

Aktivitas Gelatinase Bakteri Endogen Maggot *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) pada *Hydrolyzed Collagen* (HC) yang Berasal dari Limbah Pengolahan Ikan Tuna

Gelatinase Activity of Endogenous Bacteria of Maggot Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) on Hydrolyzed Collagen (HC) Derived from Tuna Fish Processing Waste

Alfita Ramdiyati Ismi¹, Aisah¹, Amelia Firdia Sheptiriani¹, Rena Pitri Amelia¹, Qatrun Nada¹, Fauzia Ningrum Syaputri², Wulan Pertiwi^{1,*}

¹Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*Email Korespondensi: wulanpertiwi@umbandung.ac.id

Abstrak

Hydrolyzed collagen (HC) merupakan produk kolagen atau gelatin yang terenzimolisis dan memiliki ukuran berat molekul yang kecil (0,3-8 kDa). HC dapat diproduksi secara enzimatik dengan enzim protease. Metode yang digunakan dalam produksi HC antara lain adalah isolasi bakteri penghasil gelatinase dari maggot BSF, ekstraksi gelatin dari limbah ikan tuna, skrining aktivitas gelatinase, produksi enzim gelatinase, produksi *hydrolyzed collagen*, dan analisis konfirmasi. Isolasi bakteri didapatkan koloni bakteri sebanyak 22 koloni, 3 diantaranya memiliki aktivitas gelatinase yang diamati dari hasil skrining aktivitas, Rendemen ekstrak gelatin yang didapatkan adalah 9,36%. Produksi HC didapatkan sebanyak 10 mL dengan penambahan 5% *crude gelatinase enzyme*. Hasil SDS-PAGE dapat ditentukan bahwa terdapat pita pada ukuran 31-42 kDa, hal ini menunjukkan bahwa gelatinase dapat terisolasi.

Kata Kunci: *hydrolyzed collagen*, maggot BSF, ikan tuna, gelatinase, gelatin

Abstract

Hydrolyzed collagen (HC) is an enzymolyzed collagen or gelatin product and has a small molecular weight (0.3-8 kDa). HC can be produced enzymatically with protease enzymes. The methods used in HC production include isolation of gelatinase-producing bacteria from BSF maggots, gelatin extraction

from tuna fish waste, gelatinase activity screening, gelatinase enzyme production, HC production, and confirmation analysis. Bacterial isolation resulted in 22 bacterial colonies, 3 of which had gelatinase activity as observed from the activity screening results. The yield of gelatin extract obtained was 9.36%. HC production was obtained as much as 10 mL with the addition of 5% crude gelatinase enzyme. The SDS-PAGE results can be determined that there is a band with a size of 31-42 kDa, it shows that the gelatinase can be isolated.

Keywords: hydrolyzed collagen, maggot BSF, tuna fish, gelatinase, gelatin

Diterima: 28 Mei 2024

Disetujui: 01 Oktober 2025

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v7i5.2451>



Copyright (c) 2025, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Ismi, A. R., Aisah, A., Sheptiriani, A. F., Amelia, R. P., Nada, Q., Syaputri, F. N., Pertiwi, W., 2025. Aktivitas Gelatinase Bakteri Endogen Maggot *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) pada *Hydrolyzed Collagen* (HC) yang Berasal dari Limbah Pengolahan Ikan Tuna. *J. Sains Kes.*, 7(5). 353-360. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v7i5.2451>

1 Pendahuluan

Hydrolyzed Collagen (HC) adalah produk kolagen atau gelatin yang terenzimolisis dan sering digunakan sebagai komponen aktif karena bioaktivitasnya yang beragam, ketersediaan hayati yang tinggi, dan biokompatibilitas yang baik. HC terdiri dari peptida kecil dengan berat molekul berukuran kecil (0,3-8 kDa), sehingga lebih mudah dicerna, diserap, dan didistribusikan dalam tubuh manusia [1]. Saat ini, HC banyak digunakan sebagai suplemen dan minuman bernutrisi, konsumsi HC secara oral menjadi populer karena dapat menjangkau lapisan kulit yang lebih dalam sehingga meningkatkan hidrasi, elastisitas, dan peremajaan kulit. Pada industri makanan, HC menjadi pengganti lemak pada patty kerbau, komposisi tambahan pada jus jeruk, dan minuman fermentasi. Sementara itu, HC juga dapat menjadi biomaterial dengan kegunaan sebagai selulosa *films*, kolagen *films*, kitosan hidroge, dan kitosan spons [2].

HC dengan banyak pengaplikasian tersebut dapat diproduksi dari gelatin dengan sumber hewan yang halal, yaitu limbah ikan tuna. Terhitung 0,8 juta limbah padat diperoleh dari 5,89 juta ton hasil perikanan triwulan I-2022 [3]. Pemanfaatan limbah ikan tuna ini dapat menjadi upaya untuk meminimalisir limbah organik perikanan.

Selain membutuhkan limbah ikan tuna sebagai bahan baku, produksi HC membutuhkan enzim gelatinase untuk menghidrolisis gelatinnya. Enzim gelatinase dapat diperoleh dari bakteri yang terdapat di maggot *Black Soldier Fly* (BSF) (*Hermetia illucens*). Enzim yang dihasilkan nantinya digunakan untuk menguraikan gelatin menjadi senyawa sederhana dengan reaksi yang cepat, ekonomis, dan lebih stabil [4].

Berdasarkan potensi limbah ikan tuna dan maggot BSF di atas, penelitian ini ditujukan untuk memperoleh hasil produksi HC yang memiliki berbagai manfaat dari limbah pengolahan ikan tuna dengan aktivitas

gelatinase dalam *crude gelatinase enzyme* yang berasal dari pencernaan maggot BSF. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim gelatinase dari *crude gelatinase enzyme* bakteri endogen maggot BSF (*Hermetia illucens*) dan mengkarakterisasi enzim gelatinase dari *crude gelatinase enzyme* bakteri endogen maggot BSF (*Hermetia illucens*), HC, dan gelatin tulang ikan.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam riset ini antara lain autoklaf, batang *magnetic stirrer*, *beaker glass*, bunsen, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur, gunting, *incubator*, jarum oose, laminar, *micropipette*, pinset, pipet tetes, pisau bedah, sentrifugator, seperangkat alat SDS-PAGE, *shaker*, *shaker incubator*, spatula, spektrofotometri uv-vis, stirer, tabung falcon, timbangan analitik, *vortex*, dan *waterbath*.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain agar, aquades, alumunium foil, *ammonium persulfate*, amonium sulfat, *beef extract*, beta-mercaptoethanol, bis-akrilamid, buffer fosfat, cawan petri *disposable*, *coomassie brilliant blue*, EDTA, etanol 70%, etanol 96%, gelatin, *gloves*, HCl, *ice gel*, maggot BSF, membran selofan, Mg²⁺, microtube, Na₂CO₃, NaCl, natrium hipoklorit, *nutrient agar*, *nutrient broth*, *peptone*, tips mikropipet, TEMED, tissue, tris base, tulang ikan tuna, *wrap plastic*, *yeast extract*.

2.3 Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Tuna

2.3.1 Degreasing

Tulang ikan yang telah dibersihkan direbus pada suhu 80°C selama 10 menit sambil diaduk untuk menghilangkan sisa-sisa daging dan lemak. Selanjutnya ditiriskan dan dipotong dengan panjang sekitar ±2 cm, lalu dikering anginkan [5].

2.3.2 Demineralisasi

Tulang ikan yang telah bersih kemudian direndam dengan larutan HCl 5% dalam *beaker glass* dengan perbandingan 1:5 (b/v) selama 48 jam sehingga terbentuk ossein [6].

2.3.3 Ekstraksi

Ossein dicuci dengan menggunakan aquades sampai pH 7. Ossein yang memiliki pH 7 dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:3 (b/v). Kemudian diekstraksi pada suhu 70°C selama 6 jam. Ekstraksi bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi gelatin [6]. Ekstrak gelatin yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 55°C selama 24 jam, setelah kering kemudian dihaluskan, dihitung rendemennya dan dianalisis [6].

2.4 Isolasi Bakteri endogen Maggot BSF

Isolasi bakteri diawali dengan membedah maggot BSF. Saluran pencernaan maggot BSF dihaluskan dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10⁻⁴. Bakteri ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C. Setiap isolat bakteri yang tumbuh disubkultur ke media baru untuk mendapatkan kultur murni [7].

2.5 Skrining Aktivitas Gelatinase

Skrining dilakukan dengan dua metode yaitu *nutrient gelatin stab method* dan *nutrient gelatin plate method* dengan kontrol positif gelatin komersial. *Nutrient gelatin stab method* dilakukan dengan melakukan subkultur dari koloni bakteri murni yang berumur 24 jam ke dalam 3 ml media *nutrient gelatin*. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C hingga 1 minggu. Setelah itu masukan kultur ke dalam *ice bath* selama 15 menit dan amati pencairannya. *Nutrient gelatin plate method* dilakukan dengan menusukkan kultur bakteri pada medium *nutrient gelatin agar* yang telah memadat. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam dan amati zona bening di sekitar area tusukan [8].

2.6 Isolasi Crude Gelatinase Enzyme

2.6.1 Salting Out

Endapan gelatin dipisahkan dari media. Media disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit kemudian diambil supernatannya. Dimasukkan larutan garam amonium sulfat 60% kedalam supernatan dengan perbandingan 1:1. Kemudian didiamkan 24 jam. Selanjutnya disentrifugasi 10.000 rpm selama 20 menit dan diambil peletnya [9].

2.6.2 Dialisis

Membran selofan digunting 7,5 cm. Kemudian membran selofan direbus selama 30 menit dalam larutan yang mengandung Na₂CO₃ 5 gram, EDTA 0,5 M 1 mL dan akuades. Selanjutnya membran selofan didinginkan pada suhu ruang dan dibilas dengan akuades. Salah satu ujung membran selofan diikat dengan benang. Setelah itu pelet hasil salting out dimasukkan kedalam membran selofan. Kemudian ikat ujung membran selofan yang belum terikat dengan benang. Selanjutnya membran selofan dimasukkan ke larutan PBS pH 7 dan didiamkan 24 jam di kulkas [10].

2.7 Produksi Hydrolyzed Collagen

Produksi HC dilakukan dengan pembuatan larutan gelatinase konsentrasi 50% yang kemudian ditambahkan *crude gelatinase enzyme* sebanyak 5% dari total volume. Larutan direaksikan pada suhu 55°C selama 6 jam [10].

2.8 Analisis Konfirmasi Hydrolyzed Collagen

SDS-PAGE dilakukan untuk menentukan berat molekul. Gel yang digunakan merupakan separating gel dan stacking gel dengan konsentrasi 12% [11]. Sampel yang dilakukan analisis konfirmasi antara lain hydrolyzed collagen, gelatin, dan gelatinase. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penghambatan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dengan konsentrasi 0,1mM dalam microplate 96-well [12]. Uji Antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram (Metode Kirby Bauer) pada media Mueller Hinton Agar terhadap bakteri *Escherichia coli* [13].

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Tuna

Sampel tulang ikan tuna diproses degreasing dengan direbus selama 10 menit pada suhu 80°C sambil diaduk untuk memastikan tidak ada sisa daging yang menempel. Kemudian dipotong, dikeringkan, dan ditimbang. Hasil *degreasing* tulang ikan tuna diperoleh 1.078 gram. Tahap *degreasing* dilakukan untuk menghasilkan gelatin murni tanpa pengotor dan optimal. Pengotor yang dimaksud adalah daging dan lemak ikan yang

menempel pada tulang. Pemotongan tulang ikan dilakukan untuk memperkecil ukuran tulang sehingga dapat memaksimalkan proses ekstraksi gelatin karena luas permukaannya yang relatif lebih luas [14].

Ossein (suatu kompleks yang sebagian besar terdiri dari kolagen) yang didapat dari hasil demineralisasi sebanyak 600 gram. Hasil dari demineralisasi merupakan tulang ikan yang memiliki tekstur lebih lunak. Berat total gelatin kering yang didapat sebanyak 33,2411 gram dengan rendemen 9,36%. Pada penelitian ini, digunakan HCl sebagai pemotong rantai kolagen pada tulang ikan tuna untuk menjadi rantai pendek gelatin. Semakin lama proses perendaman yang dilakukan, gelatin yang diekstraksi dapat meningkat [15].

3.2 Hasil Isolasi Bakteri endogen Maggot BSF

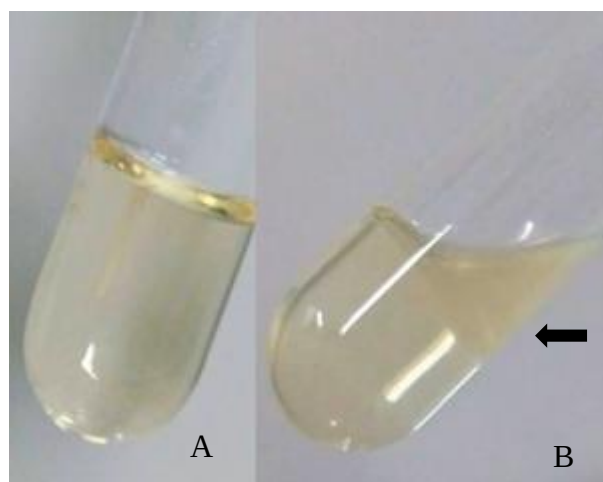
Hasil isolasi bakteri endogen dari maggot BSF menunjukkan bahwa terdapat 17 koloni pada tahap kultur dari pengenceran bertingkat dan terdapat 22 koloni murni pada tahap subkultur dengan metode *four way streak*. Hal ini membuktikan bahwa pada maggot BSF terdapat bakteri yang terisolasi. Metode *four way streak* ini dilakukan untuk mengevaluasi atau memurnikan koloni bakteri sehingga didapatkan koloni tunggal yang murni [16].

3.3 Hasil Skrining Aktivitas Gelatinase

Sebanyak 22 isolat yang sudah diisolasi dari endogen maggot BSF. Selanjutnya masing-masing isolat tersebut diinokulasikan pada media skrining gelatinase dengan cara melakukan uji gelatinase. Media ini berfungsi untuk penapisan atau skrining bakteri yang dapat menghasilkan enzim gelatinase. Apabila isolat bakteri ini positif (+) gelatinase maka akan terjadi perubahan dengan cairnya media gelatin yang menandakan aktivitas enzim gelatinase [17].

Berdasarkan hasil skrining gelatinase yang didapat pada koloni K3.1, K2.1, dan K2.2 menunjukkan perubahan media menjadi cair setelah diinkubasi selama 15 menit pada suhu 4°C dengan total inkubasi suhu ruang selama 6 hari. Hal ini dikarenakan terjadinya hidrolisis gelatin oleh bakteri yang memiliki aktivitas gelatinase. Hidrolisis gelatin ini menyebabkan gelatin terpecah menjadi peptida dan asam amino yang lebih kecil, sehingga merusak

struktur gelatin yang berfungsi sebagai pengokoh. Maka dari itu, media berubah menjadi tidak solid dan cair [18]. Hasil skrining gelatinase pada koloni K2.1 ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil skrining gelatinase pada koloni K2.1 pada sebelum (A) dan sesudah inkubasi (B). Tanda panah menunjukkan media padat gelatin yang mencair karena aktivitas gelatinase.

Tabel 1. Kandungan Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
---------------	----------	-------	------------

3.4 Hasil Isolasi Crude Gelatinase Enzyme

3.4.1 Salting out

Prosedur awal pengendapan protein pada penelitian ini dilakukan pada koloni K2.1 yang selanjutnya disentrifugasi dan diambil supernatannya (filtrat gelatinase). Filtrat gelatinase ini dipekatkan dengan garam amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 60% selama satu malam. Setelah itu, disentrifugasi dan diambil peletnya. Pengendapan protein ini dilakukan untuk mengurangi kadar air sehingga aktivitas enzim yang didapat memiliki aktivitas yang lebih baik karena dapat mengurangi kontaminan yang mengganggu sisi aktif enzim untuk berikatan dengan substrat [19].

3.4.2 Dialisis

Dialisis dilakukan dengan menggunakan membran selofan dengan *cut off* 14 kDa dan fosfat buffer pH 7 pada suhu 4°C. Hasil dialisis di pindahkan ke dalam *microtube* dengan total volume *crude gelatinase enzyme* yang didapat adalah 1,7 mL. Dialisis ini dilakukan untuk memisahkan garam amonium sulfat maupun zat terlarut lainnya berdasarkan ukuran molekul pada membran selofan [20]. Dialisat protein akan berada di dalam membran selofan karena ukuran molekulnya lebih besar dari pada ukuran pori-pori membran [21].

3.5 Hasil Produksi Hydrolyzed Collagen

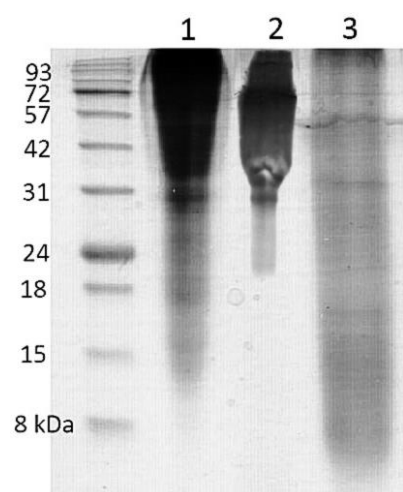
Produksi HC dilakukan dengan pembuatan larutan gelatinase konsentrasi 50% yang kemudian ditambahkan *crude gelatinase enzyme* sebanyak 5% dari total volume. Larutan direaksikan pada suhu 50-70°C selama 6 jam. HC yang dihasilkan memiliki volume total 10 mL. Pada penelitian ini, teknik enzimatik digunakan dalam proses produksi HC karena teknik ini lebih mudah untuk dikontrol daripada teknik hidrolisis kimia [22].

3.6 Hasil Analisis Konfirmasi

3.6.1 Karakterisasi SDS-PAGE

SDS-PAGE dilakukan dengan metode SDS-PAGE Glisin. Preparasi sampel dilakukan dengan menambahkan 5 µL sampel dan 20 µL *Buffer sample*. Sampel yang di-load 20 µL. Pada sampel HC dari gelatin komersial, setelah diencerkan 2x dengan akuades tetap tidak turun saat proses *running* berlangsung. Perlu dilakukan pengenceran lebih lanjut pada sampel untuk analisis SDS-PAGE.

Dilakukan pengulangan analisis SDS-PAGE dengan perbedaan perlakuan terhadap masing-masing sampel. Dimana sampel gelatin hasil ekstraksi, gelatin komersial, hasil produksi *hydrolyzed collagen*, dan HC yang dibeli komersial diencerkan sebanyak 5x dan 10x. Hasil karakterisasi SDS-PAGE dapat dilihat pada Gambar 2.



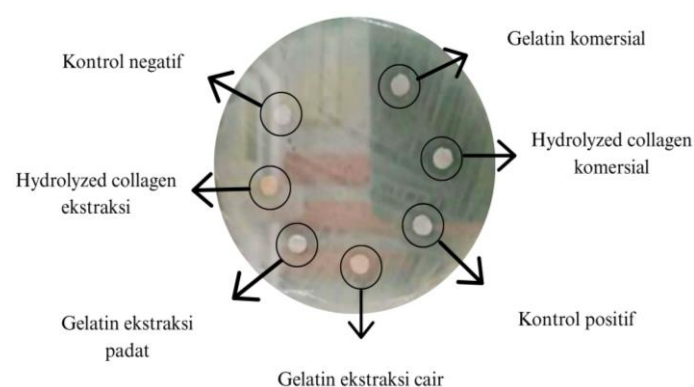
Gambar 2. Hasil karakterisasi *crude* gelatinase dengan SDS-PAGE (1: Gelatin hasil ekstraksi, 2: Gelatin komersial, 3: *Crude gelatinase*).

Hasil SDS-PAGE dapat ditentukan bahwa terdapat pita pada ukuran 31-42 kDa. Berdasarkan literatur, ukuran berat molekul *bacterial gelatinase* berada pada sekitar 34 kDa [23] sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil dialisis mengandung enzim gelatinase yang masih perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut. Selain itu, sumur satu merupakan gelatin hasil ekstraksi dan sumur 2 merupakan gelatin komersial. Hal ini menandakan bahwa gelatin berhasil terisolasi, sampel yang di-load memiliki konsentrasi yang pekat sehingga masih diperlukan pengenceran pada tahap preparasi sampel agar dapat turun dengan sempurna. Protein dengan konsentrasi tinggi cenderung membentuk agregat, terutama jika tidak seluruh protein berhasil terdenaturasi sepenuhnya oleh SDS. Agregat ini dapat tersangkut di dalam sumur gel atau di awal jalur gel, sehingga menghambat migrasi normal protein [24].

3.6.2 Uji Antibakteri

Hasil yang dicapai pada pengujian ini menunjukkan bahwa gelatin komersial, gelatin hasil ekstraksi, HC ekstraksi, dan HC komersial memiliki zona hambat yang menghambat bakteri *Escherichia coli* untuk tumbuh. Zona hambat ditunjukkan dengan zona bening di sekitar kertas cakram yang mana menunjukkan sensitivitas antimikroba dari sampel gelatin hasil ekstraksi, gelatin komersial, HC ekstraksi, dan HC komersial [25]. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam sampel tersebut,

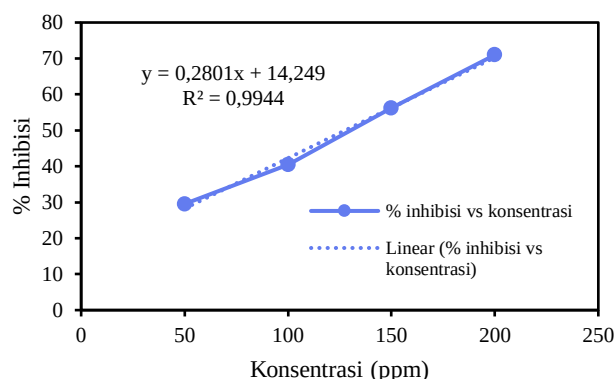
bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel, menghambat kerja enzim, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein [26]. Adapun kontrol negatif tidak membentuk zona hambat yang berarti bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak memiliki pengaruh pada pengujian, tetapi terpengaruh oleh senyawa yang ada pada gelatin komersial, gelatin hasil ekstraksi, HC ekstraksi, dan HC komersial. Hasil uji antibakteri dengan metode difusi cakram ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil uji antibakteri dengan metode difusi cakram (Metode Kirby Bauer) pada media Mueller Hinton Agar terhadap bakteri *Escherichia coli*

3.6.3 Uji Antioksidan

Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai IC_{50} gelatin ekstraksi (143.85 ppm) dan HC ekstraksi (127.64 ppm). Nilai IC_{50} keduanya menandakan bahwa gelatin ekstraksi dan HC ekstraksi memiliki antioksidan sedang karena berada di rentang 101-150 $\mu\text{g/mL}$. Lebih spesifiknya, senyawa yang diuji dikategorikan sebagai antioksidan kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, sedang jika nilai IC_{50} di sekitar 101-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 151 $\mu\text{g/mL}$ [27]. Dari data yang diperoleh, dapat diketahui bahwa HC ekstraksi lebih baik antioksidannya dari HC komersial (143.80ppm). Apabila nilai IC_{50} semakin kecil menandakan semakin besarnya aktivitas antioksidan yang dimiliki bahan yang diuji [28]. Hasil uji antioksidan dari HC ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji Antioksidan HC

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pada proses isolasi bakteri, diperoleh 22 koloni bakteri dengan 3 koloni diantaranya menunjukkan aktivitas gelatinase berdasarkan hasil skrining aktivitas gelatinase. Rendemen ekstrak gelatin yang diperoleh adalah 9,36%. Produksi HC mencapai 10 mL dengan penambahan 5% *crude enzyme* gelatinase. Pada hasil analisis menggunakan SDS-PAGE menunjukkan terdapat pita pada ukuran 31-42 kDa, yang mengindikasikan bahwa gelatinase berhasil diisolasi.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan kali ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak Kemdikbud-Ristekdikti, PKM Center UM Bandung, atas dukungan yang telah diberikan sehingga riset ini dapat dilaksanakan.

5.2 Penyandang Dana

Pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 8 Bidang Tahun 2023 Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan KEMDIKBUD.

5.3 Kontribusi Penulis

Penulis 1 melakukan percobaan isolasi dan skrining bakteri, analisis data, dan penyusunan naskah; Penulis 2 melakukan percobaan ekstraksi gelatin dan purifikasi enzim dan penyusunan naskah; Penulis 3 melakukan percobaan isolasi dan skrining bakteri, isolasi

dan produksi enzim serta penyusunan naskah; Penulis 4 melakukan ekstraksi dan purifikasi enzim dan penyusunan naskah; Penulis 5 melakukan percobaan ekstraksi gelatin serta penyusunan naskah; Penulis 6 melakukan arahan riset dan penyelesaian naskah; Penulis 7 melakukan arahan riset, penentuan desain percobaan, dan penyelesaian naskah.

5.4 Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penulisan artikel ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Juher, T. F., dan Pérez, E. B. 2015. An overview of the beneficial effects of hydrolysed collagen intake on joint and bone health and on skin aging, *Nutr Hosp*, 1, 62-66.
- [2] León-López, A., Morales-Peñaloza, A., Martínez-Juárez, V. M., Vargas-Torres, A., Apolonio, Zeugolis, D. I., dan Aguirre-Álvarez, G. 2019. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules*, 24, (22), 4031.
- [3] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2022. *Rilis Data Kelautan dan Perikanan Triwulan I Tahun 2022*. Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- [4] Nababan, M., Gunam, I. B. W., dan Wijaya, I. M. M. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulotik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7, (2), 190-199.
- [5] Jaya, M. F., dan Rochyani, N. 2021. Ekstraksi Gelatin Tulang Ikan Gabus (*Channa striata*) dengan Variasi Asam yang Berbeda pada Proses Demineralisasi, *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 25, (3), 201-207.
- [6] Rahayu, F., dan Fithriyah, H.N. 2015. *Pengaruh Waktu Ekstraksi Terhadap Rendemen Gelatin dari Tulang Ikan Nila Merah*, Seminar sains dan teknologi, ISSN: 2407 – 1846.
- [7] Leana, A. W. N., Purwanto, dan Sulistyanto. 2021. Isolasi Dan Seleksi Bakteri Antagonis Terhadap *Rhizoctonia Solani* Dan Penghasil IAA Pada Larva Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*), *Jurnal Sosial dan Sains*, 1, (9), 1039-1044.
- [8] Al-Dhabaan, F. A. 2019. Morphological, Biochemical, and Molecular Identification of Petroleum Hydrocarbons Biodegradation Bacteria Isolated from Oil Polluted Soil in Dhahran, Saudi Arabia, *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26(6): 1247-1252.
- [9] Balan, S. S., Nethaji, R., Sankar, S., dan Jayalakshmi, S. 2012. Production of Gelatinase Enzyme from *Bacillus* spp Isolated from the

- Sediment Sample of Porto Novo Coastal Sites, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S1811-S1816.
- [10] Patent Number CN101870995A. (2010). Process for preparing collagen tripeptide. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/CN101870995A/en>
- [11] Febrina, M., Setyadi, S., dan Churiya. 2022. Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Kolagenase dari *Bacillus sp.* KUB BPPT CC dengan menggunakan Substrat Kolagen dari Kulit Ceker Ayam, *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 13, (1), 1-9.
- [12] Rahman, A., Taufik, E., Purwatiningsih, S., dan Purwanto, B. P. 2014. Kajian Potensi *Whey* Yogurt sebagai Bahan Alami Pencegahan Jerawat, *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 2, (1), 238-242.
- [13] Kurniati, I., Marlina, N., Wahyuni, Y., Dermawan, A., dan Mulia, Y. S. 2022. Efektivitas Larva (*Maggot*) *Black Soldier Fly* (BSF) sebagai Antibakteri dalam Menghambat dan Membunuh *Escherichia coli*, *Jurnal Riset Kesehatan*, 14, (2), 229-238.
- [14] Fasya, A. G., Amalia, S., Imamudin, M., Nugraha, R. P., Ni'mah, N., & Yuliani, D. 2018. Optimasi Produksi Gelatin Halal dari Tulang Ayam Boiler (*Gallus domesticus*) dengan Variasi Lama Perendaman dan Konsentrasi Asam Klorida (HCl). *Indonesia Journal of Halal*. 1(2): 102-108.
- [15] Tazwir, Musfiq, A., & Rinta, K. 2009. Pengaruh Perendaman Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacares*) dalam Larutan NaOH terhadap Kualitas Gelatin Hasil Olahannya, *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan*, 4, (1), 29-36.
- [16] Cox, N. A., Richardson, L. J., Cosby, D. E., Berrang, M. E., Wilson, J. L., & Harrison, M. A. 2016. A Four-Quadrant Sequential Streak Technique to Evaluate *Campylobacter* Selective Broths for Suppressing Background Flora in Broiler Carcass Rinses. *Journal of Food Safety*, 37(2): 1-3.
- [17] Prihanto, A. A., Timur, H. D. L., Jaziri, A. A., Nurdiani, R., & Pradameswari, K. A. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri endogen Mangrove *Sonneratia alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur, *Indonesian Journal of Halal*.
- [18] Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2014). *Microbiology* (10th ed.). McGraw-Hill Education.
- [19] Purwanto, M. G. M. 2016. The Role and Efficiency of Ammonium Sulfate Precipitation in Purification Process of Papain Crude Extract, *Procedia Chem.* 18, 127-131.
- [20] Gunarti, D. R., Rahmi, H. & Sadikin, M. 2013. Isolation and Purification of Thiamine Binding Protein from Mung Bean, *Hayati J Biosci.* 20, 1-6.
- [21] Rahmi, H., Hariyanti, Putri A, R., & Wulandari, D. 2020. Analisis Hasil Fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*), *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 7, (2), 194-202.
- [22] Mohammad, A. W., Suhimi, N. M., Aziz, A. G. K. A., & Jahim, J. M. 2014. Process of Production of Hydrolyzed Collagen from Agriculture 11 Resources: Potential Further Development, *Journal of Applied Sciences*, 14, (12), 1319-1323.
- [23] Su, Y. A., Sulavik, M. C., He, P., Makinen, K. K., Makinen, P. L., Fedler, S., Wirth, R., dan Clewell, D. B. 1991. Nucleotide Sequence of The Gelatinase Gene (gelE) from *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens*, *Infect Immun*, 59, (1), 415-20.
- [24] Kurien, B. T., & Scofield, R. H. (2006). *Protein Blotting and Detection: Methods and Protocols*. Humana Press.
- [25] Mayefis, D., Marliza, H., dan Yufiradani. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) terhadap *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat, *Jurnal riset Kefarmasian Indonesia*, 2, (1), 35-41.
- [26] Dwidjoseputro, D. 1980. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Gramedia, Jakarta.
- [27] Meigara, K. M., Mudianta, I. W., dan Murtaningsih, N. W. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Wahana Matematika dan Sains*, 10, (2), 1-11.
- [28] Jadid, N., Hidayati, D., Hartanti, S., Arraniry, B., Rachman, R., dan Wikanta, W. 2017. Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using DPPH assay, *AIP Conference Proceedings*. 1854, 1-6.