



JURNAL RONA TEKNIK PERTANIAN

ISSN: 2085-2614; e ISSN : 2528-2654

Journal homepage: <https://jurnal.usk.ac.id/RTP>



Isolasi Bakteri Pendegradasi Keratin pada Pengomposan Limbah Bulu Ayam

Maudy Alliya Yasfa¹⁾, Riwan Kusmiadi¹⁾, Ropalia^{1*)}

¹⁾Program Studi Agroteknologi, Universitas Bangka Belitung, Indonesia.

*E-mail: ropalia.agrotekubb@gmail.com

Abstrak

Bulu ayam merupakan limbah dari sisa indsutri rumah Pemotongan ayam (RPA). Pengolahan limbah bulu ayam (LBA) dapat dilakukan secara fisik (tekanan hidrolisis, penguapan, pembakaran), menggunakan bahan kimia (larutan asam kuat, larutan alkali). Metode tersebut tidak ramah lingkungan dan dapat menimbulkan polusi. Alternatif pengolahan LBA adalah penggunaan mikroorganisme yaitu bakteri pendengradasi dari kompos bulu ayam. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang berpotensi sebagai agen biodegradator keratin dalam kompos bulu ayam. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksplorasi dengan mengambil sampel hari ke-10 pengomposan dari campuran kotoran ayam (KA) dan bulu ayam (BA) serta sampel campuran kotoran sapi (KS) dan bulu ayam (BA) masing-masing perbandingan 1 : 1 (w/w). Isolasi bakteri dari limbah bulu ayam yang dikombinasikan dengan limbah ternak memiliki kelimpahan $1,4 \times 10^9$ - 16×10^9 . Isolat yang didapatkan sebanyak 47 isolat yang menunjukkan aktivitas proteolitik yang terdiri dari 40 isolat berasal dari campuran KS dan BA serta 7 isolat berasal dari campuran KA dan BA. Dari 47 isolat yang memiliki indeks zona bening ideal sebanyak 11 isolat dengan persentase 23%. Indeks zona bening yang ideal berkisar dari $4,86 \pm 0,73$ sampai $2,40 \pm 0,59$.

Kata Kunci : Bakteri proteolitik, kompos bulu ayam, kotoran sapi, kotoran ayam, morfologi bakteri

Isolation of Keratin Biodegradators from Chicken Feather Waste in Composting Process

Maudy Alliya Yasfa¹⁾, Riwan Kusmiadi¹⁾, Ropalia^{*})

¹⁾Agrotechnology Study Program, University of Bangka Belitung, Indonesia.

^{*}E-mail: ropalia.agrotekubb@gmail.com

Abstract

Chicken feathers are waste from the chicken slaughterhouse (RPA) industry. Processing of chicken feather waste (LBA) can be done physically (pressure hydrolysis, evaporation, burning) or with chemicals (strong acid solutions, alkali solutions). This method is not environmentally friendly and can cause pollution. An alternative to LBA processing is using microorganisms, namely degrading bacteria from chicken feather compost. This research aims to obtain bacterial isolates that have the potential to act as keratin biodegrading agents in chicken feather compost. The research method used was an exploratory method by taking samples on the 10th day of composting from a mixture of chicken manure (KA) and chicken feathers (BA) as well as samples of a mixture of cow manure (KS) and chicken feathers (BA), each in a ratio of 1: 1 (w/w). Bacterial isolation from chicken feather waste and livestock waste had an abundance of $1,4 \times 10^9$ - 16×10^9 CFU's/gram of compost material. The isolates obtained were 47 isolates that showed proteolytic activity, consisting of 40 isolates coming from a mixture of KS and BA and 7 isolates coming from a mixture of KA and BA. The proteolytic clear zone index ranged from 1.04 ± 0.03 to 4.86 ± 0.73 . The 47 isolates obtained had 11 isolates as ideal clear zone index with the percentage 23%. The ideal clear zone index ranges from 4.86 ± 0.73 to 2.40 ± 0.59 .

Keywords : Proteolytic bacteria, chicken feather compost, cow manure, chicken manure, bacterial morphology

PENDAHULUAN

Produksi daging ayam ras pedaging (broiler) di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) di tahun 2022 adalah sebanyak 31.598,39 ton (BPS, 2023). Produksi ayam pedaging yang berlimpah yang mengakibatkan terjadinya peningkatan limbah. Bulu ayam dianggap sebagai residu berupa limbah pada dari sisa industri Rumah Pemotongan Ayam (RPA). Kandungan bulu ayam terdiri dari 91% protein keratin; 1% lipid; 8% air (Utami, 2021). Limbah bulu ayam terdiri dari 90% keratin yang sulit terdegradasi dan sebanyak 5-7% dari total massa ayam dewasa merupakan komponen bulu ayam (Said, 2020), sehingga diperkirakan potensi limbah bulu ayam (LBA) di Bangka Belitung dihasilkan sebanyak ± 1.579 -2.211 ton.

Bulu ayam sulit terurai dikarenakan sebagian besar kandungannya adalah protein kasar (protein fibrosa) yang berbentuk keratin. Keratin biasanya terdapat pada rambut, bulu, dan kuku. Kandungan keratin pada bulu ayam sebagian besar disusun oleh asam amino, sistein, glutamin, prolin, serin, glisin, alanin, valin, serta terdapat sedikit lisin, metionin, dan triptofan (Utami, 2021). Keratin tersusun dari 14% ikatan disulfida sehingga menjadi sangat stabil, kaku, dan tidak dapat dicerna dengan baik oleh enzim proteolitik seperti tripsin, pepsin, dan papain yang terdapat dalam organ pencernaan (Mazotto *et al.*, 2011).

Metode degradasi limbah bulu ayam dapat dilakukan baik secara fisik (tekanan hidrolisis, penguapan, pembakaran) maupun menggunakan bahan kimia (larutan asam dan alkali) (Peng *et al.*, 2019). Metode pembakaran akan menghasilkan polusi bagi lingkungan (Bessa *et al.*, 2017). Metode perlakuan secara biologis dapat dilakukan secara enzimatis dengan menggunakan enzim khusus seperti keratinase yang mampu menghidrolisis keratin dapat larut dan lebih efisien dari protease lainnya. Salah satu penghasil keratin salah satunya adalah bakteri yang memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim keratinase yang bekerja pada substrat keratin yang tidak larut seperti enzim protease serin (Manirujjaman *et al.*, 2016).

Kompos bulu ayam mengandung unsur hara Nitrogen (N) total sekitar 15% (Sobucki *et al.*, 2019). Keberadaan mikroorganisme sebagai bakteri pengurai komponen organik sangatlah membantu yang bisa didapatkan dari inokulum kotoran ternak (Hapsari, 2013). Pupuk campuran kotoran ayam dapat menambah unsur hara serta memperbaiki sifat fisik, kimia dan biologi pada tanah (Yuliana, 2017). Kompos yang ditambahkan campuran kotoran ayam pada bahan dasar bulu ayam menghasilkan jumlah C-Organik sebesar 54,73%; N total sebesar 12,77%; dan rasio C/N sebesar 4,29% (Syaifullah *et al.*, 2018). Kotoran sapi berpotensi dijadikan kompos karena memiliki kandungan kimia seperti Nitrogen 0,4-1%; Fosfor 0,2-0,5%; Kalium 0,1-1,5%; kadar air sebanyak 85-92%; dan beberapa unsur-unsur lain (Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, dan Zn) (Dewi *et al.*, 2017).

Penggunaan mikroorganisme keratinolitik mampu menghasilkan keratinase dan peptidase yang dapat mendegradasi keratin. Beberapa penelitian menunjukkan bakteri *Bacillus* spp. memiliki keunggulan khusus dalam mendegradasi bulu karena tingkat keamanan dan kemampuan untuk mengeluarkan sejumlah besar keratinase langsung ke dalam media (Larasati, 2015). Bakteri yang ditemukan pada kotoran ayam dan sapi yaitu *Bacillus* sp., *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus* yang berpotensi untuk menguraikan bahan organik (Suyanta *et al.*, 2020). Banyak penelitian lain juga melaporkan bakteri keratinase ditemukan antara lain *Bacillus licheniformis*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Microbacterium* spp., *Chruseobacterium* spp., dan *Streptomyces* spp. (Manirujjaman *et al.*, 2016; Godheja *et al.*, 2013).

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui kelimpahan dan jenis bakteri biodegradator keratin pada komposisi material yang berbeda, yaitu campuran bulu ayam dengan kotoran ayam serta bulu ayam dengan kotoran sapi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif mikroorganisme bakteri dengan memanfaatkan campuran material yang mampu mempercepat proses degradasi limbah bulu ayam yang ramah lingkungan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode eksplorasi dengan sampel kompos menggunakan campuran material kompos yang berbeda. Pembuatan kompos bulu ayam menggunakan kotoran ayam dan bulu ayam serta sampel campuran kotoran sapi dan bulu ayam yang masing-masing sampel perbandingan antara bulu ayam : kotoran ayam atau kotoran sapi adalah 1 : 1 (w/w).

Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel kompos berasal dari pengomposan bulu ayam di Kebun Penelitian dan Percobaan (KP2) Universitas Bangka Belitung. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-10 pengomposan bulu ayam (Bohacz dan Kowaskay, 2019). Hari ke-10 pengomposan merupakan fase mesofilik, yaitu proses perombakan bahan organik oleh mikroorganisme. Sebelum pengambilan sampel dilakukan pembalikan dan pengadukan

kompos. Sampel diambil sebanyak 10 g setiap sampel. Sampel yang telah diambil ditempatkan dalam botol gelas yang telah disterilkan.

2. Pembuatan Tepung Bulu Ayam

Limbah bulu ayam didapatkan dari lokasi pembuangan RPA (Rumah Potong Ayam) Pangkal Pinang, Bangka Belitung. Bulu ayam direndam selama 2 jam dengan deterjen lalu dicuci bersih kemudian dibilas dengan air lalu dikering anginkan. Bulu yang telah kering kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 45°C, 60°C dan 90°C selama 1 minggu (Masood *et al.*, 2021). Bulu yang telah dikeringkan selanjutnya dioven kembali di suhu 200-300°C yang bertujuan untuk mempermudah proses pencacahan menjadi tepung. Selanjutnya dilakukan proses penepungan bulu ayam dengan cara diblender dan disaring hingga menjadi tepung untuk bahan pembuatan media MCF.

3. Pembuatan Media MCF, SMA, dan NA

Pembuatan media MCF (*Mineral Chicken Feathers*) dan media *Skim Milk Agar* (SMA) mengacu pada Sutoyo *et al.*, (2019). Media MCF terdiri dari media cair dan media padat. Komposisi 100 mL media cair terdiri atas tepung ayam (1 g) K_2HPO_4 (0,05 g); *yeast extract* (0,1 g); gliserol (0,5 mL); dan tepung agar (1 g). Media padat MCF terdiri atas K_2HPO_4 (0,05 g); *yeast extract* (0,1 g); dan tepung agar (1,5 g). Komposisi pembuatan media *Skim Milk Agar* dalam 100 mL yaitu bubuk susu skim 10 g dan tepung agar 20 g. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) padat dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 28 gram bubuk *Nutrient Agar* yang dilarutkan kedalam aquades sebanyak 1 L dan kemudian diaduk menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Pembuatan media *Nutrient Brooth* (NB) dibuat sebanyak 13 g untuk takaran 1L aquades untuk menghasilkan media NB cair.

4. Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang akan digunakan untuk kegiatan penelitian akan disterilisasi terlebih dahulu agar terhindar dari kontaminasi. Alat-alat yang dapat disterilisasi berbahan kaca atau plastik. Sebelum disterilisasi, alat-alat dibungkus menggunakan kertas HVS bekas yang dilipat, lalu dibungkus lagi dengan plastik dan diikat dengan karet yang tidak terlalu kencang kemudian dimasukkan kedalam autoklaf. Sterilisasi alat dilakukan selama 20 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Alat-alat yang berbahan logam cukup dibakar dengan api bunsen hingga berpijar berwarna oranye kemerahan.

Sterilisasi media dilakukan untuk mesterilkan media menggunakan erlenmeyer yang ditutupi kapas dan *aluminium foil* atau bisa menggunakan botol duran. Media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dalam suhu 121°C.

5. Isolasi Bakteri dari Sampel

Isolasi bakteri ini merujuk dari (Sutoyo *et al.*, 2019), yaitu sampel diencerkan sebanyak 10 kali dalam larutan. Sampel kompos diambil sebanyak 10 g untuk menghitung kerapatan sel (CFU's/gram) dalam material kompos dan dimasukkan ke dalam 90 mL larutan fisiologis yang dibuat sebanyak 0,85% NaCl dilarutkan dalam larutan akuades 1000 mL kemudian diaduk dengan *hot plate magnetic stirrer* hingga homogen. Kemudian suspensi digoyang selama 60 menit pada kecepatan 125 rpm menggunakan *shaker* (Ropalia & Pratama, 2022). Sebanyak 10 mL suspensi sampel dimasukkan ke dalam media MCF cair. Sampel diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30°C dengan kecepatan 150 rpm selama 7 hari. Cairan kultur kemudian dilakukan pengenceran berseri 10^{-1} sampai dengan 10^{-9} . Hasil pengenceran diambil pada pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} menggunakan *tip* kuning ukuran 10-200 μ sebanyak 0,1 mL dikulturkan dalam media MCF padat dan media SMA pada cawan petri dengan metode *spread plate* yang diinkubasi selama 24 jam. Isolat kemudian dilakukan perhitungan *Total Plate Count* (TPC) untuk menghitung kelimpahan bakteri dan kerapatan sel menggunakan *colony*

counter. Isolat kemudian dipilih salah satu pengenceran yang menghasilkan zona bening. Isolat yang telah tumbuh dan membentuk zona bening pada media dipindahkan ke media NA untuk dimurnikan agar mendapat biakan murni.

6. Skrining Bakteri Keratinolitik dan Proteolitik

Penapisan isolat bakteri keratinolitik pada media MCF serta isolat bakteri proteolitik dilakukan pada media SMA. Semua isolat yang dimurnikan dimasukkan ke *microtube* yang berisi aquades dan didiamkan dalam suhu ruangan. Isolat tersebut diambil sebanyak 1 jarum ose dan diinokulasi dalam media NB cair di erlenmeyer kemudian di-*shaker* kecepatan 125 rpm selama $\pm$ 16-24 jam. Selanjutnya diambil sebanyak 0,5-2 μ menggunakan *tip* putih kecil dengan *microtip* lalu diinokulasi kedalam media SMA yang telah dilubangi dengan *cockborer* sebanyak 4 ulangan. Isolat diinkubasi selama 48 jam. Zona bening yang terbentuk diukur pada hari terakhir inkubasi menggunakan jangka sorong digital.

7. Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan, seperti, kristal violet (pewarna primer), larutan iodin (pengikat zat warna agar tidak melarut dalam air atau kelembapan), etanol (pengapus warna), safranin (pewarna pengganti), aquades (sebaiknya dalam botol semprot), digunakan untuk mempelajari penampilan mikroskopis dari bakteri (Manirujjaman *et al.*, 2020).

Pewarnaan dilakukan dengan cara diambil akuades diteteskan pada kaca objek ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi di atas api. Lalu ditetesi pewarnaan kristal violet dan biarkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir, kemudian diteteskan iodin biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi dengan alkohol 96% dan biarkan selama 10-20 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 20-30 detik dan dicuci lagi dengan air mengalir. Tahap selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan kertas serap dan ditambahkan minyak emersi untuk diamati dibawah mikroskop.

Peubah yang Diamati

1. Indeks Zona Bening Keratinolitik dan Proteolitik

Isolat bakteri keratinolitik dan proteolitik dicirikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada masing-masing media. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran diameter zona bening menggunakan rumus indeks zona bening merujuk dari (Pelawi dan Handayani, 2021) antara lain sebagai berikut.

1) Indeks Zona Bening Keratinolitik

Pengamatan dilihat pada media *Mineral Chicken Featers* (MCF) padat untuk melihat isolat bakteri keratinolitik beserta zona bening yang dihasilkan. Rumus indeks zona bening keratinolitik yaitu :

$$\text{Indeks Keratinolitik (IK)} = \frac{\text{Diameter koloni} + \text{zona bening}}{\text{Diameter koloni}} \dots\dots\dots(1)$$

2) Indeks Zona Bening Proteolitik

Pengamatan dilihat pada media *Skim Milk Agar* (SMA) untuk melihat isolat bakteri proteolitik beserta zona bening yang dihasilkan. Rumus indeks zona bening keratinolitik yaitu :

$$\text{Indeks Proteolitik (IP)} = \frac{\text{Diameter koloni} + \text{zona bening}}{\text{Diameter koloni}} \dots\dots\dots(2)$$

2. Identifikasi Morfologi Bakteri

Pengamatan morfologi bakteri pendegradasi bulu ayam meliputi morfologi mikroskopis dan morfologi makroskopis.

1) Pengamatan Morfologi Mikroskopis

Pengamatan morfologi mikroskopis dilakukan pada kelompok gram bakteri dan bentuk sel. Pengamatan morfologi mikroskopis diamati berdasarkan kelompok gram bakteri, yaitu bakteri gram positif yang setelah diwarnai dengan pewarna dasar warnanya tidak terhapus oleh alkohol akan berwarna violet, sedangkan kelompok bakteri yang telah diwarnai menyerap pewarna safranin akan terlihat warna merah disebut dengan bakteri gram negatif (Apriyanthi *et al.*, 2022). Pengamatan bentuk sel memiliki tipe basil (*bacillus*), kokus (*coccus*), dan spiral. Jumlah koloni basil terdiri atas basil, diplobasil, dan streptobasil. Jumlah koloni kokus terdiri atas kokus, diplokokus, streptokokus, stafilokokus, sarsina, dan tetrakokus. Bentuk spiral yaitu berbengkok-bengkok atau melengkung. Tipe bentuk spiral selalu berada secara terpisah-pisah (tunggal) dan masing-masing spesies berbeda dalam panjang sel. Pengamatan secara mikroskopis diamati menggunakan mikroskop *compound* dan aplikasi optilab.

2) Pengamatan Morfologi Makroskopis

Pengamatan morfologi makroskopis diamati bentuk koloni (*form*), warna koloni, permukaan koloni, tepi koloni (*margin*), dan tinggi koloni (*elevation*), dan ukuran koloni (Nurhidayati *et al.*, 2015).

(1) Bentuk Koloni (*Form*)

Bentuk koloni bakteri yaitu berbentuk *filamentous* (memiliki filamen), *spindle* (lonjong), *irregular* (tidak beraturan), *circular* (bulat dan bertepi), dan *rhizoid* (bentuk seperti akar, pertumbuhan menyebar).

(2) Warna Koloni

Bakteri yang dihasilkan biasanya berwarna putih, krim, kuning, ungu, dan sebagainya.

(3) Permukaan Koloni

Permukaan koloni bakteri dapat diamati secara langsung yang dicirikan berbentuk *dull* (kusam), *smooth* (halus), *shiny* (mengkilap), dan sebagainya.

(4) Tepi Koloni (*Margin*)

Tepi koloni dapat diidentifikasi dalam beberapa klasifikasi yaitu *entire* (rata), *undulate* (bergelombang), *lobate* (berlekuk), *serrate* (bergerigi), dan *filamentous* (seperti benang).

(5) Tinggi Koloni (*Elevation*)

Elevasi koloni bakteri dikategorikan menjadi *flat* (ketinggian sulit terukur, nyaris rata dengan media), *raised* (ketinggian nyata terlihat, namun rata pada seluruh permukaan), *convex* (berbentuk cembung), dan *umbonate* (berbentuk cembung dengan bagian tengah lebih menonjol).

(6) Ukuran Koloni

Ukuran koloni dikategorikan dalam 4 jenis ukuran, yaitu *punctiform* (titik), *small* (kecil), *moderate* (sedang), dan *large* (besar).

Analisis Data

Data kuantitatif disajikan dalam bentuk data rata-rata dengan nilai tengah (median), sedangkan data kualitatif disajikan dalam tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Potensi Biodegradator

Isolasi bakteri yang telah dilakukan pada hari ke-10 pengomposan menghasilkan isolat yang didapatkan dari media *Mineral Chicken Feathers* (MCF) dan media *Skim*

Milk Agar (SMA). Kelimpahan bakteri yang didapatkan pada kode isolat KA berasal dari sampel campuran kotoran ayam + bulu ayam yang berasal dari media MCF didapatkan kerapatan sel sebanyak $4,4 \times 10^9$ CFU's/gram serta di media SMA yaitu $2,4 \times 10^9$ CFU's/gram. Kode isolat KS berasal dari sampel campuran kotoran sapi + bulu ayam didapatkan pada media MCF didapatkan kerapatan sel sebanyak $1,4 \times 10^9$ CFU's/gram serta di media SMA yaitu 16×10^9 CFU's/gram (Tabel 1).

Tabel 1. Kelimpahan Bakteri dalam Media MCF dan SMA

Kode Isolat	Kerapatan Sel (CFU's/gram) Material Kompos	
	Media MCF	Media SMA
KA	44×10^9	$2,4 \times 10^9$
KS	$1,4 \times 10^9$	16×10^9

Keterangan

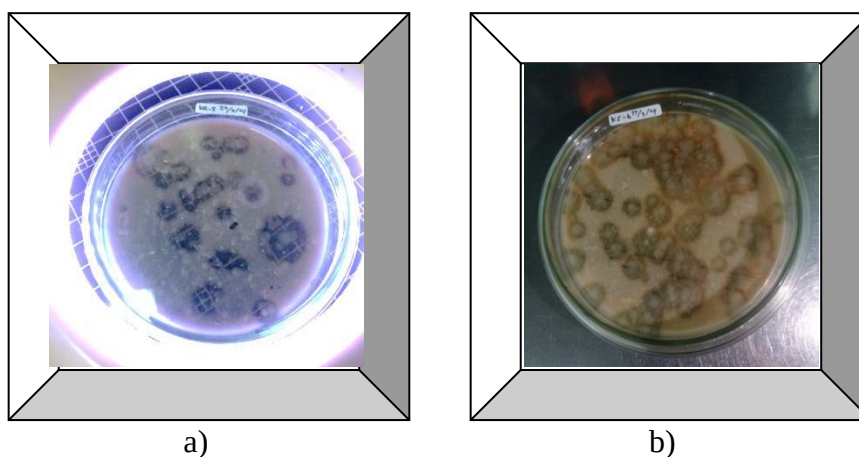
KA : Campuran kotoran ayam + bulu ayam

KS : Campuran kotoran sapi + bulu ayam

MCF : Media *Mineral Chicken Feathers*

SMA : Media *Skim Milk Agar*

Isolasi yang dilakukan pada media MCF tidak ditemukan adanya bakteri yang menghasilkan zona bening yang mengindikasikan tidak adanya aktivitas keratinolitik, sedangkan pada media SMA terdapat 47 isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik. Sebanyak 7 isolat bakteri berasal dari sampel campuran kotoran ayam + bulu ayam dan 40 isolat berasal dari sampel campuran kotoran sapi + bulu ayam. Penapisan aktivitas proteolitik dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Koloni yang menghasilkan zona bening pada media SMA sampel a) kotoran ayam + bulu ayam; b) kotoran ayam + bulu ayam

Tabel 2. Jumlah Isolat yang Memiliki Aktivitas Keratinolitik dan Proteolitik dengan Indikator Zona Bening

Kode Isolat	Jumlah Isolat	
	Media MCF (Keratinolitik)	Media SMA (Proteolitik)
KA	0	7
KS	0	40

Keterangan

KA : sampel campuran kotoran ayam + bulu ayam

KS : sampel campuran kotoran sapi + bulu ayam

Aktivitas Proteolitik Bakteri

Hasil pengujian aktivitas proteolitik didapatkan indeks zona bening isolat pada kisaran $1,04 \pm 0,03$ - $4,86 \pm 0,73$. Isolat KS34 adalah isolat yang menghasilkan rata-rata indeks zona bening tertinggi yaitu $4,86 \pm 0,73$ sedangkan isolat KA3 menghasilkan indeks zona bening terendah yaitu $1,04 \pm 0,03$. Adapun indeks zona bening potensi bakteri proteolitik setiap isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 3. Sebanyak 47 isolat yang didapatkan kemudian diukur diameter zona bening menggunakan metode sumur, yaitu melubangi media pengujian dengan *cockborer*. Contoh isolat yang telah dilakukan pengujian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas proteolitik pada media *Skim Milk Agar* (SMA) menggunakan metode sumur pada 2 x 24 jam

Tabel 3. Indeks Zona Bening Proteolitik

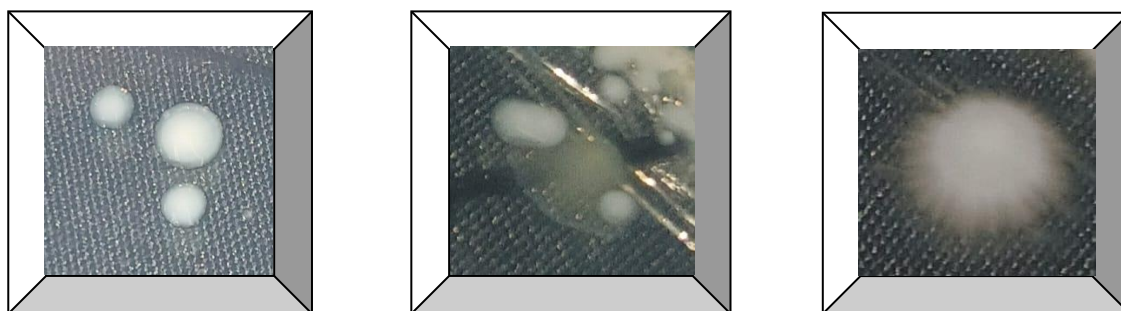
No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Indeks Zona Bening	No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Indeks Zona Bening
1.	KS34	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$4,86 \pm 0,73$	25.	KS2	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,01 \pm 0,31$
2.	KS8	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$3,92 \pm 0,41$	26.	KA6	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$1,92 \pm 0,20$
3.	KS31	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$3,48 \pm 0,17$	27.	KS26	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,89 \pm 0,93$
4.	KA5	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$3,31 \pm 0,18$	28.	KS4	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$1,82 \pm 0,04$
5.	KS33	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$3,28 \pm 0,72$	29.	KS27	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,81 \pm 0,68$
6.	KS40	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,83 \pm 0,39$	30.	KA1	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$1,72 \pm 0,31$
7.	KS38	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,81 \pm 0,40$	31.	KS20	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,72 \pm 0,20$
8.	KS3	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,81 \pm 0,26$	32.	KS10	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,61 \pm 0,45$
9.	KS8	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,76 \pm 0,37$	33.	KS16	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,55 \pm 0,79$
10.	KS24	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,71 \pm 1,28$	34.	KS22	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,53 \pm 0,09$
11.	KS11	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,52 \pm 0,43$	35.	KS21	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,49 \pm 0,39$
12.	KA2	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$2,51 \pm 0,70$	36.	KS12	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,46 \pm 0,20$
13.	KS39	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,48 \pm 0,68$	37.	KS25	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$1,45 \pm 0,56$
14.	KS6	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	$2,47 \pm 0,41$	38.	KA4	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	$1,39 \pm 0,03$

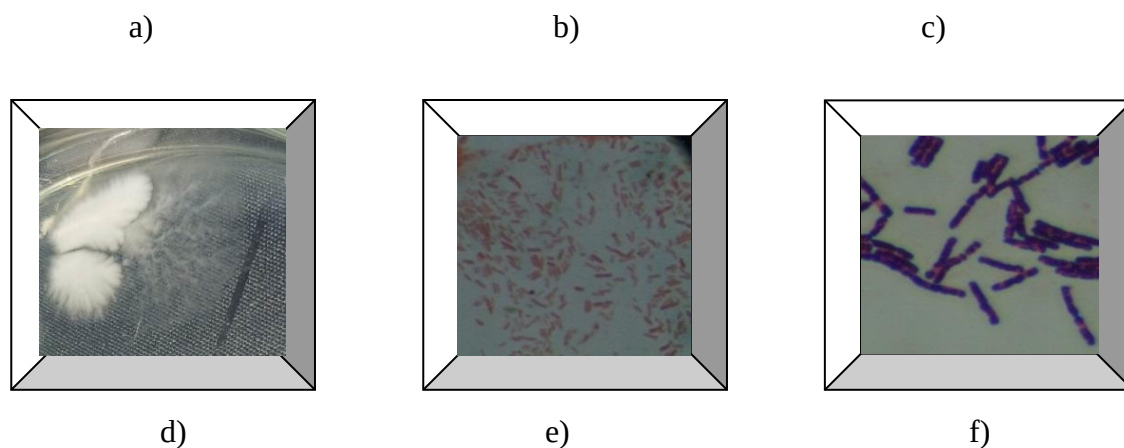
No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Indeks Zona Bening	No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Indeks Zona Bening
15.	KS5	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,41 ± 0,40	39.	KS23	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,37 ± 0,14
16.	KS14	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,40 ± 0,59	40.	KS17	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,37 ± 0,06
17.	KS36	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,37 ± 0,50	41.	KS15	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,31 ± 0,05
18.	KS9	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,33 ± 0,12	42.	KS30	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,28 ± 0,17
19.	KS37	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,25 ± 0,80	43.	KS29	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,27 ± 0,14
20.	KS28	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,22 ± 0,57	44.	KS18	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,19 ± 0,08
21.	KA7	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	2,18 ± 0,58	45.	KS19	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,19 ± 0,08
22.	KS35	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,10 ± 0,17	46.	KS13	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	1,12 ± 0,01
23.	KS1	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,02 ± 0,27	47.	KA3	Bulu Ayam + Kotoran Ayam	1,04 ± 0,03
24.	KS7	Bulu Ayam + Kotoran Sapi	2,02 ± 0,14				

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Karakterisasi makroskopis bakteri koloni isolat tunggal ditampilkan pada Gambar 3 (a-d). Karakteristik koloni pada sampel kotoran ayam + bulu ayam berbentuk *irregular* dan *circular*. Koloni berwarna krim & kekuningan serta putih susu. Permukaan koloni bakteri berupa *shiny* dan *smooth*. Koloni memiliki tepi berupa *entire* dan *undulate*. *Elevation* koloni berupa *convex* dan *umbonate* serta berukuran *punctiform* dan *small*.

Sampel kotoran sapi + bulu ayam berbentuk *circular* dan *filamentous*. Koloni berwarna putih susu dan krim dan memiliki permukaan *smooth* dan *shiny*. Koloni memiliki *margin entire* dan *undulate*. *Elevation* koloni berupa *umbonate*, *raised*, dan *ingrowing into medium*. Ukuran koloni bervariasi dari *punctiform* hingga *large* yang terdapat dibawah ini.





Gambar 3. Karakter mikroskopis dan makroskopis bakteri a) bentuk *circular*, b) bentuk *irregular* warna krim & kekuningan, c) bentuk *filamentous*, d) *ingrowing into medium*; Karakter sel bakteri g) gram positif (+) h) gram negatif (-) perbesaran 10 x 100 X

Karakterisasi mikroskopis sel bakteri pada seluruh sampel berbentuk basil dan kokus. Bentuk bakteri sebagian besar adalah diplokokus, serta yang lainnya berupa streptobasil monobasil, dan monokokus. Bakteri terdapat dua jenis yaitu gram positif (+) (e) dan negatif (-) (f). Secara spesifik karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

Kode Isolat	Morfologi Sel		Morfologi Koloni					
	Bentuk Sel	Gram	Bentuk (<i>form</i>)	Tepi (<i>margin</i>)	Tinggi (<i>elevation</i>)	Warna	Permukaan	Ukuran
KA1	Basil	-	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Krim & kekuningan	<i>Shiny</i>	<i>Punctiform</i>
KA2	Diplobasil	-	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Krim & kekuningan	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KA3	Basil	-	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Shiny</i>	<i>Small</i>
KA4	Basil	-	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Shiny</i>	<i>Punctiform</i>
KA5	Basil	-	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Shiny</i>	<i>Small</i>
KA6	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KA7	Basil	-	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Krim & kekuningan	<i>Shiny</i>	<i>Punctiform</i>
KS1	Basil	-	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS2	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS3	Streptobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Krim	<i>Shiny</i>	<i>Punctiform</i>
KS4	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS5	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS6	Streptobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS7	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Punctiform</i>
KS8	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS9	Streptobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS10	Streptobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS11	Streptobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS12	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS13	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS14	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS15	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS16	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS17	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS18	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS19	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS20	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Punctiform</i>
KS21	Basil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Punctiform</i>
KS22	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS23	Basil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS24	Basil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS25	Basil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Ingrowing into medium</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS26	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS27	Basil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS28	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS29	Basil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS30	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>

Kode Isolat	Morfologi Sel		Morfologi Koloni					
	Bentuk Sel	Gram	Bentuk (<i>form</i>)	Tepi (<i>margin</i>)	Tinggi (<i>elevation</i>)	Warna	Permukaan	Ukuran
KS31	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS32	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS33	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Punctiform</i>
KS34	Kokus	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih krim	<i>Shiny</i>	<i>Punctiform</i>
KS35	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS36	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Moderate</i>
KS37	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Large</i>
KS38	Diplobasil	+	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Large</i>
KS39	Diplobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>
KS40	Streptobasil	+	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih susu	<i>Smooth</i>	<i>Small</i>

Pembahasan

Isolasi Bakteri Potensi Biodegradator

Pengujian pada media *Mineral Chicken Feathers* (MCF) tidak menunjukkan aktivitas keratinolitik namun hanya tumbuh di media. Hal ini disebabkan oleh serat keratin pada bulu ayam yang sulit diuraikan. Menurut Subugade *et al.*, (2017), keratin bulu tidak larut dan tidak dapat terurai oleh enzim proteolitik karena rantai peptida disatukan oleh ikatan disulfida. Menurut Anggraini (2018), mikroba keratinolitik termasuk mikroba penghasil enzim keratinase dan protease yang spesifik untuk memecahkan ikatan disulfida sebagai pendegradasi substrat keratin pada bulu ayam. Penelitian dari Riffel & Brandelli (2006) didapatkan aktivitas keratinase namun tidak dapat mendegradasi dan hanya menunjukkan aktivitas proteolitik.

Hasil isolasi ditemukan bahwa pengomposan dengan campuran kotoran sapi + bulu ayam lebih banyak ditemukan kelimpahan sel bakteri yang ditemukan dibandingkan dengan campuran kotoran ayam dan bulu ayam. Menurut hasil penelitian dari Kutu *et al.*, (2019) kelimpahan mikroorganisme seperti bakteri, aktinomiset, dan cendawan pada kompos kotoran sapi dan sejenisnya lebih tinggi dibandingkan dengan kelimpahan mikroorganisme pada kompos kotoran unggas. Berdasarkan penelitian dari Xu *et al.*, (2024), jumlah bakteri dari pengomposan antara kotoran sapi dan sekam gandum dapat meningkatkan kelimpahan bakteri amonifikasi. Menurut Surtinah (2013), kompos yang dicampur dengan kotoran sapi mengandung gas amonia sebagai sumber Nitrogen yang tinggi karena terjadi proses dekomposisi dilakukan oleh mikroorganisme. Hal ini didukung dengan pernyataan Mirwan (2015) bahwa penambahan campuran dari kotoran sapi dapat memberikan pengaruh baik terhadap pematangan kompos.

Sebanyak 47 isolat mengindikasikan aktivitas proteolitik yang mampu menghasilkan zona bening. Hastuti *et al.*, (2017) memberikan pernyataan bahwa bakteri proteolitik mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler yang dapat memecah protein. Kemampuan bakteri tersebut diamati menggunakan media selektif, yaitu *Skim Milk Agar* (SMA) karena mengandung kasein yang berfungsi sebagai substrat enzim. Menurut Mahdiyah (2015), zona bening merupakan indikator bahwa isolat bakteri mampu memanfaatkan protein pada media sebagai sumber nutrisinya. Fitriana *et al.*, (2022) mengatakan besarnya aktivitas proteolitik dihasilkan dari proses perombakan polimer protein menjadi senyawa peptida dan asam amino ditunjukkan dengan adanya zona bening (*halo zone*) yang terbentuk disekitar koloni pada media pertumbuhan selektif.

Indeks zona bening tertinggi dihasilkan oleh isolat KS34 sebesar $4,86 \pm 0,73$. Menurut Akhdiya (2003), isolat yang berpotensi sebagai bakteri proteolitik memiliki nilai indeks ≥ 3 . Isolat yang didapatkan sebanyak empat isolat memiliki nilai indeks zona bening proteolitik ≥ 3 dari $3,28 \pm 0,72$ hingga $3,92 \pm 0,41$. Menurut Ginting (2020), indeks proteolitik isolat bakteri antara 2,40-2,50 memiliki kemampuan yang baik dalam menghasilkan protease. Bakteri proteolitik didapatkan sebanyak enam isolat yang memiliki nilai indeks yang ideal berkisar antara $2,40 \pm 0,59$ - $2,52 \pm 0,43$. Potensi aktivitas proteolitik yang memiliki indeks zona bening yang ideal adalah sebanyak 11 dari 47 isolat dengan persentase 23%.

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Karakterisasi morfologi bakteri diidentifikasi melalui karakter morfologi mikroskopis dan makroskopis. Identifikasi morfologi mikroskopis sebanyak 46 isolat yang didapatkan berbentuk basil dan sebagian besar sel bakteri merupakan diplobasil, dan beberapa terdapat monobasil dan streptobasil dan satu isolat berbentuk monokokus. Menurut Dwimartina *et al.*, (2021), basil adalah morfologi sel dari bakteri yang berbentuk batang atau silinder. Bakteri gram positif mendominasi pada hasil penelitian

dari sampel campuran kotoran sapi dan bulu ayam. Sel bakteri gram positif menghasilkan warna ungu pekat. Hal tersebut dikarenakan menurut Hamidah *et al.*, (2019) dinding sel bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan bakteri gram negatif. Peptidoglikan yang lebih tebal mampu mempertahankan zat warna kristal violet meskipun telah diberi larutan etanol alkohol. Menurut Sharma *et al.*, (2018) menyimpulkan bahwa kompos unggas dengan aktivitas degradasi relatif sebagian besar adalah jenis gram positif. Godbole *et al.*, (2017) bahwa bakteri proteolitik yang mendominasi penguraian tanah. Hasil ini juga menyatakan limbah unggas merupakan bakteri kelompok gram positif. Penelitian Nagarajan *et al.*, (2018) menemukan bahwa *Bacillus subtilis* mampu mendegradasi protein dari kompos bulu ayam merupakan bakteri gram positif.

Sampel kotoran sapi + bulu ayam berbentuk (*form*) *circular* (bulat) dan *filamentous* (memiliki filamen). Koloni berwarna putih susu dan krim dan koloni *smooth* (halus) dan *shiny* (mengkilap). Beberapa penelitian yang didapatkan, menurut Pandian *et al.*, (2012), morfologi koloni bakteri pendegradasi bulu memiliki ciri-ciri berbentuk *circular* dan *round*, permukaan *smooth*, dan berwarna putih yang termasuk strain bakteri *Bacillus* sp. Isolat dari penelitian Pandian memiliki ciri-ciri yang mirip dengan sebagian besar isolat yang didapatkan baik di campuran bulu ayam + kotoran ayam dan campuran bulu ayam + kotoran sapi.

Isolat yang didapatkan beberapa diantaranya terdapat bakteri gram negatif. Sebanyak enam isolat didapatkan dari sampel campuran kotoran ayam dan bulu ayam serta kotoran sapi dan bulu ayam. Pewarnaan gram saat dilakukan isolat saat diamati berwarna merah pucat. Menurut Amin *et al.*, (2023), struktur dinding sel mempengaruhi warna bakteri gram negatif mengandung lipid yang serta memiliki tiga lapisan dinding sel. Lapisan terluar yaitu lipopolisakarida (lipid) kemungkinan tercuci oleh alkohol, sehingga pada saat diwarnai dengan safranin akan berwarna merah. Adanya lugol iodine menyebabkan adanya ikatan kristal violet dengan iodine yang meningkatkan zat warna oleh bakteri. Penetasan etanol alkohol menyebabkan lipid larut dalam etanol, sehingga kristal violet dan iodine tetap menempel di dinding sel gram negatif menjadi bening. Menurut penelitian dari Kulkarni & Jadhav (2014) dan Wakil *et al.*, (2011) pada beberapa isolat terdapat aktivitas keratinolitik oleh bakteri gram negatif.

Karakteristik koloni pada sampel kotoran ayam + bulu ayam berbentuk (*form*) *irregular* (tidak beraturan) dan *circular* (bulat). Koloni berwarna krim & kekuningan serta putih susu. Permukaan koloni bakteri berupa *shiny* (mengkilap) dan *smooth* (halus). Koloni memiliki tepi (*margin*) koloni berbentuk *entire* (tepi rata) dan *undulate* (tepi bergelombang). Morfologi tinggi (*elevation*) koloni terdapat *convex* (bentuk cembung seperti tetesan air) dan *umbonate* (berbentuk cembung dengan bagian tengah lebih menonjol) serta berukuran *punctiform* (titik-titik) dan *small* (kecil). Penelitian dari Reyes *et al.*, (2018) yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri keratinolitik dari sampel tanah tempat pembuangan limbah unggas juga bersifat proteolitik dan salah satu isolat memiliki ciri berwarna kuning, bentuk bulat tidak terlalu jelas, *convex*, dan merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil yang termasuk genus *Burkholderia*, *Chrysobacterium*, dan *Pseudomonas*. Menurut Vema & Kumar (2023), morfologi bakteri keratinolitik dari tanah limbah unggas menghasilkan bakteri proteolitik yang memiliki bentuk *round*, permukaan *smooth*, elevasi *umbonate*, berwarna putih, dan termasuk bakteri gram negatif bentuk basil yang tergolong genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Isolat ini memiliki kemiripan dengan isolat KA2 dan KS1. Berdasarkan penelitian dari Rafi *et al.*, (2022) yang mengisolasi bakteri keratinolitik limbah bulu unggas menghasilkan ciri-ciri isolat proteolitik berbentuk *round*, *undulate*, dan termasuk bakteri gram negatif genus *Bacillus*. Ciri-ciri ini memiliki kemiripan dengan

isolat KA2 dan KS1. Penelitian dari Joshi *et al.*, (2007) mendapatkan isolat hasil isolasi bakteri degradasi bulu unggas yang bercirikan berbentuk bulat, *elevation raised*, berwarna krim, dan berukuran *moderate* yang termasuk dari famili Bacillaceae dan termasuk bakteri gram negatif. Ciri-ciri ini mirip dengan isolat KS3.

KESIMPULAN

Pengujian pada media *Mineral Chicken Feathers* (MCF) tidak menunjukkan aktivitas keratinolitik namun hanya tumbuh di media. Hasil isolasi dari sampel Hari ke-10 pengomposan bulu ayam menggunakan kotoran ayam dan kotoran sapi, didapatkan potensi sebanyak 47 isolat sebagai bakteri pengurai protein sederhana (bakteri proteolitik) dengan menghasilkan zona bening pada media *Skim Milk Agar* (SMA) serta memiliki nilai indeks zona bening proteolitik yang berkisar dari $1,04 \pm 0,03$ hingga $4,86 \pm 0,73$. Indeks zona bening proteolitik yang ideal yang didapatkan sebanyak 11 dari 47 isolat dengan persentase 23%. Indeks zona bening yang ideal berkisar dari $4,86 \pm 0,73$ sampai $2,40 \pm 0,59$. Potensi isolat bakteri pengurai protein keratin (bakteri keratinolitik)

DAFTAR PUSTAKA

- [Badan Pusat Statistik]. (2023). Populasi Ayam Pedaging Menurut Provinsi (Ekor) 2020-2022.
- Ahmad, B., Nigar, S., Shah, S. S. A., Bashir, S., Ali, J., Yousaf, S., Bangash, J.A. (2013). Isolation and Identification of Cellulose Degrading Bacteria from municipal Waste and Their Screening For Potential Antimicrobial Activity. *World Applied Scinces Journal*, 27(11), 1420-1426.
- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah*, 9(2) 38-44.
- Amin, S. S., Ghozali, T. Z., Efendi, M. R. S. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram. *CHEMVIRO*, 1(1), 30-35.
- Anggraini, M. T. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Pendegradasi Limbah Bulu Ayam Serta Uji Biodegradabilitasnya. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Apriyanti, R. V., Widayanti, N. P. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu. *BIOMA*, 7(2), 24-33.
- Barman, N. C., Zohora, F. T., Das, K. C., Mowla, M. G., Banu, N. A., Salimullah, M., Hashem, A. (2017). Production, partial optimization and characterization of keratinase enzyme by *Arthrobacter* sp. NFH5 isolated from soil samples. *AMB Expr*, 7(181), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0462-6>
- Bessa, J., Souza, J., Lopes, J. B., Sampaio, J., Mota, C., Cunha, F., & Fangueiro, R. (2017). Characterization of thermal and acoustic insulation of chicken feather reinforced composites. *Procedia Engineering*, 200, 472–479.
- Bohacz, J., Kowalska, T. K., Kitowski, I., Ciesielska. (2020). Degradation of chicken feathers by *Aphanoascus keratinophilus* and *Chrysosporium tropicum* strains from pellets of predatory birds and its practical aspect. *Elsevier : International Biodeterioration Biodegradation*, 151, 1-10.
- Dewi, N. M. E. Y., Yohanes, S., & I, N. M. (2017). Pengaruh bahan tambahan pada kualitas kompos kotoran sapi. *J. BETA*. 5(1), 76–82.

- Dwimartina, F., Joko, T., Arwiyanto, T. (2021). Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Bakteri Endofit dan Rizobakteri dari Tanaman Cengkeh Sehat. *J Agrowiralodra*, 4(1).
- Fajri, N. A., Kartika, N. M. A. (2021). Produksi Magot Menggunakan Manur Ayam Sebagai Pakan Unggas. *AGRIPTK*, 1(2):66-71.
- Fardani, N. F. (2018). Biotransformasi Metilen Biru oleh Jamur Pelapuk Putih *Phlebia lindtneri*. *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Ilmu Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Fitriana, N., Asri, M. T. (2022). Aktivitas Proteolitik pada Enzim Protease dari Bakteri *Rhizosphere* Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) di Trenggalek. *LenteraBio*, 11(1), 144-152.
- Ginting, E. L. (2020). Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Pantai Moinit, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, 8(1), 118-125.
- Godbole, S., Pattan, J., Gaikwad, S., Jha, T. (2017). Isolation, Identification and Characterization of Keratin degrading microorganisms from Poultry soil and their Feather degradation Potential . *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*, 2(4), 2060-2068.
- Godheja, J., Shekhar, S. K., Modi, D. R. (2013). Biodegradation of keratin from chicken feathers by bacterial species as a means of sustainable development. *Biotech Today* 3(2): 45-52.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli*. dan *S. aureus*. *J Ilm Tek Peri*, 1(2).
- Harlia, E., Refah, Chanigia, Irfan, Astuti, Y., Marlina, E. T., Puteri, G. C. K., Suharyono, D. (2023). Microbial Diversity in A Mixed Dairy Cow Manure and Chicken Manure Compost. *J Ilm Tern Unpad*, 23(1), 1-7.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S. A., Asna, P. M. A. (2017). Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*, 14(1), 265-270.
- Hapsari, A. Y. (2013). Kualitas dan kuantitas kandungan pupuk organik limbah serasah dengan inokulum kotoran sapi secara semi anaerob. *Tesis*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Irianto, I. K. (2017). Rancangan Teknologi Penanganan Limbah Padat dengan Sistem Pengkomposan. *Working Paper*. Universitas Warmadewa, Denpasar, Indonesia. (Unpublished)
- Joshi, S. G., Tejashwini, M. M., Revati, N., Sridevi, R., Roma, D. (2007). Isolation, Identification and Characterization of a Feather Degrading Bacterium. *International Journal of Poultry Science*, 6(9), 689-693.
- Kulkarni, S. A., Jadhav, A. R. (2014). Isolation and Characterization of Keratinolytic Bacteria from Poultry farm soils. *International Research Journal of Biological Sciences*, 3(7), 29-33.

- Kutu, F. R., Mokase, T. J., Dada, O. A., & Rhode, O. H. J. (2019). Assessing microbial population dynamics, enzyme activities and phosphorus availability indices during phospho-compost production. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(1), 87–97.
- Lakaoni, L. N., Triastianti, R. D., Muyasaro, N., Nasirudin. (2022). Pengaruh Penambahan EM4 pada Pengomposan Ampas Kulit Lada Putih (*Piper nigrum*, L) Terhadap Kandungan NPK. *J Rekayasa Lingkungan*, 22(1), 55-63.
- Larasati, D. (2015) Modifikasi Enzimatis Limbah Bulu Ayam Sebagai Pakan Ternak Kaya Nutrisi. *Undergraduate thesis*, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Mahdiyah, D. 2015. Isolasi Bakteri Dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *J Pharmascience*, 2(2), 71-79.
- Manirujjaman, M., Amin, R., Nahid, A. A., Alam, M. S. (2016). Isolation and characterization of feather degrading bacteria from poultry waste. *African Journal Of Bacteriology Research* 8(3), 14-21.
- Masood, S., Hussain, A., Javid, A., Bukahri, S. M., Ali, W., Ali, S., Ghaffar, I., Imtiaz, A., Amin, H. M. A., Salahuddin, H., Inayat, M., Razzaq, S., Kafayat, F., Rafiq, H., Yasmeen, M., Muneeb, M., & Sattar, S. (2023). Fungal decomposition of chicken-feather waste in submerged and solid-state fermentation. *Brazilian Journal of Biology*, 83, 1-8.
- Mazotto, A. M., Coelho, R. R., Cedrola, S. M., De Lima, M. F., Couri, S., De Paraguai, S. E., Vermelho, A. B.. (2011). Keratinase production by three *Bacillus* spp. using feather meal and whole feather as substrate in a submerged fermentation, *Research Article, Enzyme Research*. Brazil.
- Mirdayanti, R., Wirjosentono, B., Marlianto, E. (2018). Analisis Edible Film dari Campuran Keratin dan Pati Jagung. *Serambi Eng*, 3(2), 316-325.
- Mirwan, M. (2015). Optimasi Pengomposan Sampah Kebun Dengan Variasi Aerasi Dan Penambahan Kotoran Sapi Sebagai Bioaktivator. *J Tek. Ling*, 4(6), 61-66.
- Mulia, D. S., Yuliningsih, R. T., Maryanto, H., Purbomartono C. (2016). Pemanfaatan Limbah Bulu Ayam Menjadi Bahan Pakan Ikan dengan Fermentasi *Bacillus subtilis*. *J. Man Ling*, 23(1), 49-57.
- Nagarajan, S., Eswaran, P., Masilamani, R., Natarajan, H. (2018). Chicken Feather Compost to Promote the Plant Growth Activity by Using Keratinolytic Bacteria. *Waste and Biomass Valorization*. 9. 10.1007/s12649-017-0004-0.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, Ghazali, M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *J Sains Tek Ling*, 1(2), 24-30. 10.29303/jstl.v1i2.53
- Pandian, S., Sundaram, J., Panchatcharam, P. (2012). Isolation, identification and characterization of feather degrading bacteria. *European Journal of Experimental Biology*, 2(1), 274-282.
- 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), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1134-9>
- Puastuti, W. 2007. Teknologi Pemrosesan Bulu Ayam dan Pemanfaatannya sebagai Sumber Protein Pakan Ruminansia. *WARTAZOA*, 17(2), 53-60.

- Puspitasari, F. D., Shovitri, M., dan Kuswytasari, N.D. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1).
- Rafi, U., Waheed, A., Yasmeen, R., Noor, S., Bokhari, S. S. (2022). Isolation of Keratinolytic bacteria from common Ostrich (*Struthio camelus*) and their efficacy towards feather degradation of poultry waste. *BioSci Rev*, 4(4), 89–100.
- Reyes, A., Ambita, I. D., Batalon, J. L., Aba, B. L., Cortes, A., Macabecha, C. G., Montecillo, A. (2018). Isolation and characterization of keratinolytic bacteria from soil samples of poultry waste dumping sites. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(7), 1787-1800.
- Riffel, A., Brandelli, A. (2006). Keratinolytic bacteria isolated from feather waste. *BRAZ J MICROBIOL*, 37, 395-399.
- Ropalia, R., Pratama, D. (2022). Isolasi dan Kelimpahan Cendawan dan Cendawan Pelarut Fosfat pada Pengomposan Serbuk Gergaji dan Sekam Bakar dengan Jenis Kotoran Ternak yang Berbeda. *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 7(2), 121-131.
<https://doi.org/10.33019/ekotonia.v7i2.3730>
- Sari, N. P., Rinaldi, Rodhiyah, Z. (2021). Pengaruh Perbedaan Tinggi Tumpukan Kompos Terhadap Jumlah Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. pada Kompos Sampah Organik Pasar dan Limbah Padat Rumah Potong Hewan. *J Engin*, 3(1), 44-55.
- Sharma, H. J., Nongthombam A., Khuraijam, M., Laishram, Y. (2018). Isolation and screening of keratinolytic bacteria from the poultry feather dumped soil of ICAR-NEH region, Imphal centre. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 6(6), 35-38.
- Sobucki, L., Ramos, R. F., Gubiani, E., Brunetto, G., Kaiser, D. R., Daroit, D. J. (2019). Feather hydrolysate as a promising nitrogen-rich fertilizer for greenhouse lettuce cultivation. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric*, 8, 493–499.
- Subugade, S., Gupta, S., Mokashe, S. (2019). Isolation and Screening of Keratinase Producing Bacteria From Chicken Feather Dumping site. *International Journal of ChemTech Research*. 10, 900-905.
- Surtinah. (2013). Pengujian Kandungan Unsur Hara dalam Kompos yang Berasal dari Serasah Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata*). *J Ilm Pert*, 11(1), 11-17.
- Suryani, S., A'yun, Q. (2022). Isolasi Bakteri Endofit dari Mangrove *Sonneratia alba* Asal Pondok 2 Pantai Harapan Jaya Muara Gembong, Bekasi. *Bio Sains*, 1(2).
- Suyanta, Hartono, Suhandoyo, Juli, A., & Sudarsono. (2020). Efektifitas mikroorganisme berbasis kotoran sapi, kambing dan ayam dalam proses pengomposan untuk produksi pupuk organik. *Makalah Riset Propotipe Industri UNS*, 21(1), 1–9.
- Sutoyo, Subandi., Ardyati, T., Suharjono. (2019). Screening of keratinolytic fungi for biodegradation agent of keratin from chicken feathers waste. *IOP Conf Series : Earth and Environmental Science*, 391, 1-8.
- Syaifullah, H., Kusmiadi, R., Prayoga, G. I. (2017). Analisis kompos padat bulu ayam dengan penambahan mol ikan, mol pepaya, kotoran sapi, dan kotoran ayam. *Skripsi*. Program Studi Agroteknologi, Universitas Bangka Belitung.

- Utami, U. B. L. (2021). Modifikasi keratin dari bulu itik sebagai filter logam berat pada pengolahan limbah air asam tambang batubara dalam skala laboratorium. *Disertasi*. Program Studi Doktor Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro.
- Vema, R., Kumar, V. (2023). Isolation and characterization of keratinolytic bacteria from poultrywaste soils of Himachal Pradesh. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 11(3), 172-179.
- Wakil, S. M., Dada, M. T. & Onilude, A. A. (2011). Isolation and Characterization of Keratinase-Producing Bacteria from Poultry Waste. *J of Pure and Applied Microbiology* 5(2), 567-580.
- Xu, Z., Li, R., Liu, J., Xu, X., Wang, S., Gao, F., Yang, G., Yao, Y., Zhang, Z., Zhang, X. and Zhang, Y., (2024). The impact of ammonifying microorganisms on the stabilization and carbon conversion of cow manure and wheat husk co-composting. *Chemical Engineering Journal*, 490, 151626.
- Yuliana, A. (2017). Pengaruh dosis pupuk kotoran ayam terhadap pertumbuhan. tiga varietas lada (*Piper Nigrum* L.) di media tailing pasir. *Skripsi*. Bangka: Universitas Bangka Belitung.