



**PEMISAHAN LIPIDA DARI USUS AYAM BROILER PADA
SAAT PROSES HIDROLISIS PROTEIN SECARA AUTOLISIS**

SKRIPSI

Oleh

**Rosa Safitri
NIM 151810301060**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**PEMISAHAN LIPIDA DARI USUS AYAM BROILER PADA
SAAT PROSES HIDROLISIS PROTEIN SECARA AUTOLISIS**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Rosa Safitri
NIM 151810301060

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Keluarga tercinta, Ayahanda Bunali, Ibunda Sutriani, Ayahanda Mochammad Ansori, Ibunda Lilik Sulis Setiyawati, Sillatul Firdaus dan semua saudara yang telah memberikan dukungan, pengorbanan, doa dan kasih sayangnya yang tidak terhingga sampai saat ini;
2. Bapak/Ibu guru TK Al-Hikmah, SDN Sumbertaman 1, SMPN 4 Probolinggo, SMAN 1 Probolinggo, bapak/ibu dosen kimia, teknisi laboratorium Jurusan Kimia serta seluruh karyawan FMIPA Universitas Jember yang telah banyak memberikan ilmu, nasihat dan pengalamannya;
3. Almamater jurusan kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
4. Sahabat terbaik, Winda Avianti Laily yang selalu memberikan dukungan serta menemani suka dan duka sejak SMP hingga sekarang;
5. Seseorang yang spesial, Candra Lintang Fajar Pratama yang selalu memberikan doa, nasihat, dukungan yang luar biasa;
6. Kawan seperjuangan, kimia angkatan 2015 (CHRYPTON) dan Tim Kimia Organik Cici Desi Septiana, Chanifah Dwi Heppy Pratiwi, Sovia Masfuri W.S dan Bella Junica Zhentya serta Tim Kimia Fisik Supriati Khotijatul Q yang telah banyak membantu selama menuntut ilmu di Jurusan Kimia Universitas Jember;
7. Himaki 'Zirkonium' yang telah banyak mengajarkan pentingnya berorganisasi;
8. *Sister Another Mother*, Zulfi Nauril F, Khonita Anjalsari R, Tri Wulan Ramadhani dan Desyawati IrnaSari yang selalu menemani dalam keadaan suka dan duka serta selalu memberikan dukungan yang luar biasa selama menuntut ilmu di kimia Universitas Jember
9. Teman-teman Puri Bidari dan teman-teman KKN Muneng Kidul atas bantuan, doa, semangat dan segala kenangan yang telah diberikan.

MOTTO

Karena itu, ingatlah kamu kepada-Ku niscaya Aku ingat (pula) kepadamu, dan bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu mengingkari (nikmat)-Ku (terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 152).*)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung : CV. Diponegoro.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rosa Safitri

NIM : 151810301060

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Pemisahan Lipida Dari Usus Ayam Broiler Pada Saat Proses Hidrolisis Protein Secara Autolisis " adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 16 Juli 2019

Yang menyatakan,

Rosa Safitri

NIM 151810301060

SKRIPSI

**PEMISAHAN LIPIDA DARI USUS AYAM BROILER PADA
SAAT PROSES HIDROLISIS PROTEIN SECARA AUTOLISIS**

Oleh

Rosa Safitri
NIM 151810301060

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Drs.Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Pemisahan Lipida Dari Usus Ayam Broiler Pada Saat Proses Hidrolisis Protein Secara Autolisis" telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.
NIP. 197105011998021002

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195910091986021001

Anggota II,

Anggota III,

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.
NIP. 198010012003122001

Dr. Busroni, M.Si.
NIP. 195905151991031007

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Pemisahan Lipida Dari Usus Ayam Broiler Pada Saat Proses Hidrolisis Protein Secara Autolisis; Rosa Safitri, 151810301060; 2019: 64 Halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Usus ayam merupakan saluran pencernaan yang dapat digunakan sebagai bahan pangan karena mengandung vitamin, mineral, lipida dan protein. Protein dalam usus ayam dapat berupa protein struktural dan protein fungsional seperti enzim protease. Membran *brush border* usus ayam juga mengandung lipida seperti Fosfolipida, kolesterol, asam lemak bebas, ester kolesterol dan trigliserida. Usus ayam kurang baik digunakan sebagai bahan pangan karena kandungan kolesterol dan lemak yang dimilikinya. Lemak dapat menyebabkan obesitas dan penyakit lainnya, sehingga perlu adanya pemisahan lipida pada usus ayam agar kandungan lainnya seperti protein dapat dimanfaatkan. Lipida saling berikatan secara fisik dengan protein dalam matriks jaringan usus ayam, sehingga ketika protein dipecah, diharapkan lipida dapat terlepas dan dipisahkan dari jaringan. Proses pemisahan lipida pada usus ayam dapat dilakukan dengan hidrolisis protein secara autolisis karena kandungan enzim protease yang dimilikinya. Cathepsin D merupakan enzim yang cukup stabil pada unggas dan memiliki aktivitas optimum pada pH 2,5, sehingga hidrolisis protein usus ayam dilakukan pada pH 2,5 dan suhu 35 °C.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap pemisahan lipida, hasil residu dan keefektivan metode autolisis untuk memisahkan lipida pada usus ayam. Usus ayam yang akan diautolisis, ditambahkan asam fosfat 85% hingga pHnya 2,5. Usus ayam yang telah dikondisikan pH nya kemudian diinkubasi selama 18 jam dengan interval 6 jam. Proses pemisahan lipida pada usus ayam dapat dilakukan dengan menggunakan *sentrifuse*, dimana lipida akan berada pada fase atas karena memiliki densitas lebih rendah, sedangkan residu yang mengandung protein dengan lipida yang

belum berhasil dipisahkan selama proses autolisis terdapat pada fase bawah. Proses autolisis, selain dapat memisahkan lipida pada usus ayam, juga dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terdapat pada fase tengah. Hidrolisat ini nantinya dapat diaplikasikan dalam bidang pangan. Keefektivan metode ini dilakukan dengan membandingkan jumlah lipida hasil autolisis dengan lipida hasil ekstraksi usus ayam yang tidak diautolisis dengan menggunakan n-heksana. Lipida yang belum berhasil dipisahkan selama proses autolisis dapat diketahui dengan mengekstrak kandungan lipida pada residu menggunakan n-heksana.

Hasil dari penelitian ini yaitu bahwa waktu inkubasi mempengaruhi proses hidrolisis protein usus ayam. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kadar lipida dan jumlah residu yang dihasilkan ketika usus ayam diinkubasi selama 18 jam dengan interval 6 jam. Kadar lipida tertinggi diperoleh ketika usus ayam diinkubasi selama 18 jam. Selain itu, ketika usus ayam diinkubasi selama 18 jam juga menghasilkan jumlah residu lebih rendah. Hal ini dapat terjadi karena semakin lama usus ayam diinkubasi maka akan semakin banyak Cathepsin D menghidrolisis protein menjadi peptida-peptida pendek, sehingga akan semakin banyak lipida yang terlepas dari jaringan usus ayam. Metode autolisis efektif digunakan untuk memisahkan lipida pada usus ayam, karena mampu melepaskan lipida lebih dari 50% dari total lipida ketika diinkubasi selama 18 jam.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemisahan Lipida Dari Usus Ayam Broiler Pada Saat Proses Hidrolisis Protein Secara Autolisis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Penguji I, dan Dr. Busroni, M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji, serta memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Yudi Aris Sulistiyo, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang telah banyak memberikan pengetahuan dan nasihatnya;
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN/SUMMARY	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
1.5 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ayam Broiler	6
2.2 Usus Ayam	8
2.2.1 Morfologi usus ayam.....	8
2.2.2 Jumlah usus ayam.....	9
2.2.3 Kandungan usus ayam.....	10
2.2.4. Interaksi protein dan lipida dalam jaringan	17
2.2.5 Enzim protease usus ayam	18
2.3 Hidrolisis Protein Usus Ayam	20
2.4 Pemisahan Lipida	24
2.4.1. Ekstraksi lipida.....	23
2.4.2. Pemisahan lemak dengan sentrifugasi.....	26
2.5. Analisis lipida secara Kuantitatif	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	28
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2. Alat dan Bahan	28
3.2.1. Alat	28
3.2.2. Bahan.....	28
3.3. Diagram Alir Penelitian	29
3.4. Prosedur kerja	30
3.4.1. Preparasi sampel.....	30
3.4.2. Uji kadar air bubur usus ayam.....	30
3.4.3. Ekstraksi lipida usus ayam menggunakan pelarut n-heksana .	30

3.4.4. Hidrolisis protein usus ayam secara autolisis.....	31
3.4.5. Pemisahan lipida dari hasil autolisis	31
3.4.6. Pemisahan lipida dari residu hasil sentrifugasi	31
3.5. Metode Analisis	32
3.5.1. Analisis kadar air	32
3.5.2. Analisis kadar lipida	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Uji Kadar Air Usus Halus Ayam Broiler	33
4.2. Ekstraksi Lipida Usus Ayam menggunakan Pelarut n-heksana.....	34
4.3. Hidrolisis Protein Usus Ayam secara Autolisis dan Pemisahan Lipida dengan Sentrifugasi	35
4.4. Jumlah Residu Usus Halus Ayam Broiler Hasil Pemisahan Menggunakan <i>Sentrifuse</i>	37
4.5. Efektifitas Pemisahan Lipida Pada Usus Ayam Dengan Menggunakan Metode Autolisis	39
BAB 5 PENUTUP	41
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1. Populasi ayam broiler di Propinsi Jawa Timur	6
2.2. Populasi ayam broiler di Kabupaten Jember.....	7
2.3. Kandungan nutrisi usus ayam	10
2.4. Kandungan (%) asam amino usus ayam	12
2.5. Kadar (%) asam lemak usus ayam.....	15
2.6. Kandungan vitamin usus ayam	16
2.7. Kadar enzim protease dalam usus ayam	19
4.1. Massa lipida total usus ayam hasil autolisis denan hasil ekstraksi.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Ayam broiler.....	7
2.2. Saluran pencernaan ayam.	8
2.3. Bagian-bagian usus ayam.....	9
2.4. Struktur kolesterol.....	14
2.5. Reaksi pembentukan lemak.....	15
2.6. Ikatan lipida pada membran protein.....	17
2.7. Posisi sisi aktif pada enzim Cathepsin D.....	21
2.8. Reaksi nukleofilik dengan substrat.....	22
2.9. Pemutusan ikatan peptida secara enzimatis.....	22
2.10. Alat ekstraksi soxhlet	24
2.11. Pemisahan dengan sentrifugasi..	26
4.1. Grafik kadar lipida usus ayam hasil autolisis	36
4.2. Grafik massa residu hasil sentrifugasi.....	37
4.3. Rata-rata kadar lipida residu	38

DAFTAR LAMPIRAN

3.1. Preparasi Sampel Usus Halus Ayam Broiler	49
4.1. Kadar Air Usus Ayam Broiler	50
4.2. Perhitungan Kadar Lipida Usus Halus Ayam Broiler	51
4.3. Perhitungan Hasil Hidrolisis Protein Usus Ayam Secara Autolisis Dan Pemisahan Lipida Dengan Sentrifugasi	54
4.4. Pemisahan Lipida Dari Padatan Hasil Sentrifugasi	58
4.5. Efektifitas Pemisahan Lipida Pada Usus Ayam Dengan Menggunakan Metode Autolisis	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ayam broiler merupakan jenis ayam unggul yang diperoleh dari perkawinan silang dan rekayasa genetika dari ayam yang memiliki produktivitas tinggi (Tamalludin, 2014). Ayam ini banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki siklus produksi yang singkat (32-35 hari) dan harganya yang relatif murah (Pratama dkk., 2015). Jumlah ayam broiler di Indonesia pada tahun 2017 mencapai 1.698.368.741 ekor (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI, 2017). Pusat penyebaran ayam broiler berada di Pulau Jawa (Fadilah, 2005). Jember merupakan salah satu kabupaten di Pulau Jawa yang menghasilkan ayam broiler sebesar 11.851.934 ekor pada tahun 2017 (Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember, 2017). Pemotongan ayam ini dapat menghasilkan produk samping seperti usus ayam. Rumah Potong Ayam (RPA) di Antirogo, Kabupaten Jember dapat menghasilkan usus ayam sekitar 5 kg tiap harinya. Usus ayam dapat menyumbang 20-30% dari limbah yang dihasilkan pada proses pemotongan ayam (Panda, B dan Singh R. P (1980) dalam Jamdar dan Harikumar, 2005)

Usus ayam merupakan saluran pencernaan yang dapat digunakan sebagai sumber protein, lipida dan protease jaringan (Rao dkk (1996) dalam Jamdar dan Hrikumar, 2005). Usus ayam mengandung protein sebesar $11,78 \pm 0,17\%$ dalam berat basahnya (Seong dkk., 2015). Protein dalam usus ayam dapat berupa protein struktural dan fungsional. Protein fungsional pada usus ayam yaitu enzim protease. Raju dkk (2007) mengatakan bahwa, usus ayam memiliki aktivitas proteolitik sebesar 21,9 unit ml^{-1} (tanpa lapisan mukosa) dan 73,13 unit ml^{-1} (memiliki lapisan mukosa). Selain protein, membran *brush border* usus ayam juga mengandung lipida seperti seperti *phospholipida* (64-74%), kolesterol (20-28%), asam lemak bebas (6,4-6,8%), ester kolesterol (3,4-5,5%) dan trigliserida (2,5-3,9%) dalam berat basahnya (Garriga dkk., 2002). Usus ayam juga mengandung air ($82,61 \pm 0,90\%$), mineral dan vitamin dengan jumlah yang rendah (Seong dkk.,

2015). Hal ini yang menyebabkan usus ayam dapat digunakan sebagai bahan pangan.

Kandungan lipida seperti lemak dapat menyebabkan usus ayam tidak baik digunakan sebagai bahan pangan karena dapat menyebabkan obesitas yang dapat menimbulkan berbagai penyakit lainnya (Santika, 2016), sehingga perlu adanya proses pemisahan lipida pada usus ayam agar kandungan lainnya seperti protein dapat dimanfaatkan. Lipida dengan protein saling berinteraksi secara fisik dalam matriks jaringan usus ayam, sehingga ketika protein dipecah diharapkan kandungan lipida dalam usus ayam dapat dipisahkan. Proses pemisahan lipida dapat dilakukan melalui hidrolisis protein usus ayam secara enzimatik dengan menambahkan enzim dari luar atau menggunakan enzim yang telah tersedia pada bahan tersebut (autolisis). Proses hidrolisis protein usus ayam dapat dilakukan secara autolisis karena kandungan enzim protease yang dimilikinya. Reaksi hidrolisis secara enzimatik dapat memecah ikatan peptida dalam suasana asam atau basa dan akan menyebabkan ikatan antara protein dan lipida putus.

Jamdar dan Harikumar (2005) telah melakukan penelitian mengenai proses degradasi protein usus ayam secara autolitik. Proses ini dilakukan dengan menggunakan variasi pH 2,0; 2,5; 4,0; 6,3; 7,0 dan 8,5 pada temperatur 28, 37, 50, 60, 70 dan 77 °C. Penelitian ini menghasilkan keadaan optimum pada pH 2,5 dan suhu 60 °C. Kondisi optimum ini ditentukan dengan adanya kadar *tricarboxylic acid* (TCA) terlarut yang tinggi pada pH 2,5 dengan suhu 60 °C yaitu sebesar $\pm 140 \mu\text{mol Tyr eqv/g}$. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Aulia (2017) yang mengukur kadar nitrogen dan protein terlarut dari proses degradasi usus ayam broiler secara autolisis. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variasi pH (2,5; 3,5; 4,5; 5,5) dan waktu inkubasi (0,6,12 dan 18 jam). Hasil yang didapatkan yaitu kadar nitrogen dan protein terlarut tertinggi diperoleh ketika usus ayam diinkubasi pada pH 2,5 selama 18 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi terbaik untuk mendegradasi protein usus ayam yaitu pada pH 2,5. Hal ini dapat terjadi karena aktivitas enzim protease yang dimilikinya.

Enzim protease yang terdapat pada usus ayam yaitu *cathepsin* B, D, H dan L, Phe-Arg aminopeptidase, Ala aminopeptidase, Leu aminopeptidase, Pro

aminopeptidase, Tyr aminopeptidase dan *Alkaline* protease. *Cathepsin D* merupakan jenis protease yang cukup stabil dalam jaringan unggas. Enzim ini memiliki aktivitas optimum pada pH 2-2,5 dan suhu 60°C serta dapat optimum selama 6 jam. Enzim ini mampu mendegradasi protein yang memiliki berat molekul 205-206 kDa selama 2 jam menjadi molekul yang berukuran kurang dari sama dengan 45 kDa selama 6 jam (Jamdar dan Harikumar, 2005). Oleh karena itu proses hidrolisis protein pada penelitian ini akan dilakukan pada pH 2,5 dan suhu 35 °C dengan menggunakan variasi waktu inkubasi 0-18 jam dengan interval 6 jam. Variasi ini dilakukan dengan tujuan untuk optimalisasi proses hidrolisis protein, sehingga dapat menentukan waktu inkubasi optimum untuk memisahkan lipida dari protein usus ayam.

Pengkondisian pH pada proses autolisis dilakukan dengan menambahkan asam fosfat 85% untuk mengaktifkan enzim protease usus ayam. Asam fosfat telah diizinkan untuk digunakan dalam tambahan pangan, sehingga hidrolisat protein yang dihasilkan dapat diaplikasikan dalam bidang pangan. Proses pemisahan lipida hasil autolisis dapat dilakukan melalui sentrifugasi. Proses ini akan menghasilkan tiga fase yaitu fase atas mengandung lipida, fase tengah (supernatan) mengandung hidrolisat protein dan fase bawah merupakan residu yang mengandung protein dan lipida yang belum berhasil dipisahkan selama proses autolisis. Lipida yang dihasilkan dari proses hidrolisis protein usus ayam secara autolisis akan dijumlahkan dengan lipida dari residu yang diekstraksi menggunakan n-heksana. Hasil ini lalu dibandingkan dengan hasil ekstraksi lipida menggunakan n-heksana teknis (kontrol) dari usus ayam yang tidak diautolisis. Penggunaan n-heksana untuk mengekstrak lipida mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Banat dkk. (2013) yang menunjukkan bahwa n-heksana merupakan pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa non polar jika dibandingkan dengan etanol, petroleum eter, isopropanol dan karbon tetraklorida. Proses ekstraksi lipida dapat memisahkan semua komponen lipida dalam jaringan. Efektivitas metode autolisis untuk memisahkan lipida pada usus ayam dapat dilakukan dengan membandingkan lipida hasil autolisis dengan lipida pada usus ayam yang tidak diautolisis.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu

1. Bagaimana pengaruh lama inkubasi terhadap kadar lipida yang dihasilkan pada saat proses hidrolisis protein usus ayam secara autolisis pada pH 2,5 dan suhu 35 °C ?
2. Bagaimana pengaruh lama inkubasi terhadap jumlah residu yang dihasilkan dari proses sentrifugasi usus ayam yang telah diautolisis pada pH 2,5 dan suhu 35 °C ?
3. Bagaimana efektivitas pemisahan lipida pada usus ayam dengan menggunakan metode autolisis ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu

1. untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap kadar lipida yang dihasilkan pada saat proses hidrolisis protein usus ayam secara autolisis pada pH 2,5 dan suhu 35 °C.
2. Untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap jumlah residu yang dihasilkan dari proses sentrifugasi usus ayam yang telah diautolisis pada pH 2,5 dan suhu 35 °C.
3. Untuk mengetahui efektivitas pemisahan lipida pada usus ayam dengan menggunakan metode autolisis.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu

1. Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai metode yang dapat digunakan untuk memisahkan lipida dari usus ayam secara optimum.
2. Penelitian ini menghasilkan hidrolisat protein yang dapat diaplikasikan dalam bidang pangan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu

1. Usus ayam diperoleh dari tempat pemotongan ayam di di daerah Antirogo
2. Usus ayam yang diambil tidak mempertimbangkan umur ayam broiler.
3. Penelitian ini tidak melakukan optimasi pH.
4. Pengkondisian pH sampai 2,5 dilakukan dengan menambahkan asam fosfat 85% dalam sampel.
5. Penelitian ini tidak melakukan pengulangan dengan menggunakan chamber yang berbeda.
6. Enzim protease pada usus ayam tidak diisolasi dan tidak dilakukan uji aktivitas.
7. Proses hidrolisis protein usus ayam secara autolisis hanya dilakukan selama 0-18 jam dengan interval 6 jam.
8. Proses ekstraksi lipida hanya dilakukan dengan menggunakan pelarut heksana teknis.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam Broiler

Peternakan ayam broiler mulai dikembangkan pada tahun 1960. Perkembangan ayam broiler dimulai dengan adanya program Bimas (Bimbingan Massal) Ayam. Peternakan ayam broiler mulai berkembang sangat pesat pada tahun 1970-1980 yang ditandai dengan adanya investasi pada industri hulu (pakan, obat-obatan dan bibit), hilir dan budidaya (Tamalludin, 2014). Penyebaran ayam broiler yaitu terletak di daerah Indonesia bagian barat (Pulau Jawa dan Sumatera), bagian tengah (Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan dan Kalimantan Timur) dan bagian timur (Sulawesi). Pusat penyebaran ayam broiler yaitu berada di Indonesia bagian barat. Hal ini dikarenakan sebagian besar perusahaan pembibitan serta pangsa pasar ayam broiler terbesar terdapat di daerah Indonesia bagian barat, khususnya Pulau Jawa (Fadilah, 2005).

Salah satu provinsi yang terletak di Pulau Jawa yaitu Jawa Timur. Populasi ayam broiler menurut Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan tahun 2017, dari tahun 2013-2017 mengalami peningkatan. Tabel 2.1 menunjukkan bahwa populasi ayam broiler di Jawa Timur paling tinggi terdapat pada tahun 2017 yaitu sebesar 203.306.274 ekor.

Tabel 2.1. Populasi ayam broiler di Propinsi Jawa Timur

Tahun	Populasi Ayam Broiler (ekor)
2013	162.296.157
2014	179.830.682
2015	194.064.874
2016	200.895.528
2017	203.306.274

(Sumber : Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2017)

Jember merupakan salah satu kabupaten yang terletak di Provinsi Jawa Timur. Peternakan ayam broiler di Kabupaten Jember telah menyebar di seluruh kecamatan, sehingga kabupaten ini dapat menyediakan daging ayam broiler yang cukup besar (Widjayanti dan Rizal, 2016). Populasi ayam broiler di Kabupaten Jember dari tahun 2013-2017 terdapat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2. Populasi ayam broiler di Kabupaten Jember

Tahun	Populasi Ayam Broiler (ekor)
2013	2.810.327
2014	7.689.080
2015	12.120.036
2016	11.932.763
2017	11.851.934

(Sumber : Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember, 2017)

Tabel 2.2 menunjukkan bahwa perkembangan ayam broiler di Kabupaten Jember terjadi secara fluktuatif. Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya peningkatan populasi ayam broiler pada tahun 2013-2015 dan juga terjadi sedikit penurunan pada tahun 2015-2017. Populasi ayam broiler tertinggi terdapat pada tahun 2015 yaitu sebesar 12.120.036 ekor.

Ayam broiler dapat dihasilkan dari perkawinan silang dan rekayasa genetika dari ayam yang memiliki produktivitas tinggi, seperti ayam kelas amerika, kelas inggris dan bangsa *Plymouth Rock*. Ayam broiler dari tahun ketahun mengalami perkembangan genetik agar dapat menghasilkan daging lebih tebal dan berkualitas serta memiliki harga yang murah (Tamalluddin, 2014). Ayam broiler memiliki pertumbuhan yang cepat yaitu dapat dipanen kurang lebih 32-35 hari dengan bobot 1,5 hingga 2,0 kg/ekor. Ayam broiler juga memiliki produktivitas yang tinggi serta harganya yang terjangkau, sehingga permintaan akan daging ayam broiler terus mengalami peningkatan (Pratama dkk., 2015). Taksonomi dari ayam broiler adalah sebagai berikut

Kingdom : *Animalia*
 Filum : *Chordota*
 Subfilum : *Vertebrata*
 Kelas : *Aves*
 Order : *Galliformes*
 Family : *Phasianidae*
 Genus : *Gallus*
 Spesies : *Gallus gallus*



Gambar 2.1. Ayam broiler (Sumber : Rasyaf, 2008)

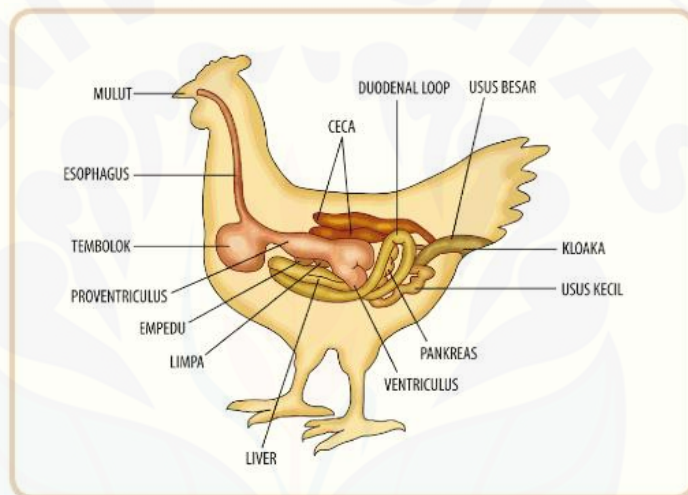
Sub- Spesies: *Gallus gallus gallus*

(USDA/ITIS, 2006).

2.2 Usus Ayam

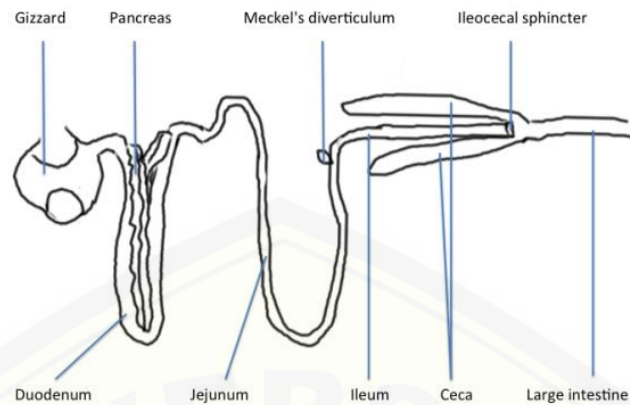
2.2.1 Morfologi usus ayam

Usus ayam merupakan saluran pencernaan yang dapat mencerna dan menyerap nutrisi makanan didalam tubuhnya. Usus ayam dapat dibagi menjadi usus kecil/halus (*small intestine*), usus buntu dan usus besar. Usus kecil mengandung pankreas yang dapat menghasilkan enzim-enzim pencernaan seperti amilase, lipase dan tripsin. Enzim-enzim ini berfungsi untuk menguraikan gula dan protein, dimana produk yang dihasilkan akan didistribusikan ke seluruh tubuhnya (Fadilah dan Polana, 2011).



Gambar 2.2. Saluran pencernaan ayam (Sumber : Fadilah dan Polana, 2011).

Usus kecil dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu *duodenum*, *jejunum* dan *ileum*. Duodenum berfungsi untuk mencampur makanan dengan enzim pencernaan dari hati, pankreas dan dinding duodenum sehingga dapat menetralkan asam pada makanan yang telah dicerna oleh lambung. Jejunum memiliki lipatan mukosa lebih sedikit jika dibandingkan dengan duodenum. *Diverticulum Meckel* merupakan bagian yang dapat menandai bagian jejunum dan awal dari bagian ileum. Ileum memiliki lipatan mukosa yang lebih sedikit dari duodenum dan jejunum serta di ujung bagian ini tidak terdapat lipatan mukosa. Ileum berfungsi untuk menyerap nutrisi, asam empedu dan vitamin B12 untuk di proses ulang dalam tubuh (Smith dan Morton (2010) dalam Wong dkk., 2013).



Gambar 2.3. Bagian-bagian usus ayam (Sumber : Wong dkk., 2013).

Usus buntu ayam memiliki panjang sekitar 1,5 meter dan masih belum diketahui fungsinya, sedangkan usus besar ayam hanya berfungsi untuk menambah dan menjaga kesetimbangan air di dalam tubuhnya (Fadilah dan Polana, 2011). Usus besar terdiri dari sekum, kolon, rektum dan kloaka. Sekum berfungsi untuk mengabsorpsi air (36%) dan elektrolit (75% natrium yang terkandung dalam pakan ayam akan terabsorpsi). Sekum juga dapat mencerna serat kasar yang tidak dapat dicerna oleh usus kecil karena kandungan mikrofloranya. Kolon berukuran sangat pendek dan tidak banyak berperan dalam proses absorpsi zat-zat makanan (Widodo, 2018).

2.2.2 Jumlah usus ayam

Rumah Potong Ayam (RPA) merupakan usaha yang didirikan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat. Ayam broiler dapat digunakan sebagai sumber protein hewani karena mengandung protein sebesar 18,6%. Selain protein, ayam broiler juga mengandung lemak (15,1%), air (66,0%) dan abu (0,79%) (Stade dkk (1988) dalam Pratama dkk., 2015). Pematangan ayam broiler selain menghasilkan daging, juga dapat menghasilkan limbah padat (bulu ayam, pembersihan daging, usus, tembolok dan ayam mati) dan limbah cair (darah ayam). RPA di daerah industri PT JIEP Kelurahan Jatinegara, Kecamatan Cakung menghasilkan limbah cair sebanyak 1 liter/ekor dan limbah padat sebesar 150 gram/ekor, sehingga dalam satu tahun dapat menghasilkan limbah cair sebanyak

2.200 ton limbah padat dan 14 juta limbah cair (Said dan Yudo, 2006). Salah satu RPA di Jember yang terletak di daerah Antirogo dapat memotong sekitar 125 ekor ayam tiap harinya. Ayam yang akan dipotong berusia 30 hari dengan berat 2 kg per ayam. Pemotongan ayam ini menghasilkan usus ayam sekitar 40 gram per ekor, sehingga RPA ini dapat menghasilkan sekitar 5 kg usus ayam tiap harinya.

2.2.3 Kandungan Usus Ayam

Usus ayam merupakan organ pencernaan yang mengandung bakteri seperti lactobacilli, enterococci dan enterobacteria. Usus ayam mudah mengalami pembusukan jika tidak dibersihkan lebih dari empat jam dan hanya dapat bertahan selama dua hari pada suhu 20 °C (Bjerrum dkk., 2014). Kandungan usus ayam terdapat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan nutrisi usus ayam

Usus Ayam	Kandungan Nutrisi		
	Air (%)	Lemak (%)	Protein (%)
Usus kecil	82.61±0.90	1.82±0.07	11.78±0.17
Usus 12 jari (<i>duodenum</i>)	82.95±0.31	2.46±0.10	12.18±0.18

(Sumber : Seong dkk., 2015)

Kandungan usus ayam dari kadar tertinggi hingga terendah yaitu air, protein dan lemak. Usus ayam mengandung air sangat tinggi, sehingga jamur dan mikroorganisme lebih cepat tumbuh (Ketaren (1989) dalam Hidajati, 2005). Hal ini menyebabkan usus ayam cepat mengalami pembusukan.

Usus ayam juga merupakan sumber protein, protease jaringan dan lipida. Usus ayam mengandung 57-60% protein dalam berat keringnya (Jamdar dan Harikumar, 2005), sehingga dapat dikatakan bahwa kandungan lipida pada usus ayam dapat mencapai 40-43% dalam berat keringnya. Kandungan usus ayam yang dapat dimanfaatkan yaitu protein. Protein merupakan makromolekul yang tersusun dari beberapa asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Ikatan peptida terbentuk dari dua molekul asam amino yang terikat secara kovalen melalui ikatan amida. Ikatan peptida dapat terbentuk dengan melepaskan molekul air dari gugus karboksil asam amino yang satu dan dari gugus amino asam amino yang lain (Lehninger, 1982). Protein berfungsi untuk memelihara jaringan dan

mengganti sel-sel yang telah mati. Selain itu, protein berfungsi untuk mengatur metabolisme dalam tubuh (Adriani dan Bambang, 2012). Protein usus ayam dapat digunakan untuk membuat hidrolisat protein. Hidrolisat protein ini dapat dihasilkan dari proses hidrolisis protein secara kimia atau biologis yang mengandung protein yang telah terhidrolisis menjadi peptida-peptida dengan ukuran yang bervariasi (Faoziyah, 2014). Hidrolisis ikatan peptida akan meningkatkan kelarutan protein karena adanya penambahan ion NH_3^+ dan ion COO^- serta rusaknya struktur globular protein, sehingga akan menghasilkan protein atau peptida dengan berat molekul yang rendah (Gerindra (1993) dalam Faoziyah, 2014). Hidrolisat protein dapat digunakan sebagai penyedap rasa non *monosodium glutamate* (MSG). MSG merupakan garam natrium dari asam glutamat. Asam glutamat merupakan asam amino non esensial penyusun protein yang dapat dihasilkan dari turunan asam amino melalui reaksi hidrolisis protein (Winarno (2004) dalam Faoziyah, 2014).

Protein dapat dibangun oleh 20 jenis asam amino yang berikatan secara kovalen. Asam amino memiliki gugus karboksil dan gugus amino yang terikat pada atom karbon yang sama. Struktur asam amino satu dengan yang lainnya dapat dibedakan berdasarkan rantai samping (gugus R) yang dimilikinya (Lehninger, 1982). Asam amino dapat dibagi menjadi dua berdasarkan peran fisiologisnya yaitu asam amino esensial dan nonesensial. Asam amino esensial tidak dapat disintesis didalam tubuh, sehingga untuk memenuhi kebutuhan asam amino esensial didalam tubuh dapat diperoleh dari sumber eksternal seperti tumbuhan dan hewan (Galili dkk., 2016). Jumlah asam amino esensial dan nonesensial pada usus ayam terdapat pada tabel 2.4. Tabel ini menunjukkan bahwa usus halus dan usus dua belas jari usus ayam memiliki kandungan asam amino esensial dan nonesensial yang berbeda-beda.

Tabel 2.4. Kandungan (%) asam amino usus ayam

Asam Amino	Usus Halus	Usus duabelas jari
Asam Amino Esensial		
Thr	0,53 ± 0,01	0,53 ± 0,01
Met	0,26 ± 0,00	0,26 ± 0,01
Val	0,52 ± 0,01	0,53 ± 0,01
Leu	0,90 ± 0,01	0,91 ± 0,02
Ile	0,44 ± 0,00	0,44 ± 0,01
His	0,26 ± 0,00	0,26 ± 0,01
Phe	0,48 ± 0,01	0,49 ± 0,01
Lys	0,89 ± 0,01	0,91 ± 0,02
∑AAE	4,27 ± 0,25	6,60 ± 0,48
Asam Amino nonesensial		
Ala	0,68 ± 0,01	0,68 ± 0,01
Arg	0,80 ± 0,01	0,80 ± 0,02
Asp	1,03 ± 0,01	1,04 ± 0,02
Cys	0,15 ± 0,00	0,16 ± 0,00
Glu	1,66 ± 0,02	1,66 ± 0,04
Gly	0,78 ± 0,01	0,78 ± 0,02
Pro	0,58 ± 0,01	0,61 ± 0,01
Ser	0,55 ± 0,01	0,56 ± 0,01
Tyr	0,41 ± 0,01	0,41 ± 0,01
∑AANE	6,63 ± 0,39	6,69 ± 0,46

(Sumber : Seong dkk., 2015).

Asam amino esensial yang banyak terkandung di dalam usus halus dan usus dua belas jari ayam yaitu leusin (Leu) dan lisin (Lys). Leu merupakan asam amino yang memiliki gugus samping (R) nonpolar dan bersifat hidrofobik, sedangkan Lys merupakan asam amino yang memiliki gugus samping bermuatan positif pada pH 7,0. Kadar asam amino non esensial tertinggi di usus halus dan usus dua belas jari yaitu asam glutamat (glu). Glu merupakan asam amino yang memiliki gugus R negatif (asam) pada pH 7,0 (Lehninger, 1982). Kandungan asam amino glutamat dalam usus ayam dapat memberikan rasa gurih, sehingga dapat digunakan sebagai sumber glutamat alami (Faoziyah, 2014).

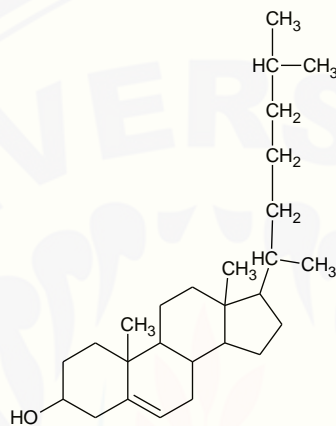
Usus ayam, selain mengandung protein juga mengandung lipida dalam jumlah yang cukup tinggi. Lipida adalah suatu senyawa organik yang berminyak atau berlemak dan tidak dapat larut didalam air serta dapat diekstrak dari dalam jaringan dengan menggunakan pelarut organik seperti kloroform atau eter. Senyawa yang termasuk didalam golongan lipida yaitu triasilglierol, lilin, fosfolipida, steroid, spingolipida dan lipoprotein. Komponen pembangun lipida

yaitu berupa asam lemak (Lehninger, 1982). Membran *brush border* pada usus ayam mengandung lipida seperti fosfolipida (64-74%), kolesterol (20-28%), asam lemak bebas (6,4-6,8%), ester kolesterol (3,4-5,5%) dan trigliserida (2,5-3,9%) (Garriga dkk., 2002).

Fosfolipida adalah komponen utama pada lipida membran yang memiliki satu atau lebih gugus pada bagian kepala dengan polaritas yang tinggi, sehingga fosfolipida dapat dikatakan sebagai lipida polar. Fosfolipida bersifat amfipatik karena bersifat hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofobik pada fosfolipida merupakan dua molekul asam lemak rantai panjang yang biasanya memiliki 16-18 atom karbon, sedangkan bagian hidrofiliknya mengandung fosfor dalam bentuk asam fosfatnya (Lehninger, 1982). Usus ayam mengandung fosfolipida seperti fosfotidilkolin, fosfotidilserin, fosfotidiletanolamin dan fosfotidilinositol (Garriga dkk., 2002), dimana fosfolipida ini mengandung kolin, asam amino serin, alkohol berupa etanolamin dan alkohol siklik inositol secara berturut-turut pada bagian kepala (Lehninger, 1982). Kelarutan fosfolipida didalam air bergantung pada gugus polar pada bagian kepala dan panjangnya hidrokarbon pada bagian ekor. Fosfotidilkolin dan fosfotidiletanolamin merupakan fosfolipida yang memiliki kelarutan yang rendah dalam air (Pichot dkk., 2013). Fosfotidilserin merupakan fosfolipida yang larut dalam pelarut organik seperti kloroform dan toluena, tetapi tidak larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol dan air (Bioscience, 2015). Fosfotidilinositol juga tidak dapat larut dalam air, etanol dan aseton (Bioscience, 2015).

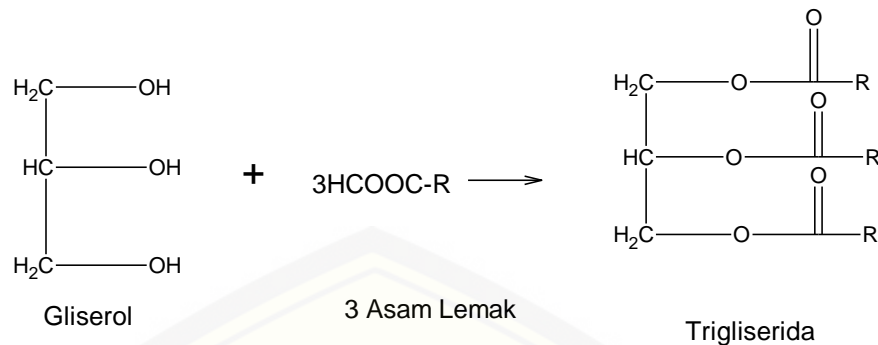
Spingolipid merupakan lipida membran yang mengandung gugus pada bagian kepala yang bersifat polar dan dua ekor bersifat nonpolar. Lipida ini tidak mengandung gliserol. Spingolipid terdiri dari tiga kelas, yaitu spingomielin, serebrosida dan gangliosida (Lehninger, 1982). Usus ayam hanya mengandung spingomielin (Garriga dkk., 2002). Spingomielin mengandung fosfokolin atau fosfoetanolamin yang bersifat polar. Senyawa ini juga tergolong dalam fosfolipida karena mengandung fosfat (Lehninger, 1982). Spingomielin dapat larut dalam kloroform, etanol panas dan etil asetat panas. Senyawa ini tidak dapat larut dalam eter, aseton dan air (Bioscience, 2016).

Steroid adalah suatu molekul kompleks yang mengandung empat cincin yang saling bergabung dan dapat larut didalam lemak. Steroid yang paling banyak yaitu sterol (steroid alkohol). Salah satu contoh dari sterol yaitu kolesterol. Kolesterol memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar pada bagian kepalanya, sedangkan bagian yang lain bersifat nonpolar yang memiliki struktur yang kaku (Lehninger, 1982).



Gambar 2.4. Struktur kolesterol (Sumber : Lehninger, 1982)

Triasilgliserol atau trigliserida (lemak) merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak (C4 sampai C24). Asam lemak yaitu memiliki gugus karboksil dan hidrokarbon (ekor) yang bersifat nonpolar. Hal ini yang menyebabkan kebanyakan lipida tidak larut dalam air. Jenis trigliserida bergantung pada komponen asam lemak yang berikatan dengan gliserol melalui ikatan ester. Triasilgliserol sederhana merupakan lemak yang mengandung satu jenis asam lemak, contohnya yaitu tristeroilgliserol (hanya mengandung asam stearat dan gliserol). Triasilgliserol campuran merupakan lemak yang mengandung dua atau lebih asam lemak yang berbeda, contohnya margarin (Lehninger, 1982). Kandungan asam lemak pada margarin yaitu asam miristat, asam palmitat, asam palmitoleinat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat, asam γ -linolenat, asam arakidat, asam eikosenat, asam erukat dan asam lignoserat (Nazir dkk., 1976).



Gambar 2.5. Reaksi pembentukan lemak (Sumber : Lehninger, 1982)

Lemak dapat menyebabkan obesitas sehingga beresiko terkena penyakit jantung. Konsumsi makanan yang mengandung lemak secara terus menerus dapat menyebabkan sirkulasi darah menurun. Hal ini disebabkan karena adanya penumpukan lemak dalam tubuh (Rajveer dan Monika, 2012). Kandungan trigliserida pada membran *brush border* usus ayam sebesar 2,5-3,9%. Asam lemak yang terkandung pada trigliserida usus ayam terdapat pada tabel 2.5.

Tabel 2.5 Kadar (%) asam lemak usus ayam

Asam Lemak	Usus Halus	Duodenum
Asam miristat (C14:0)	1.01±0.01	1.03±0.01
Asam Palmitat (C16:0)	25.22±0.18	25.91±0.67
Asam palmitoleinat (C16:1n7)	4.64±0.13	5.22±0.18
Asam Stearat (C18:0)	8.73±0.29	8.61±0.41
Asam Oleat (C18:1n9)	32.09±0.26	35.14±0.31
Asam lemak vacenat (C18:1n7)	0.07±0.01	0.07±0.01
Asam lemak linoleat (C18:2n6)	17.79±0.31	16.72±0.37
Asam lemak gama linoleat (C18:3n6)	0.19±0.00	0.18±0.00
Asam lemak linolenat (C18:3n3)	0.67±0.02	0.72±0.02
Asam 11-Eicosanoat (C20:1n9)	0.46±0.02	0.42±0.01
Asam arakidonat (C20:4n6)	7.39±0.14	4.78±0.22
Asam eikosapentanoat (C20:5n3)	0.22±0.01	0.14±0.00
Asam Cis-13,16-Dokosadienoat (C22:4n6)	1.24±0.04	0.79±0.04
Asam lemak dokosaheksaenoat (C22:6n3)	0.29±0.05	0.27±0.02
Asam lemak jenuh (SFA)	34.97±0.46	35.55±1.06
Asam lemak tidak jenuh (UFA)	65.03±0.46	64.45±1.06
<i>Monounsaturated fatty acid</i> (MUFA)	37.26±0.21	40.85±0.44
<i>Polyunsaturated fatty acid</i> (PUFA)	27.78±0.46	23.61±0.65
n-3 (PUFA)	1.17±0.02	1.14±0.04
n-6 (PUFA)	26.61±0.47	22.47±0.61
n6/n3	22.75±0.78	19.76±0.23
MUFA/SFA	1.07±0.02	1.15±0.05
PUFA/SFA	0.8±0.02	0.67±0.04

(Sumber : Seong dkk., 2015)

Asam lemak dapat dibagi menjadi dua yaitu asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Asam lemak tak jenuh mengandung satu atau lebih ikatan ganda. Ikatan ganda pada asam lemak ini mudah teroksidasi sehingga kurang stabil jika dibandingkan dengan asam lemak jenuh (Rustan dan Drevon, 2005). Tabel 2.5 menunjukkan bahwa kandungan asam lemak jenuh tertinggi pada usus ayam yaitu asam palmitat, sedangkan kandungan asam lemak tak jenuh tertingginya yaitu asam oleat. Asam oleat mengandung satu ikatan rangkap. Tabel 2.5 juga menunjukkan bahwa kandungan asam lemak tak jenuh pada usus ayam cukup tinggi, sehingga struktur lemak yang akan dihasilkan bukan padatan melainkan berupa cairan.

Usus ayam, selain mengandung lipida, air dan protein juga mengandung vitamin. Vitamin adalah suatu mikronutrien organik esensial yang diperlukan dalam jumlah yang sedikit, misalnya vitamin B₆ hanya dibutuhkan kurang lebih 2 mg/hari dan vitamin B₁₂ kurang dari 3 µg/hari. Vitamin ini dapat bertindak sebagai katalisator untuk mengubah makronutrien. Vitamin dapat dikelompokkan menjadi dua kelas berdasarkan kelarutannya, yaitu vitamin yang larut dalam air dan larut dalam lemak. Vitamin yang larut dalam air yaitu asam pantotenat, vitamin B₁, asam nikotinat, vitamin B₂, vitamin B₆, asam folat, vitamin B₁₂, vitamin C dan biotin. Vitamin yang larut didalam lemak adalah vitamin A, D, E, dan K. Vitamin ini merupakan senyawa berminyak yang tidak larut dalam air (Lehninger, 1982). Vitamin yang terdapat di usus ayam yaitu vitamin A, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₃ dan vitamin B₅. Jumlah vitamin usus ayam kecil dan usus dua belas jari terdapat pada tabel 2.5.

Tabel 2.6. Kandungan vitamin usus ayam

Vitamin	Usus Kecil	Usus Dua Belas Jari
Vitamin A (µgRE/100g)	13.24±7.35	11.18±1.28
Vitamin B ₁ (mg/100g)	0.02±0.00	0.01±0.00
Vitamin B ₂ (mg/100g)	0.13±0.01	0.10±0.01
Vitamin B ₃ (mg/100g)	0.86±0.08	0.93±0.03
Vitamin B ₅ (mg/100g)	0.32±0.03	0.29±0.02
Vitamin B ₆ (mg/100g)	0.001±0.00	-

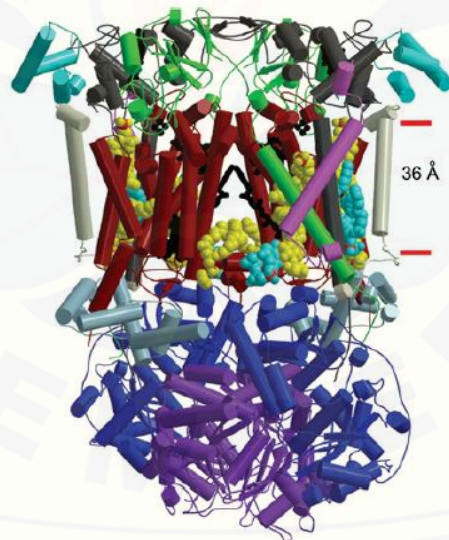
(Sumber : Seong dkk., 2015).

Kandungan vitamin pada usus ayam memiliki kadar yang berbeda-beda. Kandungan vitamin tertinggi pada usus halus dan usus dua belas jari ayam yaitu

vitamin B₃. Vitamin B₃ (nikotinamida) merupakan vitamin yang tersusun dari dua enzim (nikotinamida adenin dinukleotida (NAD) dan nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NADP)) yang saling berhubungan. Kekurangan vitamin B₃, maka akan menyebabkan tubuh terserang penyakit kurang gizi pellagra (kulit kasar) (Lehninger, 1982).

2.2.4. Interaksi protein dan lipida dalam membran

Lipida dapat berikatan protein membentuk lipoprotein. Plasma lipoprotein mengandung lipida polar dan trigliserida, serta kolesterol dan esternya. Trigliserida nonpolar dan kolesterol terletak pada lapisan sebelah luar dari bagian hidrofilik rantai polipeptida yang dapat larut dalam air dan bagian kepala fosfolipida polar. Kulit luar lipoprotein yang bersifat hidrofilik akan menghadap ke air (Lehninger, 1982). Lipida dan komponen lainnya seperti protein dapat berinteraksi secara fisik dalam matriks jaringan usus ayam. Interaksi antara lipida dengan protein terdapat pada gambar



Gambar 2.6. Ikatan lipida pada membran protein (Sumber : Hunte, 2005)

Gambar 2.6 menunjukkan interaksi lipida dalam membran. Lipida pada gambar 2.6 ditunjukkan oleh warna kuning. Lipida tersebut dapat berinteraksi dengan membran protein melalui tiga tipe ikatan yaitu kulit dari lipida annular terikat pada permukaan protein menyerupai struktur bilayer, sedangkan lipida nonannular terbenam pada rongga dan celah pada permukaan protein. Lipida protein integral

berada pada protein membran, sehingga ketika protein tersebut dihidrolisis maka akan menyebabkan ikatan lipida pada membran protein melemah dan akan terputus, sehingga lipida dapat dipisahkan dari protein (Hunte, 2005).

2.2.5. Enzim Protease Usus Ayam

Enzim merupakan protein fungsional yang memiliki berat molekul sebesar 12.000 hingga 1 juta kDa, sehingga enzim lebih besar jika dibandingkan dengan substratnya. Aktivitas katalitiknya bergantung pada struktur primer, sekunder dan tersiernya, sehingga apabila struktur tersebut dihancurkan oleh pemanasan dengan asam kuat akan menyebabkan aktivitasnya menurun. Rantai samping enzim yang berupa asam amino (sisi aktif) dapat menentukan jenis molekul yang dapat berinteraksi dengan enzim tersebut. Enzim juga memiliki molekul nonprotein yang berukuran kecil yang bergabung dengan sisi aktifnya. Molekul ini dapat digunakan untuk menentukan spesifitas substrat. Molekul kecil nonprotein ini dapat disebut sebagai kofaktor apabila terikat secara nonkovalen dengan protein dan sebagai gugus prostetik apabila terikat secara kovalen dengan protein (Lehninger, 1982).

Enzim protease merupakan salah satu enzim yang sangat penting pada saluran pencernaan karena dapat memutus ikatan peptida, sehingga akan menghasilkan asam amino yang diperlukan bagi tubuh. Usus ayam merupakan salah satu organ pencernaan yang dapat digunakan sebagai sumber protease. Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya aktivitas proteolitik pada usus ayam, yaitu sebesar 21,9 unit/mL (usus ayam tanpa lapisan mukosa) dan 73,13 unit/mL (usus ayam yang memiliki lapisan mukosa) (Raju dkk., 1997). Enzim protease yang terdapat di dalam usus ayam di Negara India yaitu *cathepsin D*, *cathepsin B*, *cathepsin H*, *cathepsin L*, Phe-Arg aminopeptidase, Ala aminopeptidase, Leu aminopeptidase, Pro aminopeptidase, Tyr aminopeptidase dan *alkaline proteases* (Jamdar dan Harikumar, 2005).

Tabel 2.7. Kadar enzim protease dalam usus ayam

Enzim	Kadar dalam usus ayam
<i>Cathepsin B</i>	69,5 ± 0.78 (48,0%)
<i>Cathepsin D</i>	4700 ± 37.00 (53,0%)
<i>Cathepsin H</i>	310 ± 4.68 (39,0%)
<i>Cathepsin L</i>	843.9 ± 61.00 (27,0%)
Phe-Arg aminopeptidase	408.8 ± 8.24 (34,0%)
Ala aminopeptidase	169.2 ± 4.17 (66,0%)
Leu aminopeptidase	165 ± 8.03 (36,6%)
Pro aminopeptidase	46 ± 2.62 (34,0%)
Tyr aminopeptidase	190.9 ± 14.52 (38,5%)
Alkaline proteases	1346 ± 10.30 (64,0%)

(Sumber : Jamdar dan Harikumar, 2005).

Cathepsin merupakan jenis protease intraseluler yang berfungsi untuk mendegradasi protein di lisosom serta pada organel intraseluler lainnya. Enzim ini dapat ditemukan di permukaan sel, sel T, tumor dan organ sekresi (Turk dkk., 2001 dalam Joyce dkk., 2004). Jenis *cathepsin* yang terkandung pada usus ayam yaitu *cathepsin B*, *D*, *H* dan *L*. *Cathepsin B* merupakan jenis peptidase sistein yang berasal dari keluarga enzim papain. Enzim ini dapat mengkatalis pembelahan pada ikatan peptida yang berlangsung dengan menggunakan dua mekanisme, yaitu serangan endoproteolitik dan serangan dari C terminal yang dilakukan oleh aktivitas peptidil dipeptidase dan karboksipeptidase. *Cathepsin* ini memiliki aktivitas endopeptidase optimum pada pH 6,0 (Barret dan Kirschke, 1981). *Cathepsin B* memiliki berat molekul sebesar 28.000 Da dan aktivitasnya akan menurun ketika pH berada diatas 7,0 (Yamashita dan Konagaya, 1990).

Cathepsin D adalah endopeptidase aspartat lisosom yang relatif stabil di jaringan unggas. *Cathepsin D* pada usus ayam yang terdapat di Negara India memiliki aktivitas optimum pada pH 2-2,5 dan suhu 60 °C dalam proses degradasi protein pada usus ayam (Jamdar dan Harikumar, 2005). *Cathepsin D* dapat menyerang ikatan peptida yang diapit oleh asam amino hidrofobik berukuran besar (Jamdar dan Harikumar, 2008). *Cathepsin D* dapat terdenaturasi ketika dipanaskan pada suhu 70 °C. *Cathepsin D* yang telah diisolasi akan stabil selama beberapa bulan jika disimpan pada suhu -14 °C dengan pH 6,0.

Cathepsin L merupakan protease sistein yang dapat ditemukan di lisosom. Enzim ini dapat menghidrolisis berbagai protein termasuk nebulin, myosin,

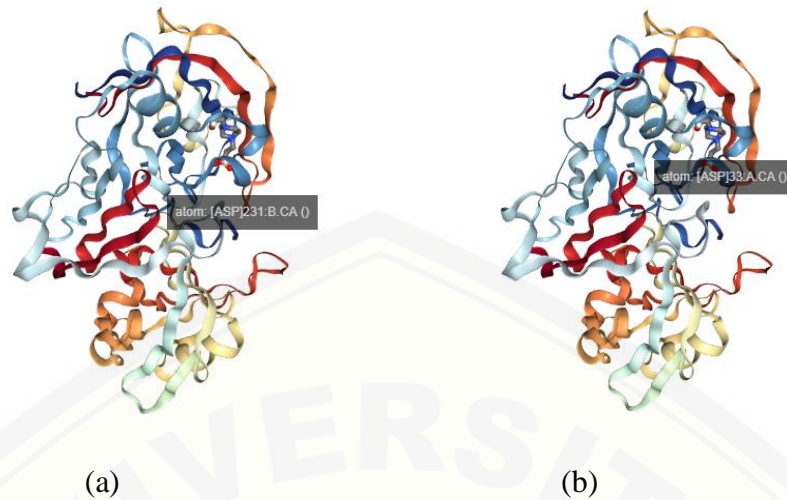
protein sitosol, aktin, elastin, dan kolagen. *Cathepsin L* memiliki berat molekul antara 28.000-30.000 Da. pH optimum *cathepsin L* yaitu 5,0-5,5, sedangkan temperatur optimumnya yaitu 45-50 °C (Visessanguan dkk., 2003). *Cathepsin H* memiliki pH optimum di 6,8 (Barret dan Kirschke, 1981).

Aminopeptidase merupakan enzim yang dapat mengkatalis pembelahan residu asam amino di posisi N-terminal pada ikatan peptida protein. Enzim ini banyak ditemukan di prokariotik dan eukariot. Aminopeptidase dapat dibagi menjadi dua yaitu endopeptidase dan eksopeptidase. Endopeptidase berfungsi untuk membelah ikatan peptida, sedangkan eksopeptidase dapat membelah residu yang berada pada posisi N-terminal atau C-terminal dari polipeptida (Gonzales dan Robert-baudouy, 1996). Aminopeptidase memiliki aktivitas yang optimum pada suhu 40-50 °C dan pada pH optimum 6,0-7,5 (Jamadar dkk., 2003). *Alkaline* protease merupakan enzim yang memiliki aktivitas optimum pada pH 9-11. Di suhu 50 °C. Enzim ini dapat ditemukan pada kondisi lingkungan dengan tingkat kebasaaan yang tinggi (Singhal dkk (2012) dalam Furhan dan Sharma, 2014).

2.3. Hidrolisis Protein Usus Ayam

Hidrolisis protein merupakan proses pemutusan ikatan peptida yang dapat dilakukan secara kimiawi dan enzimatik. Proses hidrolisis protein secara enzimatik lebih menguntungkan karena dapat menghasilkan asam amino bebas dan peptida yang bervariasi (dipeptida dan tripeptida) serta produk yang dihasilkan dapat diaplikasikan dalam industri pangan (Witono dkk., 2014). Hidrolisis secara enzimatik dapat dilakukan dengan menambahkan enzim dari luar dan memanfaatkan enzim yang berada di bahan itu sendiri (autolisis).

Cathepsin D merupakan enzim *aspartyl* protease yang mampu memotong pada bagian tengah polipeptida (endopeptidase). Enzim ini disintesis dalam retikulum endoplasma kasar dan terdiri dari 412 residu asam amino. *Cathepsin D* memiliki dua sisi aktif berupa residu asam aspartat yaitu Asp33 dan Asp231. Gambar 2.7 menunjukkan posisi sisi aktif pada enzim *cathepsin D*

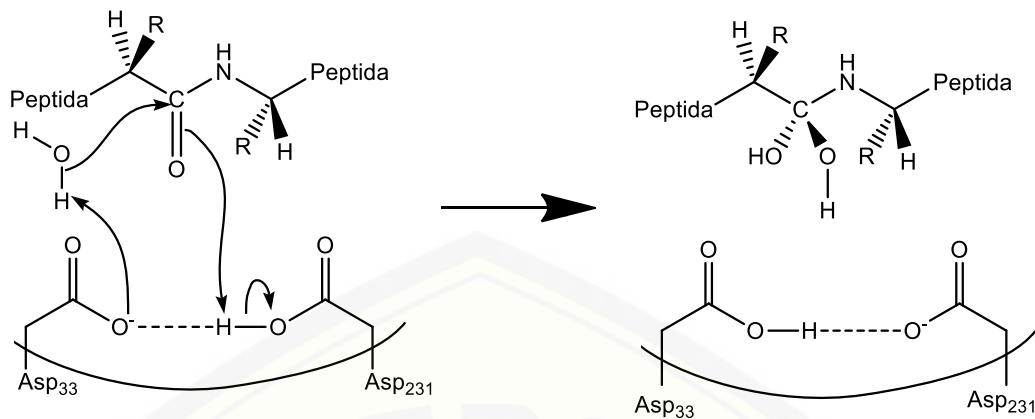


(a) Sisi Aktif Asp231; (b) Sisi Aktif Asp33

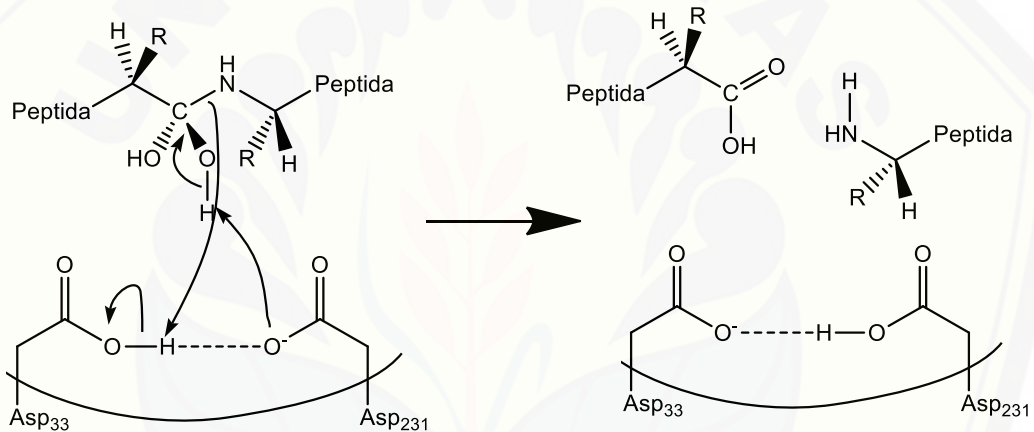
Gambar 2.7. Posisi sisi aktif pada enzim cathepsin D (Sumber : Lee dkk., 1998)

Sisi aktif Asp33 dan Asp 231 dibantu oleh molekul air untuk menghidrolisis ikatan peptida. Gugus karboksil yang terionisasi dari residu Asp33 dapat mengaktifkan molekul air, sehingga dapat menyebabkan pelepasan proton dari molekul air dan menghasilkan nukleofil berupa ion hidroksi. Nukleofil ini kemudian menyerang suatu elektrofil yang berupa karbon karbonil. Asp33 dapat bertindak sebagai basa karena dapat menerima proton dari molekul air. Sisi aktif yang lain yaitu Asp231 dapat bertindak sebagai asam yang dapat melepaskan protonnya untuk oksigen karbonil pada rantai polipeptida (Gacko dkk., 2007). Mekanisme ini terdapat pada gambar 2.8.

Reaksi selanjutnya yaitu, sisi aspartat bertindak sebagai basa kembali, dimana sisi ini menghilangkan proton pada gugus hidroksil yang terbentuk dari karbon karbonil sebelumnya. Pada kondisi yang sama, terjadi pemutusan ikatan antara atom karbon dengan nitrogen yang terjadi karena atom nitrogen mengambil proton dari sisi aktif lainnya pada aspartat protease. Reaksi ini menghasilkan asam karboksilat pada salah satu ujung peptida. Reaksi ini juga menghasilkan amino bebas pada sisi aspartat lainnya (Gacko dkk., 2007). Mekanisme reaksi yang terjadi terdapat pada gambar 2.9.



Gambar 2.8. Reaksi nukleofilik dengan substrat (Sumber : Ahern, 2019)



Gambar 2.9. Pemutusan ikatan peptida secara enzimatik (Sumber : Ahern, 2019)

Usus ayam merupakan sumber enzim protease karena mengandung *cathepsin*, *aminopeptidase* dan *alkaline* protease yang tinggi, sehingga hidrolisis proteinnya dapat dilakukan secara autolisis. Proses degradasi protein usus ayam secara autolisis telah dilakukan oleh Jamdar dan Harikumar (2005) yang dilakukan dengan menggunakan variasi suhu (28, 37, 50, 60, 70 dan 77 °C), pH (2,0; 2,5; 4,0; 6,3; 7,0 dan 8,5) dan waktu inkubasi (0,5;1,0; 2,0; 4,0 dan 5,5 jam). Hasil yang diperoleh yaitu proses degradasi protein usus ayam secara autoilis memiliki aktivitas optimum pada pH 2,5 dengan suhu 60 °C. Aktivitas optimum ini dilihat dengan adanya kadar TCA tertinggi pada kondisi tersebut. Hal ini dapat terjadi karena di dalam usus ayam mengandung enzim cathepsin D, dimana enzim ini

bersifat stabil pada unggas. Cathepsin D memiliki aktivitas optimum pada pH asam yaitu sekitar 2,0-2,5.

Proses degradasi protein usus ayam juga dipengaruhi oleh suhu, dimana proses degradasi protein akan meningkat seiring dengan semakin tingginya suhu. Suhu optimum yang dihasilkan yaitu pada 60 °C. Hal ini dikarenakan jika suhu lebih dari 60 °C misalnya pada 77 °C akan menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga akan menyebabkan aktivitas enzim menurun. Proses degradasi protein pada pH 2,5 dapat mempertahankan aktivitas enzim lebih dari 50% yang terjadi pada interval waktu 6 jam. Autolisis yang terjadi pada pH 2,5 menyebabkan sebagian besar protein yang berukuran 205-66 kDa akan terhidrolisis menjadi molekul yang lebih kecil dengan ukuran kurang dari sama dengan 45 dalam waktu dua jam, sedangkan jika hidrolisis berlangsung selama 6 jam, proses hidrolisis dapat dikatakan hampir selesai, karena semakin banyaknya molekul-molekul lebih kecil yang berukuran 10 kDa (Jamdar dan Harikumar, 2005).

Proses hidrolisis protein oleh enzim cathepsin D juga oleh penelitian yang dilakukan oleh Raju dkk (1997), dimana penelitian ini menggunakan enzim protease usus ayam untuk menghidrolisis protein pada daging. Proses hidrolisis ini menggunakan asam organik seperti asam asetat dan asam format untuk mengkondisikan pada pH 2,5 agar enzim dapat bekerja untuk menghidrolisis protein. Hasil yang diperoleh yaitu terdapat protein pada hidrolisat yang telah diinkubasi selama 72 jam, dengan kadar tertinggi diperoleh saat 80 gram daging dan 20 gram usus ayam ditambahkan 3 mL asam format yaitu sebesar 72,82 mg/mL. Hal ini membuktikan bahwa pada usus ayam terdapat enzim protease yang mampu memutus ikatan peptida pada protein.

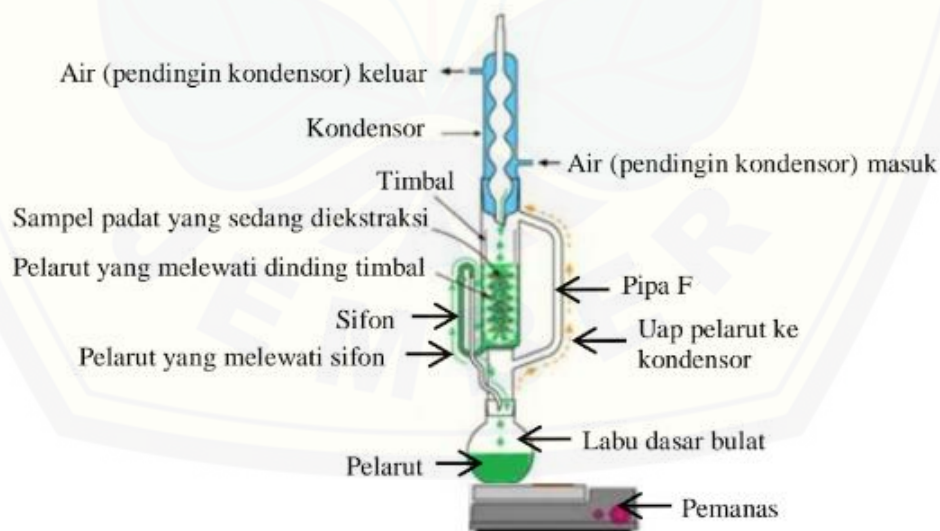
Penelitian yang sama mengenai proses hidrolisis protein secara autolisis juga telah dilakukan oleh Aulia (2017). Penelitian ini dilakukan dengan menginkubasi usus ayam pada pH 2,5; 3,5; 4,5; 5,5 selama 0,6,12 dan 18 jam. Hasil yang diperoleh yaitu, kadar nitrogen terlarut tertinggi dihasilkan ketika usus ayam diinkubasi pada pH 2,5 selama 18 jam. Hal ini membuktikan bahwa enzim protease usus ayam yang bekerja pada pH 2,5 (*cathepsin D*) mampu menghidrolisis protein usus ayam menjadi peptida-peptida yang lebih pendek

sehingga dapat larut dalam air. Kenaikan kadar protein terlarut pada saat usus ayam diinkubasi selama 18 jam tidak setinggi saat usus ayam diinkubasi selama 6 jam, hal ini dapat terjadi karena enzim cathepsin D hanya mampu mempertahankan aktivitasnya sebesar 50% selama 6 jam.

2.4. Pemisahan Lipida

2.4.1. Ekstraksi lipida

Ekstraksi lipida (trigliserida, sterol, lilin, fosfolipida, spingolipida, gangliosida dan ester asam lemak) dengan pelarut dapat dilakukan dengan menggunakan alat soxhlet. Metode ini merupakan ekstraksi padat cair, dimana pelarut dan sampel diletakkan secara terpisah. Prinsip kerja dari ekstraksi ini yaitu dengan menggunakan pelarut yang selalu baru saat mengekstraksi analit sehingga akan terjadi ekstraksi secara kontinu dengan jumlah pelarut yang konstan. Kelebihan dari ekstraksi ini yaitu hanya menggunakan pelarut yang sedikit selama proses berlangsung. Proses pemisahan pelarut dengan analit yang telah diekstrak dapat dilakukan dengan cara menguapkan pelarutnya. Pelarut yang digunakan dalam metode ini memiliki titik didih yang rendah (volatil) (Leba, 2017).



Gambar 2.10. Alat Ekstraksi Sokhlet (Sumber : Leba, 2017).

Proses ekstraksi menggunakan alat sokhlet dilakukan dengan cara memanaskan pelarut yang terletak pada labu dasar bulat. Uap pelarut yang dihasilkan akan melewati pipi F dan selanjutnya akan terkondensasi pada kondensor, sehingga akan membasahi sampel yang terdapat pada timbal. Pelarut akan terus menerus terkondensasi hingga memenuhi timbal. Pelarut kemudian akan turun kembali kedalam labu dasar bulat melalui sifon dengan membawa analit berupa lipida seperti lemak. Proses ini akan terus berlanjut hingga pelarut pada sifon menjadi tidak berwarna (Leba, 2017).

Lipida seperti lemak merupakan senyawa organik yang bersifat nonpolar, sehingga dapat larut dalam pelarut organik non polar seperti aseton, heksana, alkohol, eter, benzena, petroleum eter, dietil eter dan pelarut organik non polar lainnya (Sahriawati, 2016). Pemilihan pelarut merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi lipida. Pemilihan pelarut ini dapat dipengaruhi oleh selektivitas, titik didih pelarut, inert dan tidak dapat bercampur dalam air. Syarat pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi adalah sebagai berikut

- a. Pelarut harus mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak (selektivitas)
- b. Pelarut harus memiliki titik didih yang cukup rendah agar mudah diuapkan
- c. Pelarut tidak boleh larut didalam air
- d. Pelarut harus bersifat inert agar tidak bereaksi dengan senyawa lainnya
- e. Bersifat ekonomis (harga yang murah).

(Juliando, 2016)

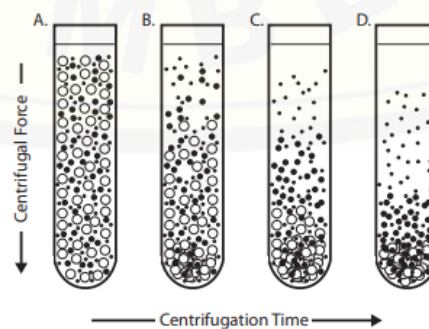
Hubungan antara jenis pelarut dengan kadar lemak hasil ekstraksi telah banyak diteliti. Penelitian yang dilakukan oleh Sahriawati (2016) yaitu lemak diekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksana, dietil eter, kloroform dan benzena pada suhu 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C dan 90 °C menggunakan metode ekstraksi pelarut dengan alat sokhlet. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa n-heksana pada suhu 90 °C dapat menghasilkan lemak dengan kadar yang tinggi. Kadar lemak yang dihasilkan 18,10%. Penggunaan suhu yang tinggi akan mempercepat proses pecahnya dinding sel, sehingga lemak atau minyak dapat dengan mudah diekstrak.

Penelitian tentang ekstraksi senyawa nonpolar seperti minyak zaitun juga telah dilakukan oleh Banat dkk (2013) dengan menggunakan pelarut heksana, etanol, petroleum eter, isopropanol dan carbon tetraklorida pada suhu 70 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa heksana merupakan pelarut terbaik untuk mengekstrak kandungan minyak pada minyak zaitun, dimana kadar minyak yang dihasilkan yaitu sekitar 11%. Hal ini menjelaskan bahwa pelarut heksana efektif digunakan untuk mengekstrak kandungan lipida seperti lemak atau minyak dalam suatu bahan, sehingga dalam penelitian ini menggunakan pelarut heksana (*like dissolve like*) untuk mengekstrak kandungan lipida pada usus ayam.

2.4.2. Pemisahan lemak dengan sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan teknik pemisahan partikel-partikel padatan dari cairan dengan menggunakan gaya gravitasi. Padatan harus memiliki massa jenis yang lebih besar dari massa jenis cairan agar mudah untuk dipisahkan. Jika massa jenis suatu padatan semakin besar maka gaya gravitasi yang diberikan semakin besar, sehingga padatan akan cenderung untuk tertarik kebawah. Mekanisme pemisahan yang dilakukan dengan sentrifugasi menurut Istianah dkk (2018) yaitu

- a. Kecepatan putar pada alat sentrifugator dapat memberikan gaya sentrifugal pada padatan. Gaya gravitasi akan bekerja pada padatan ketika gaya sentrifugal diberikan pada partikel.
- b. Partikel-partikel padatan akan bergerak menuju arah resultan gaya. Adanya pengaruh gaya gravitasi ini, maka padatan akan terpisah secara perlahan dari cairannya karena adanya perbedaan densitas.



Gambar 2.11. Pemisahan dengan sentrifugasi (Sumber : Frei, 2014)

Pengendapan partikel dapat dipercepat dengan menggunakan gaya sentrifugal. Gaya sentrifugal yang selalu dipercepat akan menghasilkan suatu pelet yang mengandung partikel-partikel yang memiliki kerapatan yang besar (Frei, 2014). Pemisahan lipida seperti lemak dari hidrolisat protein dapat dilakukan melalui berbagai cara yaitu dengan cara sentrifugasi dan pengendapan protein selama 24 jam. Hidrolisat protein yang dihasilkan berbentuk cair. Hidrolisat protein diendapkan selama 24 jam untuk memisahkan lemak dari protein. Hasil yang diperoleh lalu disaring menggunakan kertas saring (Annisa dkk., 2017). Hal ini kurang efisien karena prosesnya dilakukan selama 24 jam, sehingga proses pemisahan lemak dapat dilakukan dengan sentrifugasi agar proses pemisahannya lebih cepat. Sentrifugasi ini dapat dilakukan pada 5000 rpm.

Lipida pada usus ayam seperti fosfolipida, asam lemak bebas dan trigliserida memiliki massa jenis lebih rendah jika dibandingkan dengan air. Fosfolipida memiliki massa jenis sebesar 0,9 g/mL, asam lemak bebas memiliki massa jenis berkisar 0,8-0,9 g/mL sedangkan trigliserida memiliki massa jenis sebesar 0.915 g/mL (Sciencelab, 2005). Lipida seperti kolesterol memiliki massa jenis sebesar 1,067 g/mL. Kolesterol ini merupakan sterol yang dapat larut dalam lemak (Lehninger, 1982).

2.5. Analisis Lipida secara Kuantitatif

Metode sokhlet merupakan metode yang sederhana dalam penentuan kadar lipida jika dibandingkan dengan metode lainnya. Kadar lipida yang diperoleh dapat ditentukan dengan cara mengukur berat lipida yang dihasilkan ketika pelarut telah diuapkan (Hafiluddin, 2011). Kadar lemak dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut

$$\% \text{lemak} = \frac{(W_c + W_f) - W_c}{W_s} \times 100\% \dots\dots\dots(2.1)$$

Keterangan :

W_c = Berat wadah (g)

W_f = berat lemak (g)

W_s = berat sampel (g)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penelitian ini dimulai pada Bulan Desember 2018 sampai Mei 2019.

3.2. Alat dan Bahan

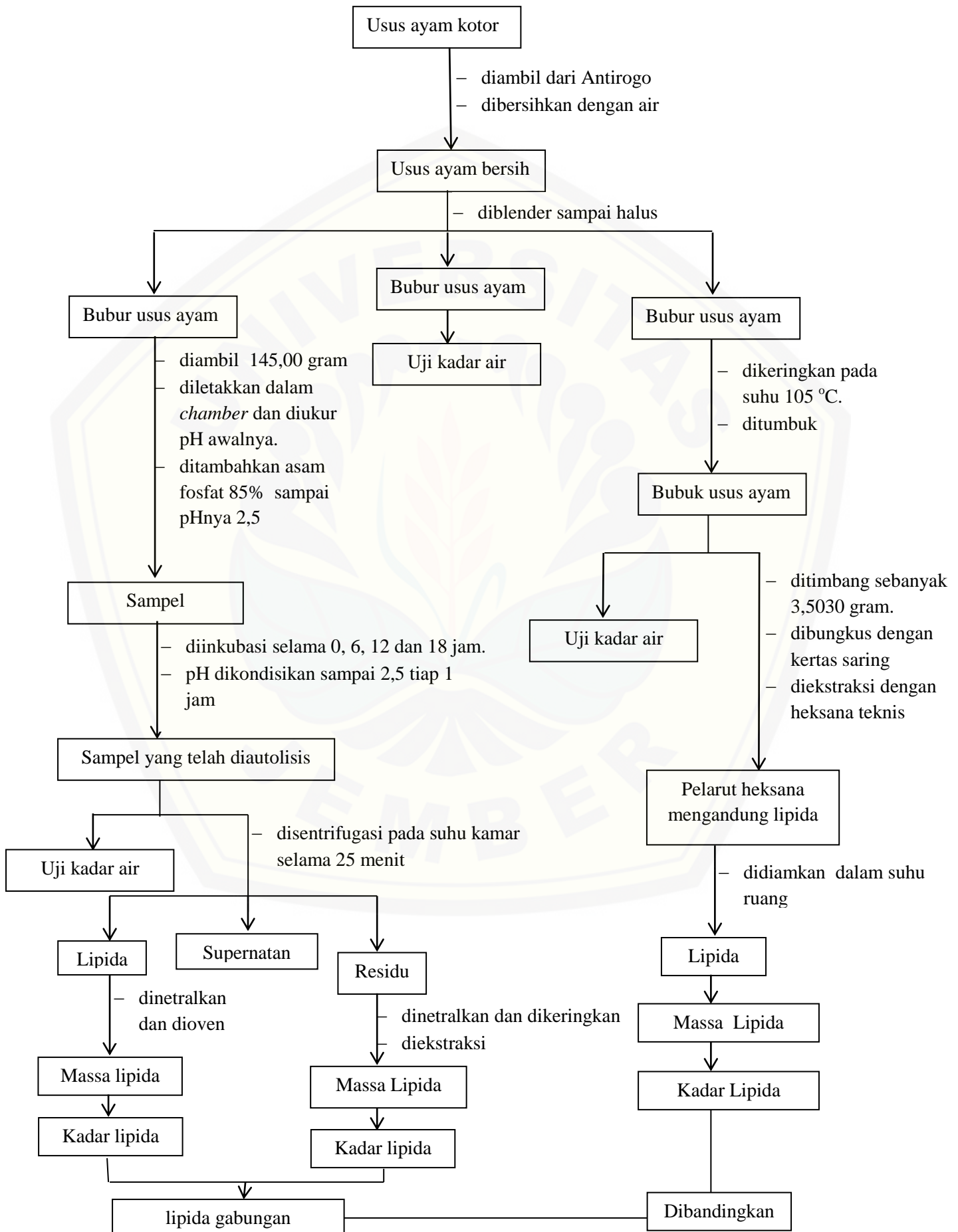
3.2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu beaker (pyrex) 50 mL dan 100 mL, pipet tetes, batang pengaduk, oven, *evaporating dish*, kaca arloji, spatula, kondensor, statif dan klem, mantel pemanas, pompa air, ekstraktor soxhlet, labu alas bulat, baskom, neraca analitik *Merck Matrix Type Dj 303 A*, pH meter tanah, chamber (toples kaca), gelas ukur (pyrex) 10 mL dan sentrifugator.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu usus ayam yang diambil dari daerah Antirogo Kabupaten Jember, asam fosfat 85%, akuades, kertas saring, *n-hexane* (teknis) dan aluminium foil.

3.3. Diagram Alir Penelitian



3.4. Prosedur kerja

3.4.1. Preparasi sampel

Usus ayam broiler kotor dipisahkan dari bagian-bagian yang tidak diperlukan seperti pankreas, caecum, usus besar dan kloaka untuk memperoleh usus halus yang akan digunakan sebagai sampel. Usus halus yang diperoleh dibersihkan dengan air yang mengalir sampai bersih. Usus halus yang telah bersih kemudian diblender hingga menjadi bubur (halus). Sampel usus ayam ini akan diuji kadar airnya, dipisahkan kandungan lipidanya melalui autolisis dan diekstrak lipidanya dengan ekstraksi pelarut menggunakan n-heksana.

3.4.2. Uji kadar air bubur usus ayam

Bubur usus ayam sebanyak 1,0247 gram diletakkan pada *evaporating dish* yang telah diketahui beratnya. Bubur usus ayam ini kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C selama tiga jam. Bubur usus ayam yang telah kering kemudian diletakkan dalam desikator selama 30 menit. Sampel yang telah kering kemudian ditimbang. Sampel yang telah ditimbang kemudian dikeringkan lagi didalam oven. Hal ini terus dilakukan hingga memperoleh berat yang konstan. Massa yang hilang dari sampel selama proses pemanasan merupakan massa dari air yang menguap. Dilakukan tiga kali pengulangan.

3.4.3. Ekstraksi lipida usus ayam menggunakan pelarut n-heksana

Sampel yang digunakan untuk proses ekstraksi lipida dikeringkan pada suhu 105 °C sampai kering. Sampel yang telah kering lalu ditumbuk dengan mortar dan alu sampai menjadi bubuk usus ayam. Bubuk usus ayam yang diperoleh kemudian ditimbang sebanyak 1,0316 gram untuk diuji kadar airnya. Bubuk usus ayam tersebut kemudian ditimbang sebanyak 3,5030 gram. Bubuk usus ayam lalu dibungkus dengan kertas saring dan diletakkan dalam ekstraktor. Pelarut heksana (teknis) sebanyak 45 mL dituang ke dalam labu alas bulat. Ekstraktor sokhlet disusun dan kondensor dialiri dengan air dingin. Proses ekstraksi dilakukan selama satu jam (Banat dkk., 2013). Setelah proses berjalan selama satu jam, pelarut heksana yang mengandung lipida diuapkan pada suhu ruang hingga memiliki berat yang konstan. Lipida yang diperoleh dihitung kadarnya. Dilakukan tiga kali pengulangan.

3.4.4. Hidrolisis protein usus ayam secara autolisis

Sampel bubur ayam yang dihasilkan dari preparasi sampel (3.4.1) diletakkan dalam empat chamber, dimana masing-masing *chamber* berisi 145,00 gram. pH awal sampel dalam setiap *chamber* diukur. Sampel lalu ditambahkan asam fosfat 85 % hingga pHnya menjadi 2,5. Catat volume asam fosfat yang ditambahkan untuk mencapai pH 2,5 disetiap chambernya. Sampel kemudian diletakkan dalam *waterbath* dengan suhu 35 °C dan diinkubasi selama 0, 6, 12 dan 18 jam. Selama inkubasi dilakukan pengontrolan pH setiap satu jam. pH sampel yang menurun akan disesuaikan kembali hingga 2,5 dengan menambahkan asam fosfat 85%. Sampel yang telah diinkubasi kemudian diukur pH-nya. Apabila pH sampel naik, maka ditambahkan asam fosfat kembali sampai pHnya menjadi 2,5. Catat volume asam fosfat yang digunakan. Diukur pH akhir sampel setelah penambahan.

3.4.5. Pemisahan lipida dari hasil autolisis

Sampel hasil hidrolisis protein secara autolisis dihomogenkan, lalu diambil sebanyak 3,5000 gram dan diletakkan dalam *tube sentrifuse* 10 mL. Sampel kemudian ditambahkan air dengan perbandingan 1:1 (0 jam) dan 1:2 (untuk inkubasi 6, 12 dan 18 jam). Sampel kemudian dipisahkan kandungan lipidanya dengan menggunakan *sentrifuse* merk PLC *series* selama 25 menit dengan skala 10. Lapisan lipida yang dihasilkan pada waktu 25 menit dipisahkan dari supernatan dan residunya. Lipida yang diperoleh kemudian diukur pHnya dan dinetralkan dengan menggunakan akuades. Akuades yang ditambahkan lalu dibuang. Lipida yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C. Lipida yang telah kering kemudian ditimbang. Proses pengeringan lipida dilakukan secara berulang hingga memperoleh berat lipida yang konstan. Dihitung massa dan kadar lipida yang diperoleh. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan delapan kali *tube* yang dilakukan tiga kali ulangan.

3.4.6. Pemisahan lipida dari residu hasil sentrifugasi

Residu hasil sentrifugasi mengandung protein dan lipida yang belum berhasil dipisahkan selama proses autolisis. Residu yang dihasilkan dinetralkan dengan menggunakan akuades. Residu yang telah dinetralkan, kemudian ditimbang dan dikeringkan pada suhu 105 °C untuk diuji kadar airnya. Residu

yang telah kering, lalu dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam *ekstraktor*. Pelarut heksana sebanyak 45 mL diletakkan dalam labu alas bulat dan set alat sokhlet dirangkai. Kondensor dialiri dengan menggunakan air dingin untuk mempercepat proses kondensasi. Proses ekstraksi dilakukan selama satu jam. Pelarut heksana yang mengandung lipida lalu diuapkan pada suhu ruang. Lipida yang dihasilkan lalu ditimbang dan dijumlahkan dengan hasil lipida yang diperoleh dari proses pemisahan lipida hasil autolisis. Total lipida yang dihasilkan dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari hasil ekstraksi lipida pada bubuk usus ayam broiler menggunakan pelarut heksana.

3.5. Metode Analisis

3.5.1. Analisis kadar air

Kadar air yang diperoleh dari pengeringan sampel bubuk usus ayam dapat dihitung melalui persamaan berikut

$$\text{Kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa akhir (g)

m_s = massa sampel (g)

3.5.2. Analisis kadar lipida

Kadar lipida yang diperoleh dari hasil hidrolisis protein secara autolisis dan hasil ekstraksi menggunakan pelarut heksana dapat dihitung melalui persamaan berikut

$$W_{sk} = W_s \times \% \text{ air} \dots\dots\dots (3.2)$$

$$\% \text{ lipida} = \frac{W_2 - W_1}{W_{sk}} \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan :

W_{sk} = massa sampel kering

W_s = massa sampel basah

W_2 = massa akhir

W_1 = massa kosong

BAB 5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka kesimpulan yang diperoleh yaitu

1. Proses hidrolisis protein usus halus ayam broiler dipengaruhi oleh waktu inkubasi, dimana semakin lama usus ayam diinkubasi yaitu dari 0 jam hingga 18 jam akan semakin banyak protein yang terhidrolisis sehingga lipida semakin banyak yang terlepas.
2. Usus ayam yang semakin lama diinkubasi yaitu dari 0 jam hingga 18 jam maka akan menghasilkan residu semakin rendah. Residu paling rendah dihasilkan ketika usus ayam diinkubasi selama 18 jam.
3. Metode autolisis efektif digunakan untuk memisahkan lipida pada usus ayam, dimana metode ini dapat membuat lipida usus ayam terlepas dari jaringan sebanyak 64,1638% dari total lipida usus ayam ketika diinkubasi selama 18 jam.

5.2. Saran

Saran pada penelitian ini yaitu perlu adanya variasi suhu saat inkubasi agar dapat mengetahui kondisi optimum enzim protease dapat bekerja. Penelitian yang dilakukan harus melakukan pengulangan dengan menggunakan chamber yang berbeda agar dapat mengetahui keakuratan hasil. Proses autolisis ini perlu menambah jangka waktu inkubasi. Hal ini dilakukan untuk melihat berapa lama enzim protease mampu menghidrolisis protein pada usus ayam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, Merryana dan Bambang Wirjatmadi. 2012. *Pengantar Gizi Masyarakat*. Jakarta : Kencana.
- Ahern, K., I. Rajagopal, dan T. Tan. 2019. Mechanisms of Catalysis. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_For_All_\(Ahern%2C_Rajagopal%2C_and_Tan\)/4%3A_Catalysis/4.3%3A_Mechanisms_of_Catalysis](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_For_All_(Ahern%2C_Rajagopal%2C_and_Tan)/4%3A_Catalysis/4.3%3A_Mechanisms_of_Catalysis) [Diakses pada 11 Juni 2019].
- Americanlecithin. 2007. Material Safety Data Sheet Phospholipid. <http://www.americanlecithin.com>. [Diakses pada tanggal 19 Juni 2019].
- Anggraini, A. dan Yunianta. 2015. Pengaruh suhu dan lama hidrolisis enzim papain terhadap sifat kimia, fisik dan organoleptik sari edamame. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 3(3):1015–1025.
- Annisa, S., Y. Sastro, dan U. Amalia. 2017. Pengaruh perbedaan spesies ikan terhadap hidrolisat protein ikan dengan penambahan enzim papain. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 13(1):24–30.
- Aulia, E., A. Sjaifullah, dan W. Handayani. 2017. Kadar nitrogen dan protein terlarut hasil degradasi autolisis protease usus ayam. *Jurnal Ilmu Dasar*. XX(x):1–2.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember. 2017. Populasi Ayam Broiler Kabupaten Jember Tahun 2013-2017. <https://jemberkab.bps.go.id/>. [Diakses tanggal : 10 Oktober 2018].
- Banat, F., P. Pal, N. Jwaied, dan A. Al-Rabadi. 2013. Extraction of olive oil from olive cake using soxhlet apparatus. *American Journal of Oil and Chemical Technologies*. 1(4):1–7.
- Barret, A. J. dan H. Kirschke. 1981. Cathepsin b , cathepsin h , and cathepsin l. *Proteases of Diverse Origin and Function*. 80:535–561.

- Bioscience, Jena. 2015. Data Sheet of L- α -Phosphatidylinositol. <http://www.jenabioscience.com>. [Diakses pada 1 Juli 2019].
- Bioscience, Jena. 2015. Data Sheet of L- α -Phosphatidylserine. <http://www.jenabioscience.com>. [Diakses pada 1 Juli 2019].
- Bioscience, Jena. 2016. Data Sheet of Spingomyelin. <http://www.jenabioscience.com>. [Diakses pada 1 Juli 2019].
- Bjerrum, L., R. M. Engberg, T. Leser, B. Jensen, K. Finster, dan K. Pedersen. 2014. Microbial community composition of the ileum and cecum of broiler chickens as revealed by molecular and culture-based techniques. *Poultry Science*. 85(7):1151–1164.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2017. *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan*. Jakarta : Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI.
- Fadilah, Roni. 2005. *Panduan Mengelola Peternakan Ayam Broiler Komersial Edisi Revisi*. Depok : Agromedia Pustaka.
- Fadilah, Roni dan A. Polana. 2011. *71 Mengatasi Penyakit pada Ayam*. Jakarta : AgroMedia Pustaka.
- Faoziyah, A. R. 2014. Pembuatan glutamate alami menggunakan ikan tenggiri sebagai alternatif bumbu penyedap rasa non msg. *Jurnal Kesehatan Al-Irsyad (JKA)*. V(1):9–14.
- Frei, M. 2014. Biofiles. *Sigma-Aldrich*. 6(5):6–7.
- Furhan, J. dan S. Sharma. 2014. Microbial alkaline proteases : findings and applications. *International Journal of Invention in Pharmaceutical Sciences*. 2(4):823–834.
- Gacko, M., A. Minarowska, A. Karwowska, dan Ł. Minarowski. 2007. Cathepsin d inhibitors. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 45(4):291–313.

- Galili, G., R. Amir, dan A. R. Fernie. 2016. The regulation of essential amino acid synthesis and accumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 67(1):153–178.
- Garriga, C., C. M. Vázquez, V. Ruiz-Gutiérrez, dan J. M. Planas. 2002. Regional differences in transport, lipid composition, and fluidity of apical membranes of small intestine of chicken. *Poultry Science*. 81(4):537–545.
- Gerindra, K. 1993. *Proses Enzimatik pada makanan*. Jakarta : Gramedia Press.
- Gonzales, T. dan J. Robert-baudouy. 1996. Bacterial aminopeptidases: properties and functions. *FEMS Microbiology Reviews*. 18:319–344.
- Hafiluddin. 2011. Karakteristik proksimat dan kandungan senyawa kimia daging putih dan daging merah ikan tongkol (*euthynnus affinis*). *Jurnal KELAUTAN*. 4(1):1–9.
- Hewan, D. J. P. dan K. 2017. *Statistik Peternakan Dan Kesehatan Hewan*. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian RI.
- Hidajati, N. 2005. Peran bawang putih (*allium sativum*) dalam meningkatkan kualitas daging ayam pedaging. *Media Kedokteran Hewan*. 21(1):32–34.
- Hunte, C. 2005. Specific protein–lipid interactions in membrane proteins. *Biochemical Society Transactions*. 33(5):938.
- Istianah, Nur., Agustin Krisna Wardani dan Feronika Heppy S. 2018. *Teknologi Bioproses*. Malang : UB Press.
- Jamadar, V.S. Jamdar, S. Dandekar, dan P. Harikumar. 2003. Purification and characterization of aminopeptidase from chicken intestine v.k. jamadar, s.n. jamdar, s.p. dandekar, p. harikumar food. *JFS: Food Chemistry and Toxicology*. 68(2):438–443.

- Jamdar, S. N. dan P. Harikumar. 2005. Autolytic degradation of chicken intestinal proteins. *Bioresource Technology*. 96(11):1276–1284.
- Jamdar, S. N. dan P. Harikumar. 2008. A rapid autolytic method for the preparation of protein hydrolysate from poultry viscera. *Bioresource Technology*. 99(15):6934–6940
- Julianto, Tatang S. 2016. *Minyak Atsiri Bunga Indonesia*. Yogyakarta : Deepublish.
- Joyce, J. A., A. Baruch, K. Chehade, N. Meyer-morse, E. Giraud, F. Tsai, D. C. Greenbaum, J. H. Hager, M. Bogyo, dan D. Hanahan. 2004. Cathepsin cysteine proteases are effectors of invasive growth and angiogenesis during multistage tumorigenesis. *Article*. 5:443–453.
- Ketaren, S., 1989. *Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak Pangan*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Leba, Maria Aloisia Uron. 2017. *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta : Deepublish.
- Lee, S.V, Gulnik dan J.W. Erickson. 1998. Conformational switching in an aspartic proteinase. <http://www.rcsb.org/structure/1LYW>. [Diakses pada 11 Juli 2019].
- Lehninger. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta : Erlangga.
- Nazir, D. J., B. J. Moorecroft, dan M. Mishkel. 1976. Fatty acid composition of margarine. *The American Journal Of Clinical Nutrition*. 29:331–339.
- Panda, B., Singh, R.P., 1980. Processing And Utilization Of Poultry Industrial By-Products. By-Products From Food Industries, Utilization And Disposal. *In: Association of Food Technologist, India, Symposium proceedings*. 58–63.

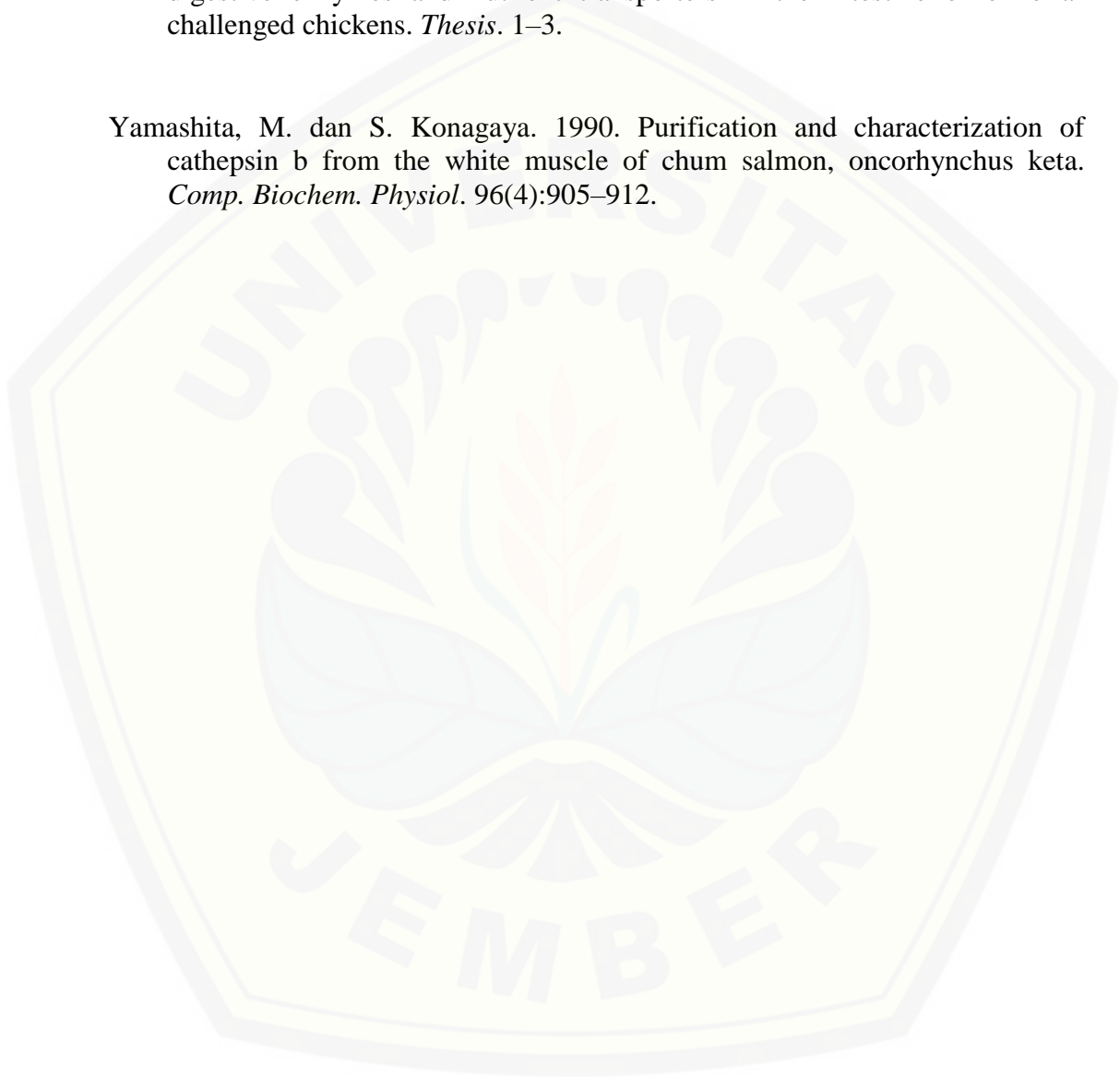
- Pichot, R., R. L. Watson, dan I. T. Norton. 2013. Phospholipids at the interface: current trends and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*. 14(6):11767–11794.
- Pratama, A., K. Suradi, R. L. Balia, H. Chairunnisa, H. A. Lengkey, D. S. Sutardjo, L. Suryaningsih, J. Gumilar, E. Wulandari, dan W. S. Putranto. 2015. Evaluasi karakteristik sifat fisik karkas ayam broiler berdasarkan bobot badan hidup. *Jurnal Ilmu Ternak*. 15(2):61–64.
- Raju, A. A., C. Rose, dan N. M. Rao. 1997. Enzymatic hydrolysis of tannery fleshings using chicken intestine proteases. *Animal Feed Science Technology*. 66(96):39–147.
- Rajveer, B. dan O. Monika. 2012. Junk food : impact on health. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2(3):67-69.
- Rao, J.R., Mahendrakar, N.S., Chakrabarty, N.M., Raghavan, S.L.,1996. Utilisation of fermented fish and poultry offals in feed for common carp (Cyprinus carpio). *Seafood Export J*. 27(3):17–23.
- Rustan, A. C. dan C. A. Drevon. 2005. Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of Life Sciences*. 1–7.
- Sahriawati. 2016. Optimasi proses ekstraksi minyak ikan metode soxhletasi dengan variasi jenis pelarut dan suhu berbeda. *Jurnal Galung Tropika*. 5(3):164–170.
- Said, N. I. dan S. Yudo. 2006. Rancang bangun instalasi pengolahan air limbah rumah potong hewan (rph) ayam dengan proses biofilter. *JAI*. 2(1):83–90.
- Santika, I. G. P. N. A. 2016. Pengukuran Tingkat Kadar Lemak Tubuh Melalui Jogging Selama 30 Menit Mahasiswa Putra Semester Iv Fpok IKIP PGRI Bali Tahun 2016. *Jurnal Pendidikan Kesehatan Rekreasi*. 1:89–98.
- Sciencelab. 2015. Material Safety Data Sheet of Cholesterol. <http://www.hmdb.ca/system/metabolites/msds/000/000/049/original/HMDB00067.pdf?1358893858>. [Diakses pada 10 Oktober 2018].

- Sciencelab. 2015. Material Safety Data Sheet of Fatty Acid. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9925441>. [Diakses pada 10 Oktober 2018]
- Seong, P. N., S. H. Cho, K. M. Park, G. H. Kang, B. Y. Park, S. S. Moon, dan H. Van Ba. 2015. Characterization of chicken by-products by mean of proximate and nutritional compositions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 35(2):179–188.
- Singhal P, Nigam V. K, Vidyarthi A. S. 2012. Studies on production, Characterization and applications of Microbial alkaline proteases. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 3(3):653-669.
- Smith, M. E., and D. G. Morton. 2010. *The Digestive System : Basic Science And Clinical. 2nd Ed. Churchill Livingstone*. New York : Edinburgh.
- Stade Iman, W.J., V.M. Olson, G.A. Shmwell, S. Pasch. 1988. *Egg and Poultry Meat Processing*. Ellis Haewood Ltd.
- Tamalludin, Ferry. 2014. *Panduan Lengkap Ayam Broiler*. Tasikmalaya : PS.
- Turk, V., Turk, B., and Turk, D. 2001. Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities. *EMBO J*. 20 : 4629–4633.
- Visessanguan, W., S. Benjakul, dan H. An. 2003. Purification and characterization of cathepsin 1 in arrowtooth flounder (atheresthes stomias) muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 134(3):477–487.
- Widjayanti, F. N. dan M. Rizal. 2016. Sistem kemitraan dalam usahatani peternakan ayam broiler di kabupaten jember. *Jurnal Manajemen Dan Bisnis Indonesia*. 2(1):31–45.
- Winarno FG, 2004. *Keamanan Pangan dan Proses Fermentasi Jilid 2*. Jakarta : Brio Press.

Witono, Y., I. Taruna, W. S. Widrati, dan A. Ratna. 2014. Hidrolisis ikan bernilai ekonomi rendah secara enzimatis menggunakan protease biduri. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. 25(2):140–145.

Wong, E. A., Chair, R. A. Dalloul, dan E. R. Gilbert. 2013. Expression of digestive enzymes and nutrient transporters in the intestine of eimeria-challenged chickens. *Thesis*. 1–3.




Yamashita, M. dan S. Konagaya. 1990. Purification and characterization of cathepsin b from the white muscle of chum salmon, *oncorhynchus keta*. *Comp. Biochem. Physiol.* 96(4):905–912.



LAMPIRAN



Lampiran 3.1. Preparasi Sampel Usus Halus Ayam Broiler

a. Dokumentasi preparasi sampel usus ayam broiler

Keterangan	Hasil
Usus ayam broiler kotor	
Usus ayam broiler yang telah dibuang bagian pankreas, caecum, usus besar dan kloaka.	
Usus ayam broiler yang akan digunakan dalam penelitian.	

Lampiran 4.1 Kadar Air Usus Ayam Broiler

a. Dokumentasi uji kadar air usus halus ayam broiler

Keterangan	Hasil
Usus halus ayam broiler yang telah diblender menjadi bubur. Bubur usus halus ayam broiler yang diperoleh memiliki struktur yang lembut karena memiliki kadar air yang tinggi.	
Usus halus ayam broiler sebanyak 1,0247 g dikeringkan pada suhu 105 °C hingga memperoleh berat yang konstan.	

b. Perhitungan kadar air usus halus ayam broiler

U	Massa (g)				Kadar Air (%)	Rata-rata Kadar Air (%)	SD
	Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Awal	Massa Akhir			
I	27,6842	1,0247	28,7089	27,8599	82,8535	82,5872	0,0046
II	23,0348	1,0245	24,0697	23,2185	82,0693		
III	21,6714	1,0244	22,6958	21,8472	82,8387		

$$\text{Kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa akhir (g)

m_s = massa sampel (g)

Kadar air usus ayam broiler pengulangan 1

$$\begin{aligned} \% \text{ air} &= \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \\ &= \frac{28,7089 - 27,8599}{1,0247} \times 100\% \\ &= 82,8535\% \end{aligned}$$

Rata-rata kadar air usus ayam

$$\begin{aligned} \% \text{ air rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{82,8535\%+82,0693\%+82,8387\%}{3} \\ &= 82,5872\% \end{aligned}$$

Lampiran 4.2. Perhitungan Kadar Lipida Usus Halus Ayam Broiler

a. Kadar air usus ayam kering

1. Dokumentasi uji kadar air bubuk usus halus ayam broiler

Keterangan	Hasil
Bubur usus halus ayam broiler yang telah dikeringkan pada suhu 105 °C	
Bubuk usus halus ayam yang akan diuji kadar airnya pada suhu 105 oC hingga memperoleh berat konstan	

2. Kadar air bubuk usus halus ayam broiler

U	Massa (g)				Kadar Air (%)	Rata-rata Kadar Air (%)	SD
	Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Awal	Massa Akhir			
I	21,6923	1,0316	22,7239	22,6962	2,6851		
II	23,0657	1,0316	24,0973	24,0702	2,6270	2,6950	0,0008
III	38,1433	1,0314	39,1747	39,1461	2,7729		

$$\text{Kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa akhir (g)

m_s = massa sampel (g)

Kadar air usus ayam kering pengulangan 1


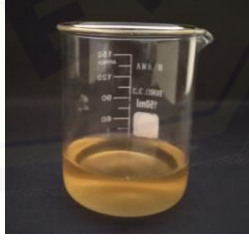
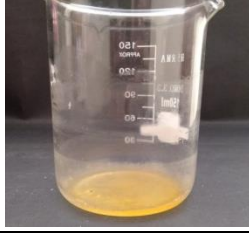
$$\begin{aligned} \% \text{ air} &= \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \\ &= \frac{22,7239 - 22,6962}{1,0316} \times 100\% \\ &= 2,6851\% \end{aligned}$$

Rata-rata kadar air usus ayam kering

$$\begin{aligned} \% \text{ air rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{2,6851\% + 2,6270\% + 2,7729\%}{3} \\ &= 2,6950\% \end{aligned}$$

b. Kadar lipida usus halus ayam broiler

1. Dokumentasi uji kadar lipida usus halus ayam broiler

Keterangan	Hasil
<p>Sampel bubuk usus ayam sebanyak 3,5030 g akan dimasukkan dalam <i>thimble</i> dan diekstrak dengan n-heksana selama 1 jam, sedangn 5-6 siklus.</p> <p>Hasil ekstraksi lipid menggunakan n-heksana</p>	 
<p>Lipid yang telah dipisahkan dari pelarut n-heksana yang dilakukan dengan cara diuapkan dalam lemari asam.</p>	

2. Kadar lipida usus halus ayam broiler

U	Massa (g)				Kadar Lipida (%)	Rata-rata Kadar Lipida (%)	SD
	Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Kering	Massa Akhir			
I	54,6542	3,5030	3,4086	56,1220	43,0618		
II	66,1209	3,5032	3,4088	67,5605	42,2320	42,7421	0,0152
III	66,8385	3,5035	3,4091	68,3021	42,9324		

$$W_{sk} = W_s \times \% \text{ air}$$

$$\% \text{ lipida} = \frac{W_2 - W_1}{W_{sk}}$$

Keterangan :

W_{sk} = massa sampel kering

W_s = massa sampel basah

W_2 = massa akhir

W_1 = massa kosong

Kadar lipida usus ayam broiler pengulangan 1

Massa usus ayam kering

$$\begin{aligned} W_{sk} &= W_s \times \% \text{ air} \\ &= 3,5030 \times 2,6950\% \\ &= 3,4086\text{g} \end{aligned}$$

Kadar lipida (% lipida)

$$\begin{aligned} \% \text{ lipida} &= \frac{W_2 - W_1}{W_{sk}} \\ &= \frac{56,1220 - 54,6542}{3,4086} \\ &= 43,0618\% \end{aligned}$$

Kadar lipida usus ayam rata-rata

$$\begin{aligned} \% \text{ lipida rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{43,0618\% + 42,2320\% + 42,9324\%}{3} \\ &= 42,7421\% \end{aligned}$$

Lampiran 4.3. Perhitungan Hasil Hidrolisis Protein Usus Ayam Secara Autolisis Dan Pemisahan Lipida Dengan Sentrifugasi



a. Pengontrolan pH usus ayam

Inkubasi (jam)	Keterangan	Waktu (jam)																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
0	pH setelah inkubasi	2,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	penambahan (ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	pH akhir	2,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	pH setelah inkubasi	2,78	2,68	2,59	2,64	2,71	2,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	penambahan (tts)	7	5	2	3	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	pH akhir	2,54	2,57	2,53	2,56	2,49	2,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	pH setelah inkubasi	2,73	2,69	2,64	2,62	2,76	2,62	2,63	2,68	2,57	2,71	2,68	2,7	-	-	-	-	-	-
	penambahan (tts)	6	3	4	3	4	2	2	3	-	5	4	4	-	-	-	-	-	-
	pH akhir	2,55	2,57	2,56	2,53	2,55	2,51	2,57	2,55	2,57	2,53	2,55	2,57	-	-	-	-	-	-
18	pH setelah inkubasi	2,7	2,59	2,66	2,54	2,67	2,54	2,62	2,65	2,68	2,64	2,71	2,65	2,7	2,71	2,68	2,66	2,7	2,74
	penambahan (tts)	6	2	4	-	2	-	2	4	5	4	5	4	5	5	4	4	5	6
	pH akhir	2,53	2,51	2,56	2,54	2,56	2,54	2,54	2,54	2,53	2,52	2,51	2,54	2,51	2,51	2,52	2,52	2,5	2,48

Keterangan : tts = tetes

b. Uji kadar air sampel yang telah diinkubasi

1. Dokumentasi sampel yang akan diuji kadar air dan kadar lipidnya

Keterangan	Hasil
A. Usus halus ayam broiler sebelum ditambah asam fosfat	
B. Usus halus ayam broiler ditambah asam fosfat	

Usus halus ayam broiler yang telah diinkubasi. Sampel ini yang akan diuji kadar air dan kadar lipidnya



2. Kadar air usus halus ayam broiler yang telah diinkubasi

Waktu Inkubasi (jam)	U	Massa (g)				Kadar Air (%)	Rata-rata Kadar Air (%)	SD
		Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Awal	Massa Akhir			
0	I	38,1128	1,0178	39,1306	38,2958	82,0200	82,2126	0,0344
	II	29,0461	1,0180	30,0641	29,2271	82,2200		
	III	40,5590	1,0868	41,6458	40,7503	82,3979		
6	I	23,0499	1,0609	24,1108	23,2418	81,9116	81,9319	0,0086
	II	21,6691	1,0601	22,7292	21,8690	81,1433		
	III	27,6969	1,0603	28,7572	27,8799	82,7407		
12	I	38,2605	1,0195	39,2800	38,4377	82,6189	81,7204	0,0081
	II	40,6805	1,0198	41,7003	40,8735	81,0747		
	III	29,1678	1,0193	30,1871	29,3567	81,4677		
18	I	27,7978	1,0009	28,7987	27,9897	80,8273	80,7235	0,0017
	II	21,6619	1,0004	22,6623	21,8564	80,5578		
	III	23,0455	1,0008	24,0463	23,2378	80,7854		

$$\text{Kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa akhir (g)

m_s = massa sampel (g)

Kadar air usus ayam broiler pengulangan 1

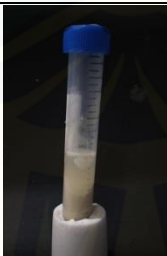

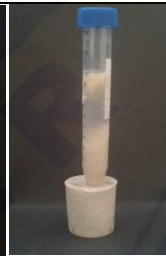

$$\begin{aligned} \% \text{ air} &= \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \\ &= \frac{39,1306 - 38,2958}{1,0178} \times 100\% \\ &= 82,0200\% \end{aligned}$$

Kadar air usus ayam rata-rata

$$\begin{aligned} \% \text{ air rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{82,0200\% + 82,2200\% + 82,3979\%}{3} \\ &= 82,2126\% \end{aligned}$$

c. Kadar lipida usus halus ayam broiler

1. Dokumentasi uji kadar lipida usus halus ayam broiler

Keterangan	Hasil			
<p>Hasil pemisahan lipida yang telah diinkubasi selama 0 (A), 6(B), 12(C) dan 18 (D) jam yang dipisahkan dengan sentrifugator</p>	 <p>A</p>	 <p>B</p>	 <p>C</p>	 <p>D</p>

2. Kadar lipida usus halus ayam broiler yang telah diinkubasi

Waktu Inkubasi (jam)	U	Massa (g)				Kadar lipida (%)	Rata-rata Kadar Lipida (%)	SD
		Massa Sampel Basah	Massa Sampel Kering	Massa Kosong	Massa Akhir			
0	I	27,7809	4,9415	10,3023	10,4180	2,3414	2,0777	0,0237
	II	27,7650	4,9387	10,3023	10,4192	2,3670		
	III	27,7294	4,9323	10,3394	10,4146	1,5246		
6	I	27,9787	5,0552	10,1890	10,6871	9,8532	10,2756	0,0260
	II	27,9706	5,0538	10,2119	10,7246	10,1448		
	III	28,0443	5,0671	10,0023	10,5510	10,8287		
12	I	27,7079	5,0552	14,8534	15,5525	13,8028	14,6265	0,0775
	II	27,6591	5,0538	14,8445	15,5415	13,7856		
	III	27,9456	5,0671	10,0638	10,8960	16,2911		
18	I	27,4739	5,2960	14,8534	15,7563	17,0487	17,9774	0,0438
	II	27,5305	5,0325	14,8233	15,7402	18,2196		
	III	27,3729	5,2765	19,1950	20,1798	18,6639		

$$W_{sk} = W_s \times \% \text{air}$$

$$\% \text{lipida} = \frac{W_2 - W_1}{W_{sk}}$$

Keterangan :

W_{sk} = massa sampel kering

W_s = massa sampel basah

W_2 = massa akhir

W_1 = massa kosong

Kadar lipida usus ayam broiler pengulangan 1

– Massa usus ayam kering

$$W_{sk} = W_s \times \% \text{air}$$

$$= 27,7809 \times 82,2126\%$$

$$= 4,9415 \text{g}$$

– Kadar lipida (%lipida)

$$\% \text{lipida} = \frac{W_2 - W_1}{W_{sk}}$$

$$= \frac{10,4180 - 10,3023}{4,9415}$$

$$= 2,3414\%$$

$$\text{Kadar lipida rata-rata} = \frac{\text{kadar lipida pengulangan (1+2+3)}}{3}$$

$$= \frac{2,3414\% + 2,3670\% + 1,5246\%}{3}$$

$$= 2,0777\%$$

Lampiran 4.4. Pemisahan Lipida dari Padatan Hasil Sentrifugasi

a. Kadar air residu usus halus ayam setelah diinkubasi

Waktu Inkubasi (jam)	U	Massa (g)				Kadar Air (%)	Rata-rata Kadar Air (%)	SD
		Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Awal	Massa Akhir			
0	I	65,4448	48,7313	114,1761	68,9453	92,8167	92,7959	0,0794
	II	81,0026	48,8269	129,8295	84,4985	92,8402		
	III	77,1946	48,7155	125,9101	80,7358	92,7309		
6	I	71,8347	39,2060	111,0407	74,7040	92,6815	92,8358	0,0660
	II	72,9032	39,2965	112,1997	75,7405	92,7798		
	III	79,8244	39,1641	118,9885	82,5478	93,0462		
12	I	73,9549	32,2293	106,1842	76,4618	92,2217	92,0920	0,1251
	II	79,7304	32,3066	112,0370	82,3957	91,7500		
	III	83,2103	32,3785	115,5888	85,702	92,3045		
18	I	81,5884	26,5120	108,1004	83,7576	91,8180	91,9652	0,1044
	II	80,0801	26,6349	106,7150	82,2706	91,7758		
	III	77,6729	26,5992	104,2721	79,7206	92,3016		

$$\text{Kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa akhir (g)

m_s = massa sampel (g)

Kadar air usus ayam broiler pengulangan 1

$$\begin{aligned} \% \text{ air} &= \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \\ &= \frac{114,1761 - 68,9453}{48,7313} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= 92,8020\%$$

Rata-rata kadar air usus ayam

$$\begin{aligned} \% \text{ air rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{92,8020\%+92,5614\%+92,5754\%}{3} \\ &= 92,6462\% \end{aligned}$$

b. Jumlah residu

Waktu Inkubasi (jam)	U	Massa Sampel (g)	Kadar Air (%)	Massa Residu (g)	Rata-rata Massa Residu (g)
0	I	48,7313	92,8167	3,5005	3,5125
	II	48,8269	92,8402	3,4959	
	III	48,7155	92,7309	3,5412	
6	I	39,2060	92,6815	2,8693	2,8100
	II	39,2965	92,7798	2,8373	
	III	39,1641	93,0462	2,7234	
12	I	32,2293	92,2217	2,5069	2,5546
	II	32,3066	91,7500	2,6653	
	III	32,3785	92,3045	2,4917	
18	I	26,5120	91,8180	2,1692	2,1358
	II	26,6349	91,7758	2,1905	
	III	26,5992	92,3016	2,0477	

$$\text{Massa residu} = \text{ms} - (\% \text{ air} \times \text{ms})$$

Keterangan : ms = massa sampel (gram)

Massa residu usus ayam yang diinkubasi selama 0 jam pengulangan 1

Massa residu = ms - (% air x ms)

$$= 48,7313 - (92,8167\% \times 48,7313)$$

$$= 3,5005 \text{ gram}$$



Massa residu rata-rata = $\frac{\text{Massa residu pengulangan 1+2+3}}{3}$

$$= \frac{3,5005+3,4959+3,5412}{3}$$

$$= 3,5125 \text{ gram}$$

c. Perhitungan kadar lipida residu usus halus ayam hasil sentrifugasi

1. Dokumentasi ekstraksi lipida pelet hasil sentrifugasi

Keterangan	Hasil
Pelet yang telah dikeringkan pada suhu 105 °C	
Ekstraksi lipida pelet usus ayam	

2. Kadar lipida residu usus ayam

Waktu Inkubasi (jam)	U	Massa (g)			Kadar Lipida (%)	Rata-rata Kadar Lipida (%)	SD
		Massa Kosong	Massa Sampel	Massa Akhir			
0	I	62,2591	3,5005	63,5236	36,1234	36,8156	0,0262
	II	30,4376	3,4959	31,7368	37,1635		
	III	66,3619	3,5412	67,6778	37,1597		
6	I	63,1601	2,8693	63,9191	26,4524	30,3138	0,1707
	II	62,1980	2,8373	63,0874	31,3467		
	III	35,1908	2,7234	36,0934	33,1424		
12	I	62,3380	2,5069	62,9386	23,9579	24,3948	0,0632
	II	72,9331	2,6653	73,6289	26,1059		
	III	30,1717	2,4917	30,7478	23,1208		
18	I	62,3054	2,1692	62,9037	27,5816	25,5310	0,0580
	II	56,5879	2,1905	57,0710	22,0543		
	III	69,4147	2,0477	69,9667	26,9571		

$$\text{Kadar lipida} = \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = massa awal (g)

W_2 = massa kosong (g)

ms = massa sampel (g)

Kadar lipida usus ayam pengulangan 1

$$\begin{aligned} \% \text{ lipida} &= \frac{W_1 - W_2}{m_s} \times 100\% \\ &= \frac{63,5236 - 62,2591}{3,5005} \times 100\% \\ &= 36,1234\% \end{aligned}$$

Kadar lipida usus ayam rata-rata

$$\begin{aligned} \% \text{ lipida rata-rata} &= \frac{\text{kadar air pengulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{36,1234\% + 37,1635\% + 37,1597\%}{3} \\ &= 36,8156\% \end{aligned}$$

Lampiran 4.5. Efektifitas Pemisahan Lipida Pada Usus Ayam Dengan Menggunakan Metode Autolisis

a. Lipida gabungan (lipida autolisis dan lipida residu hasil ekstraksi)

Waktu Inkubasi (jam)	Lipida Autolisis (g)	Lipida pada Residu Hasil Ekstraksi (g)	Jumlah Lipida (g)	Rata-Rata Lipida (g)	Lipida Usus Ayam (g)
0	0,1157	1,2645	1,3802	1,3958	1,4570
	0,1169	1,2992	1,4161		
	0,0752	1,3159	1,3911		
6	0,4981	0,7590	1,2571	1,3702	
	0,5127	0,8894	1,4021		
	0,5487	0,9026	1,4513		
12	0,6991	0,6006	1,2997	1,3670	
	0,6970	0,6958	1,3928		
	0,8322	0,5761	1,4083		
18	0,9029	0,5983	1,5012	1,4793	
	0,9169	0,4831	1,4000		
	0,9848	0,5520	1,5368		

Lipida gabungan = Lipida autolisis + Lipida ekstraksi

Kadar lipida total usus ayam broiler pengulangan 1

Lipida gabungan = Lipida autolisis + Lipida ekstraksi

$$= 0,1157 + 1,2645$$

$$= 1,3802 \text{ g}$$

$$\text{Rata-rata lipida gabungan} = \frac{\text{lipida gabungan pengulangan (1+2+3)}}{3}$$

$$= \frac{1,3802 + 1,4161 + 1,3911}{3}$$

$$= 1,3958 \text{ g}$$

- b. Jumlah lipida usus ayam yang terlepas pada proses autolisis dan persen kesalahan jika dibandingkan dengan lipida usus ayam yang tidak diautolisis

Waktu Inkubasi (jam)	Lipida Autolisis (g)	Rata-rata Lipida Autolisis (g)	Jumlah Lipida Autolisis dan Residu (g)	Rata-Rata Jumlah Lipida Autolisis dan Residu (g)	Lipida Usus Ayam (g)	Lipida autolisis/Lipida Usus Ayam (%)	Rata-rata Lipida autolisis/Lipida Usus Ayam (%)	Persen Kesalahan
0	0,1157		1,3802			7,9410		0,0420
	0,1169	0,1026	1,4161	1,3958		8,0233	7,0419	
	0,0752		1,3911			5,1613		
6	0,4981		1,2571			34,1867		0,0596
	0,5127	0,5198	1,4021	1,3702		35,1887	35,6783	
	0,5487		1,4513		1,4570	37,6596		
	0,6991		1,2997			47,9822		
12	0,697	0,7428	1,3928	1,3670		47,8380	50,9792	0,0618
	0,8322		1,4083			57,1174		
	0,9029		1,5012			61,9698		
18	0,9169	0,9349	1,4000	1,4793		62,9307	64,1638	0,0153
	0,9848		1,5368			67,5909		

1. Lipida usus ayam yang dapat terpisah selama proses autolisis dari total lipida usus ayam yang tidak diautolisis (Lt)

$$Lt = \frac{La}{Lu} \times 100\%$$

Keterangan : Lt = Lipida yang terlepas saat autolisis dari total lipida usus Ayam

La = Lipida hasil autolisis

Lu = Lipida usus ayam yang tidak diautolisis

Lipida yang terlepas saat autolisis dari total lipida usus Ayam Pengulangan 1

$$\begin{aligned} Lt &= \frac{La}{Lu} \times 100\% \\ &= \frac{0,1157}{1,4570} \times 100\% \\ &= 7,9410\% \end{aligned}$$

Rata-rata lipida yang terlepas saat autolisis dari total lipida usus Ayam

$$\begin{aligned} Lt \text{ rata-rata} &= \frac{7,9410+8,0233+5,1613}{3} \\ &= 7,0419\% \end{aligned}$$

2. Persen kesalahan

$$\% \text{ kesalahan} = \frac{(Lu-Larr)}{Lu} \times 100\%$$

Keterangan : Lu = Lipida usus ayam yang tidak diautolisis

Larr = Rata-rata lipida usus ayam hasil autolisis dan hasil ekstraksi residu

% kesalahan

$$\begin{aligned} \% \text{ kesalahan} &= \frac{(Lu-Larr)}{Lu} \times 100\% \\ &= \frac{(1,4570-1,3958)}{1,4570} \times 100\% \\ &= 0,0420 \end{aligned}$$