

EVALUASI KEMAMPUAN *FILM* INDIKATOR PATI/SELULOSA/ANTOSIANIN UNTUK MENDETEKSI AMONIA PADA PRODUK PANGAN

Erlin Arda Safitri¹, Muhamad Abdulkadir Martoprawiro^{1,2}, I Putu Mahendra^{1*}

¹ Program Studi Kimia, Jurusan Sains, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan 35365, Indonesia;

² Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung, Bandung 40132, Indonesia

Corresponding author: i.mahendra@ki.itera.ac.id

ABSTRAK: *Film* indikator dikembangkan untuk mendeteksi gas amonia yang dihasilkan dari proses pembusukan bahan pangan. *Film* indikator dapat digunakan sebagai salah satu acuan jaminan mutu dan keamanan suatu bahan pangan bagi konsumen. *Film* dibuat menggunakan pewarna alami antosianin yang diekstrak dari kubis ungu (*Brassica oleracea var. capitata L.*) (RGAnc) yang kemudian digabungkan dengan matriks berbahan dasar pati/PVA/selulosa (SPVAC). Ekstrak antosianin kubis ungu (*Brassica oleracea var. capitata L.*) (RGAnc) menggunakan proses maserasi dengan air deionisasi sebagai pelarut. Adapun massa kubis ungu yang digunakan dalam proses maserasi adalah 1, 10, 100 g. Matriks indikator menggunakan paduan pati/PVA/selulosa dengan rasio 2: 2: 0,1. Pengujian *film* dilakukan dengan menggunakan daging ayam yang disimpan dengan variasi suhu yaitu suhu ruang (± 25 °C) dan 4°C. Hasil uji *film* SPVA/RGanc dengan daging ayam menunjukkan perubahan warna *film* yang berbeda dan dapat dilihat perbedaannya dengan jelas, sehingga *film* berpotensi dengan baik sebagai pendeteksi kesegaran daging ayam.

Kata kunci: Antosianin kubis ungu, *Film* indikator, Kesegaran pangan, Pati, Polivinil alkohol, Selulosa.

ABSTRACT: An indicator film was developed for monitoring food freshness by detecting ammonia gas produced from the decaying process of chicken meat. The indicator film can be used as a reference for quality assurance and food safety for consumers. The film used natural dyes extracted from purple cabbage (*Brassica oleracea var. capitata L.*), anthocyanins (RGAnc), which are then combined with starch/PVA/cellulose matrix (SPVAC). Purple cabbage (*Brassica oleracea var. capitata L.*) anthocyanin was macerated (RGAnc) using deionized water as a solvent. The mass of purple cabbage used in the maceration was varied, e.g., 1, 10, 100 g. The indicator matrix was prepared from the blend of starch/ PVA/ cellulose with a ratio of 2: 2: 0.1. Film testing was carried out using chicken meat stored with variations in temperature, namely room temperature (± 25 °C) and 4°C. The results of the SPVA/RGanc film test with chicken meat showed different changes in the color of the film and the difference could be seen clearly, so the film had good potential as a detector of freshness of chicken meat.

Keywords: Cellulose; Food Freshness; Indicator Film; Polyvinyl Alcohol; Purple Cabbage Anthocyanins; Starch

1. PENDAHULUAN

Pada kehidupan sehari-hari masyarakat Indonesia aktif mengkonsumsi buah, daging maupun sayuran, sehingga bahan pangan tersebut mudah ditemukan di pasar swalayan maupun pasar tradisional. Daging ayam adalah produk bahan pangan yang bersifat mudah rusak dan memiliki umur simpan yang tidak lama, hal ini dikarenakan daging ayam memiliki kandungan protein, asam amino, lemak dan air yang mengakibatkan daging ayam menjadi tempat yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri.

Perubahan pH pada produk pangan, utamanya olahan daging, menandakan perubahan pada tingkat kesegaran produk. Sehingga sangat penting untuk dilakukan pengembangan indikator kesegaran pangan berbasis perubahan pH. Oleh karena itu, dibutuhkan sebuah indikator yang dapat mendeteksi kondisi bahan pangan tersebut. Secara umum, indikator pH terdiri dari pewarna sensitif pH dan matriks padat untuk mengikat pewarna sensitif pH [1].

Kubis ungu (*Brassica oleracea var. capitata L.*) adalah salah satu sumber antosianin untuk pewarna makanan alami yang menunjukkan warna pada kisaran pH yang sangat luas [2]. Warna antosianin dari kubis ungu bervariasi dari merah pada pH rendah sampai biru/ hijau/ kuning pada pH tinggi [3]. Perubahan warna pada pigmen warna disebabkan oleh adanya senyawa fenolatik atau terkonjugasi seperti sianidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin dan petunidin yang mengalami perubahan struktural bila ada variasi pH [4]. Perubahan warna yang luas ini membuat kubis ungu menarik untuk diterapkan sebagai indikator pH alami.

Untuk indikator kolorimetri yang efektif dengan stabilitas struktural, kegunaan dan integrasi yang mudah ke sistem pengemasan, zat aktif perlu dimasukkan ke dalam matriks padat [5]. Pemanfaatan pati sebagai matriks memiliki kelebihan yaitu dapat mengenkapsulasi antosianin. Namun, pati juga memiliki kelemahan sebagaimana umumnya

polisakarida dan hidrokoloid lainnya, pati bersifat hidrofilik, dan apabila pati digunakan sebagai bahan baku pembuat matriks akan menghasilkan *film* yang rapuh, permeabilitas uap air tinggi, dan kurang fleksibel [6], sehingga diperlukan usaha untuk memperbaikinya, salah satunya adalah dengan penambahan pemlastis (*plasticizer*) untuk meningkatkan plastisitas pati [7].

Polivinil alkohol (PVA) merupakan salah satu jenis pemlastis yang dapat diintegrasikan dengan pati [8]. Pati dan PVA dapat digunakan sebagai bahan pembuatan *film* kolorimetri karena keduanya tidak beracun, terbarukan dan biodegradable [9, 10]. Selain bahan pemlastis, untuk memperoleh matriks yang dapat mempertahankan antosianin, bahan pengikat warna seperti selulosa perlu diintegrasikan ke dalam paduan pati/ PVA. Selain itu, keuntungan utama dari penggunaan selulosa sebagai bahan penguat pada matriks polimer yaitu densitas rendah, tidak mudah terabrasi, kemampuan mengisi tinggi yang menghasilkan sifat kekakuan yang tinggi, mudah didaur ulang, bahannya mudah didapat karena banyak tersedia di alam, dan murah [11].

Berdasarkan uraian tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan studi tentang pembuatan indikator pH dengan memanfaatkan paduan pati/PVA/selulosa sebagai matriks dan senyawa antosianin dari kubis ungu sebagai zat warna. Pada penelitian ini beberapa teknik analisis akan digunakan untuk mengidentifikasi karakteristik zat warna yaitu uji warna perubahan pH dan uji spektro UV-Vis serta uji karakterisasi film kolorimetri pati/ PVA/ selulosa/ antosianin, diantaranya adalah *X-Ray Diffraction* (XRD) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

2. PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kubis ungu, pati, avicel ph 101, polivinil alkohol (PVA), air deionisasi (H_2O), natrium hidroksida ($NaOH$) (Merck), asam sulfat 98% (H_2SO_4) (Merck), asam klorida 32% (HCl) (Merck), kalium hidrogen ftalat ($C_8H_5KO_4$) (Pudak), kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) (Merck), natrium tetraborat ($Na_2B_4O_7$) (Merck), natrium bikarbonat ($NaHCO_3$) (Pudak), dan amonia (NH_3) (Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas kimia (*pyrex*), spatula, batang pengaduk, *magnetic stirrer* (Velp *scientifica*), botol semprot, pipet tetes, pipet ukur (Iwaki 5 mL), mikropipet (Scilogex 1000 μL), tip mikro, tabung sentrifuga (Bioseen *centrifuge tube*), botol vial, neraca analitik (Ohaus AX224), kaca akrilik, pengukur pH (Ohaus *starter* 3100), oven (*Memmert* 30-1060), dan Spektrofotometer UV-Vis (*Thermo scientific genesys* 150).

2.2 Metode

Ekstraksi antosianin dari kubis ungu

Air sebanyak 150 mL dipanaskan hingga mendidih. Kubis ungu sebanyak 1, 10 dan 100 g yang sudah dipotong, kemudian dimasukkan ke dalam air mendidih. Setelah 3 menit pemanasan dihentikan dan filtrat dipisahkan dari ampas kubis ungu. Filtrat kubis ungu didinginkan terlebih dahulu hingga mencapai suhu ruang dan selanjutnya disimpan di dalam wadah gelap pada suhu 4°C.

Pembuatan *film* indikator

Metode pengolahan *film* mengacu pada X. Zhai [9] dengan beberapa modifikasi. Pertama, 2 g PVA dilarutkan dalam 50 mL ekstrak kubis ungu pada suhu 70 °C. Suspensi PVA kemudian ditambahkan dengan 50 mL ekstrak kubis ungu yang mengandung 2 g pati, 0,1 gr avicel ph 101. Suspensi kemudian diaduk selama 30 menit pada suhu 70°C. *Film* diperoleh dengan cara menuangkan suspensi pati/PVA/selulosa/antosianin pada cetakan akrilik. Suspensi dikeringkan dengan

menggunakan oven pada suhu 60°C hingga diperoleh berat konstan.

Spektroskopi UV-Vis dari ekstrak kubis ungu

Spektrum UV-Vis antosianin pada kubis ungu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis *Thermo scientific Genesys* 150. Spektrum antosianin pada ragam pH 1-14 diukur pada rentang panjang gelombang 300-700 nm.

Respon *film* terhadap berbagai pH

Respon *film* terhadap berbagai pH dilakukan dengan menyiapkan *film* indikator berukuran 2×2 cm. Potongan *film* diletakkan diatas kaca akrilik dibuat sebanyak 14 potong. Masing-masing *film* ditetaskan dengan larutan penyangga dengan pH yang berbeda. Perubahan warna *film* oleh setiap penyangga didokumentasikan.

Respon *film* terhadap uap amonia

Respon *film* indikator terhadap amonia dilakukan dengan menggunakan desikator dengan meletakkan *film* disamping larutan amonia 250.000 ppm dan 20 ppm 50 mL dan *film* yang digantung di atas *hotplate* sejauh 2 cm di atas larutan amonia 20 ppm 50 mL selama 1 jam.

Pemantauan pembusukan ayam

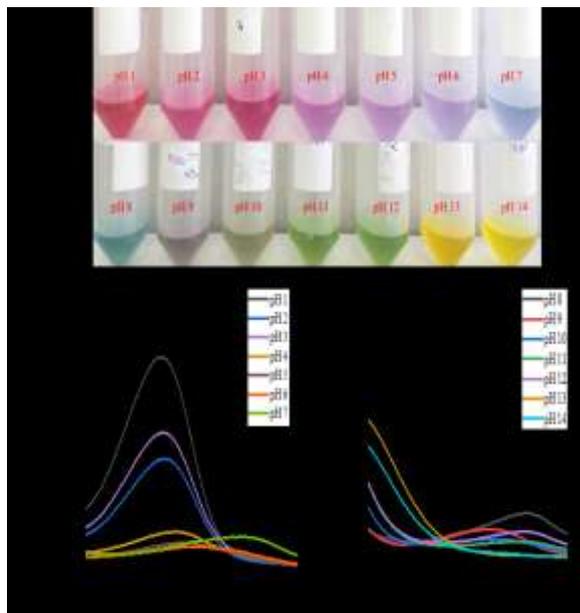
Ayam dalam keadaan hidup dipotong, dibersihkan, dan dipisahkan dari jeroan, kepala, kaki dan ekor. Kemudian, diambil potongan ayam masing-masing 100 gr dan pindahkan ke dalam wadah bersih yang sudah dilapisi tisu. *Film* indikator ditempatkan disamping ayam tersebut. Wadah disimpan pada 4°C dan suhu ruang (± 25 °C). Warna *film* indikator diamati perubahannya dan didokumentasikan setiap waktu yang sudah ditentukan sebelumnya.

3. HASIL dan PEMBAHASAN

Warna dan spektrum UV-Vis RGanc

Pada Gambar 1(a) menunjukkan perubahan warna larutan RGanc pada rentang pH 1-14, dapat dilihat bahwa warna larutan RGanc memberikan respon warna

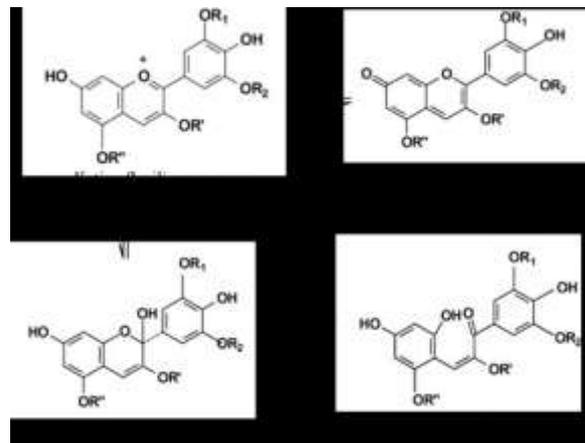
merah dan ungu kemerahan didapatkan pada pH 1-3, warna ungu diperoleh pada pH 4 dan dengan intensitas yang menurun pada pH 5-6, warna berubah menjadi biru pada pH 7 dan hijau kebiruan pada pH 8. Warna berubah menjadi hijau kebiruan gelap pada pH 9, mulai hijau pada pH 10, dan hijau pada pH 11-12. Kemudian warna kuning jingga pada pH 13-14. Spektrum UV-Vis dari larutan RGanc sesuai dengan perubahan warna pada larutan, ditunjukkan pada Gambar 1(b). Ketika menunjukkan pH kurang dari 4 puncak serapan maksimum diperoleh pada 520 nm dan nilai absorbansi secara bertahap menurun dengan meningkatnya nilai pH. Pada saat pH 5 sampai 8, puncak absorbansi bergeser disertai dengan bergesernya puncak serapan maksimum dari 540 nm ke 600 nm, ini biasanya disebut dengan pergeseran batokromik [12]. Selanjutnya pada Gambar 1(c) absorbansi pada 570 nm menurun pada pH 8 sampai dengan 14.



Gambar 1. Warna dan spektrum UV-Vis RGanc. (a) respon warna RGanc segar pada pH 1-14 (penyangga spesifik), (b) spektrum UV-Vis RGanc segar pada pH 1-7, dan (c) spektrum UV-Vis RGanc segar pada pH 8-14

Umumnya stabilitas antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu adanya modifikasi struktur spesifik antosianin, suhu, cahaya, keberadaan ion logam, oksigen, kadar gula, enzim dan

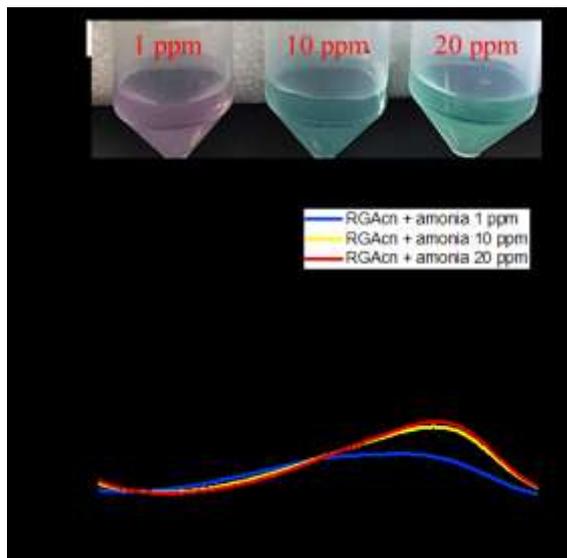
pengaruh sulfur oksida [13]. Pada pH yang sangat asam antosianin berada pada keadaan paling stabil dengan bentuk struktur kation flavilium yang menyebabkan larutan berwarna merah [14]. Ketika pH meningkat menjadi 3-6 maka akan terbentuk senyawa berwarna biru (bentuk kuinoidal) atau senyawa tidak berwarna (karbinol pseudobasa), tetapi pada penelitian ini didapatkan larutan berwarna ungu, ini mungkin disebabkan oleh adanya campuran kation flavilium dengan tautomer biru dan basa karbinol [15]. Selanjutnya pada pH 7 diperoleh warna biru yang disebabkan oleh adanya senyawa kuinoidal dan berangsur berubah menjadi warna hijau dimulai dari pH 8 sampai hijau menyeluruh pada pH 12 ini disebabkan karena adanya pengingkatan anionik hidroksil. Warna kuning jingga diperoleh pada pH 13-14 yang menandakan terbentuknya struktur kalkon dari struktur kuinoid anionik sebelumnya [16].



Gambar 2. Perubahan struktur antosianin

Selanjutnya larutan RGanc dilakukan uji dengan larutan amonia dengan variasi 1, 10, dan 20 ppm. Dapat dilihat pada Gambar 3 (a) menunjukkan perubahan warna pada RGanc seiring dengan meningkatnya konsentrasi amonia. Pada larutan RGanc dengan amonia 1 ppm diperoleh warna ungu, dan berubah menjadi warna biru serta biru kehijauan pada amonia 10 ppm dan 20 ppm. Jika dibandingkan dengan respon larutan RGanc pada berbagai pH sebelumnya, respon amonia menunjukkan warna yang

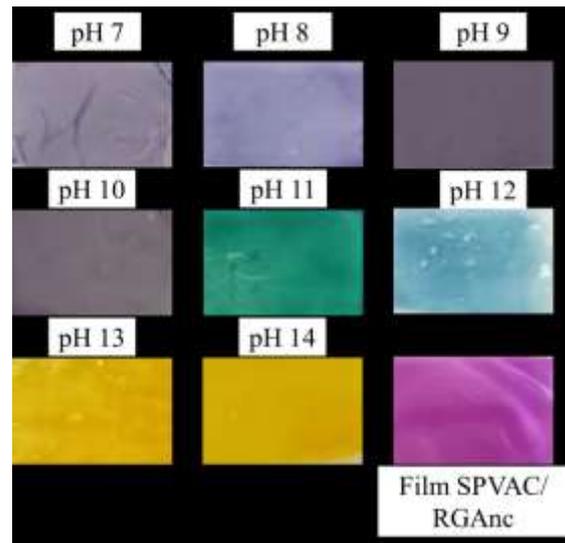
sama pada pH 6 hingga 8. Spektrum UV-Vis dari larutan RGAnc dengan variasi konsentrasi amonia dapat dilihat pada Gambar 3 (b). RGAnc pada larutan amonia 1 ppm memberikan puncak serapan maksimum pada 580 nm dan nilai absorbansi yang meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi amonia. Pada saat konsentrasi amonia 10 dan 20 ppm, puncak absorbansi bergeser disertai dengan bergesernya puncak serapan maksimum dari 580 nm ke 605 nm.



Gambar 3. Warna dan spektrum UV-Vis (a) respon warna RGAnc segar pada amonia 1, 10, dan 20 ppm, (b) spektrum UV-Vis RGAnc segar pada amonia 1, 10, dan 20 ppm

Respon *film* terhadap berbagai pH

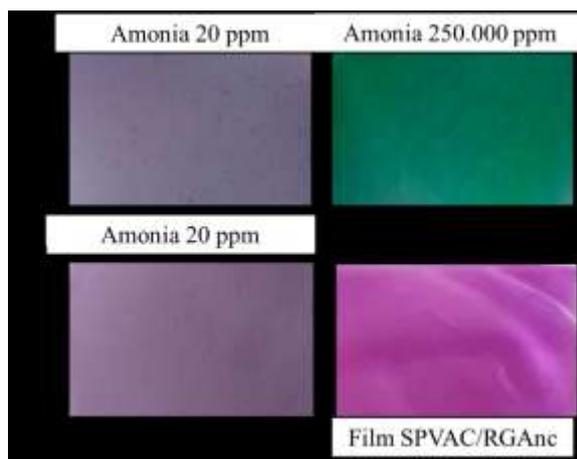
Film SPVAC/RGAnc yang diuji dengan larutan pH yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 4. Warna yang dihasilkan cukup bervariasi, sehingga *film* SPVA/RGAnc berpotensi tinggi untuk digunakan sebagai indikator kesegaran pangan dengan mengetahui adanya senyawa amonia yang dihasilkan dari proses pembusukan daging ayam. Amonia biasanya mulai muncul ketika pH mulai mendekati 12,0 [17]. Berdasarkan Gambar 4, warna pH 11-13 menghasilkan warna yang tampak jauh berbeda.



Gambar 4. Respon warna *film* SPVAC/RGAnc terhadap pH 7-14

Respon *film* terhadap uap amonia

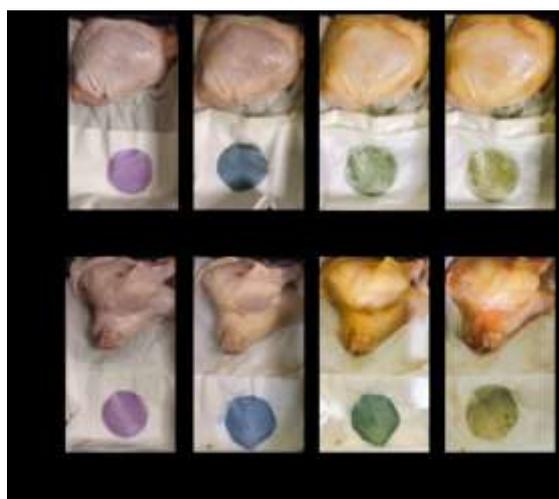
Perubahan warna *film* SPVAC/RGAnc setelah dipaparkan dengan uap amonia dengan menggunakan desikator dapat dilihat pada Gambar 5 (a). *Film* dengan amonia 20 ppm memberikan respon perubahan warna setelah 3 menit 10 detik, lalu setelah 2 jam, *film* indikator berubah menjadi biru kehijauan. Selanjutnya *film* dengan amonia 250.000 ppm pada 1 menit 22 detik mulai kehijauan dan setelah 2 jam *film* menjadi hijau menyeluruh. Pada Gambar 5 (b) *film* yang dipaparkan amonia di atas *hot plate* tidak memberikan perubahan warna yang jauh berbeda dengan perlakuan sebelumnya di dalam desikator. Hasil menunjukkan bahwa *film* indikator akan cepat bereaksi pada amonia dengan konsentrasi tinggi. Perubahan warna *film* disebabkan karena amonia yang mudah menguap jika dikombinasikan dengan H₂O yang terkandung dalam *film* indikator akan membentuk NH₃·H₂O yang kemudian terhidrolisis dan menghasilkan NH₄⁺ dan OH⁻, sehingga akan menginduksi perubahan warna dari RGAnc [9].



Gambar 5. Respon *film* SPVA/RGanc pada larutan amonia (a) di dalam desikator, (b) di atas *hot plate*

Pemantauan pembusukan ayam

Perubahan warna *film* indikator dilakukan pada variasi suhu penyimpanan yaitu 4°C dan suhu ruang (± 25 °C). Pada suhu ruang (± 25 °C) ditunjukkan pada Gambar 6 (a) *Film* SPVAC/RGanc menampilkan warna ungu diawal, kemudian warna biru pada 12 jam, lalu warna hijau pada 24 jam dan akhirnya berwarna kuning pada 30 jam. Sedangkan pada suhu 4°C ditunjukkan pada Gambar 6 (b) *Film* SPVAC/RGanc berubah dari warna ungu diawal menjadi warna biru pada 48 jam, lalu warna hijau pada waktu 60 jam dan akhirnya *film* berwarna kuning menyeluruh pada 96 jam.



Gambar 6. Pemantauan *film* SPVAC/RGanc terhadap daging ayam (a) pada suhu penyimpanan ± 25 °C, (b) pada suhu penyimpanan 4°C

Pertumbuhan dan aktivitas mikroba pada daging ayam dipengaruhi oleh suhu penyimpanan [18], sehingga dapat dilihat pada suhu penyimpanan 4°C waktu yang dibutuhkan untuk mendeteksi pembusukan daging ayam memerlukan waktu yang lebih lama daripada suhu penyimpanan ± 25 °C. Pada Gambar 6 ditunjukkan bahwa warna yang dihasilkan pada *film* SPVAC/RGanc dapat dilihat perbedaannya dengan jelas, sehingga *film* berpotensi dengan baik sebagai pendeteksi kesegaran daging ayam.

4. KESIMPULAN

Film indikator berhasil dikembangkan dengan menggunakan pati, PVA, dan selulosa dengan rasio 2 : 2 : 0,1 dengan mengintegrasikan *film* pada antosianin yang diperoleh dari 100 gram kubis ungu. Hasil uji coba *film* SPVA/RGanc dalam mendeteksi kesegaran daging ayam menghasilkan perubahan warna yang baik mulai dari ungu pada saat daging ayam dalam keadaan segar sampai dengan biru, hijau, dan kuning saat mulai terjadi pembusukan.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Ditjen Dikti) yang telah membantu pendanaan penelitian melalui Program Talenta Inovasi 2021.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] X. Zhang, S. Lu, dan X. Chen, "Sensors and actuators b : chemical a visual ph sensing film using natural dyes from bauhinia blakeana dunn," *Sensors & Actuators: B. Chemical*, vol. 198, pp. 268-273, 2014.
- [2] N. Ghareaghajlou, S. Hallaj-Nezhadi, and Z. Ghasempour, "Red cabbage anthocyanins: Stability, extraction, biological activities and applications in food systems," *Food Chem*, vol. 365, p. 130482, Dec 15 2021, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130482.
- [3] B. Kuswandi, N. P. N. Asih, D. K. Pratoko, N. Kristiningrum, and M. Moradi, "Edible pH sensor based on immobilized red cabbage anthocyanins

- into bacterial cellulose membrane for intelligent food packaging," *Packaging Technology and Science*, vol. 33, no. 8, pp. 321-332, 2020, doi: 10.1002/pts.2507.
- [4] S. Pourjavaher, H. Almasi, S. Meshkini, S. Pirsá, dan E. Parandi, "Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*brassica oleraceae*) extract," *Carbohydrate Polymers*, vol. 156, pp. 193-201, 2017.
- [5] I. Dudnyk, Janeček, E.-R., Vaucher-Joset, J., and Stellacci, F, "Edible sensors for meat and seafood freshness," *Sensors & Actuators: B. Chemical*, vol. 259, pp. 1108-1112, 2018.
- [6] I. W. Setiawan, Endang. Hoerudin, "Karakterisasi Komposit Bioplastik Berbasis Pati Kulit Singkong Dengan Nanosilika Sekam Padi," *Technology Agroindustrial* 2018.
- [7] C. L. John, Marta, "Physico-mechanical properties of bamboo fiber reinforced biocomposite Effect of fiber surface treatment," *J. Build*, 2020.
- [8] Z. N. Ismail H, "Effect of unmodified and modified sago starch on roperties of (sago starch)/silica/PVA plastic films," *Journal of Vinyl and Additive Technology*, vol. 20 (3), pp. 185-192, 2014.
- [9] J. S. X. Zhai, X. Zou, S. Wang, C. Jiang, J. Zhang, X. Huang, W. Zhang, M. Holmes, "Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring," *Food Hydrocoll*, pp. 308-317, 2017.
- [10] B. Liu, H. Xu, H. Zhao, W. Liu, L. Zhao, and Y. Li, "Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications," *Carbohydr Polym*, vol. 157, pp. 842-849, Feb 10 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.10.067.
- [11] S. F. Malik Jenifer, Hendriwan; Anrinal; Perdana, Mastariyanto, "Analisa Struktur Mikro, Kandungan Lignin Dan Hemiselulosa Serat pelepah Sawit Akibat Perlakuan Alkali " pp. 339-344, 2020.
- [12] I. Choi, Lee, J. Y., Lacroix, M., and Han, J. , "Intelligent pH Indicator Film Composed of Agar/ Potato Starch and Anthocyanin Extracts from Purple Sweet Potato," *Food Chemistry*, vol. 218, pp. 122-128, 2017.
- [13] A. M. Sinela *et al.*, "Exploration of reaction mechanisms of anthocyanin degradation in a roselle extract through kinetic studies on formulated model media," *Food Chem*, vol. 235, pp. 67-75, Nov 15 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.05.027.
- [14] H. Hasby, N. Nurhafidhah, and S. A. Akbar, "The UV-Vis Study On Anthocyanin Pigments Activities Extracted From Gayo Arabika Coffee Husks," *Elkawanie*, vol. 5, no. 2, 2019, doi: 10.22373/ekw.v5i2.5232.
- [15] C. Shi, J. Zhang, Z. Jia, X. Yang, and Z. Zhou, "Intelligent pH indicator films containing anthocyanins extracted from blueberry peel for monitoring tilapia fillet freshness," *J Sci Food Agric*, vol. 101, no. 5, pp. 1800-1811, Mar 30 2021, doi: 10.1002/jsfa.10794.
- [16] Y. Li, K. Wu, B. Wang, and X. Li, "Colorimetric indicator based on purple tomato anthocyanins and chitosan for application in intelligent packaging," *Int J Biol Macromol*, vol. 174, pp. 370-376, Mar 31 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.01.182.
- [17] A. Mohammed-Nour, M. Al-Sewailem, and A. H. El-Naggar, "The Influence of Alkalization and Temperature on Ammonia Recovery from Cow Manure and the Chemical Properties of the Effluents," *Sustainability*, vol. 11, no. 8, 2019, doi: 10.3390/su11082441.

- [18] S. Insun, Jurianto, and R. Muhammad, "Lama Penyimpanan Daging Ayam Boiler Terhadap Kualitasnya Ditinjau Dari Kadar Protein dan Angka Lempeng Total Bakteri," *Jurnal Biology Science & Education* vol. 8 pp. 47-58, 2019.