

DAFTAR PUSTAKA

- Abood, A., Salman, A.M.M., Abdelfattah, A.M., El-Hakim, A. E., Abdel-Aty, A.M., and Hashem, A.M., 2018. Purification and haracterization of a New Thermophilic Collagenase from *Nocardiopsis assonvillei* NRC2aza and Its Application in Wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116: 801-810. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.030>.
- Angriany, A., 2022. *Karakterisasi Enzim Kolagenase dari Saluran Pencernaan Ikan Gabus (Channa striata)*, Skripsi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
- Astiana, I., Nurjanah and Nurhayati, T., 2016. Karakteristik Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Ekor Kuning. *JPHPI*, 19(1): 79-93.
- Baehaki, A., Suhartono, M.T., Sukarno., Syah, D., Sitanggang, A.B., Setyahadi, S., and Meinhardt, F., 2012. Purification and Characterization of Collagenase from *Bacillus licheniformis* F11.4. *African Journal of Microbiology Research*, 6(10): 2373-2379. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1379>.
- Badan Pusat Statistik (2020). Import Gelatin Indonesia
- Baharuddin, M., Alfina, N., Febryanti, A., Azis, A., and Wahyuningsih, W., 2022. Karakteisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M Larva Kumbang Sagu dari Luwu Utara, *Chimica et Natura Acta*, 10(2): 81-87.
- Bergmeyer, H.U., 1983. *Metode Analisis Enzimatik*, Vol 2, Verlag Chemie, Jerman.
- Cho, S.M., Gu, Y.Z. and Kim, S.B., 2005. Extracting Optimization and Physical Properties of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Skin Gelatin Compared to Mammalian Gelatins. *Food Hydrocolloids*, 19: 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.05.005>.
- Destructive Fishing Watch Indonesia (2020). Pemerintah Perlu Tingkatkan Konsumsi Ikan di Pulau Jawa. <https://dfw.or.id/pemerintah-perlu-tingkatkankonsumsi-ikan-di-pulau-jawa/>. Diakses pada tanggal 16 November 2021 pukul 14.32 WIB.
- Doringin, K.M., Lintang, R.A., and Sumilat, D.A., 2020. Karakterisasi dan Penapisan Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Symbion *Thurudilla lineolata* dan *Phyllidiella pustulosa*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 8(3): 27-37. <https://doi.org/10.35800/jplt.8.3.2020.32242>.
- Edison, Diharmi, A., Ilza, M., Karnila, R., Tumangger, F., 2024. Pengaruh Suhu Berbeda Terhadap Aktifitas Enzim Kolagenase dari Usus Ikan Cunang (*Congresox talabon*). *Agrointek*, 18(1): 33-39.
- Elbialy, Z.I., Gamal, S., Al-Hawary, I.I., Shukry, M., Salah, A.S., Aboshosha A.A., and Assar, D.H., 2022. Exploring the Impacts of Different Fasting and Refeeding

Regimes on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Growth Performance, Histopathological Study, and Expression Levels of Some Muscle Growth-Related Genes. *Fish Physiol Biochem*, 48(1): 973-989.

Erizal, Perkasa, D.P., Abbas, B., Sudirman, and Sulistioso, G.S., 2014. Fast Swelling Superabsorbent Hydrogels Starch Based Prepared by Gamma Radiation Techniques. *Indo J Chem*, 14(3): 246-252.

Fathimah, A.N. and Wardani, A.K., 2014. Ekstraksi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Daun Kelor (*Moringa oliefera Lamk.*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3): 191-200.

Fayad, S., Morin, P., and Nehme, R., 2017. Use of Chromatographic and lectrophoretic Tools for Assaying Elastase, Collagenase, yaluronidase, and Tyrosinase Activity. *Journal of Chromatography A*, 1529: 1-28.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.003>.

Febrina, M., Setyahadi, S., and Churiyah., 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): 1-10.

Gautam, M. and Azmi, W., 2017. Screening and Isolation of Collagenase Producing Microorganism from Proteins Waste Found inHimalaya Region. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 4(1): 558-565.

Haeruddin, Astuti, W., AND Pratiwi, D.R., 2023. Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase dari Bakteri Air Bekas Galian Tambang di Samarinda. *FMIPA UNMUL*, 1(1): 67-70.

Hasan, T., Yasir, Y., and Firno, 2020. Analisis Kandungan Kolagen Ekstrak Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. *Jurnal FERBAL*, 8(1): 94-99.

Holweda, A.M. and Loon, L.J.C.V.L., 2022. The Impact of Collagen Protein Ingestion on Musculoskeletal Connective Tissue Remodelling. *Nutrition Reviews*, 80(6): 1497-1514. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab083>.

Kong, J. and Yu, S., 2007. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochim Biophys Sinic*, 39(8): 549-559.

Krishnamoorthi, J., Ramasamy, P., Shanmugam, V., and Shanmugam, A., 2017. Isolation and Partial Characterization of Collagen from Outer Skin of *Sepia pharaonis* (Ehrenberg, 1831) from Puducherry Coast. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10: 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.02.006>.

Liu, L., Ma, M., Cai, Z., Yang, X., and Wang, W., 2010. Purification and Properties of a Collagenolytic Protease Produced by *Bacillus cereus* MBL13 Strain, *Food Technol. Biotechnol*, 48(2): 151-160.

Mahjani and Putri, D.H., 2020, Growth Curve of Endophyte Bacteria Andalas (*Morus macroura* Miq.) B.J.T. A-6 Isolate. *Serambi Biologi*, 5(1): 29-32.

- Matmaroh, K., Benjakul, S., Prodpran, T., Encarnacion, A.B., and Kishimura, H., 2011. Characteristics of Acid Soluble Collagen and Pepsin Soluble Collagen from Scale of Spotted Golden Goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food Chemistry*, 129(1): 1179-1186.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., and Duodu, K.G., 2004. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Study of Acid soluble Collagen and elastin from skin and Bones of young and Adult Nile Perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 86(3), 325-332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.038>.
- Novanti, R. and Zulaika, E., 2018. Pola Pertumbuhan Bakteri Ureolitik pada Medium Calcium Carbonat Precipitation (CCP). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2): 34-35.
- Noviyanti, T., Ardiningsih, P., and Rahmalia, W., 2012. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *JKK*, 1(1): 31-34.
- Nurhayati, Tazwir, and Murniyati, 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JPB Kelautan dan Perikanan*, 8(1): 85-92.
- Rochima, E., Pratama, R.I., and Andriani, Y., 2017. Isolation and Characterization of Collagenase from *Bacillus inuringiensis* for Degrading Fish Skin Collagen of Cirata eservoir Waste, ICSAFS Conference Proceedings 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security A Comprehensive Approach, 2017(1): 172-178.
- Rochima, E., Sekar, N., Buwono, I.D., Afrianto, E., and Pratama, R.I., 2016. Isolation and Characterization of Collagenase from *Bacillus Subtilis* (Ehrenberg, 1835); ATCC 6633 for Degrading Fish Skin Collagen Waste from Cirata Reservoir, Indonesia. *Aquatic Procedia*, 7: 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.010>.
- Romadhon, Darmanto, Y.S., and Kurniasih, R.A., 2019. Karakteristik Kolagen dari Tulang, Kulit, dan Sisik Ikan Nila. *JPHJPI*, 22(2): 403-410.
- Rori, C.A., Kandou, F.E.F., and Tangapo, A.M., 2020. Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*, 10(2): 48-55. <https://doi.org/10.35799/jbl.11.2.2020.28338>.
- Rutu, I., Natsir, H., and Arfah, R., 2015. Production of Protease Enzyme From Bacteria in Hot Spring of South Sulawesi, *Bacillus licheniformis* HSA3-1a. *Marina Chimica Acta*, 16(1): 10-17. <https://doi.org/10.20956/mca.v16i1.949>.
- Sahubawa, L. and Putra, A.B.N., 2011. Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat dan Waktu Ekstraksi terhadap Mutu Kolagen Limbah Kulit Ikan Nila Hitam. *Jurnal Teknosains*, 1(1): 1-69.

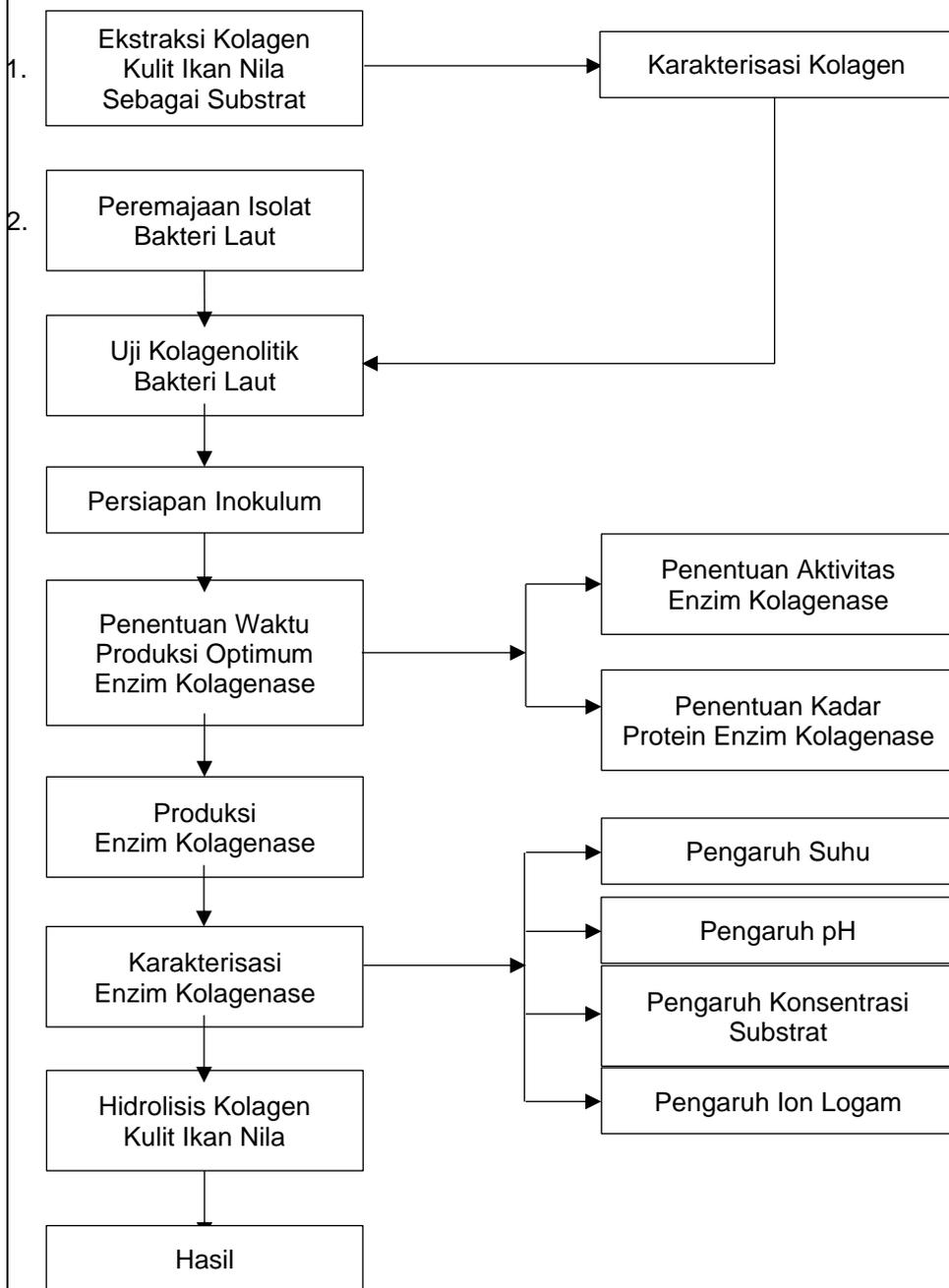
- Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., and Widowati, N., 2019. Karakteristik fisikokimia kolagen larut asam dari kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia., 22(3): 441-452. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i3.28924>.
- Sartika., Natsir, H., Dali, S., and Leliani, L., 2019. Production and Characterization of Collagenase From *Bacillus* sp. 6-2 Isolated From Fish Liquid Waste. Jurnal Akta Kimia Indonesia (Indonesia Chimica Acta), 12(1): 58-66. <https://doi.org/10.20956/ica.v12i1.5924>.
- Setyati, W.A., Martani, E., Triyanto., Subagiyo and Zainuddin, M., 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. Ilmu Kelautan, 20(3): 163-169.
- Shirzad, M., Hamed, J., Motevaseli, E., and Modarressi, M.H., 2018. Anti-elastase and anti-collagenase potential of *Lactobacilli exopolysaccharides* on human fibroblast. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 46(1): 1051-1061. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1443274>.
- Sihombing, F., Edison, and Diharmi, A., 2022. Pengaruh Suhu Berbeda Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase Organ dalam Ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus*). JOM Unri, 1(1), 1-5.
- Sukreni, S., Prayoga, A., and Kurniawan, A., Pembenihan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Menggunakan Akuarium Pada Fase Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva. Amreta Meena, 1(1): 26-31.
- Sukmawati, 2018. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. Biotropic The Journal of Tropical Biology, 2(1): 1-10.
- Sulistiyowati, E., Salirawati, D., and Amanatie, 2016. Karakterisasi Beberapa Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim Tripsin. Jurnal Penelitian Saintek, 21(2): 107-120.
- Suptijah, P., Indriani, D., and Wardoyo, S.E., 2018. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius sp.*). Jurnal Sains Natural, 8(1): 8-23.
- Witono, Y., 2013. *Enzim Biduri Agen Aktif Potensial Untuk Proses Pangan*, Pustaka Radja, Jember.
- Wu, Q., Li, C., Li, C., Chen, H., and Shuliang, L., 2010. Purification and Characterization of a Novel Collagenase from *Bacillus pumilus* Col-J. Applied Biochemistry and Biotechnology, 160(1): 129-139.
- Wulandari, Suptijah, P., and Tarman, K., 2015. Efektivitas Pretreatment Alkali dan Hidrolisis Asam Asetat Terhadap Karakteristik Kolagen dari Kulit Ikan Gabus. JPHPI, 18(3): 287-302. DOI: 10.17844/jphpi.2015.18.3.287.
- Verde, M.E.Q.L., Ferreira-Júnior, A.E.C., Barros-Silva, P.G.D., Miguel, E.D.C., Mathor, M.B., Lima-Júnior, E.M., Moraes-Filho, M.O.D., Alves, A.P.N.N.,

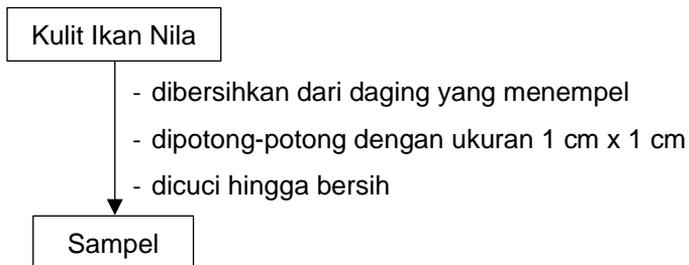
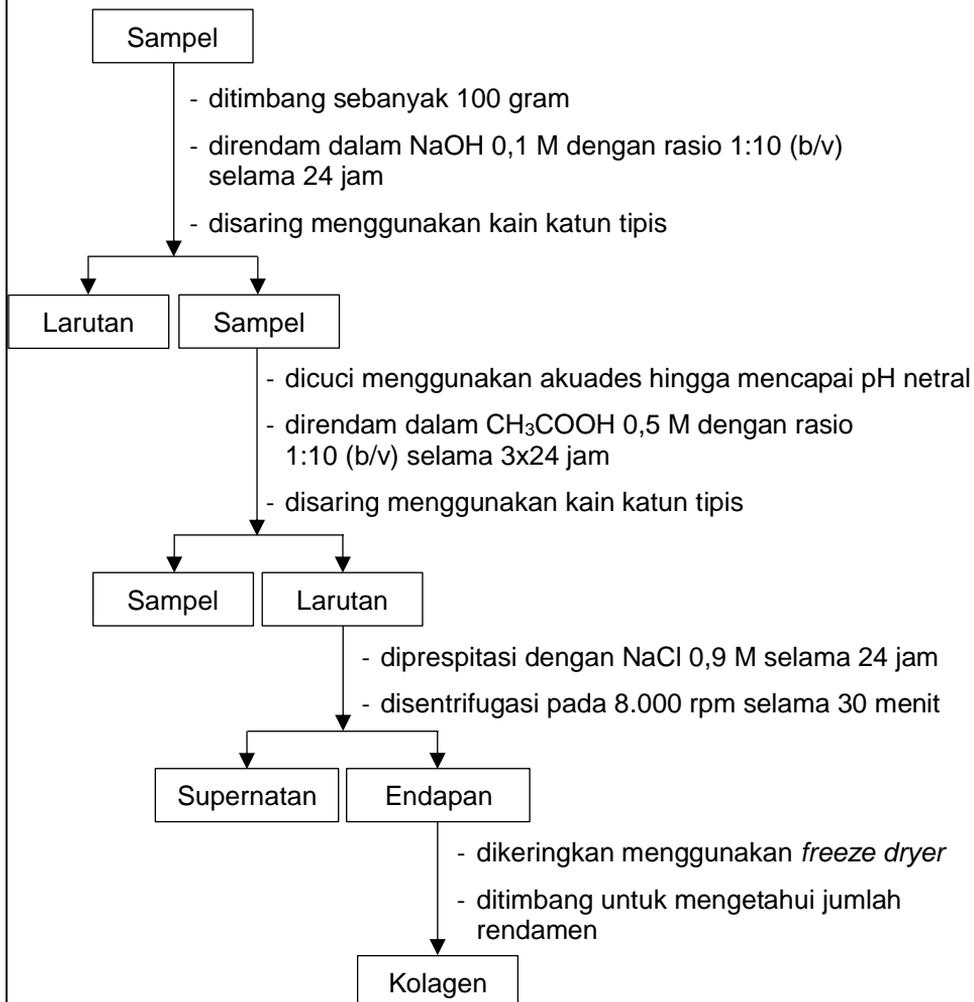
2021. Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*) for Burn Treatment: Ultrastructural Analysis and Quantitative Assessment of Collagen. *Acta Histochemica*, 1(1): 1-8.

Yang, X., Xiao, X., Liu, D., Wu, R., Wu, C., Zhang, J., Huang, J., Liao, B., and He, H., 2017. Optimization of Collagenase Production by *Pseudoalteromonas* sp. SJN2 dan Application of Collagenases in the Preparation of Antioxidative Hydrolysates. *Marine Drugs*, 15(377): 1-16.

Zebua, A.H.P., Nursyirwani, N., and Feliatra, F., 2020. Molecular Identification of Proteolytic Bacteria From Mangrove Sediment in Dumai Marine Station. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 3(2): 179-188. <https://doi.org/10.31258/ajoas.3.2.179-188>.

Zhu, Y., Wang, L., Zheng, K., Liu, P., Li, W., Lin, J., et al., 2022. Optimized Recombinant Expression and Characterization of Collagenase in *Bacillus subtilis* WB600, Fermentation. 8(9): 1-15. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090449>.

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

Lampiran 2. Prosedur Penelitian**1. Ekstraksi Kolagen Kulit Ikan Nila Sebagai Substrat****a. Preparasi Sampel****b. Ekstraksi Kolagen**

c. Karakterisasi Kolagen

2 mg Kolagen

- digerus dengan KBr sebanyak 200 mg hingga homogen
- dicetak campuran dalam pencetak disk dan divakum
- diuji gugus fungsi menggunakan FTIR

Hasil

2. Pembuatan Media

a. Media Peremajaan

Nutrient Agar

- ditimbang sebanyak 2,8 gram
- dilarutkan dengan 100 mL air laut steril dalam Erlenmeyer 250 mL
- disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit
- dituang dalam keadaan hangat ke dalam cawan petri steril
- didiamkan sampai media mengeras

Media Peremajaan

b. Media Substrat

0,1 g kolagen, 2 g *agar base*, 0,5 g *yeast*, 0,5 g pepton, 0,5 g NaCl

- ditimbang masing-masing dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL
- dilarutkan dengan air laut steril hingga volume 100 mL
- disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit
- dituang dalam keadaan hangat ke dalam cawan petri
- didiamkan sampai media mengeras

Media Substrat

Catatan : Prosedur yang sama dilakukan untuk pembuatan media substrat dengan konsentrasi 2% dan 3%

c. Media Inokulum

0,1 g *bacto pepton*, 0,5 g *yeast extract*, dan 0,1 g NaCl

- ditimbang masing-masing dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL
- dilarutkan dengan air laut steril hingga volume 100 mL
- disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit
- didiamkan hingga dingin

Media Inokulum

d. Media Produksi

0,5 g *yeast extract*, 0,1 g *bacto pepton*,
0,1 g NaCl, 0,7 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g
 KH_2PO_4 , 0,01 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,
0,05 g CaCl_2 , dan 1 mL kolagen

- ditimbang masing-masing dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL
- dilarutkan dengan air laut steril hingga volume 100 mL
- disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit
- didiamkan hingga dingin

Media Produksi

3. Peremajaan Isolat Bakteri Laut

Isolat Sed 1.a

- diambil satu jarum ose
- digoreskan pada media peremajaan
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Hasil

Catatan : Prosedur yang sama dilakukan dengan menggunakan isolat Sed 2.c

4. Uji Kolagenolitik Bakteri Laut

Isolat Bakteri Laut

- diambil satu jarum ose
- digoreskan pada media substrat
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 3x24 jam
- diamati setiap 1x24 jam zona bening yang terbentuk

Hasil

5. Persiapan Inokulum

Isolat Sed 1.a

- diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media inokulum
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan pengocokan pada kecepatan 150 rpm

Inokulum

6. Penentuan Waktu Optimum Enzim Kolagenase

Inokulum

- dimasukkan sebanyak 10% ke dalam Erlenmeyer 500 mL yang berisi 150 mL media produksi
- diinkubasi pada 37 °C selama 96 jam dengan pengocokan 150 rpm
- diambil sampel setiap 12 jam
- diukur *optical density* (OD) dengan mengukur serapan pada $\lambda = 660 \text{ nm}$
- disentrifugasi pada 3.500 rpm dengan suhu 4 °C selama 30 menit

Endapan

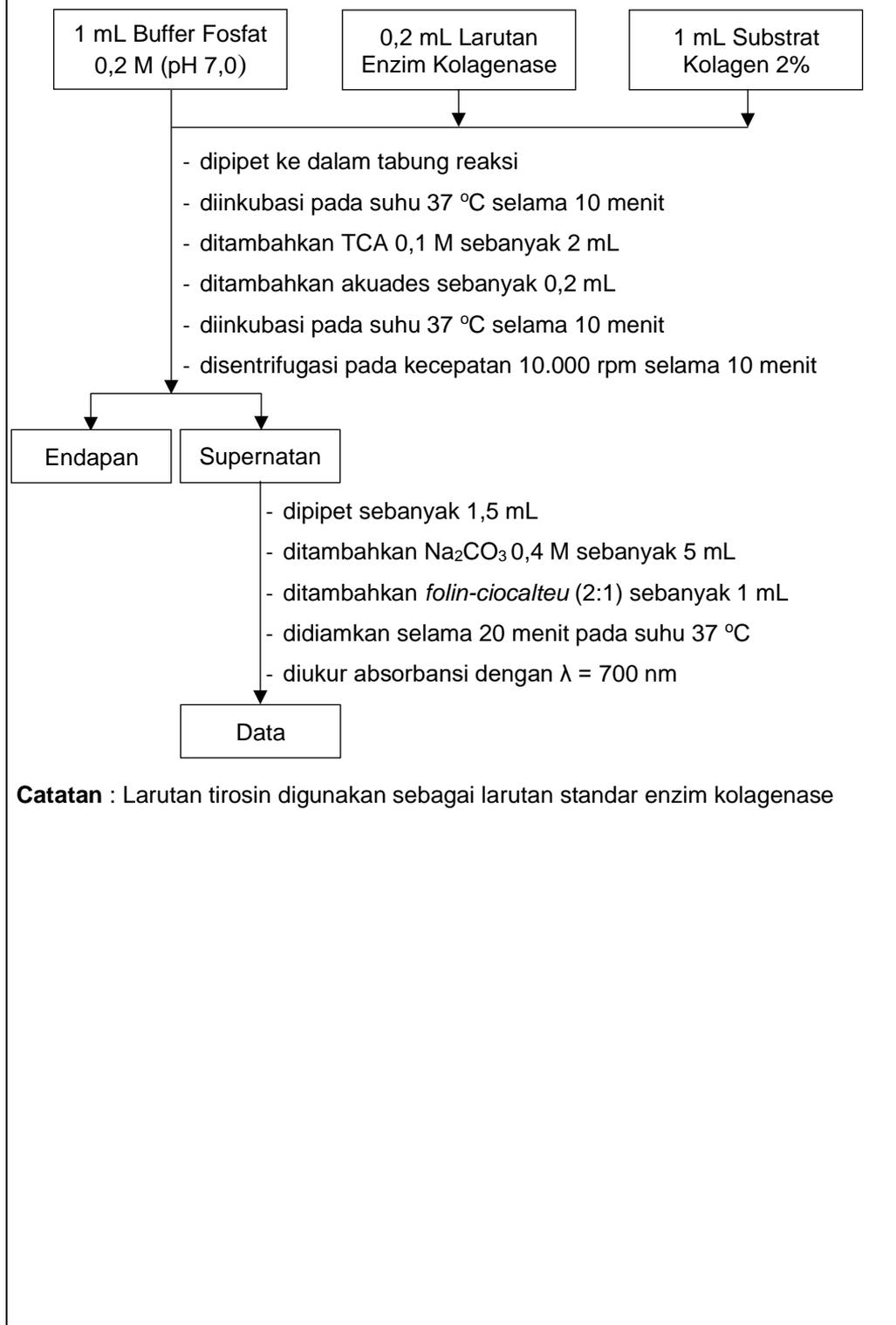
Supernatan

(Ekstrak kasar enzim)

- diuji aktivitas enzim kolagenase
- diuji kadar protein

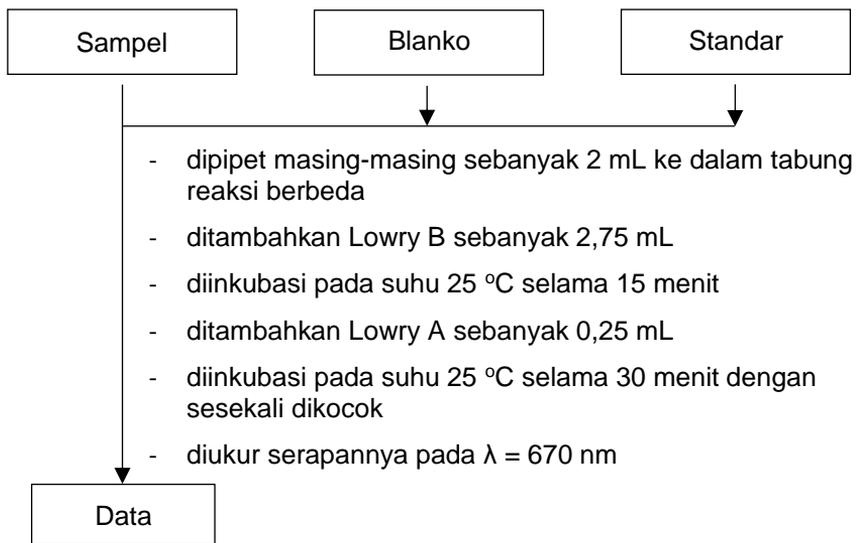
Hasil

7. Penentuan Aktivitas Enzim Kolagenase

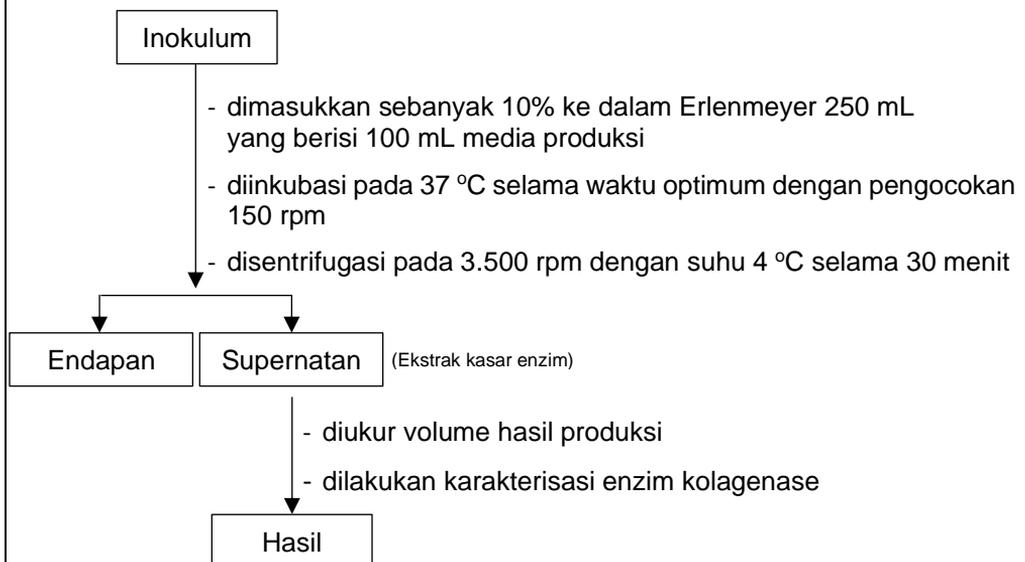


Catatan : Larutan tirosin digunakan sebagai larutan standar enzim kolagenase

8. Penentuan Kadar Protein Enzim Kolagenase

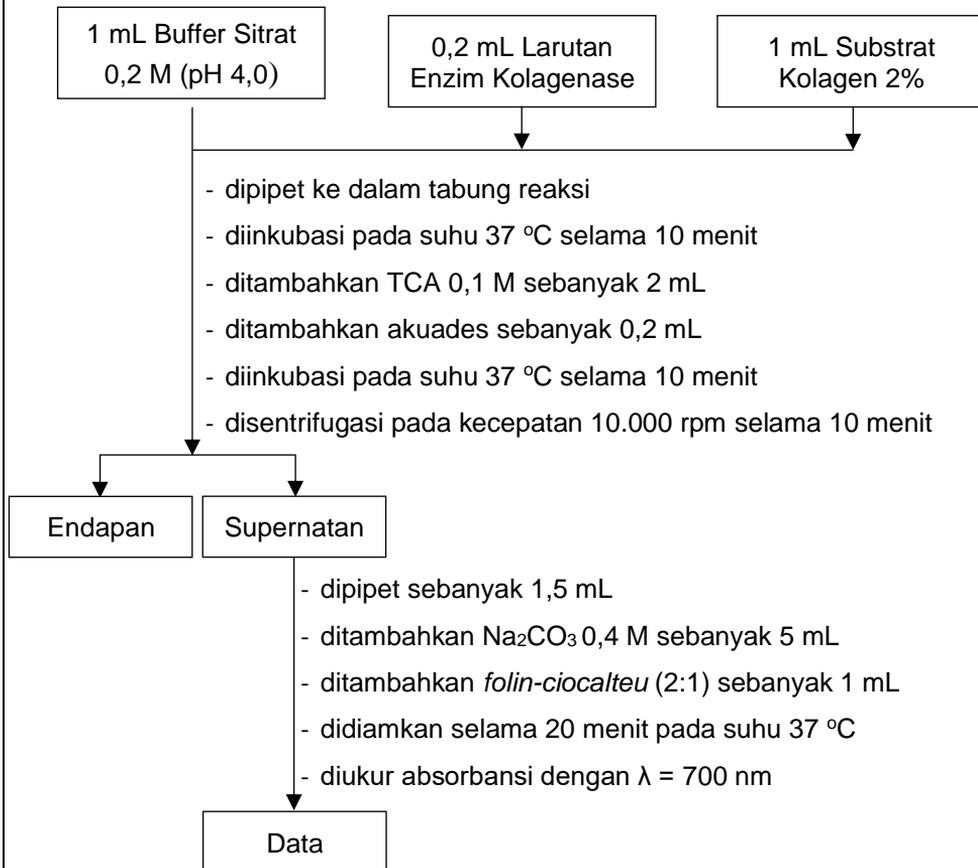


9. Produksi Enzim Kolagenase

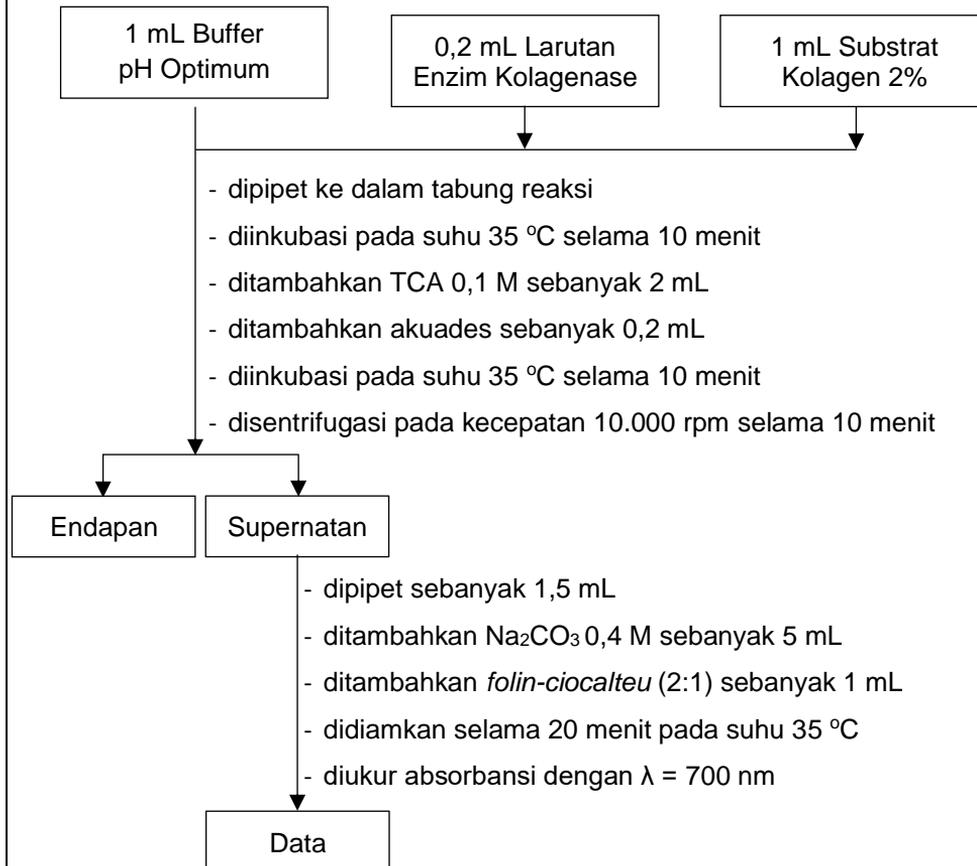


10. Karakterisasi Enzim Kolagenase

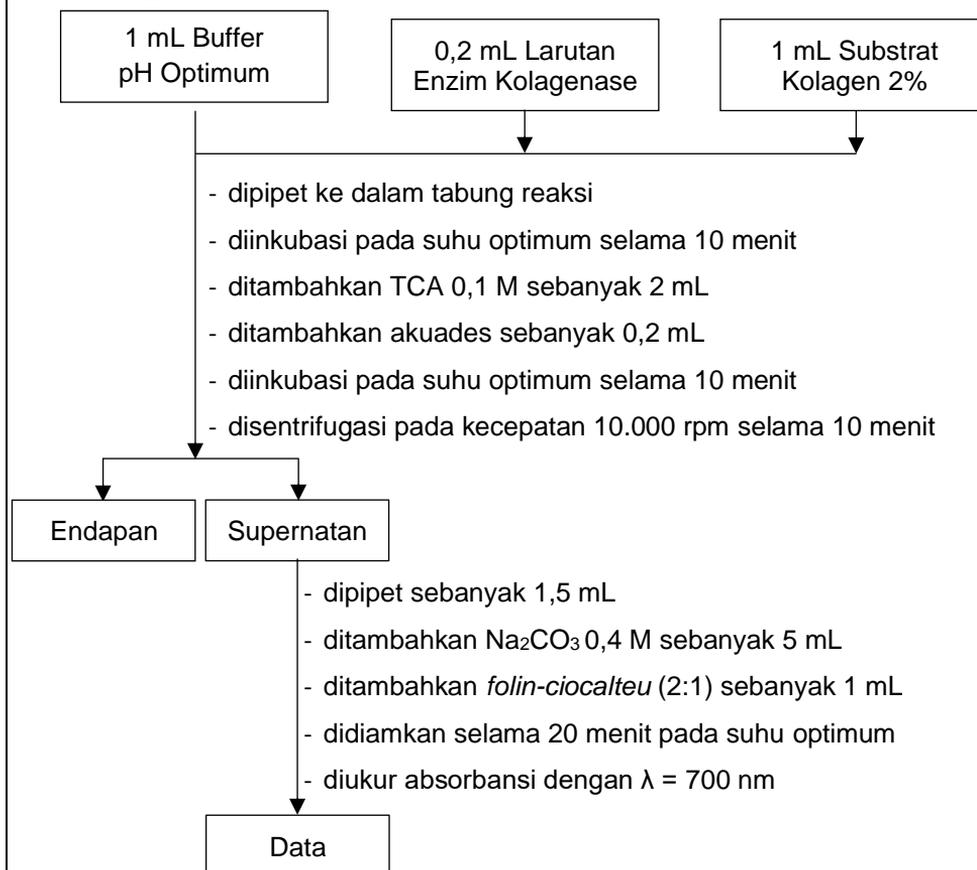
a. Pengaruh pH



Catatan : Prosedur yang sama dilakukan untuk pH berbeda menggunakan larutan buffer sitrat 0,2 M (pH 4,0; 5,0; dan 6,0) dan buffer fosfat 0,2 M (pH 7,0; dan 8,0).

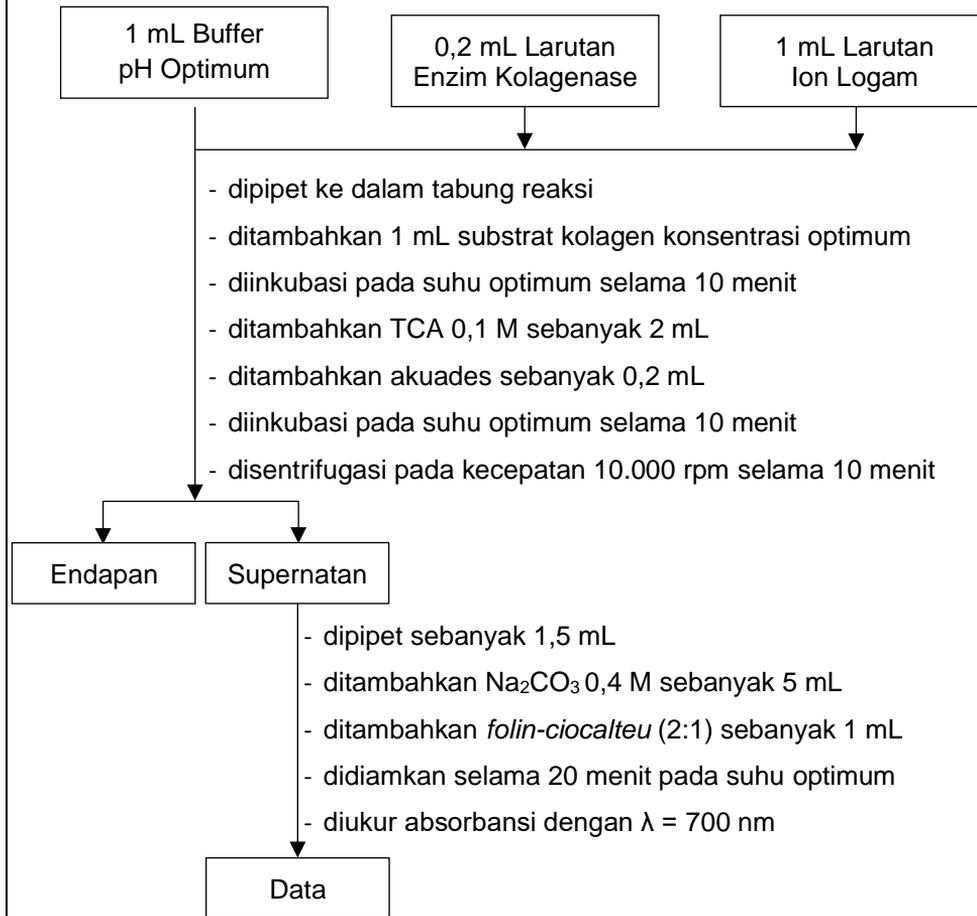
b. Pengaruh Suhu

Catatan : Prosedur yang sama dilakukan dengan memvariasikan suhu (40 °C; 45 °C; 50 °C; dan 55 °C)

c. Pengaruh Konsentrasi Substrat

Catatan : Prosedur yang sama dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi substrat (1%; 1,5%; 2%; 2,5%; dan 3%)

d. Pengaruh Ion Logam



Catatan : Prosedur yang sama dilakukan dengan memvariasikan ion logam monovalen (K^+ dan Na^+) dan divalen (Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; dan Hg^{2+}).

11. Hidrolisis Kolagen Kulit Ikan Nila

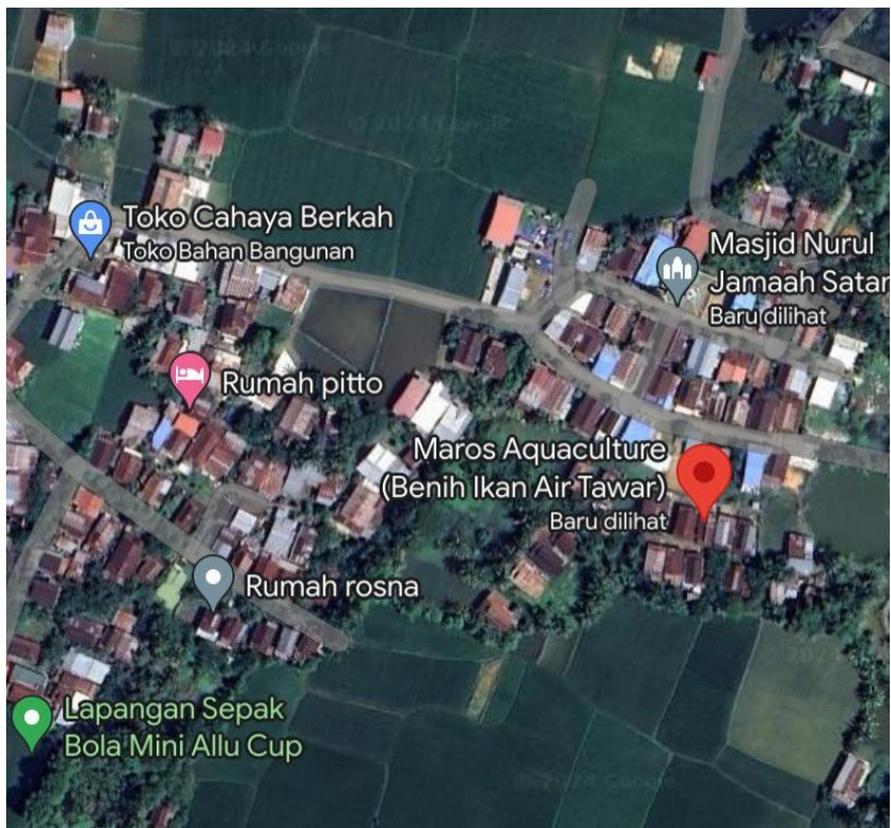
Enzim Kolagenase

- diambil sebanyak 10 μL dan 20 μL
- diteteskan di atas *paper disc* dan didiamkan selama 30 menit
- diletakkan *paper disc* di atas media substrat kolagen
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2x24 jam
- diamati zona bening yang terbentuk

Hasil

Catatan : Larutan BSA digunakan sebagai kontrol negatif enzim

Lampiran 3. Peta Lokasi Pengambilan Sampel



Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Larutan**1. Pembuatan NaOH 0,1 M sebanyak 1000 mL**

$$\begin{aligned} g &= V \times M \times Mr \\ &= 1 \text{ L} \times 0,1 \text{ M} \times 40 \text{ g/mol} \\ &= 4 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pembuatan CH₃COOH 0,5 M sebanyak 1000 mL

$$\begin{aligned} M &= \frac{\% \times bJ \times 1000}{Mr} \\ &= \frac{100\% \times 1,05 \text{ g/cm}^3 \times 1000}{60 \text{ g/mol}} \\ &= 17,5 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 17,5 \text{ M} &= 1000 \text{ mL} \times 0,5 \text{ M} \\ V_1 &= \frac{1000 \text{ mL} \times 0,5 \text{ M}}{17,5 \text{ M}} \\ V_1 &= 28,57 \text{ mL} \end{aligned}$$

3. Pembuatan NaCl 0,9 M sebanyak 1000 mL

$$\begin{aligned} g &= V \times M \times Mr \\ &= 1 \text{ L} \times 0,9 \text{ M} \times 58,5 \text{ g/mol} \\ &= 52,65 \text{ g} \end{aligned}$$

4. Pembuatan TCA 0,1 M sebanyak 200 mL

$$\begin{aligned} g &= V \times M \times Mr \\ &= 0,2 \text{ L} \times 0,1 \text{ M} \times 163,4 \text{ g/mol} \\ &= 3,268 \text{ g} \end{aligned}$$

5. Pembuatan Na₂CO₃ 0,4 M sebanyak 500 mL

$$\begin{aligned} g &= V \times M \times Mr \\ &= 0,5 \text{ L} \times 0,4 \text{ M} \times 106 \text{ g/mol} \\ &= 12,72 \text{ g} \end{aligned}$$

6. Pembuatan Lowry A dan Lowry B**a. Lowry A**

5 mL *folin-ciocalteu* : 5 mL akuades (1:1)

b. Lowry B

- Pembuatan 100 mL NaOH
- Pembuatan 100 mL Na₂CO₃ 2%

$$\% \text{ b/v} = \frac{\text{g zat terlarut}}{\text{V larutan}} \times 100\%$$

$$2\% = \frac{x}{100 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$x = 2 \text{ g}$$

• **Pembuatan 50 mL Na-K-Tatrat 1%**

$$\% \text{ b/v} = \frac{\text{g zat terlarut}}{\text{V larutan}} \times 100\%$$

$$1\% = \frac{x}{50 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$x = 0,5 \text{ g}$$

7. Pembuatan Deret Standar

a. Konsentrasi 0,01 mg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,1 \text{ mg/mL} = 2 \text{ mL} \times 0,01 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ mL} \times 0,01 \text{ mg/mL}}{0,1 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

$$\text{Volume akuades} = 2 \text{ mL} - 0,2 \text{ mL} = 1,8 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 0,02 mg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,1 \text{ mg/mL} = 2 \text{ mL} \times 0,02 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ mL} \times 0,02 \text{ mg/mL}}{0,1 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

$$\text{Volume akuades} = 2 \text{ mL} - 0,4 \text{ mL} = 1,6 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 0,04 mg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,1 \text{ mg/mL} = 2 \text{ mL} \times 0,04 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ mL} \times 0,04 \text{ mg/mL}}{0,1 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

$$\text{Volume akuades} = 2 \text{ mL} - 0,8 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 0,08 mg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,1 \text{ mg/mL} = 2 \text{ mL} \times 0,08 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned}V_1 &= \frac{2 \text{ mL} \times 0,08 \text{ mg/mL}}{0,1 \text{ mg/mL}} \\V_1 &= 1,6 \text{ mL} \\ \text{Volume akuades} &= 2 \text{ mL} - 1,6 \text{ mL} = 0,4 \text{ mL}\end{aligned}$$

e. Konsentrasi 0,1 mg/mL

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 0,1 \text{ mg/mL} &= 2 \text{ mL} \times 0,1 \text{ mg/mL} \\V_1 &= \frac{2 \text{ mL} \times 0,1 \text{ mg/mL}}{0,1 \text{ mg/mL}} \\V_1 &= 2 \text{ mL} \\ \text{Volume akuades} &= 2 \text{ mL} - 2 \text{ mL} = 0 \text{ mL}\end{aligned}$$

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

Preparasi sampel



Perendaman dengan NaOH

Perendaman dengan CH₃COOH

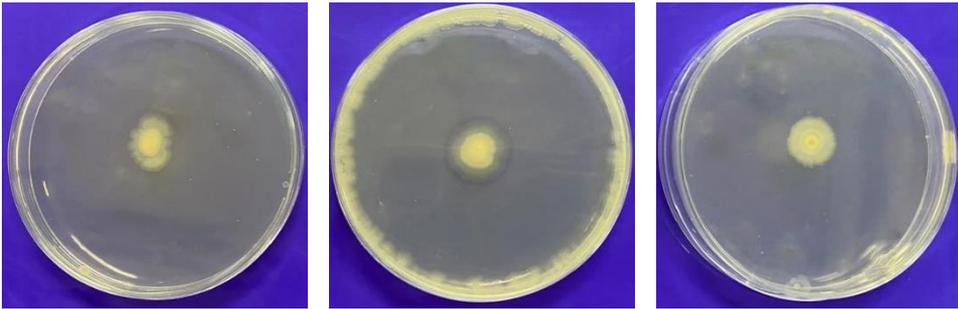
Pembuatan Media



Peremajaan bakteri laut



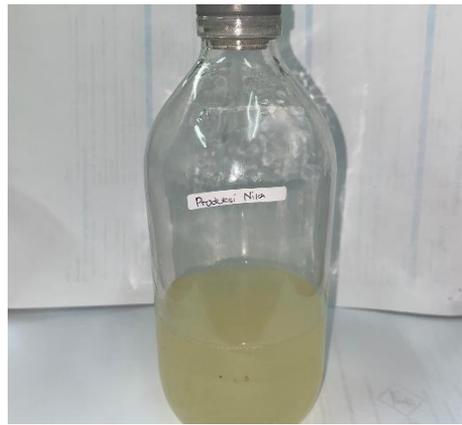
Persiapan inokulum



Hasil uji kolagenolitik bakteri laut Sed 1.a [S] 1%, 2%, dan 3%



Produksi enzim di *shaker waterbath*



Enzim kolagenase hasil produksi



Penentuan kadar protein



Karakterisasi ekstrak kasar enzim

