

PENGARUH DOSIS INOKULUM DAN LAMA FERMENTASI OLEH BACILLUS SUBTILIS TERHADAP KANDUNGAN NUTRIEN TEPUNG BULU AYAM

Effect of Inoculum Doses and Duration of Fermentation by Bacillus subtilis on the Nutrient Content of Chicken Feather Meal

Tri Wahyuni¹, Neni Prestiani¹, Denny Rusmana² dan Abun Hasbuna²

¹Program Studi Peternakan PSDKU Pangandaran, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Pangandaran, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Nutrisi Ternak dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia
Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor 45363, Jawa Barat

ABSTRAK

KORESPONDENSI

Tri Wahyuni

Program Studi PSDKU
Pangandaran, Fakultas
Peternakan, Universitas
Padjadjaran

email :
triw9471@gmail.com

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* yang menghasilkan kandungan nutrisi tepung bulu ayam terbaik. Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) pola tersarang. Terdapat faktor A yaitu dosis inokulum dan faktor B yaitu lama fermentasi. Perlakuan terdiri atas dosis inokulum *Bacillus subtilis* (D1: 2,5%, D2: 5%, dan D3: 7,5% v/b tepung bulu ayam) dan lama fermentasi (L1: 1 hari, L2: 3 hari dan L3: 5 hari) dengan 3 kali ulangan. Data hasil penelitian diuji menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan dosis inokulum dan lama fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan bahan organik tepung bulu ayam, namun berpengaruh nyata terhadap kandungan protein kasar, serat kasar dan lemak kasar tepung bulu ayam dengan D2L2 menghasilkan kandungan bahan organik dan protein kasar terbaik yaitu 98,17% dan 85,23%, D2L3 menghasilkan kandungan serat kasar terbaik yaitu 0,33%, dan D3L3 menghasilkan kandungan lemak kasar terbaik yaitu 8,75%.

Kata Kunci: tepung bulu ayam, fermentasi, *Bacillus subtilis*, kandungan nutrisi

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of inoculum dose and duration of fermentation by *Bacillus subtilis* that produces the best nutrient content of chicken feather meal. The research used an experimental method with a complete randomized design (CRD) nested pattern. It consisted of factor A is a dose of inoculum, and factor B is duration of fermentation. The treatments consisted of *Bacillus subtilis* inoculum dose (D1: 2.5%, D2: 5%, and D3: 7.5% v/b of chicken feather meal) and fermentation duration (L1: 1 day, L2: 3 days, and L3: 5 days) with 3 replications. Data from the study were tested using the variance method and continued with Duncan's multiple range test. The results showed that the dose of inoculum and the duration of fermentation did not significantly affect the organic matter content of chicken feather meal, but significantly affected the crude protein, crude fiber, and crude fat content of chicken feather meal with D2L2 producing the best organic matter and crude protein content of 98,17% and 85.23%, D2L3 producing the best crude fiber content of 0.33% and D3L3 producing the best crude fat of 8.75%.*

Keywords: *chicken feather meal, fermentation, *Bacillus subtilis*, nutrient content*

PENDAHULUAN

Bulu ayam termasuk salah satu limbah yang dihasilkan dari industri rumah pemotongan yang sekarang ini banyak ditemukan (Mulia *et al.*, 2016). Bulu ayam yang diproduksi dari rumah pemotongan ayam apabila dibuang begitu saja tanpa dimanfaatkan dengan baik dapat menyebabkan dampak buruk terhadap lingkungan seperti menurunnya kualitas tanah akibat bulu ayam sulit untuk terdegradasi (Azmi *et al.*, 2021) atau proses dari dekomposer bulu ayam memakan waktu yang relatif lama karena sebagian besar protein bulu ayam termasuk ke dalam protein fibrous yang berupa serat atau disebut keratin (Mulia *et al.*, 2016).

Keratin termasuk produk pengerasan yang tersusun dari protein fibrous berupa serat yang mengandung sistin dan sistein yang diperoleh dari jaringan epidermis tubuh seperti rambut, bulu dan kuku (Widiana *et al.*, 2020). Keratin terdiri atas asam amino yang saling berikatan satu sama lainnya dengan membentuk ikatan disulfida sehingga menghasilkan serat yang keras, kuat dan ringan (Prasanthi *et*

al., 2016). Hal inilah yang menyebabkan bulu ayam sulit didegradasi dan dirombak, serta menjadi suatu masalah yang serius di lingkungan (Joshi *et al.*, 2007), sehingga perlu dilakukan suatu pengolahan ataupun penanganan pada bulu ayam supaya tidak mencemari lingkungan.

Bulu ayam ternyata berpotensi apabila dimanfaatkan menjadi pakan ternak karena memiliki kandungan nutrisi yang cukup baik yaitu lemak kasar 0,83%, abu 1,49%, serat kasar 2,15%, protein kasar 82,36%, NFE/BETN 1,02% dan kadar air 12,33% (Tesfaye *et al.*, 2017). Namun, apabila akan dimanfaatkan sebagai pakan ternak, bulu ayam harus melewati proses pengolahan terlebih dahulu supaya kandungan keratin pada bulu ayam dapat menurun. Pengolahan tepung bulu ayam terbagi menjadi pengolahan fisik menggunakan temperatur (suhu) dan tekanan (*autoclave*), kimiawi menggunakan asam basa (HCl dan NaOH), enzimatis menggunakan enzim dan mikrobiologi (fermentasi) menggunakan mikroorganisme

(Papadopoulos *et al.*, 1985; Williams *et al.*, 1991 dalam Adiati *et al.*, 2004).

Pengolahan secara mikrobiologi pada bulu ayam sudah mulai banyak diterapkan. Pengolahan secara mikrobiologi (fermentasi) adalah pengolahan dengan menggunakan bantuan mikroorganisme. Bakteri dari kelompok *Bacillus sp.* termasuk bakteri yang biasa digunakan sebagai pendegradasi keratin (Laba dan Rodziewicz, 2014), contohnya yaitu bakteri *Bacillus subtilis* yang mampu memproduksi enzim keratinolitik, sehingga mempunyai kemampuan untuk mendegradasi keratin yang terkandung pada bulu ayam (Madigan dan Martinko, 2005 dalam Mulia *et al.*, 2016). Bakteri *Bacillus subtilis* juga mampu menghasilkan enzim protease, amilase, chitinase, pullulanase, lipase dan xylanase (Prihatiningsih *et al.*, 2019), serta enzim selulase (Wahyuningtyas *et al.*, 2013). Selain itu, bakteri dari kelas *Bacillus sp.* ini apabila digunakan dalam fermentasi dapat memberikan pengaruh pada kualitas protein dan mampu meningkatkan daya cerna dari bulu ayam (Mulia *et al.*, 2016).

Pada proses fermentasi terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi, dua di antaranya yaitu dosis inokulum dan lama fermentasi. Dosis inokulum yang tepat menjadikan mikroba dapat tumbuh dan berkembang secara cepat, hal ini dikarenakan dengan semakin tingginya dosis inokulum, maka proses fermentasi akan menjadi semakin cepat, sehingga substrat yang dirombak juga semakin banyak. Kemudian, semakin lama proses fermentasi berlangsung, zat-zat seperti bahan organik dan bahan kering yang dirombak akan semakin banyak. Namun, kondisi optimum yang diberikan menjadi salah satu indikator keberhasilan suatu proses fermentasi khususnya fermentasi padat untuk menghasilkan kandungan

nutrien yang terbaik (Muis dan Mirzah, 2016).

Pemanfaatan bakteri *Bacillus sp.* sebagai bakteri pendegradasi keratin sudah pernah dilakukan sebelumnya. Salah satunya yaitu oleh Mulia *et al.*, (2016) yang dalam penelitiannya digunakan *Bacillus subtilis* dengan dosis inokulum yang berbeda (5 ml, 10 ml dan 15 ml)/2 gram tepung bulu ayam dan lama fermentasi yang sama (3 hari). Hasil penelitian tersebut mendapatkan persentase protein kasar tertinggi yaitu 80,59% dan abu terendah yaitu 0,24% pada perlakuan dengan dosis inokulum 10 ml dan lama fermentasi 3 hari, serta serat kasar terendah yaitu 0,04% pada perlakuan yang menggunakan dosis inokulum 15 ml dan lama fermentasi 3 hari.

Berdasarkan pernyataan tersebut, dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui pengaruh dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* terhadap kandungan nutrien tepung bulu ayam. Pada penelitian ini, tepung bulu ayam akan difermentasi menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* dengan dosis inokulum dan lama fermentasi yang berbeda. Dosis inokulum terdiri dari 2,5%, 5% dan 7,5% (v/b) tepung bulu ayam, sedangkan lama fermentasi terdiri dari 1 hari, 3 hari dan 5 hari. Dosis inokulum dan lama fermentasi tersebut didasarkan pada penelitian Mulia *et al.*, (2016) yang menggunakan dosis inokulum 5, 10 dan 15 ml/2 gram tepung bulu ayam dengan lama fermentasi 3 hari.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan di antaranya kantong plastik, plastik es, sarung tangan lateks, masker medis, ember besar, terpal/karung, gunting, mesin penggiling, kain lap/tisu, cawan

petri, jarum ose, pembakar bunsen, pH meter, *autoclave*, gelas ukur, neraca analitik digital, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu Erlenmeyer, pipet, kapas, kain kasa, kertas coklat, alumunium foil, toples, selotip, lemari fermentasi, alat tulis, kompor listrik, *crussible porselen* 30 ml, tanur listrik, tang penjepit, eksikator, satu set alat destilasi, labu Kjeldahl 300 ml, buret 50 cc skala 0,1 ml, kertas saring bebas lemak, kertas saring bebas abu (merek Whatman No. 41), biji hektar, alat Soxhlet, alat pompa vakum, corong Buchner 4,5 cm, tang penjepit dan *hot plate*.

Bahan-bahan yang digunakan di antaranya bulu ayam, bakteri *Bacillus subtilis*, *Nutrient Agar* (NA), aquabides, larutan NaCl 0,1 M, alkohol, *Nutrient Broth* (NB), *buffer* pH 7, spiritus, gas elpiji, asam chlorida (HCl) yang sebelumnya sudah diketahui normalitasnya, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, aseton, kloroform, indikator campuran Brom Cresol Green : Methyl Merah dengan perbandingan 4:5, asam borax (H₃BO₃) 5%, natrium hidroksida (NaOH) 1,25%, dan katalis campuran (CuSO₄.5H₂O dan K₂SO dengan rasio 1:5, lalu 0,9 gram campuran tersebut dilarutkan di dalam alkohol).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang. Terdiri dari faktor A yaitu dosis inokulum dan faktor B yaitu lama fermentasi (faktor B tersarang pada faktor A). Perlakuan terdiri atas dosis inokulum *Bacillus subtilis* yaitu D1 = 2,5% , D2 = 5% dan D3 = 7,5% (v/b) tepung bulu ayam dan lama fermentasi yaitu L1 = 1 hari, L2= 3 hari dan L3 = 5 hari dengan 3 kali ulangan, sehingga menghasilkan perlakuan sebagai berikut:

1. D1L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 1 hari
2. D1L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 3 hari
3. D1L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 5 hari
4. D2L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 1 hari
5. D2L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 3 hari
6. D2L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 5 hari
7. D3L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 1 hari
8. D3L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 3 hari
9. D3L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 5 hari.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Tepung Bulu Ayam

Bulu ayam yang didapatkan dari Rumah Pemotongan Ayam di Pasar Karanganyar, Kecamatan Karanganyar, Kabupaten Kebumen, Jawa Tengah sebanyak 15 kg (basah) dibersihkan dan dikeringkan, lalu digiling menjadi tepung menggunakan mesin penggiling (*fedeer mill*), sehingga menghasilkan tepung bulu ayam sebanyak 1,9 kg.

b. Perbanyakan Inokulum

Melakukan purifikasi bakteri *Bacillus subtilis* dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) sebelum melakukan perbanyakan bakteri. Membuat inokulum bakteri dan menumbuhkannya di media *Nutrient Agar* (NA) miring pada tabung reaksi,

lalu selanjutnya menginkubasi inokulum bakteri tersebut pada suhu kamar dalam kurun waktu 48 jam. Kemudian, memasukkan 10 ml *Nutrient Broth* (NB) ke tabung yang berisi biakan bakteri *Bacillus subtilis*, sehingga mendapatkan hasil akhir berupa suspensi dari sel bakteri atau disebut inokulum (Desi, 2002 dalam Mulia *et al.*, 2016).

Perbanyak bakteri *Bacillus subtilis* dimulai dengan melakukan inokulasi biakan yang terdapat pada media *Nutrient Agar* (NA), lalu menginkubasinya dalam kurun waktu 48 jam. Selanjutnya, memindahkan isolat ke tabung yang di dalamnya terdapat 10 ml media *Nutrient Broth* (NB), lalu menginkubasi isolat tersebut dengan suhu 45°C dan pH 8,0 dalam kurun waktu 5 hari. Memindahkan kultur ke dalam 900 ml media *Nutrient Broth* (NB), lalu menginkubasinya kembali dalam kurun waktu 48 jam, sehingga akan mendapatkan hasil akhir berupa kultur dari bakteri *Bacillus subtilis* untuk fermentasi sebanyak 1.000 ml (Desi, 2002 dalam Mulia *et al.*, 2016).

Menghitung konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* melalui cara pengenceran. Pengenceran dilakukan menggunakan kultur sebanyak 1 ml dan ditambahkan ke larutan NaCl 0,1 M steril dengan beberapa kali tingkat pengenceran. Masing-masing 1 ml kultur diambil dan dituangkan pada cawan petri yang telah disterilkan pada tiga pengenceran terakhir (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}). Selanjutnya,

menambahkan medium *Nutrient Agar* (NA) ke cawan petri dan membiarkannya dalam kurun waktu 2x24 jam. Melakukan perhitungan dosis koloni dari bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) (Desi, 2002 dalam Mulia *et al.*, 2016).

c. Fermentasi Tepung Bulu Ayam

Melakukan sterilisasi pada tepung bulu ayam dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm dalam kurun waktu 15 menit. Setelah itu, tepung bulu

ayam didinginkan dengan suhu sekitar 30-40°C selama kurang lebih 15-20 menit. Siapkan substrat sebanyak 25 gram untuk setiap percobaan. Campurkan substrat dengan masing-masing dosis inokulum *Bacillus subtilis* sebanyak 2,5%, 5% dan 7,5% ke dalam Erlenmeyer. Hal tersebut dilakukan sesuai dengan perlakuan percobaan masing-masing. Inkubasi tepung bulu ayam yang sudah diberikan inokulum *Bacillus subtilis* ke dalam inkubator dengan suhu sekitar 55°C dalam kurun waktu 1 hari, 3 hari dan 5 hari. Selanjutnya, produk fermentasi di analisis proksimat untuk mengetahui kandungan nutrisi tepung bulu ayamnya.

Parameter Penelitian

Parameter penelitian adalah kandungan nutrisi seperti bahan organik, protein kasar, serat kasar dan lemak kasar tepung bulu ayam.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan Sidik Ragam dengan model matematika berdasarkan Montgomery (1991), lalu perbedaan perlakuan diuji dengan menggunakan *Duncan's Multiple Test* (DMRT) atau uji jarak berganda Duncan (Gaspersz, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

a) Kandungan Bahan Organik

Perlakuan non fermentasi (D0L0) mengandung bahan organik sebesar 98,04%. Persentase tersebut lebih rendah dibandingkan persentase bahan organik perlakuan non fermentasi pada penelitian yaitu sebesar 98,63%. Rataan kandungan bahan organik pada penelitian ini berkisar antara 98,07% (D1L2) sampai dengan 98,91% (D2L3).

Kandungan bahan organik mengalami peningkatan pada masing-masing perlakuan yaitu 0,03% sampai

dengan 0,87%, walaupun tidak signifikan. Persentase kandungan bahan organik terendah atau kandungan abu tertinggi terdapat pada perlakuan non fermentasi,

hal tersebut terjadi karena tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme di dalam perlakuan tersebut.

Tabel 1. Hasil Penelitian Kandungan Nutrien Tepung Bulu Ayam

Perlakuan	Bahan Organik (%)	Protein Kasar (%)	Serat Kasar (%)	Lemak Kasar (%)
D1L1	98,22	76,54 ^a	1,54 ^a	4,29 ^a
D1L2	98,07	81,42 ^b	0,72 ^b	3,84 ^b
D1L3	98,44	82,57 ^b	0,42 ^c	9,39 ^c
D2L1	98,44	78,54 ^a	1,51 ^a	4,65 ^a
D2L2	98,17	85,23 ^b	0,42 ^b	3,23 ^b
D2L3	98,91	81,35 ^a	0,33 ^c	7,38 ^c
D3L1	98,30	77,16 ^a	1,67 ^a	4,44 ^a
D3L2	98,62	82,05 ^b	0,37 ^{ab}	6,62 ^b
D3L3	98,34	78,46 ^a	0,30 ^b	8,75 ^c

Sumber: Hasil analisis proksimat.

Keterangan: Superscript berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

D1L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 1 hari

D1L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 3 hari

D1L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 2,5% dan lama fermentasi 5 hari

D2L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 1 hari

D2L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 3 hari

D2L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 5 hari

D3L1 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 1 hari

D3L2 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 3 hari

D3L3 = Dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 5 hari

Hal ini sependapat Mulia *et al.*, (2016) bahwa kandungan abu tertinggi dari perlakuan non fermentasi tepung bulu ayam disebabkan karena pada perlakuan tersebut tidak terjadi adanya pertumbuhan mikroorganisme. Lalu, persentase kandungan bahan organik tertinggi terdapat pada perlakuan dengan dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 5 hari. Hal tersebut berbeda dari penelitian Mulia *et al.*, (2016) yang menghasilkan persentase bahan organik tertinggi pada perlakuan dengan dosis inokulum 10 ml/2 gram tepung bulu ayam dan lama fermentasi 72 jam (3 hari) yaitu 99,76%.

Pada penelitian ini perlakuan D2L3 menunjukkan persentase kandungan bahan organik tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kandungan

bahan organik yang dihasilkan dari penelitian ini berbeda-beda, walaupun tidak signifikan. Hal tersebut terjadi karena tidak adanya pengaruh perbedaan dosis inokulum *Bacillus subtilis* dan lama fermentasi terhadap kandungan bahan organik tepung bulu ayam. Perlakuan dengan dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 5 hari menghasilkan persentase kandungan bahan organik tertinggi yaitu 98,91% atau menghasilkan persentase kandungan abu terendah yaitu 1,09%. Hal ini berarti pada dosis inokulum dan lama fermentasi tersebut, unsur pembentuk dari senyawa organik yang terbakar hingga berubah menjadi gas sangat banyak, sehingga menyisakan abu dalam jumlah yang sedikit. Unsur pembentuk dari senyawa organik yang terbakar hingga berubah

menjadi gas di antaranya yaitu seperti kandungan sulfur yang banyak terkandung dalam tepung bulu ayam. Pernyataan tersebut sependapat dengan Mulia *et al.*, (2016) bahwa kandungan abu pada tepung bulu ayam yang difermentasi lebih rendah dibandingkan tepung bulu ayam yang tidak difermentasi karena keseluruhan dari unsur pembentuk organiknya telah habis terbakar dan berubah menjadi gas, serta sisanya berubah menjadi abu.

Kandungan bahan organik suatu bahan pakan tersusun atas serat kasar, protein kasar, bahan ekstrak tanpa nitrogen dan lemak kasar. Kandungan bahan organik bisa diketahui dengan menghitung selisih antara kandungan bahan kering dengan kandungan abu (Azizah *et al.*, 2020). Hal ini sependapat dengan Suadnyana *et al.*, (2019) bahwa tinggi rendahnya kandungan bahan organik disebabkan oleh adanya pengaruh dari komponen lain seperti kandungan bahan kering dan kandungan abu. Selain itu, Azizah *et al.*, (2020) menyatakan bahwa kandungan abu dapat mempengaruhi kandungan bahan organik dari suatu bahan pakan, karena semakin tinggi kandungan abu suatu bahan pakan, maka akan semakin rendah kandungan bahan organiknya. Oleh karena itu, kandungan abu pada bahan pakan yang baik adalah kandungan abu yang rendah, sehingga menjadi mudah dicerna oleh ternak.

b) Kandungan Protein Kasar

Perlakuan non fermentasi (D0L0) memiliki kandungan protein kasar sebesar 73,91%, lebih tinggi 0,35% dibandingkan kandungan protein kasar perlakuan non fermentasi pada penelitian yaitu sebesar 73,56%. Rataan kandungan protein kasar pada penelitian ini berkisar antara 76,54% (D1L1) sampai dengan 85,23% (D2L2).

Pada perlakuan D1L1 sudah menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* karena terjadi peningkatan persentase protein kasar sebesar 2,63% dari persentase tepung bulu ayam sebelum difermentasi. Lalu, pada perlakuan D2L2 menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* terbaik dengan adanya peningkatan persentase protein kasar sebesar 11,32% dari persentase tepung bulu ayam sebelum difermentasi.

Kandungan protein kasar mengalami peningkatan setelah tepung bulu ayam difermentasi. Hal ini terjadi diduga karena terdapat aktivitas keratinase dari bakteri *Bacillus subtilis* (Mulia *et al.*, 2016). Aktivitas keratinase tersebut akan memecahkan keratin yang ada pada bulu ayam dan memutuskannya menjadi ikatan sistin-sistein. Lalu, ikatan antar asam amino yang terdapat pada keratin tepung bulu ayam menjadi terputus, sehingga penetrasi enzimnya menjadi lebih mudah dan fraksi proteinnya meningkat (Sonjaya, 2001 dalam Mulia *et al.*, 2014).

Bakteri *Bacillus subtilis* mampu memproduksi enzim keratinase yang tergolong enzim ekstraseluler dalam jumlah tinggi, sehingga dapat menghidrolisis protein larut maupun tidak larut, contohnya keratin (Sinoy *et al.*, 2011). Bakteri *Bacillus subtilis* juga merupakan jenis bakteri penghasil enzim protease, amilase, chitinase, pullulanase, lipase dan xylanase (Prihatiningsih *et al.*, 2019). Bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim protease yang termasuk ke dalam enzim proteolitik, sehingga mampu memutuskan ikatan peptida yang ada pada protein tepung bulu ayam (Efendi *et al.*, 2017).

Kemudian, kandungan protein kasar tepung bulu ayam pada penelitian ini mengalami peningkatan juga diduga karena sel mikroba membentuk protein sel tunggal (PST) ataupun biomassa sel. Hal ini sependapat dengan Krishna *et al.*,

(2005) dalam Muis dan Mirzah (2016) bahwa pertumbuhan sel mikroba mampu memproduksi protein sel tunggal (PST) ataupun biomassa sel yang di dalamnya terkandung protein sebesar 40-65% yang dapat disumbangkan pada produk fermentasi sehingga protein kasar menjadi meningkat. Selain itu, ketika proses fermentasi berlangsung, bakteri *Bacillus subtilis* akan mengeluarkan enzim-enzim yang di dalamnya terdapat protein dan bakteri *Bacillus subtilis* itu sendiri, yang berperan sebagai sumber dari protein sel tunggal.

Pada penelitian ini D2L2 menunjukkan persentase protein kasar tertinggi. Kandungan protein kasar pada masing-masing perlakuan di penelitian ini mendapatkan hasil yang berbeda-beda, karena adanya pengaruh perbedaan dosis inokulum *Bacillus subtilis* dan lama fermentasi tepung bulu ayam. Perlakuan dengan dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 3 hari menghasilkan persentase kandungan protein kasar tertinggi yaitu 85,23%. Hal ini diduga karena pada dosis inokulum dan lama fermentasi tersebut, konsentrasi dari enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* dalam kondisi yang seimbang dengan banyaknya substrat fermentasi yang digunakan, sehingga mampu menghasilkan kandungan protein kasar tertinggi dengan peningkatan persentase sebesar 11,32%. Persentase tersebut lebih tinggi 4,73% dibandingkan dengan persentase tertinggi pada penelitian Mulia *et al.*, (2016) yaitu 80,59%. Lalu, pada penelitian ini D1L1 menunjukkan persentase protein kasar terendah (setelah perlakuan non fermentasi). Hal ini diduga karena pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang masih rendah, sehingga konsentrasi enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* belum mampu mendegradasi kandungan keratin yang terdapat pada tepung bulu ayam dalam

jumlah yang banyak. Oleh karena itu, perlakuan D1L1 menghasilkan kandungan protein kasar terendah dengan peningkatan persentase kandungan protein kasar yang rendah yaitu 2,63%.

Pada penelitian ini dapat diketahui bahwa dosis inokulum dan lama fermentasi sangat berpengaruh terhadap kandungan protein kasar tepung bulu ayam. Pemberian dosis inokulum dan lama fermentasi yang semakin tinggi dengan batasan tertentu dapat menyebabkan kandungan protein kasar yang dihasilkan akan semakin rendah. Hal ini diduga, dengan semakin tingginya dosis inokulum dan lama fermentasi yang digunakan, produksi enzim oleh bakteri *Bacillus subtilis* akan semakin banyak, sehingga nutrisi yang disebarkan menjadi semakin banyak dan tidak terjadinya keseimbangan antara substrat dengan enzim yang ada. Selain itu, NH_3 yang dihasilkan akan semakin banyak dan dapat menyebabkan aroma tepung bulu ayam setelah difermentasi menjadi lebih menyengat atau memiliki aroma yang khas.

Hal tersebut sependapat dengan Mulia *et al.*, (2016) bahwa dosis inokulum pada setiap perlakuan akan memberikan pengaruh terhadap kadar NH_3 dan kandungan protein kasar yang dihasilkan. Selain itu, tinggi rendahnya dosis inokulum yang digunakan juga akan memberikan terhadap kualitas produk fermentasi. Semakin tinggi dosis inokulum yang digunakan maka akan memicu tingginya produksi enzim dari mikroba, sehingga nutrisi protein akan terurai menjadi NH_3 dalam jumlah yang banyak dan dapat menimbulkan aroma atau bau khas dari produk fermentasi. Muis dan Mirzah (2016) juga menambahkan bahwa dengan semakin tinggi dosis inokulum yang digunakan maka substrat yang dirombak akan semakin banyak, karena proses fermentasi berlangsung secara cepat. Lalu,

semakin lama proses fermentasi berlangsung, zat-zat seperti bahan organik dan bahan kering yang dirombak akan semakin banyak.

Terdapat dosis inokulum dan lama fermentasi terbaik untuk mendapatkan kandungan protein kasar terbaik. Hal tersebut terjadi karena terdapat keseimbangan antara substrat dan enzim yang diproduksi oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Menurut Muis dan Mirzah (2016), suatu proses fermentasi bisa mendapatkan keberhasilan untuk mendapatkan kandungan nutrisi yang terbaik apabila menggunakan dosis inokulum dan lama fermentasi yang optimum. Selain itu, dalam proses fermentasi terdapat hal yang perlu diperhatikan, seperti dosis inokulum, komposisi substrat, lama fermentasi, suhu, ketebalan substrat dan pH.

c) Kandungan Serat Kasar

Bulu ayam tanpa fermentasi (D0L0) memiliki serat kasar 3,87% lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Mulia *et al.*, (2016), yaitu 21,61%. Rataan kandungan serat kasar berkisar antara 0,30% (D3L3) sampai dengan 1,67% (D3L1). Pada perlakuan D3L1 sudah terlihat adanya penurunan kandungan serat kasar dibanding non fermentasi yaitu sebesar 2,2%. Lalu pada perlakuan D3L1 terlihat adanya penurunan kandungan serat kasar tertinggi yaitu sebesar 3,57%. Hal tersebut terjadi karena adanya pertumbuhan *Bacillus subtilis* sehingga menyebabkan adanya penurunan.

Bulu ayam tanpa fermentasi (D0L0) memiliki serat kasar 3,87% lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Mulia *et al.*, (2016), yaitu 21,61%. Rataan kandungan serat kasar berkisar antara 0,30% (D3L3) sampai dengan 1,67% (D3L1). Pada perlakuan D3L1 sudah terlihat adanya penurunan kandungan serat kasar dibanding non fermentasi

yaitu sebesar 2,2%. Lalu, pada perlakuan D3L1 terlihat adanya penurunan kandungan serat kasar tertinggi yaitu sebesar 3,57%. Hal tersebut terjadi karena adanya pertumbuhan *Bacillus subtilis* sehingga menyebabkan adanya penurunan.

Penurunan kadar serat kasar terbaik terjadi pada hari ke 5 karena pada proses fermentasi ada aktivitas bakteri *Bacillus subtilis*. Serat kasar dapat terdegradasi oleh enzim selulase yang dihasilkan bakteri *Bacillus subtilis*. Proses pelonggaran tersebut dapat mengakibatkan pemecahan komponen struktur yang ada di dalam selulosa menjadi oligosakarida sehingga kadar serat kasar menjadi turun. Menurut Behera *et al.*, (2017), enzim selulase dapat mendegradasi komponen selulosa sehingga dapat meningkatkan kualitas pakan. Hal ini didukung oleh Hernawati *et al.*, (2010) bahwa sumber nutrisi yang sesuai dengan jumlah bakteri selulolitik yang nantinya tidak terjadi kompetisi antar mikroba sehingga mikroba berkembangbiak dengan optimal yang dapat menyebabkan optimalnya aktivitas mendegradasi.

d) Kandungan Lemak Kasar

Perlakuan non fermentasi (D0L0) menghasilkan lemak kasar 3,49% lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Mulia *et al.*, (2016), yaitu 3,37%. Rataan kandungan lemak kasar berkisar antara 3,23% (D2L2) sampai dengan 9,39% (D1L3). Pada perlakuan D2L2 terlihat adanya penurunan kandungan lemak kasar dibanding non fermentasi yaitu menjadi 3,23%. Lalu, pada perlakuan D1L3 terlihat adanya peningkatan kandungan lemak kasar tertinggi yaitu sebesar 5,9%. Hal tersebut terjadi karena adanya pertumbuhan *Bacillus subtilis* sehingga menyebabkan adanya penurunan.

Perlakuan dengan dosis inokulum *Bacillus subtilis* 7,5% dengan lama fermentasi 5 hari menghasilkan persentase lemak kasar sebesar 8,75%. Dosis tersebut merupakan dosis yang paling baik dalam meningkatkan kadar lemak kasar apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut terjadi karena pada dosis inokulum dan lama fermentasi tersebut menghasilkan konsentrasi enzim yang seimbang dengan banyaknya substrat sehingga mampu meningkatkan kandungan lemak kasar terbaik dengan peningkatan lemak kasar sebesar 5,26%. Peningkatan dapat terjadi karena lemak kasar merupakan suatu zat yang sulit larut pada larutan lemak, seperti benzene, kloroform, dan eter. Kadar lemak kasar tepung bulu ayam telah difermentasi dapat meningkat diduga karena hasil dari penguraian mikroorganisme (Mulia *et al.*, 2016). Pratiwi *et al.* (2015) menyatakan bahwa asam lemak yang tinggi dihasilkan oleh adanya aktivitas bakteri yang tinggi sehingga dapat meningkatkan kandungan lemak kasar.

Perlakuan dosis inokulum 5% dengan lama fermentasi 3 hari (D2L2) menunjukkan adanya penurunan, diduga karena lama fermentasi tersebut merupakan waktu perkembangan *Bacillus subtilis* terbaik sehingga menghasilkan banyak enzim lipase yang merombak asam lemak dan gliserol dari lemak dapat memacu penurunan kandungan lemak kasar. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Pepler (1973) dan Winarno (1985) dalam Mirnawati (2006) semakin banyak enzim lipase yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang berkembangbiak maka akan semakin banyak enzim yang menghidrolisis asam lemak dan gliserol dari lemak akan dijadikan sebagai energi pada saat pertumbuhan mikroorganisme untuk bertahan hidup. Menurut Nisa *et al.*, (2021), kandungan lemak kasar dapat turun karena perombakan ikatan

trigliserida yang kompleks ke ikatan sederhana menjadi lemak dan gliserol menyebabkan kandungan lemak kasar menjadi turun. Sebagian lemak akan mengalami penguapan yang menyebabkan kehilangan lemak kasar.

KESIMPULAN

Perbedaan dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan bahan organik tepung bulu ayam, sedangkan perbedaan dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan protein kasar, serat kasar dan lemak kasar tepung bulu ayam. Dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* yang menghasilkan kandungan bahan organik dan protein kasar terbaik yaitu dosis inokulum *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 3 hari (D2L2). Kemudian, dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* yang menghasilkan serat kasar terbaik yaitu dosis inokulum bakteri *Bacillus subtilis* 5% dan lama fermentasi 5 hari (D2L3), serta dosis inokulum dan lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* yang menghasilkan kandungan lemak kasar terbaik yaitu dosis inokulum bakteri *Bacillus subtilis* 7,5% dan lama fermentasi 5 hari (D3L3).

DAFTAR PUSTAKA

- Adiati, U., Puastuti, W., dan Mathius, I. (2004). Peluang Pemanfaatan Tepung Bulu Ayam sebagai Bahan Pakan Ternak Ruminansia. *Wartazoa*, 14(1), 39–44.
- Azizah, N. H., Ayuningsih, B., dan Susilawati, I. (2020). Pengaruh Penggunaan Dedak Fermentasi Terhadap Kandungan Bahan Kering

- dan Bahan Organik Silase Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum*). *Jurnal Sumber Daya Hewan*, 1(1), 9.
- Azmi, S., Djatna, T., dan Indrasti, N. S. (2021). Analisis dan Desain Sistem Penilaian Daur Hidup Ayam Potong Berbasis Digital Business Ecosystem. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 31(30), 164–175.
- Badan Pusat Statistik. (2022). *Populasi Unggas Menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Unggas di Provinsi Jawa Tengah (ribu ekor) 2019-2021*. Semarang: BPS Provinsi Jawa Tengah.
- Behera, B. C., Sethi, B. K., Mishra, R. R., Dutta, S. K., Thatoi, H. N. (2017). Microbial cellulases-Diversity & biotechnology about mangrove environment: A review. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 15, 197-210.
- Efendi, Y., Yusra, Y., dan Efendi, V. O. (2017). Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease. *Akuatika Indonesia*, 2(1), 87.
- Gaspersz, V.(1995). *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan*. Bandung: Tarsito.
- Hernawati, T., Lamid, M., Agoes Hermadi, H., dan Warsito, S. H. (2010). bakteri Selulolitik untuk Meningkatkan Kualitas Pakan Komplit Berbasis Limbah Pertanian. *Veterinaria*, 3(3), 205–208.
- Joshi, S. G., Tejashwini, M. M., Revati, N., Sridevi, R., dan Roma, D. (2007). Isolation, Identification and Characterization of a Feather Degrading Bacterium. *International Journal of Poultry Science*, 6(9), 689–693.
- Laba, W., and Rodziewicz, A. (2014). Biodegradation of hard keratins by two *Bacillus* strains. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(2).
- Mirawati. (2006). Peningkatan Kualitas Limbah Bulu Ayam melalui Fermentasi dengan Efektif Mikroorganisme 4 (EM4). 11(3), 242–248.
- Montgomery, D. C. (1991). *Design and Analysis of Experiments Eighth Edition, Arizona*.
- Muis, H., dan Mirzah. (2016). Biokonversi Limbah Kulit Ubi Kayu Menjadi Pakan Unggas Sumber Energi Menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens*. *Jurnal Ilmu Ternak*, 16(2), 59–70.
- Mulia, D. S., Nartanti, Y., Maryanto, H., Purbomartono, C., Biologi, P., Keguruan, F., Purwokerto, U. M., Raya, J., Waluh, D., Box, P. O., and Tel, P. (2004). *Fermentation Chicken Feather Meal of Bacillus licheniformis B2560 Forimproving the Quality of Raw Fish Feed Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*. 234–240.
- Mulia, D. S., Yuliningsih, R. T., Maryanto, H., dan Purbomartono, C. (2016). Pemanfaatan Limbah Bulu Ayam Menjadi Bahan Pakan Ikan dengan Fermentasi *Bacillus subtilis*. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 23(1), 49.
- Nisa, A. K., Lamid, M., Lokapirnasari, W. P., and Amin, M. (2021). Improving crude protein and crude fat content of Seligi leaf (*Phyllanthus buxifolius*) flour through probiotic fermentation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 679(1).
- Prasanthi, N., Bhargavi, S., Machiraju, P. V. S., and Professor, A. (2016). Chicken Feather Waste-A Threat to the Environment. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5(9), 16759–16764.
- Pratiwi, I., Fathul, F., dan Muhtarudin, D. (2015). Pengaruh Penambahan Berbagai Starter Pada Pembuatan Silase Ransum Terhadap Kadar Serat Kasar, Lemak Kasar, Kadar

- Air, dan Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen Silase. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(3), 116–120.
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H. A., Erminawati, E., dan Lestari, P. (2019). *Bacillus subtilis* from Potato Rhizosphere as Biological Control Agent and Chili Growth Promoter. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 23(2), 179.
- Sinoy, S., Bhausahab, T.C.P., dan Rajendra, P.P., (2011). Isolation and Identification of Feather Degradable Microorganism. *VSRD-TNTJ*, 2(3), 128-136.
- Suadnyana, I. M., Cakra, I. G. L. O., dan Wirawan, I. W. (2019). Kualitas fisik dan kimia silase jerami padi yang dibuat dengan penambahan cairan rumen sapi Bali. *Peternakan Tropika*, 7(2), 661–675.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., and Chunilall, V. (2017). Valorisation of chicken feathers: Characterisation of chemical properties. *Waste Management*, 68, 626–635.
- Wahyuningtyas, P., Argo, B. D., dan Nugroho, W. A. (2013). Studi Pembuatan Enzim Selulase Dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* Dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatis Pada Produksi Bioetanol. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 1(1), 21–25.
- Widiana, A.R., Tonga Y., Mardewi N.K. (2020). Pertumbuhan Ayam Ras Pedaging Yang Diberi Ransum Mengandung Tepung Limbah Bulu Ayam. *Jurnal Warmadewa*, 25 (02); 79-82.