

**KARAKTERISTIK MORFOLOGI KAPANG YANG DIISOLASI DARI PINDANG
IKAN TONGKOL (*Euthynnus* sp.)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBEDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

Oleh :
KHOIRUL ANAM
NIM. 125080600111033

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**KARAKTERISTIK MORFOLOGI KAPANG YANG DIISOLASI DARI PINDANG
IKAN TONGKOL (*Euthynnus* sp.)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBEDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

**Sebagai Salah satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Kelautan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
KHOIRUL ANAM
NIM. 125080600111033**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

**Karakteristik Morfologi Kapang yang Diisolasi dari Pindang Ikan Tongkol
(*Euthynnus* sp.)**

Oleh :

KHOIRUL ANAM

NIM. 125080600111033

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 23 September 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I



Ir. Aida Sartimbul, M.Sc, Ph.D
NIP. 19680901 199403 2 001

Tanggal : 17 OCT 2016

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**



Feni Iranawati, S. Pi., M. Si., Ph.D
NIP. 19740812 200312 2 001

Tanggal : 17 OCT 2016

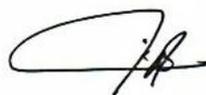
Dosen Penguji II



Dwi Candra Pratiwi S.Pi., MP., M.Sc.
NIP. 19860115 201504 2 001

Tanggal : 17 OCT 2016

Dosen Pembimbing II



Muliawati Handayani, S. Pi., M. Si.
NIK. 20130988 1005 2 001

Tanggal : 17 OCT 2016



**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP.
NIP. 19630608 198703 1 003

Tanggal : 17 OCT 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari saya terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Malang, 23 September 2016
Mahasiswa

Khoirul Anam

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya laporan Skripsi ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua Orang tua penulis yang telah memberikan do'a, semangat serta dukungannya dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
3. Ibu Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D dan ibu Muliawati Handayani, S.Pi., M.Si. sebagai Dosen Pembimbing pertama dan Dosen Pembimbing kedua yang telah memberi masukan, pengarahan, dan bimbingan selama proses pelaksanaan skripsi.
4. Ibu Ir. Aida Sartimbul, M.Sc, Ph.D dan ibu Dwi Candra Pratiwi S.Pi., MP., M.Sc. sebagai Dosen Penguji pertama dan Dosen Penguji kedua yang telah memberi masukan serta pengarahan selama proses sidang skripsi.
5. Bapak Wahyudi (laboran lab. IK), mbak Tabita (laboran LSIH), Rahman, Heru, dan Agus atas bantuan ketika penelitian dahulu.
6. Teman-teman Ilmu Kelautan UB 2012 atas segala bantuan, semangat, motivasi, dan informasi.
7. Teman-teman FOKSI FPIK UB 2012 atas semangat dan motivasinya.
8. Serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Malang, 5 Oktober 2016

Penulis

Khoirul Anam

RINGKASAN

KHOIRUL ANAM. Skripsi tentang Karakteristik Morfologi Kapang yang Diisolasi dari Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus* sp.)(di bawah bimbingan **FENI IRANAWATI** dan **MULIAWATI HANDAYANI**).

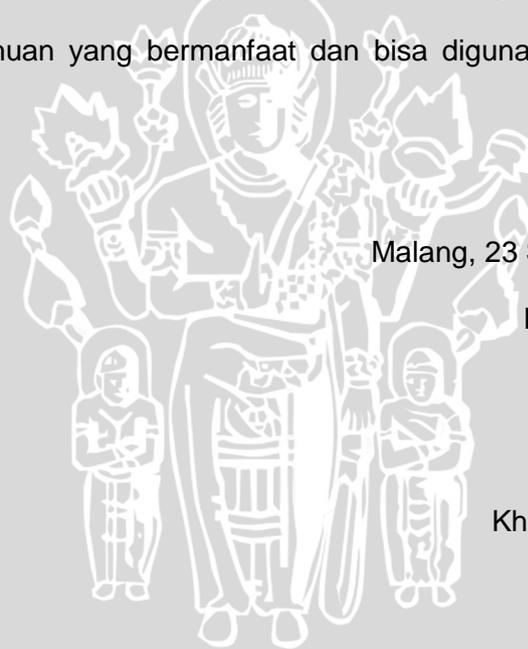
Ikan pindang tongkol merupakan salah satu pengolah ikan yang bertujuan agar kandungan gizi dan cita rasa pada ikan tongkol dapat bertahan lebih lama. Pemandangan ikan tongkol hanya mampu bertahan selama 2 hari. Apabila melebihi masa tersebut maka ikan tongkol akan berpotensi ditumbuhi kapang yang merugikan bagi kesehatan konsumen. Penting dilakukan karakterisasi morfologi kapang yang tumbuh pada ikan pindang tongkol agar kapang yang tumbuh dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai penghasil enzim selulase dan protease. Kegiatan skripsi dilakukan pengambilan sampel ikan pindang tongkol dari Pasar Besar kota Malang sebagai sampel uji. Penelitian ini menggunakan metode uji proksimat sampel, penanaman pada media berbeda (air laut, air tawar, aquades dan NACl 3%) dan *screening*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi kapang yang tumbuh pada tongkol dan mengetahui diameter koloni kapang yang tumbuh pada media pertumbuhan yang berbeda. Hasil isolasi didapatkan kapang yang muncul adalah dari genus *Mucor* sp. Kapang *Mucor* sp., merupakan kapang yang fakultatif karena dapat tumbuh pada keempat media berbeda yaitu air laut, air tawar, aquades dan NACl 3%. Hasil perhitungan diameter koloni pada kapang *Mucor* sp., dengan media Skim Milk Agar adalah aquades : $56,3 \pm 1,52$ mm, air tawar : $54,8 \pm 5,87$ mm, air laut : $20,85 \pm 9,12$ mm dan NACl 3% : $49,05 \pm 1,08$ mm sedangkan pada media CMC adalah aquades : $43,35 \pm 2,69$ mm, air tawar : $38,93 \pm 0,93$ mm, air laut : $42,67 \pm 2,37$ mm dan NACl 3% : $48,72 \pm 0,93$ mm. Diameter koloni terbesar pertumbuhan kapang *Mucor* sp., pada media Skim Milk Agar adalah aquades dengan rata-rata besar koloni 56,3 mm sedangkan pada media CMC adalah NACl 3% dengan rata-rata besar koloni 48,72 mm. Diketahui juga bahwa kapang *Mucor* sp., tidak dapat menghasilkan nisbah zona bening pada kedua media yaitu media CMC (untuk mengetahui zona bening enzim selulase) dan media Skim Milk Agar (untuk mengetahui zona bening enzim protease) karena kapang jenis ini hanya mampu menghasilkan enzim rennin yang biasanya dimanfaatkan dalam industri pembuatan keju.

Keyword : Tongkol, Karakterisasi kapang, *Mucor* sp.

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT, atas kelimpahan rahmat dan hidayahnya pada akhirnya laporan skripsi yang berjudul “Karakteristik Morfologi Kapang yang Diisolasi dari Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus* sp.)” dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.

Penulis menyadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga penulis dapat menyempurnakan isi dari laporan skripsi ini yang nantinya bisa bermanfaat bagi pembaca. Semoga tulisan ini bisa memberikan pengetahuan yang bermanfaat dan bisa digunakan sebagaimana mestinya.



Malang, 23 September 2016

Penulis

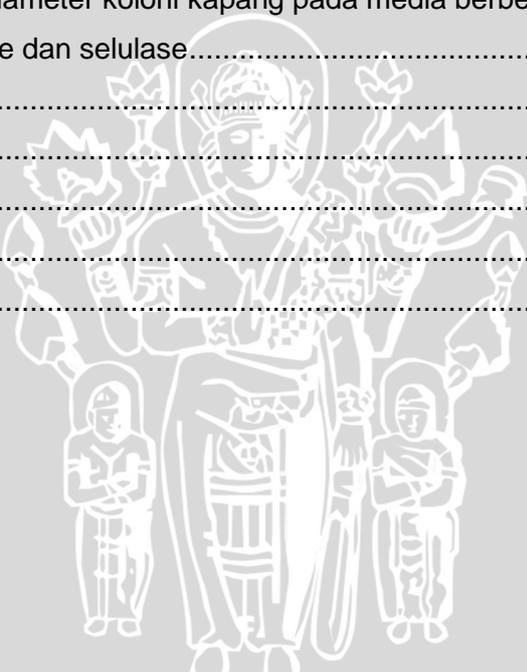
Khoirul Anam

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. Pendahuluan.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Kegunaan	2
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	2
2. Tinjauan Pustaka	4
2.1 Ikan Pindang Tongkol (<i>Euthynnus</i> sp.).....	4
2.2 Kapang	5
2.2.1 Persebaran dan Reproduksi kapang	6
2.2.2 Morfologi dan Klasifikasi kapang	7
2.3 Enzim.....	9
3. Metode Penelitian	12
3.1 Metode Penelitian	12
3.2 Skema kerja.....	13
3.3 Alat dan Bahan	14
3.4 Analisis Proksimat dan pengukuran pH.....	15
3.4.1 Pengukuran pH	15
3.4.2 Kadar Air	16
3.4.3 Kadar Abu	17
3.4.4 Kadar lemak	17
3.4.5 Kadar protein.....	18
3.4.6 Kadar Karbohidrat	19
3.5 Pembuatan media.....	20



3.5.1 Pembuatan Media PDA.....	20
3.5.2 Pembuatan media <i>Carboxy Methyl Cellulose</i> dan <i>Congo red</i>	20
3.5.3 Pembuatan media <i>Skim Milk Agar</i>	21
3.6 Isolasi dan Pemurnian Kapang	21
3.7 Perhitungan besar diameter koloni kapang	22
3.8 Identifikasi kapang	23
3.8 Penapisan Kapang selulase dan protease	23
4. Hasil dan Pembahasan.....	25
4.1 Uji Proksimat.....	25
4.2 Isolasi kapang saprofit	26
4.3 Identifikasi kapang	27
4.4 Morfologi Kapang <i>Mucor</i> sp.	30
4.5 Perhitungan diameter koloni kapang pada media berbeda dan <i>Screening</i> enzim protease dan selulase.....	31
5. Penutup	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN	42



DAFTAR TABEL

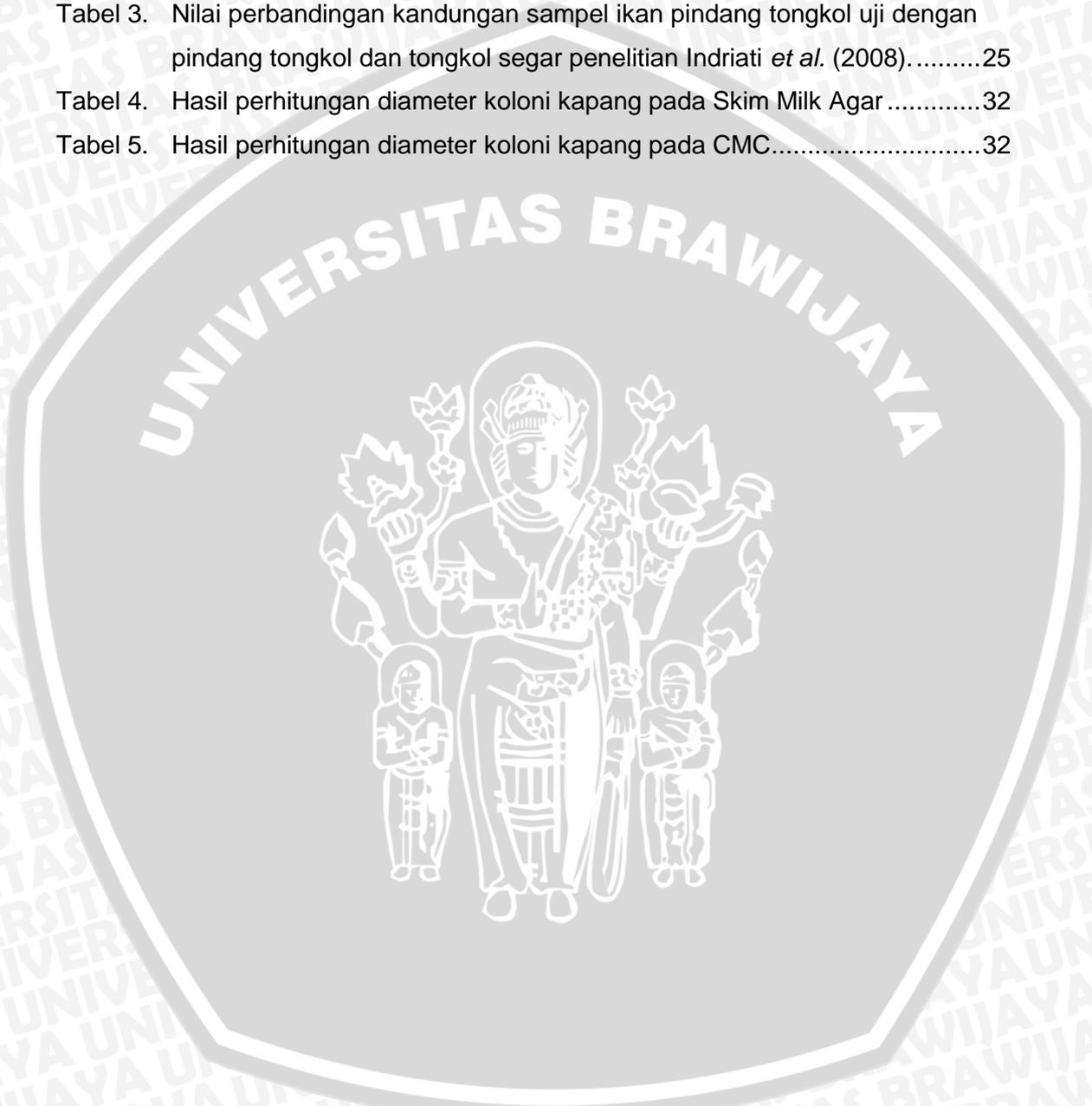
Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian..... 14

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian..... 15

Tabel 3. Nilai perbandingan kandungan sampel ikan pindang tongkol uji dengan pindang tongkol dan tongkol segar penelitian Indriati *et al.* (2008).....25

Tabel 4. Hasil perhitungan diameter koloni kapang pada Skim Milk Agar32

Tabel 5. Hasil perhitungan diameter koloni kapang pada CMC.....32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Ikan tongkol (<i>Euthynnus</i> sp.) Sumber : Kementerian Perikanan dan Kelautan Provinsi Jawa Timur, 2010	5
Gambar 2.	Klasifikasi fungi berdasarkan filum. a) coenocytic hypha; b) zygospore; c) sporangiophore; d) sporangiospores. Basidiomycota: e) basidiomata; f) basidium; g) basidiospores; h) hypha with clamp connections. Ascomycota: i) ascomata; j) ascus; k) ascospores; l, septate hypha. Deuteromycetes: m) pycnidium; n) conidiophore; o) conidiogenous cells; p) conidia. Oomycota. Sumber : Guarro <i>et al.</i> (1999).	8
Gambar 3.	Mekanisme kerja enzim pada substrat. Keterangan : E) Enzim, S) Substrat, dan P) Produk. Sumber : Nelson dan Michael (2010).	10
Gambar 4.	Desain percobaan RAL.....	13
Gambar 5.	Skema kerja penelitian.....	14
Gambar 6.	Skema pengukuran pH	16
Gambar 7.	Skema analisis kadar air pada sampel ikan	16
Gambar 8.	Skema analisis kadar abu	17
Gambar 9.	Skema dalam analisis kadar lemak	18
Gambar 10.	Skema pengujian kadar protein.....	19
Gambar 11.	Skema pembuatan media PDA.....	20
Gambar 12.	Skema pembuatan media CMC	21
Gambar 13.	Skema pembuatan Skim Milk Agar	21
Gambar 14.	Skema penanaman sampel dan pemurnian.....	22
Gambar 15.	Metode perhitungan diameter koloni kapang (Linda <i>et al.</i> , 2011) keterangan: a) Cawan petri, b) koloni kapang, c1/c2) diameter koloni.	22
Gambar 16.	Skema identifikasi.....	23
Gambar 17.	Skema penapisan selulase dan protease.....	24
Gambar 18.	Koloni kapang hasil penanaman sampel. a) pengulangan 1, b) pengulangan 2, c) pengulangan 3.....	27
Gambar 19.	Pengamatan mikroskopik kapang yang tumbuh. a) pengulangan 1,b) pengulangan 2 pada perbesaran 10 x.....	28

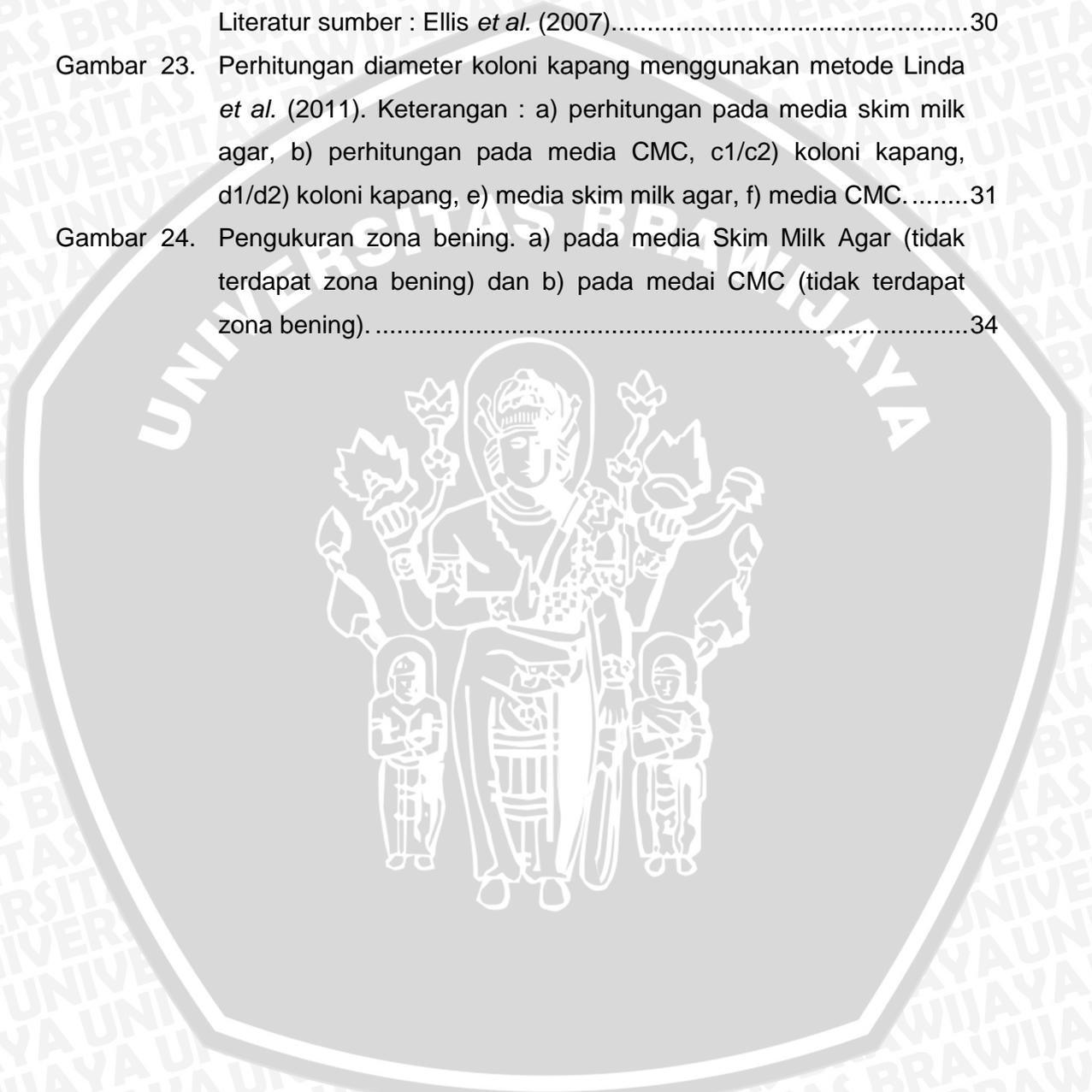
Gambar 20. Perbandingan sampel dengan Literatur : a) *Mucor* sp., dari sampel Pasar Besar, b) *Mucor* sp., dari literatur Ellis *et al.* (2004), c) *Rhizopus* d) *Rhizomucor* dari literatur McDonald (2001).28

Gambar 21. Hasil pengamatan mikroskopik sampel Gadang Perbesaran 10x.....29

Gambar 22. Struktur *Mucor* sp., a) sampel uji, b) sampel Pasar Gadang, c) Literatur sumber : Ellis *et al.* (2007).....30

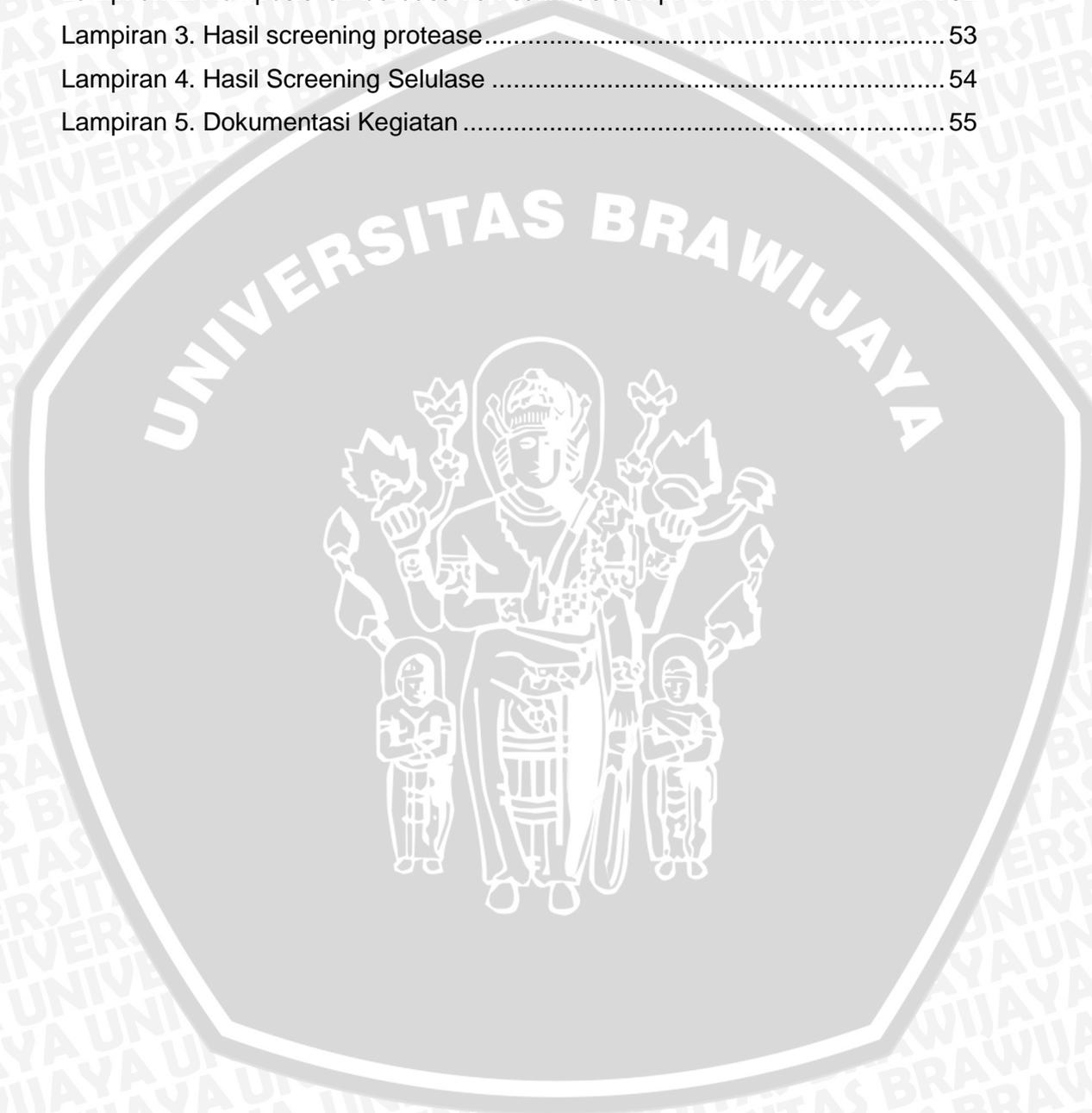
Gambar 23. Perhitungan diameter koloni kapang menggunakan metode Linda *et al.* (2011). Keterangan : a) perhitungan pada media skim milk agar, b) perhitungan pada media CMC, c1/c2) koloni kapang, d1/d2) koloni kapang, e) media skim milk agar, f) media CMC.31

Gambar 24. Pengukuran zona bening. a) pada media Skim Milk Agar (tidak terdapat zona bening) dan b) pada medai CMC (tidak terdapat zona bening).....34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Metode kerja penelitian	42
Lampiran 2. Komposisi air berdasarkan salinitas dan pH.....	52
Lampiran 3. Hasil screening protease.....	53
Lampiran 4. Hasil Screening Selulase	54
Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan	55



1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan sumber keuntungan ekonomi dan pangan. Manfaat ikan bagi kesehatan diantaranya mengandung asam lemak tak jenuh (ω -3), vitamin serta mineral (Wally *et al.*, 2015). Salah satu jenis ikan yang mempunyai manfaat tersebut adalah ikan tongkol (*Euthynnus* sp.). Beberapa pengolahan dilakukan agar kandungan gizi dan cita rasa pada ikan tongkol dapat bertahan lebih lama diantaranya pemindangan. Proses pemindangan pada ikan tongkol hanya mampu bertahan selama 2 hari (Pandit, 2010). Apabila lebih dari masa tersebut maka ikan pindang tongkol akan mengalami pembusukan.

Ikan pindang tongkol yang membusuk dapat ditumbuhi oleh mikroorganisme, salah satunya kapang. Kapang pada ikan yang membusuk tersebut dapat menghasilkan berbagai jenis toksin yang disebut mikotoksin. Mikotoksin yang terdapat pada kapang diantaranya aflatoksin, zearalenon, trichotenes, oktratoksin dan patulin (Prabawati, 2006). Hal tersebut akan berbahaya bagi kesehatan manusia sehingga tidak dapat dimanfaatkan lagi untuk konsumsi (Handajani dan Ratna, 2006), biasanya ikan berkapang akan dibuang tanpa ada pemanfaatan lebih lanjut sehingga sangat merugikan terutama bagi pedagang. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai karakterisasi morfologi kapang yang tumbuh pada ikan pindang tongkol. Karakterisasi tersebut merupakan tahapan awal untuk mengetahui jenis kapang sehingga dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai pemanfaatan kapang yang tumbuh.

Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kapang dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai organisme penghasil enzim selulase yang

sering digunakan pada industri tekstil, detergen dan makanan (Kvesitadze *et al.*, 1999) juga sebagai penghasil enzim protease yang sering digunakan di industri susu dan obat-obatan (Agustina dan Zufahair, 2006). Proses *screening* dilakukan untuk mengetahui kapang pada ikan pindang tongkol dapat menghasilkan kedua enzim tersebut atau tidak.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah ikan pindang tongkol yang telah membusuk dan ditumbuhi kapang belum ada pemanfaatannya. Oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi morfologi kapang yang tumbuh pada pindang ikan tongkol sehingga kapang dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengidentifikasi kapang yang tumbuh pada ikan tongkol.
2. Mengetahui diameter koloni fungi yang tumbuh pada media pertumbuhan berbeda.

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi terkait karakteristik morfologi jenis kapang yang tumbuh pada ikan tongkol (*Euthynnus* sp.), sehingga nantinya kapang tersebut dapat dimanfaatkan.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian mengenai pembuatan media dan *screening* kapang dilaksanakan di laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu

Kelautan dan laboratorium Mikrobiologi LSIH Universitas Brawijaya, sedangkan pengujian proksimat dilaksanakan di laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Sampel ikan pindang tongkol didapatkan dari Pasar Besar kota Malang sebagai sampel uji dan ikan pindang tongkol dari Pasar Gadang sebagai penelitian tambahan. Waktu penelitian dilaksanakan dari tanggal 2 April hingga 17 Mei 2016.



2. Tinjauan Pustaka

2.1 Ikan Pindang Tongkol (*Euthynnus* sp.)

Ikan tongkol adalah ikan yang berpotensi cukup tinggi serta memiliki nilai ekonomis dan banyak disukai masyarakat (Sanger, 2010). Ikan tongkol salah satu jenis ikan yang berasal dari laut. Mereka dikenali dari dasar sempit pada ekornya dan sebaris sirip kecil dekat punggungnya. Ciri-ciri morfologi dari ikan tongkol ini adalah badan memanjang kaku bulat seperti cerutu, memiliki dua sirip punggung, sirip punggung pertama berjari-jari keras 10, yang kedua berjari-jari 11 diikuti 6-9 jari sirip tambahan. Sirip dubur berjari-jari 11 diikuti 6-9 jari tambahan. Sirip dubur berjari lemah 14 diikuti 6-8 jari sirip tambahan (Saraswati, 2011). Gambar 1 merupakan gambar ikan tongkol (*Euthynnus* sp.). Klasifikasi ikan tongkol Menurut Saanin (1968) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Teleostei
Subkelas	: Actinopterygi
Ordo	: Perciformes
Subordo	: Scombroidea
Famili	: Scomberidae
Genus	: <i>Euthynnus</i> sp.



Gambar 1. Ikan tongkol (*Euthynnus* sp.) Sumber : Kementerian Perikanan dan Kelautan Provinsi Jawa Timur, 2010

Ikan tongkol (*Euthynnus* sp.) termasuk salah satu jenis komoditi bahan pangan yang mengandung protein yang tinggi. Kandungan zat gizi yang ada di ikan tongkol adalah air 63,9%-65,6%, protein 23,1%-23,6%, lemak 9,3%- 11,6%, dan abu 1,3%-1,4% (Ilza, 2006). Kadar air yang tinggi inilah yang menyebabkan kerusakan atau penurunan mutu ikan lebih cepat. Penurunan mutu ini yang menyebabkan dilakukannya berbagai pengolahan terhadap ikan tongkol. Salah satu pengolahan ikan tongkol adalah pemindangan (Budiman, 2004).

Ikan tongkol (*Euthynnus* sp.) merupakan jenis ikan *Scombridae* (ikan pelagis) yang mempunyai potensi untuk dieksploitasi (Erdmann, 2004). Namun demikian ikan ini belum dimanfaatkan dengan baik. Ikan tongkol terdapat di seluruh perairan hangat Indo Pasifik Barat termasuk laut kepulauan dan laut nusantara. Pada tahun 2010 jumlah produksi ikan tongkol di Provinsi Jawa Timur mencapai 21.445,8 ton (Kementerian Perikanan dan Kelautan Provinsi Jawa Timur, 2010).

2.2 Kapang

Kapang merupakan salah satu dari jenis fungi. Fungi sendiri merupakan organisme yang berkembang biak dengan spora, organisme ini tidak berklorofil, tidak dapat memanfaatkan cahaya matahari untuk mensintesis karbohidrat dengan cara fotosintesis sehingga organisme ini tergantung terhadap organisme lain. Menurut Arroyo *et al.* (2008), kapang dapat menjalin tiga hubungan dengan

organisme lain yaitu sebagai parasit/patogen contohnya fungi seperti *saprolegnia* sp. dapat tumbuh pada organisme lain yang masih hidup seperti pada ikan. Kapang patogen kemudian mengambil nutrisi pada ikan tersebut sehingga menyebabkan penyakit yang mematikan. Kedua kapang sebagai saprofit tidak ada organik material yang bisa menghancurkan organisme yang telah mati sehingga kapang dapat tumbuh untuk mengambil nutrisi yang masih ada pada organisme yang telah mati tersebut. Ketiga berhubungan secara mutualisme/menguntungkan contohnya pada kapang jenis *trichoderma* sp., dan *fusarium* sp., dapat menghambat jamur patogen pada tanaman (Manurung *et al.*, 2014).

2.2.1 Persebaran dan Reproduksi kapang

Penyebaran kapang sebagai organisme mikroskopik sangat beragam. Spora yang dihasilkan dapat tumbuh diberbagai tempat baik di perairan, daratan, udara bahkan di suhu 0° C beberapa kapang dapat tumbuh dengan baik (Gandjar *et al.*, 1999). Beberapa parameter lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan kapang diantaranya pH 3,8-5,6, suhu 22-30°C, serta kadar oksigen aerobik untuk kapang dan fakultatif untuk khamir (Pelczar dan Chan, 2008). Reproduksi kapang menurut Sastrahidayat (2011), terdapat dua cara yaitu secara kawin dan tidak kawin. Reproduksi secara tidak kawin dibagi menjadi 3 yaitu fragmentasi (dari tubuh menjadi individu baru), pembelahan, penguncupan (tiap kuncup menjadi individu baru, dan pembentukan spora). Reproduksi secara kawin pada fungi dibagi menjadi 5 yaitu :

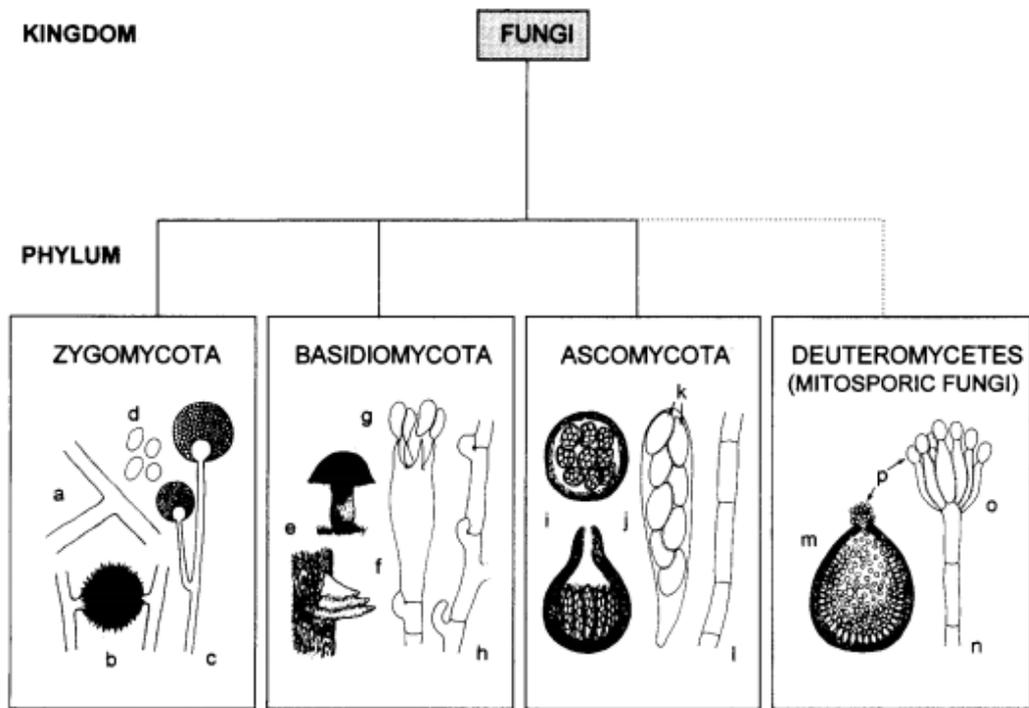
- a) Kopulasi planogamet yaitu hubungan yang terjadi antara gamet-gamet yang bergerak.
- b) Kontak gametangium yaitu pemindahan gamet dari planogamet secara langsung menuju gametangium yang satu ke gametangium yang lain.

- c) Kopulasi gametangium yaitu bersatunya seluruh isi yang terdapat di gametangium yang saling berhubungan.
- d) Spermatisasi yaitu spora yang terbawa baik secara langsung maupun tidak langsung menuju gametangium.
- e) Somatogami yaitu menjadikan sel somatogami sebagai alat reproduksi.

2.2.2 Morfologi dan Klasifikasi kapang

Terdapat 1,5 Juta jenis fungi termasuk jenis dari kapang yang ada di dunia namun hanya sekitar 80.000 sampai 120.000 yang telah dideskripsikan (Hawksworth, 2001). Komposisi dari dinding sel kapang sangat beragam dan didominasi oleh struktur kimia yang berbeda. Kandungan kimia yang terdapat pada dinding sel kapang diantaranya karbohidrat seperti kitin (Bessey, 1950). Kebanyakan kapang diatur oleh filamen atau benang-benang. Benang inilah yang disebut hifa, namun jika terdiri dari banyak hifa maka disebut miselium. Satu hifa dengan lainnya dipisahkan oleh septa. Kapang mempunyai satu atau lebih nuclei yang terdapat di dalam septa dan bisa untuk proses mitokondria, ribosom, badan goli, vakuola dan lain sebagainya (Cochrane, 1958).

Klasifikasi Fungi secara umum berdasarkan filumnya menurut Guarro *et al.* (1999) dibagi menjadi 4 yaitu Zygomycota, Basidiomycota, Ascomycota dan Deuteromycetes. Filum yang ditempati jenis kapang dari keempat filum tersebut hanya 3 filum yaitu Zygomycota, Ascomycota dan Deuteromycetes sedangkan filum Basidiomycota didominasi dari jenis mushroom atau jamur merang. Pembagian filum fungi dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Klasifikasi fungi berdasarkan filum. a) coenocytic hypha; b) zygospore; c) sporangiophore; d) sporangiospores. Basidiomycota: e) basidiomata; f) basidium; g) basidiospores; h) hypha with clamp connections. Ascomycota: i) ascus; j) ascospores; k) septate hypha; l) asci. Deuteromycetes: m) pycnidium; n) conidiophore; o) conidiogenous cells; p) conidia. Oomycota. Sumber : Guarro *et al.* (1999).

Penjelasan mengenai filum dan jenis kapang yang menempatinnya menurut Hastuti (2014) dapat diperinci sebagai berikut :

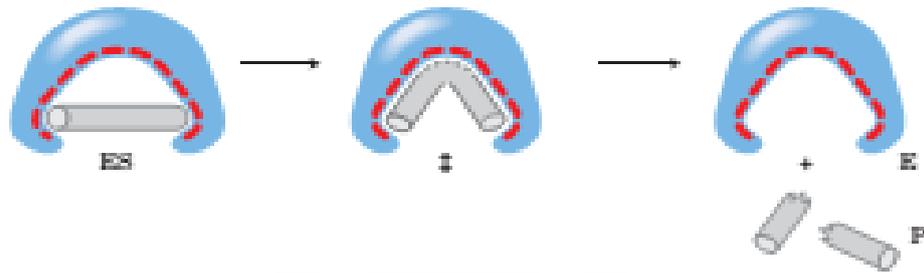
- a) Zygomycetes : kelompok fungi dari kelas ini ada yang saprofit dan ada pula yang parasit. Perkembangbiakan secara vegetatif dengan spora sedangkan perkembangan generatifnya dengan konjungsi antara dua hifa yang membentuk zygospora. Kelompok dari fungi kelas ini adalah *Mucor* sp., dan *Rhizopus* sp.
- b) Ascomycetes : fungi dari kelas ini kebanyakan adalah fungi yang saprofit meskipun ada juga yang bersifat parasit bahkan menguntungkan bagi manusia sebagai antibiotik. Perkembangbiakan fungi kelas ini secara vegetatifnya dengan membelah diri, membentuk tunas fragmentasi,

klamidospora atau dengan konidia. Perkembangbiakan generatif fungi kelas ini dengan cara askospora yang dibentuk dalam askus. Fungi yang masuk dalam kelompok ini diantaranya *Penicillium* sp., dan *Aspergillus* sp.

- c) Deuteromycetes : fungi yang masuk ke dalam kelas ini mempunyai perkembangbiakan secara vegetatif yang telah diketahui namun untuk perkembangbiakan secara generatifnya belum diketahui. Kelompok fungi ini mempunyai hifa yang bersekat namun ada juga sebagian yang berbentuk sel tunggal. Kelompok fungi ini contohnya *Fusarium* sp., kebanyakan dari fungi ini merupakan patogen baik bagi tumbuhan, hewan maupun manusia.

2.3 Enzim

Enzim merupakan zat yang mempunyai daya katalitik terhadap reaksi biokimia seperti hidrolisis, reduksi, oksidasi dan sebagainya. Enzim dihasilkan di dalam setiap sel makhluk hidup baik tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme. Enzim bekerja secara biokatalisator terhadap substrat. Setiap satu enzim bekerja hanya pada satu senyawa atau reaksi kimia. Mekanisme kerja enzim dapat dilihat pada Gambar 3. Mekanisme yang terjadi adalah setiap enzim yang bergabung dengan substrat menjadi kompleks enzim-substrat kemudian terurai menjadi produk dan enzim yang terlepas kembali setelah reaksi tersebut selesai. Produk dan enzim yang dihasilkan nantinya akan dimanfaatkan oleh organisme (Primasari *et al.*, 2014).

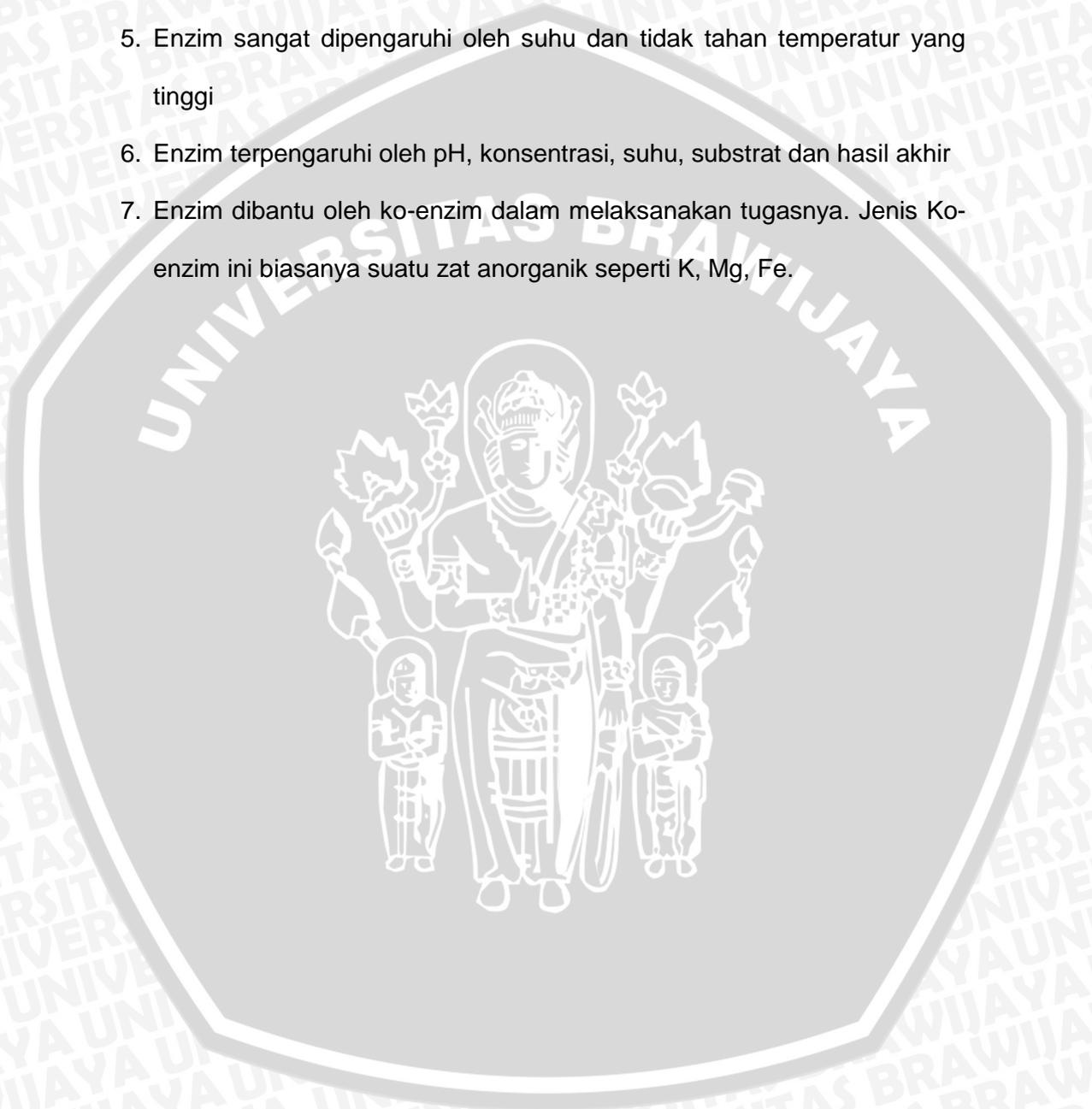


Gambar 3. Mekanisme kerja enzim pada substrat. Keterangan : E) Enzim, S) Substrat, dan P) Produk. Sumber : Nelson dan Michael (2010).

Saat ini, ada sekitar 400 jenis enzim yang telah diketahui dan sekitar 200 yang digunakan secara komersial. Banyak digunakan dalam industri pangan dan non pangan. Mayoritas enzim dihasilkan oleh mikroorganisme melalui fermentasi dan dimanfaatkan oleh industri pangan maupun non pangan. Enzim memiliki manfaat dalam bidang pangan diantaranya memperbaiki tekstur adonan roti, melunakkan daging, menghidrolisis laktosa dalam susu skim sedangkan dalam bidang non pangan enzim digunakan dalam industri tekstil, kulit dan deterjen (Riwayati *et al.*, 2012). Eksplorasi enzim dari mikroba, termasuk dari mikroba laut, masih banyak diminati terkait dengan tingginya kebutuhan enzim yang cenderung mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Tahun 2010 diperkirakan mencapai \$3,3 triliun (Fawzya *et al.*, 2013).

Produksi enzim dalam skala besar yang mempunyai aktivitas tinggi perlu diperhatikan beberapa faktor penting, agar produk yang dihasilkan bisa maksimal. Beberapa faktor-faktor penting tersebut diantaranya kondisi pertumbuhan, cara isolasi, serta jenis substrat yang digunakan. Pertumbuhan yang menunjang produksi enzim secara maksimal dipengaruhi oleh pH, suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan komposisi media pertumbuhan yang mengandung sumber energi dan karbon, serta sumber nitrogen dan mineral (Yuneta, 2010). Selain faktor diatas perlu diketahui juga mengenai sifat-sifat enzim. Sifat-sifat enzim yang dijelaskan oleh Endahwati (2011) diantaranya :

1. Enzim menggiatkan atau kadang-kadang memulaikan suatu proses
2. Enzim tertentu hanya mengubah suatu zat tertentu pula
3. Enzim merupakan protein yang mempunyai susunan suatu koloid
4. Banyak enzim yang dapat bekerja bolak-balik
5. Enzim sangat dipengaruhi oleh suhu dan tidak tahan temperatur yang tinggi
6. Enzim terpengaruhi oleh pH, konsentrasi, suhu, substrat dan hasil akhir
7. Enzim dibantu oleh ko-enzim dalam melaksanakan tugasnya. Jenis Ko-enzim ini biasanya suatu zat anorganik seperti K, Mg, Fe.



3. Metode Penelitian

3.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan metode penelitian dimana ada perlakuan terhadap variabel bebas (Kountour, 2004). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan 2 variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu media air laut steril, air tawar steril, aquades dan NACI 3% yang berbeda yang digunakan karena menurut Widi (2010), variabel bebas adalah variabel yang menyebabkan atau membawa perubahan dalam suatu situasi (perlakuan). Variabel terikat penelitian ini adalah koloni terbesar yang dihasilkan kapang pada media pertumbuhan berbeda. Mustafa (2013) menyatakan variabel terikat merupakan variasi nilai yang dipengaruhi variabel lain (variabel bebas). Penelitian berdasarkan media air berbeda (air laut, air tawar dan aquades) dilakukan karena komposisi dari salinitas dan pH dari ketiganya berbeda. Komposisi air berbeda berdasar salinitas dan pH dapat dilihat pada Lampiran 2. Rancangan percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL) sederhana dengan empat perlakuan dan 3 kali pengulangan. Keempat perlakuan yang berbeda dilakukan untuk mengetahui koloni terbesar dengan media yang berbeda (media air laut steril, air tawar steril, NACI 3% dan aquades), karena menggunakan 4 perlakuan dan tiga kali pengulangan maka terdapat 12 buah unit percobaan. Denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini :

Desain Percobaan Rancangan Acak Lengkap		
(1) AQ	(2) AQ	(3) AL
(4) NACI	(5) AT	(6) AT
(7) AL	(8) AT	(9) AL
(4) NACI	(5) NACI	(12) AQ

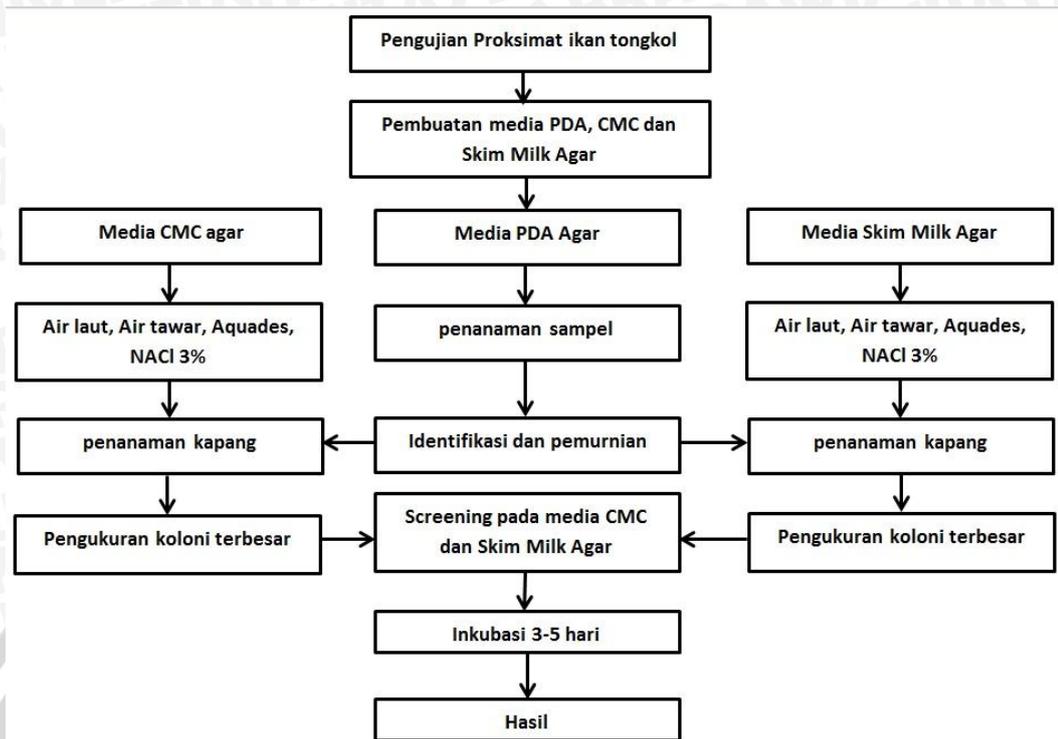
Keterangan : AL = Air laut, AT = Air tawar, AQ = Aquades, NACI = NACI 3%.

Gambar 4. Desain percobaan RAL.

Keuntungan dari rancangan percobaan menggunakan RAL adalah : analisis statistik masih mudah, peluang F hitung dengan nilai tinggi cukup besar dan percobaan tidak mempengaruhi nilai pengamatan (Sastrosupadi, 2000). Sampel pindang tongkol dalam penelitian ini menggunakan satu sampel uji yang didapatkan dari pedagang ikan Pasar Besar kota Malang. Parameter utama yang diamati adalah jenis kapang yang tumbuh pada sampel ikan tongkol dan enzim yang dihasilkan. Parameter penunjang dari penelitian ini adalah uji proksimat dan kandungan pH dari sampel tongkol. Gambaran umum mengenai alur penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2 Skema kerja

Skema kerja penelitian mengenai Karakteristik Morfologi Kapang yang Diisolasi dari Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus* sp.) dapat dilihat di bawah ini :



Gambar 5. Skema kerja penelitian

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini :

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Gelas ukur	100 ml	Mengukur media cair yang dibutuhkan
2	Erlenmeyer	250 ml	Menaruh media sebelum sterilisasi
3	Cawan petri	-	Tempat media
4	Pipet tetes	-	Mengambil cairan dalam ukuran milimeter
5	Ose bulat	-	Mengambil spora
6	Bunsen	-	Tempat spiritus
7	Timbangan digital	-	Menimbang media
8	Autoklaf	-	Proses sterilisasi
9	Lemari pendingin	-	Penyimpanan media
10	Hot plate	-	Pemanas
11	Inkubator	-	Menyimpan media sesuai suhu kamar
12	pH meter	-	Mengukur pH
13	Mortal dan alu	-	Menghaluskan media
14	Desikator	-	Pendingin cawan

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
15	Oven	-	Memanaskan dengan suhu tinggi
16	Tanur	-	Proses pemanas (proses pengabuan)
17	Labu Kjeldahl	-	Menaruh media proses proksimat
18	Alat mikro Kjeldahl	-	Proses proksimat (protein)
19	Mikroskop	-	Mengamati objek mikroskopik
20	Salinometer	-	Mengukur salinitas

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini :

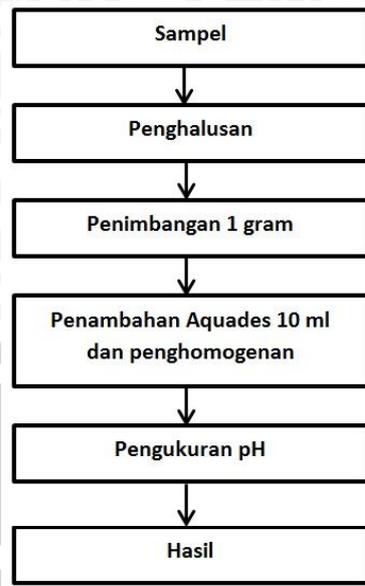
Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1	Selotip	-	Melekatkan spora
2	Gunting	-	Memotong
3	Lactophenol blue	-	Larutan identifikasi
4	Objek glass	-	Menaruh spora
5	Pinset	-	Mengambil sampel
6	Alkohol	70 %	Aseptis
7	Tisu	-	Mengeringkan cairan
8	Kertas label	-	Melabeli
9	Sampel ikan pindang tongkol	-	Sampel
10	Hcl	0,1 N	Proses proksimat (protein)
11	Larutan asam borat	-	Proses proksimat (protein)
12	Kertas saring	-	Menyaring
13	Kapas	-	Menyaring
14	Petroleum eter	75 ml	Proses proksimat (lemak)
15	Air laut	-	Media
16	Air tawar	-	Media
17	NACl	3 %	Media
18	Aquades	-	Media
19	Susu Skim	-	Media tanam kapang
20	Agar	-	Media tanam kapang
21	Congo red	-	Pewarna
22	Serbuk CMC	-	Media tanam kapang
23	PDA	-	Medai tanam sampel
24	Alumunium foil	-	Pembungkus

3.4 Analisis Proksimat dan pengukuran pH

3.4.1 Pengukuran pH

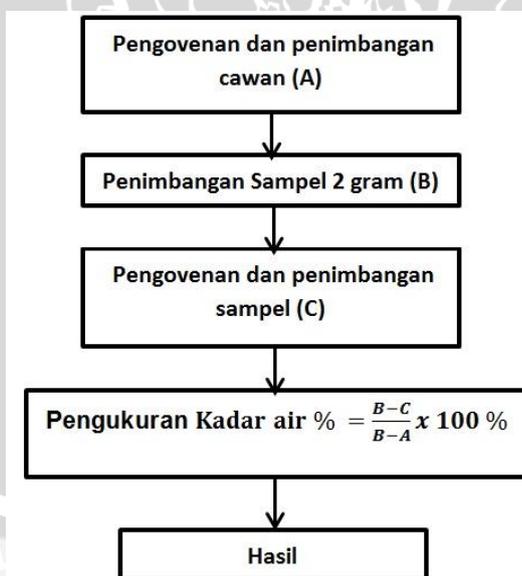
Skema pengukuran pH pada daging ikan menurut Swastawati *et al.* (2013) adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Skema pengukuran pH

3.4.2 Kadar Air

Skema analisis kadar air pada sampel ikan menurut Hafilluddin *et al.* (2014) sebagai berikut:



Gambar 7. Skema analisis kadar air pada sampel ikan

Keterangan :

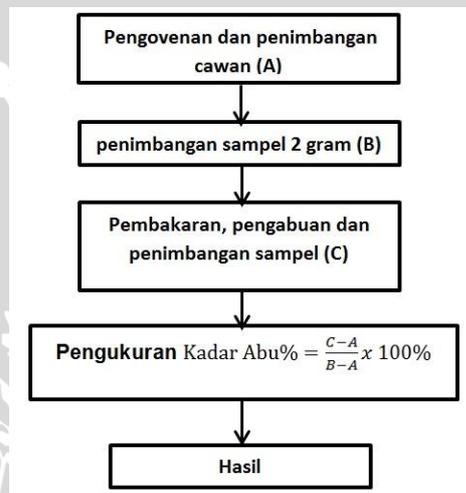
A = Berat kering cawan (gr)

B = Berat kering cawan dan sampel awal (gr)

C = Berat kering cawan dan sampel setelah dikeringkan (gr).

3.4.3 Kadar Abu

Skema analisis kadar abu menurut Hafiluddin *et al.* (2014) sebagai berikut :



Gambar 8. Skema analisis kadar abu

Keterangan:

A: berat cawan yang sudah di oven

B: berat basah sampel + cawan yang sudah di oven

C: berat kering sampel yang sudah di oven dan cawan yang sudah di oven

3.4.4 Kadar lemak

Analisis kadar lemak menggunakan metode Soxhlet. Skema dalam analisis kadar lemak pada ikan menurut Hafiluddin *et al.* (2014) sebagai berikut :



Gambar 9. Skema dalam analisis kadar lemak

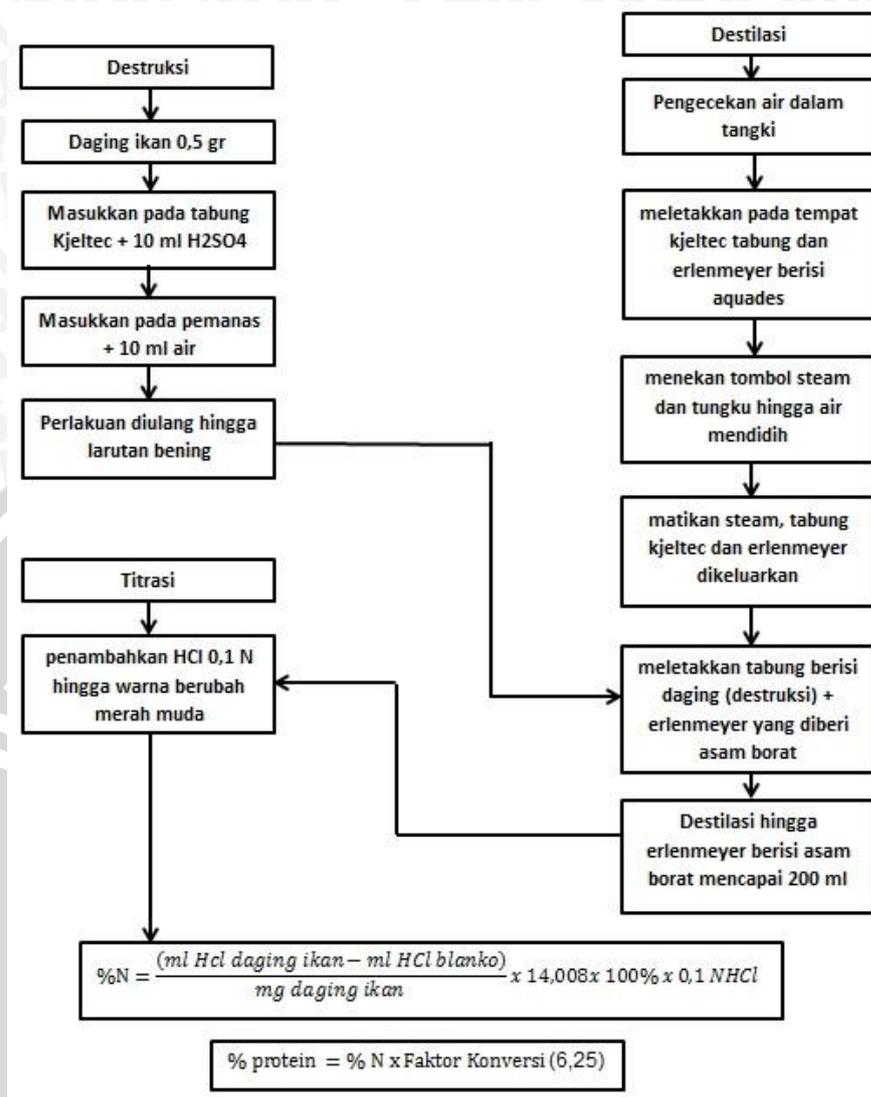
Keterangan : A : Berat sampel dan kertas saring yang belum dioven

B : berat basah sampel

C : Berat sampel dan kertas saring yang telah dioven

3.4.5 Kadar protein

Pengujian kadar protein pada sampel ikan menggunakan Semi Makro Kjeldahl. Tahap-tahap yang dilakukan dalam analisis protein terdiri dari tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Berikut ini skema pengujian kadar protein menurut Zakaria (2008) :



Gambar 10. Skema pengujian kadar protein

3.4.6 Kadar Karbohidrat

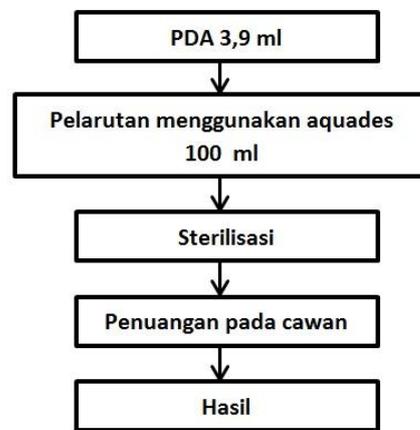
Pengukuran kadar karbohidrat total dari sampel ikan dapat dihitung menurut Hafiluddin *et al.* (2014) menggunakan rumus :

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - \%(\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

3.5 Pembuatan media

3.5.1 Pembuatan Media PDA

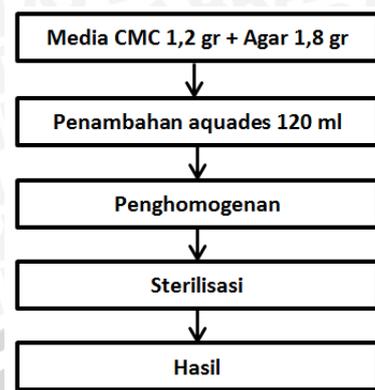
Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) digunakan untuk menumbuhkan kapang. Media ini diperoleh dengan mencampur PDA powder 3,9 gram dan Aquades 100 ml. Pembuatan media PDA ini mengacu pada buku Penuntun Praktikum Mikologi dan berfungsi sebagai media untuk menumbuhkan jamur secara umum (Hastuti, 2014). Skema pembuatan media PDA adalah sebagai berikut :



Gambar 11. Skema pembuatan media PDA

3.5.2 Pembuatan media *Carboxy Methyl Cellulose* dan *Congo red*

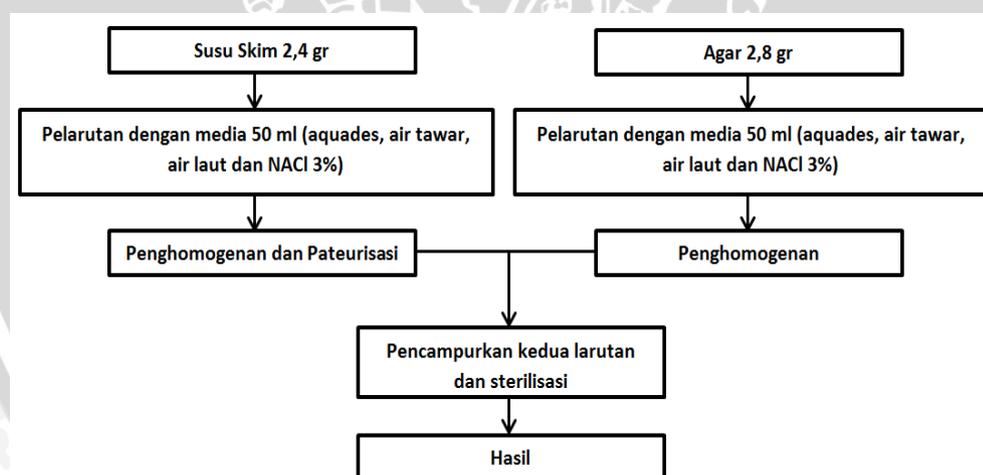
Pembuatan media CMC agar dan reagen *Congo red* mengacu pada Yosmar *et al.* (2013). Media ini berfungsi untuk melihat zona bening yang terbentuk apabila mikroba dapat menghasilkan enzim selulase. Skema pembuatan media CMC adalah sebagai berikut :



Gambar 12. Skema pembuatan media CMC

3.5.3 Pembuatan media *Skim Milk Agar*

Pembuatan media *Skim Milk* agar mengikuti Pakpahan (2009). Media agar *Skim Milk* (mengandung 2,4 gram susu skim dan 2,8 gram agar) berfungsi untuk melihat zona bening yang terbentuk apabila mikroba dapat menghasilkan enzim protease. Skema pembuatan *Skim Milk* Agar adalah sebagai berikut :



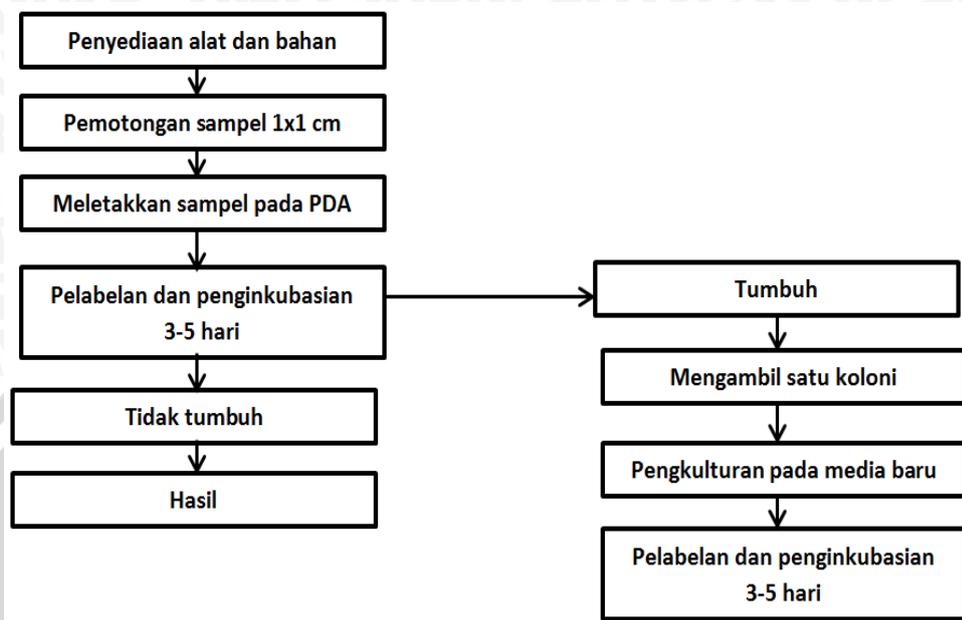
Gambar 13. Skema pembuatan Skim Milk Agar

3.6 Isolasi dan Pemurnian Kapang

Sebelum melakukan proses isolasi, tahap awal yaitu penanaman sampel. Setelah sampel ditumbuhi kapang, selanjutnya proses isolasi dapat dilakukan. Tahap penanaman sampel mengacu pada Ilyas (2007) dengan modifikasi

sedangkan isolasi dilakukan menurut Sanjaya *et al.* (2010) dengan modifikasi.

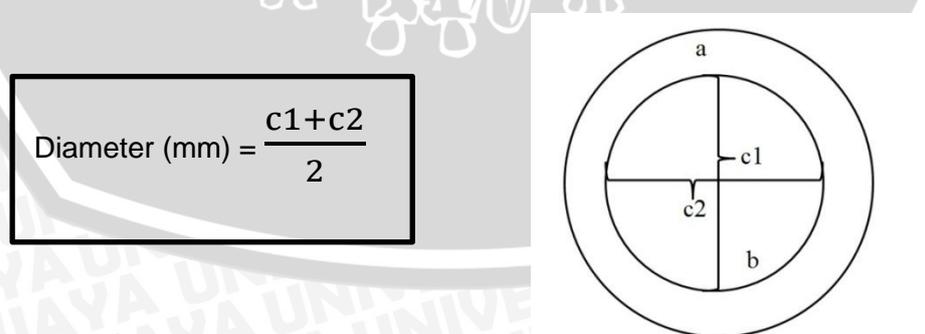
Skema penanaman sampel dan pemurnian adalah sebagai berikut :



Gambar 14. Skema penanaman sampel dan pemurnian

3.7 Perhitungan besar diameter koloni kapang

Perhitungan besar diameter koloni kapang mengacu pada metode Linda *et al.* (2011). Perhitungan besar koloni dilakukan setelah 3-5 hari koloni kapang diinkubasi. Metode perhitungan diameter koloni dapat dilihat pada Gambar 15 di bawah ini.



$$\text{Diameter (mm)} = \frac{c1+c2}{2}$$

Gambar 15. Metode perhitungan diameter koloni kapang (Linda *et al.*, 2011) keterangan: a) Cawan petri, b) koloni kapang, c1/c2) diameter koloni.

3.8 Identifikasi kapang

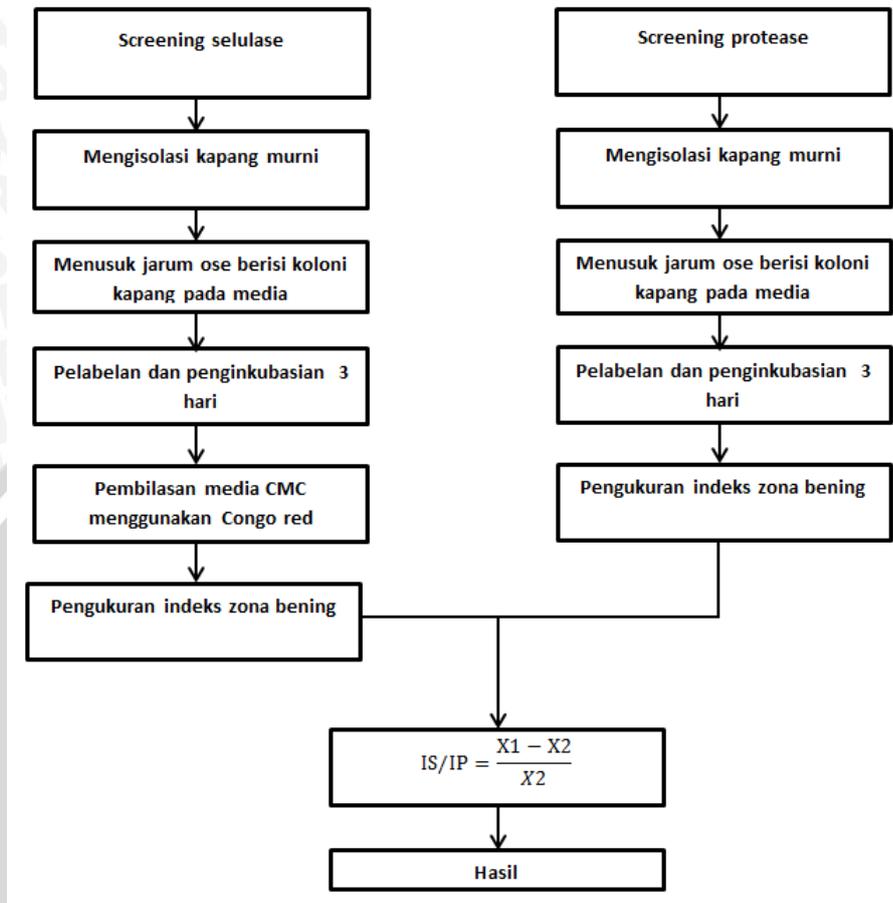
Tahap identifikasi menggunakan metode selotip (St-Germain dan Richard 1996). Hasil pengamatan morfologi dan mikroskopik kapang dapat dibandingkan dengan buku identifikasi Gandjar *et al.* (1999) dan Ellis *et al.* (2007). Skema identifikasi adalah sebagai berikut :



Gambar 16. Skema identifikasi

3.8 Penapisan Kapang selulase dan protease

Pengujian zona bening untuk mengetahui kapang penghasil enzim selulase dilakukan menurut Suciatmih (2008) sedangkan pengujian zona bening untuk mengetahui kapang penghasil enzim protease dilakukan menurut Mohanasrinivasan *et al.* (2012). Skema penapisan selulase dan protease adalah sebagai berikut :



Gambar 17. Skema penapisan selulase dan protease

Keterangan :

IS/IP = Indeks aktivitas Selulolitik, Proteolitik

X1 = diameter zona bening

X2 = diameter koloni

4. Hasil dan Pembahasan

4.1 Uji Proksimat

Analisis proksimat dilakukan untuk menentukan kadar air, abu, lemak, protein, karbohidrat juga ditambah dengan uji pH daging ikan. Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui sampel yang digunakan merupakan sampel yang cocok untuk pertumbuhan kapang. Hasil pengujian proksimat dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Nilai perbandingan kandungan sampel ikan pindang tongkol uji dengan pindang tongkol dan tongkol segar penelitian Indriati *et al.* (2008).

Kandungan	Nilai	Nilai ikan tongkol (Indriati <i>et al.</i> , 2008)	
		Pindang	Segar
Protein	22,47 %	28,44 %	25,21 %
Lemak	0,68 %	2,78 %	1,20 %
Air	67,83 %	65,16 %	72,28 %
Abu	1,68 %	2,62 %	1,30 %
Karbohidrat	7,34 %	-	-
pH	6,81	-	-
Jenis kapang yang ditemukan	<i>Mucor sp.</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Penicillium crysogenum</i> .	<i>Rhizopus Orizae</i>
Asal	Pasar Besar kota Malang	Pasar Minggu Jakarta	

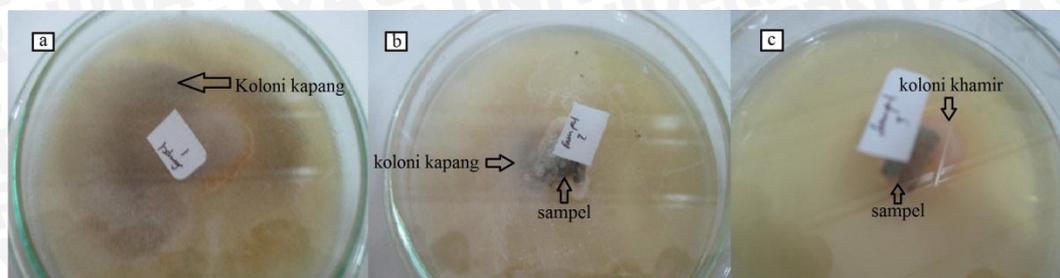
Berdasarkan hasil pengujian dan perbandingan literatur menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda. Hal tersebut dipastikan sampel ikan pindang tongkol akan bisa digunakan untuk menumbuhkan kapang. Uji proksimat untuk mengetahui protein, karbohidrat, kadar air dan pH dilakukan karena menurut Cochrane (1958), kapang untuk dapat tumbuh dengan baik pada sampel dan media membutuhkan nutrisi seperti karbohidrat, protein, kadar air, dan pH yang

sesuai. Penelitian yang dilakukan Indriati (2008) mempertimbangkan nilai dari karbohidrat dan pH karena menurut Indriati hanya terdapat dua unsur penting yang dibutuhkan oleh kapang untuk dapat tumbuh yaitu protein sebagai nutrisi bagi kapang dan adanya kadar air untuk lingkungannya. Umumnya pH optimum yang dibutuhkan oleh kapang berkisar 4,0–8,5 atau terkadang 3,0–9,0 (Deacon, 2006) namun, secara spesifik masing-masing kapang untuk dapat tetap tumbuh pada pH diantaranya kapang *Mucor* sp. membutuhkan 2,39-10,92 (Morin-Sardin *et al.*, 2016), *Aspergillus ochraceus* membutuhkan 3-10 (Grigoryan dan Hakobyan, 2015), *Aspergillus flavus* membutuhkan 4-12, *Penicillium crysogenum* membutuhkan 2-11 (Al-Garni *et al.*, 2007) dan *Rhizopus oryzae* membutuhkan .3,4-6 (Kurniawati *et al.*, 2014). Jika dilihat dari masing-masing kebutuhan pH dan nutrisi dari jenis kapang yang ditemukan pada penelitian ini dan studi terdahulu memiliki nilai yang tidak jauh berbeda, namun secara umum pada penelitian ini kapang yang tumbuh justru berbeda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan jenis kapang yang tumbuh pada penelitian ini dengan penelitian terdahulu kemungkinan besar bukan disebabkan berbedanya nilai pH dan nutrisi, namun dikarenakan berbedanya asal sampel ikan yang diambil yang akan mempengaruhi ada atau tidaknya spora kapang yang diinginkan.

4.2 Isolasi kapang saprofit

Proses isolasi dan inkubasi selama 3 hari pada sampel ikan pindang tongkol uji ditemukan jenis koloni kapang yang tumbuh berwarna abu-abu seperti kapas pada pengulangan 1 dan 2 namun pada pengulangan 3 fungi yang tumbuh dari jenis khamir. Hasil isolasi tersebut menunjukkan bahwa ikan tongkol yang berasal Pasar Besar telah terkontaminasi oleh spora kapang dan khamir, namun dalam perkembangan selanjutnya spora kapang lebih didominasi. Hal tersebut disebabkan karena adanya kompetisi antara dua jenis mikroba dengan

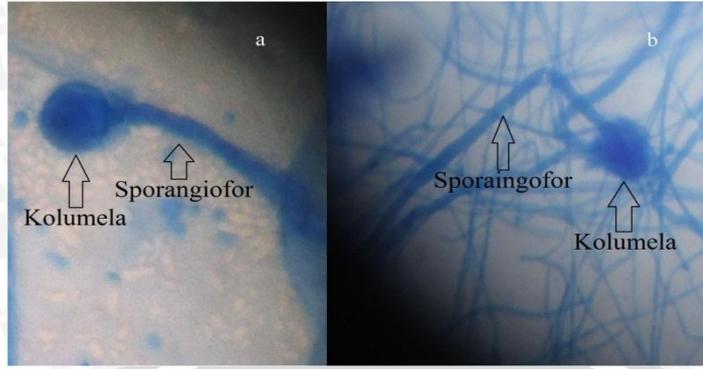
nutrien dan lingkungan yang sama menyebabkan spora yang lebih cepat tumbuh akan mendominasi (Sumarsih, 2003). Hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 18 di bawah ini.



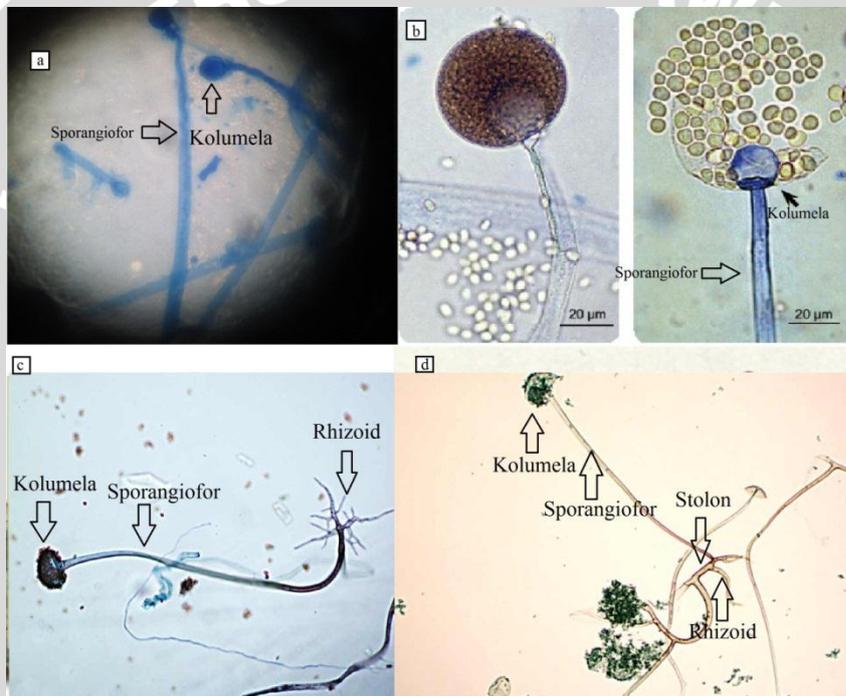
Gambar 18. Koloni kapang hasil penanaman sampel. a) pengulangan 1, b) pengulangan 2, c) pengulangan 3.

4.3 Identifikasi kapang

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan pada kedua pengulangan ditemukan kapang dari genus *Mucor* sp. Hal itu ditunjukkan dari koloni yang berwarna abu-abu seperti kapas. Kepastian hasil pengamatan melalui mikroskop dapat dilihat pada Gambar 19. Secara kasat mata bentuk spora *Mucor* sp., mirip dengan *Rhizomucor* sp. dan *Rhizopus* sp. karena ketiga genus kapang tersebut sama-sama memiliki sporangium, kolumela, sporangiofor dan termasuk ke dalam kelas Zygomycetes. Secara morfologi *Mucor* sp. tidak memiliki stolon dan rhizoid pada sporanya, hal tersebut yang membedakan *Mucor* sp. dengan *Rhizomucor* sp. dan *Rhizopus* sp. (Ellis *et al.*, 2007). Selanjutnya, kapang hasil pengamatan dari sampel uji dibandingkan dengan literatur pembanding untuk memastikan kapang yang tumbuh merupakan dari genus *Mucor* sp. Perbandingan kapang dari sampel uji dengan literatur dapat dilihat pada Gambar 20 di bawah ini.



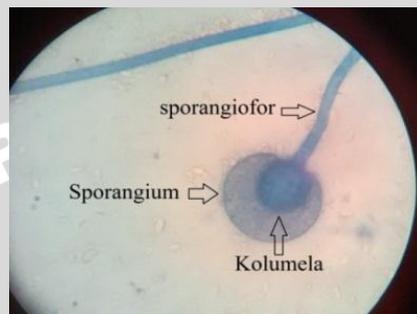
Gambar 19. Pengamatan mikroskopik kapang yang tumbuh. a) pengulangan 1, b) pengulangan 2 pada perbesaran 10 x



Gambar 20. Perbandingan sampel dengan Literatur : a) *Mucor* sp., dari sampel Pasar Besar, b) *Mucor* sp., dari literatur Ellis *et al.* (2004), c) *Rhizopus* d) *Rhizomucor* dari literatur McDonald (2001).

Kapang genus *Mucor* sp., yang ditemukan pada sampel uji ikan pindang tongkol kemungkinan besar merupakan kapang yang berasal dari Pasar Gadang kota Malang. Hal itu disebabkan karena setelah dilakukan wawancara dengan pedagang ikan tersebut, sumber ikan sebelum dipasarkan dari tempat

pengambilan sampel merupakan ikan yang berasal dari Pasar Gadang. Oleh karena itu dilakukan penelitian tambahan untuk mengetahui kemungkinan apakah sampel ikan pindang tongkol yang dibeli dari Pasar Gadang kota Malang juga akan menghasilkan jenis kapang yang sama. Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa kapang yang tumbuh adalah genus *Mucor* sp., juga. Identifikasi kapang dari sampel Gadang dapat dilihat pada Gambar 21 di bawah ini.



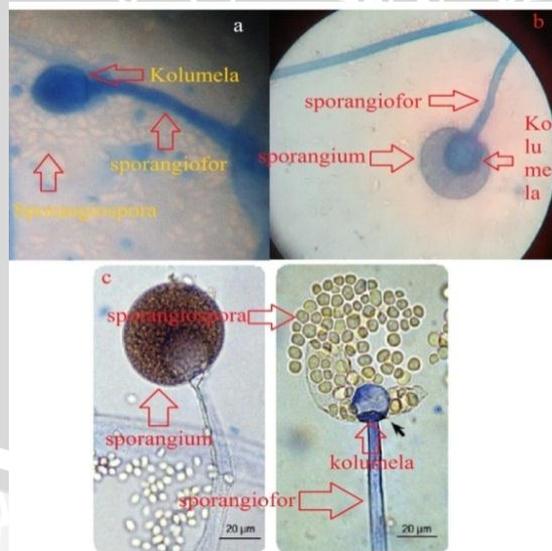
Gambar 21. Hasil pengamatan mikroskopik sampel Gadang Perbesaran 10x

Hasil identifikasi kapang dari sampel Pasar Gadang sama dengan hasil dari sampel uji menunjukkan adanya kemungkinan bahwa kapang *Mucor* sp., yang tumbuh pada kedua sampel ikan berasal dari tempat yang sama yaitu berasal dari Pasar Gadang, namun untuk memastikan perlu dilakukan penelitian lanjutan. Dugaan bahwa kapang pada sampel kemungkinan besar berasal dari Pasar Gadang dikarenakan di Pasar tersebut tempat ikan tidak tersentral (khusus untuk penjualan ikan). Di tempat tersebut selain ada penjual ikan juga terdapat penjual buah, sayur dan berlantaikan tanah. Hal tersebut menyebabkan kemungkinan spora dari *Mucor* sp. mengkontaminasi sampel yang diteliti. Hal ini diperkuat pernyataan Gandjar *et al.* (1999) dan Dismukes *et al.* (2003) bahwa kapang *Mucor* sp. berasal dari tanah, buah dan sayuran serta tanaman yang telah membusuk dan juga bisa berasal dari hewan. Setelah diketahui jenis

kapang yang tumbuh, selanjutnya dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat pertumbuhan kapang yang diisolasi pada media yang berbeda.

4.4 Morfologi Kapang *Mucor* sp.

Mucor sp. merupakan kapang yang termasuk ke dalam kelas Zygomycetes (Hastuti, 2014). Pertumbuhan optimum kapang *Mucor* sekitar 20-25° C serta tidak dapat tumbuh pada suhu lebih dari 38° C sedangkan Habitat kapang *Mucor* sp ini biasanya ditemukan pada tanah, kacang-kacangan dan kotoran hewan (Gandjar *et al.*, 1999) bahkan menurut Dismukes *et al.* (2003) *Mucor* dapat tumbuh juga pada sesuatu yang telah membusuk seperti roti, sayuran, dan buah-buahan. Koloni *Mucor* pertumbuhannya sangat cepat sekitar 2-5 hari dengan tekstur berbentuk wol dan berwarna abu-abu hingga kecoklat-coklatan (St-Germain dan Richard, 1996). Struktur bagian-bagian *Mucor* sp., baik dari sampel uji maupun Pasar Gadang serta dari literatur dapat dilihat pada Gambar 22 di bawah ini.

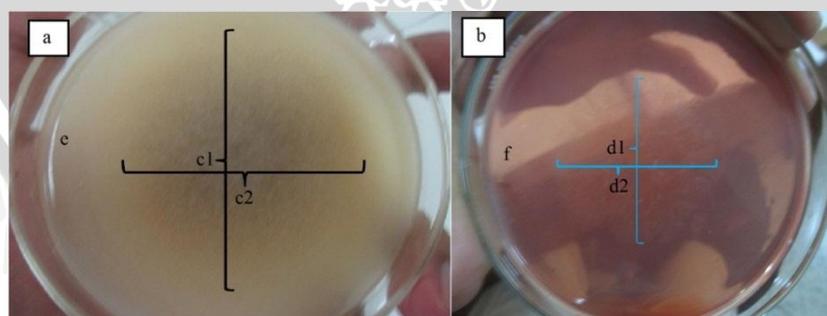


Gambar 22. Struktur *Mucor* sp., a) sampel uji, b) sampel Pasar Gadang, c) Literatur sumber : Ellis *et al.* (2007).

Pada penelitian ini diharapkan jenis kapang yang tumbuh adalah jenis yang mampu menghasilkan zona bening enzim selulase dan protease seperti *Aspergillus*, *Rhizomucor* dan lain sebagainya, akan tetapi adanya perbedaan lingkungan tempat pengambilan sampel dengan penelitian sebelumnya (Tabel 3 Halaman 25) dapat menyebabkan tumbuhnya jenis kapang yang berbeda. Penelitian yang dilakukan Indriati *et al.* (2008) menjelaskan bahwa kapang yang mengkontaminasi ikan pindang tongkol berasal dari kontaminasi spora dari udara di tempat pengolahan (daerah Pasar Minggu Jakarta). Oleh karena itu ada kemungkinan besar spora kapang *Mucor* sp. yang mengkontaminasi sampel ikan yang diteliti dari Pasar Besar juga berasal dari kontaminasi udara tempat pengolahan sampel sehingga menyebabkan jenis kapang yang diharapkan tidak tumbuh.

4.5 Perhitungan diameter koloni kapang pada media berbeda dan Screening enzim protease dan selulase

Merujuk pada metode Linda *et al.* (2011) mengenai perhitungan diameter koloni kapang, Gambar 23 menunjukkan contoh metode perhitungan diameter koloni kapang dalam penelitian ini. Hasil perhitungan diameter koloni kapang pada media berbeda (Aquadess, air tawar, air laut dan NACL 3%) dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.



Gambar 23. Perhitungan diameter koloni kapang menggunakan metode Linda *et al.* (2011). Keterangan : a) perhitungan pada media skim milk agar, b) perhitungan pada media CMC, c1/c2) koloni kapang, d1/d2) koloni kapang, e) media skim milk agar, f) media CMC.

Tabel 4. Hasil perhitungan diameter koloni kapang pada Skim Milk Agar

Media SKM	Diameter koloni (mm)	Rata-rata diameter Koloni (mm)
Aquades 1	57,65	56,3±1,52
Aquades 2	54,65	
Aquades 3	56,6	
Air tawar 1	48,30	54,8±5,87
Air tawar 2	56,40	
Air tawar 3	59,7	
Air laut 1	22,55	20,85±9,12
Air laut 2	11	
Air laut 3	29	
NACI 3 % 1	48	49,05±1,08
NACI 3% 2	49	
NACI 3% 3	50,15	

Keterangan : 1 = pengulangan ke-1
 2 = pengulangan ke-2
 3 = pengulangan ke-3

Tabel 5. Hasil perhitungan diameter koloni kapang pada CMC

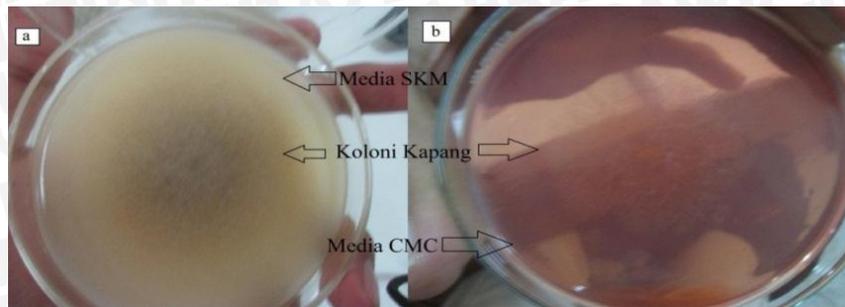
Media CMC	Diameter koloni (mm)	Rata-rata diameter Koloni (mm)
Aquades 1	44,35	43,35±2,69
Aquades 2	45,40	
Aquades 3	40,30	
Air tawar 1	38,30	38,93±0,93
Air tawar 2	40,00	
Air tawar 3	38,50	
Air laut 1	41,40	42,67±2,37
Air laut 2	45,40	
Air laut 3	41,20	
NACI 3 % 1	47,65	48,72±0,93
NACI 3% 2	49,30	
NACI 3% 3	49,20	

Keterangan : 1 = pengulangan ke-1
 2 = pengulangan ke-2
 3 = pengulangan ke-3.

Berdasarkan tabel hasil di atas menunjukkan bahwa kapang genus *Mucor* sp., merupakan kapang yang fakultatif karena dapat tumbuh pada keempat media berbeda (air laut, air tawar, aquades dan NACI 3%) karena keempat

media tersebut memiliki pH dan salinitas yang berbeda (Lampiran 2.). hal tersebut sesuai dengan penelitian Morin-Sardin *et al.* (2016) yang menyatakan *Mucor sp.* membutuhkan pH 2,39-10,92 untuk tumbuh sedangkan salinitas yang baik bagi *Mucor sp.*, adalah 0-35 ppt (Suryanto *et al.*, 2011), namun apabila salinitas melebihi 35 ppt maka aktifitas mikroorganismenya akan terganggu (Mallin *et al.*, 2000). Dari tabel tersebut didapatkan hasil bahwa media terbaik pada Skim Milk Agar adalah media aquades dengan rata-rata besar koloni 56,3 mm sedangkan pada CMC media terbaik kapang tersebut adalah pada media NACI 3% dengan rata-rata besar koloni 48,72 %. Selanjutnya dilakukan proses *screening* pada media Skim Milk Agar dan CMC untuk mengetahui kapang tersebut menghasilkan enzim protease dan selulase dengan melihat zona bening pada kedua media yang menghasilkan diameter pertumbuhan koloni terbesar.

Hasil pengukuran zona bening dapat dilihat pada Gambar 24 di bawah ini. Gambar 24 menunjukkan bahwa kapang *Mucor sp.* yang didapatkan bukan merupakan kapang penghasil selulase (media CMC) dan protease (media Skim Milk Agar) yang baik dikarenakan zona bening yang terbentuk tidak ada. Hasil serupa (tidak terdapatnya zona bening dari kapang genus *Mucor sp.*) dilakukan oleh Makunda *et al.* (2012) dan Jahangeer *et al.* (2005). Penyebab *Mucor sp.*, tidak dapat menghasilkan enzim selulase dan protease karena menurut Kavanagh (2011) *Mucor sp.*, hanya menghasilkan enzim rennin. Enzim rennin biasanya dimanfaatkan dalam industri pembuatan keju yang berfungsi untuk meningkatkan kualitas tekstur, pH dan keasaman keju (Mustakim *et al.*, 2013).



Gambar 24. Pengukuran zona bening. a) pada media Skim Milk Agar (tidak terdapat zona bening) dan b) pada medai CMC (tidak terdapat zona bening).

Indeks zona bening merupakan pengukuran semikualitatif dari enzim yang ingin diketahui atau dihasilkan. Pada pengukuran zona bening ini, apabila zona bening lebih besar dari koloni maka mengindikasikan enzim yang dihasilkan tergolong besar sedangkan jika zona bening sedikit bahkan tidak terdapat zona bening maka diindikasikan enzim yang dihasilkan sangat sedikit bahkan tidak ada (Andhikawati *et al.*,2014). Indeks zona bening merupakan penelitian pendahuluan untuk dilanjutkan pada penelitian utama yaitu mengetahui seberapa banyak enzim yang dihasilkan. Apabila zona bening tidak ada maka tidak disarankan melanjutkan ke penelitian untuk mengetahui besarnya enzim yang dihasilkan (Bankole *et al.*, 2014).

5. Penutup

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian mengenai Karakteristik Morfologi Kapang yang Diisolasi dari Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus* sp.) adalah

1. Kapang saprofit pada ikan pindang tongkol yang diambil dari Pasar Besar kota Malang adalah kapang genus *Mucor* sp.
2. Perhitungan diameter koloni pada kapang *Mucor* sp., dengan media Skim Milk Agar adalah aquades : $56,3 \pm 1,52$ mm, air tawar : $54,8 \pm 5,87$ mm, air laut : $20,85 \pm 9,12$ mm dan NACI $49,05 \pm 1,08$ mm sedangkan pada media CMC adalah aquades : $43,35 \pm 2,69$ mm, air tawar : $38,93 \pm 0,93$ mm, air laut : $42,67 \pm 2,37$ mm dan NACI $48,72 \pm 0,93$ mm dengan diameter koloni terbesar pada media Skim Milk Agar adalah aquades dengan rata-rata besar koloni 56,3 mm sedangkan pada media CMC adalah NACI 3% dengan rata-rata besar koloni 48,72 mm.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan penulis mengenai penelitian selanjutnya adalah

1. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai *Mucor* sp. yang tumbuh pada sampel ikan hingga tingkat spesies dan asal kapang *Mucor* sp. pada kedua sampel ikan pindang tongkol.
2. Diharapkan ketelitian dalam pengamatan zona bening misal penggunaan alas yang kontras dengan media sehingga ada atau tidak terdapatnya zona bening akan terlihat jelas.
3. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui besarnya enzim protease dan selulase yang dihasilkan kapang *Mucor* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W dan Zufahair. 2006. Pemurnian Dan Karakterisasi Protease Intraseluler Dari Bakteri *Pseudomonas cocovenenans* B 154. *Jurnal Sains Teknologi*. Vol. 12 :78-82.
- Al-Garni, S.M; Saleh K; Fatimah A dan Zakiah A. 2007. Mycoflora Associated with Some Textiles in Jeddah City. *Journal King Abdul Aziz University*. Vol. 19 : 93-113.
- Andhikawati, A; Yulia O; Bustami I, dan Kustiariy. 2014. Isolasi Dan Penapisan Kapang Laut Endofit Penghasil Selulase (Isolation And Screening Of Endophytic Marine Fungi For Cellulase Production). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 6 (1): 209-218.
- Arroyo, G; Pablo A; Gustavo J Caironi; Hernan C dan Leonardo C. 2008. Plants, Algae, and Fungi. *Britannica Illustrated Science Library*. London : 80-83.
- Bankole, O.S.; Erena N. B; Manga S. B dan Sule S. M. 2014. Isolation and Characterization of Extracellular Protease Producing Fungi from Tannery Effluent. <http://www.sciencepub.net/report>. *Report and Opinion*. Vol. 6 (9) : 34-38.
- Bessey, E. A. 1950. *Morphology And Taxonomy of Fungi*. The Blakiston Company, Toronto: 2-4.
- Budiman, M.S. 2004. *Teknik Pemindangan*. Departemen Pendidikan Nasional, Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar dan Menengah. Jakarta : 13-14.
- Cochrane, V. W. 1958. *Physiology of Fungi*. USA . John Willey & Sons Inc : 44-46.
- Deacon, J.W. 2006. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing UK : 116-118.
- Dismukes, W. E; Peter G. P dan Jack D. S. 2003. *Clinical Mycology*. Oxford University Press: 241-242.
- Ellis, D; Stephen D; Helen A; Rosemary H dan Robyn B. 2007. *Descriptions Of Medical Fungi*. Australia : The National Library of Australia Cataloguing : 98-100.

- Endahwati, I. 2011. Aplikasi Penggunaan Enzym Papain Dan Bromelin Terhadap Perolehan VCO. UPN Press : 4-5.
- Erdmann, A. M. 2004. Panduan Sejarah Ekologi, Taman Nasional Komodo. The Nature Conservancy Indonesia Coastal and Marine Program :136-137.
- Fawzya, Y.N; Rani E.P; Wibowo M; Ifah M dan Gintung P. 2013. Produksi Dan Karakterisasi Xilanase Dari Isolat Bakteri M-13.2a Asal Air Laut Manado. *JPB Kelautan dan Perikanan*. Vol. 8 (1) : 55–64.
- Gandjar, I. ; Samson R. A. ; Karin V. D. T. ; Ariyanti O., dan Imam S. 1999. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Depok : Yayasan Obor Indonesia : 78-83.
- Grigoryan, K.M dan Hakobyan L.L. 2015. Effect Of Water Activity, Ph And Temperature On Contamination Level Of Dried Vine Fruite By Filamentous Fungi During Storage. *Proceedings Of The Yerevan State University*. Vol. 3 : 23-28.
- Guarro, J; Josepa G dan Alberto M. S. 1999. Developments in Fungal Taxonomy. American Society for Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews* : 454-500.
- Hafiluddin; Yudhita P dan Slamet B. 2014. Analisis Kandungan Gizi Dan Bau Lumpur Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dari Dua Lokasi yang Berbeda. *Jurnal Kelautan*. Vol. 7 (1) : 30-40.
- Handajani, N.S. dan Ratna S. 2006. Identifikasi Jamur dan Deteksi Aflatoksin B1 terhadap Petis Udang Komersial. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta. *Jurnal Biodiversita*. Vol. 7 (3) : 212-215.
- Hastuti, U. S. 2014. Penuntun Praktikum Mikologi. Malang. UMM Press : 1-27.
- Hawksworth, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, Vol. 105 : 1422-1432.
- Hubbali, M; Sevugapperumal N; Thiruvengada R; Theerthagiri A dan Ramasamy S. 2010. Effect of Environmental Conditions on Growth of *Alternaria alternata* Causing Leaf Blight of Noni. *World Journal Agricultural Science*. Vol. 6 (2) : 171-177.

- Ilyas, M. 2007. Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang pada Sampel Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Gunung Lawu, Surakarta, Jawa Tengah. *Jurnal Biodiversitas*. Vol. 8 (2) : 105-110.
- Ilza, M. 2006. Produksi Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) Tidak Segar Sebagai Bahan Baku Tepung Ikan Pangan (*Fish Flour*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. Vol. 33 (2) : 96-10.
- Indriati, N; M Wahyu, S; dan Flora F. A. S. 2008. Isolasi dan Identifikasi Kapang pada Pindang Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. 3 (1) : 11-19.
- Jahangeer, S; Nazia K; Saman J; Muhammad S; Saleem S; Aqeel A dan Shakeel A. K. 2005. Screening And Characterization Of Fungal Cellulases Isolated From The Native Environmental Source. *Pakistan Journal Botany*. Vol. 37(3): 739-748.
- Kavanagh, K. 2011. Fungi Biology and Applications. Wiley-Blackwell A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. UK. 186-188.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan Jawa Timur. 2013. Profil Kelautan Dan Perikanan Provinsi Jawa Timur Untuk Mendukung Industrialisasi KP. Pusat Data Statistik Dan Informasi - Kementerian Kelautan Dan Perikanan : 44-46.
- Kountour, R. 2004. Metode Penelitian Untuk Penulisan Skripsi dan Tesis. Jakarta. PPM : 117-119.
- Kristianingrum, S. 2012. Kajian Berbagai Proses Destruksi Sampel Dan Efeknya. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Yogyakarta : 195-201.
- Kurniawati, T; Retno I dan Sardjono. 2014. Isolation of *Rhizopus oryzae* From Rotten Fruit and Its Potency for Lactic Acid Production In Glucose Medium With and Without Addition Of Calcium Carbonate. *Journal Of Agritech*. Vol. 34 (2) : 170-176.
- Kvesitadze, E.; E. Adeishvili; M. Gomarteli; L. Kvachadze dan G. Kvesitadze. 1999. Cellulase end xylanase activity of fungi in a collection isolated from the southern Caucasus. *Jurnal International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 43 : 189-196.
- Linda, R; Siti K dan Elfiyanti. 2011. Aktivitas Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Cercospora personatum*. *Jurnal Biopropal Industri*. Vol. 2 (1) :1-7.

- Makunda, s; Onkarapap R dan Prashith K. T. R. 2012. Isolation and Screening of Industrially Important Fungi from the Soils of Western Ghats of Agumbe and Koppa, Karnataka, India. *Science, Technology and Arts Research Journal* 1(4):27-32.
- Mallin, M.A; Kathleen E.W; Cartier E dan Patrick R.L. 2000. Effect Of Human Development On Bacteriological Water Quality In Coastal Watersheds. *Ecological Application* 10(4) : 1047-1056.
- Manurung, I. R.; Mukhtar I. P.dan Lahmuddin Lubis. 2014. Uji Antagonisme Jamur Endofit Terhadap *Cercospora oryzae* Miyake dan *Culvularia lunata* (Wakk) Boed. dari Tanaman Padi di Laboratorium. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. Vol.2 (4) : 1563 – 1571.
- McDonald, W. 2001. Zygomycetes. [online]. http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/zygomp.html. diakses tanggal 15 Juni 2016.
- Mohanasrinivasan, V; Vani S.; Raisha E; Soumya A.R dan C.Subathra D. 2012. Isolation, Screening And Identification Of Protease Producing Fungi From Rhizosphere Soil and Optimisation of pH, Incubation Time And Inducer Concentration For Enhanced Protease Production. *International Journal of Pharmacy and Bio Sciences*. Vol. 3 (2) : 784-793.
- Morin-Sardin, S; Karim R; Louis C; Jean-Luc J dan Emmanuel C. 2016. Effect of temperature, pH, and water activity on *Mucor* spp. growth on synthetic medium, cheese analog and cheese. *Journal of Food Microbiology*. Vol. 56 : 69-79.
- Mulyawati. 2014. Laporan Praktikum Kimia Dasar 1 Titrasi Asam Basa. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Gadjahmada Jogjakarta : 1-20.
- Mustafa, Z. 2013. Mengurai Variabel hingga Instrumentasi. Yogyakarta. Graha Ilmu : 23-29.
- Mustakim, R.F. Muarifah dan K.U. Al Awwaly. 2013. Pembuatan keju dengan menggunakan enzim renin *Mucor pusillus* amobil. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan* 19 (2): 137 – 149.
- Nelson, D. L dan Michael M. C. 2010. Lehninger Principles Of Biochemistry Fourth Edition. www.whfreeman.com/lehninger4e : 190-238.
- Pandit, I. G. S. 2010. Perbaikan Cara Pengolahan Ikan Pindang. Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa, Denpasar : 1-7.

- Pakpahan, R. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara [Tesis]. Sekolah Pascasarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan : 52-53.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S. 1986. Elements Of Microbiology. McGraw-Hill Book Company. Terjemahan oleh R. S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S. L. Angka. 2008. UI-press. Jakarta : 190-216.
- Prabawati, S.Y. 2006. Aspek Kimiawi Racun Aflatoksin Dalam Bahan Pangan Dan Pencegahannya. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Tadris Fakultas Tarbiyah, UIN Sunan Kalijaga. Vol II (2) : 135-148.
- Primasari, K; Tri , N; Sri, P, A. 2014. Uji Aktivitas Enzim Protease dari Isolat Bakteri Limbah Domestik. *Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol 2.(2): 41-49.
- Riwayati; Indah, H dan Laeli K. 2012. Teknologi Imobilisasi Sel Mikroorganisme Pada Produksi Enzim Lipase. Prosiding SNST ke-3 Tahun 2012 Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang : 55-57.
- Saanin H. 1968. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Bogor: Binatijpta : 25-50.
- Sanger, G. 2010. Mutu Kesegaran Ikan Tongkol selama Penyimpanan Dingin. *Warta WIPTEK*. 35 : 1-2.
- Sanjaya; Nurhaeni H dan Halima M. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Jamur Entomopatogen dari Larva Spodoptera Litura (*Fabricius*). *Jurnal Ilmu-ilmu hayati dan Fisik*. Vol. 12 (3) : 136-141.
- Saraswati, D. 2011. Pengaruh Lama Perendaman Ikan Tongkol Dalam *Yoghurt* Terhadap Jumlah Bakteri Pembusukan Pada Suhu Ruang. *Jurnal Health & Sport* Vol II (1) : 45-51.
- Sastrahidayat, I. R. 2011. Mikologi Ilmu Jamur. Malang : UB Press : 4-7.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Yogyakarta : Penerbit Kanisius 50-53.
- ST-Germain, G dan Richard S. 1996. Identifying Filamentous Fungi. California : Star Publising Company : 158-159.
- Suciatmih. 2008. Uji Degradasi Selulosa dari Jamur Tanah Hutan Bekas Terbakar Wanariset-Semboja, Kalimantan Timur. *Jurnal Penelitian Hayati*. Vol. 13 : 141-146.

- Sumarsih, S. 2003. Mikrobiologi Dasar. Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian. Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta : 1-20.
- Suryanto, D; Afrida Y; Ika W dan Yunasfi. 2011. Jenis-Jenis Fungi dan Bakteri yang Berasosiasi pada proses Dekomposisi Serasah Daun *Avicennia marina* (Forsk) vierh Setelah Aplikasi Fungi *Aspergillus sp.*, *Curvullaria sp.*, *Penicillium sp.* pada Beberapa Tingkat Salinitas di Desa Sicanang Belawan. Prosiding Seminar Nasional Biologi : 160-177.
- Swastawati, F; Titi S; Tri W. A. dan Putut H. R. 2013. Karakteristik Kualitas Ikan Asap Yang Diproses Menggunakan Metode Dan Jenis Ikan Berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 2 (3) : 126-132.
- Walangare, K. B. A; A. S. M. Lumenta; J. O. Wuwung dan B. A. Sugiarto. 2013. Rancang Bangun Alat Konversi Air Laut Menjadi Air Minum Dengan Proses Destilasi Sederhana Menggunakan Pemanas Elektrik. Jurusan Teknik Elektro, UNSRAT. *e-Jurnal Teknik Elektro dan Komputer* : 1-11.
- Wally, E; Feny, M dan Roike I. M. 2015. Kajian Mutu Kimiawi Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis L.*) Asap (Fufu) Selama Penyimpanan Suhu Ruang dan Suhu Dingin. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. 3 (1) : 7-11.
- Widi, R. K. 2010. Asas Metodologi Penelitian. Yogyakarta. Graha Ilmu : 163-167.
- Yosmar, R; Netty S dan Roslinda R. 2013. Isolasi dan Uji Kualitatif Hidrolisat Jamur Penghasil Enzim Selulase dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu. *Jurnal Farmasi Andalas*. Vol 1 (1) : 5-12.
- Yuneta, R dan Surya R.P. 2010. Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. Prosiding Skripsi Semester Genap 2009/2010 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember : 304-305.
- Zahidah, D dan Maya S. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains dan Semi Pomits*. Vol. 2 (1) : 12-15.
- Zakaria, R. 2008. Kemunduran Mutu Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) Pasca Panen Pada Penyimpanan Suhu Chilling [Skripsi]. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor : 26-29.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Metode kerja penelitian

Pengukuran pH

Prosedur pengukuran pH pada daging ikan menurut Swastawati *et al.* (2013)

adalah sebagai berikut :

1. sampel ikan dihaluskan menggunakan blender atau mortal dan alu.
2. Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 1 gram.
3. Tambahkan 10 mL aquadest dan dihomogenkan secara manual.
4. Sampel diletakkan ke dalam gelas erlenmeyer dan diukur pH nya dengan menggunakan pH meter.
5. Nilai pH diperoleh berdasarkan pembacaan pada pH meter sampai angka digital menunjukkan angka yang konstan.

Pengujian Proksimat

- Kadar Air

Prosedur analisis kadar air pada sampel ikan menurut Hafiluddin *et al.* (2014) sebagai berikut:

1. Cawan porselen yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 10 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A).
2. Sampel ditimbang sebanyak 2 gr dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 3 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang (C).
3. Tahap ini diulangi hingga dicapai bobot dengan nilai tetap.
4. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air \%} = \frac{B - C}{B - A} \times 100 \%$$

Dimana:

A = Berat kering cawan (gr)

B = Berat kering cawan dan sampel awal (gr)

C = Berat kering cawan dan sampel setelah dikeringkan (gr).

- Kadar Abu

Prosedur analisis kadar abu menurut Hafiluddin *et al.* (2014) sebagai berikut :

1. Cawan porselen yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 10 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A).
2. Sampel ditimbang sebanyak 2 gr dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 550- 600°C selama 24 jam. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang (C).
3. Tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobot yang konstan.

Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Abu \%} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan:

A: berat cawan yang sudah di oven

B: berat basah sampel + cawan yang sudah di oven

C: berat kering sampel yang sudah di oven dan cawan yang sudah di oven

- Kadar lemak

Analisis kadar lemak menggunakan metode Soxhlet. Prosedur dalam analisis kadar lemak menurut Hafiluddin *et al.* (2014) sebagai berikut:

1. Kertas saring dan kapas yang telah di oven ditimbang menggunakan timbangan.
2. Sampel diambil dan ditimbang sebanyak 25 gram menggunakan timbangan analitik dan dihitung sebagai berat awal sampel.
3. Sampel dibungkus menggunakan kapas dan kertas saring yang telah ditimbang pada langkah pertama, kemudian dilakukan penimbangan kembali sebagai berat akhir.
4. Sampel yang telah dibungkus, kemudian dimasukkan dalam alat soxhlet dan diekstraksi dengan petroleum eter sebanyak 75 ml selama 4 jam.
5. Setelah proses selama 4 jam selesai, sampel diambil dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105 °C, kemudian ditunggu hingga mencapai berat konstan.
6. Terakhir sampel didinginkan dalam desikator dan dilakukan penimbangan akhir. Rumus perhitungan kadar lemak kasar adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar lemak} = \frac{C - A}{B} \times 100\%$$

Keterangan : A : Berat sampel dan kertas saring yang belum dioven

B : berat basah sampel

C : Berat sampel dan kertas saring yang telah dioven

- Kadar protein

Pengujian kadar protein pada sampel ikan menggunakan Semi Makro Kjeldahl. Tahap-tahap yang dilakukan dalam analisis protein terdiri dari tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Berikut ini prosedur pengujian kadar protein menurut Zakaria (2008) :

1. Tahap destruksi yaitu suatu perlakuan yang berfungsi untuk memecah senyawa menjadi unsur-unsur sehingga dapat dianalisis (Kristianingrum, 2012.). Tahap destruksi yang dilakukan adalah sebagai berikut :
 - Daging ikan tongkol ditimbang seberat 0,5 gram dengan alat timbangan digital
 - Sampel dimasukkan ke dalam tabung kjeltec. Satu butir kjeltec dimasukkan ke dalam tabung tersebut dengan ditambahkan 10 ml H₂SO₄.
 - Tabung yang berisi larutan dimasukkan ke dalam alat pemanas dengan suhu 410 °C dengan ditambahkan 10 ml air.
 - Proses destruksi dilakukan sampai larutan menjadi bening.
2. Tahap destilasi yaitu proses pemisahan kimia yang berfungsi untuk memisahkan dua atau lebih komponen yang memiliki titik didih yang jauh (Walangare *et al.*, 2013). Proses destilasi terdiri dari 2 tahap, yaitu persiapan dan sampel.
 - Tahap persiapan dilakukan dengan cara membuka kran air dilanjutkan dengan pengecekan alkali dan air yang terdapat dalam tanki
 - Tabung dan erlenmeyer yang berisi akuades diletakkan pada tempatnya.

- Tombol power pada sistem kjeltec ditekan dan dilanjutkan dengan menekan tombol steam dan tungku sampai air di dalam tabung mendidih.
- Steam dimatikan, tabung kjeltec dan erlenmeyer dikeluarkan dari alat kjeltec sistem.
- Tahap persiapan telah selesai dan dilanjutkan dengan tahap sampel.
- Tahap sampel dilakukan dengan cara meletakkan tabung yang berisi daging ikan yang sudah didestruksi ke dalam kjeltec sistem beserta erlenmeyer yang diberi asam borat.
- Destilasi dilakukan sampai volume larutan dalam erlenmeyer yang berisi asam borat mencapai 200 ml.

3. Titrasi merupakan penentuan banyaknya larutan dengan konsentrasi yang diketahui yang selanjutnya digunakan untuk bereaksi dengan sampel tertentu dan selanjutnya dianalisis (Keenan, 1980 dalam Mulyawati, 2014). Tahap titrasi dilakukan dengan menggunakan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda pada larutan erlenmeyer. Perhitungan kadar protein pada daging ikan tongkol :

$$\%N = \frac{(ml\ HCl\ daging\ ikan - ml\ HCl\ blanko)}{mg\ daging\ ikan} \times 14,008 \times 100\% \times 0,1\ NHCl$$

$$\% \text{ protein} = \% N \times \text{Faktor Konversi (6,25)}$$

- Kadar Karbohidrat

Pengukuran kadar karbohidrat total dari sampel ikan menurut Hafiluddin *et al.* (2014) dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - \%(\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

Pembuatan media

- Pembuatan Media PDA

Penelitian ini untuk menumbuhkan kapang kita menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan komposisi PDA powder 3,9 gram dan Aquades 100 ml. Pembuatan media PDA ini mengacu pada buku Penuntun Praktikum Mikologi (Hastuti, 2014). Proses pembuatan media PDA adalah sebagai berikut :

1. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam membuat PDA seperti cawan petri, aluminium foil, timbangan digital, erlenmeyer, autoklaf, dan lemari pendingin.
2. Bubuk PDA diambil dan ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer.
3. Larutkan dalam aquades 100 ml lalu aduk larutan hingga tercampur rata.
4. Sterilisasi media tersebut ke dalam autoklaf pada suhu 121° C tekanan 1 atm dalam waktu 15 menit.
5. Medium dituangkan pada cawan petri dengan takaran masing-masing cawan sebanyak 2,5 ml.

- Pembuatan media *Carboxy Methyl Cellulose* dan *Congo red*

Pembuatan media CMC agar dan reagen *Congo red* mengacu pada Yosmar *et al.* (2013). Proses pembuatan media CMC adalah sebagai berikut :

1. Siapkan media CMC agar sebanyak 1,2 gram serbuk CMC dan 15 gram agar.
2. Tambahkan aquades sebanyak 120 ml (perlakuan berbeda maka menggunakan air laut steril, air tawar steril, NACI 3% dan aquades).
3. Homogenkan ketiga bahan tersebut dan panaskan.
4. Sterilisasi pada autoklaf pada suhu 121° C tekanan 1 atm dalam waktu 15 menit.

5. Pembuatan reagen *Congo red* dengan cara melarutkan serbuk *Congo red* sebanyak 0,1 gram dengan alkohol 70% sebanyak 100 ml.

- Pembuatan media *Skim Milk Agar*

Pembuatan media *Skim Milk* agar mengikuti Pakpahan (2009). Media agar *Skim Milk* (mengandung 2,4 gram susu skim dan 2,8 gram agar). Proses pembuatan *Skim Milk Agar* adalah sebagai berikut :

1. Serbuk susu skim ditimbang sebanyak 2,4 gram dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 50 ml (perlakuan berbeda maka menggunakan air laut steril, air tawar steril, NACI 3% dan aquades)
2. Homogenkan larutan dengan cara diaduk-aduk.
3. Larutan yang telah homogen selanjutnya dipasteurisasi (70° C selama 1 jam).
4. Buat larutan agar dengan cara ditimbang 2,8 agar dan ditambah 70 ml aquades (perlakuan berbeda maka menggunakan air laut steril, air tawar steril, NACI 3% dan aquades)
5. Campurkan larutan agar dengan larutan susu dan disterilisasi.

Isolasi dan Pemurnian Kapang

Sebelum melakukan proses isolasi, tahap awal yaitu penanaman sampel. Setelah sampel ditumbuhi kapang, selanjutnya proses isolasi dapat dilakukan. Tahap penanaman sampel mengacu pada Ilyas (2007) dengan modifikasi. Langkah penanaman sampel adalah sebagai berikut :

1. Sediakan alat dan bahan yang digunakan seperti media PDA, pinset, gunting, alkohol, tisu, kertas label, dan sampel ikan yang akan ditumbuhi kapang,
2. Potong sampel sekitar 1x1 cm dan ambil potongan tersebut menggunakan pinset
3. Sampel yang telah dipotong dapat ditaruh pada media PDA.
4. Sampel dilabeli dan diinkubasi dengan suhu 25 °C selama 3-5 hari (Ilyas, 2007 dengan modifikasi).

Kapang yang tumbuh pada sampel selanjutnya dapat isolasi dan dimurnikan. Proses isolasi kapang dilakukan menurut sanjaya *et al.* (2010) dengan modifikasi. Proses isolasi kapang adalah sebagai berikut :

1. Jarum ose dibakar hingga kawatnya berpijar kemudian didinginkan 8-10 detik sebelum digunakan.
2. Sebanyak satu ose koloni diambil dari sampel untuk mendapatkan kultur murni dan digoreskan secara zigzag ke dalam media agar baru yang steril.
3. Pada cawan diberi label dan hasil pemurnian kapang diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 27°C selama 3-5 hari.

Identifikasi kapang

Tahap identifikasi menggunakan metode selotip (St-Germain dan Richard 1996). Hasil pengamatan morfologi dan mikroskopik kapang dapat dibandingkan dengan buku identifikasi Gandjar *et al.* (1999) dan Ellis *et al.* (2007). Langkah identifikasi adalah sebagai berikut :

1. Sediakan alat dan bahan yang akan digunakan seperti selotip, gunting, Lactophenol blue, Objek glass, media PDA yang telah ditumbuhi kapang dan mikroskop.
2. Sediakan objek glass dan selotip yang telah terpotong.

3. Pada objek glass, tetesi larutan Lactophenol blue secukupnya
4. Ambil spora kapang yang akan diamati dengan cara menempelkan selotip pada misellium kapang.
5. Selotip berisi misellium ditempelkan pada objek glass
6. amati spora menggunakan mikroskop.
7. Bentuk spora hasil pengamatan dan bentuk koloni kapang yang tumbuh pada media PDA dapat dicocokkan dengan buku taksonomi kapang untuk mengetahui jenis kapang hingga tingkat genus.

Penapisan Kapang selulase dan protease

Pengujian zona bening untuk mengetahui kapang penghasil enzim selulase dilakukan menurut Suciatmih (2008). Proses penapisan selulase menggunakan media CMC adalah sebagai berikut :

1. Masing-masing kapang yang telah dimurnikan ditumbuhkan pada cawan petri berisi media *Carboxy methyl Celullase* yang mengandung komposisi berbeda yaitu media air laut steril, air tawar steril, NACl 3% dan aquades.
2. Penanaman sampel kultur kapang murni dilakukan dengan cara ditusukkan pada media CMC.
3. Inkubasi media pada temperatur (27°C) selama 3 hari.
4. Bilas media CMC agar tersebut menggunakan *Congo red* (0,1%).
5. Dilakukan pengukuran indeks zona bening

Pengujian zona bening untuk mengetahui kapang penghasil enzim protease dilakukan menurut Mohanasrinivasan *et al.* (2012). Prinsip pengujian enzim protease mirip dengan pengujian selulase pada tahap sebelumnya yaitu sebagai berikut :

- 6 Kapang murni diisloasi menggunakan jarum ose

- 7 Jarum ose ditusukkan pada media *Skim Milk* agar yang mengandung komposisi berbeda. Penggunaan media yang berbeda dalam menumbuhkan kapang penghasil enzim mengacu pada penelitian Andhikawati *et al.* (2014) yang hanya menggunakan media air tawar, air laut dan NaCl 3% untuk menumbuhkan kapang penghasil selulase.
- 8 Sampel kapang pada media *Skim Milk* agar diinkubasi pada suhu 27°C selama 3 hari. Apabila terdapat zona bening pada media *Skim Milk* agar maka kapang tersebut termasuk kapang penghasil enzim protease.
- 9 Dilakukan pengukuran indeks zona bening.

Kapang dengan rata-rata indeks zona bening terbesar dilakukan percobaan selanjutnya yaitu mengetahui pH optimum untuk pertumbuhan kapang tersebut. Pengukuran indeks zona bening pada kedua media (CMC agar dan *Skim Milk* agar) menggunakan metode Zahidah dan Maya (2013) sebagai berikut :

$$IS/IP = \frac{X1 - X2}{X2}$$

Keterangan :

IS/IP = Indeks aktivitas Selulolitik, Proteolitik

X1 = diameter zona bening

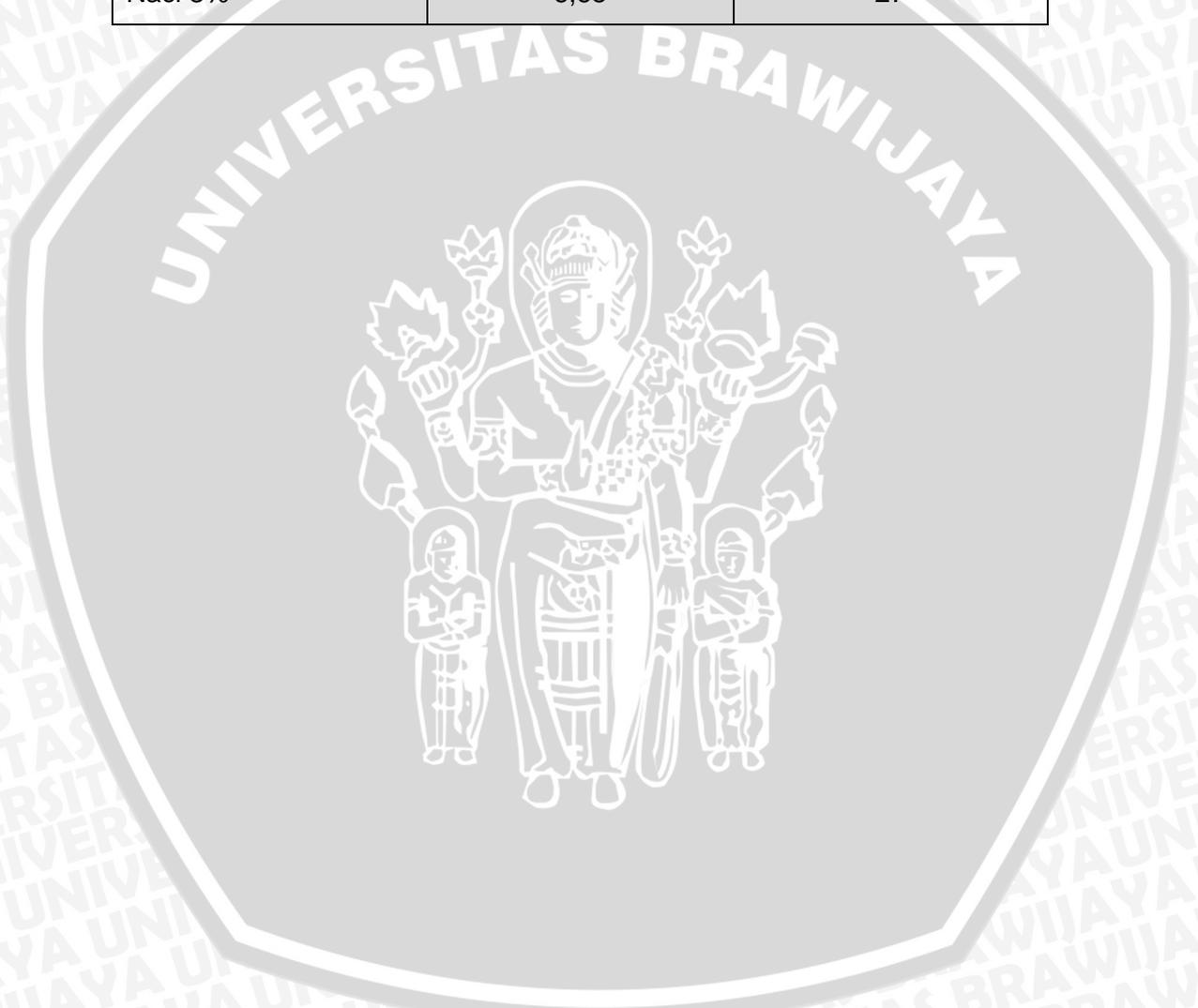
X2 = diameter koloni

Lampiran 2. Komposisi air berdasarkan salinitas dan pH

Di bawah ini merupakan hasil pengukuran komposisi pH dan salinitas pada media

Tabel. Komposisi pH dan Salinitas media air

Media Air	pH	Salinitas (ppt)
Aquades	6,57	0
Air Tawar	7,61	0
Air Laut	7,34	31
Nacl 3%	6,65	27



Lampiran 3. Hasil screening protease

Di bawah ini merupakan hasil *screening* protease pada media berbeda dengan 3 kali pengulangan

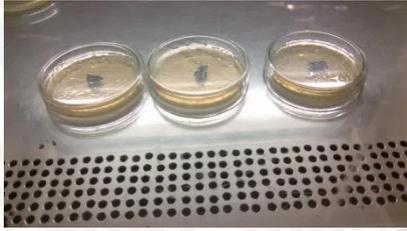
Media	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3
Aquades			
Air tawar			
Nacl 3%			
Air laut			

Lampiran 4. Hasil Screening Selulase

Di bawah ini merupakan hasil *screening* selulase pada media berbeda dengan 3 kali pengulangan

Media	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3
Aquades			
Air tawar			
Nacl 3%			
Air laut			

Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan



Penanaman sampel



Identifikasi secara mikroskopik



Pembuatan Media



Pembelian sampel



Pengujian pH sampel



Hasil kapang pada sampel



Hasil Skim Milk Agar



Hasil CMC



Sampel ikan tongkol