



Pengaruh suhu berbeda terhadap aktifitas enzim kolagenase dari usus ikan cunang (*Congresox talabon*)

Edison, Andarini Diharmi*, Mirna Ilza, Rahman Karnila, Febrina Tumangger

Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

Article history

Diterima:

28 November 2022

Diperbaiki:

14 Februari 2023

Disetujui:

20 Februari 2023

Keyword

collagenesase;

temperature;

activity;

gut

ABSTRACT

Collagenase enzyme is a type of protease enzyme. The activity of an enzyme is affected by substrate, temperature, inhibitor, and pH. One of the sources of enzymes is the internal organs of fish, namely the gut. This study aims to determine the activity of the collagenase enzyme at different temperatures. The experimental design used was randomized and full non-factorial. The treatments used were different incubation temperatures (50, 55, and 60°C) with three replications. Parameter analysis comprised fish proportion, enzyme activity, and dissolved protein. The results showed that the parts of the yellow pike conger fish were meat (64.25%), bones (19.98%), internal organs (including intestines) (4.50%), and skin (6.30%). Collagenase enzyme activity at temperatures 50, 55, and 60°C was 1.154, 1.702, and 0.667 U/ml, respectively. The dissolved proteins content was 12.89 mg/ml. The optimum temperature of the collagenase enzyme from the fish gut was 55°C with an enzyme activity of 1,702 U/ml. The dissolved protein content of the gut yellow pike conger extract was 12.89 mg/ml Purification of the collagenase enzyme from of the gut yellow pike conger was needed to obtain a higher enzyme activity value.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email: rini_abrar@yahoo.com

DOI 10.21107/agrointek.v18i1.17548

PENDAHULUAN

Dewasa ini enzim telah banyak dimanfaatkan dalam industri pangan dan non pangan. Pemanfaatan enzim dapat mempersingkat waktu dalam produksi skala besar. Enzim berperan sebagai katalisator dengan mempercepat reaksi kimia sehingga laju reaksi meningkat dari 10^0 sampai 10^{11} kali lebih cepat daripada reaksi dengan penambahan katalis.

Ikan cunang (*Congresox talabon*) merupakan salah satu ikan laut yang tersebar di Indonesia, Filipina, Thailand hingga Jepang. Ikan cunang hidupnya berpindah dari perairan payau ke perairan laut. Produksi ikan Cunang di Indonesia mencapai 26.737,54 kg (KKP 2019).

Ikan cunang termasuk jenis ikan karnivora yang terlihat dari struktur gigi pada mulutnya yang tajam. Ikan cunang mampu tumbuh hingga panjang 200 cm, namun rata-rata panjangnya 100-150 cm. Bentuk tubuh ikan cunang bulat memanjang seperti belut (Satapoomin 2011).

Ikan Cunang (*C. talabon*) banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuat *nugget*, bakso, kerupuk, tepung ikan, gelatin, kolagen dan produk olahan lainnya. Komposisi dari ikan ini terdiri atas kadar protein sebesar 12,27%, lemak 4,96%, abu 1,17%, kadar karbohidrat 1,12% (Laksono 2019). Bagian dari ikan Cunang seperti tulang, kepala, sirip, kulit, jeroan (usu, organ dalam), tidak dimanfaatkan secara maksimal, masyarakat dapat memanfaatkan limbah tersebut dengan baik.

Usus merupakan organ dalam pencernaan ikan yang tersusun dari sel-sel epitel (Khojasteh et al. 2009). Usus ikan banyak mengandung enzim proteolitik yang salah satunya adalah enzim kolagenase. Hasil penelitian Yuniarti et al. (2010) menyatakan bahwa ekstrak kasar kolagenase dari usus ikan bandeng diketahui mengandung aktivitas kolagenase yang lebih tinggi dibandingkan organ dalam yang lain. Yuniarti et al. (2009) melaporkan bahwa aktivitas enzim pada sisa organ dalam sebesar 0,196 U/mg, usus sebesar 0,864 U/mg, pilorik kaeka sebesar 0,275 U/mg, dan hati sebesar 0,255 U/mg.

Enzim kolagenase biasanya berasal dari usus salah satunya dari usus ikan cunang. Hal ini menunjukkan bahwa usus Ikan cunang dapat dijadikan sebagai bahan baku enzim kolagenase. Menurut Nurhayati et al. (2010) enzim kolagenase

banyak digunakan aplikasinya dalam industri, obat-obatan dan riset. Enzim kolagenase ini digunakan dalam dunia perikanan sebagai penyamakan kulit ikan, penghilangan membran, dan hidrolisat protein, untuk dapat berkerja dengan optimal maka enzim kolagenase memiliki aktivitas yang dapat menunjang dalam produksi produk (Nurhayati et al. 2010). Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikan ataupun kolagen pada ikan (Huss 1995).

Enzim kolagenase digunakan dalam berperan sebagai penyamakan kulit ikan, penghilangan membran, dan hidrolisat protein. Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikan atau kolagen pada ikan. Proses hidrolisis enzim kolagenase mengakibatkan metabolit, perubahan cita rasa, pelunakan tekstur, terbentuknya komponen volatil dan tersedianya asam amino sebagai sumber makanan bakteri sehingga terjadi kebusukan (Nurhayati et al. 2010). Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikan ataupun kolagen pada ikan (Huss 1995).

Enzim berkerja dan berfungsi dengan diukur dari aktivitas atau kesanggupan enzim untuk dapat melakukan hidrolisis khususnya protein. Beberapa faktor yang dapat memengaruhi aktivitas enzim selain konsentrasi dari enzim itu sendiri adalah pH, suhu, substrat, inhibitor dan aktivator (Putra et al. 2020). Hal ini disebabkan karena setiap enzim untuk dapat bekerja dan beraktivitas memiliki suhu optimum dan pH optimum (Nurkhotimah 2017). Menurut Yuniarti et al. (2010) aktivitas kolagenase dari usus ikan bandeng memiliki suhu optimum adalah sebesar 50°C. Enzim pada umumnya mempunyai temperatur optimum seperti temperatur sel (Yuniarti et al. 2010). Enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, dan aktivitasnya meningkat seiring dengan peningkatan suhu hingga mencapai suhu optimum. Setelah kenaikan suhu, lebih lanjut akan menyebabkan aktivitasnya menurun (Pelezar dan Chan 1988).

Saat ini enzim banyak digunakan pada industri pangan dan non pangan. Enzim berfungsi mempercepat waktu produksi sehingga lebih menguntungkan dalam produksi skala besar dan dapat menekan biaya. Enzim-enzim yang mampu menghidrolisis protein pada daging ikan salah satunya enzim kolagenase yang terdapat pada tubuh ikan cunang (*Congresox talabon*),

dilaporkan Yuniarti (2010) bahwasanya aktivitas enzim kolagenase banyak terdapat pada usus ikan, meningkat sebanyak 2,437 kali dari ekstrak kasarnya.

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan usus ikan cunang (*Congresox talabon*) sebagai sumber enzim kolagenase dan menentukan aktivitas enzim kolagenase yang di peroleh dari organ dalam perut ikan cunang (*Congresoc talabon*)

METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah usus ikan Cunang dari perairan Bagan Siapi Api Kabupaten Rokan Hilir, Provinsi Riau. Bahan-bahan kimia meliputi kolagen, CaCl₂, Buffer Tris-HCl (pH 7,4-8,0), TCA (*Trychloroacetic acid*), ninhydrin, 1-propanol, BSA, Larutan Barfoed, dan bahan kimia lainnya.

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV Vis, centrifuge dingin, refrigerator, inkubator, mikropipet, alat gelas, tip, timbangan analitik, homogenizer, hot plate, oven, kertas saring, dan peralatan lainnya.

Metode Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan eksperimen yaitu melakukan percobaan secara langsung dengan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial. Perlakuan yang digunakan adalah suhu berbeda (50°C, 55°C, dan 60°C) dengan 3 kali ulangan. Parameter yang di analisis terdiri atas proporsi ikan cunang, aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase, dan kadar protein terlarut.

Prosedur penelitian ini terdiri atas 3 tahap yaitu 1) Preparasi sampel, 2) Ekstraksi usus ikan cunang sebagai enzim kolagenase, 3) Analisis aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase pada suhu berbeda dari usus ikan Cunang dan protein terlarut

Preparasi sampel

Sampel organ dalam ikan cunang (*C. talabon*) di cuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran kotoran dan tiriskan untuk menghilangkan kadar air, kemudian usus dipotong kecil kecil untuk mempermudah tahap homogenisasi.

Ekstraksi Enzim Kolagenase dari Usus Ikan Cunang (*C. talabon*) (Kim et al., 2002)

Organ dalam segar yang sudah dicuci dengan air dingin siap untuk di homogenisasi. Sampel ditambahkan dengan 100 mM buffer Tris-HCl (pH 8,0) yang terdiri dari 0,25% Triton-X 100 dan 10 mM CaCl₂, dengan perbandingan bahan baku: larutan buffer 1:5. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan homogenizer. Kemudian organ dalam yang sudah homogen tadi, disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit pada suhu ($\pm 4^\circ\text{C}$). Supernatan yang dihasilkan disimpan untuk diuji aktivitas enzim kolagenasenya. Selanjutnya supernatan yang telah dihasilkan ditambahkan larutan buffer yang sama, perbandingan antara bahan baku: larutan buffer 1:3 disentrifugasi kembali dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan ditambahkan dengan 20 mM Tris-HCl (pH 8,0) yang mengandung 0,36 mM CaCl₂, didiamkan pada suhu rendah ($\pm 4^\circ\text{C}$) selama 48 jam. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar kolagenase yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Penetapan pH dan Suhu Optimum Enzim Kolagenase (Park et al. 2002).

Tahapan karakterisasi ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas optimum enzim kolagenase ini agar enzim kolagenase yang diperoleh dari usus ikan cunang (*Congresox talabon*) dapat digunakan sesuai dengan karakter dan dapat bekerja secara optimal dan efisien. Penentuan suhu optimum pada enzim ini dilakukan dengan enzim dalam berbagai variasi suhu inkubasi pada suhu berbeda (50, 55, dan 60°C) selama 1 jam.

Pengaruh suhu pada enzim kolagen, enzim dalam 50 mM buffer Tris-HCl (pH 7,5) yang mengandung 5 mM CaCl₂ diinkubasi dalam berbagai variasi suhu (50, 55 dan 60°C) selama 1 jam. Kemudian aktivitas enzim diukur mengacu kepada metode Park et al. (2002)

Aktivitas Enzim Kolagenase (Park et al. 2002 dimodifikasi).

Aktivitas kolagenolitik ini diukur dengan menggunakan metode (Moore dan Stein (1954) dalam Park et al. (2002) dengan cara mereaksikan 5ml kolagen ditambahkan 1ml 0,05 M Tris-HCl yang terkandung didalamnya 5 mM CaCl₂ dan 0,1ml larutan enzim. Substrat kolagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolagen. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Seiring berjalannya waktu

reaksi terus berjalan maka perlu dilakukan inaktivasi reaksi dari proses tersebut dengan cara menambahkan 0,2ml 50% TCA (*Trichloroacetic acid*). Didiamkan pada suhu ruangan selama 10 menit dan disentrifugasi, supernatan yang terbentuk sebanyak 0,2ml dicampurkan dengan 1ml larutan ninhydrin 0,1% dan diinkubasi pada suhu perlakuan (50°C, 55°C, dan 60°C) selama 60 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar.

Pengukuran aktivitas enzim diukur pada absorbansi menggunakan *spektrofotometer UV* dengan panjang gelombang 570nm. Larutan enzim diencerkan dengan 5ml 1-propanol 50%. Larutan *buffer* tris-HCl 50 mM (pH 7,4) yang mengandung 5 mM CaCl₂ digunakan sebagai larutan blanko pengganti enzim dan larutan tirosin sebagai larutan standar enzim kolagenase. Aktivitas enzim kolagenase diukur dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$UA = \frac{A_{sp} - A_{bl}}{A_{st} - A_{bl}} \times P \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

UA : Jumlah enzim yang menyebabkan perubahan 1 μ mol substrat per menit

A_{sp} : Nilai absorbansi sampel

A_{bl} : Nilai absorbansi blanko

A_{st} : Nilai absorbansi standar

P : faktor pengenceran

T : Waktu Inkubasi (60 menit)

Analisis Kadar Protein terlarut

Protein terlarut dianalisis sebelumnya dilakukan pembuatan larutan Bradford dan larutan bovine serum albumin (BSA). Untuk membuat larutan stok menggunakan konsentrasi 2 mg/ml, dilakukan dengan cara melarutkan 100mg protein BSA ke dalam 50ml akuades. Pengenceran dilakukan menggunakan larutan stok menjadi larutan dengan berbagai konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0,1-1 mg/ml. Untuk mengukur protein terlarut metode Bradford dilakukan dengan cara mereaksikan 0,1ml ekstrak dengan 5ml larutan Bradford didalam tabung reaksi. Larutan tersebut diinkubasi selama lima menit dan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 mm.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA). Apabila hasil uji menunjukkan F hitung lebih besar atau sama

dengan F tabel maka dilakukan uji lanjut dengan *Beda nyata Honest* pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada tiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proporsi Ikan Cunang (*Congresox talabon*).

Preparasi sampel dilakukan dengan memisahkan bagian bagian tubuh ikan Cunang menjadi beberapa bagian yaitu daging, tulang, jeroan, kulit. Perbandingan bagian-bagian tubuh ikan cunang dapat disajikan pada Tabel 1.

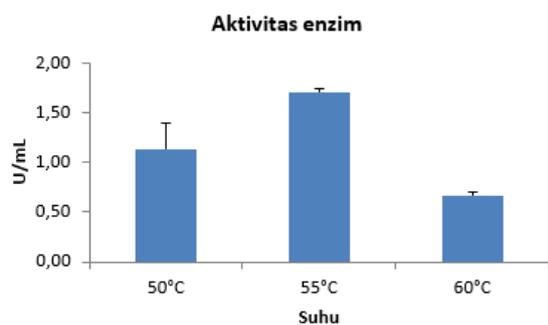
Tabel 1 Proporsi bagian tubuh ikan cunang (*Congresox talabon*)

Bagian Tubuh Ikan	Presentase (%)
Daging	69,25
Tulang	19,98
Jeroan	4,50
Kulit	6,30

Bagian daging merupakan bagian terbesar dari ikan Cunang (*Congresox talabon*) mencapai 69,25%. Daging ikan Cunang memiliki daging yang berwarna putih yang menyebabkan daging sebagai bagian terbesar yang terdapat pada ikan Cunang, pada bagian tulang mencapai 19,98% pada tulang juga terdapat bagian kepala yang terdiri dari insang, mulut dan mata, kemudian limbah jeroan mencapai 4,50% meliputi semua organ dalam mulai dari sisa-sisa makanan yang dimakan oleh ikan, usus, jantung, gelembung renang, pankreas, hati, dan organ dalam lainnya. Selain jeroan hasil samping dari ikan cunang juga terdapat bagian kulit mencapai 6,30% dari bagian tubuh ikan. Preparasi bahan baku bertujuan untuk mendapatkan organ dalam ikan Cunang sebagai bahan baku pembuat enzim kolagenase, preparasi meliputi penyiangan dan pembagian proporsi bagian tubuh ikan Cunang menjadi bagian daging, tulang, jeroan dan kulit.

Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase

Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase dari usus ikan cunang dianalisis pada suhu inkubasi yang berbeda. Aktivitas enzim kolagenase setiap suhu menunjukkan hasil yang berbeda. Aktivitas enzim kolagenase ikan cunang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Aktivitas enzim kolagenase dari ekstrak kasar usus ikan xunang (*Congresox talabon*)

Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas enzim kolagenase dari usus ikan malong memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 55°C sebesar 1,703 U/ml dan terendah pada suhu 60°C sebesar 0,667 U/ml. Perlakuan suhu terhadap aktivitas enzim kolagenase berpengaruh sangat nyata (ANAVA). Analisis uji lanjut menunjukkan bahwa suhu 50°C berbeda nyata terhadap perlakuan suhu 55°C dan suhu 60°C. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu. Suhu yang berbeda menunjukkan aktivitas yang berbeda.

Perbedaan aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu. Enzim bekerja pada suhu 50°C. Suhu optimal enzim kolagenase pada penelitian ini adalah 55°C. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada suhu 55°C memiliki nilai aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim kolagenase dari usus ikan cunang. Enzim kolagenase dari usus ikan Cunang, memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 55°C dalam menghidrolisis substrat kolagen. Menurut Poedjiadi dan Supriyanti (1992) suhu optimal adalah suhu yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim. Suhu berpengaruh terhadap reaksi enzimatik. Peningkatan suhu secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (Saropah et al. 2012).

Aktivitas enzim kolagenase pada suhu 50°C-55°C nilai aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase mengalami peningkatan aktivitas enzim dalam menghidrolisis substratnya. Aktivitas enzim kolagenase mengalami penurunan pada suhu 60°C. Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, aktivitas enzim semakin meningkat dengan bertambahnya

suhu sampai tercapai suhu optimum tercapai. Kenaikan suhu diatas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim menurun (Baehaki et al. 2008). Peningkatan suhu mengakibatkan enzim mengalami denaturasi dan substrat mengalami perubahan konformasi sehingga sisi aktif substrat tidak dapat lagi atau mengalami hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim dan menyebabkan turunnya aktivitas enzim (Kosim dan Surya, 2010).

Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase dari usus ikan cunang yang diperoleh pada penelitian ini menghasilkan nilai aktivitas tertinggi sebesar 1,703 U/ml pada suhu 55°C. Berbeda aktivitas ekstrak kasar kolagenase yang diperoleh dari usus ikan bandeng memiliki suhu optimum 50°C dengan nilai aktivitas enzim kolagenase yang dihasilkan sebesar 0,178 U/ml. (Yuniarti 2010). Aktivitas enzim kolagenase ini lebih tinggi aktivitasnya dari enzim kolagenase usus ikan bandeng. Perbedaan nilai aktivitas ekstrak kasar enzim yang diperoleh diduga karena perbedaan jenis ikan.

Konsentrasi Protein Terlarut

Kadar protein dianalisis menggunakan metode Bradford. Metode Bradford digunakan untuk menentukan konsentrasi protein dalam larutan. Metode ini dipilih untuk mengkonfirmasi terjadinya hidrolisis protein menjadi asam amino, karena pada metode ini asam amino dan peptida tidak mampu membentuk kompleks dengan CBB (*Coomassie Brilliant Blue*) sehingga tidak menghasilkan warna biru. *Bovine Serum Albumine* (BSA) digunakan sebagai standar untuk pengukuran kadar protein terlarut karena tingkat kemurniannya tinggi dengan harga relatif murah (Hermiantuti, 2013).

Standar BSA yang digunakan pada konsentrasi 0,1-0,5 mg/ml, dan diperoleh persamaan garis $y = 0,015x + 0,0589$. Persamaan yang diperoleh dari kurva standar BSA, dapat digunakan untuk menghitung kadar protein dalam larutan sampel. Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi protein terlarut yang terdapat pada ekstrak kasar enzim kolagenase dari usus ikan cunang memiliki nilai sebesar 12,89 mg/ml.

Prinsip pengukuran kadar protein menggunakan metode Bradford adalah peningkatan pewarna *Commassie Brilliant Blue G-250* yang terdapat pada preaksi Bradford dengan protein yang mengandung residu asam amino dengan rantai samping tirosin, triptofan,

fenilalanin, arginin, histidin, dan leusin membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur absorbansinya. Kompleks warna biru pada larutan yang diberi reagen Bradford sangat cepat terbentuk dan bersifat stabil (Bradford 1976).

KESIMPULAN

Organ dalam ikan cunang terutama usus merupakan bahan baku enzim kolagenase. Aktivitas enzim kolagenase dari usus ikan cunang pada suhu 55°C sebesar 1,702 U/ml. Suhu optimum 55°C untuk aktivitas enzim kolagenase berbahan baku usus ikan cunang. Kadar protein terlarut sebesar 12,89 mg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Riau melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat yang telah mendanai penelitian ini pada skim bidang Ilmu tahun anggaran 2022. Ucapan terima kasih juga kepada Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau telah memfasilitasi sebagian dari penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alipour, H., Raz, A., Zakeri, S., Sjakik, N.D. 2016. Therapeutic applications of Collagenase (Mtalloprotease). *A Review. Asian Pac. Trop Biomed.* 6 (11): 975-981
- Aisjah, G. 1993. Biokimia 1. Jakarta: Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama
- Baehaki, A., Suhartono, T., Palupi, N.S., Nurhayati, T. 2008. Purifikasi dan karakterisasi protease dari bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. XIX No. 1: 80-87.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for qualification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry.* 72: 234-254
- Food and Agricultural Organization. 2019. *Congresox talabon* (1829) Yellow pike conger. <http://www.fao.org/fishery/species>
- Fitra, F. 2017. Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Xilanase dari Bakteri Laut *Bacillus safencis* strain LBF P20 Asal Pulau Pari Jakarta: *Agritech.* 37(01). 30-37
- Hermiastuti, M. 2013. Analisis kadar protein dan identifikasi asam amino pada ikan patin (*Pangasius djambal*). [Skripsi]. Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
- Huss, H.H. 1995. Fisheries Technical Paper: Quality and quality changes in fresh fish. Roma: FAO.
- Kementreian Kelautan dan Perikanan. 2019. Ekspor perdana Tanjung Balai Optimis Optimalkan Ekspor Hasil Perikanan. <http://www.kkp.go.id>.
- Kim, S.K., Park, P.J., Kim, J.B., Shahidi, F. 2002. Purification and characterization of the collagenase from the tissue of filefish, *Novoden modestrus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology.* 35 (2): 165-171
- Khojasteh, S.M.N., Seikhzadeh, F., Mohammadnejad, D., Azami, A. 2009. Histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Appl Sci J.*, 6 (11): 1525-1531.
- Kosim, Surya. 2010. Pengaruh Suhu Pada Protease dari *Bacillus subtilis*, Fakultas MIPA ITS, Surabaya.
- Laksono, U.T., Nurhayati, T., Suptijah, P., Nur'aenah, N., Nugroho, T.S. 2019. Karakteristik Ikan Malong (*Muraenesox cinerus*) Sebagai Bahan Baku Pengembangan Produk Diversifikasi: *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 22(01). 60-70.
- Lehninger, A.L. 1982. Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1. Erlangga, Jakarta
- Nurhayati, T. 2010. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada kulit ikan bandeng (*Chanos chanos, Forskal*) selama periode kemunduran mutu: AKUATIK-*Jurnal Sumberdaya Perairan.* 4(2). 13-17
- Nurkhotimah, Yulianti E., Rakhmawati, A. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi.* 06 (8): 1-7
- Pasaribu, E., Nurhayati, T., Nurilmala, M. 2018. Ekstraksi dan karakterisasi enzim pepsin dari lambung ikan tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 21(3): 486-496
- Park, P.J., Lee, S.H., Byun, H.G., Kim, S.H., Kim, S.K. 2002. Purification and characterization of a collagenase from the

- Mackerel, *Scomber japonicus*: *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 35(6): 576-582.
- Pelczar, M.J., Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Poedjiadi, A. 2006. *Dasar-Dasar Biokimia Edisi Revisi*. Jakarta: UI Press. Poedjiadi, A dan Supriyanti, F.M. 1992. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Saropah, D. 2012. *Penentuan Kondisi Optimal Ekstrak Kasar Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul*. Malang: UIN Malang.
- Supriyatna, A., Amali, D., Jauhari, A.A., Holydaziah, D. 2015. *Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva: Jurnal Istek*. 09(02). 18-32.
- Wikky, A.P., Karnila, R., Diharmi, A. 2021. *Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase Dari Organ Dalam Ikan Malong (Congresox Talabon) Pada Ph Berbeda. Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1): 59-65.
- Yuniarti, T. 2010. *Semipurifikasi dan karakterisasi kolagenase dari organ dalam ikan bandeng (Chanos chanos, Forskal): Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. 4 (02). 106-115.