

**OPTIMASI PRODUKSI HIDROLISAT PROTEIN DARI LIMBAH BULU
AYAM MENGGUNAKAN BAKTERI ISOLAT LOKAL B-2-2**

(Skripsi)

Oleh

Aprilia Fransiska Br Sembiring



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI HIDROLISAT PROTEIN DARI LIMBAH BULU AYAM MENGGUNAKAN BAKTERI ISOLAT LOKAL B-2-2

Oleh

Aprilia Fransiska Br Sembiring

Limbah bulu ayam merupakan salah satu limbah yang sulit terdegradasi karena kandungan protein keratin yang terkandung di dalamnya. Keratin yang terdapat pada bulu ayam memiliki sifat yang sulit terdegradasi karena memiliki stabilitas ikatan yang tinggi dan sulit larut dalam air. Biodegradasi oleh mikroba untuk mengubah struktur kompleks keratin dipilih karena prosesnya lebih ramah lingkungan. Isolat B-2-2 sebelumnya dilaporkan memiliki mampu mendegradasi 68% limbah bulu ayam dalam medium FML dengan sumber C glukosa pada pH 9 selama 12 hari dan menghasilkan hidrolisat protein sebesar 801 ppm, kemampuannya masih perlu diselidiki lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki kondisi kultur optimum menggunakan sumber karbon (glukosa, laktosa dan sukrosa) dan sumber nitrogen (NH_4Cl , NaNO_3 , dan KNO_3), mengetahui kadar asam amino yang dibebaskan, dan kadar hidrolisat protein selama proses biodegradasi. Uji biodegradasi oleh isolat ini dilakukan pada medium FML menggunakan variasi inokulum (5, 10 dan 20 mL) dan 1% sumber karbon dan nitrogen selama 12 hari. Data yang diamati dari penelitian ini adalah degradasi bulu ayam, aktivitas enzim, asam amino yang dibebaskan, dan kadar hidrolisat protein pada kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat B-2-2 mampu mendegradasi 71,54% bulu ayam dengan volume inokulum 10 mL pada medium FML tanpa penambahan sumber C atau sumber N lain. Pada kondisi tersebut diperoleh aktivitas enzim optimum diperoleh pada hari ke-8 sebesar 42 U/mL, kadar asam amino yang dibebaskan tertinggi pada hari ke-12 sebesar 691 ppm, dan kadar hidrolisat protein pada kultur optimum pada hari ke-5 sebesar 536 ppm. Dari data-data tersebut membuktikan bahwa optimasi medium FML dengan penambahan sumber C dan sumber N pada penelitian ini lebih tidak berpengaruh terhadap proses degradasi dan juga produksi hidrolisat protein.

Kata kunci: limbah bulu ayam, keratin, biodegradasi, isolat B-2-2

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF PROTEIN HYDROLYSATE PRODUCTION FROM CHICKEN FEATHER WASTE BY USING LOCAL ISOLATE BACTERIA B-2-2

By

Aprilia Fransiska Br Sembiring

Chicken feather waste is challenging to degrade due to its keratin protein content. Keratin found in chicken feathers has properties that are difficult to be degraded because of its high bond stability and difficulty to dissolve in water. Biodegradation by microorganisms to change the complex structure of keratin was chosen because the process is more environmentally friendly. Isolate B-2-2, which was previously reported to degrade 68% of chicken feather waste in FML medium with C-source glucose at pH 9 for 12 days and protein hydrolysate of 801 ppm, its ability still needs to be investigated further to get maximum result. This study aimed to examine the optimum culture conditions using carbon sources (glucose, lactose and sucrose) and nitrogen sources (NH₄Cl, NaNO₃, and KNO₃), determine the levels of amino acids liberated, and the levels of protein hydrolysates during the biodegradation process. The biodegradation test by this isolate was carried out on FML medium using a variety of inoculum volumes (5, 10 and 20 mL) and 1% carbon and nitrogen sources for 12 days. The data observed from this study were chicken feather degradation, enzyme activity, amino acids liberated, and protein hydrolysate content of the culture. The results showed that isolate B-2-2 was able to degrade 71.54% of chicken feathers with an inoculum volume of 10 mL FML medium without the addition of C or N sources. Under these conditions, the optimum enzyme activity was obtained on day 8 at 42 U/mL, the highest amino acid liberated content on day 12 was 691 ppm, and the optimum culture protein hydrolysate on day 5 at 536 ppm. These data prove that the optimization of FML medium with the addition of C and N sources in this study has less effect on the degradation process and the production of protein hydrolysate.

Keywords: chicken feather waste, keratins, biodegradation, isolate B-2-2

**OPTIMASI PRODUKSI HIDROLISAT PROTEIN DARI LIMBAH BULU
AYAM MENGGUNAKAN BAKTERI ISOLAT LOKAL B-2-2**

Oleh

Aprilia Fransiska Br Sembiring

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar

SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2023

Judul : **OPTIMASI PRODUKSI HIDROLISAT PROTEIN
DARI LIMBAH BULU AYAM MENGGUNAKAN
BAKTERI ISOLAT LOKAL B-2-2**

Nama : **Aprilia Fransiska Br Sembiring**

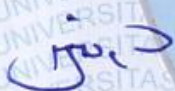
NPM : **1817011029**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. **Komisi Pembimbing**


Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002


Dr. Dian Herasari, M.Si.
NIP. 197108062000032001

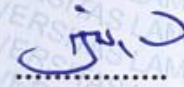
2. **a.n Ketua Jurusan
Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA
Universitas Lampung**


Dr. Mita Rilyanti S.Si., M.Si
NIP 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

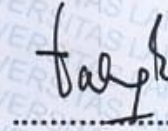
Ketua : Mulyono, Ph.D.



Sekretaris : Dr. Dian Herasari, M. Si.



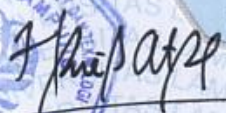
**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Tati Suhartati, M. S.**



2. PLT. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 08 Februari 2023

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Aprilia Fransiska Br Sembiring
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011029
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Optimasi Produksi Hidrolisat Protein dari Limbah Bulu Ayam Menggunakan Bakteri Isolat Lokal B-2-2”** adalah benar hasil karya sendiri dan tidak pernah digunakan dan diterima sebagai syarat penyelesaian studi pada universitas lain. Saya tidak keberatan jika data dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Bandar Lampung, 08 Februari 2023

Yang Menyatakan



Aprilia Fransiska Br Sembiring
NPM. 1817011029

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Mardinding, Kec. Mardinding Kab. Karo pada tanggal 01 April 2000 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, yang merupakan buah cinta dari pasangan Bapak Natangsa Sembiring dan Ibu Ester Lina Br Ginting. Jenjang pendidikan diawali dari Sekolah Dasar di SD Negeri 040550 Mardinding yang diselesaikan pada tahun 2012. Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 2 Mardinding yang diselesaikan pada tahun 2015. Sekolah Menengah Atas di SMA Swasta Panti Harapan Lawe Desky yang diselesaikan pada tahun 2018. Pada tahun 2018, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum Biokimia pada tahun 2022 untuk mahasiswa Biologi Terapan. Pada bulan Januari-Februari 2022, penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biokimia FMIPA UNILA yang diberi judul **“Pengaruh Penambahan Glukosa dalam Biodegradasi Bulu Ayam Utuh oleh Isolat B-2-2”**.

Pengalaman organisasi penulis dimulai sebagai Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (KAMI) FMIPA Unila. Selanjutnya, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Unila periode 2019-2020 sebagai anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO). Penulis juga aktif dalam Persekutuan Ouikumene Mahasiswa Kristen MIPA (POMMIPA) pada tahun 2019-2022 (POMMIPA) dan sebagai anggota di Unit Kegiatan Mahasiswa Kristen Universitas Lampung.

MOTTO

“Jangan bandingkan prosesmu dengan orang lain, karena tak semua bunga tumbuh dan mekar bersamaan” Anonim 2023

”Keep your eyes on the stars and your feet on the ground.”

Theodore Rosevelt

”Kamu tidak harus menjadi hebat untuk memulai, tetapi kamu harus mulai untuk menjadi hebat.” Zig Ziglar

“SEBAB KEPADA-MU, YA TUHAN, AKU BERHARAP; ENKAULAH YANG AKAN MENJAWAB, YA TUHAN, ALLAHKU.” MAZMUR 38:16

“Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan.” Yesaya 41:10

“Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya.” Matius 21:22

“Ia membuat segala sesuatu indah pada waktunya, bahkan Ia memberikan kekekalan dalam hati mereka. Tetapi manusia tidak dapat menyelami pekerjaan yang dilakukan Allah dari awal sampai akhir” Pengkhotbah 3:11

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa selalu menuntun langkahku, menjadikan aku manusia yang berakal dan berilmu.

Skripsi ini saya persembahkan sepenuhnya kepada dua orang hebat dalam hidup saya, bapak dan Ibu. Keduanya lah yang membuat segalanya menjadi mungkin sehingga saya bisa sampai pada tahap di mana skripsi ini akhirnya selesai. Terima kasih atas segala pengorbanan, nasihat dan doa baik yang tidak pernah berhenti kalian berikan kepadaku.

Serta rasa hormatku teruntuk:

Bapak Mulyono, Ph.D.

Terimakasih banyak untuk ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dan kesabaran dalam membimbing penulis selama ini.

Bapak dan Ibu dosen Kimia atas segala bimbingan, nasihat dan ilmu yang telah diberikan.

Sahabat dan teman-teman yang selalu menemani dan memberikan semangat

Almamater tercinta

"Universitas Lampung"

SANWACANA

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala Berkat dan Kasih Karunia-Nya yang melimpah, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Optimasi Produksi Hidrolisat Protein dari Limbah Bulu Ayam Menggunakan Bakteri Isolat Lokal B-2-2”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan kendala. Namun atas berkat dan kasih karunia Tuhan penulis dapat melalui segala sesuatunya dengan bantuan dan dukungan semangat dari orang-orang terkasih di sekitar penulis. Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orangtua ku tercinta, Bapak Natangsa Sembiring dan Ibu Ester Lina Br Ginting yang telah berjuang dan berkorban demi penulis serta senantiasa memberikan semangat dan dukungan moral maupun materi. Adik-adik ku tercinta Miko Ananda Sembiring dan Ivan Sahputra Sembiring.
2. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Kepala Jurusan Kimia Fmipa Unila dan pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si., selaku pembimbing akademik dan pembimbing II atas ketersediaannya dalam memberikan ilmu, nasehat, saran dan pembelajaran untuk penulis dengan penuh ketulusan sehingga penelitian dan penulisan skripsi ini bisa selesai.

4. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku penguji yang telah memberikan ilmu pengetahuan, gagasan, bimbingan, kritik dan saran selama penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M. T., selaku Dekan fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen dan staf administrasi di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Laboran Biokimia, Mba Della yang telah membantu penelitian di laboratorium serta teman-teman di laboratorium Biokimia, terima kasih atas bantuan serta canda tawa yang diberikan.
9. Salsabilla Bethari Purworini teman seperbimbingan dan seper-penelitian, terima kasih ya Bet sudah menjadi partner yang baik dan sabar walaupun terkadang tidak sepemikiran tapi ya *we did it*, kita bisa menyelesaikannya sampai akhir. Semoga waktu mengizinkan kita untuk bisa bertemu kembali yaaa.
10. Sobat ciwi-ciwi kost pak Bambang Chetrine Enamia Ginting, Dora Panny Nurcahya Sitorus, Ester Hellen Novalina Lumban Gaol, Grace Febrianti Solafide Sirait, Meryam Grace Lumban Tobing, dan Ninid Widya Sari Lubis, terima kasih sudah selalu mendukung dan menyemangati ku selama ini sehingga aku bisa sampai di tahap ini. Wahhh waktu berjalan begitu cepat ya padahal kaya baru kemarin deh kita jadi maba ehh sekarang udah pada mau lulus aja, kiranya tali persahabatan yang sudah kita jalin tidak sampai disini saja yaa. Semoga dilain kesempatan kita bisa berkumpul kembali yaa nantinya.
11. Sobat sepermainan Hendriko Marisep, Kadek Fani Sugiyanti, Iin Indriani Sibagariang, Shafa Ilina dan kak Arya Sanda yang selalu mendukung dan memotivasi penulis dalam perkuliahan hingga penyusunan skripsi.

12. AKK ku tercinta dan tersayang Handyta, Misye dan Ribka yang telah mendukung dalam doa dan menyemangati penulis selama pengerjaan Tugas Akhir.
13. Teman tempat curhat ku Andes Sidabutar dan Denni Ginting, terima kasih sudah mau selalu mendengarkan setiap keluh kesah ku yang tidak kenal waktu. Semoga kita bisa segera bertemu.
14. Kakak-kakak di Mulyono's Research 2016, kak Maria dan kak Iwen terima kasih untuk semua ilmu dan pembelajarannya kak.
15. Terimakasih untuk POM MIPA dan orang-orang yang ada didalamnya yang sudah menjadi wadah untuk penulis bertumbuh dalam rohani sehingga penulis bisa memiliki pondasi untuk lebih bersyukur dan semangat dalam mengerjakan skripsi dan penelitian ini.
16. Teman-teman di Laboratorium Biokimia yang tidak bisa disebut satu persatu terimakasih sudah kebersamai selama penelitian di laboratorium. Semoga kita bisa segera mendapatkan gelar dan bisa bertemu dalam keadaan sukses
17. Teman-teman seperjuangan Kimia Angkatan 2018 terutama rekan-rekan kelas "A"selole yang telah mendukung dan memotivasi penulis selama perkuliahan.
18. Semua pihak yang telah membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
19. Last but not least, untuk diri saya sendiri yang telah mampu berjuang menghadapi segalanya, terimakasih telah bangkit disaat terjatuh, terimakasih untuk tidak menyerah walau sering merasa kalah.
20. Almamater tercinta Universitas Lampung

Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna, besar harapan semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua serta dapat memberikan saran yang membangun bagi penulis untuk lebih baik kedepannya.

Bandar Lampung, 08 Februari 2023

Penulis

Aprilia Fransiska Br Sembiring

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|------------|
| DAFTAR TABEL | iii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.3. Manfaat Penelitian..... | 4 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1. Bulu Ayam..... | 5 |
| 2.2. Limbah Bulu Ayam | 7 |
| 2.3. Keratin | 9 |
| 2.4. Enzim Keratinase..... | 10 |
| 2.5. Mekanisme Degradasi Keratin oleh Keratinase | 11 |
| 2.6. Mikroba Keratinolitik..... | 12 |
| 2.7. Biodegradasi | 13 |
| III. METODE PENELITIAN | 15 |
| 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian | 15 |
| 3.2. Alat dan Bahan | 15 |
| 3.3. Prosedur Penelitian..... | 17 |
| 3.3.1. Tahap Persiapan..... | 17 |
| 3.3.2. Peremajaan Bakteri | 18 |
| 3.3.3. Pembuatan Inokulum (<i>Starter</i>) Mikroba..... | 18 |
| 3.3.4. Uji Biodegradasi Limbah Bulu Ayam | 18 |
| 3.3.5. Variasi Sumber Karbon (C) | 19 |
| 3.3.6. Variasi Sumber Nitrogen (N)..... | 19 |

| | |
|--|-----------|
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 21 |
| 4.1 Tepung Bulu Ayam | 21 |
| 4.2 Peremajaan Bakteri..... | 22 |
| 4.3 Inokulum (<i>Starter</i>) Bakteri | 23 |
| 4.4 Biodegradasi Limbah Bulu Ayam | 23 |
| 4.5 Pengaruh Penambahan Sumber Karbon (C)..... | 25 |
| 4.6 Pengaruh Penambahan sumber Nitrogen..... | 27 |
| 4.7 Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Keratinase Isolat B-2-2..... | 29 |
| 4.8 Kadar Asam Amino yang dibebaskan Isolat B-2-2..... | 33 |
| 4.9 Kadar Hidrolisat Protein pada Kultur oleh Isolat B-2-2..... | 35 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 38 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 38 |
| 5.2 Saran | 39 |
| DAFTAR PUSTAKA | 40 |
| LAMPIRAN..... | 49 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Perbandingan komposisi kandungan asam amino antara tepung bulu ayam, tepung ikan dan bungkil kedelai..... | 7 |
| 2. Hasil kemampuan degradasi oleh isolat B-2-2 pada variasi inokulum | 24 |
| 3. Perbandingan hasil % Degradasi beberapa penelitian | 25 |
| 4. Hasil kemampuan degradasi penambahan sumber karbon pada variasi volume 5 mL..... | 26 |
| 5. Hasil kemampuan degradasi penambahan sumber karbon pada variasi volume 10 mL..... | 26 |
| 6. Hasil kemampuan degradasi penambahan sumber karbon pada variasi volume 20 mL..... | 26 |
| 7. Laktosa | 28 |
| 8. Sukrosa..... | 28 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Susunan pada bulu ayam..... | 5 |
| 2. Struktur Keratin..... | 9 |
| 3. Bulu Ayam | 21 |
| 4. Bulu ayam halus..... | 22 |
| 5. Peremajaan agar miring isolat B-2-2 selama 24 jam | 22 |
| 6. Inokulum Bakteri Isolat B-2-2 | 23 |
| 7. Kurva pertumbuhan dan Aktivitas Enzim isolat B-2-2..... | 31 |
| 8. Kurva Asam Amino yang dibebaskan Isolat B-2-2 | 34 |
| 9. Kurva Kadar Hidrolisat Protein oleh Isolat B-2-2 | 36 |

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perkembangan penduduk di Indonesia semakin meningkat seiring dengan bertambahnya minat konsumsi terhadap daging ayam yang semakin tinggi. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (2020) produksi ayam ras pedaging di Indonesia mencapai 3.275.325 ton, sedangkan di Provinsi Lampung sebanyak 93.499,82 ton. Menurut Zerdani *et al.* (2004) bahwa dari hasil pemotongan setiap ekor ternak ayam diperoleh bulu ayam sebanyak kurang lebih 6% dari bobot hidupnya, sedangkan menurut Sa'adah dkk (2013) dari bobot rata-rata ayam hidup seberat 1,6 kg, sekitar 4-5% adalah bulu. Dengan demikian, diperkirakan berat total bulu ayam dari produksi ayam ras pedaging di Provinsi Lampung sekitar 4.674,99 ton.

Pemanfaatan bulu ayam masih sangat sedikit seperti untuk pembuatan kerajinan tangan, sementara sisanya dibuang begitu saja ke lingkungan sekitar tempat pemotongan ayam. Limbah bulu ayam yang tidak terolah dengan baik, dapat menyebabkan sumber penyakit. Saat ini, masih banyak industri pengolahan ayam potong yang sistem pengolahannya dengan cara dibakar, yang proses tersebut dapat mengakibatkan pencemaran udara. Selain itu, dampak lain yang ditimbulkan yaitu diantaranya penyakit kolera, mikoplasmosis, dan klorosis pada manusia (Srivastava *et al.*, 2020). Proses pengolahan limbah yang baik dan benar, dapat dimanfaatkan menjadi sesuatu yang lebih berharga dan bernilai tinggi, seperti pemanfaatan sebagai pakan ikan, ayam dan lain-lain.

Pakan unggas sebagai penyedia sumber protein memiliki harga yang relatif mahal. Hal tersebut menjadi masalah utama bagi para peternak dalam usahanya

meningkatkan produksi ternak. Limbah organik kaya protein berpotensi sebagai salah satu bahan baku pembuatan pakan (Sitompul, 2004). Salah satu limbah organik yang dapat dimanfaatkan adalah bulu ayam karena kandungan proteinnya yang sangat tinggi. Menurut Puastuti dkk (2007) bulu ayam mengandung protein kasar yang sangat tinggi, yakni sebesar 74,4 – 91,8% dari bahan kering. Adiati dkk (2004) melaporkan bahwa protein kasar pada bulu ayam melebihi kandungan protein kasar bungkil kedelai (42,5 %) dan tepung ikan (66,2 %). Berdasarkan hal tersebut, protein yang terkandung dalam bulu ayam berpotensi sebagai pakan tambahan bagi industri ayam potong.

Protein bulu ayam tidak dapat dicerna langsung oleh unggas, bahkan berpotensi menyebabkan kematian unggas. Hal tersebut menjadi satu kendala untuk menjadikan bulu ayam sebagai sumber protein pakan hewan secara langsung. Penggunaan tepung bulu ayam secara langsung dapat menyebabkan ternak tersebut keracunan, keratin bulu ayam tidak dapat dicerna secara langsung oleh unggas. Keratin sifat sulit dicerna karena 85-90% dari kandungan proteinnya dengan sifat yang sukar larut dalam air. Keratin pada limbah bulu ayam mengandung asam amino esensial, antara lain metionin, triptofan, dan lisin dalam jumlah kecil serta asam amino alanin, sistein, glisin, dan serin dalam jumlah banyak. Monomer penyusun keratin pada bulu ayam sebagian besar didominasi oleh asam amino seperti sistein, glutamin, prolin, dan serin (Saravanan and Dhurai 2012). Brandelli (2008) menyatakan bahwa struktur keratin tersusun atas 14% ikatan disulfida sehingga strukturnya sangat stabil, kaku, dan sulit diurai oleh enzim proteolitik pada umumnya (Vidmar and Vodovnik, 2018).

Keratin pada bulu ayam dapat diurai dengan cara memanfaatkan enzim keratinase yang dihasilkan oleh kelompok bakteri keratinolitik. Keratinase adalah enzim protease spesifik yang hanya dapat mendegradasi keratin (Mazotto *et al.*, 2013). Keratinase akan menyerang ikatan disulfida untuk mendegradasi keratin (Agrahari *et al.*, 2013). Biodegradasi keratin menggunakan enzim keratinase menghasilkan peptida dan asam amino yang langka seperti serin, sistein, dan prolin (Mousavi *et al.*, 2013) serta asam amino esensial seperti treonin, valin, metionin, isoleucin, leusin, lisin, histidin, dan tirosin (Ali *et al.*, 2011). Hidrolisat asam amino yang

dihasilkan dapat menjadi alternatif dalam campuran bahan pakan unggas (Da Silva, 2018).

Beberapa kelompok bakteri keratinolitik yang telah dilaporkan memiliki kemampuan baik dalam menghasilkan enzim keratinase. Beberapa bakteri tersebut yakni *Microbacterium sp.* (Riffel dan Brandelli, 2006), *Streptomyces* dan beberapa genus *Actinomycetes* (Cai *et al.*, 2008), *Bacillus licheniformis* (Tamilmani *et al.*, 2008), *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Microsporium* (Essien *et al.*, 2009) dan *Bacillus* (Lakshmi *et al.*, 2013). Banyak dari kelompok bakteri keratinolitik tersebut telah berhasil diisolasi dari berbagai sumber dan dipelajari kemampuannya dalam menghasilkan enzim keratinase.

Laboratorium Biokimia FMIPA UNILA telah memiliki beberapa koleksi isolat mikroba keratinolitik pendegradasi bulu Ayam. Isolat B-2-2 pada penelitian Pasaribu (2022) mampu memproduksi hidrolisat protein dari limbah bulu ayam sebesar 801,15 ppm dengan kemampuan degradasi sebesar 68 % dalam waktu inkubasi 12 hari dengan menggunakan pH 9,0. Pada penelitian ini dengan dilakukan optimasi lebih lanjut kondisi kultur dengan modifikasi pada sumber karbon dan nitrogen untuk mendapatkan degradasi dan hidrolisat protein yang lebih maksimal.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengetahui kemampuan isolat bakteri B-2-2 dalam mendegradasi limbah bulu ayam;
2. memperoleh kondisi kultur yang optimum melalui penambahan sumber karbon dan sumber nitrogen;
3. mengetahui kadar asam amino yang dibebaskan dan kadar hidrolisat protein selama proses biodegradasi.

1.3. Manfaat Penelitian

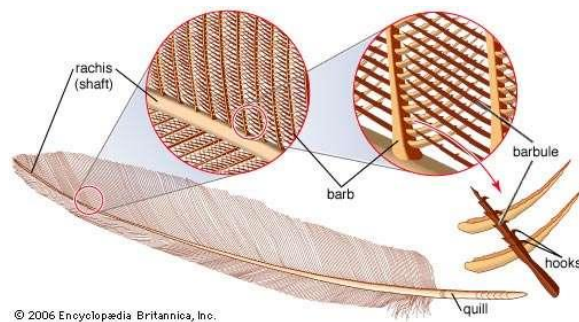
Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai kondisi optimum mikroorganismenya dalam mendegradasi keratin dalam mendegradasi limbah bulu ayam menggunakan data dan menerapkan mikroba isolat lokal yang memiliki potensi dalam industri guna mengurangi limbah yang berdampak dalam berbagai pencemaran dan memproduksi protein yang layak pada industri pakan ternak.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bulu Ayam

Bulu merupakan ciri khusus yang dimiliki oleh unggas dan berperan penting secara fisiologis dan fungsional. Bulu merupakan pembeda antara bangsa aves dengan jenis vertebrata lainnya. Sebagian besar burung dewasa ditutupi bulu diseluruh bagian tubuhnya, kecuali pada paruh, mata, dan kaki. Bulu-bulu tersebut tidak hanya memberikan kemampuan dalam hal penerbangan dan sebagai perlindungan, tetapi bulu ayam juga berguna untuk memperindah bentuk tubuh ayam dan sangat berguna dalam hal pengaturan suhu tubuh. Bulu tersusun sangat teratur, dengan struktur tangga bercabang, dan unggas merupakan golongan vertebrata yang memiliki struktur keratin yang paling kompleks (Rostyalina, 2015).

Barbules pada bulu ayam memiliki kepadatan yang rendah dan berbeda dengan *rachis* yang memiliki sifat tebal dan kaku daripada *barbules*. *Rachis* juga banyak protein kristalin daripada *barbules*, sehingga sangat memungkinkan jika bagian *rachis* sulit untuk dihidrolisis (Setyabudi dan Rizki, 2015). Susunan pada penampang bulu ayam dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Susunan pada bulu ayam (Sukiya, 2001)

Sekitar setengah dari bagian bulu ayam terdiri dari bulu halus dan setengah bagian yang lain merupakan bagian dari selubung bulu yang menjadi inti pusat bulu dengan struktur tabung hampa. Bagian bulu halus dan selubung bulu tersebut terbuat dari protein yang tidak mudah larut dalam bentuk keratin. Keratin merupakan protein serat yang tidak larut dalam air, rantai peptida pada protein keratin terbelit dalam bentuk pilin atau heliks dan saling berhubungan dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen sehingga keratin sulit dicerna oleh enzim proteolitik. (Zang *et al.*, 2009). Nilai cerna bulu ayam untuk bahan kering dan bahan organik masing-masing hanya sebesar 5,8% dan 0,7%.

Bulu ayam mengandung protein kasar, lemak kasar, dan serat kasar. Protein bulu ayam sebagian besar terdiri atas keratin yang digolongkan ke dalam protein serat. Protein serat ini kaya akan sulfur dan sistein. Sistein merupakan asam amino yang mengandung gugus fungsional berupa karboksilat, amina, dan sulfhidril (Nor *et al.*, 2014). Kandungan bulu ayam terdiri dari 91% protein keratin, 1% lipid dan 8% air. Keratin pada bulu ayam sebagian besar disusun oleh asam amino sistein, glutamin, prolin, serin glisin, alanin, serin, sistein dan valin, serta sedikit lisin, metionin dan triptofan (Saravanan and Dhurai, 2012). Kandungan protein kasar bulu pada ayam lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan protein kasar pada bungkil kedelai yaitu sebesar 42,5 % dan tepung ikan sebesar 66,2 %, dimana bungkil kedelai dan tepung ikan adalah komponen yang biasa dipakai dalam pembuatan ransum komersial pada umumnya (Saravanan and Dhurai, 2012), sehingga bulu ayam dapat dijadikan sumber alternatif dalam pembuatan ransum. Adapun tabel perbandingan komposisi kandungan asam amino pada tepung bulu ayam, tepung ikan dan bungkil kedelai dapat dilihat dari Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan komposisi kandungan asam amino antara tepung bulu ayam, tepung ikan dan bungkil kedelai.

| Asam amino | Tepung bulu Ayam (%) | Tepung ikan (%) | Bungkil kedelai (%) |
|-------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------|
| Arginin | 5,57 | 4,21 | 3,14 |
| Histidin | 0,95 | 1,74 | 1,17 |
| Isoleusin | 3,91 | 2,23 | 1,96 |
| Leusin | 6,94 | 5,46 | 3,39 |
| Lisin | 2,28 | 5,47 | 2,69 |
| Methionin | 0,57 | 2,16 | 0,26 |
| Penilalanin | 3,94 | 2,82 | 2,16 |
| Treonin | 3,81 | 3,07 | 1,72 |
| Triptofan | 0,55 | 0,83 | 0,74 |
| Valin | 5,93 | 3,90 | 0,27 |
| Aspartat | 6,00 | 4,41 | 3,06 |
| Serin | 16,00 | 3,57 | 1,20 |
| Glutamat | 12,11 | 7,05 | 3,81 |
| Prolin | 12,00 | 3,93 | 2,40 |
| Glisin | 6,92 | 3,83 | 2,65 |
| Alanin | 3,44 | 3,19 | 2,95 |
| Sistein | 8,85 | 0,63 | 0,65 |
| Tirosin | 1,10 | 1,59 | 2,60 |
| Asparagin | 4,40 | 3,81 | 2,78 |
| Glutamin | 7,62 | 5,32 | 4,49 |

(Marzuki, 2015)

2.2. Limbah Bulu Ayam

Salah satu produk limbah yang dihasilkan dari pengolahan peternakan yang belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan pakan ternak adalah limbah bulu ayam. Bulu ayam merupakan salah satu limbah yang sulit terdegradasi dan merupakan hasil samping dari usaha pemotongan ayam (Badan Pusat Statistik, 2020). Pemotongan ayam umumnya menghasilkan rata-rata bulu sebanyak 4-9% dari total berat ayam (Ketaren, 2008). Jutaan ton limbah bulu ayam dihasilkan sebagai hasil sampingnya dan setiap tahunnya selalu meningkat dan menimbulkan beberapa masalah yakni masalah pencemaran lingkungan, karena limbah tersebut memiliki kadar protein yang sangat tinggi (Cai *et al.*, 2008). Selain menimbulkan

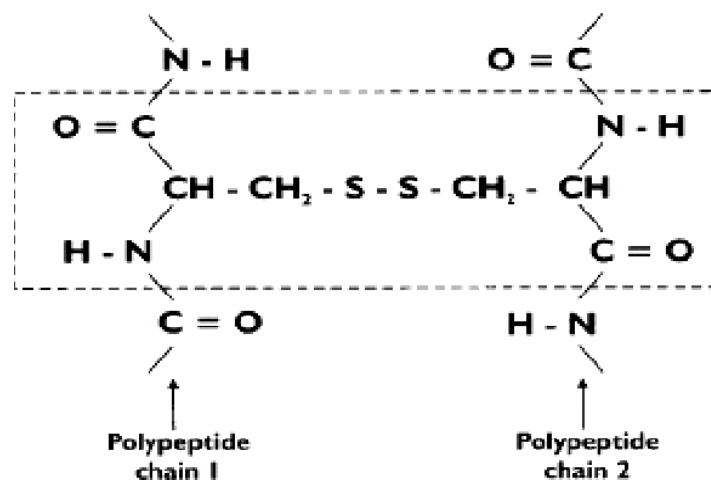
masalah terhadap lingkungan, akibat lain yang dapat muncul dari kurangnya penanganan dan proses pembuangan limbah secara langsung ke lingkungan dapat menimbulkan masalah lain misalnya terjadinya proses infeksi yang meliputi *clorosis*, *mycoplasmosis* dan kolera yang umumnya terdapat pada unggas (Xu *et al.*, 2009).

Limbah bulu ayam yang dihasilkan akan terus mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat akan kebutuhan daging, khususnya daging ayam. Usaha yang ada saat ini sebagai upaya penanganan terhadap limbah bulu ayam hanya berupa pembuangan langsung ke lingkungan, pemendaman, *landfilling* atau pembakaran sehingga menyebabkan timbulnya masalah baru berupa harus adanya pengontrolan emisi dan pembuangan abu, jika hal ini terus dibiarkan dan terus bertambah seiring waktu tanpa adanya pengelolaan yang baik maka akan menimbulkan dampak pencemaran terhadap lingkungan yang semakin luas (Joshi *et al.*, 2007). Oleh sebab itu, diperlukan adanya upaya terhadap pengembangan teknologi untuk menangani permasalahan ini, salah satunya dengan memanfaatkan bakteri keratinolitik untuk mempercepat proses degradasi limbah bulu ayam dengan menggunakan enzim keratinase atau protease menjadi produk yang memiliki sisi ekonomis, yakni pakan ternak alternatif pengganti sumber protein hewani. Hal ini disebabkan karena pakan ternak yang dihasilkan dari limbah bulu ayam memiliki nilai kandungan protein yang cukup tinggi.

Saravanan and Dhurai (2012) mengemukakan bahwa limbah bulu ayam memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi, yakni meliputi 91% protein keratin, 1% lemak, dan 8% air. Monomer penyusun keratin pada bulu ayam sebagian besar didominasi oleh asam amino seperti sistein, glutamin, prolin dan serin (Sarvanan and Dhurai, 2012), sedangkan pada penelitian Gupta *et al.* (2012) dilaporkan bahwa keratin bulu ayam tersusun oleh beberapa jenis asam amino yang mendominasi seperti glisin, alanin, serin, sistein dan valin, serta sedikit lisin, metionin dan triptofan. Protein kasar tepung bulu ayam mencapai 86,5% dan energi metabolis yang mampu dihasilkan sekitar 3.047 kcal/kg.

2.3. Keratin

Keratin adalah makromolekul protein dengan kestabilan yang sangat tinggi dan tingkat degradasi yang rendah. Keratin terdiri dari komponen ikatan sistin disulfida, ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik molekul keratin (Xie *et al.*, 2010). Keratin adalah struktur protein tidak larut (Jahan *et al.*, 2010) yang terdapat pada kulit hewan, tanduk, rambut, bulu domba dan bulu ayam. Keratin memerlukan enzim keratinase ekstraselular untuk proses degradasi. Keratin memiliki ikatan sistin disulfida yang terbentuk antara asam amino sistein yang mengandung gugus SH. Jika dua unit sistein berikatan, maka terbentuklah sebuah jembatan disulfida melalui oksidasi gugus-gugus -SH (Ketaren, 2008).



Gambar 2. Struktur Keratin (Saravanan dan Dhurai, 2012)

Protein serat keratin terbentuk dari ikatan silang antara rantai-rantai asam amino yang berdekatan sehingga molekul air sukar menerobos struktur ini, sehingga tidak larut di dalam air (hidrofobik) (Ketaren, 2008). Keratin merupakan protein serat yang tidak larut dalam air, rantai peptida pada protein keratin terbelit dalam bentuk pilin atau heliks dan saling berhubungan dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen sehingga keratin sulit dicerna oleh enzim proteolitik (Zang *et al.*, 2009). Mikroorganisme keratinolitik memanfaatkan keratin sebagai sumber sulfur, karbon, dan nitrogen, karena keratin mengandung banyak asam amino sistin. Kadar sistin dalam rambut atau bulu beberapa spesies makhluk hidup di alam sangat bervariasi dan kadar sistin tersebut menentukan tingkat kesulitan degradasi rambut/bulu oleh mikroba (Kunert, 2000).

2.4. Enzim Keratinase

Enzim adalah substansi yang dihasilkan oleh sel hidup dan berperan sebagai katalisator pada reaksi kimia organisme. Katalisator adalah substansi yang mempercepat reaksi tetapi pada hasil reaksi, substansi tersebut tidak berubah. Aktivitas enzim sangat spesifik karena pada umumnya enzim tertentu hanya akan mengkatalisis satu reaksi saja. Sebagai contoh, laktase menghidrolisis gula laktosa tetapi tidak berpengaruh terhadap disakarida yang lain. Hanya molekul laktosa saja yang akan sesuai dalam sisi aktif molekul (Gaman dan Sherrington, 1994).

Keratinase adalah enzim ekstraselular yang digunakan untuk biodegradasi keratin (Suntornsuk *et al.*, 2005). Keratinase akan dihasilkan hanya jika terdapat substrat keratin. Keratinase memecahkan ikatan disulfida untuk mendegradasi keratin. Beberapa mikroorganisme penghasil keratinase memiliki kemampuan untuk mendegradasi bulu ayam, rambut, kuku, bulu domba, dan sebagainya. Beberapa mikroorganisme keratinolitik telah diisolasi dan dikarakterisasi dari sampel tanah yang di sekitarnya terdapat bulu ayam (Sinoy *et al.*, 2011). Keratinase pada umumnya memiliki berat molekul 20-50 kDa (Zang *et al.*, 2009). Keratinase termasuk dalam kelompok hidrolase yang mampu menghidrolisis keratin lebih efisien dibandingkan protease lainnya (Kanmani *et al.*, 2011).

Menurut Rodriguez dkk (2009), keratinase mempunyai kemampuan yang sangat baik dalam menurunkan kadar keratin melalui perombakan struktur jaringan kimia dinding sel, pemutusan ikatan hidrogen dan ikatan disulfida penyusun keratin. Ikatan disulfida antar asam amino sistein menyebabkan protein bulu ayam sulit dicerna oleh enzim proteolitik dalam saluran pencernaan sehingga ikatan disulfida harus dilepaskan melalui hidrolisis oleh mikroba. Keratin atau protein serat terdiri dari komponen ikatan sistein disulfida, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik molekul keratin (Brandelli, 2008). Ikatan sistein disulfida atau ikatan silang terbentuk antara asam amino sistein yang mengandung gugus $-SH$, jika dua unit sistin berikatan maka terbentuklah sebuah jembatan disulfida $-S-S-$ melalui oksidasi gugus-gugus $-SH$. Protein serat terbentuk dari molekul yang rapat dan

teratur berupa ikatan silang antara rantai–rantai asam amino yang berdekatan sehingga molekul air sulit untuk masuk ke dalam struktur ini, oleh karena itu protein serat tidak larut di dalam air (hidrofobik).

Kelebihan enzim dibandingkan katalis biasa adalah dapat meningkatkan produk beribu kali lebih tinggi, bekerja pada pH yang relatif netral dan suhu yang relatif rendah, dan bersifat spesifik dan selektif terhadap substrat tertentu. Enzim telah banyak digunakan dalam bidang industri pangan, farmasi dan industri kimia lainnya. Bidang pangan, amilase, invertase, glukosa-isomerase, papain, dan bromelin, sedangkan dalam bidang kesehatan contohnya amilase, lipase, dan protease. Enzim dapat diisolasi dari hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Suhu yang tinggi akan menaikkan aktivitas enzim namun sebaliknya juga akan mendenaturasi enzim (Martoharsono, 1994). Peningkatan temperatur dapat meningkatkan kecepatan reaksi karena molekul atom mempunyai energi yang lebih besar dan mempunyai kecenderungan untuk berpindah, ketika temperatur meningkat, proses denaturasi juga mulai berlangsung dan menghancurkan aktivitas molekul enzim, hal ini dikarenakan adanya rantai protein yang tidak terlipat setelah pemutusan ikatan yang lemah sehingga secara keseluruhan kecepatan reaksi akan menurun (Lee, 1992). Derajat pH optimal enzim adalah sekitar pH 7 (netral) dan jika medium menjadi sangat asam atau sangat alkalis enzim mengalami inaktivasi. Akan tetapi beberapa enzim hanya beroperasi dalam keadaan asam atau alkalis, sebagai contoh, pepsin, enzim yang dikeluarkan ke lambung, hanya dapat berfungsi dalam kondisi asam, dengan pH optimal 2 (Gaman dan Sherrington, 1994).

2.5. Mekanisme Degradasi Keratin oleh Keratinase

Rapatnya susunan struktural antar ikatan yang terdapat pada keratin mampu menghalangi proses pemecahan atau pemutusan ikatan tertentu sehingga hanya dapat terdegradasi oleh bantuan kelompok enzim proteinase tertentu, khususnya keratinase. Mekanisme degradasi keratinase dalam mendegradasi keratin belum dipaparkan secara jelas, tetapi proses pendegradasian keratin terjadi melalui 2 tahapan utama, yakni proses deaminasi dan pemutusan ikatan disulfida. Proses

deaminasi akan menyebabkan atau menciptakan kondisi basa yang dibutuhkan untuk membuat struktur keratin menjadi mengembang, mengalami sulfitolisis dan dilanjutkan dengan proses pemutusan ikatan protein keratin (Kunert, 2000).

Tahapan kedua dalam proses degradasi keratin melibatkan proses pemutusan ikatan disulfida yang terdapat pada struktur keratin tersebut sehingga terjadi perubahan struktur yang mampu mempermudah proses pemutusan ikatan antara protein dengan bantuan enzim yang dihasilkan dari kelompok bakteri proteolitik (Cao *et al.*, 2008). Proses pendegradasian tersebut maka akan dihasilkan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan produk yang dihasilkan dari pemecahan protein menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis dengan menggunakan enzim, asam atau basa dan panas. Proses hidrolisis yang sering digunakan adalah secara enzimatis. Hidrolisis protein dengan menggunakan enzim lebih aman dan menguntungkan daripada menggunakan asam atau basa pada pembuatan flavor enhancer. Menurut Kristinson (2007) hidrolisis secara enzimatis akan menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam-asam amino, seperti triptofan dan glutamin.

2.6. Mikroba Keratinolitik

Mikroba keratinolitik merupakan kelompok mikroorganisme yang tergolong ke dalam mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim spesifik berupa enzim keratinase. Keanekaragaman dari kelompok mikroorganisme keratinolitik sendiri telah banyak dilaporkan dan dipelajari dalam kemampuannya menghasilkan keratinase. Enzim keratinase diketahui dapat diproduksi dari 3 kelompok mikroorganisme yaitu, bakteri, jamur dan kelompok *Actinomycetes*. Jenis mikroorganisme yang telah diketahui memiliki aktivitas keratinase yang tergolong ke dalam kelompok jamur yakni meliputi *Doratomyces microsporus*, *Alternaria radicina*, *Trichurus spiralis*, *Aspergillus sp.*, *Rhizomucor sp.*, *Absidia sp.*, *Stachybotrys alba*, kelompok *actinomycetes* yakni meliputi *Streptomyces pactum*, *S. alvs*, *S. thermoviolaceus*, *S. fradiae*, *Thermoactinomyces candidus*, dan beberapa kelompok bakteri yakni meliputi *Fervidobacterium islandicum*,

Pseudomonas aeruginosa, *Microbacterium* sp., *Bacillus licheniformis* and *B. pumilus* (Han *et al.*, 2012), *Stenotrophomonas* (Cai and Zheng, 2009), *Bacillus* sp. 50-3 (Yue *et al.*, 2011), *Aeromonas hydrophila*, *Serratia marcescens* (Bach *et al.*, 2011), *Bacillus* KD-N2 (Cai *et al.*, 2008). Ketiga jenis mikroorganisme tersebut yakni jamur, *actinomycetes* dan bakteri, domain bakteri merupakan penghasil keratinase yang paling banyak diteliti dan paling beragam dalam memiliki kemampuan mendegradasi keratin. Bahkan beberapa dari kelompok bakteri tersebut banyak digunakan atau diterapkan dalam beberapa aplikasi industri. Prakash *et al* (2010) melaporkan pada penelitiannya bahwa spesies bakteri *Bacillus halodurans* PPKS2 banyak digunakan dalam industri deterjen dan ikat pinggang karena kemampuan toleransi dan stabilitasnya terhadap suhu dan pH tinggi pada proses pemutihan. Werlang and Brandelli (2005) juga melaporkan bahwa *Bacillus* strain kr16 memiliki sifat yang cukup potensial dalam industri ikat pinggang karena strain tersebut mampu mendegradasi tepung bulu ayam secara sempurna. Penelitian Cai and Zheng (2009) juga melaporkan bahwa pada penelitiannya mereka berhasil mengisolasi *Bacillus subtilis* KD-N2 yang telah diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi kolagen dan dermis rambut sehingga sangat potensial diaplikasikan pada bidang nutrisi makanan dan pendegradasian rambut.

2.7. Biodegradasi

Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses penguraian oleh aktivitas mikroba yang mengakibatkan transformasi struktur suatu senyawa sehingga terjadi perubahan interigatas molekular. Umumnya proses ini terjadi karena senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi untuk tumbuh kembang mikroorganisme. Proses biodegradasi terjadi konversi yang lengkap dari bahan-bahan kimia kompleks menjadi produk-produk yang termineralisasi seperti air dan karbon dioksida (Sumarsono, 2011). Salah satu proses biodegradasi yaitu penguraian polisakarida selulosa menjadi monosakarida (glukosa). Secara enzimatik degradasi selulosa terdiri beberapa komponen enzim yang bekerja secara bertahap untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Degradasi polimer

pada dasarnya berkaitan dengan terjadinya perubahan sifat karena ikatan rantai utama makromolekul. Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradasi antara lain:

1. Substrat

Ukuran dan komponen senyawa yang menyusun substrat merupakan salah satu yang mempengaruhi degradasi. Degradasi akan berlangsung lebih cepat bila ukuran substrat lebih kecil dan senyawa penyusunnya lebih sederhana.

Sebaliknya, jika ukuran substrat lebih besar dan senyawa penyusunnya lebih kompleks dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasinya.

2. Sumber Nitrogen

Nitrogen diperlukan karena dapat mempengaruhi aktivitas mikroba untuk menghasilkan enzim ekstraseluler. Bahan yang banyak digunakan sebagai sumber nitrogen adalah ammonium nitrat, ammonium sulfat, dan urea. Jika enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroba banyak, maka degradasi akan berlangsung cepat. Sebaliknya, jika enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroba sedikit, maka degradasi akan berlangsung lama.

3. pH

Dalam proses degradasi, pH merupakan faktor yang sangat penting karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai pada substrat sesuai dengan aktivitas pH tertentu. Umumnya mikroba menyukai pH netral atau 7 (Gandjar dan Oetari, 2006). Jika pH sesuai dengan aktivitas enzim, maka kerja enzim ekstraseluler untuk degradasi substrat akan optimal.

4. Suhu

Selain pH, suhu juga mempengaruhi kerja enzim untuk mendegradasi substrat. Peningkatan suhu menyebabkan energy kinetik pada molekul substrat dan enzim meningkat. Namun suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan kerusakan pada enzim yang biasa disebut denaturasi, sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menghambat kerja enzim. Bila kerja terhambat atau struktur enzim rusak, maka degradasi tidak dapat berlangsung dengan baik.

5. Kelembapan

Kelembapan merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba, biosintesis, dan sekresi enzim. Kelembapan yang rendah menyebabkan

berkurangnya kelarutan nutrisi di dalam substrat danderajat pertumbuhan rendah. Sedangkan level kelembaban yang lebih tinggi dapat menyebabkan berkurangnya enzim yang dihasilkan karena dapat mereduksi porositas (jarak interpartikel) pada matriks padatan, sehingga menghalangi transfer oksigen. Jika jumlah enzim berkurang, maka proses degradasi akan berlangsung lebih lama (Dias *et al.*, 2007).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai November 2022 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain mesin penggiling, alat-alat gelas, rak tabung, jarum ose, pembakar spiritus, neraca analitik, spatula, indikator pH, *centrifuge*, *autoclave* model S-90N, lemari pendingin, penangas air, *shaker incubator (orbit environ shaker)*, *laminar air flow* CURMA model 9005-FL dan Spektrofotometer UV-Vis.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung bulu ayam, bulu ayam kasar, kloroform, metanol, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NH_4Cl , NaCl , agar, *yeast extract*, *yeast* agar, pepton, NaOH , HCl , kertas pH, sukrosa, glukosa, laktosa, KNO_3 , NaNO_3 , NH_4Cl , alkohol dan akuades, kasein, *buffer* Tris-Hcl (pH 8,5), asam trikloroasetat (TCA), tirosin, *bovine serum albumin* (BSA), Na/K Tartarat 1%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, pereaksi A (Sebanyak 2 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan NaOH 0,1N), pereaksi B (Sebanyak 2 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 5 mL larutan NaK tartarat 1%), pereaksi C (Sebanyak 2 mL pereaksi B ditambahkan 100 mL pereaksi A), pereaksi D (reagen *folin ciocelleau* ditambah aquades 1:1).

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Tahap Persiapan

Adapun tahapan persiapan yang dilakukan adalah penyiapan alat, pembuatan tepung bulu ayam, pembuatan media NA, dan pembuatan medium FMC.

3.3.1.1. Penyiapan Alat

Alat-alat gelas yang digunakan pada penelitian ini dicuci terlebih dahulu sampai bersih, kemudian dikeringkan dan disterilisasi agar alat-alat tersebut terhindar dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan alat *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.3.1.2. Pembuatan Tepung Bulu Ayam

Bulu ayam yang diperoleh dari RPA karkas di daerah Untung Suropati, Bandar Lampung dicuci bersih menggunakan deterjen, kemudian disaring dengan penyaring agar bulu tidak terlalu banyak menyerap air. Setelah itu bulu ayam dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 80°C. Proses selanjutnya bulu ayam direndam campuran metanol dan kloroform dengan perbandingan 1:1 selama 1 jam. Pisahkan antara bulu ayam dan campuran larutan, kemudian bulu ayam kembali dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam. Proses selanjutnya bulu ayam digiling sampai menjadi tepung bulu ayam yang halus.

3.3.1.3. Pembuatan Medium *Nutrient* Agar (NA)

Pembuatan medium *nutrient* agar (NA) dalam volume 100 mL pada Erlenmeyer 250 mL, dilakukan dengan mencampurkan 0,5 g pepton, 1 g NaCl, 0,2 g ekstra ragi dan 1,5 g Agar, kemudian dilarutkan dan dihomogenkan menggunakan 100 mL aquades. Medium NA yang telah homogen, selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Setelah dilakukan sterilisasi selanjutnya medium dituangkan ke dalam cawan petri atau tabung reaksi yang steril, dilakukan dalam keadaan aseptis pada *Laminar Air Flow* (jika media

diletakkan pada tabung reaksi, maka medium dimiringkan) dan dibiarkan hingga memadat pada suhu kamar.

3.3.1.4. Pembuatan Medium *Feather Meal Liquid* (FML)

Pembuatan medium *Feather Meal Liquid* (FML) 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; 0,1 g ekstrak ragi; dan pepton 1 % dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL. Medium disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm (Anggraini, 2018). Penambahan pepton digunakan untuk meningkatkan kemampuan mikroba dalam menghasilkan enzim keratinase (Balakumar *et al.*, 2013).

3.3.2. Peremajaan Bakteri

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil isolasi yang telah berhasil diperoleh dari limbah agro-industri bulu ayam yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya, dan telah disimpan pada medium padat. Peremajaan dilakukan dengan cara menggoreskan 1 ose isolat pada media NA pada tabung reaksi dengan pola zig-zag, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

3.3.3. Pembuatan Inokulum (*Starter*) Mikroba

Sebanyak 1 ose isolat bakteri diinokulasikan pada 50 mL medium *Feather Meal Liquid* (FML) dalam Erlenmeyer 250 mL. Selanjutnya diinkubasi selama 16-18 jam menggunakan *Shaker* dengan kecepatan 120 rpm.

3.3.4. Uji Biodegradasi Limbah Bulu Ayam

Sebanyak 0,5 gram bulu ayam kasar dimasukkan ke dalam 3 tabung Erlenmeyer 250 mL yang telah berisi media FML (*Feather Meal Liquid*) tanpa bulu, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya setelah didinginkan pada suhu ruang, ditambahkan inokulum mikroba pada masing-masing tabung erlenmeyer dengan volume 5 mL, 10 mL, dan 20 mL.

Campuran kemudian diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm dan suhu 35°C selama 12 hari dan disampling pada 3, 6, 9 dan 12 hari. Sisa bulu pada kultur dipisahkan dengan disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam di dalam oven, ditimbang hingga diperoleh berat konstan. Kontrol juga disiapkan dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan isolat mikroba (Quanti, 2015). Kemampuan isolat dalam mendegradasi bulu ayam dihitung dengan mengukur selisih berat kering sampel (penambahan mikroorganisme) dengan berat kontrol (tanpa penambahan mikroorganisme). Apabila terjadi degradasi pada bulu ayam oleh mikroorganisme keratinolitik maka berat kering sampel akan berkurang dibandingkan berat awal. Berkurangnya berat kering sampel dapat dihitung sebagai persentase degradasi sedangkan sampel yang tidak terdegradasi dihitung sebagai persentase sisa substrat (Anggraini, 2018).

3.3.5. Variasi Sumber Karbon (C)

Variasi sumber karbon (C) dilakukan dengan menambahkan 1% glukosa, 1% laktosa dan 1% sukrosa pada medium FML (*Feather Meal Liquid*) dalam kondisi optimum pada pH 7.

3.3.6. Variasi Sumber Nitrogen (N)

Penambahan sumber nitrogen dilakukan dengan menambahkan NH₄Cl, KNO₃ dan NaNO₃ dan ditambahkan sumber karbon (C) yang sudah didapatkan pada tahapan sebelumnya, setelah didapatkan hasil yang optimum maka akan dilakukan uji pertumbuhan bakteri (OD), aktivitas enzim, asam amino yang dibebaskan dan kadar hidrolisat protein yang didapatkan.

3.3.6.1 Pertumbuhan Bakteri (OD)

Pengukuran OD dilakukan dengan mengambil 0,3 mL sampel ditambahkan 2,7 mL akuades, kontrol juga dipersiapkan dengan mengambil 0,3 mL media tanpa penambahan isolat dan ditambahkan 2,7 mL akuades, kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

3.3.6.2 Pengukuran Aktivitas Enzim

Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan 1 % kasein dalam 0,5 mL 100 mM *buffer* Tris-HCl (pH 8,5) ditambahkan 0,5 mL supernatan diinkubasi dalam penangas air pada suhu 60° C selama 15 menit, kemudian reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan asam trikloroasetat (TCA). Selanjutnya larutan disentrifugasi selama 15 menit dan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 280 nm. Pengukuran dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah enzim yang diperlukan untuk melepaskan 1 gram tirosin per menit (Kembhavi *et al.*, 1993).

3.3.6.3 Kadar Asam Amino yang dibebaskan

Pengukuran kadar asam amino yang dibebaskan dilakukan dengan mengambil 0,3 mL sampel ditambahkan 2,7 akuades, kontrol juga di persiapkan dengan mengambil 0,3 mL media fmc tanpa penambahan isolat dan ditambahkan 2,7 mL akuades, kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm.

3.3.6.4 Penentuan Kadar Hidrolisat Protein

Kadar hidrolisat protein dalam ekstrak kasar enzim ditentukan menggunakan metode Lowry dengan *bovine* serum albumin sebagai standar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Uji dilakukan untuk memperoleh jumlah protein dalam tiap mL cairan ekstrak kasar enzim. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel ditambahkan dengan 0,9 mL aquades, dimasukkan pereaksi C dan dicampurkan hingga homogen, lalu dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 0,5 mL pereaksi D dan dicampurkan hingga homogen, lalu didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, setelah itu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm (Fauziana dkk, 2012).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Isolat B-2-2 mampu mendegradasi limbah bulu ayam, optimum pada volume inokulum 10 mL selama 12 hari dengan persen degradasi sebesar 71,5%.
2. Pengaruh penambahan sumber karbon glukosa, laktosa dan sukrosa dengan variasi inokulum, didapatkan % degradasi terbesar pada sumber karbon laktosa 10 mL (67,8%) yang diikuti dengan sukrosa 20 mL (64,0%) dan glukosa 5 mL (58,9%).
3. Pengaruh penambahan sumber nitrogen pada kultur dengan KNO_3 , NaNO_3 , NH_4Cl sebagai sumber nitrogen diperoleh % degradasi terbesar pada penambahan NH_4Cl sumber karbon sukrosa yaitu sebesar 64,2%.
4. Kadar asam amino yang dibebaskan menggunakan FML sebagai medium uji pada pH 7 memperoleh kadar tertinggi pada hari ke-12 yaitu sebesar 691 ppm sedangkan kadar hidrolisat protein tertinggi pada hari ke-5 sebesar 675 ppm dan aktivitas enzim keratinase optimum pada hari ke-8 sebesar 41,6 U/mL.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang diperoleh, maka disarankan untuk melakukan metode selain LSF (*liquid state fermentation*) sehingga menghasilkan % degradasi yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiati, U., Puastuti, W., and Mathius, I. W. 2004. Peluang pemanfaatan tepung bulu ayam sebagai bahan pakan ternak ruminansia. *Wartazoa* 14 (1): 39-44.
- Agrahari, A. K., S. K., Panda, A., Meher, A.R., Padhan, and M. Khaliquzzam. 2013. Phytochemical screening of curculigo orchoides gaertn. Root Tubers. *J. Chem. Pharm.* 2:107-111.
- Agustien, N. 2010. *HUBUNGAN ANTARA ASUPAN PROTEIN DENGAN KEKURANGAN ENERGI KRONIK PADA IBU HAMIL*. USM. Surakarta.
- Akhter, M., Marzan, L., Wal, M., Akter, Y., and Kazuyuki, S. 2020. Microbial bioremediation of feather waste for keratinase production: an outstanding solution for leather dehairing in tanneries. *Microbiol. Insights*.13: 1–12
- Alahyaribeik, S., Sharifi, S., Davood, Tabandeh, F., Honarbakhsh, S., and Ghazanfari, S. 2020. Bioconversion of chicken feather wastes by keratinolytic bacteria. *Process Saf Environ Prot PROCESS SAF ENVIRON*. 135: 171–178.
- Ali, T.H., Nadia, H. A., and Latifa, A. M. 2011. Production, Purification and Some Properties of Extracellular Keratinase from Feathers-Degradation by *Aspergillus oryzae* NRRL-447. *J. Appl. Phytotechnol. Environ. Sanit.* 6: 123-136.
- Anggraini, M. T. 2018. ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROORGANISME PENDEGRADASI LIMBAH BULU AYAM SERTA UJI BIODEGRADABILITASNYA. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Aunstrup, K. 1979. Production Isolation and Economic of Extracellular Enzyme. *Appl. Biochem and Bioeng.* 2:11-14.
- Ayaz, N.O. 2012. Formation of proteases from newly isolated strain isolated from Saudi Arabia. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2 (8): 19

- Bach, E., Daroit, D. J., Correa, A. P., and Brandelli, A. 2011. Production and properties of keratinolytic proteases from three novel gram-negative feather degrading bacteria isolated from brazilian soils. *Journal Biodegradation*. 22: 1191-1201.
- Badan Pusat Statistik Lingkungan Hidup dan Wilayah. 2020. *Statistik Lingkungan Hidup dan Wilayah 2020*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Balakumar, S., Mahesh, N., Arunkumar, M., Sivakumar, R., and Hemambujavalli, V. 2013. Optimization of keratinase production by keratinolytic organisms under submerged fermentation. *Int. J. Pharmtech Res.*5: 1294–1300.
- Berata, I. K., Winaya. I.B.O., Adi, A.A.A.M., Adnyana, I.B.W. 2011. *PATOLOGI VETERINER UMUM*. Swasta Nulus. Denpasar.
- Brandelli, A. 2008. Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond. *Food Bioproc Tech.* 1: 105–116.
- Cai, C. G., Lou. B. G., and Zheng, X. D. 2008. Keratinase production and keratin degradation by a mutant strain of *Bacillus subtilis*. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 9:60–67.
- Cai, C., and Zheng, X.D. 2009. Medium optimization for keratinase production in hair substrate by a new *Bacillus subtilis* KD-N2 using response surface methodology. *J. Ind. Microbiol.*36: 875-883.
- 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. *Lett. Appl. Microbiol.* 46(3): 389–394.
- Chi, Z., Ma, C., Wang, P., and Li, H.F. 2007. Optimization of medium and cultivation conditions for alkaline protease production by the marine yeast *aureobasidium pullulans*. *Bioresour. Technol.* 98(3): 534–538.
- Da Silva, R. R. 2018. Keratinases as an alternative method designed to solve keratin disposal on the environment: its relevance on agricultural and environmental chemistry [in-brief]. *J. Agric. Food Chem.* 66(28): 7219–7221.
- Dias, M.O.S., Maciel, and Rossell, C.E.V. 2007. Eficient colling of fermentationin ethanol production. *Journal Internasional.* 70 : 11.
- Essien, J., Umoh, A., Akpan, E., Eduok. S., and Umoiyoho, A. 2009. Growth, keratinolytic proteinase activity and thermo tolerance of dermatophytes associated with alopecia in uyo nigeria. *Acta Microbiol Immunol Hung.*56(1): 61-69. 108 (5): 1161-9.
- Fajariana, M. 2022. PRODUKSI HIDROLISAT PROTEIN DARI LIMBAH BULU AYAM UNTUK PAKAN UNGGAS. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Fardiaz, S. 1992. *MIKROBIOLOGI PANGAN I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fauziana, S.P., Dian, H., Fifi, M. 2012. Penentuan kondisi optimum pertumbuhan actinomycetes isolat an14 2b-3 untuk produksi enzim protease. *Prosiding SNSMAIP III-2012*. 3(3): 510-511.
- Febriyansari, A.N. 2008. 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.
- Gaman, P. M. K. B., and Sherrington. 1994. *ILMU PANGAN, PENGANTAR ILMU PANGAN, NUTRISI DAN MIKROBIOLOGI*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Gandjar, L., W. Sjamsuridzal, and Oetari, A. 2006. *MIKROBIOLOGI DASAR DAN TERAPAN*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Guangrong, H., Ying, T., Huo, P., and Jiang, J. 2006. Purification and characterization of a protease from thermophilic *Bacillus* Strain HS08. *Afr. J. Biotechnol.* 5 (24) : 2433-2438
- Gupta, A., Kamarudin, N. B., Chua, G. K., Yeo, C., Kee, G., Bin, R., and Yunus, M. 2012. Extraction of keratin protein from chicken feather extractive reactor for biodiesel synthesis view project feather purification view project extraction of keratin protein from chicken feather. *Int. J. Chem.*6: 21–33.
- Han, M. W., Luo, Q., Gu., and X., Yu. 2012. Isolation and characterization of a keratinolytic protease from a featherdegrading bacterium *Pseudomonas Aeruginosa* C11. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6: 2211-2221.
- Huda , dan T. A., Yang. 2012. Technology for production of surimi powder and potential of applications. *Int. Food Res. J.*19(4): 1313-1323.
- Jahan, Z., S.N., Khan, and M.M. Hoq. 2010. Screening of keratinolytic bacteria from poultry wastes. *Bangladesh j. sci. ind. res.*45:261-266
- Joshi, S.G., Tejashwini, M.M., Revati, N., Shridevi, R., and Roma, D. 2007. Isolation, identification and characterization of feather degrading bacterium. *Int. J. Poult. Sci.*. 6(9): 689-693.
- Kanmani, P., Karuppasamy, P., Pothiraj, C., and Venkatesan, A. 2011. Studies on lignocellulose biodegradation of coir waste in solid state fermentation using phanerocheate chrysosporium and Rhizopus stolonifer. *Afr. J. Biotechnol.* 8:6880- 6887.
- Kembhav, A.A., Kulkarni, A., Pant, A.1993. Salt-tolerant and thermostable alkaline protease from *bacillus subtilis* ncim no.64. *Biotechnol. Appl. Biochem. BIOTECHNOL.* 38:83-92.

- Ketaren, S. 2008. *PENGANTAR TEKNOLOGI MINYAK DAN LEMAK PANGAN*. UI Press. Jakarta.
- Kresnamurti. 2001. SUBSTITUSI BEKATUL PADA MEDIUM ONGGOK SEBAGAI SUMBER NITROGEN UNTUK PRODUKSI ENZIM OLEH ASPERGILLUS NIGER . *Skripsi*. Jurusan biologi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kristinsson, H.G. 2007. Enzim papain terhadap kadar proksimat dan nilai rendeman hidrolisat protein ikan bandeng. *Jurnal PENA Akuatik*. 12(1) : 13 - 14
- Kumara, M., Kashyap, S.S.N., Vijay, R., Tiwari.,R. and Anuradha, M. 2012. production and optimization of extra cellular protease from *bacillus* sp. isolated from soil. *Int. j. adv. biotechnol. res.* 3(2): 564–569.
- Kunert, J. 2000. Physiology of keratinophilic fungi. *Rev Iberoam Micol*. 17: 1777–85.
- Lakshmi, P. J., Chitturi, C. M. K., and Lakshmi, V. V. 2013. Efficient degradation of feather by keratinase producing *Bacillus* sp. *Int. J. Microbiol.* 2013: 7.
- Lee, J. M. 1992. *BIOCHEMICAL ENGINEERING*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Manirujjaman, M., Amin, R., Nahid, A. A., and Alam, M. S. 2016. Isolation and characterization of feather degrading bacteria from poultry waste. *A. Acc. Chem.* 8:14–21.
- Martoharsono, S. 1994. *BIOKIMIA JILID 1*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Marzuki, A. R. 2015. OPTIMASI PRODUKSI KERATINASE OLEH BAKTERI *BACILLUS* SLII-I DALAM MEDIUM LIMBAH BULU AYAM. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Mazotto, A. M., de Melo, A. C. N., Macrae, A., Rosado. A. S., Peixoto, R., Cedrola, S. M. L., Couri, S., Zingali, R. B., Villa, A. L. V., Rabinovitch, L., Chaves, J. Q., and Vermelho, A. B. 2013. Degradation of feather waste by *Aspergillus niger* keratinases: comparison of submerged and solid-state fermentation. *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 85: 189-195.
- Mulia, D.S., Yuliningsih, R.T., Maryanto, H., and Purbomartono. C. 2014. Pemanfaatan limbah bulu ayam menjadi bahan pakan ikan dengan fermentasi *Bacillus subtilis*. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 23(1): 49-57.
- Murray, R. K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodwell, V.W. 2003. *BIOKIMIA HARPER*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Mousavi, S. M., Salouti, R., Shapoury, and Z, Heidari. 2013. Research article: optimization of keratinase production for feather degradation by *Bacillus subtilis*. *Jundishapur J.Microbiol* . 6(8): 1-5.
- Naiola, E., dan N, Widhyastuti. 2002. Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Ber Biol*. 6 (3) : 9-16.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *PoP*. 2:76-83.
- Olajuyigbe, F.M. 2013. Optimized production and properties of thermostable alkaline protease from *Bacillus subtilis* shs-04 grown on groundnut (*arachis hypogaea*) meal. *Adv. enzym res*. 1(04): 112.
- Oyeleke, S.B., Egwim, E.C., and Auta, S.H. 2010. Screening of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* strains for extracellular protease enzyme production. *JMA*. 2(7): 83–87.
- Pakpahan, R. 2009. *THERMOPHILIC BACTERIA ISOLATION AND PROTEASE ACTIVITY TEST FROM SIPOHOLON TAPANULI HOT SPRING*. USU. Medan.
- Pasaribu, I. M. 2022. OPTIMASI BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM MENGGUNAKAN MIKROBA KERATINOLITIK ISOLAT LOKAL. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Patel, R., Dodia, M., dan Singh, S. P. 2004. Extracellular alkaline protease from a newly isolated haloalkaliphilic *Bacillus* sp.: production and optimization. *Process Biochem*. 40 : 3569- 3575.
- Patil, U., Chaudhari, A.B., Kulkarni, J.S. and Chinccholkar, S.B. 2008. *FOUNDATIONS IN MICROBIOLOGY*. Rachana Enterprises.India.
- Pepper, I. L., Gerba, C. P. and Gentry, T.J. 2015. *INTRODUCTION TO ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. In Environmental Microbiology. USA.
- Pierce. 2005. *PROTEIN ASSAY: TECHNICAL HANDBOOK, PIERCE BIOTECHNOLOGY*. Inc. USA.USA.
- Prasetyo, Y. 2011. *SCANNING ELECTRON MICROSCOPE DAN OPTICAL EMISSION SPECTROSCOPE*. Wordpress. Bandung.
- Prastika, H.H., Ratnayani Ketut, Puspawati Ni Made, dan Laksmiwati Mayun. 2018. Penggunaan enzim pepsin untuk produksi hidrolisat protein kacang gude (*cajanus cajan* (l.) millsp.) yang aktif antioksidan. *J. appl. chem*. 7(2):6-8.

- Puastuti, W., Yulistiani, D., dan Mathius, I.W. 2007. Efisiensi penggunaan protein pada berbagai taraf substitusi hidrolisat bulu ayam di dalam ransum domba. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 12(3): 189 – 194.
- Purkan, P., Baktir, A., and Sumarsih, S. 2014. Exploration of chitinolytic bacteria from organic waste: isolation and characterization of chitinase enzymes. *Mol Biol Rep*. 9(2): 128–135.
- Purkan, Afaf Baktir, dan Arju Rohmah. S. 2016. Produksi enzim kitinase dari *aspergillus niger* menggunakan limbah cangkang rajungan sebagai induser. universitas airlangga. Jawa Timur. *J. ris. kim*.1: 34-41.
- Qadar, S.A.U., Shireen, E., Iqbal, S., and Anwar, A. 2009. Optimization of protease production from newly isolated strain of *Bacillus* sp. PCSIR EA-3. *IJBT*. 8(3): 286-290.
- Quanti, M. 2015. Isolasi DAN POTENSI BAKTERI KERATINOLITIK DARI FESES BUAYA (*CROCODYLUS SP.*) DALAM MENDEGRADASI LIMBAH KERATIN. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Realita, T., Debby, Sumanti, M. 2009. *TEKNOLOGI FERMENTASI*. Widya padjajaran. Bandung.
- Riffel, A., and Brandelli, A. 2006. Keratinolytic bacteria isolated from feather waste. *Braz. J. Microbiol*. 37(3) :395–399.
- Rodriguez, M.R., Valdivia, E., Soler, J.J. Vivaldi, M.M., Martin-Platero, A.M., and Martinez-Bueno, M. 2009. Symbiotic bacteria living in the hoopoe's uropygial gland prevent feather degradation. *J. Exp. Biol*. 212:3621-3626.
- Rolfé, M.D., Rice, C.J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A.D.S., Alston, M., Stringer, M.F., Betts, R.P., and Baranyi, J. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *J. Bacteriol*. 194(3): 686–701.
- Rostyalina. 2015. SOLIDIFIKASI ZINK PADA LIMBAH BULU AYAM DENGAN MENGGUNAKAN SEMEN PORTLAND. *Skripsi*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Sa'adah, N., Hastut, R., dan Prasetya, N. 2013. Pengaruh asam formiat pada bulu ayam sebagai adsorben terhadap penurunan kadar larutan zat warna tekstil remazol golden yellow rnl. *J. Chem*.1(1): 202–209.
- Safaria, S. 2013. Efektivitas Campuran enzim selulase dari *aspergillus niger* dan *trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. *Jurnal kajian komunikasi*. 2 (1).
- Sanchez, S., and Demain, A.L. 2008. Metabolic Regulation and Overproduction of Primary Metabolites. *Microb Biotechnol*. 1: 283–319.

- Saravanan, 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(3): 1–6.
- Setyabudi dan Rizki B. 2015. *AKTIVITAS KERATINOLITIK ASERGILLUS NIGER PADA TEPUNG BULU AYAM MENGGUNAKAN SOLID STATE FERMENTATION (SSF)*. Universitas Jember. Jember.
- Sinoy, Tom, E.S., Bhausahab, Chavaan, P., Pratiksha, and Patre, R. 2011. Isolation and identification of feather degradable microorganism. *VSRD int. j. tech. non-tech. res.*2:128-136.
- Sitompul, S. 2004. Analisis asam amino dalam tepung ikan dan bungkil kedelai. *BTP*. 9(1): 33-37.
- Soeka, Y.S., Rahayu, S.H., dan Setianingrum, N. 2011. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam memproduksi enzim protease yang bersifat alkalin dan termofilik. *Jurnal Litbang Kemkes*. 21 (2): 89-95.
- Soeka, Yati, S., dan Sulistiani. 2014. Karakterisasi protease *Bacillus subtilis* a1 inacc b398 yang diisolasi dari terasi samarinda. *Ber Biol*. 13(2): 203-212.
- Srividya, S. 2011. Pengaruh parameter proses pada produksi protease alkali yang kompatibel dengan deterjen oleh *Bacillus* sp. yang baru diisolasi. *J Biologi Indones.* 35 (2): 177–182.
- Suharti, Arinta, A.D., dan Nurlaili, L. 2017. Pemekatan keratinase dari *Bacillus* sp. 24 untuk meningkatkan aktivitas dehairing. *JC-T*. 1(2): 2549-6573.
- Sukiya. 2001. *BIOLOGI VERTEBRATA*. JICA. Yogyakarta.
- Sumarlin, L.O. 2010. *AKTIVITAS PROTEASE DARI BACILLUS CIRCULANS PADA MEDIA PERTUMBUHAN DENGAN PH TIDAK TERKONTROL*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Sunarminingsih, R. 2002. *METABOLIT SEKUNDER : MANFAAT DAN PERKEMBANGANNYA DALAM DUNIA FARMASI*. UGM. Yogyakarta.
- Suntornsuk, W., Tongjun, J., Onnim, P., Oyama, .H, and Ratanakanokchai, K. 2005. Purification and characterization of keratinase from a thermotolerant feather degrading bacterium. *J. Microbiol. Biotechnol*. 21:1111-1117.
- Sumarsono, T. 2011. *BIODEGRADASI CAMOURAN BENZEN, TOLUEN DAN XILEN (BTX) DALAM ADSORBEN CLAY OLEH KONSORSIUM MIKROBA DENGAN PENMABAHAN BIOSURFAKTAN PSEUDOMONAS PUTIDA TI (8)*. Departemen Biologi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Susanti, E., V., H. 2003. Isolasi dan karakterisasi protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15. *Jurnal Biodiversitas*. 1(4):12-17.

- Srivastava, B., Khatri, M., Singh, G., and Arya, S. K. 2020. Microbial keratinases: An overview of biochemical characterization and its eco-friendly approach for industrial applications. *J. Clean. Prod.* 252: 119847.
- Tamilmani, P., Umamaheshwari, A., Vinayagam, A., and Prakash, B. 2008. Production of an extracellular feather degrading enzyme by *Bacillus licheniformis* isolated from poultry farm soil in namakkal district (tamilnadu). *Int. J. Poult. Sci.* 7(2): 184-188.
- Ugoh, Sylvanus, C., and Ijigbade, B. 2013. Production and characterization of keratinase by fungi isolated from soil samples at gwagwalada, fct-abuja, nigeria. *NS.* 1(11):10.
- Utarti, E., Nurita, L., Arimurti, S. 2009. *Karakterisasi Protease Ekstrak Kasar Bacillus sp 31.* *J. Sains Dasar.* 10(1): 102 – 108
- Velooralappil, N., J., Robinson, B., S., Selvanesan, P., Sasidharan, S., Kizhakkepawothail, N., U., Sreedharan, S., Prakasan, P., Moolakkariyil, S., and Sailas, B. 2013. Versatility of microbial proteases. *Adv. enzym res.* 1(3):39-51.
- Vidmar, B., and Vodovnik, M. 2018. Microbial keratinases: Enzymes with promising biotechnological applications. *Food Technol. Biotechnol.* 56(3): 312–328.
- Ward, O.P., and Fogarty, W., M. 1983. *Proteinase MICROBIAL ENZYME AND BIOTECHNOLOGY.* Applied Science Publisher. New York.
- Werlang, P. O., and Brandelli, A. 2005. Characterization of a novel feather-degrading *Bacillus* sp. strain. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 120(1): 71–79.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolferton, C. J., 2008. *MICROBIOLOGY, SEVENTH EDITION.* The McGraw-Hill Companies. Inc. New York.
- Xie, F., Chao, Y., Yang, X., Yang, J., Xue, Z., Luo, Y., and Qian, S. 2010. Purification and characterization of four keratinases produced by *Streptomyces* sp. strain 16 in native human foot skin medium. *J. Biores. Technol.* 101: 344-350.
- Xu, B., Zhong, Q., Tang, X., Yang, Y., and Huang, Z. 2009. Isolation and characterization of a new keratinolytic bacterium that exhibits significant feather-degrading capability. *Afr. J Biotechnol.* 18:4590–4596.
- Yue, X. Y., Zhang, B., Jiang, D. D, Liu, Y. J, and Niu, G. T. 2011. Characterization of a New Feather Degrading Bacterium from *Calotes versicolor* Feces. *Afr. J Biotechnol.* 12: 5-7.
- Yuliana, N. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolay T5 yang berasal dari tempoyak. *Jurnal teknologi dan industri hasil pertanian.* 10(2):108-114.

- Yumainismar. 2019. BIODEGRADASI LIMBAH BULU AYAM OLEH KONSORSIUM BAKTERI ISOLAT LOKAL. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Yunita, S. P. 2012. SKRINING DAN UJI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE BAKTERI DARI LIMBAH RUMAH PEMOTONGAN HEWAN. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Jakarta.
- Zang, Bin., Zhong-wei, S., and Tian-gui, N. 2009. Isolation and purification of alkaline keratinase from *Bacillus sp.* 50-3. *Afr. J Biotechnol.* 8: 2598-2603.
- Zerdani, I., Faid, M., and Malki, A. 2004. Feather wastes digestion by new isolated strains *Bacillus sp.* *Afr. J. Biotechnol.* 3 (1): 67-70.