi yaitu pada asam amino esensial L-Arginin (40%). Penurunan ini terjadi karena kapang menggunakan asam amino sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya.

Kata kunci: asam amino; enzim proteolitik; fermentasi; kapang endofit mangrove; tepung ikan.

ABSTRACT

(Vallery Tesalonika. 26040117130070. *Proteolytic Activity of Mangrove Endophytic Fungi on Fish Meal Fermentation* Agus Trianto & Ervia Yudiati).

Mangrove endophytic fungi with their ecological characteristics in extreme habitats are known to have potential enzymatic activities, one of which is protease enzymes. Proteases break down proteins into peptides or amino acids. Fishmeal is currently the main source of protein in feed. The purpose of this study was to determine the proteolytic activity of mangrove endophytic mold after a storage period of 2 years, to determine the characteristics of post-fermentation fishmeal using mangrove endophytic mold, and to determine the amino acid profile of fishmeal that has been fermented using mangrove endophytic mold isolates. This study used fungi from the collection of Marine Natural Product Laboratory in Universitas Diponegoro Integrated Laboratory and rejuvenated with Malt Extract Agar (MEA) media. Proteolytic activity test was conducted using Skim Milk Agar media by measuring the zone of mold hydrolysis, then isolates that have potential proteolytic activity were applied to the fermentation process of fishmeal. The fermentation results were analyzed for amino acid content using the UPLC method. This research was conducted with 6 stages, namely mold rejuvenation, protease activity test, liquid culture, fermentation, amino acid analysis, and data analysis. In the activity test, 1 isolate was obtained that had proteolytic activity from 4 isolates with an enzyme index of 1.75 ± 0.05 mm. This mold was then selected for liquid culture with MEB media as a fermentation starter to be inoculated into fishmeal in the fermentation process. Fishmeal after fermentation has a solid texture with a faded brown color. Amino acid analysis of fermented fishmeal with the results of 13 types of amino acids with the highest amino acid Glycine with a concentration of 2860.67 ± 44.40 mg / kg and the least L-lysine is 660.88 ± 2.87 mg / kg. Fermentation resulted in all types of amino acids decreasing compared to the control. The highest decrease was in L-Arginine by 40% and the least decrease was L-Proline by 9%. Fermented fishmeal produced 5 types of essential amino acids, namely L-Valin, L-Arginine, Glycine, L-Lysine, and L-Threonine. The highest essential amino acid was Glycine and the lowest essential amino was L-Lysine. The decrease also occurred in 5 types of essential amino acids, between 14-40%. The lowest decrease was in the essential amino acid L-Lysine (14%). The highest decrease was in the essential amino acid L-Arginine (40%). This decrease occurred because the mold used amino acids as a source of nitrogen for growth.

Keywords: *amino acid; fermentation; fish meal; mangrove endophytic fungi; proteolytic enzyme.*

KATA PENGANTAR

Pujian dan syukur penulis ungkapkan kepada semua insan yang mendukung penelitian skripsi ini. Skripsi ini dilakukan untuk menempuh Sarjana Sains dalam Departemen Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Berbagai dukungan, baik secara moral dan material penulis terima tatkala mengerjakan penelitian dan penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis persembahkan kepada:

1. Bapak Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D. sebagai pembimbing utama dalam skripsi ini untuk waktu, ilmu, pengalaman, dan kesempatannya serta Ibu Dr. Ir. Ervia Yudiati, M.Sc. sebagai pembimbing penulisan skripsi ini untuk arahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Rekan-rekan lab *Marine Natural Product* UPT Laboratorium Undip: Erlita yang selalu ada memberi solusi untuk penulis dan Nada yang selalu membantu penulis. *Partner* penulisan skripsi ini, yaitu Yoel untuk segala bantuannya dan juga Mas Galank, Mas Bahry, dan Bella.
3. Sahabat-sahabat tercinta: Lastri, Yosi, Lingga, Ribka, dan Tsabita yang menjadi penyemangat penulis dan senantiasa ada di kala mengerjakan laporan praktikum dan tugas kuliah.
4. Keluarga penulis: Ibu Selfie Maramis yang selalu ada untuk harapan dan doanya kepada penulis, Inda si pilar mental penulis. Kak Tasya, Kak Char, dan Lyssandra untuk support finansial dan dukungan kepada penulis yang selalu siap sedia. *What would I do without you?*
5. Teman-teman Bontang sebagai *bestie struggling* skripsian yang selalu sedia berjuang bersama: Yaw dan Anok.
6. Vallery Tesalonika Sumeisey, atas kerja kerasnya, walaupun perjalanannya lama, namun perlahan bisa bangkit lagi. Terlebih dari apapun, penulis sangat bangga.

Semarang, September 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Waktu dan Tempat	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Jamur Endofit Mangrove	6
2.2 <i>Pestalotiopsis microspora</i>	8
2.3 Enzim Protease.....	9
2.4 Tepung Ikan	11
2.5 Fermentasi Tepung Ikan	13
2.6 Asam Amino	15
3. MATERI DAN METODE	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat dan Bahan Penelitian	18
3.2 Metode Penelitian.....	19
3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian.....	20
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	20
3.4.2 Pembuatan Media.....	20
3.4.3 Peremajaan Isolat	21
3.4.4 Uji Aktivitas Proteolitik	22
3.4.5 Pembuatan Kultur Starter	23
3.4.6 Fermentasi Tepung Ikan.....	24
3.4.7 Analisis Asam Amino	24
3.4.8 Skema Alur Penelitian.....	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil	26
4.1.1 Uji Aktivitas Proteolitik	26
4.1.2 Kultur Starter	26

4.1.3	Hasil Fermentasi Tepung Ikan.....	27
4.1.4	Hasil Analisis Asam Amino	28
4.2	Pembahasan	30
4.2.1	Peremajaan Kapang Endofit Mangrove	30
4.2.2	Uji Aktivitas Proteolitik	30
4.2.3	Fermentasi	33
4.2.4	Analisis Asam Amino	35
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1	Kesimpulan	40
5.2	Saran.....	40
	DAFTAR PUSTAKA.....	42
	LAMPIRAN	51
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Alat-alat yang digunakan	18
Tabel 3.2. Bahan-bahan yang digunakan	18
Tabel 4.1. Hasil Uji Aktivitas Proteolitik	26
Tabel 4.2. Hasil Analisis Asam Amino	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Konidia <i>P. microspora</i> (skala: 10 μm) (Herliyana <i>et al.</i> , (2022)).	8
Gambar 2.2. Struktur 20 jenis asam amino (Champe dan Harvey, 2003).....	16
Gambar 3.1. Error! Reference source not found. ... Error! Bookmark not defined.	
Gambar 3.2. Diagram Alir Penelitian.....	25
Gambar 4.1. Hasil peremajaan isolat kapang endofit mangrove	30
Gambar 4.2. Hasil uji aktivitas proteolitik.....	30
Gambar 4.3. Hasil kultur cair.....	27
Gambar 4.4. Hasil fermentasi tepung ikan	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan EI screening aktivitas protease	51
Lampiran 2. Perhitungan kepadatan spora	51
Lampiran 3. Perhitungan Kandungan Asam Amino	52
Lampiran 4. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Kontrol (1)	53
Lampiran 5. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Kontrol (2)	54
Lampiran 6. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Fermentasi (1)	55
Lampiran 7. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Fermentasi (2)	56
Lampiran 8. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Fermentasi (3)	57
Lampiran 9. Hasil Kromatografi Sampel Tepung Ikan Fermentasi (4)	58
Lampiran 10. Dokumentasi	59