

Degradasi Karbohidrat pada Pakan Udang oleh Isolat Kapang Endofit Mangrove

Sri Lintang Artono¹, Agus Trianto^{1,2*}, Nur Taufiq Syamsudin Putra Jaya¹, Agus Sabdono¹, Subagiyo¹, Delianis Pringgenies¹, Rignolda Djamaludin³, Aiyen Tjoa⁴

¹Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

²Laboratorium Marine Natural Product, UPL-Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Jawa Tengah, Indonesia

³Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi
Jl. Kampus Unsrat, Kleak-Bahu, Manado 95115, North Sulawesi, Indonesia

⁴Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako
Jl. Soekarno Hatta Km. 9, Tondo, Mantikulore, Palu 94148, Central Sulawesi, Indonesia
Email: agustrianto.undip@gmail.com

Abstract

Carbohydrate Degradation in Shrimp Feed by Endophytic Mangrove Mold Isolates

Feed quality is a very important factor in shrimp farming because it will affect shrimp growth, water quality and even the emergence of pathogenic bacteria. High quality feed can be well digested by shrimp so that it can improve the growth and do not leave plenty of residue. Mold is capable of producing cellulase which can be used to improve feed quality by shortening carbohydrate chains. This paper will discuss the application of endophytic molds to simplify cellulose in shrimp feed. Mold isolates were collected from mangrove ecosystems in North Sulawesi. The media used for culturing mold are potato dextrose agar (PDA) and potato dextrose broth (PDB). Fermentation test was conducted using the fungal isolates; *Hypocreales* sp. and *Diaporthe stewartii* and consortia and controls. Fermentation results were checked by TLC and Fehling's test to determine the composition of the compounds and the presence of reducing sugar either mono or di-saccharide. Fermented shrimp feed shows differences in texture and color. Fermented feed extract with *Hypocreales* sp. 2.69 g (3.36%), *Diaporthe stewartii* 4.9 g (6.13%), and consortium 3.75 g (4.69%). TLC results neither under UV light nor visualization of vanillin sulfate did not show any differences of compounds in the control and the fermented feed. The results of the Fehling test showed that the mold was able to degrade cellulose that can be utilized to increase the shrimp feed quality.

Keywords: *Diaporthe stewartii*, Fermentation, *Hypocreales* sp., Shrimp Feed

Abstrak

Kualitas pakan merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam budidaya udang karena akan mempengaruhi pertumbuhan udang, kualitas air bahkan timbulnya bakteri patogen. Pakan yang baik mudah dicerna oleh udang sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan secara maksimal dan tidak terlalu banyak meninggalkan residu. Kapang mampu memproduksi selulase yang dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas pakan dengan memperpendek rantai karbohidrat. Tulisan ini akan membahas aplikasi kapang endofit untuk menyederhanakan selulosa pada pakan udang. Isolat kapang dikoleksi dari ekosistem mangrove di Sulawesi Utara. Media yang digunakan untuk mengkultur kapang adalah *potato dextrose agar* (PDA) dan *potato dextrose broth* (PDB). Uji fermentasi dengan kapang *Hypocreales* sp. dan *Diaporthe stewartii* dan konsorsium serta kontrol. Hasil fermentasi dicek dengan TLC dan uji Fehling untuk mengetahui komposisi senyawa dan keberadaan mono-karbohidrat. Pakan udang yang difermentasi menunjukkan perbedaan tekstur dan warna. Ekstrak pakan fermentasi dengan *Hypocreales* sp. sebesar 2,69 g (3,36%), *Diaporthe stewartii* sebesar 4,9 g (6,13%), dan konsorsium sebesar 3,75 g (4,69%). Hasil TLC dan visualisasi vanillin sulfat tidak menunjukkan perbedaan jenis senyawa pada pakan kontrol dan pakan terfermentasi. Hasil uji Fehling menunjukkan bahwa kapang mampu mendegradasi selulosa yang dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas pakan udang.

Kata kunci : *Diaporthe stewartii*, Fermentasi, *Hypocreales* sp., Pakan Udang

PENDAHULUAN

Budidaya Udang komersial memiliki nilai ekonomi yang sangat tinggi. Pada tahun 2018, nilai perdagangan udang internasional bernilai hampir USD 25,7 miliar atau sekitar 16 % dari semua

komoditas perikanan, sehingga mendorong peningkatan pendapatan per kapita dunia Sumber perikanan laut tradisional yang berasal dari penangkapan menjadi stagnan sejak pertengahan 1980-an, di sisi lain, total produksi perikanan terus meningkat hasil teknologi produksi baru sehingga akuakultur menjadi semakin penting (Anderson *et al.*, 2018).

Pakan adalah salah satu faktor kunci pada keberhasilan budidaya udang (Zuliyani *et al.*, 2017). Menurut Tahe dan Suwoyo (2011), 60-70% dari total biaya produksi adalah untuk pakan. Salah satu kekurangan adalah kandungan gizi yang rendah dan kurang sesuai untuk udang (Rahman *et al.*, 2018)). Pakan udang mengandung kadar protein kasar berkisar antara 25 % dan 40% lebih tinggi daripada yang digunakan untuk hewan ternak misalnya: unggas, babi dan sapi (Amaya *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2014). Lebih lanjut Nunes (2022) menjabarkan bahwa pakan udang mengandung protein dan asam amino 57,86 %, karbohidrat 33 %, lemak 3,35 %, vitamin dan mineral 5,29 %, dan non-nutrien 0,50 %.

Secara alami, kapang merupakan adalah mikroorganisme yang saprofit atau penyakit yang mendegradasi jaringan tumbuhan. Selulosa merupakan komponen utama dari lignoselulosa, yang tersusun atas hemiselulosa, lignin, pektin dan lilin pada dinding sel tumbuhan Mulyadi (2019). Kapang memiliki kemampuan untuk memecah selulosa pada jaringan tanaman mati menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan menghasilkan enzim ekstra seluler, misalnya selulosa dan lignase (Utami *et al.*, 2019). Kapang juga mampu melakukan dekomposisi selulosa terlarut (Raghukumar, 2017, Razie *et al.*, 2011). Kemampuan kapang menghasilkan enzim selulosa dapat digunakan dalam proses hidrolisis selulosa dalam bioindustri, misalnya dalam produksi bioetanol (Saravanakumar *et al.*, 2016). Fermentasi juga dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas pakan dengan mengubah atau menyederhanakan struktur kimia senyawa organik dengan bantuan enzim (Rahman *et al.*, 2018). Pada proses fermentasi bahan – bahan yang sulit dicerna seperti selulosa diubah menjadi gula sederhana sehingga dapat mempercepat pertumbuhan dan mengurangi residu (Zuliyani *et al.*, 2017). Kapang menjadi mikroorganisme yang berpotensi memproduksi selulase yang dapat diaplikasikan pada industri pakan udang. Dibandingkan dengan produksi dan sistem kerja selulase bakteri atau organisme lain, produksi dan sistem kerja selulosa kapang lebih sederhana (Imran *et al.*, 2016).

Mangrove merupakan ekosistem pesisir yang memiliki keanekaragaman yang tinggi, termasuk kapang. Kapang dari ekosistem mangrove memiliki potensi bioteknologi sebagai penghasil enzim selulosa untuk meningkatkan produksi etanol generasi kedua dari sumber yang berbeda dan alternatif (Immaculatejeyasanta *et al.*, 2011, Ramesh *et al.*, 2014). Tulisan ini akan membahas aplikasi kapang endofit untuk menyederhanakan selulosa pada pakan udang.

MATERI DAN METODA

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2020 hingga Januari 2021 di Laboratorium *Marine Natural Product*, UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pakan udang *ecobest*, *Hypocreales sp.*, dan *D. stewartii*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksperimen laboratoris.

Isolat kapang 19MT-5-3 dan 19 MSr-C4-3 berasal dari ekosistem mangrove di sekitar Manado yang merupakan koleksi Laboratorium *Marine Natural Product-UPTLT* Universitas Diponegoro. Isolat kapang 19MT-5-3 dan 19 MSr-C4-3 sudah diidentifikasi secara molekuler sebagai *Hypocreales sp.*, dan *D. stewartii* (Trianto *et al.*, 2021).

Prosedur fermentasi pakan meliputi penyegaran kapang pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA), penyiapan starter pada media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB). Kapang *Hypocreales sp.* dan *Diaporthe stewartii* dilakukan selama masing - masing 7 hari. Fermentasi dilakukan dengan 3 variabel, yaitu: kontrol pakan udang, fermentasi dengan isolat *Hypocreales sp.*, *D. stewartii*, serta fermentasi pakan menggunakan konsorsium kedua kapang yang dilakukan selama 7 hari.

Ekstraksi pakan udang dilakukan dengan metoda maserasi dengan pelarut etil asetat. Perendaman sampel dilakukan selama 24 jam dengan 3 kali ulangan. Menurut Hasnaeni *et al.* (2019), analisis data untuk menghitung persentase ekstrak yang didapatkan saat ekstraksi, menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak (akhir)}}{\text{Bobot Sampel (awal)}} \times 100\%$$

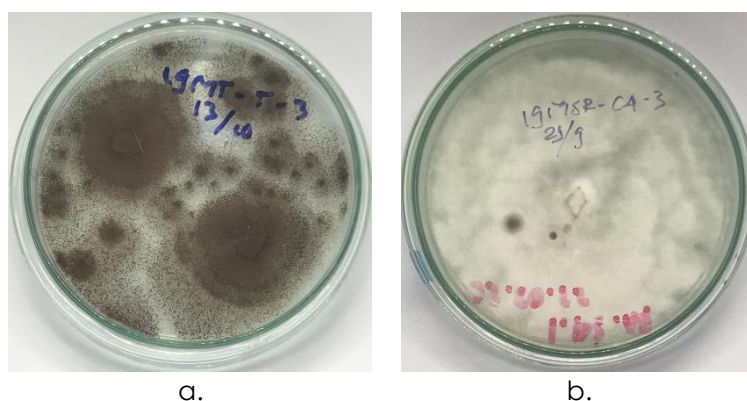
Uji TLC dilakukan untuk mengetahui perbedaan komposisi senyawa antara pakan kontrol dengan pakan terfermentasi, hasil TLC di visualisasi menggunakan sinar UV (366nm) (Santiago dan Strobel, 2013), serta visualisasi menggunakan reagent vanillin sulfat untuk menampakkan senyawa yang tidak terlihat dibawah sinar UV-Vis (Stahl, 1966).

Uji fehling menggunakan reagent fehling, yang mana metode ini digunakan untuk mendeteksi gula tereduksi (Kunz *et al.*, 2011). Sebanyak 2 mL larutan sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagent Fehling A dan Fehling B masing-masing 2 mL kedalam tabung tersebut. Setelah itu, larutan NaOH 10% sebanyak 4 tetes ditambahkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi lalu dipanaskan di atas Bunsen hingga mendidih. Reaksi positif pada uji Fehling diindikasikan adanya endapan merah bata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

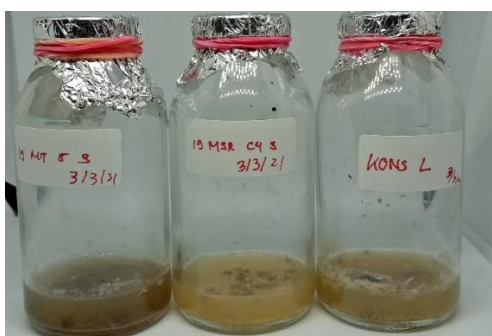
Pada media PDA, kapang dapat tumbuh dengan baik karena PDA ini mempunyai beberapa nutrisi essensial untuk pertumbuhan kapang (Westphal *et al.*, 2021). Menurut Gabriel *et al.* (2018), kapang tumbuh dengan baik dan menyebar ke setiap sudut petri untuk memaksimalkan pencarian nutrisi pada media. Kapang *Hypocreales* sp. mempunyai koloni berwarna coklat kehitaman, berspora, dengan pola pertumbuhan *irregular* dengan elevasi *raised* dan bermargin *lobate*. Sedangkan kapang *D. stewartii* memiliki koloni berwarna putih, berukuran besar dengan elevasi *convex* dan bermargin *filamentous* (Gambar 1).

Pada Gambar 2 menunjukkan pertumbuhan kapang pada media PDB dalam vial 100 mL. Kapang dapat tumbuh dengan baik dan dengan cepat pada media PDB. Menurut Shi *et al.* (2012), ukuran inokulum, volume media dan temperature sangat mempengaruhi pertumbuhan kapang. Inokulum yang terlalu kecil akan mengakibatkan pertumbuhan sel yang lambat sedangkan ukuran inokulum yang terlalu besar akan menyebabkan degradasi sel dalam jangka waktu tertentu. Rasio media terhadap wadah yang rendah dapat menyebabkan pertumbuhan kapang yang tinggi karena kecukupan ruang dan udara. Kapang tumbuh dengan cepat pada suhu yang ideal. Basu *et al.* (2015), menyebutkan bahwa media pertumbuhan kapang yang optimal memiliki kandungan karbohidrat dan nitrogen yang tinggi, pH 5 - 6 dan suhu 25° - 37°C.

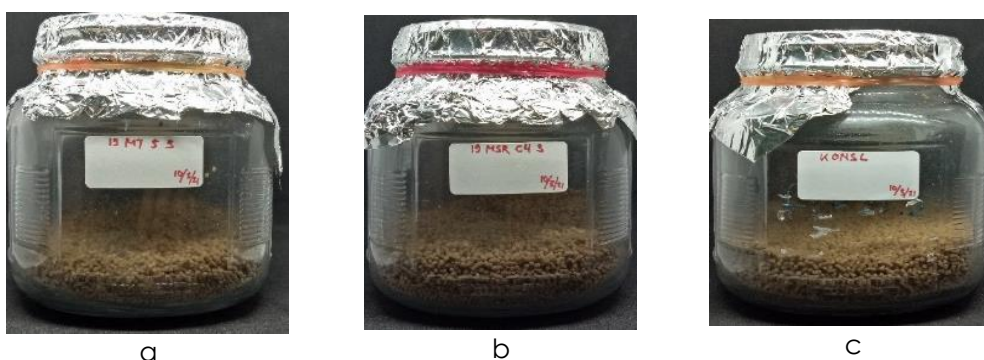


Gambar 1. Kultur kapang (a) *Hypocreales* sp. (b) *D. stewartii*

Pertumbuhan kapang pada pakan ditunjukkan dengan adanya gumpalan – gumpalan pakan, serta terdapat beberapa miselia ataupun spora yang dapat diamati dengan mudah. Metode fermentasi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu metode *solid-state fermentation*. Menurut Ibaruri *et al.* (2021) jamur memiliki kemampuan khusus untuk menembus zat padat dan memiliki laju oksigenasi yang tinggi. Jamur juga dikenal dapat menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi dinding bahan organik. Fermentasi pakan menggunakan isolat *Hypocreales* sp. (19MT-05-3) memiliki karakteristik tumbuhnya miselia coklat dan spora berwarna hitam pada pakan, fermentasi pakan menggunakan isolat *D. stewartii* (19MSr-C4-3) memiliki karakteristik tumbuhnya miselia putih pada pakan, sedangkan untuk fermentasi konsorsium memiliki ciri – ciri tumbuhnya spora hitam dan miselia putih pada pakan. Ciri – ciri umum yang terjadi dalam fermentasi pakan ini yaitu terdapat gumpalan – gumpalan pakan yang mana pakan tersebut terikat dengan tumbuhnya miselia. Pertumbuhan kapang saat fermentasi ini tergolong sangat cepat karena dalam waktu tujuh hari, kapang mampu menyebar ke seluruh bagian pakan. Menurut Karimi *et al.* (2018), pada proses fermentasi, kapang memanfaatkan nutrisi pada substrat dan akan menghasilkan produk metabolisme seperti asam organik dan bioethanol dengan bantuan enzim ekstra-seluler. Pakan yang difermentasi diekstrak dengan metoda maserasi selama tiga hari dengan penggantian pelarut ekstrak setiap harinya. Hasil analisis data ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kultur cair sampel *Hypocreales* sp., *D. stewartii*, dan Konsorsium untuk starter fermentasi.



Gambar 3. Fermentasi pakan menggunakan isolat kapang a) *Hypocreales* sp., *D. stewartii* 19MT-5-3, b) 19 MSr-C4-3, c) Konsorsium

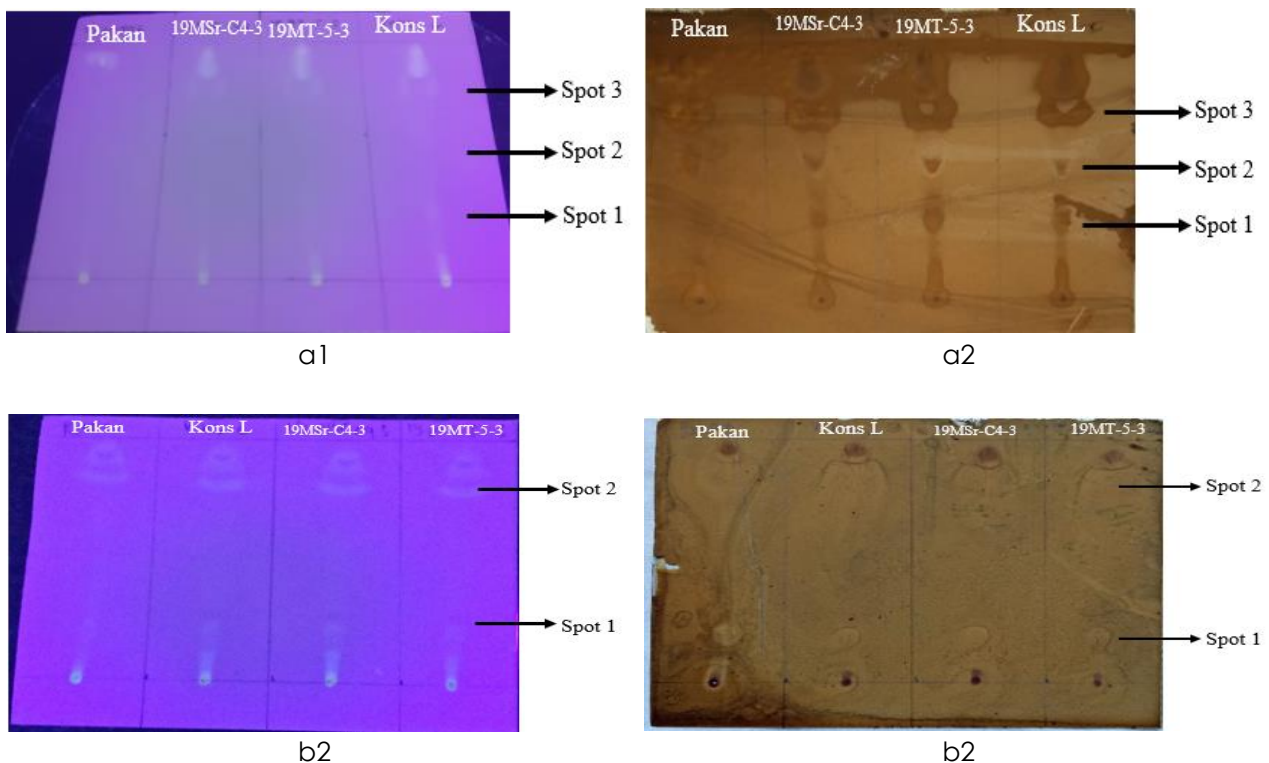
Tabel 1. Hasil ekstraksi pakan fermentasi *Hypocreales* sp. (19MT-05-3), *D. stewartii* (19MSr-C4-3) dan konsorsium.

Nama	Berat sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
19MT-05-3	80	2,69	3,36
19MSr-C4-3		4,9	6,13
Konsorsium		3,75	4,69

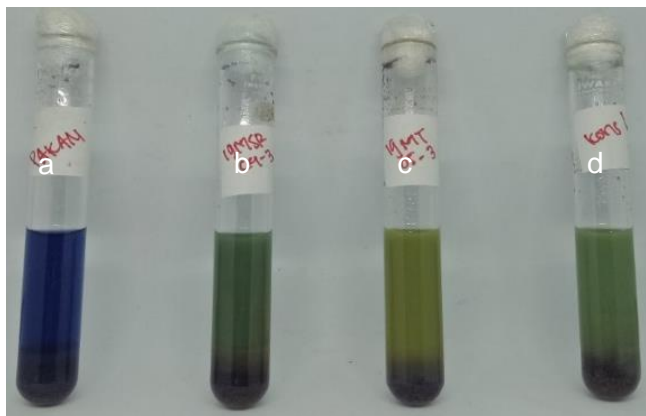
Menurut Gallo *et al.* (2017), maserasi adalah metode termurah untuk menghasilkan ekstrak. Berat ekstrak methanol pada pakan fermentasi *Hypocrales* sp. sebanyak 2,69 g dengan rendemen 3,36%, pada fermentasi dengan *D. stewartii* sebanyak 4,9 g dengan rendemen 6,13% serta ekstrak dengan konsorsium sebanyak 3,75 g dengan rendemen 4,69%. Rendemen ekstrak menunjukkan jumlah senyawa aktif pada suatu sampel (Hasnaeni *et al.*, 2019). Hasil uji TLC baik dengan visualisasi dengan sinar UV maupun dengan reagent vanillin sulfat dalam etanol menunjukkan tidak ada perbedaan komposisi senyawa pada ekstrak semua pakan fermentasi dan kontrol (Gambar 4). Hal ini menunjukkan tidak adanya perubahan senyawa non polar dan semi polar pada saat proses fermentasi. Reagent vanillin sulfat digunakan untuk menunjukkan spot yang tidak nampak saat visualisasi sinar UV (Spangenberg *et al.*, 2011). Penggunaan eluen yang berbeda akan menyebabkan pemisahan yang berbeda terutama pada senyawa-senyawa yang mempunyai polaritas cukup dekat, penggunaan dua eluen penting untuk memastikan komposisi senyawa pada suatu ekstrak.

Uji Fehling digunakan untuk mendeteksi gula tereduksi pada pakan terfermentasi (Kunz *et al.*, 2011). Teknik ini juga dapat menentukan keberadaan glukosa dalam bentuk polisakarida, polimer glucopyranoside dan polyalcohol (Antonio *et al.*, 2018). Uji fehling menggunakan sampel yang berupa pakan kontrol dan pakan terfermentasi, serta mendapatkan hasil seperti Gambar 7 dan Tabel 2. Pada hasil, dapat dilihat bahwa terdapat perubahan warna dan terbentuknya endapan merah pada sampel pakan terfermentasi yang menunjukkan terjadinya pemecahan karbohidrat kompleks menjadi gula yang lebih sederhana.

Sesuai dengan Yadav dan Majumder (2017) yang menyatakan bahwa indikasi perubahan warna pada uji gula tereduksi metode Fehling dengan adanya suspensi berwarna hijau dan endapan berwarna merah. Antonio *et al.* (2018), menyatakan uji Fehling dengan 1 mg glukosa



Gambar 4. Hasil TLC sampel pakan dan pakan difermentasi dengan isolate jamur 19MSr-C4-3, 19MT-5-3 dan pakan fermentasi kapang konsorsium a) visualisasi dengan sinar UV, b) visualisasi dengan vanillin sulfat (a. pelarut n-Hexane : etil asetat = 1 : 2, b. pelarut n-Hexane : etil asetat = 2 : 1)



Gambar 6. Hasil uji fehling a. Sampel pakan, b. Fermentasi *D. stewartii*, c. Fermentasi *Hypocreales* sp., d. Fermentasi konsorsium.

mampu membentuk endapan berwarna merah. Pada pakan control tidak terdapat perubahan warna sehingga diduga tidak terdapat sukrosa atau glukosa. Kunz *et al.*, (2011), menjelaskan bahwa pada pH rendah, glukosa atau sukrosa tidak mampu mereduksi sehingga tidak menyebabkan perubahan warna biru pada larutan Cu^{2+} . Fleischer (2019) juga menyatakan bahwa glukosa tidak teroksidasi menjadi glukonat atau asam glukonat oleh larutan alkali senyawa tembaga (II). Ngamput dan Herrani (2019), membuktikan bahwa perubahan warna larutan dipengaruhi endapan Cu_2O yang terbentuk oleh gula pereduksi yang bereaksi dengan reagen Fehling. Reaksi Fehling dapat terjadi pada suhu ruangan (Fleischer, (2019); Jhon *et al.*, (2015)). Sumari *et al.* (2018) menjelaskan bahwa warna pada uji fehling akan semakin terang apabila semakin banyak gula reduksi pada larutan tersebut.

KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu kapang isolat *Hypocreales* sp., *D. stewartii* dan konsorsium memiliki kemampuan memecah karbohidrat kompleks menjadi gula yang lebih sederhana. Kedua kapang baik dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium dapat diaplikasikan untuk meningkatkan kualitas pakan udang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami tujukan kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro yang telah membantu sebagian kegiatan penelitian dan publikasi ini melalui dana hibah penelitan FPIK UNDIP Sumber dana selain APBN UNDIP 2022 dengan no. kontrak: 254/UN7.5.10.2/PP/2022

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.L., Asche, F. & Garlock, T. (2018). Globalization and commoditization: The transformation of the seafood market, *Journal of Commodity Markets*, 12, 2-8.
- Antonio, M.D.C., Carrera, D.C.M., Tapia, J.A.R., Reyes, R.P., Almora, P.M., Cruz, M.S., López, A.M. & Lara, H.L. (2018). Detection of Polysaccharides in *Ganoderma lucidum* Extracts. *Nova Scientia*, 10(2), 247–257. doi: 10.21640/Ns.V10i21.1538
- Ashari, B.H., Wibawa, B.M. & Persada, S.F. (2017). Analisis Deskriptif dan Tabulasi Silang pada Konsumen Online Shop di Instagram (Studi Kasus 6 Universitas di Kota Surabaya). *Jurnal Sains dan Seni Its*, 6(1), 17–21. doi: 10.12962/J23373520.V6i1.21403
- Basu, S., Bose, C., Ojha, N., Das, N., Das, J., Pal, M. & Khurana, S. (2015). Evolution of Bacterial and Fungal Growth Media. *Bioinformation*, 11(4), 182–184.

- Fleischer, H. (2019). The Iodine Test for Reducing Sugars – a Safe, Quick and Easy Alternative to Copper(ii) and Silver(i) Based Reagents. *World Journal Of Chemical Education*, 7(2), 45–52. doi: 10.12691/Wjce-7-2-3
- Gabriel, Y.A., Aguilar, C.B., Orijel, R.G., Ferrer, N.M., Maass, S.F. & Mata, G. (2018). Genetic Characterization, Evaluation of Growth and Production of Biomass of Strains from Wild Edible Mushrooms of *Lyophyllum* of Central Mexico. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(3), 632–640. doi: 10.1016/J.Bjm.2017.12.002
- Gallo, M., Formato, A., Ianniello, D., Andolfi, A., Conte, E., Ciaravolo, M., Varchetta, V. & Naviglio, D. (2017). Supercritical Fluid Extraction of Pyrethrins from *Pyrethrum* Flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) Compared to Traditional Maceration and Cyclic Pressurization Extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 119, 104–112. doi: 10.1016/J.Supflu.2016.09.012
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 175–182. doi: 10.22487/J24428744.2019.V5.I2.13149
- Ibarruri, J., Cebrían, M. & Hernández, I. 2021. Valorisation of Fruit and Vegetable Discards by Fungal Submerged and Solid-State Fermentation for Alternative Feed Ingredients Production. *Journal of Environmental Management*, 281(111901), 1–8. doi: 10.1016/J.Jenvman.2020.111901
- Immaculatejeyasanta, K., Madhanraj, P., Patterson, J. & Panneerselvam, A. 2011. Case study on the extra cellular enzyme of marine fungi associated with mangrove driftwood of Muthupet Mangrove, Tamil Nadu, India, *Journal of Pharmacy Research*, 4, 1385–1387.
- Imran, M., Anwar, Z., Irshad, M., Asad, M.J., & Ashfaq, H. (2016). Cellulase production from species of fungi and bacteria from agricultural wastes and its utilization in industry: a review. *Advances in Enzyme Research*, 4, 44–55. doi: 10.4236/aer.2016.42005
- Karimi, S., Soofiani, N.M., Mahboubi, A. & Taherzadeh, M.J. (2018). Use of Organicwastes and Industrial By-Products to Produce Filamentous Fungi with Potential as Aqua-Feed Ingredients. *Sustainability (Switzerland)*, 10(3296), 1–19. doi: 10.3390/Su10093296
- Kunz, T., Lee, E.J., Schiwiek, V., Seewald, T. & Methner, F.J. (2011). Glucose - a reducing sugar? reducing properties of sugars in beverages and food. *Brewing Science*, 64(7–8), 61–67.
- Mulyadi, I. (2019). Isolasi Dan Karakterisasi Selulosa : Review. *Jurnal Saintika UNPAM*, 1(2), 177–182.
- Nunes, A.J.P, Dalen, L.T., Leonardi, G. & Burri, L. (2022). Developing sustainable, cost-effective and high-performance shrimp feed formulations containing low fish meal levels, *Aquaculture Reports*, 27(101422), 1-12.
- Ngamput, H.M.A., & Herrani, R. (2019). The Effect of Differentiation of Hydrolysis Time Towards Ethanol Levels Produced Through *Ulva Lactuca* Fermentation. *Journal of Physics: Conference Series*, 1241(012010), 1–8. doi: 10.1088/1742-6596/1241/1/012010
- Raghukumar, S. (2017). Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems: Marine Fungi. Springer International Publishing. Springer. doi: 10.1007/978-3-319-54304-8
- Rahman, R., Lahming, & Fadilah, R. (2018). Evaluasi Komponen Gizi pada Pakan Udang Fermentasi. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 4, 101–111. doi: 10.26858/Jptp.V4i2.6617
- Razie, F., Anas, I., Sutandi, A., Gunarto, L. & Sugiyanta, S. (2011). Aktivitas Enzim Selulase Mikroba yang Diisolasi dari Jerami Padi di Persawahan Pasang Surut di Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 13(2), 43–48. doi: 10.29244/Jitl.13.2.43-48
- Ramesh, K., Natarajan, M., Sridhar, H., Uma Vanitha, M. & Umamaheswari, S. 2014. Anti-vibrio activity of mangrove and mangrove associates on shrimp pathogen, *Vibrio harveyi* VSH5Global *Veterinaria*, 12, 270–276.
- Saravanakumar, K., Rajendran, N., Kathiresan, K. & Chen, J. (2016). Bioprospects of Microbial Enzymes from Mangrove-Associated Fungi and Bacteria. *Advances In Food and Nutrition Research*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/Bs.Afnr.2016.08.003
- Shi, J., Zeng, Q., Liu, Y., & Pan, Z. (2012). *Alternaria* Sp. Mg1, a Resveratrol-Producing Fungus: Isolation, Identification, and Optimal Cultivation Conditions for Resveratrol Production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95, 369–379. doi: 10.1007/S00253-012-4045-9
- Siyoto, S. & Sodik, M.A. (2015). *Dasar Metodologi Penelitian*. Literasi Media Publishing.
- Spangenberg, B., Poole, C.F., & Weins, C. (2011). *Quantitative Thin-Layer Chromatograph: a Practical Survey*. Springer Heidelberg Dordrecht London. doi: 10.1007/978-3-642-10729-0

- Stahl, E. (1966). Thin-layer Chromatography: A Laboratory Handbook. *Journal of Colloid and Interface Science*. doi: 10.1007/978-3-642-88488-7
- Sumari, Sholihah, N., Aisyah, M.M., Oktaviani, I., Khilmi, N. & Prakasa, Y.F. (2018). Effectiveness of Modified Natural Zeolite Through Acid Activation As a Catalyst on Cellulose Conversion Into Glucose from Cotton Assisted by Ultrasonic. *Journal of Physics: Conference Series*, 1093(012011), 1–9. doi: 10.1088/1742-6596/1093/1/012011
- Tahe, S. & Suwoyo, H. Suryanto. (2011). Pertumbuhan dan Sintasan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan Kombinasi Pakan Berbeda dalam Wadah Terkontrol. *Jurnal Riset Akuakultur*, 6(1), 31–40.
- Trianto, A., Radjasa, O.K, Subagiyo, Purnaweni H., Bahry, M.S., Djamaludin, R, Tjoa, A, Singleton, I., Diele, K. & Evan, D. (2021), Potential of fungi isolated from a mangrove ecosystem in Northern Sulawesi, Indonesia: Protease, cellulase and anti-microbial capabilities, *Biodiversitas*, 22(4):1717-1724.
- Utami, A.P., Setyaningsih, R., Pangastuti, A. & Lusi, S.S.A. (2019). Optimasi Produksi Enzim Selulase Dari Jamur *Penicillium* sp. SLL06 Yang Diisolasi Dari Serasah Daun Salak (*Salacca edulis*). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 5(2), 145–149. doi: 10.13057/psnmbi/m050201
- Westphal, K.R., Heidelbach, S., Zeuner, E.J., Jensen, M. R., Nielsen, M.E., Vestergaard, S.Z., Bekker, N. S., Skovmark, J., Olesen, C.K., Thomsen, K.H., Niebling, S.K., Sørensen, J.L. & Sondergaard, T.E. (2021). The Effects of Different Potato Dextrose Agar Media on Secondary Metabolite Production in *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology*, 347(109171), 1–17. doi: 10.1016/J.ijfoodmicro.2021.109171
- Yadav, P. & Majumder, C.B. (2017). Production of Glucose Syrup by The Hydrolysis of Starch Made from Rotten Potato. *Journal of Integrated Science and Technology*, 5(1): 19–22.
- Zuliyani, B., Agustono, & Satyantini, W.H. (2017). Pengaruh Substitusi Kedelai dengan Fermentasi Tepung Daun Lamtoro pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Terhadap Nilai Kecernaan Protein dan Kecernaan Energi. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 6(3), 129–134.