

**OPTIMASI PROSES HIDROLISIS PROTEIN DARI LIMBAH BULU AYAM****OPTIMIZATION OF PROTEIN HYDROLYSIS PROCESS FROM CHICKEN FEATHER WASTE****Pangestu Bowo Sukendro<sup>1\*</sup>, Teti Indrawati<sup>1</sup>, Deni Rahmat<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jl. Srengseng sawah, Jagakarsa, Jakarta

Naskah diterima tanggal 25 Oktober 2020

**ABSTRACT**

*Chicken feather waste containing keratin protein has been recommended as an alternative source of nutrition that can be used for animal feed, the cosmetic industry and the fertilizer industry. The purpose of this study was to determine the effect of NaOH concentration on the quality of chicken feather hydrolyzate. The study was conducted by optimizing the process of hydrolysis of chicken feather waste with an alkaline method using NaOH (ratio 1: 6) with variations concentration of 5%, 7.5% and 10% for 4 hours at a temperature of 80°C. The most optimum determination of chicken feather hydrolysates yield is done by total protein analysis using the Kjeldahl method, amino acid analysis using Amino Acid Analyzer (AAA) and identification of protein profiles using the Static light scattering (SLS) method. The results of the optimization of the hydrolysis process can be concluded that the chicken feather hydrolyzate with a solvent concentration of 5% NaOH showed optimum results with a yield of 70.24%, total protein 62.66%, total free amino acids 39.126% and a protein molecular mass with SLS method show result of 4.31 kDa.*

**Keywords :** *Amino acid, chicken feather, hydrolysis process***ABSTRAK**

Limbah bulu ayam yang mengandung protein keratin telah direkomendasikan sebagai sumber nutrisi alternatif yang dapat digunakan untuk pakan ternak, industri kosmetik, dan industri pupuk. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi NaOH terhadap kualitas hidrolisat bulu ayam. Penelitian dilakukan dengan optimasi proses hidrolisis limbah bulu ayam dengan metode basa menggunakan NaOH (rasio 1:6) dengan variasi konsentrasi 5%, 7,5% dan 10% selama 4 jam pada suhu 80°C. Penentuan rendemen hidrolisat bulu ayam paling optimum dilakukan dengan analisis total protein menggunakan metode Kjeldahl, analisis asam amino dengan menggunakan Amino Acid Analyzer (AAA) dan identifikasi profil protein menggunakan metode *Static light scattering* (SLS). Hasil optimasi proses hidrolisis dapat disimpulkan bahwa hidrolisat bulu ayam dengan konsentrasi pelarut NaOH 5% menunjukkan hasil optimum dengan rendemen sebesar 70,24% , total protein 62,66 % , total asam amino bebas 39.126 % dan masa molekul protein dengan metode SLS menunjukkan hasil 4,31 kDa.

**Kata Kunci :** Asam amino, bulu ayam, proses hidrolisis**PENDAHULUAN**

Bulu ayam merupakan limbah industri pemotongan unggas, limbah ini berpotensi sebagai sumber protein. Lima persen dari berat badan ayam adalah bulu. Degradasi limbah bulu ayam secara mekanik, kimia dan biologi/enzimatik dapat menghasilkan berbagai produk yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut, yaitu sebagai sumber protein. Limbah bulu ayam

dengan kandungan proteinnya dapat digunakan sebagai sumber nutrisi alternatif untuk pakan ternak, industri kosmetik dan industri pupuk (Sharma & Gupta, 2016 ; Tesfaye dkk., 2018). Potensi bulu ayam di Indonesia sangat besar mengingat di tahun 2017 produksi daging ayam broiler tercatat sejumlah 1.848.061 ton (Kementan RI, 2017). Dari data tersebut dapat diestimasikan jika jumlah bulu sebesar 5 persen dari badan ayam adalah sejumlah 92.403 ton bulu ayam. Potensi tersebut jika tidak dimanfaatkan maksimal akan menimbulkan

**Alamat korespondensi :**  
[pangestubowo.apt@gmail.com](mailto:pangestubowo.apt@gmail.com)

dampak buruk berupa pencemaran lingkungan.

Kandungan nutrisi bulu ayam adalah 81% protein, 1.2% lemak, 86% bahan kering, dan 1.3% abu (Rahayu dkk., 2014). Bulu ayam juga mengandung mineral kalsium 0.19%, fosfor 0.04%, kalium 0.15%, dan sodium 0.15% (Kim & Patterson, 2000). Protein bulu ayam sebagian besar terdiri atas keratin yang digolongkan ke dalam protein serat. Keratin adalah produk pengerasan jaringan epidermal dari tubuh dan merupakan protein *fibrous* yang kaya akan sulfur dan banyak terdapat pada rambut, kuku dan bulu (Puastuti, 2007 ; Gupta dkk., 2012). Pemrosesan limbah bulu ayam pada prinsipnya untuk melemahkan atau memutuskan ikatan dalam keratin melalui proses hidrolisis. Diketahui ada empat metode pemrosesan bulu ayam, yaitu secara fisik dengan tekanan dan temperature tinggi, secara kimiawi dengan asam, basa atau karbonasi dan secara enzimatik serta secara mikrobiologis melalui fermentasi oleh mikroorganisme (Sinkiewicz, 2017 ; Wei dkk., 2017). Bulu ayam yang sudah mengalami hidrolisis dikenal dengan nama hidrolisat bulu ayam (HBA) —(Puastuti, 2007).

Menurut penelitian Gupta dkk., (2012) dilaporkan bahwa ekstraksi protein keratin dari bulu ayam menggunakan larutan ammonium sulfat dan dengan agen pereduksi natrium sulfide memberikan hasil paling optimum dengan kandungan protein sekitar 52%. Penelitian yang dilakukan oleh (Rahayu dkk., 2014) melaporkan bahwa Bulu ayam yang diolah menjadi tepung keratin dengan teknik perebusan dalam larutan yang mengandung 0.5% NaOH dan Na<sub>2</sub>S yang dilanjutkan dengan fermentasi menggunakan bakteri keratinolitik *Bacillus* sp. MTS, dapat digunakan hingga 16% dalam pakan ayam petelur grower. Hasil penelitian (Mulia dkk., 2014) melaporkan bahwa fermentasi tepung bulu ayam dengan *Bacillus licheniformis* B2560 selama 72 jam dapat menghasilkan hidrolisat bulu ayam dengan kandungan protein sampai 82 %.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi NaOH terhadap profil protein dan persentase (%) asam amino hidrolisat bulu ayam. Proses hidrolisis bulu ayam dibuat berdasarkan modifikasi metode dari penelitian Sundaram & Banu (2015). Dalam penelitian ini dilakukan optimasi proses hidrolisis limbah bulu ayam menggunakan pelarut NaOH dengan variasi konsentrasi 5%, 7,5% dan 10%. Penentuan rendemen hidrolisat bulu ayam paling optimum dilakukan dengan analisis total protein menggunakan metode Kjeldahl, analisis asam amino dengan menggunakan *Amino Acid Analyzer* (AAA) dan identifikasi profil protein. menggunakan metode metode *Static light scattering* (SLS).Perbedaan dengan penelitian sebelumnya adalah perlakuan analisis asam

amino dan analisis profil protein (identifikasi masa molekul protein) hidrolisat bulu ayam dengan menggunakan metode dan alat instrument yang lebih modern, dimana perlakuan tersebut tidak dilakukan dipenelitian sebelumnya.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, *beaker glass*, wadah gel, cawan penguap, batang pengaduk, neraca analitik (Shimadzu), *Hot plate* (Wisestir), pH meter (Hanna), Oven (Memmert), kamera digital, pengaduk magnetic Stirer, *Amino acid analyzer* (HITACHI), *Freeze Dryer* (Shinva), *Particle Size Analyzer Litesizer 500* (Anton Paar).

### Bahan

Limbah bulu ayam (Rumah potong ayam Jakarta Timur), Natrium Hidroksida (Tjiwi Kimia), HCl (Merck), Etanol 96% (Japura Jaya), Aquades, *Amino Acid Standard Solution* (Wako), Ninhydrin (Sigma Aldrich) *Buffer set for protein hydrolisate* (Kanto Chemical,CO.,LTD), Toluene (Merck).

### Metode

#### 1. Proses hidrolisis limbah bulu ayam.

Limbah bulu ayam dikoleksi dari Rumah Potong Ayam (RPA) di daerah Jakarta Timur. Bulu ayam dicuci dengan disinfektan dan aquades, lalu pencucian dilanjutkan dengan alkohol 70%. Bulu ayam yang sudah dicuci, di potong kecil-kecil, lalu dikeringkan di dalam oven (Sundaram & Banu, 2015). Bulu ayam yang sudah kering dilanjutkan dengan proses hidrolisis basa, yaitu bulu ayam dilarutkan dengan variasi konsentrasi 5%, 7,5% dan 10% larutan NaOH (rasio 1:6) dan dihidrolisis selama 4 jam pada suhu 80°C dengan menggunakan *Hot plate* dan dengan bantuan pengaduk *magnetic stirrer* sebesar 1000 rpm. Hasil hidrolisis dilakukan adjustment dengan HCl untuk memperoleh pH yang diharapkan yaitu 6-7.

#### 2. Proses pemekatan larutan hasil hidrolisis limbah bulu ayam.

Larutan hidrolisat bulu ayam dari proses hidrolisis dengan variasi konsentrasi NaOH (5%, 7,5% dan 10%) dipekatkan dengan *Freeze drying*.

#### 3. Analisis kualitatif protein.

Analisis kualitatif protein pada hidrolisat bulu ayam menggunakan metode biuret. Uji biuret dilakukan dengan memasukkan larutan sampel (hidrolisat asam amino keratin bulu ayam) sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan 1 mL NaOH 10% dan 1-3 tetes CuSO<sub>4</sub> 0,1%, kocok dan biarkan selama 20 menit (Jubaidah dkk., 2016; Purwanto, 2014)

#### 4. Analisis kuantitatif protein.

Pengukuran Kadar Protein dilakukan dengan Metode Semi-mikro Kjeldahl (Elfita, 2015). 0,5 gram sampel uji yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml. 2 gram campuran selen dan 25 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan ke dalam labu kjeldahl yang telah berisi sampel. Larutan sampel dipanaskan sampai mendidih sampai berwarna jernih kehijauan ( $\pm$  2 jam), kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas. 5 ml larutan sampel dipipet ke labu destilasi, ditambahkan 5 ml NaOH 30% dan 3 tetes indikator PP. Destilasi selama 10 menit. 10 ml destilat ditampung dengan asam borat 2% dan indikator campuran (BCG + metil red). Bilas ujung pendingin dengan air suling dan dititrasi dengan HCl 0,01 N.

#### 5. Analisis kadar asam amino.

##### 5.1. Kondisi alat *Amino Acid Analyzer* (Shimadzu, 2013; Shinichi Ozawa, 2015)

Kolom	: Hitachi custom ion exchange resin (Size: 4.6 mm ID $\times$ 60 mm)
Temperatur	: 37°C
Fase gerak	: pH set Kanto for Protein Hydrolysate (Kanto 05101-96)
Laju Alir	: 1 mL/menit
Detektor	: Spectrophotometer Aberration-corrected concave diffraction grating (Wavelength 570 nm, 440 nm)

##### 5.2. Pembuatan larutan standar *Amino Acid mix*.

Larutan standard Induk Asam Amino dipipet sebanyak 2 ml ke dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan dengan HCl 0.02 M. Larutan kemudian dionifikasi selama 15 menit. Larutan diinjeksikan pada instrument *Amino Acid Analyzer* LA8080 dengan volume injeksi 20  $\mu$ L (konsentrasi larutan standar asam amino 2 nmol/20  $\mu$ L).

##### 5.3. Analisa asam amino hidrolisat bulu ayam.

Masing-masing sampel hidrolisat bulu ayam hasil hidrolisis dengan variasi konsentrasi NaOH sebesar 5%, 7,5% dan 10% ditimbang kurang lebih 500 mg. Sampel yang sudah ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan menggunakan aquadest sampai tanda batas. Larutan sampel dihomogenkan dengan sonikasi selama 15 menit. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml. Selanjutnya dilarutkan

menggunakan HCl 0,02 M sampai tanda batas dan dihomogenkan. Larutan diinjeksikan ke alat *Amino Acid Analyzer*. Konsentrasi asam amino dalam sampel:

$$\text{Kadar Asam Amino} = \frac{n \times Mr \times V \times FP}{W \times V_{inj} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

n	: Konsentrasi sampel (nmol)
Mr	: Berat molekul asam amino (g/mol)
V	: Volume labu (ml)
FP	: Faktor pengenceran
W	: Berat sampel (mg)
V <sub>inj</sub>	: Volume injeksi ( $\mu$ l)

#### 6. Analisis profil protein hasil hidrolisis bulu ayam

Metode *Static light scattering* (SLS) dilakukan dengan menggunakan alat *Litesizer* (Anton Paar) yang memiliki fungsi untuk menganalisis masa molekul suatu sampel (Adawy & Groves, 2017; Minton, 2018). Pengukuran masa molekul dianalisis berdasarkan grafik *Debye plot*. *Debye plot* menghubungkan intensitas cahaya yang tersebar (KC/R) ke konsentrasi partikel yang dianalisis. Prosedur analisis masa molekul dilakukan dengan membuat pengenceran dari masing-masing sampel (hidrolisat hasil hidrolisis bulu ayam dengan variasi konsentrasi NaOH) menggunakan aquades dengan konsentrasi sebesar 5, 10, 15 dan 20 mg/mL (Anton Paar, 2018).

Masing-masing serial pengenceran dimasukkan ke dalam wadah *cuvet* sampai tanda batas dan di analisis melalui fitur program yang berada di alat *Litesizer* (Anton Paar). Proses tersebut dilakukan terhadap seluruh konsentrasi sampel yang telah dipreparasi. Terakhir toluene dimasukkan ke dalam wadah *cuvet* dan di analisis dengan cara yang sama hingga terbentuk *Debye plot*. Toluene ini digunakan sebagai referensi/standar pengukuran masa molekul suatu sampel yang diuji. Hasil akhir adalah berupa laporan hasil analisis dari alat *Litesizer* (Anton Paar) yang menunjukkan angka masa molekul dari sampel yang diukur.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

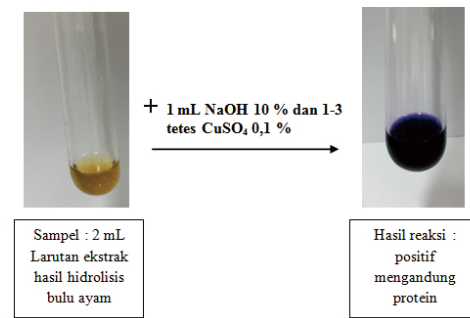
Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah bulu ayam broiler yang telah dikeringkan. Pencucian bulu ayam dengan desinfektan, aquades dan alkohol 70% bertujuan untuk membunuh mikroba dan membersihkan sisa darah dan kotoran yang masih melekat pada bulu ayam. Bulu ayam yang sudah bersih dipotong hingga berukuran kecil dengan tujuan agar kontak antara sampel dan

pelarut (NaOH) semakin banyak sehingga proses hidrolisis bisa berjalan cepat dan maksimal. Pengeringan bulu ayam dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam, hal ini bertujuan untuk menguapkan air dan memastikan agar bulu ayam terhindar dari tumbuhnya mikroba sehingga bulu ayam tidak mudah busuk.

Analisis kualitatif protein dilakukan pada sampel hidrolisat bulu ayam dengan menggunakan metode biuret. Prinsip analisis protein dengan biuret yaitu didasarkan pada reaksi antara ion  $Cu^{2+}$  dan ikatan peptide dalam suasana basa (Purnama, 2019). Warna kompleks ungu menunjukkan adanya protein. Intensitas warna yang dihasilkan merupakan ukuran jumlah ikatan peptida yang ada dalam protein. Ion  $Cu^{2+}$  dari pereaksi Biuret dalam suasana basa akan bereaksi dengan polipeptida atau ikatan-ikatan peptide yang menyusun protein, dan membentuk senyawa kompleks berwarna ungu atau violet (Purwanto, 2014 ; Mirdayanti, 2018). Gambar 1 menunjukkan bahwa hasil analisis kualitatif protein pada hidrolisat bulu ayam menunjukkan hasil reaksi berwarna ungu, hal ini menandakan bahwa hidrolisat bulu ayam positif mengandung protein.

Hasil hidrolisis bulu ayam dengan larutan NaOH ini berupa endapan dan larutan yang berubah warna menjadi coklat tua, hal ini dikarenakan kandungan dalam bulu ayam menandakan telah terhidrolisis oleh larutan basa. Analisis kadar protein dilakukan pada sampel hidrolisat bulu ayam dengan menggunakan metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl adalah metode pengukuran kadar protein kasar berdasarkan jumlah nitrogen total yang ada di dalam sampel, sehingga ada kemungkinan molekul-molekul lain yang bukan protein tetapi mengandung nitrogen ikut terukur sebagai nitrogen total. Semakin banyak jumlah nitrogen yang terukur, maka semakin besar kadar protein yang terkandung dalam sampel tersebut (Purnama, 2019).

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi NaOH yang digunakan pada proses hidrolisis bulu ayam, semakin tinggi juga rendemen yang dihasilkan. Rendemen yang dihasilkan pada proses hidrolisis berbanding terbalik dengan hasil kandungan proteinnya. Semakin tinggi konsentrasi NaOH yang



**Gambar 1. Hasil analisis kualitatif protein dari hidrolisat bulu ayam**

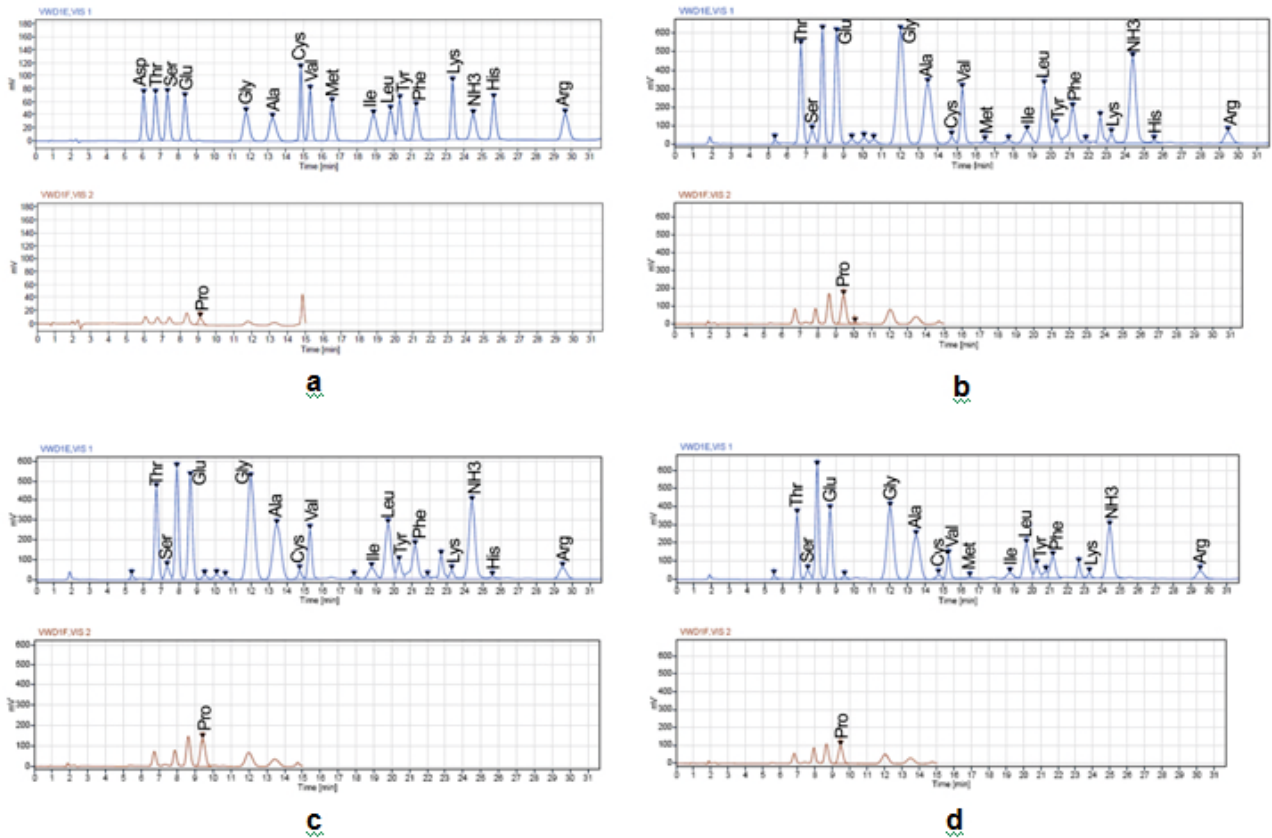
digunakan pada proses hidrolisis bulu ayam, semakin rendah kandungan protein yang di hasilkan. Hal ini bisa disebabkan karena terjadinya degradasi protein akibat terlalu pekatnya konsentrasi NaOH yang digunakan. Hidrolisat bulu ayam dengan konsentrasi NaOH 5% memiliki kandungan protein tertinggi yaitu 62,66 %. Proses hidrolisis dengan NaOH 5% menghasilkan kandungan protein lebih optimal jika dibandingkan dengan penelitian (Gupta dkk., 2012) yang melaporkan bahwa ekstraksi protein keratin dari bulu ayam menggunakan larutan ammonium sulfat dan dengan agen pereduksi natrium sulfide memberikan hasil kandungan protein sekitar 52%.

Proses hidrolisis dengan NaOH 5% kurang optimal jika dibandingkan dengan penelitian (Mulia dkk., 2014) yang melaporkan bahwa proses fermentasi tepung bulu ayam dengan *Bacillus licheniformis* B2560 selama 72 jam dapat menghasilkan HBA dengan kandungan protein sampai 82%. Proses hidrolisis dengan metode basa menggunakan NaOH memerlukan biaya dan waktu proses yang minimal, lebih efisien jika dibandingkan dengan proses hidrolisis menggunakan metode fermentasi yang memerlukan biaya lebih mahal dan waktu proses lebih lama.

Analisis kadar asam amino pada hidrolisat bulu ayam dilakukan dengan menggunakan alat *Amino Acid Analyzer* (Hitachi LA 8080). Prinsip kerja alat *Amino Acid Analyzer* adalah hasil penggabungan dua teknik analisa bahan kimia yaitu kromatografi kolom yang berfungsi untuk memisahkan komponen-komponen asam amino yang tercampur dalam

**Tabel 1. Hasil rendemen dan konsentrasi total protein dari hidrolisat bulu ayam**

Konsentrasi NaOH (%)	Rendemen (%)	Konsentrasi Protein (%)
Hidrolisat Bulu Ayam dengan NaOH 5%	70,24	62,66
Hidrolisat Bulu Ayam dengan NaOH 7,5%	73,52	57,69
Hidrolisat Bulu Ayam dengan NaOH 10%	85,12	43,72



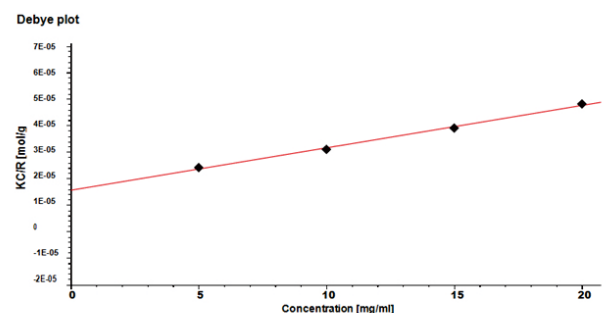
**Gambar 2. a. Kromatogram asam amino standar ; b. Kromatogram HBA dengan NaOH 5% ; c.Kromatogram HBA dengan NaOH 7,5% ; d. Kromatogram HBA dengan NaOH 10 %**

suatu sampel dan spektrofotometri yang berfungsi untuk pengukuran konsentrasi masing-masing komponen yang telah dipisahkan (Sudarmadji, 1980). Agar dapat diukur kadarnya, asam-asam amino direaksikan dengan Ninhydrin sehingga menghasilkan warna ungu tua yang khas dan dapat terukur pada serapan spektrum sinar tampak (Shim dkk., 2013). Kromatogram hasil analisa HBA dapat dilihat pada Gambar 2.

Kelebihan alat *Amino acid Analyzer* adalah dapat melakukan analisa jenis asam amino lebih banyak dengan durasi waktu lebih singkat. Asam amino merupakan komponen penyusun utama protein dan dibagi dalam dua komponen yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga sering harus ditambahkan dalam bentuk makanan, sedangkan asam amino non esensial dapat diproduksi dalam tubuh (Elfita, 2015).

Tabel 2 menunjukkan bahwa HBA dengan hidrolisis NaOH 5 % teridentifikasi 16 jenis asam amino dengan kandungan asam amino total sebesar 39.126 %, HBA dengan hidrolisis NaOH 7,5 % teridentifikasi 15 jenis asam amino (tanpa methionine) dengan kandungan asam amino total sebesar 34.81 %, dan HBA dengan hidrolisis NaOH 10 % teridentifikasi 15 jenis asam amino

(tanpa histidine) dengan kandungan asam amino total sebesar 23.893 %. Dari data tersebut menunjukkan bahwa HBA dengan hidrolisis NaOH 5 % mengandung jenis asam amino yang lebih banyak dan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan HBA yang menggunakan NaOH 7,5 % dan 10 %. Semakin tinggi konsentrasi NaOH yang digunakan untuk proses



Concentration [mg/ml]	Median intensity [kcounts/s]	Filter optical density	In-Beam solvent focus [mm]
20,0000	125,2	2,6237	0,2
15,0000	126,1	2,5308	0,2
10,0000	114,5	2,4117	0,2
5,0000	120,7	2,1332	0,2

Result			
Molecular mass	6,38 E+1 kDa	2nd virial coefficient	8,01 E-4 mol <sup>2</sup> /mg <sup>2</sup>

**Gambar 3. Hasil pengujian *molecular mass* hidrolisat bulu ayam dengan alat PSA Anton Paar**

**Tabel 2. Perbandingan hasil analisa asam amino dari hidrolisat bulu ayam (HBA)**

No	Jenis Asam Amino	BM	HBA dengan NaOH 5%	HBA dengan NaOH 7,5%	HBA dengan NaOH 10%	
1	Aspartic Acid	<i>Asp</i>	133,1	-	-	
2	Threonine	<i>Thr</i>	119,1	3,253	2,919	2,12
3	Serine	<i>Ser</i>	105,1	0,502	0,466	0,325
4	Glutamic Acid	<i>Glu</i>	147,1	5,399	4,875	3,359
5	Glycine	<i>Gly</i>	75,07	4,848	4,316	3,073
6	Alanine	<i>Ala</i>	89,09	3,45	3,166	2,539
7	Cystine	<i>Cys</i>	240,3	0,583	0,577	0,419
8	Valine	<i>Val</i>	117,1	1,997	1,696	0,893
9	Methionine	<i>Met</i>	149,2	0,244	-	0,181
10	Isoleusine	<i>Ile</i>	131,2	1,008	0,809	0,429
11	Leucine	<i>Leu</i>	131,2	4,217	3,725	2,425
12	Tyrosine	<i>Tyr</i>	181,2	1,363	1,19	0,945
13	Phenylalanine	<i>Phe</i>	165,2	3,212	2,825	1,742
14	Lysine	<i>Lys</i>	146,2	0,426	0,359	0,191
15	Histidine	<i>His</i>	155,2	0,194	0,164	-
16	Arginine	<i>Arg</i>	174,2	1,217	1,173	0,861
17	Proline	<i>Pro</i>	115,1	7,213	6,55	4,391
<b>Total Asam Amino</b>				39,126	34,810	23,893

**Tabel 3. Perbandingan hasil analisa masa molekul hidrolisat bulu ayam (HBA)**

Sampel	Masa molekul (kDa)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata±SD
HBA dengan NaOH 5%	3,27	6,38	3,29	4,31±1,46
HBA dengan NaOH 7,5%	3,07	6,06	3,47	4,20±1,33
HBA dengan NaOH 10%	5,3	4,58	2,59	4,16±1,15

hidrolisis dapat mempengaruhi kandungan asam aminonya.

Peng dkk., (2019) melaporkan bahwa bulu ayam yang didegradasi dengan metode fermentasi menggunakan *B. licheniformis* BBE11-1 dan *S. maltophilia* BBE11-1 dapat diperoleh HBA dengan rendemen sekitar 50% dan teridentifikasi 14 jenis asam amino dengan konsentrasi total asam amino yaitu 89,58%. Proses analisa asam amino menggunakan alat HPLC (Agilen 1260). Jika dibandingkan dengan HBA yang menggunakan NaOH 5%, rendemen yang diperoleh lebih optimal (70,24%), tetapi kurang optimal terkait perolehan konsentrasi total asam aminonya meskipun jumlah jenis asam aminonya lebih banyak.

*Litesizer* (Anton Paar) menganalisis masa molekul sampel protein berdasarkan sistem *Static light scattering* (SLS). Pengukuran masa molekul dianalisis berdasarkan grafik *Debye plot*. *Debye plot* menghubungkan intensitas cahaya

yang tersebar (KC/R) ke konsentrasi partikel yang dianalisis (Anton Paar, 2018). Tabel 3 menunjukkan hasil analisis profil protein HBA dengan metode SLS memberikan hasil rata-rata masa molekul antara 4,16±1,15 kDa – 4,3±1,46 kDa. Contoh hasil pengujian *molekuler mass* HBA dengan alat PSA Anton Paar dapat dilihat pada Gambar 3.

Analisis profil protein yang sering dilakukan adalah menggunakan sodium dodecyl sulfat poliakrilamid gel elektroforesis (SDS-PAGE). Kelemahan metode elektroforesis (SDS-PAGE) adalah membutuhkan protein marker yang tepat dan membutuhkan sampel protein dengan kualitas yang baik untuk dapat menunjukkan adanya pita protein seperti yang ditunjukkan oleh marker protein.

## KESIMPULAN

Proses hidrolisis bulu ayam dengan konsentrasi NaOH 5% menghasilkan HBA dengan kandungan protein 62,66 %, total asam amino bebas 39.126 % dan rata-rata masa molekul protein 4,31 kDa. Proses hidrolisis dengan menggunakan NaOH 5% dapat disimpulkan lebih optimal karena memiliki nilai nutrisi lebih tinggi meskipun rendemen yang diperoleh tidak lebih tinggi jika dibandingkan dengan proses hidrolisis menggunakan NaOH 7,5% dan 10%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawy, A., & Groves, M. R. (2017). The Use of Size Exclusion Chromatography to Monitor Protein Self-Assembly. *Crystals*, 7(331), Hal.1-10.
- Anton Paar. (2018). Reference Guide Litesizer 100 & Litesizer 500. In *Litesizer Series Instruments* (pp. 6973).
- Elfita, L. (2015). Analisis Profil Protein dan Asam Amino Sarang Burung Walet (*Collocalia fuchiphaga*) Asal Painan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(1), Hal. 27-37.
- Gupta, A., Perumal, R., Yunus, R. B. M., & Kamarudin, N. B. (2012). Extraction of keratin protein from chicken feather. *J. Chem.Chem.Eng.*, 6, 732737.
- Jubaidah, S., Nurhasnawati, H., Wijaya, H., & Samarinda, A. F. (2016). Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (*Zea Mays L.*) Dengan Kombinasi Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Manutung*, 2(1), Hal. 111-119.
- Kementan RI. (2017). Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. In *Direktorat Jenderal Peternakan Dan Kesehatan Hewan*. Kementan RI (p. Hal. 126).
- Kim, W. K., & Patterson, P. H. (2000). Nutritional value of enzyme- or sodium hydroxide-treated feathers from dead hens. *Poultry Sci*, 79, Hal. 528-534.
- Minton, A. P. (2018). Recent applications of light scattering measurement in the biological and biopharmaceutical sciences. *Analytical Biochemistry*, 501, Hal. 4-22.
- Mirdayanti, R. (2018). Identifikasi Keratin Dari Ekstraksi Limbah Bulu Ayam. *Jurnal Ilmiah Sains, Teknologi, Ekonomi, Sosial Dan Budaya*, 2(2), Hal.33-36.
- Mulia, D. S., Nartanti, Y., Maryanto, H., Purbomartono, C., Biologi, P., Keguruan, F., Purwokerto, U. M., Raya, J., Waluh, D., Box, P. O., & Tel, P. (2014). Fermentasi Tepung Bulu Ayam Dengan *Bacillus licheniformis* B2560 Untuk Meningkatkan Kualitas Bahan Baku Pakan Ikan. *Proceeding Biology Education Conference*, 11(1), 234240.
- Peng, Z., Mao, X., Zhang, J., Du, G., & Chen, J. (2019). Effective biodegradation of chicken feather waste by co-cultivation of keratinase producing strains. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 111.
- Puastuti, W. (2007). *Teknologi Pemrosesan Bulu Ayam Dan Pemanfaatannya*. *Wartazoa*, 17(2), 5360.
- Purnama Robby Candra, Agustina Retnaningsih, I. A. (2019). Perbandingan Kadar Protein Susu Cair Uht Full Cream Pada Penyimpanan Suhu Kamar Dan Suhu Lemari Pendingin Dengan Variasi Lama Penyimpanan Dengan Metode Kjeldhal. *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), Hal. 50-58.
- Purwanto Maria Goretti M. (2014). Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut Dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible. *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 7(2), Hal. 64-71.
- Rahayu S, Bata M, Hadi W. 2014. Substitusi Konsentrat Protein Menggunakan Tepung Bulu Ayam Yang Diolah Secara Fisiko-Kimia Dan Fermentasi Menggunakan *Bacillus Sp.* *Mts. Agripet*, 14(1), Hal. 31-36.
- Sharma, S., & Gupta, A. (2016). Sustainable Management of Keratin Waste Biomass: Applications and Future Perspectives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, Hal. 1-14.
- Shim, Y. S., Yoon, W. J., Ha, J., Seo, D., Lee, K. W., Lee, W. Y., Kwon, K. II, Kang, T. S., Lee, J. H., Kim, H. J., Kwak, H. J., Lee, S. P., Kim, S. J., Yun, W. K., Lee, J., & Hwang, J. B. (2013). Method validation of 16 types of structural amino acids using an automated amino acid analyzer. *Food Science and Biotechnology*, 22(6), 15671571.
- Shinichi Ozawa, H. M. (2015). Advances in amino acid analysis and Amino Acid Analyzer L-8900. *The Hitachi Scientific Instrument News*, 6, Hal. 33-43.
- Sinkiewicz, I. (2017). Alternative Methods of Preparation of Soluble Keratin from Chicken Feathers. *Waste Biomass Valor*, 8, Hal. 1043-1048.
- Sudarmadji, S. (1980). Prinsip dan Penggunaan Amino Acid Analyzer. *Agritech*, 1(31), Hal. 15-24.
- Sundaram, M., & Banu, A. N. (2015). A Study on Anti Bacterial Activity of Keratin Nanoparticles from Chicken Feather Waste Against *Staphylococcus aureus* (Bovine Mastitis Bacteria) and its Anti Oxidant Activity. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 1(6), 15.

- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2018). Preparation , Characterization and Application of Keratin Based Green Biofilms from Waste Chicken Feathers. *International Journal Of Chemical Sciences.*, 16(3), Hal. 1-16.
- Wei, C., Aqlima, S., Toung, P., & Yee, L. (2017). Treatments of Chicken Feather Waste. *PJSRR*, 3(1), Hal. 32-41.