

**BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM OLEH KONSORSIUM
BAKTERI ISOLAT LOKAL**

(Skripsi)

Oleh

Yumainismar



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

BIODEGRADATION OF CHICKEN FEATHER WASTE BY LOCAL ISOLATE BACTERIA CONSORTIUM

By

Yumainismar

Chicken feather waste has potential to be used as animal feed, because it's a high protein content. Protein contained in chicken feather waste is keratin. The high stability and low degradation rate of keratin protein become obstacles in the utilization of chicken feather waste. Chicken feather waste is able to be decomposed by keratinolytic microorganism. The aimed of this research was to determine the ability of local isolate bacteria to degrade chicken feather waste and to measure the level of released amino acid after degradation process. The biodegradability test of chicken feather waste was carried out for 12 days. The determination of optimum pH for degradation was observed in variation pH 7.0, 7.5, and 8.0. The released amino acid was measured from the filtrate after the degradation process. The largest percentage of degradation was shown by a bacterial consortium compared with the single isolate. At the optimum pH i.e. pH 7.5, percent degradation of chicken feather waste was 70.04%, and 580.46 ppm of amino acids were released.

Keywords: Biodegradation, Chicken Feather Waste, Keratin, Bacteria Consortium, Amino Acid.

ABSTRAK

BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM OLEH KONSORSIUM BAKTERI ISOLAT LOKAL

Oleh

Yumainismar

Limbah bulu ayam berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pakan ternak, karena memiliki kandungan protein yang tinggi. Protein yang terkandung dalam limbah bulu ayam adalah keratin. Kestabilan yang tinggi dan tingkat degradasi yang rendah dari protein keratin, menjadi kendala dalam pemanfaatan limbah bulu ayam tersebut. Limbah bulu ayam dapat terurai dengan bantuan mikroorganisme keratinolitik. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kemampuan bakteri isolat lokal dalam mendegradasi limbah bulu ayam dan mengukur kadar asam amino yang dibebaskan setelah proses degradasi. Uji biodegradabilitas limbah bulu ayam dilakukan selama 12 hari. Penentuan pH optimum degradasi diamati pada variasi pH 7,0, 7,5, dan 8,0. Kadar asam amino yang dibebaskan diukur dari filtrat setelah proses degradasi. Presentase degradasi terbesar ditunjukkan oleh konsorsium bakteri dibandingkan dengan isolat tunggal. Pada pH optimum yaitu pH 7,5, persen degradasi limbah bulu ayam diperoleh sebesar 70,04%, dan sebanyak 580,46 ppm asam amino dibebaskan.

Kata kunci: Biodegradasi, Limbah Bulu Ayam, Keratin, Konsorsium Bakteri, Asam Amino.

**BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM OLEH KONSORSIUM
BAKTERI ISOLAT LOKAL**

Oleh

Yumainismar

Skripsi

Sebagai Salah satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM
OLEH KONSORSIUM BAKTERI ISOLAT
LOKAL**

Nama Mahasiswa : **Yumainismar**

No. Pokok Mahasiswa : 1517011085

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Ketua Jurusan Kimia

Pembimbing

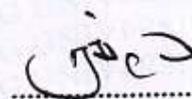
Dr. Eng. Sripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Mulyono, Ph.D.**



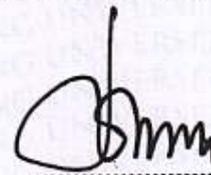
Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.

NIP. 19640604 199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **25 September 2019**

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yumainismar
Nomor Pokok Mahasiswa : 1517011085
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul Biodegradasi Limbah Bulu Ayam Oleh Konsorsium Bakteri Isolat Lokal adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, metode, hasil, dan analisisnya. Sepengetahuan saya tidak ada karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka.

Jika dikemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar maka saya bersedia dikenai sanksi dengan hukuman yang berlaku.

Bandar Lampung, Oktober 2019
Yang menyatakan




Yumainismar
NPM 1517011085

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Rawa Ragil pada tanggal 22 Oktober 1997, sebagai anak ketujuh dari tujuh bersaudara, putri dari Bapak Zulhamidi dan Ibu Ijah.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 01 Rawa Ragil dan menyelesaikannya pada tahun 2009, pendidikan tingkat menengah diselesaikan di SMP N 1 Kedondong pada tahun 2012. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Kalianda dan diselesaikan pada tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi anggota bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia pada periode 2016/2017 dan 2017/2018 di Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, dan menjadi bendahara bidang Kaderisasi di Unit Kegiatan Mahasiswa Penelitian (UKM-P) Universitas Lampung periode 2018/2019, serta penulis pernah menjadi anggota aktif Chemistry English Club (CEC) Kimia FMIPA Unila pada tahun 2018. Selain aktif dalam berorganisasi, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Biokimia 1 jurusan Kimia pada tahun 2018 dan asisten praktikum Biokimia Jurusan Biologi pada tahun 2019.

Pada tahun 2018 Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 30 hari di Desa Marga Jaya Indah, Kec. Pagar Dewa. Tulang Bawang Barat.

Tepat pada tahun yang sama Penulis juga melakukan Praktek Kerja Lapangan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung di Bandar Lampung.

MOTTO

Jika Allah menolong kamu, maka tak adalah orang yang dapat mengalahkan kamu, jika Allah membiarkan kamu (tidak memberi pertolongan), maka siapakah gerangan yang dapat menolong kamu (selain) dari Allah sesudah itu? Karena itu hendaklah kepada Allah saja orang-orang mukmin bertawakkal (Q.S Ali Imran: 160).

Apa yang kita pikirkan menentukan apa yang akan terjadi pada kita. Jadi, jika kita ingin mengubah hidup kita, kita perlu sedikit mengubah pikiran kita (Wayne Dyer).

Once you choose hope, anything's possible (Christopher Reeve).

Kesuksesan adalah hasil dari kesempurnaan, kerja keras, belajar dari pengalaman, loyalitas, dan kegigihan (Collin Powel).

Jika banyak orang meragukan kemampuanmu, cukup buktikan dengan usaha dan kerja kerasmu (Penulis).

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Tiada sanjungan dan pujian yang berhak diucapkan, selain hanya kepada Allah S.W.T., Dzat yang maha luas ilmunya.

Shalawat serta salam kepada rosululloh muhammad S.A.W., seorang insan yang sangat luar biasa yang patut dijadikan tauladan oleh seluruh umat manusia.

Dan dengan segala kerendahan hati, kupersembahkan karya kecil ini kepada:

*Kedua orang tuaku
Bapak dan Mamak tercinta Penyemangat yang luar biasa, yang selalu berdo'a
untuk kesuksesanku*

Kakak-kakak dan abang-abangku tersayang

Segenap keluarga besar yang selalu mendo'akan keberhasilanku

Guru guru dan dosen-dosen yang selalu membagi ilmunya untukku

Sahabat sahabat terbaikku

Dan Almamter tercinta Universitas Lampung

SANWACANA

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah S.W.T, serta sholawat dan salam selalu tercurah pada Nabi Besar Muhammad Saw. Atas segala rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Biodegradasi Limbah Bulu Ayam oleh Konsorsium Bakteri Isolat Lokal”**. Sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan. Namun, dengan kehendak Allah SWT skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa, terselesaikannya penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua yang sangat aku cintai, yang sangat berjasa dan selalu memberikan kasih sayang, do'a, dukungan, semangat, dan motivasi serta menantikan keberhasilanku.
2. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Pembimbing utama yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, gagasan, bantuan, dukungan, semangat, kritik dan saran kepada Penulis dalam proses perencanaan dan pelaksanaan penelitian serta dalam penulisan skripsi ini.

3. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono M.Sc., dan Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S. selaku Pembahas yang telah memberikan kritik, saran, dan arahan kepada Penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Bapak Drs.Suratman, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung, yang telah memberikan bantuan kepada Penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, yang telah memberikan bantuan kepada Penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Diky Hidayat M.Sc., selaku Pembimbing akademik atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, bantuan, dukungan, semangat, kritik dan saran, nasehat, informasi yang bermanfaat bagi Penulis.
7. Seluruh Dosen dan Staff administrasi di Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membantu, mendidik, dan memberikan ilmu pengetahuan yang sangat berguna bagi Penulis selama kuliah.
8. Kakak-Kakak dan Abang-Abangku, yang selalu memberikan motivasi, semangat, kebahagiaan, kasih sayang dan do'a kepadaku. Kehadiran kalian adalah suatu anugrah dalam hidupku.
9. Keluarga besarku yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan menantikan keberhasilanku.
10. Sahabat-sahabatku, "Generation Gold" Dedek Adik Putri Purba, Septi Pangestu, Melisa Liner Situmorang dan Nadya Fadhilah yang telah memberikan canda, tawa, saran, kritik, dukungan, dan do'a semoga Allah selalu memberikan Rahmat-nya untuk keberhasilan kita.

11. Kedua Sahabatku, Ayu Aprilia dan Meliyana, yang telah memberikan kebahagiaan, motivasi, menularkan kegigihan dalam melakukan suatu pekerjaan.
12. Kedua sahabatku, “Gadis Pecinta Bakteri” Silvana Citra dan Ani Nurhayati , terimakasih untuk beberapa tahun kebersamaan, motivasi, kebahagiaan, dan selalu mencoba ada dalam proses pencapaian gelar sarjanaku.
13. Teman-Teman KKN, Listi, Dina, Ana, Kak Alif, Vicho, Ari, terimakasih sudah menjadi keluarga baru dan berbagi canda tawa selama 30 hari, semoga persaudaraan ini tetap terjaga.
14. Teman, sahabat, dan keluarga baru Khafifah Puspa dan Noviea yang telah memberikan kritik, saran, motivasi, dan berbagi kebahagiaan dan kesedihan selama beberapa tahun belakangan ini.
15. Teman-teman masa kecilku, Suparno, Ratu, Mudah, dan yang lainnya, yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan kebahagiaan.
16. Fasilitatorku di “Empowomen” Kak Barry, Teh Dyla, Teh Ita, Mbak Emil, Kak Firza, Kak Nisa, Kak Raisa, Kak Tere, Kak Rizkia, Kak Ines, Kak Fajar, Kak desy, dan Kak Ratih. Terima kasih atas ilmu, motivasi, kebahagiaan, kebermanfaatan untuk sesama, dan kesempatan yang telah diberikan untukku berkembang.
17. Teman-teman seperjuangan ku di “Empowomen”, Kak Soraya, Kak Septi, Kak velly, Mbak dewi, Dara, Kak Diah, Kak Suf (Alm), Kak Amy, Kak Kemala, Kak arum, Kak Inggar, Kak Ketrin, Kak Riri, Kak Ria, Laura, Ade, Kak Chintya, dan Kak sofie. Terimakasih untuk kebersamaan, keceriaan, motivasi, ilmu selama menjalani bootcamp dan sampai sekarang.

18. Teman-teman *peergroup* Biokimia Desi, Mahyal, Siska, Melina, Rani, Mbak Wid, Intan, Siwi, Dwi, Nurmala, Widya Kusuma, Mawaddah, Enca, Uhti, Windi, Mujahid, Dila, Meitri, Citra, Ani, Nurmalia, Hani dan Dias. Terima kasih atas bantuan, canda, tawa, motivasi yang diberikan selama penelitian kepada Penulis.
19. Kakak-kakak dan adik-adik “Papilaya”, terimakasih atas kesabaran dalam kebersamaan semoga kita bertemu kembali dalam kesuksesan.
20. Mulyono’s *Research Group* 2015 Mujahid, Nurmalia, Hani, dan Dias terima kasih atas kerjasama, bantuan, motivasi, dan keceriaannya.
21. Kakak-kakak Biokimia sumber jawaban pertanyaanku Mbak Melia Tri Anggraini, S.Si., Mbak Monica Dhamayanti, S.Si., Mbak Shelta Mei Inorisa, Mbak Bidari Maulidya, S.Si., dan Kak Asrul Fanani, S.Si.,
22. Keluarga besarku di Jurusan Kimia Mona, Fatry, Eva, Trihandayani, Miranda, Lia P, Lia S, Uhti, Dwi Saraswati, Fatma, Faulia, Eka Fitriana, Gesta, Isnaini, Pinu, RGG, Santi, Tari, dan teman-teman angkatan 2015 yang lainnya. Terimakasih atas kebersamaan dan dukunganya selama ini.
23. Teman-Teman Seperjuanganku di Ukm-Penelitian Yoga, Fikri, Rita, Bela, Desi Kimia, Desi Tekim, Kak Toni, Anggi, Mela, trisna, Laila, Sinta, Lintang, Aul, Vallen, Ayu Anita, Ayu Satia, Yogi, Bagas, Feby, Via, Widi, dan teman-teman yang lainnya. Terimakasih atas Kebersamaan, dan Ilmu yang kalian tularkan.
24. Adik-Adik *peergroup* Biokimia 2016 Fina, Maria, Iwen dan Depi, semangat pkl dan penelitiannya.
25. Kakak dan Adik tingkat 2012, 2013, 2014, 2016, 2017, 2018, dan 2019.

26. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memiliki nilai guna khususnya rekan-rekan mahasiswa dan pembaca pada umumnya. Aamiin.

Bandar Lampung, Oktober 2019
Penulis,

Yumainismar

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Bulu Ayam	6
B. Limbah Bulu Ayam.....	7
C. Keratin.....	9
D. Mikroorganisme Keratinolitik.....	11
E. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	13
F. Biodegradasi.....	17
G. Degradasi Keratin.....	18
III. METODE PENELITIAN	20
A. Waktu dan Tempat Penelitian	20
B. Alat dan Bahan.....	20
C. Prosedur Penelitian	21
1. Tahap Persiapan	21
a. Persiapan Alat.....	21
b. Pembuatan Tepung Bulu Ayam.....	21
c. Pembuatan Medium <i>Feather Meal</i> Agar (FMA).....	21
d. Pembuatan Medium <i>Feather Meal</i> Cair	22
e. Pembuatan Medium Garam Cair	22
f. Pembuatan Kurva Standar Tirosin.....	23
2. Peremajaan Bakteri	23
3. Penyiapan Inokulum (Starter) Mikroba	23
4. Uji Biodegradabilitas Limbah Bulu Ayam	24

5.	Pembuatan Kurva Pertumbuhan.....	25
6.	Uji Biodegradabilitas Limbah Bulu Ayam pada pH 7,5.....	25
7.	Penentuan Kadar Asam Amino yang dibebaskan.....	26
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
A.	Peremajaan Isolat Bakteri Keratinolitik.....	27
B.	Uji Biodegradabilitas Bakteri Pendegradasi Limbah Bulu Ayam.....	28
C.	Kurva Pertumbuhan.....	32
D.	Uji Biodegradabilitas pada pH 7,5.....	35
E.	Kadar Asam Amino yang dibebaskan.....	38
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	43
A.	Kesimpulan.....	43
B.	Saran.....	43
	DAFTAR PUSTAKA.....	44
	LAMPIRAN.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Susunan pada bulu ayam.....	6
2. Struktur keratin.....	10
3. Struktur kimia sistein dan sistin	10
4. Kurva pertumbuhan bakteri.	16
5. Hasil peremajaan isolat bakteri	27
6. Grafik kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh isolat B-9-6	29
7. Grafik kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh isolat B-9-7	30
8. Grafik kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh konsorsium bakteri.....	31
9. Hasil analisis uji kurva pertumbuhan konsorsium bakteri pada variasi pH.....	33
10. Hasil uji biodegradabilitas konsorsium bakteri pada pH 7,5	36
11. Kurva standar tirosin.....	40
12. Grafik antara waktu inkubasi dengan kadar asam amino bebas	40
13. Hubungan antara nilai % degradasi dengan kadar asam amino	42
14. Hubungan antara nilai % sisa substrat dengan kadar asam amino.....	42
15. Hasil biodegradasi bulu ayam dengan waktu fermentasi 4 hari.....	50
16. Hasil biodegradasi bulu ayam dengan waktu fermentasi 8 hari.....	50
17. Hasil biodegradasi bulu ayam dengan waktu fermentasi 12 hari.....	50

18. Hasil uji biodegradasi bulu ayam pada pH 7,5.	54
19. Kurva stadar tirosin.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan asam amino pada bulu ayam.....	8
2. Karakteristik beberapa mikroorganisme penghasil keratinase.....	12
3. Beberapa penelitian biodegradasi keratin pada limbah bulu ayam.....	19
4. Hasil kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh isolat B-9-6	29
5. Hasil kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh isolat B-9-7	30
6. Hasil kemampuan degradasi dan sisa substrat oleh konsorsium bakteri.....	30
7. Hasil uji biodegradabilitas konsorsium bakteri pada pH 7,5	36
8. Hasil analisis uji biodegradabilitas isolat terhadap limbah bulu ayam	51
9. Perhitungan <i>Nilai Optical Density</i> pada pH 7.....	52
10. Perhitungan <i>Nilai Optical Density</i> pada pH 7,5.....	52
11. Perhitungan <i>Nilai Optical Density</i> pada pH 8.....	53
12. Perhitungan uji biodegradabilitas konsorsium bakteri pada pH 7,5	55
13. Nilai absorbansi tirosin pada berbagai konsentrasi.....	56
14. Perhitungan kadar asam amino yang dibebaskan.....	57

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Limbah merupakan produk samping yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga), dan keberadaan limbah sebenarnya sangat tidak diinginkan karena kehadirannya pada suatu tempat tertentu dapat menimbulkan masalah di lingkungan, selain itu limbah dinilai memiliki nilai ekonomis yang rendah. Salah satu contoh limbah yang berasal dari industri peternakan seperti Rumah Potong Ayam (RPA) dan berasal dari limbah domestik adalah limbah bulu ayam.

Limbah bulu ayam merupakan salah satu produk samping limbah organik yang diperoleh dari ternak ayam (petelur, pedaging, dan buras) dari rumah potong dan tempat pemotongan ayam lainnya, yang masih belum dimanfaatkan secara optimum. Hasil dari pemotongan satu ekor ayam diperoleh rata-rata bulu sebanyak 4-9 % dari total berat ayam (Ketaren, 2008). Keberadaan limbah bulu ayam terus bertambah sejalan dengan bertambahnya kebutuhan terhadap daging ayam. Berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Peternakan, terkhusus pada Provinsi Lampung produksi daging ayam pada tahun 2016 adalah sekitar 34,646 kg. Pemotongan satu ekor ayam menghasilkan rata-rata 6 % bulu ayam dari bobot hidupnya, apabila satu ekor ayam memiliki bobot hidup bulu ayam sebesar 1,5 kg,

maka limbah bulu ayam pedaging pada tahun 2016 menghasilkan sekitar 3,120 kg (Anggraini, 2018). Produksi limbah bulu ayam tersebut belum seimbang dengan pemanfaatannya.

Di industri peternakan seperti RPA, bulu ayam belum dimanfaatkan secara optimum. Menurut Adiaty *et al.*, (2004) menyatakan bahwa hanya sebagian kecil saja yang sudah dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat kemoceng, pengisi jok, pupuk tanaman, kerajinan tangan/hiasan dan kok. Sisa dari limbah bulu ayam, umumnya hanya akan menjadi limbah yang dapat berdampak dalam penurunan kualitas tanah karena bulu ayam sulit untuk terdegradasi di lingkungan. Sulitnya limbah bulu ayam untuk didegradasi karena limbah bulu ayam mengandung keratin atau protein fibrous berupa serat (Setyabudi, 2015).

Keratin yang terkandung dalam limbah bulu ayam merupakan protein makromolekul yang memiliki kestabilan yang sangat tinggi dan tingkat degradasi yang rendah. Keratin mengandung berbagai asam amino yaitu sistin, lisin, prolin, serin dan tirosin. Struktur keratin terdiri dari komponen ikatan sistin disulfida, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik molekul keratin. Meskipun keratin termasuk kedalam protein yang sukar larut dan sangat stabil, keratin mampu didegradasi menggunakan mikroba keratinolitik.

Mikroba keratinolitik mampu memecah atau memutus ikatan senyawa keratin pada limbah bulu ayam tersebut menjadi monomer-monomernya. Beberapa mikroorganisme keratinolitik telah diisolasi dan dikarakterisasi dari sampel tanah yang di sekitarnya terdapat bulu ayam (Sinoy *et al.*, 2011). Mikroba keratinolitik akan mendegradasi keratin pada bulu ayam dan dapat menghasilkan berbagai

produk yang bisa dimanfaatkan lebih lanjut, yaitu sebagai sumber protein dalam pupuk, plastik, lem, *biodegradable film* atau untuk produksi asam amino serin, sistin, dan prolin (Quanti, 2015). Menurut Setyahadi (2012) kandungan protein yang cukup tinggi pada limbah bulu ayam berpotensi besar sebagai sumber protein dan asam amino untuk pakan ternak. Kandungan protein dalam bulu ayam cukup tinggi yaitu antara 80–90 %, protein yang terkandung dalam limbah bulu ayam jauh lebih tinggi dari protein kasar yang terkandung dalam bungkil kedelai (42,5 %) dan tepung ikan (66,2 %). Bungkil kedelai dan tepung ikan merupakan komponen bahan baku dalam ransum pada umumnya.

Proses pengolahan limbah bulu ayam menjadi produk yang lebih bermanfaat seperti ransum ternyata tidak mudah, karena presentase keratin yang terkandung cukup tinggi yaitu sebesar 85–90 % dari kandungan proteinnya dengan sifat yang sukar dicerna. Daya cerna protein yang rendah merupakan kendala untuk pemanfaatan bulu ayam. Berdasarkan hal itu, peningkatan kualitas bulu ayam dapat dilakukan dengan melakukan degradasi limbah bulu ayam dengan bantuan mikroba keratinolitik.

Beberapa penelitian mengenai degradasi keratin pada limbah bulu ayam telah dilakukan sebelumnya seperti penelitian yang dilakukan oleh Kani *et al.*, (2012) melakukan degradasi limbah bulu ayam selama 31 hari menggunakan bakteri *Pseudomonas microphilus* diperoleh nilai persen degradasi sebesar 70,0 % dan menggunakan bakteri *Leuconostoc sp* diperoleh persen degradasi sebesar 31,0 %. Penelitian yang dilakukan oleh Quanti (2015) melakukan degradasi limbah bulu ayam selama 25 hari pada isolat bakteri FB 2 diperoleh persen degradasi sebesar

59,4 % dan isolat bakteri FB 6 diperoleh persen degradasi sebesar 71,0 %.

Penelitian yang dilakukan oleh Anggraini (2018) melakukan degradasi limbah bulu ayam selama 14 hari pada isolat bakteri B-9-6 diperoleh persen degradasi sebesar 65,2 %, isolat bakteri B-9-7 diperoleh persen degradasi sebesar 66,2%, konsorsium bakteri diperoleh persen degradasi sebesar 71,0 %.

Pada penelitian ini dilakukan uji biodegradabilitas dengan menggunakan isolat yang diperoleh oleh Anggraini (2018) dengan melakukan degradasi selama 12 hari, dan melakukan optimasi pH pada media *feather meal* terhadap pertumbuhan bakteri serta menentukan kadar asam amino yang dibebaskan setelah didegradasi oleh bakteri keratinolitik.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. mengetahui kemampuan bakteri isolat lokal dalam mendegradasi limbah bulu ayam
2. mengetahui pH optimum pada media *feather meal* terhadap pertumbuhan bakteri
3. mengetahui kadar asam amino yang dibebaskan setelah dilakukan degradasi pada limbah bulu ayam.

C. Manfaat Penelitian

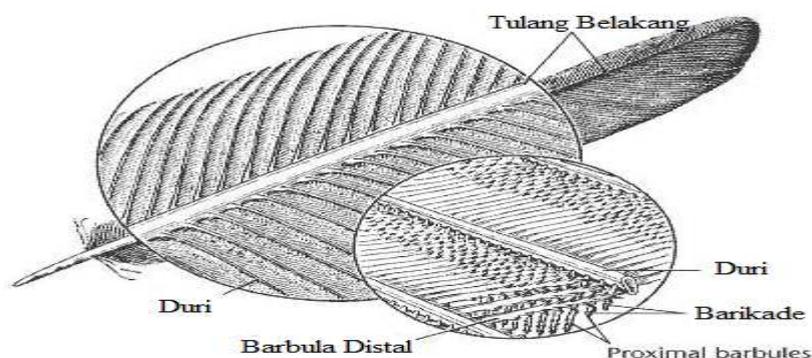
Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi kemampuan bakteri isolat lokal dalam mendegradasi keratin pada limbah bulu ayam sehingga nantinya dapat diaplikasikan ke lingkungan, agar dapat mengurangi dampak pencemaran dari

limbah bulu ayam. Selain itu, memberikan informasi mengenai kadar asam amino yang dibebaskan setelah dilakukan degradasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bulu Ayam

Bulu ayam merupakan bagian terluar dari tubuh ayam, bulu ayam hampir menutupi seluruh bagian terluar dari tubuh ayam. Bulu ayam adalah hasil samping dari ternak ayam (petelur, pedaging, dan buras) dari rumah potong dan tempat pemotongan ayam lainnya. Hasil dari pemotongan satu ekor ayam dewasa menghasilkan limbah bulu ayam sekitar 5–7 % dari berat tubuh totalnya (Gushterova *et al.*, 2005). Bulu memiliki peranan penting dalam proses fisiologis dan banyak fungsional. Bulu termasuk salah satu ciri khusus yang dimiliki unggas. Unggas yang dewasa seluruh tubuhnya ditutupi dengan bulu, kecuali pada paruh, mata, dan kaki (Anggraini, 2018). Bulu memiliki struktur yang bercabang hirarkis dan sangat teratur (Quanti, 2015). Susunan pada penampang bulu ayam dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Susunan pada bulu ayam (Rostyalina, 2015).

Bulu memiliki fungsi sebagai alat penerbangan dan perlindungan, namun tidak hanya itu bulu ayam juga berfungsi sebagai pengatur suhu tubuh dan juga berfungsi untuk memperindah bentuk tubuh ayam. Bulu memiliki susunan yang sangat teratur dengan struktur tangga yang bercabang dan bulu ayam merupakan golongan vertebrata yang memiliki struktur keratin yang kompleks (Rostyalina, 2015). Bulu ayam memiliki kandungan protein keratin dengan struktur *α -helik*, selain bulu ayam material lain seperti rambut, wool, sayap, kuku, cakar, duri, sisik, tanduk, kulit penyu, dan lapisan kulit sebelah luar kaya akan protein *α -keratin* (Lehninger, 2005).

B. Limbah Bulu Ayam

Limbah bulu ayam adalah salah satu limbah padat yang berasal dari rumah pemotongan ayam dengan jumlah berlimpah dan terus akan bertambah banyak seiring dengan meningkatnya populasi ayam dan tingkat pemotongan ayam sebagai dampak dari meningkatnya permintaan daging ayam oleh konsumen. Sampai saat ini limbah bulu ayam belum banyak dimanfaatkan dan hanya sebagian kecil saja yang sudah dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat kemoceng, pengisi jok, kerajinan tangan/hiasan, dan kok. Dalam bidang industri peternakan, bulu ayam yang tidak dimanfaatkan secara optimum akan menjadi limbah yang dapat menimbulkan dampak penurunan kualitas tanah. Bulu ayam sulit terdegradasi di lingkungan karena bulu ayam mengandung keratin protein fibrous berupa serat. Limbah bulu ayam dapat digunakan sebagai pakan ternak karena kandungan protein yang tinggi, sumber protein yang signifikan untuk ternak, dan mengandung sistin dalam jumlah besar,

glisin, arginin, dan fenilalanin (Rahayu, 2010). Limbah bulu ayam mengandung nutrisi yang cukup tinggi, diantaranya yaitu 91% protein keratin, 1% lemak, dan 8% air. Keratin pada bulu ayam disusun oleh monomer-monomer yang sebagian besar didominasi oleh asam amino seperti sistein, glutamin, prolin dan serin (Sarvanan and Dhurai, 2012; Bungsu, 2018). Sedangkan pada penelitian Gupta (2012) menyatakan bahwa kandungan keratin yang terdapat pada limbah bulu ayam tersusun oleh beberapa jenis asam amino yang lebih banyak seperti glisin, alanin, serin, sistein, valin, dan sedikit lisin, metionin, triptofan.

Tabel 1. Kandungan asam amino pada bulu ayam (Gupta *et al.*, 2012).

Asam Amino	Jumlah Kandungan Nutrisi (%)	
	Saravanan and Dhurai (2012)	Gupta <i>et al.</i> , (2012)
Arginin	4,30	6,570
Asam aspartat	6,00	4,760
Glutamin	7,62	9,180
Glisin	-	7,570
Treonin	4,00	4,110
Serin	16,00	13,570
Tirosin	1,00	1,850
Leusin	2,62	7,480
Isoleusin	3,32	4,930
Valin	1,61	7,240
Sistein	8,85	2,110
Alanin	3,44	3,660
Fenilalanin	0,86	4,110
Metionin	1,02	0,025
Prolin	12,00	1,010
Asparagin	4,00	-
Histidin	-	0,016

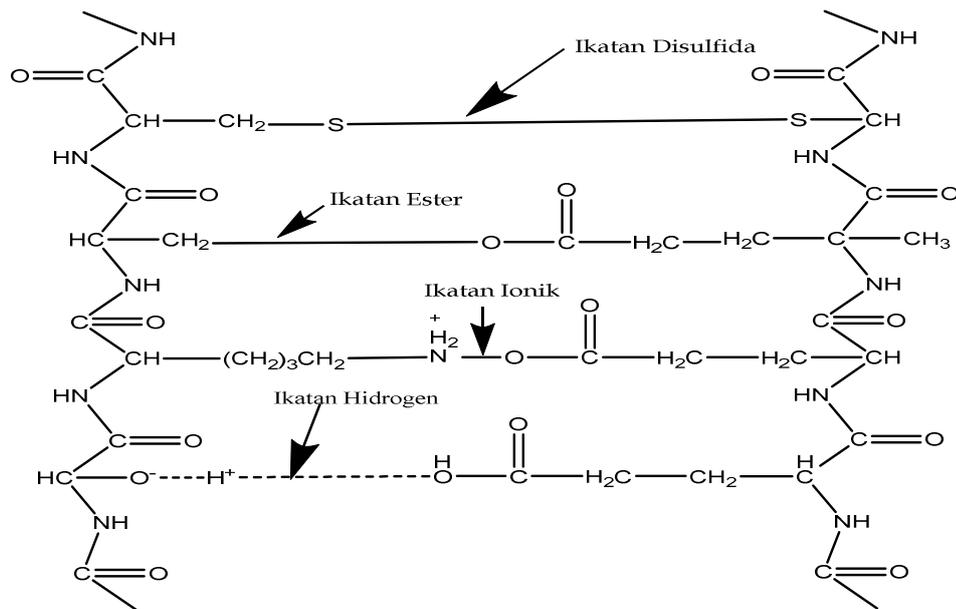
Protein kasar yang terkandung pada limbah bulu ayam sangat tinggi, yaitu sekitar 82-91%, kadar protein kasar pada limbah bulu ayam jauh lebih tinggi apabila dibandingkan tepung ikan. Berdasarkan hal tersebut limbah bulu ayam lebih

berpotensi sebagai pengganti pakan ternak tercerna yang murah dan ramah lingkungan (Rasyaf, 1996; Bungsu, 2018).

C. Keratin

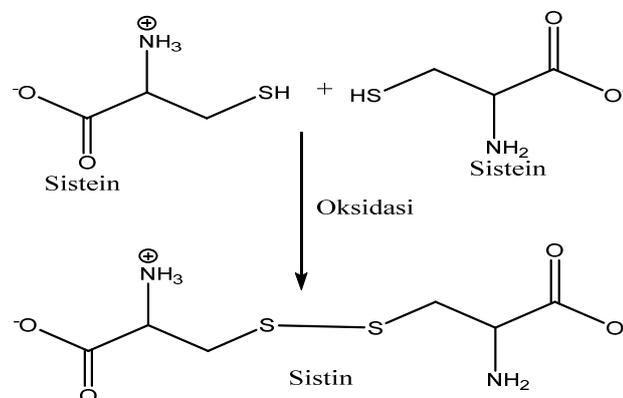
Keratin adalah salah satu bentuk biopolimer yang banyak terdapat di dunia. Keratin disusun oleh protein fibrous, yang bersifat tidak larut dan memiliki struktur yang sangat kuat, sehingga sangat bermanfaat sebagai lapisan terluar yang dapat melapisi organ manusia dan hewan agar tidak mengalami proses kehilangan cairan dalam tubuh (Bungsu, 2018). Keratin adalah salah satu jenis protein yang terdapat dalam limbah bulu ayam, keratin juga ditemukan dikulit, wol, rambut, tanduk, lapisan stratum corneum. Keratin merupakan struktur protein yang sulit di cerna karena keratin memiliki ikatan disulfida sistin, ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang dapat menyebabkan keratin menjadi kaku dan stabil, sehingga sangat sulit untuk dirombak. Keratin tahan terhadap fisik, kimia, dan perawatan biologis. Keratin dapat diubah dengan kelompok enzim protease. Keratinase merupakan sekelompok enzim protease yang dapat menghidrolisis keratin dengan memecah ikatan disulfida sistin di keratin, sehingga memiliki peran penting dalam transformasi keratin menjadi protein sederhana (Suntornsuk *et al.*, 2004).

Keratin termasuk protein fibrous yang ditandai dengan stabilitas tinggi karena memiliki ikatan disulfida sistin, ikatan hydrogen, dan interaksi hidrofobik. Keratin mengandung berbagai asam amino yaitu sistin, lisin, prolin, dan serin. (Kreplak *et al.*, 2004; Bragulla and Homberger, 2009; Calin *et al.*, 2017). Struktur keratin ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur keratin (Setyabudi, 2015).

Keratin mengandung sistein berkisar 8 % yang tidak dimiliki oleh jenis protein lain. Struktur penting keratin adalah jembatan sistein yang dapat mempengaruhi kerja enzim proteolitik pada saat memecah keratin dan dapat menjadi penentu kekuatan mekanik dari keratin tersebut (Walida, 2015). Keratin mempunyai daya tahan yang baik terhadap degradasi. Struktur α -keratin kaya residu sistein dapat memberikan jembatan disulfida di antara rantai polipeptida yang berdekatan. Sistein terdiri atas dua molekul sistein, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia sistein dan sistin (Lehninger, 2005).

Keratin mengandung ikatan disulfida (S-S), ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik pada struktur keratin yang menyebabkan protein keratin sangat stabil, kaku, dan tidak dapat didegradasi oleh enzim proteolitik yang umum seperti tripsin, pepsin (Rahayu, 2010). Menurut Kaluzewska *et al.*, (1991) dalam Koentjoro *et al.*, (2018) menyatakan bahwa keratin dapat dirombak dengan kelompok enzim protease.

D. Mikroorganisme Keratinolitik

Mikroorganisme merupakan salah satu agen biologis penghasil enzim yang lebih dominan untuk digunakan apabila dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Mikroorganisme lebih sering digunakan karena lebih menguntungkan, keuntungan yang diperoleh yaitu pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim. Mikroorganisme adalah salah satu faktor yang penting dalam usaha produksi enzim. Berdasarkan hal tersebut eksplorasi mikroorganisme indigenous penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia (Kosim dan Surya, 2010).

Bakteri keratinolitik merupakan salah satu kelompok yang tergolong ke dalam mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim spesifik berupa enzim keratinase. Keberagaman dari kelompok mikroorganisme keratinolitik sendiri sudah banyak dilaporkan dan dipelajari dalam kemampuannya menghasilkan enzim keratinase. Enzim keratinase diperoleh dari proses produksi dari 3 kelompok mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan kelompok Actinomycetes

(Tabel 2). Mikroorganisme tersebut bahkan telah dilaporkan dapat diisolasi dari tanah Antartika hingga ke sumber air panas baik pada kondisi lingkungan aerobik maupun anaerobik (Brandelli *et al.*, 2010).

Tabel 2. Karakteristik beberapa mikroorganisme penghasil keratinase (Walida, 2015)

Mikroorganisme	Berat Molekul (g/mL)	pH	Suhu (°C)	Tipe
Bakteri				
<i>Stenotrophomonas</i>	35,20	7,8	40	Serin
<i>Bacillus</i> sp. 50-3	27,42	7	37	Serin
<i>B.halodurans</i> PPKS2 Ker I	30-60	11	60-70	Serin
<i>B.halodurans</i> PPKS2 Ker II		11	60	-
<i>Bacillus subtilis</i>	64-69	5-7	70	Serin
<i>B.subtillis</i> KD-N2	30,5	8,5	40	Serin
<i>Bacillus pumilis</i>	34	9	55	Serin
<i>Bacillus licheniformis</i>	35	8,5	60	Serin
<i>Bacillus pseudofirmus</i>	27,5	8,8	-	-
FA 30-01		10,3	60	Serin
<i>Bacillus</i> sp. SCB-3	134	7	40	Metalo – Protease
<i>Chryseobacterium</i> sp. Kr6	20	0	50-60	Metalo – Protease
<i>B. subtilis</i> PB 100	0	7	30	-
<i>B. subtilis</i> MTCC9102	0	7	37	-
<i>Paracoccus</i> sp. WJ-98	0	7,5	37	Metalo – Protease
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0	8	45-55	Metalo – Protease
<i>Serratia marcescens</i>	0	6	45-55	Metalo – Protease
<i>Bacillus</i> sp. Strain	0	8-11	45-65	Metalo – Protease
Jamur				
<i>Myrothecium verrucaria</i>	0	9	40	Serin
<i>Trichophyton</i>				
<i>Mentagrophyte</i>	38	5,5	50	Serin
<i>Var.eri nacei</i>				
<i>Penicillium</i> sp. Ahm I	19	7-8	50	Metalo – Protease
Ahm II	40	10-11	60-65	
Actinomycetes				
<i>Streptomycetes</i> sp. 7	-	11	45	-

Bacillus sp merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki banyak kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. *Bacillus* sp sangat berpotensi untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena *Bacillus* sp mempunyai sifat memiliki suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, kemampuan enzimatik yang dimiliki cukup beragam. Beberapa dari *Bacillus* sp mampu melakukan biodegradasi pada banyak senyawa rekalsitran dan juga faktor tumbuh *Bacillus* sp cukup murah (Marzuki, 2015).

Bacillus sp adalah salah satu jenis bakteri mempunyai bentuk seperti batang, termasuk kedalam golongan bakteri gram positif, motil, spora yang dihasilkan biasanya resisten pada panas, jenis *Bacillus* sp dominan bersifat aerob namun beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif, katalase positif, dan oksidasi bervariasi. *Bacillus* sp adalah salah satu jenis bakteri yang mampu untuk menghasilkan protease.

Bacillus subtilis merupakan bakteri yang dapat ditemukan di tanah. Bentuk spora yang dimiliki yaitu oval atau silinder dan lebarnya tidak melebihi dari sel induknya. *Bacillus subtilis* berbentuk batang lurus gram positif berukuran 1,5 x 4,5 μm , masing-masing atau tersusun dalam bentuk rantai. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang bersifat aerob. *Bacillus subtilis* termasuk ke dalam kelompok bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 45°C - 55°C dan juga dalam pertumbuhannya suhu yang dimiliki *Bacillus subtilis* merupakan suhu optimum pada suhu 60°C - 80°C dan tumbuh pada kisaran pH 7–8 (Hasanah, 2016).

Actinomycetes merupakan salah satu bakteri gram positif yang mempunyai sifat aerob. Morfologi *Actinomycetes* sama seperti fungi yaitu memiliki miselium. Kadar GC (Guanin dan Sitosin) yang dimiliki *Actinomycetes* cukup tinggi. Metabolit sekunder bioaktif yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* termasuk antibiotika, agen antitumor. Metabolit ini diketahui memiliki anti bakteri, anti jamur, anti oksidan, neuritogenik, anti kanker, anti malaria dan anti inflamasi. *Actinomycetes* memiliki potensi besar untuk mensintesis metabolit sekunder bioaktif (Ratnakomala *et al.*, 2011).

Streptomyces adalah genus dari kelas *Actinomycetes* umumnya ditemukan di tanah. *Streptomyces* termasuk prokariot yang mampu menghasilkan substansi penting untuk kesehatan seperti antibiotik, enzim, dan *immune modulator* dan termasuk organisme tanah bersifat umum seperti yang dimiliki oleh bakteri dan jamur namun ciri khas yang dimiliki cukup berbeda yang membatasinya menjadi satu kelompok yang jelas berbeda (Anggraini, 2018).

E. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri adalah ketika suatu bakteri dimasukkan ke dalam suatu medium baru, lazimnya bakteri tidak segera membelah diri, namun akan memerlukan waktu untuk melakukan penyesuaian diri dalam medium tersebut. Selain itu beberapa faktor seperti lingkungan yang telah sesuai, maka bakteri akan membelah diri. Pada awalnya bakteri akan membelah dengan kecepatan membelah yang cukup lambat lalu akan meningkat. Setiap bakteri mempunyai kurva pertumbuhan bakteri apabila pada waktu-waktu tertentu jumlah dari bakteri dihitung dan dibuat grafiknya dengan hubungan antara jumlah bakteri dan waktu

(Febriyansari, 2014). Pada kurva tersebut, dapat diketahui adanya fase-fase pertumbuhan dimulai dari fase lambat, fase eksponensial, fase seimbang, dan fase kematian. Berikut ini merupakan penjelasan mengenai fase-fase yang terjadi pada pertumbuhan bakteri.

1. Fase Lambat (*Lag Phase*)

Fase lambat adalah fase adaptasi atau fase suatu bakteri mulai menyesuaikan diri, fase ini mengikuti inokulasi media nutrisi. Suatu biakan yang dipindahkan dari suatu lingkungan ke lingkungan yang lain, maka mikroba perlu mengorganisasi kembali konstituen mikro dan makromolekulnya. Pada fase ini massa sel mungkin saja dapat bertambah namun tanpa diikuti oleh pertumbuhan jumlah sel.

2. Fase Eksponensial (*Log Phase*)

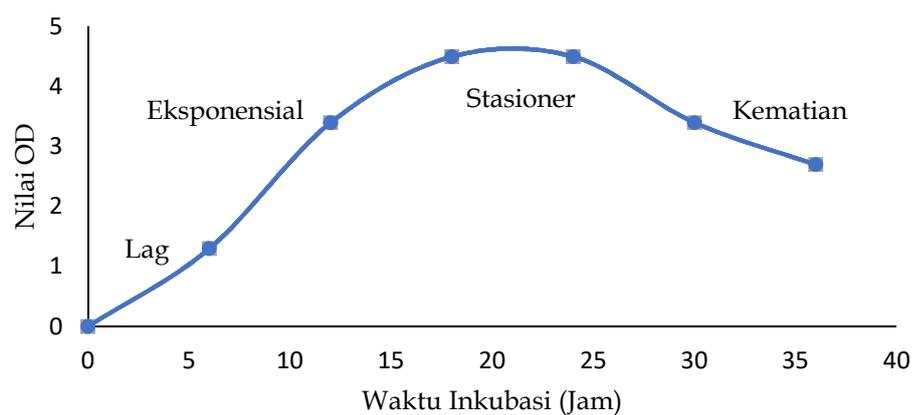
Fase eksponensial adalah fase pertumbuhan sel, pada fase ini pertumbuhan yang terjadi stabil atau keadaan pertumbuhan yang tenang dan juga laju pertumbuhan spesifiknya tetap. Pada fase ini komposisi kimia total cairan fermentasinya terjadi perubahan, sebab nutrisi-nutrisi sedang dikonsumsi mikroba dan produk-produk metabolit sedang diproduksi.

3. Fase Seimbang (*Stationary Phase*)

Fase seimbang adalah fase yang terjadi jika semua sel sudah mencapai kesetimbangan dengan sel-sel yang mati. Pada penginkubasian yang lebih lanjut, beberapa hal mungkin dapat terjadi. Meskipun pada pertumbuhan bersihnya sudah berhenti, mungkin masih dapat terjadi metabolisme dan mengakumulasi produk-produk dalam sel atau cairan fermentasi. Massa total sel mungkin tetap namun kuantitas sel yang hidup dapat mengalami penurunan (Supartono dkk., 2008).

4. Fase Kematian

Fase kematian adalah fase dimana jumlah sel yang mati terjadi peningkatan dan lebih banyak dari jumlah sel yang hidup, hal tersebut disebabkan karena tidak tersedianya nutrisi dan akumulasi produk buangan yang bersifat toksik (Pratiwi, 2007). Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva pertumbuhan bakteri (Volk and Wheeler, 1993).

Dalam menghitung jumlah sel bakteri secara tidak langsung digunakan kurva pertumbuhan, yaitu dengan memplotkan nilai absorbansi dan jumlah koloni ke dalam persamaan garis kurva standar $y = ax + b$, dengan y diketahui sebagai jumlah koloni dan x besarnya nilai absorbansi (Torotoro, 2001).

Metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel yang digunakan dalam pembuatan kurva dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan yang kedua dengan menggunakan spektrofotometer untuk melihat tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang dapat diketahui dengan membaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang 600

nm. Panjang gelombang tersebut digunakan untuk mengetahui tingkat kekeruhan larutan yang berwarna kuning sampai coklat (Febriyansari, 2014).

F. Biodegradasi

Biodegradasi merupakan proses penguraian oleh aktivitas mikroba yang dapat menyebabkan transformasi struktur suatu senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekuler (Sumarsono, 2011). Dalam proses biodegradasi terjadi perubahan dari bahan kimia yang kompleks menjadi produk yang tereliminasi seperti air (H_2O) dan Karbondioksida (CO_2).

Proses biodegradasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah :

1. Substrat

Komponen dan ukuran senyawa penyusun substrat dapat mempengaruhi proses biodegradasi. Ukuran substrat yang lebih kecil senyawa penyusunnya lebih sederhana dapat mempengaruhi proses biodegradasi menjadi lebih cepat.

2. pH

pH merupakan salah satu faktor penting dalam proses degradasi. Enzim yang berperan dalam proses degradasi akan mengurai substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu. Jika pH sesuai, maka kerja enzim ekstraseluler dalam mendegradasi substrat akan optimum.

3. Suhu

Suhu berperan penting dalam proses biodegradasi, suhu yang meningkat menyebabkan energi kinetik pada molekul substrat akan meningkat, sehingga degradasi juga meningkat. Namun suhu yang terlalu tinggi juga tidak baik dalam

proses biodegradasi karena dapat menyebabkan rusaknya enzim, sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menghambat proses biodegradasi (Dias *et al.*, 2007).

G. Degradasi Keratin

Keratin adalah salah satu protein serat yang terdapat pada rambut, bulu, dan kuku, serta kaya akan sistein dan sistin. Degradasi keratin menjadi molekul yang lebih sederhana merupakan proses yang sangat kompleks dan memerlukan kerja sinergis enzim-enzim keratinolitik (Quanti, 2015). Enzim keratinolitik atau yang biasa disebut dengan keratinase yang telah dimurnikan dari berbagai mikroorganisme dapat bertindak sebagai proteinase dan mempunyai aktivitas yang sangat tinggi, dapat larut dalam protein substrat seperti keratin (Bockle *et al.*, 1995).

Susunan struktural antar ikatan yang terdapat pada keratin sangat rapat, kerapatan susunan struktural antara ikatan mampu menghalangi proses pemecahan atau pemutusan ikatan tertentu sehingga menyebabkan keratin hanya dapat terdegradasi oleh bantuan kelompok enzim proteinase tertentu, khususnya keratinase. Konfigurasi struktur yang dimiliki enzim keratinase memungkinkan terjadinya interaksi pada struktur β -keratin sehingga mampu merusak lapisan struktur ikatan β tersebut dan memulai proses perusakan atau penghidrolisisan senyawa keratin (Kim *et al.*, 2001).

Degradasi keratin dalam medium ditandai dengan dilepaskannya produk-produk hidrolisis ke dalam medium. Produk utama adalah peptida berberat molekul satu hingga dua kilo Dalton, akan tetapi ditemukan juga asam amino bebas dan

protein berberat molekul tinggi. Indikator terbaik terjadinya keratinolisis adalah peningkatan pH medium (sedikitnya mencapai pH 8,0) yang menggambarkan penggunaan protein keratin, deaminasi, dan produksi ammonia (Kunert, 2000). Beberapa peneliti telah melakukan penelitian mengenai degradasi keratin pada limbah bulu ayam dengan menggunakan berbagai mikroorganisme, data ini ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Beberapa penelitian degradasi keratin pada limbah bulu ayam

No	Peneliti	Mikroorganisme	Waktu Inkubasi (Hari)	Persentase Degradasi
1	Kani <i>et al.</i> , (2012)	<i>Pseudomonas microphilus</i>	31	70,0
2	Quanti (2015)	<i>Leuconostoc</i> sp	31	31,0
		FB 2	25	59,4
3	Manirujjaman (2016)	FB 6	25	71,0
		SAR 1	7	86,0
4	Bohacz (2017)		4-6	90,0
		<i>Chrysosporani umarticulatu</i>	42	63,7
5	Bungsu (2018)	<i>Aphanoascus Fuluescens</i>	42	65,9
		PK09	10	43,0
		LU04	10	37,0
6	Anggraini (2018)	B-9-6	14	65,2
		B-9-7	14	66,2
		Konsorsium	14	71,0

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2019 - Juli 2019 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah alat-alat gelas, jarum ose, kapas, kasa, mesin penggiling, pembakar spiritus, kertas saring, rak tabung, termometer, batang pengaduk kaca, spatula, kompor gas, *autoclave* model S-90N, lemari pendingin Sanyo SF-C18K, mikropipet Eppendorff, *laminar air flow* CURMA model 9005-FL, neraca analitik Ainsworth AA-160, penangas Precistern JP' Selecta, *magnetic stirrer* STUART (*stir* CB161 dan *heat-stir*- CB162), sentrifuga model 225 *Fisher Scientific*, shaker inkubator, pH meter Metrohm Mobile 826, dan Spektrofotometer UV-VIS Carry Win UV 32.

Adapun bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak ragi, agar-agar, bulu ayam, akuades, NaCl, KH₂PO₄, K₂HPO₄, pepton 1 %, MgSO₄.6H₂O, NH₄Cl, NaOH, HCl, dan Tirosin.

C. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Persiapan Alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan dicuci kemudian dikeringkan dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Sterilisasi dilakukan untuk menghilangkan mikroba yang tidak diinginkan.

b. Pembuatan Tepung Bulu Ayam

Bulu ayam yang sudah diperoleh dari RPA dicuci bersih dan direndam selama 24 jam menggunakan aseton, lalu dioven selama 24 jam pada suhu 70 °C. Setelah bulu ayam mengering, bulu ayam diproses menjadi tepung bulu ayam dengan cara digiling dan diayak menggunakan ayakan 30 Mesh. Proses pengayakan dilakukan untuk mendapatkan bulu ayam yang halus.

c. Pembuatan Medium *Feather Meal Agar* (FMA)

Pembuatan medium FMA dilakukan dengan mencampurkan 1 g tepung bulu ayam, 0,05 g NaCl, 0,04 g K₂HPO₄, 0,03 g KH₂PO₄, 0,01 g MgSO₄·6H₂O, 0,05 g NH₄Cl, 0,1 g ekstrak ragi, 2 g agar-agar, dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL, selanjutnya dihomogenkan (Agrahari and Neeraj, 2010). Medium FMA yang telah homogen, selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Setelah dilakukan sterilisasi,

selanjutnya medium dituangkan kedalam tabung reaksi steril sebanyak kurang lebih 6 mL proses ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Medium dimiringkan dan dibiarkan memadat pada suhu kamar.

d. Pembuatan Medium *Feather Meal Cair*

Pembuatan medium *Feather Meal Cair* dilakukan sama seperti pada prosedur pembuatan medium FMA, namun pada medium cair agar-agar tidak digunakan dalam komposisinya dan ditambahkan pepton 1%. Penambahan pepton digunakan untuk meningkatkan kemampuan mikroba dalam menghasilkan enzim keratinase (Balakumar *et al.*, 2013). Bahan-bahan pembuatan medium *Feather Meal Cair* yang telah disiapkan dimasukan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL. Medium disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm (Anggraini, 2018).

e. Pembuatan Medium Garam Cair

Pembuatan medium garam cair dilakukan sama seperti pada prosedur pembuatan medium FMA, namun pada medium garam cair tepung bulu ayam dan agar-agar tidak digunakan dalam komposisinya. Bahan-bahan pembuatan medium garam cair yang telah disiapkan dimasukan kedalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL dan dihomogenkan. Medium disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Medium garam cair digunakan pada uji biodegradabilitas limbah bulu ayam (Anggraini, 2018).

f. Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Disiapkan 5 buah labu ukur dan masing-masing diisi larutan stok standar tirosin dari 1000 ppm lalu diencerkan dengan cara pengenceran bertingkat dengan menambahkan akuades sampai tanda batas, sehingga dihasilkan konsentrasi 10, 20, 40, 60, dan 80 ppm. Kemudian diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Blanko yang digunakan adalah akuades. Fungsi pembuatan kurva standar tirosin adalah untuk menentukan persamaan regresi linier dan selanjutnya akan diplotkan dengan absorbansi filtrat untuk mengetahui kadar asam amino yang dibebaskan.

2. Peremajaan Bakteri

Bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari isolasi yang dilakukan oleh Anggraini (2018) yaitu isolat bakteri B-9-6 dan B-9-7.

Peremajaan dilakukan dengan memindahkan 1 ose isolat bakteri ke dalam tabung reaksi yang berisi medium FMA dengan metode gores *zig-zag*, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Peremajaan ini berfungsi untuk memperoleh biakan bakteri uji yang masih aktif dalam pertumbuhan dan metabolismenya.

3. Penyiapan Inokulum (Starter) Mikroba

Inokulum disiapkan menggunakan isolat bakteri B-9-6 dan B-9-7. Sebanyak 1 ose isolat bakteri diinokulasikan pada 50 mL medium *Feather Meal Cair* dalam Erlenmeyer 250 mL. Selanjutnya diinkubasi selama 16-18 jam menggunakan *Shaker Incubator* dengan kecepatan 150 rpm.

4. Uji Biodegradabilitas Limbah Bulu Ayam

Uji biodegradabilitas dilakukan dengan mencampurkan 45 mL media garam cair dengan 0,5 g bulu ayam kasar hasil penggilingan pertama sebagai substrat yang didegradasi. Medium garam cair yang ditambahkan limbah bulu ayam disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Medium garam cair dan limbah bulu ayam yang sudah disterilisasi, kemudian ditambahkan 5 mL inokulum bakteri, lalu diinkubasi selama 12 hari menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm dan suhu 35 °C. Pada hari ke 4, 8, dan 12 dilakukan sampling. Sampling dilakukan dengan menyaring sisa substrat menggunakan kertas saring dan dikeringkan pada suhu 80 °C selama 24 jam di dalam oven hingga diperoleh berat konstan. Uji biodegradabilitas limbah bulu ayam dilakukan dengan empat perlakuan yaitu dengan menggunakan kultur tunggal dari isolat B-9-6, isolat B-9-7, kultur campuran (konsorsium) isolat B-9-6 dan B-9-7, dan kontrol. Kontrol negatif disiapkan dengan perlakuan yang sama, pada Erlenmyer 250 mL yang berisi media garam cair dan bulu ayam tetapi tanpa penambahan starter bakteri. Kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi keratin dihitung dengan menimbang berat kering sampel dengan penambahan isolat bakteri dibandingkan dengan berat kontrol tanpa penambahan bakteri (Kani *et al.*, 2012).

Degradasi pada limbah bulu ayam oleh bakteri keratinolitik dapat diketahui dengan berkurangnya berat sampel yang lebih kecil dari berat awal.

Berkurangnya berat kering sampel dihitung sebagai presentase degradasi sedangkan sampel yang tidak terdegradasi dihitung sebagai sisa substrat.

5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Dua ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium starter berupa medium *Feather Meal* cair diinkubasi selama 24 jam dengan menggunakan *shaker incubator* berkecepatan 150 rpm. Sebanyak 2% dari volume total medium kultur dipindahkan secara aseptis ke medium kultur dengan variasi pH (7, 7,5, dan 8) dan diinkubasi dengan menggunakan *shaker incubator* berkecepatan 150 rpm, kultur diambil setiap 24 jam secara berkala selama beberapa hari (Marzuki, 2015).

Pengambilan kultur dilakukan tiap hari mulai dari hari pertama sampai hari ke 13. Hal ini dilakukan untuk pengukuran pertumbuhan bakteri yang dikenal dengan pengukuran *Optical Density* (OD). Pengukuran OD dilakukan dengan cara sebanyak 0,3 mL kultur diencerkan dengan menambahkan 2,7 mL akuades steril lalu dihomogenkan. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet, lalu diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 600 nm. Sedangkan untuk blanko digunakan medium *Feather Meal* cair tanpa penambahan isolat. Sebanyak 0,3 mL lalu ditambahkan 2,7 mL akuades steril (Anitha and Eswari, 2012).

6. Uji Biodegradabilitas Limbah Bulu Ayam pada pH 7,5

Uji biodegradabilitas dilakukan sama seperti uji biodegradabilitas sebelumnya, namun pada uji biodegradabilitas ini medium inokulum dan medium garam cair ditentukan pHnya. pH yang digunakan yaitu pH 7,5 hasil dari tahap sebelumnya penentuan pH optimum. Uji biodegradabilitas limbah bulu ayam pada pH optimum ini hanya dilakukan pada konsorsium bakteri karena pada uji biodegradabilitas sebelumnya telah diperoleh persen degradasi terbesar pada

konsorsium bakteri. Uji ini dilakukan selama 12 hari dengan interval waktu sampling setiap 2 hari.

7. Penentuan Kadar Asam Amino yang dibebaskan

Untuk mengetahui asam amino terlarut setelah dilakukan degradasi selama 12 hari dengan interval waktu 2 hari, masing-masing filtrat hasil uji biodegradabilitas yang diperoleh, dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5,000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, dipisahkan supernatan dengan pelet, sebanyak 0,4 mL supernatan diencerkan dengan menambahkan 3,6 mL akuades steril lalu dihomogenkan. Kemudian di masukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang 280 nm.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. berdasarkan hasil analisis uji biodegradabilitas dengan menggunakan variasi kultur isolat bakteri diperoleh bahwa konsorsium isolat B-9-6 dan B-9-7 menghasilkan % degradasi terbesar yaitu 70,59 % dalam waktu inkubasi 12 hari.
2. konsorsium bakteri tumbuh optimum pada pH 7,5 dengan nilai OD 0,49.
3. pada pH 7,5 konsorsium isolat B-9-6 dan B-9-7 mampu mendegradasi limbah bulu ayam sebanyak 70,04% selama 12 hari.
4. sebanyak 580,46 ppm asam amino dibebaskan dari degradasi limbah bulu ayam oleh konsorsium bakteri.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan optimasi suhu dan penambahan variasi nutrien pada penentuan kurva pertumbuhan dan uji biodegradabilitas bakteri pada limbah bulu ayam untuk menghasilkan % degradasi lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam dan Shovitri, M. 2014. *Pengaruh Waktu dan pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Keratinase dari Isolat Bacillus SLII-I*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Adiati, U., Puastuti, W., dan Mathius, I-W. 2004. Peluang Pemanfaatan Tepung Bulu Ayam Sebagai Bahan Pakan Ternak Ruminansia. *Wartazoa*. 14: 39–44.
- Agrahari, S., and Neeraj, W. 2010. Degradation of Chicken Feather a Poultry Waste Product by Keratinolytic Bacteria Isolated from Dumping Site at Ghazipur Poultry Processing Plant. *International Journal of Poultry Science*. 9: 482–489.
- Angraini, M.T. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Pendegradasi Limbah Bulu Ayam serta Uji Biodegradabilitasnya. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Anitha, A., and Eswari, R. 2012. Impact Of Newly Isolated *Bacillus megaterium* (A1) On Degradation Of Feather Waste. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 3: 212–221.
- Balakumar, S., Mahesh, N., Arunkumar, M., Sivakumar, R., and Hemambujavalli, V. 2013. Optimization of Keratinase Production by Keratinolytic Organisms under Submerged Fermentation. *International Journal of PharmTech Research*. 5: 1294–1300.
- Bockle, B., Galunsky, B., and Muller, R. 1995. Characterization of a Keratinolytic Serine Proteinase from *Streptomyces pactum* DSM 40530. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 3705–3710.
- Bohacz, J. 2017. Biodegradation of Feather Waste Keratin By A Keratinolytic Soil Fungus of The Genus *Chrysosporium* and statistical optimization of Feather Mass Loss. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 33: 1–16.
- Bragulla, H.H., and Homberger, D. G. 2009. Structure and Functions of Keratin Proteins in Simple, Stratified, Keratinized and Cornified Epithelia. *Journal of Anatomy*. 214: 516–559.

- Brandelli, A., Daroit, D.J., and Riffel, A. 2010. Biochemical Features of Microbial Keratinase and Their Production and Applications. *Appl Microbial and Biotechnol.* 85: 1750.
- Bungsu, A. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Keratinolitik Dari Beberapa Sumber Keratin dan Karakterisasi Enzimnya. *Skripsi.* Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Calin, M., Constantinescu-Aruxandei, D., Alexandrescu, E., Raut, I., Doni, M. B., Arsene, M. L., and Lazăr, V. 2017. Degradation of keratin substrates by keratinolytic fungi. *Electronic Journal of Biotechnology.* 28: 101–112.
- Cao, L., Tan, H., Liu, Y., Xue, X., and Zhou, S. 2008. Characterization of A New Keratinolytic Trichoderma Atroviride Strain F6 that Completely Degrades Native Chicken Feather. *Letters in Applied Microbiology.* 46: 389–394.
- Dias, M.O.S., Filho, R. machiel, and Rossel, C.E.V. 2007. Efficient Cooling of Fermentation Vats In Ethanol Production. *Journal.* 70;11.
- Febriyansari, A. 2014. Penerapan Model Gompertz pada Pertumbuhan Bakteri *L.acidophilus* dan *B. Longum* di Media Adonan Es Krim (Ice Cream Mix atau ICM) Jenis Standar. *Skripsi.* Universitas Brawijaya. Malang.
- Gradisar, H., Friedich, J., Krizaj, I., and Jerala, R. 2005. Similarities and Specificities of Fungal Keratinolytic Proteases: Comparison of Keratinases of *Paecilomyces marquandii* and *Doratomyces Microsporusto* Some Known Proteases. *J. Appl Environmient Microbiol.* 71: 3420–3426.
- Gupta, A., Kamarudin, N.B., Chua, G.K, and Yunus, R.B.M. 2012. Extraction of Keratin Protein from Chicken Feather. *J. Chem. Chem. Eng.* 6: 732-737.
- Gushterova, A., Vasileva-Tonkova, E., Dimova, E., Nedkov, P., and Haertlé, T. 2005. Keratinase Production by Newly Isolated Antarctic Actinomycete Strains. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 21: 831–834.
- Hasanah, U. 2016. *Peningkatan Kestabilan Enzim Protease dari Bacillus subtilis ITBCCB148 Dengan Amobilisasi Menggunakan Zeolit.* Universitas Lampung. Lampung.
- Kaluzewska, M. A., Wawzkiewiicz, and Lobarzewski, J. 1991. Microscopic Examination of Keratin Substrates Subjected to The Action of The Enzymes of *Streptomyces Fradiae*. *International Biodeterioration and Biodegradation,* 127: 11–26.
- Kani, P.T, Subha, K., Madhanraj, P., Senthilkumar, G., and Panneerselvam, A. 2012. Degradation of Chicken Feathers by *Leuconostoc sp* and *Pseudomonas microphilus*. *European Journal Experimental Biology.* 2:358–362.

- Ketaren, N.B. 2008. *Pemanfaatan Limbah Bulu Ayam Sebagai Sumber Protein Ayam Pedaging Dalam Pengelolaan Lingkungan Hidup*. USU. Medan.
- Kim, J.M., Lim, W. J., and Suh, H. J. 2001. Feather-Degrading Bacillus Species from Poultry Waste. *Process Biochemistry*. 37: 287–291.
- Koentjoro, M.P., Endry, N.P., and Ahmad, M.R. 2018. Optimasi Produksi Keratinase Oleh Bacillus SLII-I Bakteri Dalam Medium Limbah Ayam. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*. 13: 482–488.
- Kosim, M., and Surya, R. P. 2010. *Pengaruh Suhu pada Protease dari Bacillus Subtilis*. ITS Press. Surabaya.
- Kreplak, L., Doucet, J., Dumas, P., and Briki, F. 2004. New Aspects of The α -Helix to β -Sheet Transition in Stretched Hard α -Keratin Fibers. *Biophysical Journal*. 87: 640–647.
- Kunert, J. 2000. *Physiology of Keratinophilic Fungi*. Palacky University, Czech.
- Lehninger. 2005. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Manirujjaman, M., Amin, R., Nahid, A. A., and Alam, M. S. 2016. Isolation and characterization of feather degrading bacteria from poultry waste. *Academic Journal*. 8: 14–21.
- Marzuki, A.R. 2015. Optimasi Produksi Keratinase oleh Bakteri *Bacillus SLII-I* Dalam Medium Limbah Bulu Ayam. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Middlebeek, E.J., Jenkins, R., and Hass, J.S.D. 1992. Growth In Batch Culture In Vitro Cultivation of Micro-organisms. *Biotechnology by Open Learning*.
- Okoh, I.A. 2006. Biodegradation Alternative in The Clean up of Petroleum Hydrocarbon Pollutans. *Biotech and Molecular Biology Review* 1. 2: 38–50.
- Pratiwi, S. 2007. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Quanti, M. 2015. Isolasi Dan Potensi Bakteri Keratinolitik Dari Feses Buaya (*Crocodylus sp .*) Dalam Mendegradasi Limbah Keratin. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Rahayu, S. 2010. Mempelajari Aktivitas Keratinase dan Disulfida Reduktase dari *Bacillus sp*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rasyaf, M. 1996. *Beternak Ayam Petelur*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Ratnakomala, S., Ridwan, R., Lisdiyanti, P., Abinawanto, and Andi, U. 2011. Screening of Actinomycetes Producing an ATPase Inhibitor of Japanese Encephalitis Virus RNA Helicase from Soil and Leaf Litter Samples. *Microbiology Indonesia*. 5: 15–20.
- Rostyalina. 2015. *Solidifikasi Zink Pada Limbah Bulu Ayam Dengan Menggunakan Semen Portland*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Sarvanan, K., and Dhurai, B. 2012. Exploration on Amino Acid Content and Morphological Structure in Chicken Feather Fiber. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*. 7: 1–6.
- Setyabudi, R.B. 2015. Aktivitas Keratinolitik *Aspergillus niger* Pada Tepung Bulu Ayam Menggunakan Solid State Fermentation (SSF). *Skripsi*. Universitas Jember. Jember.
- Setyahadi, S., and Rahayu, P. 2012 . Protease Dari *Bacillus sp.* Sebagai Pendegradasi Bulu Ayam Untuk Pembuatan Tepung Bulu. *Journaln of Research on Leadership*. 8: 59–66.
- Sinoy, T.E.S., Bhausahab, C.P., and Pratiksha, P. R. 2011. Isolation and Identification of Feather Degradable Microorganism. *VSRD-TNTJ*. 2: 128–136.
- Sumarsono, T. 2011. Biodegradasi Campuran Benzen, Toulen, dan Xilen (Btx) dalam Adsorben Clay oleh Konsorsium Mikroba dengan Penambahan Biosurfaktan *Pseudomonas Putida* TI. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suntornasuk, W, and Suntornasuk, L. 2003. Feather Degradation by *Bacillus sp.* FK 46 in Submerged Cultivation. *Bioresource Technology*. 86: 239–243.
- Suntornasuk, W., Tongjun, J., Onnim, P., Oyama, H., and Ratanakanokchai, K. 2004. Purification and Characterisation of Keratinase from a Thermotolerant Feather-degrading Bacterium Purification and characterisation of keratinase from a thermotolerant feather-degrading bacterium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21: 1111-1117.
- Supartono, W., N, Herlina., and E, Ratnaningsih. 2008. Produksi dan Karakterisasi Antibiotika dari *Bacillus subtilis* BAC4 Galur Lokal Baru. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing. DP2M Dirjen Dikti Depdiknas RI*.
- Tiwary, E., and Gupta, R. 2012. Rapid Conversion of Chicken Feather to Feather Meal Using Dimeric Keratinase from *Bacillus licheniformis* ER-15. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*. 2: 0–4.
- Torotoro, G. 2001. *Microbiology*. Pearson Eductaion. USA.

Volk, W. A., and Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.

Walida, H. 2015. Isolasi Bakteri Keratinolitik dari Limbah Bulu Ayam
Karakterisasi Enzim Keratinase. *Skripsi*. USU. Medan.

Yamamura, S., Morita, Y., Hasan, Q., Yokoyama, K., and Tamiya, E. 2002.
Keratin Degradation A Cooperative Action of Two Enzymes. *Biochemical
and Biophysical Research Communications*. 294: 1138–1143.