

UJI KATALITIK ENZIM KERATINASE, LIPASE DAN SELULASE ISOLAT ACTINOMYCECTES SD-5 DARI PERAIRAN PANTAI MANGROVE OESAPA, KUPANG YANG BERPOTENSI DIKEMBANGKAN SEBAGAI IMBUHAN PAKAN MULTIENTENZIM

**Priska Bhene¹⁾, Stormy Vertygo^{1)*}, Cytske Sabuna¹⁾, Basry Yadi Tang²⁾,
Wahyu Dani Swari³⁾, Emanuel Destianus Banggut³⁾**

¹⁾Jurusan Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang

²⁾ Jurusan Manajemen Pertanian Lahan Kering, Politeknik Pertanian Negeri Kupang

³⁾ Jurusan Perikanan dan Kelautan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang,
Jl. Prof. Dr. Herman Yohanes Lasiana Kupang P.O.Box. 1152, Kupang 85011

*e-mail korespondensi: svertygo91@gmail.com

ABSTRAK

Pakan berkualitas memegang peranan vital dalam pemeliharaan ternak. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mencapai tujuan ini adalah dengan menambahkan imbuhan pakan (feed additive) misalnya berupa enzim. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi bagaimana kemampuan katalitik Enzim Keratinase, Lipase dan Selulase dari isolat Actinomyces SD-5 yang berpotensi dikembangkan sebagai imbuhan pakan ternak multienzim. Isolat ini telah diisolasi sebelumnya dari sedimen di kawasan pantai Mangrove Oesapa Barat, Kota Kupang. Uji katalitik dilakukan terhadap enzim Keratin, Lipase dan Selulase yang secara berturut-turut menggunakan media Keratin Agar, media Lipid Agar dan media Carboxymethyl Cellulose (CMC) Agar. Parameter yang diamati adalah terbentuknya zona hidrolitik di sekitar koloni yang tumbuh pada media uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat Actinomyces SD-5 mampu menghasilkan ketiga enzim tersebut yang ditandai dari zona-zona hidrolitik yang terbentuk pada media agar uji. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isolat Actinomyces SD-5 berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai imbuhan pakan multienzim.

Kata kunci: Actinomyces, Keratinase, Lipase, Mangrove, Sedimen, Selulase.

ABSTRACT

Quality feed plays a vital role in livestock maintenance. One approach to achieve this is by adding feed additives, such as enzymes. This study aims to evaluate the catalytic capabilities of Keratinase, Lipase, and Cellulase enzymes from the Actinomyces isolate SD-5, which has the potential to be developed as a multi-enzyme feed additive for livestock. This isolate was previously obtained from sediment in the mangrove coastal area of Oesapa Barat, Kupang City. Catalytic tests were conducted on Keratinase, Lipase, and Cellulase enzymes using Keratin Agar, Lipid Agar, and Carboxymethyl Cellulose (CMC) Agar media, respectively. The observed parameter was the formation of hydrolytic zones around the colonies grown on the test media. The results showed that the Actinomyces isolate SD-5 was capable of producing all three enzymes, as indicated by the hydrolytic zones formed on the test agar media. Thus, it can be concluded that the Actinomyces isolate SD-5 has the potential to be further developed as a multi-enzyme feed additive.

Keywords: Actinomyces, Keratinase, Lipase, Mangrove, Sediment, Cellulase.

PENDAHULUAN

Pakan merupakan segala bahan yang dapat dikonsumsi oleh ternak, dicerna baik sebagian maupun sepenuhnya, serta memberikan manfaat tanpa menyebabkan keracunan (Subekti, 2008). Pakan memegang peranan vital dalam pemeliharaan ternak, di mana biaya pakan sering kali menjadi komponen pengeluaran terbesar dalam usaha peternakan (Wea et al., 2021). Warouw et al., (2014) menjelaskan bahwa biaya pakan menyumbang sekitar 65-80% dari total biaya produksi peternakan. Mengingat tingginya biaya pakan, penting untuk menemukan cara untuk mengurangi pengeluaran sekaligus meningkatkan kualitas pakan. Salah satu pendekatan yang digunakan adalah dengan menambahkan imbuhan pakan (*feed additive*) pada pakan ternak (Djunaidi & Natsir, 2021).

Imbuhan pakan merupakan semua bahan tambahan dalam pakan yang tidak mengandung nutrisi langsung, namun dapat meningkatkan produktivitas, kualitas produk ternak (seperti daging, telur, susu, kulit, bulu), dan efisiensi pakan serta kesehatan ternak (Fadhiila et al., 2022). Imbuhan pakan digunakan untuk berbagai tujuan seperti meningkatkan sistem enzimatik pencernaan, meningkatkan kekebalan tubuh, memiliki sifat antibakteri, antiparasit, antivirus, anti-inflamasi, serta antioksidan (Haris et al., 2021). Salah satu jenis imbuhan pakan yang sering digunakan adalah enzim (Sulistyoningsih et al., 2014).

Enzim merupakan molekul yang diproduksi oleh sel hidup dan berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam organisme (Vertygo, 2021). Studi dari (Selviani et al., 2023) menunjukkan bahwa penambahan multienzim dalam pakan ayam dapat meningkatkan bobot dan kualitas telur. Penelitian lain oleh Nofer et al. (2019) menemukan bahwa penambahan enzim dalam ransum itik dapat meningkatkan konsumsi ransum serta pertambahan bobot badan.

Enzim sering digunakan dalam industri karena ketersediaannya yang melimpah, mudah didapat, dan ekonomis (Yıldız, 2021). Enzim dapat diperoleh juga dari berbagai mikroorganisme, salah satunya yang berasal dari ekosistem Mangrove (Megavitry et al., 2022; Priyadarshini et al., 2016). Berdasarkan aktivitas hidrolitiknya, enzim terbagi menjadi dua jenis, yaitu enzim ekstraseluler

(eksoenzim) yang bekerja di luar sel, dan enzim intraseluler yang bekerja di dalam sel (D. M. Putri et al., 2024). Eksoenzim hidrolitik yang sering digunakan dalam pakan ternak biasanya bersumber dari mikroorganisme, termasuk Actinomycetes, yang diketahui mampu menghasilkan enzim seperti selulase, lipase, dan keratinase (Espersen et al., 2021; Lestari et al., 2018; Ventorino et al., 2016). Ketiga enzim ini termasuk yang paling sering ditambahkan ke dalam pakan sebagai imbuhan yang dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi dan memberikan performa ternak yang lebih baik (Velázquez-De Lucio et al., 2021).

Actinomycetes, kelompok bakteri prokariotik dari kingdom Monera, dikenal mampu menghasilkan berbagai senyawa metabolit, termasuk enzim penting untuk pakan ternak (Aeny et al., 2018). Bakteri ini memiliki sifat pertumbuhan filamen menyerupai hifa dan menghasilkan spora, yang membuatnya tampak mirip dengan jamur (fungi) (Aghamirian & Ghiasian, 2009).

Penelitian sebelumnya telah menyoroti aktivitas hidrolitik Actinomycetes di Kawasan Mangrove (Vertygo et al., 2021b). Di Nusa Tenggara Timur (NTT), kajian yang dilakukan oleh (Vertygo et al., 2021a) berhasil mengisolasi enam isolat Actinomycetes dari sedimen hutan mangrove di pesisir Oesapa Barat, Kupang. Salah satu isolatnya yang diberi label SD-5 memiliki kemampuan katalitik enzim Amilase dan Protease yang cukup tinggi. Oleh karena itu, untuk penelitian ini, uji katalitik dilanjutkan untuk enzim-enzim hidrolitik lainnya yaitu Keratinase, Lipase dan Selulase.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan dari bulan Oktober 2023 sampai bulan Januari 2024, yang bertempat di laboratorium Teknologi Pakan Ternak (TPT), Jurusan Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan dan media yang digunakan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Proses sterilisasi untuk media berlangsung selama 15 menit, sementara peralatan disterilkan selama 30 menit (Tille, 2021).

Purifikasi Isolat

Isolat diambil dari stok secara aseptik menggunakan jarum ose, kemudian ditanam ke dalam media *International Streptomyces Project 2 Agar* (ISP2 Agar). Teknik inokulasi dilakukan menggunakan metode inokulasi titik. Media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27°C selama 3 hari (Vertygo et al., 2021b).

Uji Katalitik Enzim-enzim Hidrolitik

Untuk uji katalitik enzim Keratinase, isolat hasil peremajaan diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada media Keratin Agar. Metode yang digunakan untuk inokulasi adalah inokulasi titik. Setelah inokulasi, media tersebut diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 27°C selama tiga (3) hari. Kemampuan katalitiknya dilihat dari terbentuknya zona keratinolitik berwarna jernih (*clear zone*) di sekitar koloni isolat (Riffel & Brandelli, 2006).

Untuk uji katalitik enzim Lipase, isolat hasil peremajaan diambil secara aseptik menggunakan jarum ose, kemudian ditanam pada media Lipid Agar. Proses inokulasi dilakukan menggunakan metode titik. Media yang telah diinokulasi selanjutnya diinkubasi pada suhu 27°C dalam inkubator selama tiga (3) hari. Kemampuan katalitiknya dilihat dari terbentuknya koloni isolat yang berwarna merah (Pramiadi & Yulianti, 2014).

Untuk uji katalitik enzim Selulase, dengan menggunakan jarum ose, isolat yang telah diremajakan diambil secara aseptik dan kemudian diinokulasikan pada media CMC Agar. Inokulasi dilakukan melalui teknik inokulasi titik dan selanjutnya media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27°C selama tiga (3) hari. Kemampuan katalitik dilihat dari terbentuknya zona selulolitik berwarna bening-kekuningan di sekitar koloni isolat yang tumbuh, setelah ditetesi larutan iodine (Kang & Kim, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Actinomycetes* SD5, yang sebelumnya telah diisolasi dari sedimen mangrove di kawasan hutan mangrove pantai Oesapa Barat, Kota Kupang, Provinsi (NTT). Isolat ini telah diuji kemampuan katalitiknya pada penelitian sebelumnya terhadap enzim Amilase dan Protease dengan hasil yang positif (Vertygo et al., 2021a). Dalam penelitian ini,

isolat Actinomycetes A2 diuji lebih lanjut terhadap enzim-enzim hidrolitik lainnya, yaitu Selulase, Lipase, dan Keratinase.

Uji Katalitik Enzim Keratinase

Hasil uji katalitik enzim Keratinase menunjukkan adanya zona keratinolitik bening di sekitar koloni isolat yang tumbuh, menandakan aktivitas positif enzim tersebut (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa enzim Keratinase diproduksi oleh isolat Actinomycetes A2 dan telah berhasil menghidrolisis substrat keratin pada media Keratin Agar. Media ini awalnya berwarna coklat karena adanya kandungan keratin, namun ketika keratin dipecah oleh enzim, bagian agar yang tersisa menjadi bening (Awad, 2017).



Gambar 1. Uji Katalitik Enzim Keratinase Isolat Actinomycetes SD-5
(Keterangan: A = Kontrol; B = Isolat SD-5)

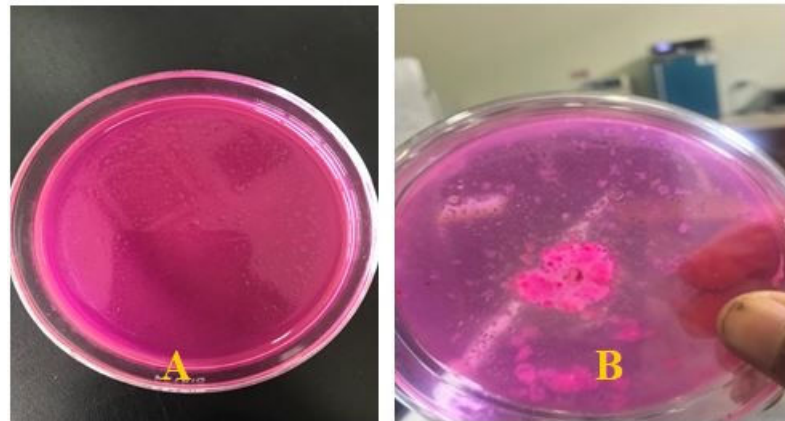
Keratinase adalah sekelompok enzim proteolitik yang mengkatalisis pemecahan ikatan peptida dalam keratin (Samanta et al., 2022). Keratin itu sendiri merupakan protein biopolimer berstruktur kompleks, yang memiliki karakteristik stabilitas dan daya tahan (*durability*) yang tinggi, serta ketahanan (*resistance*) terhadap hidrolisis oleh enzim-enzim proteolitik umum seperti pepsin, tripsin, dan kimotripsin (Guarino et al., 2018). Keratin, yang disintesis dalam sel epitel, merupakan bagian integral dari epidermis dan turunannya, termasuk rambut, wol, bulu, kuku, tanduk, kuku kaki, dan kutikula (Feroz et al., 2020). Dari kelompok mikroorganisme, Actinomycetes (yang terutama berasal dari genus *Streptomyces* dan *Thermoactinomyces*), juga telah diketahui dapat menghasilkan enzim Keratinase (Sypka et al., 2021). Alamoudi et al. (2022), berhasil mengisolasi sebanyak sembilan (9) isolat Actinomycetes yang berasal dari sampel tanah di

lahan peternakan unggas di Jeddah, Arab Saudi yang teramati memiliki kemampuan keratinolitik. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut berada pada takson spesies *Streptomyces rochei* AM8. Di ekosistem perairan laut, Actinomycetes dari genus yang sama juga telah menunjukkan aktivitas keratinolitik, sehingga berpotensi dimanfaatkan dalam pengelolaan limbah peternakan dan sebagai tambahan dalam pakan yang mengandung keratin, seperti tepung bulu ayam (*feather meal*) (Birolli et al., 2019). Spesies Actinomycetes lainnya adalah *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* D2^T yang menunjukkan adanya aktivitas keratinolitik yang sangat tinggi (Espersen et al., 2021).

Penelitian oleh Xu et al. (2022) mengungkapkan bahwa pemberian pakan yang mengandung tepung bulu yang dilengkapi dengan enzim keratinase mampu meningkatkan performa pertumbuhan, kualitas daging, dan status redoks pada ayam pedaging (*broiler*). Pengukuran status/tingkat reduksi-oksidasi (redoks) penting untuk menggambarkan pemeliharaan pensinyalan sel dan adaptasi sel-sel tubuh terhadap stres (Surai et al., 2021). Pada ayam fase *starter*, penambahan enzim ini dalam pakan menghasilkan peningkatan berat badan, konsumsi pakan, serta efisiensi konversi pakan (Odetallah et al., 2003). Sementara itu, pada babi fase *grower*, suplemen enzim ini terbukti meningkatkan pencernaan ileum nyata dan pencernaan ileum standar asam amino dalam pakan yang mengandung bungkil biji kapas, dedak padi serta bungkil kacang tanah (Huang et al., 2018).

Uji Katalitik Enzim Lipase

Uji katalitik enzim lipase menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna koloni isolat menjadi merah (Gambar 2). Perubahan ini mengindikasikan bahwa enzim lipase yang dihasilkan oleh isolat tersebut telah menghidrolisis substrat lemak yang terdapat dalam media Lipid Agar. Proses hidrolisis lemak oleh lipase menghasilkan asam lemak sebagai salah satu produknya. Asam lemak yang diambil oleh isolat ini memiliki afinitas kuat terhadap pewarna indikator Rhodamine-B dalam media. Ikatan antara kedua senyawa tersebut menyebabkan perubahan warna koloni isolat menjadi merah (Jette & Ziomek, 1994).



Gambar 2. Uji Katalitik Enzim Lipase Isolat Actinomycetes SD-5
(Keterangan: A = Kontrol; B = Isolat SD-5)

Kajian oleh Hasan et al. (2024) berhasil mengisolasi Actinomycetes dari Hutan Mangrove Lahan Basah Setiu di Terengganu, Malaysia. Dari 18 isolat yang diperoleh, 17 isolat menunjukkan kemampuan lipolitik, yang berasal dari spesies *Streptomyces* spp. dan *Micromonospora chalybeata*. Penelitian serupa oleh Naligama et al. (2022) menemukan tiga jenis Actinomycetes yang mampu memproduksi enzim Lipase, yang diisolasi dari sedimen Hutan Mangrove di Kadolkele, Sri Lanka. Proses identifikasi menunjukkan bahwa isolat-isolatnya termasuk dalam genus *Streptomyces* spp. Isolasi Actinomycetes yang dilakukan oleh Fadhilah et al. (2018) dari Kawasan ekosistem Mangrove di Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, Jakarta juga menunjukkan bahwa 2 isolat Actinomycetes antibakterinya, dapat pula menghasilkan enzim Lipase. Selain itu, Priyadarshini et al. (2016) mengisolasi Actinomycetes dari tanah di kawasan Hutan Mangrove Bhitarkanika, Pantai Odisha, di India, dan menemukan bahwa salah satu isolatnya, *Streptomyces* sp. BSA-11, juga mampu menghasilkan enzim lipase.

Enzim lipase merupakan salah satu enzim hidrolitik yang sering digunakan dalam pakan ternak. Studi oleh Castro & Kim (2020) menunjukkan bahwa penambahan enzim lipase dalam pakan ayam *broiler* selama periode 1-42 hari mampu mengurangi efek negatif dari pakan rendah protein, energi, dan asam amino, dan menghasilkan performa yang setara dengan pakan yang diformulasikan sesuai standar peternakan. Ahmad et al. (2023) juga melakukan suplementasi lipase dalam pakan rendah energi dan menunjukkan adanya peningkatan performa pertumbuhan dan kualitas daging ayam *broiler*. Selain itu,

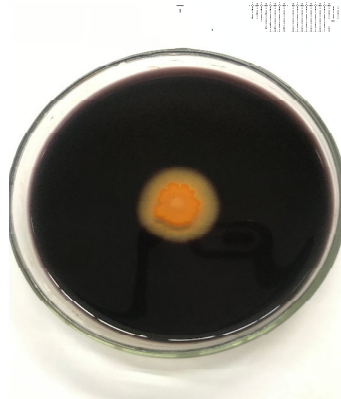
penambahan lipase dapat mengurangi dampak negatif dari diet rendah energi yang diberikan pada ayam broiler. Kajian yang sama yang dilakukan oleh Oliveira et al. (2019) juga menunjukkan bahwa penggunaan lipase dalam pakan menghasilkan peningkatan bobot badan yang lebih tinggi, yang didukung oleh konsumsi pakan yang lebih tinggi pula. Pada babi pasca-sapih, Liu et al. (2018) melaporkan bahwa suplementasi lipase secara signifikan meningkatkan daya cerna nutrien, meningkatkan aktivitas lipase di duodenum dan ileum, serta meningkatkan aktivitas protease di duodenum dan jejunum pada babi yang diberi pakan rendah energi. Suplemen enzim ini juga terbukti menurunkan kadar kolesterol LDL-C, trigliserida (TG), serta produksi NH_3 dalam feses.

Uji Katalitik Enzim Selulase

Uji katalitik enzim selulase menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya zona selulolitik di sekitar koloni isolat yang tumbuh. Zona tersebut tampak bening kekuningan setelah ditetesi larutan Lugol's iodine (Gambar 3). Hal ini menandakan bahwa substrat selulosa (berupa Carboxymethyl cellulose/CMC) yang ada dalam media CMC agar telah dihidrolisis oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat tersebut. Proses hidrolisis menghasilkan monomer glukosa yang digunakan sebagai substrat dalam reaksi metabolik untuk menghasilkan energi (Agustina et al., 2021). Ketika selulosa masih ada, penambahan larutan Lugol's iodine pada media akan menghasilkan warna biru kehitaman. Namun, jika substrat telah terdegradasi, glukosa hasil hidrolisis tidak akan berikatan dengan Lugol's iodine, sehingga warna tidak muncul (Rc et al., 2008).

Berbagai jenis Actinomycetes, telah diketahui memiliki kemampuan selulolitik atau dapat memproduksi enzim selulase. Gayathri & Muralikrishnan (2013) berhasil mengisolasi Actinomycetes endofitik dari akar, batang, dan daun tumbuhan mangrove spesies *Rhizophora apiculata* dan *Avicennia marina*. Dari hasil isolasi tersebut, mereka mendapatkan enam isolat yang memiliki kemampuan selulolitik, yang berasal dari genus *Streptomyces* spp. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vyas et al. (2020), yang menemukan bahwa keenam isolat Actinomycetes endofitik yang mereka isolasi mampu mendegradasi selulosa, ditunjukkan oleh aktivitas enzim Fpase (Filter Paperase), Endoglucanase dan β -glucosidase (Cellobiase). Selain itu, penelitian oleh (Putri & Setiawan, 2019)

yang mengisolasi Actinomycetes dari tanah di daerah Mamasa, Sulawesi Barat, menunjukkan bahwa isolat Actinomycetes selulolitik yang berhasil diisolasi berasal dari genus-genus *Asanoa*, *Streptomyces*, *Kitasatospora*, *Dactylosporangium*, *Streptosporangium* dan *Nonomurae*.



Gambar 3. Uji Katalitik Enzim Selulase Isolat Actinomycetes SD-5

Enzim adalah molekul protein yang berfungsi sebagai biokatalisator (Hikmah et al., 2022). Sejak awal abad ke-20, enzim telah digunakan dalam pakan ternak (Anoop Kumar et al., 2019). Pemberian pakan yang mengandung enzim selulase pada kambing perah telah menunjukkan peningkatan kepadatan serta jumlah produksi air susu (Rojo et al., 2015). Pada pakan lengkap yang berbasis batang pisang yang difermentasi dengan suplementasi enzim selulase pada tingkat yang berbeda juga memberikan pengaruh signifikan pada peningkatan konsumsi bahan kering dan bahan organik pada sapi Bali yang digemukakan (Sobang et al., 2024). Penggunaan enzim selulase juga terbukti meningkatkan aktivitas enzimatik di dalam rumen (Febriyani et al., 2024). Pada kambing yang sedang laktasi, suplementasi pakannya dengan enzim selulase terlihat meningkatkan hasil susu dan profil asam lemak keju, tanpa memberikan dampak negatif pada kesehatan kambing perah, komposisi susu, dan sifat keju lunak yang dihasilkan (Sayed et al., 2015).

Pentingnya penambahan enzim hidrolitik dalam pakan ternak, semakin menegaskan potensi isolat Actinomycetes SD-5 untuk dikembangkan sebagai imbuhan pakan multienzim. Penggunaan isolat ini dapat memberikan manfaat besar bagi industri peternakan, terutama di wilayah-wilayah dengan keterbatasan akses terhadap pakan berkualitas, seperti daerah pedesaan ataupun wilayah tropis. Sumber daya pakan lokal yang melimpah namun sulit dicerna dapat

dioptimalkan dengan adanya enzim-enzim ini. Selain itu, pengembangan imbuhan pakan dari isolat SD-5 juga berperan dalam pengelolaan limbah pakan, karena kemampuannya untuk menguraikan bahan-bahan yang sulit tercerna seperti keratin dari bulu unggas dan protein dari bungkil menjadi nutrisi yang lebih mudah diserap (Gunawan et al., 2024). Dengan demikian, penggunaan enzim-enzim tersebut tidak hanya meningkatkan performa ternak, seperti peningkatan berat badan dan produksi susu, tetapi juga dapat mengurangi emisi gas amonia dari kotoran, sehingga menurunkan dampak lingkungan dari kegiatan peternakan. Dalam jangka panjang, pengembangan imbuhan pakan berbasis Actinomycetes SD-5 dapat membuka peluang inovasi baru dalam industri pakan ternak, menciptakan produk yang lebih ramah lingkungan, hemat biaya, serta turut mendukung keberlanjutan peternakan global.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah disampaikan, dapat disimpulkan bahwa isolat Actinomycetes SD-5 yang diisolasi dari sedimen Mangrove di kawasan Hutan Mangrove Oesapa, Kota Kupang, provinsi NTT, memiliki kemampuan menghasilkan enzim Selulase, Lipase, dan Keratinase. Oleh karena itu, isolat ini berpotensi semakin besar untuk dikembangkan sebagai imbuhan pakan ternak multienzim (*multienzyme feed additive*).

DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, T. N., Prasetyo, J., Suharjo, R., Dirmawati, S. R., Efri, E., & Niswati, A. (2018). Short Communication: Isolation and identification of actinomycetes potential as the antagonist of *Dickeya zeae* pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(6), Article 6. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190610>
- Aghamirian, M. R., & Ghiasian, S. A. (2009). Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of iran (2006—2007). *The Open Microbiology Journal*, 3, 53–57. <https://doi.org/10.2174/1874285800903010053>
- Agustina, D. K., Zen, S., Sahrir, D. C., Fadhila, F., Zuyasna, Z., Vertygo, S., Mago, O. Y. T., Ruhardi, A., Arianto, S., & Khariri, K. (2021). *Teori Biologi Sel*. Yayasan Penerbit Muhammad Zaini.
-

- Ahmad, A., Mughal, G. A., Abro, R., Bughio, S., Rizwana, H., Leghari, I. H., & Pirzado, S. A. (2023). Effect of Lipase and Lysolecithin Supplementation with Low Energy Diet on Growth Performance, Biochemical Attributes and Fatty Acid Profile of Breast Muscle of Broiler Chickens. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13(4), 737. <https://doi.org/10.3390/ani13040737>
- Alamoudi, S., Khalel, A., Alghamdi, M., Alshehri, W., Alsubeihi, G., Alsolmy, S., & Hakeem, M. (2022). Isolation, identification and characterization of keratin-degrading streptomyces rochei aM8. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.3.58>
- Anoop Kumar, V., Suresh Chandra Kurup, R., Snishamol, C., & Nagendra Prabhu, G. (2019). *Role of Cellulases in Food, Feed, and Beverage Industries*. 323–343. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3263-0_17
- Awad, M. (2017). Mycoflora associated with the goat's hair and sheep wool in Taif, Saudi Arabia. *African Journal of Microbiology Research*, 11, 458–465. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017-8462>
- Birolli, W. G., Lima, R. N., & Porto, A. L. M. (2019). Applications of marine-derived microorganisms and their enzymes in biocatalysis and biotransformation, the underexplored potentials. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01453>
- Djunaidi, I. H., & Natsir, M. H. (2021). *Pengaruh penambahan pakan imbuhan ayam petelur "ub feed" terhadap performan produksi ayam petelur menjelang afkir*. Universitas Brawijaya.
- Espersen, R., Huang, Y., Falco, F. C., Häggglund, P., Gernaey, K. V., Lange, L., & Svensson, B. (2021). Exceptionally rich keratinolytic enzyme profile found in the rare actinomycetes *Amycolatopsis keratiniphila* D2T. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(21), 8129–8138. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11579-2>
- Fadhiila, M. R., Tugiyanti, E., & Susanti, E. (2022). Pengaruh pemberian feed additive sebagai pengganti antibiotik terhadap bobot relatif hati dan ginjal ayam broiler. *Agrinimal Jurnal Ilmu Ternak Dan Tanaman*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.30598/ajitt.2022.10.2.51-58>
- Fadhilah, Q. G., Santoso, I., & Yasman, Y. (2018). Isolation and screening antibacterial activity of actinomycetes from mangrove ecosystem, Pramuka Island, Kepulauan Seribu, Jakarta, Indonesia: 3rd International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences 2017, ISCPMS 2017. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences 2017, ISCPMS 2017*. <https://doi.org/10.1063/1.5064116>
- Febriyani, W., Jayanegara, A., Diapari, D., & Hassim, H. A. (2024). Effect of cellulase supplementation on In Vitro Rumen fermentation and digestion
-

- of rice straw: A meta-analysis. *AIP Conference Proceedings*, 3132(1), 040010. <https://doi.org/10.1063/5.0213532>
 - Feroz, S., Muhammad, N., Ranayake, J., & Dias, G. (2020). Keratin—Based materials for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 5(3), 496. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.04.007>
 - Gayathri, P., & Muralikrishnan, V. (2013). Isolation and characterization of Endophytic Actinomycetes from mangrove plant for antimicrobial activity. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(11), 78–89.
 - Guarino, V., Benfenati, V., Cruz-Maya, I., Saracino, E., Zamboni, R., & Ambrosio, L. (2018). 2—Instructive proteins for tissue regeneration. In Y. Deng & J. Kuiper (Eds.), *Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds* (pp. 23–49). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100979-6.00002-1>
 - Gunawan, S., Permana, I., Hutabarat, A., Sari, D., Nurtanti, I., Azis, A., Wijayanti, D., & Vertygo, S. (2024). *Pengelolaan Limbah Peternakan*. Get Press Indonesia. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=5vokahcAAAAJ&cstart=20&pagesize=80&citation_for_view=5vokahcAAAAJ:HDshCWvjkbEC&gmla=ALUCkoV5DtnLAAIp1HkBrW48xxxB5nYuf1cq3nmmf65XBIXDyh2Warvzp8LNUopQbnD3i0hOgrJc6CwGLCHom-JP&sciund=13243409765261165285
 - Haris, R. S. W., Mujnisa, A., & Jamilah. (2021). Uji daya hambat antibakteri black garlic sebagai alternatif feed additive pada pakan unggas. *Buletin Nutrisi Dan Makanan Ternak*, 15(1), Article 1. <https://doi.org/10.20956/bnmt.v15i1.14463>
 - Hasan, N. H. N., Abdullah, M. D. D., & Saidin, J. B. (2024). Antimicrobial and enzymatic activities of mangrove-associated actinomycetes. *Malaysian Applied Biology*, 53(3), Article 3. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v53i3.2864>
 - Hikmah, A., Luthfianto, D., Silitonga, M., Vertygo, S., Rita, R., Gultom, E., Ulfah, M., & Tika, I. (2022). *Buku Ajar Biokimia Teori dan Aplikasi*. CV. Feniks Muda Sejahtera. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=id&user=KOPyJbAAAAAJ&citation_for_view=KOPyJbAAAAAJ:zUI2_INM1C4C
 - Huang, C., Ma, D., Zang, J., Zhang, B., Sun, B., Liu, L., & Zhang, S. (2018). Effect of keratinase on ileal amino acid digestibility in five feedstuffs fed to growing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(12), 1946–1955. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0815>
 - Jette, J. F., & Ziomek, E. (1994). Determination of lipase activity by a rhodamine-triglyceride-agarose assay. *Analytical Biochemistry*, 219(2), 256–260. <https://doi.org/10.1006/abio.1994.1265>
-

- Kang, K. H., & Kim, J. (2015). Degradation characteristics of a novel multi-enzyme-possessing bacillus licheniformis tk3-y strain for the treatment of high-salinity fish wastes and green seaweeds. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 349–357. <https://doi.org/10.5657/FAS.2015.0349>
- Lestari, Y., Wirawan, B., Budiarti, S., & Rahminiwati, M. (2018). Lipase activity of endophytic actinobacteria from medicinal plants. *HAYATI Journal of Biosciences*, 25, 1–5. <https://doi.org/10.4308/hjb.25.1.1>
- Megavitry, R., Ernawati, A., Ujiani, Z. D., Hariati, E., Vertygo, S., & Kaswi, N. (2022). *Mikrobiologi*. Tahta Media Group.
- Nofer, N., Lisna, L., & Damayanti, Y. (2019). Penggunaan tepung azolla microphilla dan enzim selulase dalam ransum terhadap penampilan produksi dan nilai ekonomis itik lokal kerinci jantan. *Pastura*, 8, 20. <https://doi.org/10.24843/Pastura.2018.v08.i01.p05>
- Odetallah, N., Wang, J., Garlich, J., & Shih, J. (2003). Keratinase in starter diets improves growth of broiler chicks. *Poultry Science*, 82, 664–670. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.664>
- Oliveira, L., Balbino, E., Silva, T., Ily, L., Rocha, T., Strada, E., Pinheiro, A., & Brito, J. (2019). Use of emulsifier and lipase in feeds for broiler chickens. *Semina: Ciências Agrárias*, 40, 3181. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl2p3181>
- Pramiadi, D., & Yulianti, E. (2014). *Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi*. 11.
- Priyadarshini, A., Singdevsachan, S. K., Tripathy, S. K., Mohanta, Y. K., Patra, J. K., & Sethi, B. K. (2016). Isolation and identification of actinomycetes from mangrove soil and extraction of secondary metabolites for antibacterial activity. *Biotechnology Journal International*, 12(2)-12(2). <https://doi.org/10.9734/BBJ/2016/24102>
- Putri, A. L., & Setiawan, R. (2019). Isolation and screening of actinomycetes producing cellulase and xylanase from Mamasa soil, West Sulawesi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 308(1), 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/308/1/012035>
- Putri, D. M., Ristiani, L., & Hasanah, Q. (2024). Peran Enzim dalam proses metabolisme menurut al-quran dan hadist. *ISTISYFA: Journal of Islamic Guidance and Counseling*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.29300/istisyfa.v2i1.2427>
- Rc, K., R, S., H, D., S, D., & A, G. (2008). A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using gram's iodine. *Current Microbiology*, 57(5). <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9276-8>
- Rojo, R., Kholif, A. E., Salem, A. Z. M., Elghandour, M. M. Y., Odongo, N. E., Oca, R.
-

- M. D., Rivero, N., & Alonso, M. U. (2015). Influence of cellulase addition to dairy goat diets on digestion and fermentation, milk production and fatty acid content. *The Journal of Agricultural Science*, 153(8), 1514–1523. <https://doi.org/10.1017/S0021859615000775>
 - Samanta, D., Govil, T., Saxena, P., Thakur, P., Narayanan, A., & Sani, R. K. (2022). Chapter 1—Extremozymes and their applications. In N. K. Arora, S. Agnihotri, & J. Mishra (Eds.), *Extremozymes and Their Industrial Applications* (pp. 1–39). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90274-8.00005-8>
 - Sayed, A., El-Senaity, M., Kholif, A., Sayed, A. F., El-Aziz, M., & A. M. Abd El-Gawad, M. (2015). Effect of diet supplemented with cellulase enzymes on lactating goats performance, and milk and cheese properties. *Life Science Journal*, 12, 1097–8135.
 - Selviani, S., Hatta, U., Adjis, A., Sugiarto, S., & Tantu, R. Y. (2023). Kualitas telur ayam ras yang diberi pakan mengandung multi enzim. *Jurnal Ilmiah AgriSains*, 24(1), Article 1. <https://doi.org/10.22487/jiagrisains.v24i1.2023.25-32>
 - Sobang, Y. U. L., Paulus, C. A., Pau, S. P. N., & Samba, F. D. (2024). Exogenous Cellulase enzyme supplementation in complete feed based on fermentation of banana stems for nutritional consumption of beef cattle. *International Journal of Current Science Research and Review*. <https://doi.org/10.47191/ijcsrr/v7-i9-56>
 - Subekti, E. (2008). Peranan bidang peternakan dalam upaya meningkatkan kesejahteraan rakyat. *Mediagro*, 4(2), 150773. <https://doi.org/10.31942/md.v4i2.544>
 - Sulistyoningasih, M., Dzakiy, M. A., & Nurwahyunani -, A. (2014). Optimalisasi feed additive herbal terhadap bobot badan, lemak abdominal dan glukosa darah ayam broiler. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 3(2, Oktober), Article 2, Oktober. <https://doi.org/10.26877/bioma.v3i2>
 - Surai, P. F., Kochish, I. I., & Kidd, M. T. (2021). Redox homeostasis in poultry: regulatory roles of NF-κB. *Antioxidants*, 10(2), 186. <https://doi.org/10.3390/antiox10020186>
 - Sypka, M., Jodłowska, I., & Białkowska, A. M. (2021). Keratinases as Versatile Enzymatic Tools for Sustainable Development. *Biomolecules*, 11(12), 1900. <https://doi.org/10.3390/biom11121900>
 - Tille, P. M. (2021). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Elsevier Health Sciences.
 - Velázquez-De Lucio, B. S., Hernández-Domínguez, E. M., Villa-García, M., Díaz-Godínez, G., Mandujano-Gonzalez, V., Mendoza-Mendoza, B., & Álvarez-Cervantes, J. (2021). Exogenous enzymes as zootechnical additives in animal feed: a review. *Catalysts*, 11(7), Article 7.
-

<https://doi.org/10.3390/catal11070851>

- Ventorino, V., Ionata, E., Birolo, L., Montella, S., Marcolongo, L., de Chiaro, A., Espresso, F., Faraco, V., & Pepe, O. (2016). Lignocellulose-Adapted endo-cellulase producing streptomyces strains for bioconversion of cellulose-based materials. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2061. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02061>
- Vertygo, S. (2021). *Biologi Dasar I: Untuk Teknologi Pakan Ternak*. Syiah Kuala University Press. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=5vokahcAAAAJ&cstart=20&pagesize=80&citation_for_view=5vokahcAAAAJ:hqOjcs7Dif8C
- Vertygo, S., Tang, B. Y., Pahnuel, G., & Salih, S. (2021a). Isolation of six marine actinomycetes from mangrove sediment of oesapa beach and screening for hydrolytic exoenzymes as feed additives. *Partner*, 26(2), Article 2. <https://doi.org/10.35726/jp.v26i2.535>
- Vertygo, S., Tang, B. Y., Pahnuel, G., & Salih, S. (2021b). Screening of enzyme-producing marine actinomycetes derived from mangrove litters of oesapa beach, kupang. *Prosiding Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian*, 4(1), Article 1.
- Vyas, M., Das, M., & Kumar, R. R. (2020). *Screening of endophytic actinomycetes for cellulose degradation*. <http://10.9.150.37:8080/dspace/handle/atmiyauni/888>
- Warouw, Z. M., Panelewen, V. V. J., & Mirah, A. D. P. (2014). Analisis usaha peternakan babi pada perusahaan “kasewean” kakaskasen ii kota tomohon. *ZOOTEC*, 34(1), Article 1. <https://doi.org/10.35792/zot.34.1.2014.3875>
- Wea, R., Ninu, A. Y., & Koten, B. B. (2021). Harga dan estimasi nilai ekonomis pakan cair yang mengandung persentase biji asam berbeda. *Jurnal Kajian Veteriner*, 9(3), 135–141. <https://doi.org/10.35508/jkv.v9i3.4820>
- Xu, K.-L., Gong, G.-X., Liu, M., Yang, L., Xu, Z.-J., Gao, S., Xiao, M.-Y., Ren, T., Zhao, B.-J., Khalil, M. M., Zhao, L., & Sun, L.-H. (2022). Keratinase improves the growth performance; meat quality and redox status of broiler chickens fed a diet containing feather meal. *Poultry Science*, 101(6), 101913. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101913>
- Yıldız, D. (2021, August 12). *Use of enzymes in animal feeds and market dynamics*. Feed & Additive Magazine. <https://www.feedandadditive.com/use-of-enzymes-in-animal-feeds-and-market-dynamics/>