



## OPTIMASI PENAMBAHAN KARAGENAN DAN MINYAK ASIRI BAWANG PUTIH PADA *EDIBLE COATING* DENGAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY*

Rahmi Nurdiani\*, Muhamad Firdaus, Retno Tri Astuti, Putri Yasmin, Adnan Fauzi, Omega Tantia Ningsih, Dwi Anggraini Puspitasari, Meita Putri Delima

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Jalan Veteran, Ketawanggede, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia 65145

Dikirim: 17 November 2023/Disetujui: 9 Agustus 2024

Korespondensi: [rahmi\\_nurdiani@ub.ac.id](mailto:rahmi_nurdiani@ub.ac.id)

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Nurdiani, R., Firdaus, M., Astuti, R. T., Yasmin, P., Fauzi, A., Ningsih, O. T., Puspitasari, D. A., & Delima, M. P. (2024). Optimasi penambahan karagenan dan minyak asiri bawang putih pada *edible coating* dengan *response surface methodology*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(9), 765-781. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i9.51539>

### Abstrak

*Edible coating* berbasis protein seperti gelatin dapat menghambat terjadinya penurunan kualitas dan memperpanjang masa simpan produk, serta berfungsi sebagai pembawa aditif bioaktif. Penambahan kappa karagenan meningkatkan kekuatan dan stabilitas *edible coating*, sementara minyak asiri bawang putih meningkatkan sifat antioksidan dan antimikrob pada *edible coating* melalui kandungan alisin dan senyawa fenoliknya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan optimasi penambahan karagenan dan minyak asiri bawang putih untuk produksi *edible coating* dengan aktivitas antioksidan dan antimikrob terbaik. Metode penelitian yang digunakan, yaitu metode eksperimen menggunakan perangkat lunak Design Expert versi 13 dengan 2 faktor, yaitu penambahan kappa karagenan (0,7-1,3 g) dan minyak asiri bawang putih (0,9-1,5 mL). Hasil penelitian menunjukkan respons antioksidan dan antimikrob terbaik diperoleh pada formula penambahan kappa karagenan 1,2 g dan penambahan minyak asiri 1,4 mL. Formula tersebut memberikan nilai respons aktivitas antimikrob pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 3,71 mm dan 4,75 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan untuk respons antioksidannya sebesar 57,5%. Kandungan asam amino gelatin ikan patin tertinggi, yaitu glisina 261.366,93 mg/kg, L-prolina 122.232,03 mg/kg dan L-arginina 92.390,47 mg/kg. Penambahan karagenan dan minyak asiri bawang putih dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan antimikrob *edible coating* sehingga berpotensi menjadi alternatif kemasan aktif yang ramah lingkungan.

Kata kunci: antioksidan, antimikrob, asam amino, gelatin, ikan patin

## Optimization of Kappa Carrageenan and Garlic Essential Oil Addition in Edible Coating Using Response Surface Methodology

### Abstract

Protein-based edible coatings, such as gelatin, can help preserve product quality and extend shelf life while also serving as carriers for bioactive additives. The addition of kappa carrageenan enhanced the strength and stability of the coating, whereas garlic essential oil improved its antioxidant and antimicrobial properties through the presence of allicin and phenolic compounds. This study aimed to optimize the addition of carrageenan and garlic essential oils to produce edible coatings with optimal antioxidant and antimicrobial activities. The experimental method used Design Expert software version 13 with two factors: kappa carrageenan (0.7–1.3 g) and garlic essential oil (0.9–1.5 mL). Results showed that the best antioxidant and antimicrobial responses were obtained with 1.2 g of carrageenan and 1.4 mL of garlic essential oil, resulting in an antimicrobial response of 3.71 mm against *Escherichia coli* and 4.75 mm against *Staphylococcus aureus*, with an antioxidant activity of 57.5%. The highest amino acid content in catfish gelatin was glycine at 261,366.93 mg/kg, L-proline at 122,232.03 mg/kg, and L-arginine at 92,390.47 mg/kg.

The addition of carrageenan and garlic essential oil enhances the antioxidant and antimicrobial activities of edible coatings, making them promising eco-friendly alternatives for active packaging.

Keywords: amino acid, antioxidant, antimicrobe, gelatin, fish

## PENDAHULUAN

*Edible coating* merupakan salah satu metode pengemasan berupa suatu lapisan yang telah terbukti efektif dalam menghambat proses oksidasi, sehingga dapat mencegah penurunan kualitas dan memperpanjang umur simpan produk (Sahraee *et al.*, 2019). *Edible coating* juga berfungsi sebagai pelapis pada produk, memberikan perlindungan dari kerusakan mekanis dan aman untuk dikonsumsi (Sahraee *et al.*, 2019). Komposisi umum dari bahan penyusun *edible coating* melibatkan tiga komponen utama, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan kombinasinya (Laga *et al.*, 2021).

Bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan *edible coating* berbasis protein salah satunya adalah gelatin. Pemilihan gelatin untuk *edible coating* dikarenakan memiliki sifat yang diinginkan, terutama kemampuan gelatin dalam membentuk gel yang berkualitas dan memiliki daya hambat tinggi (Swarupa *et al.*, 2024). Gelatin dapat diperoleh dari sumber bahan baku seperti kulit, tulang, dan sirip ikan (Nurilmala *et al.*, 2022). Gelatin yang berasal dari kulit ikan memiliki potensi untuk dikembangkan. Kulit ikan, yang merupakan hasil samping dari industri perikanan, kaya akan protein, khususnya protein kolagen yang merupakan komponen kunci dalam pembuatan gelatin (Karayannakidis *et al.*, 2016).

Hasil samping perikanan yang dapat digunakan sebagai bahan baku gelatin salah satunya yaitu kulit ikan patin. Permintaan pasar terhadap ikan patin terfokus pada bagian dagingnya, khususnya filet. Produksi filet ikan patin yang tinggi di Indonesia menyebabkan peningkatan jumlah sisa olahan ikan (Nurilmala *et al.*, 2018). Industri filet ikan patin umumnya menghasilkan rendemen sebesar 33%, sedangkan 67% sisanya merupakan limbah. Pengolahan filet ikan patin menghasilkan limbah berupa kepala, tulang, kulit, jeroan, dan telur dengan kisaran 59,72-72%. Oleh karena itu, ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin dianggap sebagai

alternatif untuk meningkatkan nilai ekonomis dari hasil sampingan tersebut (Munawaroh *et al.*, 2023).

*Edible coating* berbasis protein memiliki kelemahan seperti sifat penghalang air yang lemah karena bersifat hidrofilik dan rentan terhadap kelembapan (Supriwanti *et al.*, 2023). Keterbatasan ini diatasi dengan menambahkan karagenan untuk meningkatkan kualitas *edible coating*. Karagenan adalah bahan yang berasal dari jenis rumput laut merah (Tarman *et al.*, 2024). Karagenan merupakan polisakarida berbasis rumput laut, dapat meningkatkan sifat penghalang air dari lapisan-lapisan tersebut. Penambahan karagenan dapat meningkatkan sifat film biokomposit, meningkatkan kekuatan tarik, kekuatan *loop*, dan stabilitas termal (Ramli *et al.*, 2022). Penambahan karagenan dalam *edible film* dapat mengurangi laju transmisi uap air, meningkatkan kekuatan tarik dan kelarutan (Setyaji *et al.*, 2019). Masum *et al.* (2023) menyatakan bahwa karagenan memiliki potensi sebagai bahan tambahan pengemas dalam *edible coating* karena dapat membentuk gel, stabil, dan dapat dikonsumsi. Secara alami, terdapat tiga fraksi karagenan, yaitu kappa karagenan, iota karagenan, dan lambda karagenan (James *et al.*, 2023). Kappa karagenan dianggap sebagai fraksi karagenan yang cocok digunakan dalam *edible coating* karena memiliki hanya satu muatan negatif per disakarida, dengan kecenderungan membentuk gel yang kuat dan kaku. Penelitian sebelumnya telah menghasilkan *edible coating* dari gelatin kulit ikan patin yang diperkaya nanopartikel perak sebagai kemasan aktif (Nurdiani *et al.*, 2023). Bahan lain perlu ditambahkan untuk meningkatkan karakteristik biologi yaitu antioksidan dan antimikrob pada *edible coating*.

Kemampuan *edible coating* dalam melindungi produk dapat ditingkatkan dengan menambahkan suatu zat yang berperan sebagai antibakteri dan antioksidan. Sumber daya alam yang melimpah dan belum sepenuhnya dimanfaatkan adalah



minyak asiri bawang putih. Menurut Tamba *et al.*, (2022), minyak asiri adalah minyak volatil yang dihasilkan melalui metabolisme sekunder tumbuhan, mengandung senyawa fenolik dalam konsentrasi tinggi, kira-kira 40-70%. Minyak asiri bawang putih mengandung *allicin* dan senyawa *thiosulfate* yang memiliki sifat antibakteri yang melibatkan berbagai jenis mikroorganisme (Mouffok *et al.*, 2023). Selain itu, minyak asiri bawang putih mengandung senyawa seperti *diallyl disulfide*, *diallyl sulfide*, dan senyawa lain yang mengandung sulfur, yang berperan pada aktivitas antioksidan (Yasin *et al.*, 2022). Gabungan senyawa antibakteri dengan *coating* pada pengemas dapat mengurangi pertumbuhan mikroba, sehingga meningkatkan masa simpan produk (Yandriani & Jannah, 2022). *Edible coating* dengan penambahan minyak asiri bawang putih mempunyai aktivitas antimikrob terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Yanti *et al.*, 2023). Kandungan *organosulfur* berupa *allicin* dan senyawa fenolik pada minyak asiri bawang putih dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Antonino *et al.*, 2023). Akan tetapi, penelitian terkait *edible coating* berbasis gelatin dengan kombinasi karagenan dan minyak asiri bawang putih belum banyak dilakukan. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan optimasi penambahan karagenan dan minyak asiri bawang putih untuk produksi *edible coating* dengan aktivitas antioksidan dan antimikrob terbaik.

## BAHAN DAN METODE

### Pembuatan Gelatin

Kulit ikan patin diperoleh dari unit proses ikan RUM Seafood, Sidoarjo, Jawa Timur. Pembuatan gelatin mengacu pada Nurdiani *et al.* (2023). Proses pembuatan gelatin dimulai dengan merendam sampel yang sebelumnya telah dipreparasi dalam larutan NaOH dengan konsentrasi 0,1 M 1:5 (w/v). Proses perendaman dilakukan pada suhu kamar selama 2 jam, dengan penggantian larutan NaOH setiap 1 jam. Setelah itu, sampel yang telah direndam dalam larutan NaOH dicuci dengan air mengalir hingga mencapai pH 7. Sampel direndam dalam larutan asam asetat dengan konsentrasi 0,6

M 1:5 (w/v) selama 2 jam pada suhu kamar. Sampel kembali dicuci dengan air mengalir hingga mencapai pH 7. Selanjutnya, sampel diekstrak menggunakan aquades 1:3 (w/v) dalam *waterbath* pada suhu 55-60°C selama 4 jam. Sampel disaring hingga mendapatkan filtrat, kemudian dituang ke dalam loyang plastik dan dikeringkan menggunakan *dehydrator* selama 8-12 jam pada suhu 55-60°C. Gelatin yang telah berbentuk lembaran dihaluskan dengan menggunakan *grinder* hingga menjadi serbuk gelatin. Gelatin yang diperoleh kemudian disimpan dalam tabung *Falcon*, dimasukkan ke dalam plastik, dikemas vakum, dan disimpan dalam desikator.

### Pembuatan *Edible Coating*

Pembuatan *edible coating* mengacu pada Nurdiani *et al.* (2023) dengan modifikasi. Proses pembuatan *edible coating* dimulai dengan melarutkan 3 g gelatin dalam 50 mL akuades. Larutan gelatin dipanaskan di atas *hotplate* dan *magnetic stirrer* pada suhu 50°C selama 15 menit. Selanjutnya, 1,5 g kappa karagenan komersial yang telah disiapkan juga dilarutkan dalam 50 mL akuades. Larutan kappa karagenan kemudian dipanaskan di atas *hotplate* dan *magnetic stirrer* hingga mencapai suhu 100°C. Setelah itu, larutan *edible coating* dan larutan kappa karagenan dicampur dan dihomogenkan di atas *hotplate* dan *magnetic stirrer*, dengan proses pengadukan selama 15 menit. Gliserol sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan ke dalam larutan *edible coating* dan larutan kappa karagenan, diikuti oleh pengadukan selama 15 menit. Selanjutnya, minyak asiri bawang putih ditambahkan ke dalam larutan *edible coating*.

### Pengujian Gelatin dan Karagenan Viskositas gelatin

Pengujian viskositas dilakukan berdasarkan pada metode Hido *et al.* (2021). Bubuk gelatin ditimbang sebanyak 6,67 g kemudian dilarutkan dengan 100 mL aquades dengan suhu 60 °C. Larutan gelatin tersebut dibiarkan sampai suhu mencapai 30°C. Viskositas larutan gelatin pada penelitian ini diukur dengan menggunakan viskometer (Lamy Rheology, Champagne, Prancis).

**pH gelatin**

Pengujian pH dilakukan berdasarkan pada metode Nurilmala *et al.* (2022). Bubuk gelatin ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 mL. Larutan gelatin dibiarkan hingga mencapai suhu 28°C dan dilakukan pengukuran pH larutan dengan menggunakan pH meter (Metler Toledo, Ohio, AS).

**Viskositas kappa karagenan**

Pengujian viskositas dilakukan berdasarkan pada metode Malik *et al.* (2023). Bubuk kappa karagenan ditimbang sebanyak 2,5 g dan dilarutkan dengan 250 mL akuades dengan suhu 75°C. Kemudian dilakukan pengukuran viskositas dengan menggunakan alat *viscometer* (Lamy Rheology, Champagne, Prancis).

**Desain Eksperimen**

*Response Surface Methodology* (RSM) digunakan untuk memprediksi kondisi optimum *edible coating*. Variabel independen atau faktor yaitu kappa karagenan (X1) dan minyak asiri bawang putih (X2). Sedangkan dependen variabel (respons) yakni antimikrob *S. aureus* (mm), antimikrob *E. coli* (mm) dan antioksidan (%inhibisi). Rentang dan nilai titik tengah dari dua variabel independen diperoleh berdasarkan penelitian pendahuluan. Percobaan dilakukan secara acak menggunakan *Central Composite Design* (CCD) yang terdiri dari tiga level pada setiap variabel dengan kode -1, 0, +1 (Table 1). Eksperimen dilakukan secara acak untuk meminimalkan efek variabilitas yang tidak terduga dalam respons yang diamati. *Design-expert version 11* (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) *software* digunakan untuk mengestimasi respons dari variabel

Table 1 Range and value of independent variable

Tabel 1 Rentang dan nilai variabel independen

Independent variable	Code	-α	Minimum (-1)	Center (0)	Maximum (+1)	+α
Kappa carrageenan	X1	0.7	0.8	1.0	1.2	1.3
Garlic essential oil	X2	0.9	1.0	1.2	1.4	1.5

Table 2 Treatment design of kappa carrageenan and garlic essential oil addition

Tabel 2 Rancangan perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih

Run	Independent (factor)	
	Kappa carrageenan (g)	Garlic essential oil (mL)
1	0.8	1.0
2	1.2	1.4
3	1.0	1.5
4	1.0	0.9
5	1.0	1.2
6	1.2	1.0
7	1.3	1.2
8	1.0	1.2
9	1.0	1.2
10	0.8	1.4
11	0.7	1.2
12	1.0	1.2
13	1.0	1.2



bebas dan independen serta untuk memplot grafik *response surface graphs*. Hubungan antara variabel respons dan independen pada setiap variabel yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan dalam bentuk plot permukaan tiga dimensi. Rancangan perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih pada *edible coating* dari gelatin kulit ikan patin dapat dilihat pada *Table 2*.

### Pengujian Antioksidan

Pengujian antioksidan berdasarkan pada Prihanto *et al.* (2019) dengan modifikasi. Sampel *edible* cair diambil sebanyak 0,2 mL dan dimasukkan ke dalam botol vial. Selanjutnya, ditambahkan larutan DPPH (konsentrasi 0,075 mM) sebanyak 3,8 mL dan dihomogenkan. Sampel inkubasi selama 30 menit. Kemudian, sampel diuji absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

### Pengujian Antimikrob

Pengujian antimikrob berdasarkan pada metode Khairani *et al.* (2017). Pengujian antimikrob dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion*. Pertama-tama, persiapkan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Setelah itu, tanamkan suspensi *E. coli* dan *S. aureus* secara merata pada media MHA dengan metode swab menggunakan *cotton swab* steril. Siapkan kertas cakram yang sebelumnya direndam dalam larutan *edible* dengan berbagai konsentrasi selama 15 menit. Ambil kertas cakram tersebut menggunakan pinset dan letakkan di atas media MHA. Selanjutnya, cawan petri dibungkus menggunakan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, lakukan pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk.

### Pengujian Asam Amino

Pengujian asam amino gelatin dilakukan berdasarkan pada metode Prihanto *et al.* (2019). Asam amino dianalisis menggunakan Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC). Sampel gelatin

sebanyak 0,50 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan 2,0 mL larutan standar alpha amino butyric acid 10 mM. Larutan diencerkan hingga tanda batas dengan menambahkan 0,1 N HCl, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan filter membran 0,22 mm. Larutan 10 µL tersebut ditambahkan ke dalam 70 mL AccQ-Fluor Borate. Reagen *fluor A* sebanyak 20 mL ditambahkan, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 1 menit. Sampel sebanyak 1 µL disuntikkan ke dalam sistem UPLC (ACCQ-Tag Ultra C18, laju cairan sistem 0,7 mL per menit, suhu kolom dipertahankan pada 55°C, dan detektor susunan fotodiode pada panjang gelombang 260 nm.

### Analisis Data

Data eksperimental dari perlakuan yang berbeda dianalisis menggunakan analisis regresi ganda dengan menggunakan *Design Expert* versi 11 (versi uji coba, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, AS). Optimisasi kondisi hidrolisis enzimatis diselidiki menggunakan *complete composite design* (CCD) dari metode *response surface methodology* (RSM). Analisis statistik dari model dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak statistik Minitab 18 (Minitab Pty Ltd., Sydney, NSW, Australia) untuk mengevaluasi analisis varians (ANOVA). Asam amino dilakukan dengan tiga kali ulangan. Hasil yang didapatkan dianalisis secara deskriptif untuk mengevaluasi asam amino yang terdeteksi secara kuantitatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakterisasi Gelatin Kulit Ikan Patin

Ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin menghasilkan rendemen sebesar 15,45% terhadap berat basah kulit ikan patin. Hasil rendemen ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Nurilmala *et al.* (2023) yaitu 14,94% dengan proses asam dan 14,30% dengan proses basa. Menurut Ahmad *et al.* (2017), proses konversi kolagen menjadi gelatin dipengaruhi oleh suhu, waktu pemanasan dan pH. Semakin lama waktu ekstraksi maka akan semakin meningkat rendemen yang diperoleh.



Figure 1 The image shows the appearance of pangasius skin gelatin (A) before grinding and (B) after grinding

Gambar 1 Ketampakan gelatin kulit ikan patin (A) sebelum dihaluskan dan (B) setelah dihaluskan

Aspek penting lainnya selain rendemen adalah ketampakan fisik gelatin yang dihasilkan. Lembaran gelatin yang didapatkan sebelum dihaluskan yaitu berupa lembaran tipis transparan (berwarna bening) (Figure 1A). Setelah dihaluskan gelatin tampak berwarna kekuningan (Figure 1B). Ketampakan warna gelatin kulit ikan patin telah sesuai dengan SNI No. 01-3735-1995 yang menyatakan bahwa gelatin harus tidak berwarna sampai dengan kekuningan.

Hasil viskositas gelatin kulit ikan patin diperoleh nilai sebesar 29,14 cP. Nilai viskositas pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Saputra *et al.* (2015) yaitu sebesar 2,03-4,13 cP. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa nilai viskositas gelatin kulit ikan patin memenuhi persyaratan standar *Gelatin Manufactures Institute of America* [GMIA] (2019) yaitu 15-70. Tinggi atau rendahnya nilai viskositas dipengaruhi oleh distribusi molekul peptida gelatin dalam larutan dan berat molekul peptida gelatin (Cao *et al.*, 2021).

### Perbandingan Gelatin Kulit Ikan Patin dan Gelatin Komersial

Gelatin kulit ikan patin yang diperoleh kemudian dibandingkan ketampakan warnanya dengan gelatin komersial. Gelatin kulit ikan patin tampak berwarna kekuningan sedangkan gelatin komersial tampak berwarna putih dengan sedikit kekuningan. Menurut Karayannakidis & Zotos (2016), variasi warna dalam gelatin dapat dipengaruhi beberapa faktor, termasuk jenis bahan baku yang digunakan, proses dan langkah-langkah ekstraksi, serta metode pengeringan yang memengaruhi karakteristik warna produk akhir. Hasil analisis warna gelatin kulit ikan patin dan gelatin komersial dapat dilihat pada Figure 2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH gelatin kulit ikan patin sebesar 5,9, sedangkan gelatin komersial memiliki pH sekitar 6,3. Gelatin komersial memiliki tingkat keasaman yang lebih rendah dibandingkan gelatin kulit ikan patin. Faktor-faktor yang memengaruhi nilai pH gelatin yaitu melibatkan

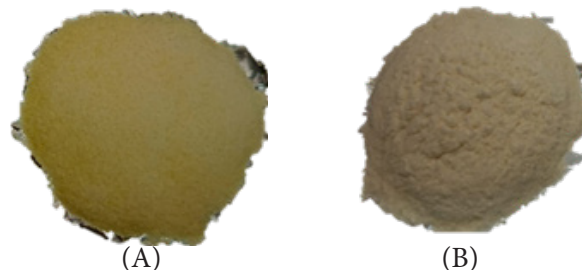


Figure 2 (A) pangasius skin gelatin from the study (B) commercial gelatin  
Gambar 2 (A) gelatin kulit ikan patin hasil penelitian (B) gelatin komersial



praperlakuan sebelum ekstraksi dan durasi pencucian (Nurilmala *et al.*, 2018). Proses perendaman dengan metode asam dapat menyebabkan pembengkakan serabut kolagen kulit, mengurangi sifat kohesi internal serabut tersebut. Pembengkakan ini disebabkan oleh proses pembengkakan kulit akibat perlakuan asam, yang membuat struktur ikatan asam amino pada molekul kolagen terbuka, sehingga terperangkap di dalam jaringan fibril kolagen. Asam yang terperangkap dalam jaringan tersebut tidak larut saat proses netralisasi, sehingga terikat dalam proses ekstraksi dan memengaruhi pH gelatin. Selain itu, faktor lain yang memengaruhi pH gelatin adalah proses pencucian. Pencucian yang dilakukan dengan benar dapat mengurangi kandungan asam yang terperangkap dalam kulit, sehingga nilai pH mendekati nilai pH netral (Khambhaty, 2020).

### Profil Asam Amino Gelatin Kulit Ikan Patin

Gelatin kulit ikan patin sebagai bahan dasar pembuatan *edible coating* terdiri atas susunan asam amino yang memiliki pengaruh besar terhadap struktur protein, sehingga memengaruhi karakteristik fisik mekanik dan penghalang *edible coating* (Hajlaoui *et al.*, 2024). Hasil uji profil asam amino gelatin kulit ikan patin ditunjukkan pada *Table 3* yang menunjukkan bahwa asam amino utama yang terdeteksi adalah glisinaa (261.366,93 mg/kg) dan L-prolina (122.232,03 mg/kg). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurilmala *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa gelatin dari kulit ikan patin terdiri dari 19 asam amino, dengan prolina dan hidrosiprolina merupakan asam amino utama yang mengandung konsentrasi antara 20-24%, kemudian glisinaa antara 27-35%. Kandungan prolina dan glisinaa yang tinggi sebagai residu utama yang berperan penting atas pengikatan silang gelatin melalui pembentukan struktur *triple helix*, sehingga memengaruhi iskoelastisitas dan kekuatan gel dari gelatin (Hajlaoui *et al.*, 2024). Hal ini juga didukung dengan hasil analisis viskositas yang tinggi pada gelatin kulit ikan patin (29,14 cP).

Selain berpengaruh pada karakteristik mekanik gelatin, komposisi asam amino juga merupakan komponen penting yang memengaruhi kandungan gizi *edible coating*. Evaluasi komposisi asam amino difokuskan pada asam amino esensial, yang dibutuhkan oleh tubuh manusia karena tidak dapat disintesis dan harus diperoleh melalui asupan makanan (Rawat *et al.*, 2024). Asam amino esensial tertinggi pada gelatin kulit ikan patin adalah L-treonina (28.922,83 mg/kg) diikuti dengan L-leusina (27.256,83 mg/kg), L-lisinaa (26.906,68 mg/kg), L-valina (23.851,57 mg/kg), L-fenilalanina (22.514,50 mg/kg), L-isoleusinaa (14.259,80 mg/kg), dan L-histidina (8.917,00 mg/kg) (*Table 3*). Treonina, leusina, dan lisinaa adalah asam amino esensial dengan fungsi fisiologis yang penting. Treonina berperan penting dalam metabolisme energi, homeostasis usus, dan fungsi kekebalan (Tang *et al.*, 2021). Leusina adalah pengatur utama sintesis protein dan menghambat proteolisis, sedangkan lisina terlibat dalam pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi kekebalan (Wu, 2010). Asam amino ini dianggap sangat penting bagi manusia, dengan treonina yang sangat penting untuk menjaga fungsi usus dan fungsi kekebalan (Tang *et al.*, 2021). Oleh karena itu, diet seimbang yang mencakup asam amino esensial ini sangat penting untuk kesehatan.

### Viskositas Kappa Karagenan

Viskositas kappa karagenan pada penelitian ini yaitu 43,37 cP. Hasil analisis menunjukkan bahwa karagenan memenuhi standar viskositas sesuai dengan *Food and Agricultural Organization* [FAO] (1990), yang mensyaratkan nilai viskositas sebesar  $\geq 5$ . Uji viskositas kappa karagenan bertujuan untuk menentukan ketebalan gelatin dalam bentuk larutan pada suhu dan konsentrasi tertentu. Pengukuran ini penting dalam mengamati karakteristik gelatin dan kualitas gelatin (Hasdar & Rahmawati, 2016). Menurut Laksono *et al.* (2022), karagenan yang diekstrak dari *Eucheuma spinosum* menunjukkan profil viskositas yang berbeda, dengan nilai berkisar antara 90 hingga 420 mPa.s pada suhu 80°C.

Table 3 Pangasius skin gelatin amino acid profile  
Tabel 3 Profil asam amino gelatin kulit ikan patin

Parameter (mg/kg)	Amino acid
L-Serine	36,876.19
L-Glutamic acid	74,431.76
L-Phenylalanine	22,514.50
L-Isoleucine	14,259.80
L-Valine	23,851.57
L-Alanine	80,951.36
L-Arginine	92,390.47
Glycine	261,366.93
L-Lysine	26,906.68
L-Aspartic acid	36,142.57
L-Leucine	27,256.83
L-Tyrosine	5,510.74
L-Proline	122,232.03
L-Threonine	28,922.83
L-Histidine	8,917.00

Tinggi atau rendahnya viskositas karagenan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk lama waktu ekstraksi, kandungan sulfat dalam kappa karagenan, dan konsentrasi alkali yang digunakan (Saputra *et al.*, 2021).

Viskositas dipengaruhi oleh bahan baku berdasarkan berat molekul dan komposisi asam aminonya. Gelatin dengan kandungan asam amino yang tinggi cenderung memiliki kekuatan gel yang tinggi. Jenis bahan baku juga dapat mengakibatkan perbedaan komposisi asam amino gelatin yang dihasilkan (Asmawati *et al.*, 2023). Karakteristik gelatin dengan penambahan kappa karagenan menunjukkan viskositas tinggi sehingga cenderung memiliki tingkat leleh yang lebih rendah dan membentuk kualitas gel yang lebih baik dibandingkan dengan gelatin yang memiliki viskositas rendah.

### Analisis Edible Coating menggunakan Response Surface Methodology (RSM)

Response Surface Methodology (RSM) digunakan untuk mengoptimalkan kondisi edible coating dari kulit ikan patin berdasarkan parameter antimikrob *S. aureus*, antimikrob *E. coli* dan antioksidan (%inhibisi). Pengaruh

kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih terhadap antimikrob *S. aureus*, antimikrob *E. coli* dan antioksidan (%inhibisi) ditunjukkan pada Table 4. Pengaruh dua variabel bebas, yaitu kappa karagenan (X1) dan garlic essential oil (X2) terhadap nilai respons disajikan pada Figure 3.

Respons 3-dimensi (3D) dikembangkan untuk mengetahui efek antara dua faktor independen yaitu lama inkubasi dan konsentrasi enzim terhadap faktor dependen yaitu antimikrob *S. aureus*, antimikrob *E. coli* dan antioksidan (%inhibisi). Hasil response surface plots terkait pengaruh kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih terhadap antimikrob *S. aureus*, antimikrob *E. coli* dan antioksidan (%inhibisi) dapat dilihat pada Figure 3.

### Pengaruh Kappa Karagenan dan Minyak Asiri Bawang Putih terhadap Antimikrob *S. aureus*

Hasil analisis respons antimikrob terhadap *S. aureus* berkisar antara 3,0-4,9 mm (Table 4) yang mana dipengaruhi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) oleh efek linier positif penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih. Semakin besar kuantitas





Table 4 Experimental design for edible coating production from Pangasius skin gelatin  
Tabel 4 Desain eksperimental untuk produksi *edible coating* dari gelatin kulit ikan patin

Run	Independent (Factor)		Dependent (Response)		
	Kappa carrageenan (g)	Garlic essential oil (mL)	Antimicrobial <i>S. aureus</i> (mm)	Antimicrobial <i>E. coli</i> (mm)	Antioxidant (% inhibition)
	(X1)	(X2)	(Y1)	(Y2)	(Y3)
1	0.8	1	3.1±0.03	2.5±0.07	39.5±0.56
2	1.2	1.4	3.5±0.03	2.8±0.03	43.7±1.90
3	1.0	1.48	4.4±0.07	3.3±0.07	49.9±1.41
4	1.0	0.9	4.9±0.07	3.7±0.07	57.5±1.62
5	1.0	1.2	3.2 0.07	2.6±0.03	42.2±1.48
6	1.2	1.0	4.3±0.07	3.2±0.07	47.6±2.05
7	1.28	1.2	3.0±0.07	2.3±0.07	37.5±0.84
8	1.0	1.2	4.7±0.07	3.6±0.07	56.2±1.34
9	1.0	1.2	3.6±0.07	2.7±0.03	43.4±1.06
10	0.8	1.4	3.7±0.03	2.7±0.03	40.9±0.70
11	0.7	1.2	3.5±0.07	2.6±0.03	41.2±0.49
12	1.0	1.2	3.7±0.07	2.5±0.07	43.2±0.98
13	1.0	1.2	3.6±0.03	2.6±0.07	42.3±0.84

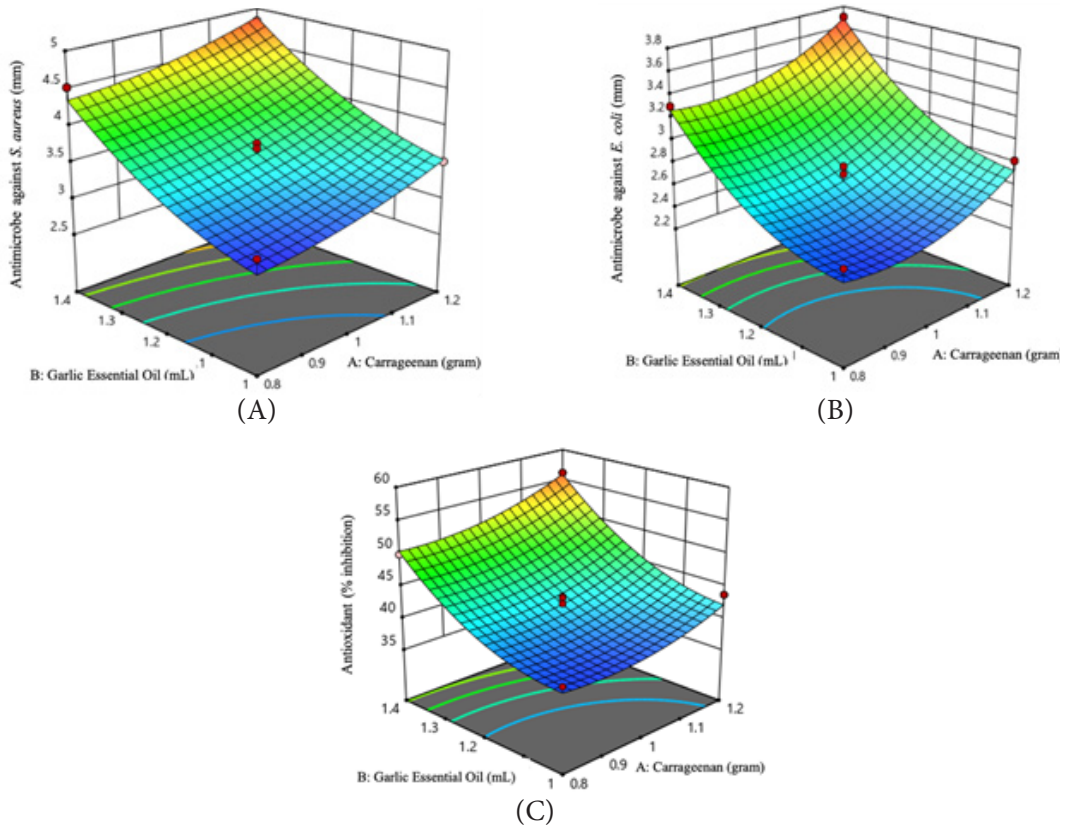


Figure 3 Response surface plots of the effect of kappa carrageenan and garlic essential oil on (A) antimicrobial *S. aureus*, (B) antimicrobial *E. coli*, (C) antioxidant (%inhibition)

Gambar 3 *Response surface plots* pengaruh kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih terhadap (A) antimikrob *S. aureus*, (B) antimikrob *E. coli*, (C) antioksidan (%inhibisi)

penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih makan semakin besar penghambatan terhadap *S. aureus*. Pengaruh penambahan minyak asiri bawang putih menunjukkan pengaruh terbesar (*F-value*, 168.4) terhadap respons antimikrob terhadap *S. aureus* diikuti dengan penambahan kappa karagenan (*F-value*, 29.52). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa model antimikrob *S. aureus* memiliki  $R^2$  yang signifikan ( $p < 0,05$ ) yaitu 0.9681. Uji *lack of fit* digunakan untuk menentukan kecocokan model. Hasil yang diperoleh uji *lack of fit* menunjukkan bahwa nilai *p-value* tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) yakni sebesar 0.0605. Oleh karena itu, model dapat digunakan untuk memprediksi kondisi optimal terhadap penghambatan *S. aureus* pada proses produksi *edible coating*.

Hasil *response surface plots* menunjukkan interaksi antara pengaruh kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih terhadap antimikrob *S. aureus* dapat dilihat pada *Figure 3*. Nilai respons antimikrob *S. aureus* terendah yakni pada perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih sebesar 1 g dan 1,4 mL. Sedangkan respons antimikrob *S. aureus* tertinggi yakni pada perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih sebesar 1,2 g dan 1,4 mL. Perbedaan hasil zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi penambahan bawang putih pada *edible*. Semakin tinggi konsentrasi bawang putih yang ditambahkan maka akan semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan (Laqiat *et al.*, 2019).

Hasil pengujian antimikrob pada penelitian ini termasuk dalam kategori lemah karena mempunyai nilai aktivitas antimikrob  $< 5$  mm. Aktivitas antibakteri suatu bahan aktif dapat dikategorikan menjadi tiga yaitu diantaranya aktivitas lemah ( $< 5$  mm), sedang (5-10 mm), kuat ( $> 20-30$  mm) (Cavalieri, 2005). Semakin tinggi konsentrasi penambahan minyak asiri bawang putih maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar (Fahmi *et al.*, 2019). Aktivitas antibakteri minyak asiri bawang putih terutama berasal dari alil sulfida dan turunannya, serta jumlah atom belerang yang menentukan kekuatan kemampuan

antibakterinya. Selain itu, alil sulfida dalam minyak asiri bawang putih dapat memodulasi gen yang terkait dengan metabolisme bakteri, sistem transport membran dan sistem sekresi (Huang *et al.*, 2023).

### **Pengaruh Kappa Karagenan dan Minyak Asiri Bawang Putih terhadap Antimikrob *E. coli***

Hasil analisis respons antimikrob terhadap *E. coli* berkisar antara 2,5-3,7 mm (*Table 4*) yang mana dipengaruhi secara signifikan ( $p < 0,05$ ) oleh efek linier positif penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih. Semakin besar kuantitas penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih makan semakin besar penghambatan terhadap *E. coli*. Pengaruh penambahan minyak asiri bawang putih menunjukkan pengaruh terbesar (*F-value*, 165.03) terhadap respons antimikrob terhadap *S. aureus* diikuti dengan penambahan kappa karagenan (*F-value*, 29.22). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa model antimikrob *E. coli* memiliki  $R^2$  yang signifikan ( $p < 0,05$ ) yaitu 0.9719. Uji *lack of fit* digunakan untuk menentukan kecocokan model. Hasil yang diperoleh uji *lack of fit* menunjukkan bahwa nilai *p-value* tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) yakni sebesar 0.2448. Oleh karena itu, model dapat digunakan untuk memprediksi kondisi optimal dalam penghambatannya terhadap *E. coli* pada proses produksi *edible coating*.

Hasil *response surface plots* menunjukkan interaksi antara pengaruh kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih terhadap antimikrob *E. coli* dapat dilihat pada *Figure 3*. Nilai respons antimikrob *E. coli* terendah yakni pada perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih sebesar 1 g dan 0,9 mL. Sedangkan nilai respons antimikrob *E. coli* tertinggi yakni pada perlakuan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih sebesar 1,2 g dan 1,4 mL. Pada bakteri *E. coli* diperoleh zona bening terendah sebesar 2,3 mm dan tertinggi sebesar 3,7 mm.

Berdasarkan zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa pada bakteri *S. aureus* zona bening yang terbentuk lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri *E.*



*coli*. Daya antimikrob yang dimiliki oleh bawang putih cenderung lebih efektif melawan bakteri gram positif seperti *S. aureus* daripada melawan bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *P. Aeruginosa*. Hal itu dikarenakan struktur peptidoglikan bakteri gram negatif secara alami lebih kompleks dibandingkan dengan struktur peptidoglikan bakteri gram positif sehingga menyulitkan terjadinya proses penetrasi agen antimikrob kedalam dinding sel bakteri gram negatif. Menurut Khalid *et al.* (2023), semakin kuat antibakteri akan semakin luas daerah hambatan. Demikian juga, semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikrob, maka proses penghambatan atau pembunuhan sel mikrob akan berlangsung lebih cepat. Menurut Muflih & Syarifuddin (2023), penambahan bawang putih dalam jumlah yang lebih banyak menghasilkan zona bening yang lebih besar.

### **Pengaruh Kappa Karagenan dan Minyak Asiri Bawang Putih terhadap Antioksidan (%inhibisi)**

Hasil analisis respons antioksidan (% inhibisi) berkisar antara 37,5% hingga 57,5% (Table 4) yang mana dipengaruhi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) oleh efek linier positif penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih. Semakin besar kuantitas penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih maka semakin tinggi antioksidan (% inhibisi). Pengaruh penambahan minyak asiri bawang putih menunjukkan pengaruh terbesar (*F-value*, 186.07) terhadap antioksidan diikuti dengan penambahan kappa karagenan (*F-value*, 23.36). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa model antioksidan memiliki  $R^2$  yang signifikan ( $p < 0,05$ ) yaitu 0.9728. Uji *lack of fit* digunakan untuk menentukan kecocokan model. Hasil yang diperoleh uji *lack of fit* menunjukkan bahwa nilai *p-value* tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) yakni sebesar 0,2767. Oleh karena itu, model dapat digunakan untuk memprediksi kondisi optimal antioksidan (% inhibisi) pada proses produksi *edible coating*.

Aktivitas antioksidan (%inhibisi) dengan penambahan kappa karagenan sebanyak 1,2 g dan penambahan minyak asiri

bawang putih sebanyak 1,4 mL diperoleh hasil tertinggi sebesar 57,5%. Sedangkan penambahan kappa karagenan sebanyak 1 g dan dan minyak asiri sebanyak 0,9 mL diperoleh hasil terendah yaitu sebesar 37,5%. Sedangkan hasil pengujian antioksidan pada *edible coating* gelatin kulit ikan patin dengan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih diperoleh diperoleh nilai sebesar 79,33 ppm. Menurut Dewinta *et al.* (2023), suatu senyawa dapat dianggap sangat kuat jika nilainya kurang dari 50 ppm, kuat dalam rentang 50-100 ppm, sedang dalam rentang 100-150 ppm, dan lemah dalam rentang 151-200 ppm.

Pada penelitian ini dilakukan uji perbandingan dengan menggunakan asam askorbat (vitamin c) untuk mengetahui efektivitas antioksidan *edible coating*. Senyawa DPPH adalah sebuah molekul yang mengandung senyawa radikal bebas nitrogen tidak stabil yang dapat mengikat ion hidrogen sehingga digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan (Baliyan *et al.*, 2022). Adanya senyawa antioksidan pada sampel akan mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang sebelumnya berwarna violet pekat menjadi warna kuning pucat. Perubahan warna dikarenakan DPPH mengalami reduksi sehingga menyebabkan elektron menjadi berpasangan (Umbaro & Yanti, 2020). Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena memiliki gugus pendonor elektron. Gugus ini terletak pada atom dan adanya gugus ini memungkinkan vitamin c untuk menangkap radikal bebas. Jika dibandingkan, nilai vitamin C menunjukkan hasil lebih tinggi daripada nilai *edible coating* yang terbuat dari gelatin kulit ikan patin dengan penambahan kappa karagenan dan minyak asiri bawang putih. Perbedaan ini disebabkan oleh sifat asam askorbat yang termasuk sebagai agen pereduksi yang efektif melawan agen oksidasi. Sebaliknya, senyawa fenol dalam *edible coating* memiliki mekanisme penangkapan radikal bebas (Chaudhari *et al.*, 2023).

Hasil nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini berkisar antara 37,25 - 57,46%. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi bahan yang

ditambahkan pada edible maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidanya. Minyak asiri bawang putih mengandung senyawa fenol yang mempunyai mekanisme penangkapan radikal bebas. Semakin tinggi total fenol akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Menurut Diah *et al.* (2023), aktivitas antioksidan kappa karagenan berkisar antara 7,83% hingga 42,28%. Karagenan bukan hanya berfungsi sebagai senyawa antioksidan tetapi juga berfungsi sebagai pelindung senyawa antioksidan. Semakin banyak double helix yang terbentuk dari karagenan sehingga kemampuan untuk melindungi senyawa fenolik dari proses pemanasan semakin kuat sehingga fenolik tidak banyak yang rusak (Subramaniam *et al.*, 2023). Menurut Manzoor *et al.* (2023), aktivitas antioksidan pada *edible coating* dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung dalam bahan dan kemampuan senyawa dalam mereduksi radikal bebas.

### Prediksi Nilai Optimum

Prediksi nilai optimum dilakukan dengan menetapkan kriteria sesuai dengan hasil analisis metode *Central Composite Design*. Sedangkan hasil konfirmasi diperoleh dari pengujian kembali variable faktor dan respons. Hasil konfirmasi tersebut memprediksi nilai maksimum dari parameter respons yang diverifikasi dengan memeriksa nilai prediksi yang diperoleh dari hasil optimasi. Solusi titik optimum dan hasil verifikasi model dapat dilihat pada *Table 5*.

Hasil optimasi melalui *Design Expert* akan menentukan dan memberikan solusi yang paling optimal dengan nilai *desirability* yang paling mendekati satu atau sampai

satu. Nilai *desirability* menunjukkan nilai ketepatan optimasi yang berarti ketika nilai *desirability* mendekati atau mencapai satu maka menunjukan nilai ketepatan optimasi semakin baik. Pada tahap optimasi terdapat satu solusi yang diberikan dari prog *Desain Expert* dengan nilai *desirability* yang paling tinggi yaitu 0,959. Hasil solusi menyatakan bahwa 1,2 g kappa karagenan dan 1,4 mL minyak asiri bawang putih merupakan hasil yang disarankan. Estimasi respons antimikrob bakteri *E. coli* sekitar 3,691 mm dan antimikrob *S. aureus*, sebesar 4,843 mm dan antioksidan (% inhibisi) sebesar 55,953.

### KESIMPULAN

Formula *edible coating* yang optimal diperoleh dengan penambahan kappa karagenan sebesar 1,2 g dan minyak asiri bawang putih sebesar 1,4 mL. Formula ini menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 57,5% serta menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (3,71 mm) dan *Staphylococcus aureus* (4,75 mm). Penambahan minyak asiri bawang putih memberikan pengaruh lebih signifikan terhadap semua respons (aktivitas antimikrob terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, serta aktivitas antioksidan) dibandingkan penambahan kappa karagenan. Kandungan asam amino tertinggi pada gelatin ikan patin adalah glisina sebesar 261.366,93 mg/kg, L-prolina sebesar 122.232,03 mg/kg, dan L-arginina sebesar 92.390,47 mg/kg. Penambahan karagenan dan minyak asiri pada *edible coating* terbukti dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan antibakteri, sehingga berpotensi menjadi alternatif kemasan aktif yang ramah lingkungan. Aplikasi lebih lanjut pada berbagai produk pangan diperlukan

Table 5 Optimum point solutions and verification results

Tabel 5 Solusi titik optimum dan hasil verifikasi

Kappa carragenan	Garlic essential oil	Antimicrobial <i>E. coli</i>	Antimicrobial <i>S. aureus</i>	Antioxidant	Desirability	Selected
1.200	1.400	3.691	4.843	55.953	0.962	Selected
1.198	1.400	3.686	4.838	55.893	0.959	
1.200	1.398	3.680	4.830	55.793	0.955	
1.200	1.395	3.670	4.819	55.659	0.948	
1.190	1.400	3.663	4.821	55.653	0.947	
0.184	1.400	3.648	4.808	55.485	0.938	



untuk mengevaluasi efektivitas *edible coating* dalam mempertahankan kualitas dan memperpanjang daya simpan produk.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi dan Universitas Brawijaya melalui pendanaan skema Hibah Doktor Non Lektor Kepala dengan nomor kontrak: 2330/UN10.F06/KS/2023 atas nama Rahmi Nurdiani.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., & Jridi, M. (2022). Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science*, 43, 206-215. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.005>.
- Ahmad, T., Ismail, A., Ahmad, S. A., Khalil, K. A., Kumar, Y., Adeyemi, K. D., & Sazili, A. Q. (2017). Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. *Food hydrocolloids*, 63, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.007>.
- Asmawati, A., Fahrizal, F., Arpi, N., Amanatillah, D., & Husna, F. (2023). Yield, viscosity, and gel strength of gelatin from fish skin and bone. *Aceh Journal of Animal Science*, 8(3). <https://doi.org/10.13170/ajas.8.3.33083>.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>.
- Cao, W., Shi, L., Hao, G., Chen, J., & Weng, W. (2021). Effect of molecular weight on the emulsion properties of microfluidized gelatin hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 111, 106267, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106267>.
- Cavalieri, S. J. (Ed.). (2005). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. *American Society for Microbiology*.
- Chaudhari, A. K., Das, S., Dwivedi, A., & Dubey, N. K. (2023). Application of chitosan and other biopolymers based edible coatings containing essential oils as green and innovative strategy for preservation of perishable food products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127688>.
- Dewinta, A. F., Susetya, I. E., Suriani, M., Addina, S., & Fadhillah, A. (2023). Alginate profile, antioxidant, and antibacterial activities of brown algae *Sargassum cristaefolium* from Pane Island, North Sumatera. *Scientific Journal of Fisheries & Marine/Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 15(2), 331-345. <http://doi.org/10.20473/jipk.v15i2.41621>.
- Diah, A. W. M., Raihan, M. F., Rahmawati, S., Ningsih, P., & Nuryanti, S. (2022). The antioxidant activities of acid hydrolysis of  $\kappa$ -carrageenan. *Rasayan Journal of Chemistry*, 15(1). <http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2022.1516556>.
- Dwivany, F. M., Aprilyandi, A. N., Suendo, V., & Sukriandi, N. (2020). Carrageenan edible coating application prolongs Cavendish banana shelf life. *International Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1155/2020/8861610>.
- Fahmi, Y. I., Andriana, A., & Hidayati, D. S. (2019). Uji daya hambat ekstrak bawang putih (*Allium Sativum*) terhadap bakteri (*S. aureus*). *Jurnal Kedokteran*, 4(2), 82-90. <http://dx.doi.org/10.36679/kedokteran.v4i2.109>.
- Food and Agricultural Organization (FAO). (1990). The state of food and agriculture. Rome Italy.
- Gelatin Manufactures Institute of America (GMIA). (2012). Gelatin Handbook. Gelita North America.
- Ha, H. T., Cuong, D. X., Thuy, L. H., Thuan, P. T., Tuyen, D. T. T., Mo, V. T., & Dong, D. H. (2022). Carrageenan of red algae *Eucheuma gelatinae*: Extraction, antioxidant activity, rheology characteristics, and physicochemistry characterization. *Molecules*, 27(4),

1268. <https://doi.org/10.3390/molecules27041268>.
- Hajlaoui, K., Abdelhedi, O., Salem, A., Debeaufort, F., Zouari, N., Zhang, Y., & Jridi, M. (2024). Food-grade gelatin from camel skin: Extraction, characterisation and potential use for thin film packaging preparation. *Food Hydrocolloids*, 150(10), 109698. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109698>
- Hasdar, M., & Rahmawati, Y. D. (2016). Nilai pH, titik leleh dan viskositas pada gelatin kulit domba asal Brebes yang dikatalis berbagai konsentrasi NaOH. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2). <https://doi.org/10.30591/pjif.v5i2.387>.
- Hido, F., Sompie, F., Pontoh, J. H. W., dan Lontaan, N. N. (2021). Pengaruh perbedaan suhu ekstraksi terhadap kekuatan gel, viskositas, dan rendemen gelatin ceker ayam kampung. *Zootec*, 41(2), 451-456. <https://doi.org/10.35792/zot.41.2.2021.36587>.
- Hirbo, H. G., Kuse, K. A., & Alemu, A. D. (2023). Extraction and characterization of gelatin from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin wastes generated in Arba Minch local fish processing industry and its value addition as stabilizer on yoghurt. *Research Square*, 1-36. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2882193/v1>.
- Huang, L., Liu, Z., Wang, J., Fu, J., Jia, Y., Ji, L., & Wang, T. (2023). Bioactivity and health effects of garlic essential oil: A review. *Food Science and Nutrition*, 11(6), 2450-2470. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3253>.
- James, J., Verma, M., & Sharma, N. (2023). Nanotechnology-driven improvisation of red algae-derived carrageenan for industrial and bio-medical applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03787-x>.
- Jenita, L., & Wibisono, A. P. (2022). Utilization of waste from trimming process for the development of pangasius fish nugget. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 69-79. <https://doi.org/10.20956/canrea.v5i1.513>.
- Karayannakidis, P. D., & Zotos, A. (2016). Fish processing by-products as a potential source of gelatin: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(1), 65-92. <https://doi.org/10.1080/10498850.2013.827767>.
- Khairani, K., Busman., & Edrizal. (2017). Uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur tiram purih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karang gigi. *Jurnal B-Dent*, 4(2), 110-116. <https://doi.org/10.33854/jbd.v4i2.102.g72>.
- Khalid, A., Ahmad, P., Uddin Khandaker, M., Modafar, Y., Almukhlifi, H. A., Bazaid, A. S., & Qanash, H. (2023). Biologically reduced zinc oxide nanosheets using *Phyllanthus emblica* plant extract for antibacterial and dye degradation studies. *Journal of Chemistry*, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2023/3971686>.
- Khambhaty, Y. (2020). Applications of enzymes in leather processing. *Environmental Chemistry Letters*, 18(3), 747-769. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00971-5>.
- Kim, D. & Min S. C. (2012). Trout skin gelatin-based edible film development. *Journal of Food Science*, 77(9), 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02880.x>.
- Laga, S., Sutanto, S., Fatmawati., Halik, A., Sheyoputri, A. C.A. (2021). Penggunaan edible coating dalam pengawetan buah kelengkeng *Dimocarpus longan* Lour. *Jurnal Ilmiah Ecosystem*, 21(2), 374-382. <https://doi.org/10.35965/eco.v21i2.1126>.
- Liaqat, A., Zahoor, T., Atif Randhawa, M., & Shahid, M. (2019). Characterization and antimicrobial potential of bioactive components of sonicated extract from garlic (*Allium sativum*) against foodborne pathogens. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), e13936. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13936>.
- Lu, Y., Luo, Q., Chu, Y., Tao, N., Deng, S., Wang, L. & Li, L. (2022). Application of gelatin in food packaging: A review. *Polymers*, 14(3), 436. <https://doi.org/10.3390/polym14030436>.
- Malik, G. K., Mitra, J., & Kaushal, M. (2023). Rheology of nano ZnO-Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) based



- suspensions and structural properties of resulting films. *Journal of Food Engineering*, 337, 111187. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111187>.
- Manzoor, A., Yousuf, B., Pandith, J. A., & Ahmad, S. (2023). Plant-derived active substances incorporated as antioxidant, antibacterial or antifungal components in coatings/films for food packaging applications. *Food Bioscience*, 102717. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102717>.
- Masum, A. K. M., Zisu, B., Augustin, M. A., & Oliver, C. M. (2023). Use of milk proteins for encapsulation of food ingredients. In *Microencapsulation in the Food Industry*, 245-268. Academic Press.
- Mouffok, A., Bellouche, D., Debbous, I., Anane, A., Khoualdia, Y., Boublija, A., & Benguerba, Y. (2023). Synergy of garlic extract and deep eutectic solvents as promising natural antibiotics: Experimental and COSMO-RS. *Journal of Molecular Liquids*, 375, 121321. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121321>.
- Muflih, M. H., & Syarifuddin, A. (2023). The effect of carrageenan-gluten ratio and garlic essential oil concentration on physical, mechanical, and antimicrobial properties of edible film. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1230 (1): 012165. IOP Publishing.
- Munawaroh, H. S. H., Pratiwi, R. N., Gumilar, G. G., Aisyah, S., Rohilah, S., Nurjanah, A., & Show, P. L. (2023). Synthesis, modification and application of fish skin gelatin-based hydrogel as sustainable and versatile bioresource of antidiabetic peptide. *International journal of biological macromolecules*, 231, 123248. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123248>.
- Nitsuwat, S., Zhang, P., Ng, K., & Fang, Z. (2021). Fish gelatin as an alternative to mammalian gelatin for food industry: A meta-analysis. *Food Science and Technology*, 141, 110899. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110899>.
- Nurdiani, R., Prihanto, A. A., Firdaus, M., Aini, F. N., Nabilah, F. A., Talib, R. A., & Huda, N. (2023). Physicochemical characteristics of *Pangasius* sp. skin-gelatin-based-edible film enriched with silver nanoparticles. *F1000Research*, 12(160), 160. <https://doi.org/10.12688/f1000research.129024.1>.
- Nurilmala, M., Jacob, A. M., Dzaky, R. H. (2018). Karakteristik gelatin kulit ikan tuna sirip kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 339-350. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18049>.
- Nurilmala, M., Suryamarevita, H., Hizbullah, H. H., Jacob, A. M., & Ochiai, Y. (2022). Fish skin as a biomaterial for halal collagen and gelatin. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1100-1110. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.056>.
- Nurjanah, N., Aprilia, B. E., Fransiskayana, A., Rahmawati, M., & Nurhayati, T. (2018). Senyawa bioaktif rumput laut dan ampas teh sebagai antibakteri dalam formula masker wajah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 304-316. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i2.23086>.
- Prihanto, A. A., Nurdiani, R., & Bagus, A. D. (2019). Production and characteristics of fish protein hydrolysate from parrotfish (*Chlorurus sordidus*) head. *PeerJ*, 7, e8297. <https://doi.org/10.7717/peerj.8297>.
- Ramli, N. A., Adam, F., Mohd Amin, K. N., Abu Bakar, N. F., & Ries, M. E. (2022). Mechanical and thermal evaluation of carrageenan/hydroxypropyl methyl cellulose biocomposite incorporated with modified starch corroborated by molecular interaction recognition. *ACS Applied Polymer Materials*, 5(1), 182-192. <https://doi.org/10.1021/acsapm.2c01426>.
- Rawat, R., & Saini, C. S. (2024). A novel biopolymeric composite edible film based on sunnhemp protein isolate and potato starch incorporated with clove oil: fabrication, characterization, and amino acid composition. *International Journal of Biological Macromolecules*, 268(2), 131940. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131940>

- Sahraee, S., Milani, J. M., Regenstein, J. M., & Kafil, H. S. (2019). Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review. *Food Bioscience*, 32, 100451. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100451>.
- Saputra, R. H., Widiastuti, I., Supriadi, A. (2015). Karakteristik fisik dan kimia gelatin kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan kombinasi berbagai asam dan suhu. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, 4(1), 29-36. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v4i1.3496>.
- Setyaji, A., Wijayanti, I., & Romadhon, R. (2018). Effect of carrageenan addition to the edible characteristics of tilapia skin gelatin film (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(2), 134-145. <https://doi.org/10.26877/jjphp.v2i2.3133>.
- Siburian, W. Z., Rochima, E., Andriani, Y., & Praseptiangga, D. (2020). Fish gelatin (definition, manufacture, analysis of quality characteristics, and application): A review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 8(4), 90-95.
- Subramaniam, S. D., Ungka, M. L. A., Hao, T. J., Rahimi, N. A. S., Zakaria, L. M., & Azman, N. A. M. (2023). Semi refined carrageenan-nanocomposite film incorporated with Bentong ginger extracts for active food packaging: synthesis and characterization. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.08.007>.
- Supriwanti, S., Warsidah, W., & Prayitno, D. I. (2023). Characterization of seaweed caragenan *Eucheuma cottonii* and its application as edible coating. *Berkala Saintek*, 11(2), 114-120. <https://doi.org/10.19184/bst.v11i2.33865>.
- Tamal, M.A., Prabandari, A. (2017). Pengaruh ekstrak bawang putih dan formalin dalam menghambat pertumbuhan bakteri salmonella pada bakso sapi pada lama penyimpanan yang berbeda. *Jurnal JPT Stiper Kutim*, 15-27. <https://doi.org/10.36084/jpt.v1i1.14>.
- Tamba, N. F., Restuhadi, F., Efendi, R. (2022). Penambahan minyak asiri rimpang lengkuas merah pada edible coating taipioka terhadap mutu bakso ayam selama penyimpanan dingin. *Journal Agritech*, 21(2), 1-11.
- Tang, Q., Tan, P., Ma, N., & Ma, X. (2021). Physiological functions of threonine in animals: beyond nutrition metabolism. *Nutrients*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/nu13082592>
- Tarman, K., Supinah, P., Dewanti, E. W., Santoso, J., & Nurjanah. (2024). Characteristics of carrageenan from seaweed hydrolysis using marine fungi as hard-shell capsule material. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(8), 642-653. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i8.51946>
- Umaraw, P., Munekata, P. E., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., & Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 10-24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032>.
- Umboro, R. O., & Yanti, N. K. W. (2020). Uji efektivitas antioksidant (IC<sub>50</sub>) dan toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) fraksi etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *JUPE: Jurnal Pendidikan Mandala*, 5(6). <http://dx.doi.org/10.58258/jupe.v5i6.2349>.
- Valcarcel, J., Hermida-Merino, C., Piñeiro, M. M., Hermida-Merino, D., & Vázquez, J. A. (2021). Extraction and characterization of gelatin from skin by-products of seabream, seabass and rainbow trout reared in aquaculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12104. <https://doi.org/10.3390/ijms222212104>.
- Wu, G. (2010). Functional amino acids in growth. *Advances in Nutrition*, 1(4), 31-37. <https://doi.org/10.3945/an.110.1008.1>
- Yandriani dan Jannah, A. M. (2022). Karakterisasi edible film kulit durian dengan penambahan antibakteri dari ekstrak bawang putih. *Jurnal Teknik Kimia*, 27(1), 10-19. <https://doi.org/10.36706/jtk.v28i1.949>.





- Yasin, G., Jasim, S. A., Mahmudiono, T., Al-Shawi, S. G., Shichiyakh, R. A., Shoukat, S., & Fenjan, M. (2022). Investigating the effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil on foodborne pathogenic microorganisms. *Food Science and Technology*, 42, e03822. <https://doi.org/10.1590/fst.03822>.
- Yu, D., Zhao, W., Dong, J., Zang, J., Regenstein, J. M., Jiang, Q., & Xia, W. (2022). Multifunctional bioactive coatings based on water-soluble chitosan with pomegranate peel extract for fish flesh preservation. *Food Chemistry*, 374, 131619. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131619>.