

JRL	Vol.8	No.1	Hal. 59 - 66	Jakarta, Maret 2012	ISSN : 2085.3866 No.376/AU1/P2MBI/07/2011
-----	-------	------	--------------	------------------------	--

PROTEASE DARI *Bacillus* sp. SEBAGAI PENDEGRADASI BULU AYAM UNTUK PEMBUATAN TEPUNG BULU

Siswa Setyahadi dan Puji Rahayu

Bidang Teknologi Produksi Biokatalis, Pusat Teknologi Bioindustri
Deputi Bidang Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi-BPPT
Gedung BPPT 2 lantai 15, Jl. MH. Thamrin no. 8, Jakarta-10340,
Email: siswa59@yahoo.com

Abstrak

Bulu ayam adalah sumber protein yang signifikan untuk ternak karena kandungan protein yang tinggi dan mengandung sistin dalam jumlah besar, glisin, arginin, dan fenilalanin. Bulu ayam yang belum dihidrolisis, sangat sulit dicerna oleh hewan nonruminant karena mengandung keratin yang tinggi. Bulu ayam baku harus dihidrolisis untuk digunakan sebagai pakan bahan untuk spesies nonruminant. Pengolahan bulu melalui biofermentasi akan menyebabkan perombakan struktur jaringan, pemutusan ikatan disulfida, ikatan hidrogen dan penurunan kadar keratin. Salah satu pengolahan bulu ayam menjadi tepung bulu adalah dengan memanfaatkan protease spesifik yang mendegradasi keratin. *Bacillus* sp. yang telah diisolasi dari kawah putih, Ciwidey, Bandung merupakan bakteri penghasil protease. Fermentasi dengan menggunakan media yang mengandung : 2,8% (b/v) Glukosa, 0,5% (b/v) Urea dan 0,005% (b/v) *Yeast extract* dengan kondisi proses yang dilakukan pada pH 7,5; temperatur 37 °C; inkubator kocok 150 rpm akan menghasilkan aktivitas 121 U/ml dan kandungan proteinnya 6,65 mg/ml pada jam ke 36. Tepung bulu hasil hidrolisis perlu diuji (kecernaan pepsin) untuk memastikan bahwa telah diproses dengan benar. Bulu ayam yang didapatkan dari tempat pemotongan ayam di daerah Bogor setelah dihidrolisis dengan protease dari *Bacillus* sp. menghasilkan tepung bulu yang mempunyai pepsin cerna 67,4%.
kata kunci : tepung bulu ayam, protease, fermentasi, *Bacillus* sp.

PROTEASE FROM *Bacillus* sp. AS A DEGRADING CHICKEN FEATHER FOR PRODUCING FEATHER MEAL

Abstract

Chicken feathers are a significant source of protein for livestock because of high protein content and contain large amounts of cystine, glycine, arginine, and phenylalanine. Chicken feathers are not hydrolyzed, it is very difficult to digest by nonruminant animals because they contain high keratin. Hydrolyzed chicken feathers are not very difficult to digest by nonruminant animals because they contain high keratin. Raw chicken feathers must be hydrolyzed to be used as a feed ingredient for nonruminant species. Processing through bio-fermentation of chicken feathers would lead to overhaul the structure of the network, termination of disulfide bonds, hydrogen bonds and decreased levels of keratin. One of the processing of chicken feathers into feather meal is to utilize the specific proteases that degrade keratin. Bacillus sp. which has been isolated from Kawah Putih crater, Ciwidey, Bandung is a protease-producing bacterium. Fermentation using a medium containing: 2.8% (w / v) glucose, 0.5% (w / v) urea and 0.005% (w / v) yeast extract with the conditions of the process carried out at pH 7.5; temperature 37 °C; shaker incubator 150 rpm will produce protease with the activity of 121 U / ml and protein content 6.65 mg / ml in 36 hours. Hydrolysis of chicken feather needs to be pepsin digestibility tested to ensure that it has been processed correctly. Chicken feathers was obtained from slaughterhouses in Bogor. Pepsin digestibility of feather meal after hydrolyzed by proteases from Bacillus sp. is 67.4%.

Keywords: feather meal, protease, fermentation, *Bacillus* sp.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri perunggasan di Indonesia tumbuh pesat, bahkan sudah bisa memenuhi kebutuhan masyarakat akan daging dan telur ayam, atau telah berswasembada produk unggas. Produksi telur dan daging ayam bahkan bisa lebih ditingkatkan lagi, namun konsumsi masyarakat untuk daging ayam saat ini masih terbilang rendah yaitu baru mencapai 7 kg/kapita/tahun. Sedangkan telur, baru mencapai 87 butir telur per kapita per tahun. Negara tetangga seperti Malaysia dan Singapura konsumsi akan daging ayam 36kg per kapita per tahun dan 311 butir telur per kapita per tahun.

Dengan pendapatan per kapita masyarakat Indonesia saat ini yang telah menginjak angka 3000 US Dollar, mestinya konsumsi produk protein hewani, utamanya yang berasal dari ayam dapat lebih tinggi dari yang sekarang. (Livestock, 2011). Dengan kenaikan kebutuhan akan daging ayam dan melonjaknya harga pakan ternak, perlu dipikirkan pemanfaatan limbah bulu ayam untuk kebutuhan pakan unggas khususnya ayam.

Bulu ayam mengandung lebih dari 90% protein, komponen utamanya adalah keratin, sebuah protein berserat dan tidak larut yang sangat *cross-linked* dengan disulfida dan ikatan lainnya. Pada ayam dewasa, berat bulu ayam mencapai 5 hingga 7% dari berat ayam dewasa hidup.

Di seluruh dunia, beberapa juta ton bulu yang dihasilkan setiap tahun sebagai limbah oleh industri pengolahan unggas. Mengingat kandungan protein tinggi, limbah bulu ayam ini bisa memiliki potensi besar sebagai sumber protein dan asam amino untuk pakan ternak dan untuk aplikasi lainnya. Limbah bulu ayam yang tidak bermanfaat dapat terdegradasi oleh protease spesifik seperti keratinase (Onifade, dkk., 1991). Produksi protease dapat dihasilkan dari *saprophytic* dan *dermatophytik* jamur, *actinomyces* dan beberapa spesies *Bacillus* (Bockle, dkk., 1997, Friedrich, dkk., 1994, Lin,

dkk., 1992, Takami, dkk., 1999). Hidrolisis bulu ayam oleh mikroorganisme memiliki aktivitas proteolytic yang merupakan alternatif metode yang menarik untuk meningkatkan nilai gizi pakan ternak (Wawrzkievicz, dkk., 1991, Bertsch, dkk., 2005). Protease juga bisa memainkan peranan penting dalam aplikasi bioteknologi seperti perontokan rambut dan bulu di industri kulit dan unggas, penguraian aerobik limbah unggas untuk menghasilkan gas, di tekstil industri untuk meningkatkan *shrink proofing wool* dan untuk membersihkan hambatan dalam sistem pembuangan limbah selama pengolahan air limbah (Brandelli, dkk., 2008).

1.2 Tujuan

Pada penelitian ini dilakukan proses pengolahan limbah bulu ayam dengan menggunakan enzim yang dihasilkan dari isolat *Bacillus* sp. Untuk menjadi tepung bulu sebagai tepung bulu

II. BAHAN DAN METODA

2.1 Bahan

1) Bulu ayam

Bulu ayam didapatkan dari tempat pemotongan ayam, industri pengolahan daging ayam yang ada di Bogor, Jawa Barat

2) Mikroba

Mikroba yang digunakan untuk menghasilkan enzim protease adalah isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari kawah putih, Ciwidey, Bandung. Isolat tersebut disimpan di suhu -80°C pada gliserol 10% (v/v) sebagai kultur simpan.

Inokulum, di-subkultur selama 16-24 jam pada media *Luria-Bertani* (LB), diinkubasi pada suhu 37°C, sampai diperoleh jumlah sel 107-109 CFU/ml.

3) Perhitungan jumlah bakteri pada ekstrak kasar.

Penghitungan jumlah bakteri *B. licheniformis* F11.1 menggunakan metode hitungan mikroskopik langsung (*direct*

microscopic count) dengan bantuan *haemocytometer*. Pada metode ini, sampel diletakkan pada suatu ruang hitung dan jumlah bakteri dapat dihitung langsung dengan bantuan mikroskop.

Ruang hitung pada *haemocytometer* terdiri atas 9 kotak besar dengan luas 1 mm². Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang x lebar = 0,2 x 0,2 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Kedalaman ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut, sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui.

4) Media fermentasi

Komposisi media fermentasi untuk proses pembuatan ekstrak kasar enzim protease oleh *Bacillus* sp. pada proses *batch* adalah: 2,8% (b/v) Glukosa, 0,5% (b/v) Urea dan 0,005% (b/v) *Yeast extract*. Kondisi proses dilakukan pada pH 7,5; temperatur 37°C; dengan inkubator kocok 150 rpm.

2.2 Metode

1) Proses pengolahan bulu ayam

Pengolahan bulu ayam menjadi tepung bulu yang dilakukan pada skala laboratorium melalui dua perlakuan yang dilakukan, yang pertama bulu ayam ditambahkan protease kemudian dipanaskan. Yang kedua adalah dengan memanaskan terlebih dahulu bulu ayam selanjutnya ditambahkan protease. Pemanasan dilakukan pada suhu 60°C selama 30 menit. Campuran antara bulu ayam dengan protease dipanaskan di *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Produk yang didapatkan dikeringkan di alat pengering selama 24 jam dan di grinder.

2) Analisa pepsin cerna

Hasil tepung bulu diperiksa di bagian ilmu dan teknologi pakan, Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pakan, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

3) Analisa protein ekstrak kasar protease

Kadar protein protease diukur dengan metode Lowry (Lowry dkk, 1954) yang dimodifikasi. Filtrat protein sebanyak 30 l direaksikan dengan 270 l larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*), dan 3 ml larutan Lowry, ditambahkan 100 ml reagen Folin-Ciocalteus, ukur absorbansi pada 750 nm.

4) Analisa aktivitas protease

Aktivitas selulase diukur dengan metode Amano (Anonimus, 1985) pada suhu 37°C selama 15 menit, absorbansi diukur pada 660 nm. Satu unit protease (U/mL) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan asam-asam amino dan *peptide positif-Follin* yang sesuai dengan 1µg Tirosin per menit pada suhu 37°C.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

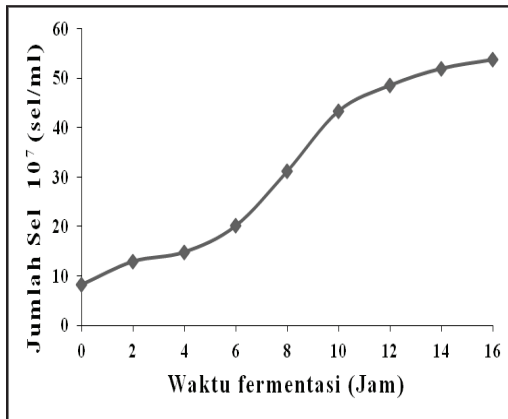
Fermentasi untuk menghasilkan protease dilakukan secara sistem *batch* pada erlenmeyer 250 ml pada 150 rpm dan suhu 37°C. Langkah awal untuk pembuatan protease, yaitu dengan melakukan regenerasi *Bacillus* sp. yang diambil dari kultur stok yang disimpan di Koleksi Kultur BPPT. Media yang digunakan adalah media Luria Bertani (LB) sebanyak 10 ml dengan komposisi 1% bacto pepton (b/v); 0,5% ekstrak khamir (b/v); dan 0,5% NaCl (b/v). Media tersebut diinokulasi dengan *Bacillus* sp. dan diinkubasi selama 6 jam dengan 150 rpm pada suhu 37°C.

Regenerasi *Bacillus* sp. yang telah didapatkan selanjutnya digunakan untuk pembuatan *starter* dengan media LB untuk mengadaptasikan *Bacillus* sp. agar siap untuk ditumbuhkan dalam media fermentasi untuk memproduksi protease. Banyaknya volume *starter* yang dibutuhkan adalah 10% dari volume fermentor.

Starter yang didapatkan dimasukkan kedalam media fermentasi yang mempunyai komposisi: 2,8% (b/v) glukosa, 0,5% (b/v) urea dan 0,005% (b/v) *yeast extract*. Kondisi proses dilakukan pada pH 7; temperatur

37°C; dengan inkubator kocok 150 rpm. Proses fermentasi dijaga pada pH 7.

Jumlah sel pada bakteri *Bacillus* sp. terjadi antara jam ke 2 sampai jam ke 12 dan yang mengalami kenaikan paling cepat terjadi pada jam ke 6 hingga jam ke 10 (Gambar 1). Jumlah bakteri tertinggi mencapai $53,7 \times 10^7$ saat jam ke 16.

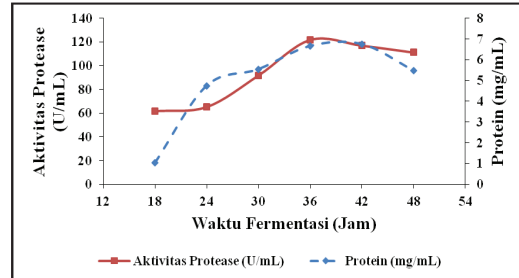


Gambar 1. Jumlah sel *Bacillus* sp. pada media fermentasi

Fase stasioner pada pertumbuhan bakteri terjadi setelah jam ke 12. Pada fase ini jumlah bakteri hidup seimbang dengan jumlah bakteri yang mati. Selanjutnya, setelah jam ke 16 waktu fermentasi *Bacillus* sp. mengalami fase kematian. Adanya fase kematian pada pertumbuhan bakteri, terjadi karena ketersediaan glukosa semakin berkurang dan jumlah bakteri yang mati lebih banyak dari pada yang hidup.

Penentuan aktivitas protease pada deproteinasi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas atau kemampuan enzim protease untuk menghidrolisis ikatan peptida dari protein yang terdapat pada media fermentasi. Aktivitas protease ditunjukkan pada Gambar 2.

Pada awal terjadinya proses hidrolisis (jam ke 18) aktivitas protease mencapai 61,8 U/ml. Hasil tersebut disebabkan oleh pertumbuhan bakteri belum optimal, sehingga kemampuan mikroba untuk menghasilkan enzim protease masih rendah.



Gambar 2. Aktivitas protease dan protein yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. pada media fermentasi

Peningkatan aktivitas protease mulai bertambah saat pertumbuhan bakteri memasuki fase stasioner sampai awal fase kematian. Hasil tersebut menggambarkan bahwa, enzim protease merupakan metabolit sekunder (Fleming dkk., 1995). Metabolit sekunder adalah suatu produk yang dihasilkan secara maksimal oleh mikroba ketika mikroba tersebut mengalami kondisi lingkungan tidak kondusif untuk kelangsungan hidupnya.

Jumlah bakteri mempengaruhi hasil aktivitas protease dalam media fermentasi. Aktivitas protease pada jam ke 36 jam mencapai aktivitas tertinggi (121 U/ml) dengan kandungan proteinnya 6,65 mg/ml sedangkan pada jam ke 42 mengalami penurunan aktivitas protease yang dihasilkan.

Enzim protease yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. selama proses fermentasi bersifat ekstraseluler, dimana enzim tersebut diproduksi di dalam sel, kemudian dilepaskan keluar dari sel. Berdasarkan lokasi hidrolisis ikatan peptida, enzim protease bekerja secara endopeptidase. Endopeptidase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan peptida pada bagian dalam rantai polipeptida (Waldeck dkk., 2006).

Penggunaan tepung bulu ayam dalam ransum untuk ternak yang menjadikan kendala utamanya adalah rendahnya daya cerna protein bulu. Hal tersebut disebabkan sebagian besar kandungan protein kasar berbentuk keratin (Indah, 1993). Dalam saluran pencernaan, keratin tidak dapat

dirombak menjadi protein tercerna sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh ternak. Agar dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan, bulu ayam harus diberi perlakuan, dengan memecah ikatan sulfur dari sistin dalam bulu ayam tersebut.

Kandungan protein kasar bulu ayam lebih tinggi dari kandungan protein kasar bungkil kedelai (42,5%) dan tepung ikan yang hanya mencapai 66,2%, yang umumnya dipergunakan sebagai komponen utama sumber protein dalam konsentrat/ransum. Namun demikian kandungan protein kasar yang tinggi tersebut belum disertai dengan nilai biologis yang tinggi. Tingkat kecernaan bahan kering dan bahan organik bulu ayam secara *in vitro* masing-masing hanya sebesar 5,8% dan 0,7%. Rendahnya nilai kecernaan tersebut disebabkan bulu ayam tergolong dalam protein fibrous/serat. Oleh karena itu, diperlukan sentuhan teknologi, agar kualitas protein tercerna bulu ayam dapat ditingkatkan. Keunggulan penggunaan tepung bulu ayam untuk ternak ruminansia adalah adanya sejumlah protein yang tahan terhadap perombakan oleh mikroorganisme rumen (*rumen undegradable protein/RUP*), namun mampu diurai secara enzimatik pada saluran pencernaan pascarumen. Nilai RUP tersebut berkisar antara 53-88%, sementara nilai kecernaan dalam rumen berkisar 12-46%.

Pengolahan tepung bulu ayam dapat dilakukan dengan empat cara, yaitu; pertama dengan perlakuan fisik dengan temperatur dan tekanan ("*autoclave*"); kedua dengan perlakuan kimia dengan asam dan basa (NaOH, HCl); yang ketiga perlakuan enzim (Papadopoulos dkk., 1985); sedangkan yang keempat adalah fermentasi dengan mikroorganisme (William dkk., 1991). Teknik hidrolisis bulu ayam yang telah banyak dilakukan yaitu dengan asam alkali. Selain itu penggunaan tekanan dan suhu tinggi juga telah digunakan, khususnya pada skala industri yaitu menggunakan tekanan sebesar 3 Bar, suhu 105 °C selama 8 jam dengan kelembaban 8-10%, kadar air 40%,

dan ini akan menghasilkan tepung bulu ayam dengan kadar protein 76%, akan tetapi teknik ini membutuhkan biaya mahal dan kualitas protein bulu ayam menurun karena terdenaturasi akibat suhu tinggi.

Pengolahan bulu ayam menjadi tepung bulu ayam yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan *autoclave*. Bulu ayam yang didapatkan dari tempat pemotongan ayam (TPA) yang ada di Bogor sebanyak 300 gram ditambahkan protease sebanyak 300 ml; 400 ml; 500 ml dan 600 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 jam dan dilanjutkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit. Sampel dikeringkan di oven hingga kering dan di haluskan.

Tepung bulu ayam hasil hidrolisis dengan protease dari *Bacillus sp.* dianalisa kandungan lemak dan pepsin digestibilitynya. Lihat tabel dibawah

Tabel. Kandungan lemak dan pepsin digestibility

Sampel	Lemak	PD, %
Kontrol	13,9	50
A	4.6	64,7
B	5.2	65,9
C	4.7	67.4
D	4.6	65.7
E	6.1	55,7

Keterangan:

PD : Pepsin digestibility

A: 300 gr bulu + 300 ml protease

B: 300 gr bulu + 400 ml protease

C: 300 gr bulu + 500 ml protease

D: 300 gr bulu + 600 ml protease

E: 300 gr bulu + 300 ml protease komersial

Pepsin cerna adalah peruraian protein sebagian menjadi unit terkecil protein atau yang disebut dengan peptida yang kemudian akan diserap oleh usus ke dalam aliran darah atau dipecah lebih lanjut oleh enzim pankreas.

Rendahnya nilai pepsin cerna pada

penggunaan enzim komersial yang diolah menggunakan suhu tinggi diduga karena banyak protein yang terdenaturasi. Semakin besar nilai pepsin cerna bulu ayam tidak selalu diikuti dengan penambahan enzim pada proses hidrolisa. Tetapi semakin tinggi nilai pepsin cerna mengindikasikan adanya peluang untuk dapat meningkatkan kecernaan, terutama proteinnya apabila diaplikasikan untuk pakan ternak.

Kondisi yang terbaik pada pengolahan bulu ayam menjadi tepung adalah dengan menggunakan protease 500 ml dengan kandungan lemaknya 4,7% dan pepsin cerna 67,4%.

William dkk. (1991) menyatakan bahwa, pengolahan bulu melalui biofermentasi akan menyebabkan perombakan struktur jaringan, pemutusan ikatan disulfida, ikatan hidrogen dan penurunan kadar keratin.

IV. KESIMPULAN

Beberapa bakteri telah diidentifikasi yang menghasilkan enzim mencerna bulu, yang akan mengkonversi fraksi protein ke dalam bentuk mudah dicerna. Pepsin cerna digunakan sebagai metode untuk menilai kualitas tepung bulu. Biasanya cerna pepsin dari 75% dianggap menjadi nilai minimum untuk memastikan bahwa makanan telah cukup bulu diproses. Variabilitas tepung bulu yang dihasilkan akan cukup tinggi, hal ini dikarenakan adanya perbedaan kandungan yang ada didalam bahan dasarnya (kepala, kaki, kulit, dll).

Bacillus sp. yang telah diisolasi dari kawah putih, Ciwidey, Bandung merupakan bakteri penghasil protease. Fermentasi dengan menggunakan media yang mengandung : 2,8% (b/v) Glukosa, 0,5% (b/v) Urea dan 0,005% (b/v) Yeast extract dengan kondisi proses yang dilakukan pada pH 7,5; temperatur 37 °C; inkubator kocok 150 rpm akan menghasilkan aktivitas 121 U/ml dan kandungan proteinnya 6,65 mg/ml.

Tepung bulu hasil hidrolisis perlu diuji (kecernaan pepsin) untuk memastikan bahwa

telah diproses dengan benar. Pembuatan makanan untuk ternak harus memperhatikan sumber protein lain tambahan yang akan melengkapi asam amino yang masih rendah pada tepung bulu, ketika menentukan formulasi makanan untuk ternak.

Bulu ayam yang didapatkan dari tempat pemotongan ayam di daerah bogor setelah dihidrolisis dengan protease akan menghasilkan tepung bulu yang mempunyai pepsin cerna 67,4%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymus, 1985. *Assay Method of Protease, Amano Enzyme Inc., Nagoya, Japan.*
- Anonymus. *Livestock Review*, 2011. Diakses 3 Januari 2012, dari <http://www.livestockreview.com/2011/10/konsumsi-daging-ayam-nasional-baru-7-kgkapitahun/>.
- Bertsch, A., Coello, N., 2005. *A Biotechnological Process for Treatment and Recycling Poultry Feathers as A Feed Ingredient. Biores. Technol.*, 96, 1703-1708.
- Bockle, B., Muller, R., 1997. *Reduction of Disulphide Bonds by Streptomyces Pactum During Growth on Chicken Feathers. Appl Environ Microbiol.*, 63, 7990-7992
- Brandelli, A., (2008) *Bacterial Keratinases: Useful Enzymes for Bioprocessing Agroindustrial Wastes And Beyond. Food Bioprocess Technol.*, 1, 105-116
- Friedrich, J., Gradisar, H., Mandin. D; Chaumont, J.P., 1994. *Screening Fungi for Synthesis of Keratinolytic Enzymes. Lett Appl Microbiol.*, 28, 127-130
- Indah ZS., 1993. *Pengaruh Lama Pengolahan Dan Tingkat Pemberian Tepung Bulu Terhadap Performans Ayam Jantan Broiler. Skripsi. Fakultas Peternakan IPB. Bogor.*
- Lin, X., Lee, C.G., Casale, E.S., Shih, J.C.H., 1992. *Purification and Characterization of A Keratinase*

- from a Feather - *Degrading Bacillus Licheniformis Strain*. Appl Environ Microbiol., 58, 3271– 3275
- Lowry. O.H, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Rundall., 1954. *Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent*. J. Bio.Chem. (193): 265 – 275.
- Miller, G. L., 1959. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar*. Analytical Chemistry 31 (3), p.426-428
- Onifade, A.A.; Al-Sane, N.A., Al-Musallam, A.A.; Al-Zarban, S., 1998. *Potentials For Biotechnological Applications of Keratin-Degrading Microorganisms and their Enzymes for Nutritional Improvement of Feathers and Other Keratins as Livestock Feed Resources*. Biores. Technol., 66, 1–11.
- Papadopoulos, M. C., A.R . EL BouSHY and E.H . Ketelaars., 1985. *Effect of Different Processing Condition on Amino Acid Digestibility of Feather Meal Determined by Chicken Assay*. Poultry Sci . 64 : 1729-1741
- Papadopoulos, M.C., El Boushy, A.R., Roodbeen, A.E., Ketelaars, E.H., 1986. *Effects Of Processing Time And Moisture Content On Amino Acid Composition And Nitrogen Characteristics of Feather Meal*. Animal Feed Sci. Technol., 14, 279– 290
- Takami, H., Nogi, Y., Horikoshi, K., 1999. *Reidentification of the Keratinase-Producing Facultatively Alkaliphilic Bacillus Sp No AH-101 As Bacillus Halodurans*. Extremophiles, 3, 293– 296
- Wawrzekiewicz, K., Wolski, T., Lobarzawski, J., 1991. *Screening the Keratinolytic Activity of Dermatophytes in Vitro*. Mycopathologia, 114, 1-8.
- Williams, C.M., Lee, C.G., Garlich, J.D., Shih, J.C.H., 1991. *Evaluation of a Bacterial Feather Fermentation Product, Feather Lysate, as a Feed Protein*. Poultry Science, 70, 85-94