

ISOLASI DAN EKSTRAKSI DAUN KALIANDRA (*Calliandra calothrysus*) SEBAGAI KONSENTRAT PROTEIN DAUN DITINJAU DARI TITIK ISOELEKTRIK, ASAM AMINO DAN ZAT ANTINUTRISI

ISOLATION AND EXTRACTION OF KALIANDRA LEAF (*Calliandra calothrysus*) AS LEAF PROTEIN CONCENTRATE VIEWED FROM ISOELECTRIC POINTS, AMINO ACIDS AND ANTINUTRITIONAL AGENTS

Imam Wahyudi*, Efka Aris Rimbawanto dan Bambang Hartoyo

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

*email: wimam1242@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang. Penelitian "Isolasi dan Ekstraksi Daun Kaliandra (*Calliandra calothrysus*) sebagai Konsentrat Protein Daun Ditinjau dari Titik Isoelektrik, Asam Amino dan Zat Antinutrisi". Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui titik isoelektrik, kandungan asam amino total dan kandungan zat antinutrisi tanin pada konsentrat protein daun kaliandra hasil ekstraksi dan isolasi protein.

Materi dan Metode. Materi penelitian yang digunakan adalah daun kaliandra (*Calliandra calothrysus*). Penentuan titik isoelektrik menggunakan metode modifikasi Yatno (2009), kandungan asam amino total menggunakan metode *high-performance liquid chromatography* (HPLC), analisis protein kasar menggunakan metode *Kjedhal* menurut AOAC (2005), dan kandungan zat antinutrisi tanin menggunakan metode butanol-HCl. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan titik isoelektrik konsentrat protein daun kaliandra tercapai pada ekstraksi pertama dengan NaOH 0,05 N dan buffer fosfat pH 8 pada ekstraksi kedua menghasilkan 7,2 mg/ml endapan protein dengan kadar protein kasar 48,94%. Komposisi asam amino konsentrat protein daun kaliandra lebih tinggi dibandingkan komposisi asam amino bungkil kedelai kecuali glutamin. **Simpulan.** Kadar tanin yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 0,01% sehingga konsentrat protein daun kaliandra aman digunakan sebagai bahan pakan sumber protein pada ransum unggas.

Kata Kunci : daun kaliandra, protein, titik isoelektrik, asam amino, tanin

ABSTRACT

Background. Research "Isolation and Extraction of Calliandra (*Calliandra calothrysus*) Leaf as Leaf Protein Concentrate Judging from Isoelectric Point, Amino Acids and Antinutrients". This study aims to determine the isoelectric point, total amino acid content and the content of antinutrient tannins in the protein concentrate of calliandra leaves extracted and isolated from the protein.

Materials and Methods. The research material used was calliandra (*Calliandra calothrysus*) leaves. Determination of the isoelectric point using the modified Yatno method (2009), the total amino acid content using the *high-performance*

liquid chromatography (HPLC) method, crude protein analysis using the *Kjedhal* according to AOAC (2005), and the content of antinutrient tannins using the butanol-HCl method. **Results.** The results showed that the isoelectric point of the calliandra leaf protein concentrate was reached in the first extraction with 0.05 N NaOH and pH 8 phosphate buffer in the second extraction resulting in 7.2 mg/ml protein precipitate with a crude protein content of 48.94%. The amino acid composition of calliandra leaf protein concentrate was higher than that of soybean meal except for glutamine. **Conclusion.** The tannin content produced in this study was 0.01% so that the calliandra leaf protein concentrate was safe to use as a protein source in poultry rations.

Keywords: calliandra leaves, protein, isoelectric point, amino acids, tannins

PENDAHULUAN

Bungkil kedelai merupakan bahan pangan sumber protein yang berkualitas yang berasal dari limbah pengolahan minyak kedelai. Bungkil kedelai memiliki beberapa keunggulan diantaranya kandungan protein sebesar 43 - 48%, serta aman dikonsumsi unggas sebab zat antinutrisi berupa tripsin inhibitor akan rusak ketika pemanasan (Wina, 1999). Permasalahan di lapangan, bungkil kedelai merupakan bahan pakan yang 100% berasal dari impor luar negeri dengan impor sebesar 3,15 - 5,25 juta ton per tahun. Harga bungkil kedelai berkisar diangka Rp 11.000 - 13.000 per kg sehingga kurang mampu dijangkau peternak. Salah satu upaya mengurangi ketergantungan penggunaan bungkil kedelai dalam ransum unggas adalah melakukan eksplorasi penggunaan bahan pakan lokal yang memiliki kandungan nutrisi tinggi serta tersedia dalam jumlah memadai. Bungkil kedelai dikenal sebagai bahan pakan sumber protein dengan kandungan asam amino paling lengkap, sehingga bahan pakan lokal sumber protein yang akan digunakan untuk menggantikan bungkil kedelai perlu memperhatikan susunan asam amino di dalamnya.

Tangendjaja *et al.* (1992) melaporkan bahwa kaliandra memiliki protein kasar sebesar 24 %, lemak kasar 4,1 - 5,0%, kadar abu 5,0 - 7,6%, NDF 24,0 - 34,0%, selulosa 15,0%, dan lignin 10,0 - 11,8% sedangkan produksi bahan kering sebanyak 15 - 40 ton/ha/tahun. Keterbatasan pemberian pada ternak nonruminansia disebabkan kandungan serat kasar yang tinggi menyebabkan bahan pakan tidak dapat dicerna dan menurunkan palatabilas pakan. Kandungan zat antinutrisi pada daun kaliandra yaitu tanin sebesar 11% menyebabkan penyerapan protein terganggu sehingga pemberian daun kaliandra pada unggas dibatasi. Upaya meningkatkan penggunaan tanaman leguminosa sebagai bahan pakan nonruminansia, diberikan dalam bentuk konsentrat protein daun. Pengertian konsentrat protein daun menurut Yatno *et al.* (2018) merupakan protein terkonsentrasi yang ditemukan dalam daun tanaman.

Hasil penelitian - penelitian sebelumnya menunjukkan adanya peningkatan kandungan protein yang dihasilkan melalui proses ekstraksi kombinasi fisikokimia guna menghasilkan konsentrat protein. Penelitian yang dilakukan Yatno, (2009) dan

Yatno *et al.*, (2015) melaporkan protein bungkil inti sawit dapat ditingkatkan menjadi 3x lipat dari 16% menjadi 46,5%. Penelitian sejenis mengenai ekstraksi protein daun kaliandra oleh Yatno *et al.*, (2016) meningkatkan protein dari 22% menjadi 30,45% menggunakan buffer asetat pH 5,2. Hasil penelitian tersebut dirasa belum maksimal sebab hanya menggunakan buffer asetat sehingga dimungkinkan rendemen, protein dan asam amino yang larut hanya dalam keadaan asam. Perlu adanya penggunaan buffer yang bersifat basa seperti NaOH agar milarutkan protein yang masih tertinggal pada padatan. Penelitian ini menggunakan buffer NaOH pada ekstraksi pertama dan penggunaan buffer asetat pada ekstraksi kedua. Hasil ekstraksi pertama dan kedua kemudian digabungkan untuk mencari titik isoelektrik dengan metode pengendapan. Padatan yang dihasilkan disebut sebagai konsentrasi protein daun (KPD).

MATERI DAN METODE

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah daun kaliandra. Bahan kimia yang digunakan adalah NaOH 0,05 N pH 8, 9 dan 10, asam asetat, Na asetat, asam sitrat, Na sitrat, Na_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, aquades, H_2SO_4 , NaOH 40%, asam borat 4%, indikator *methyl red*, HCl 0,1 N, HCl 6 N, larutan untuk pengering sampel (methanol, picolotiocianat, trietilamin), larutan untuk derivatisasi (methanol, Na asetat dan trimetilamin), asetonitril 60%, aseton 70%, butanol-HCl dan larutan ferriamonium sulfat. Variabel terikat yang diamati dan diukur adalah : (a) titik isoelektrik (b) asam amino total dan (c) zat antinutrisi tanin.

Metode

a. Proses Pembuatan Tepung Daun Kaliandra Bebas Lemak

Daun kaliandra dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C jam kemudian digiling hingga halus dan diayak. Tepung daun dilarutkan lemaknya menggunakan heksana pada soxhlet sehingga dihasilkan tepung daun bebas lemak. Tepung daun kaliandra bebas lemak dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan mortal.

b. Isolasi dan Ekstraksi (Modifikasi Metode Yatno, 2009)

Tahapan isolasi dan ekstraksi protein daun kaliandra diawali dengan menimbang 50 g tepung daun kaliandra dan 400 ml NaOH (sesuai perlakuan) dicampur menggunakan *blender* hingga tercampur rata dan berbentuk pasta. Sampel disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan supernatan dan padatan. Supernatan ditampung dalam Erlenmeyer sehingga diperoleh supernatan I. Sedangkan padatan dilakukan *re-ekstrak* dengan cara menambahkan buffer asetat pH 4 sebanyak 400 ml kemudian dicampur menggunakan *blender* hingga tercampur rata dan berbentuk pasta sehingga didapatkan supernatan II. Supernatan I dan supernatan II disimpan pada lemari pendingin.

c. Penentuan Titik Isoelektrik

Supernatan I dan supernatan II diambil sebanyak total 15 ml dimasukan dalam Erlenmeyer. Larutan diukur pH awal menggunakan pH meter kemudian diatur menjadi pH 3, 4 dan 5 dengan cara menambahkan buffer sitrat sedangkan pengaturan pada pH 6, 7 dan 8 dengan cara menambahkan buffer fosfat. Larutan dimasukan dalam tabung sentrifuse, didiamkan selama 24 jam dalam suhu dingin. Kemudian sampel disentrifuse pada kecepatan 4200 rpm selama 15 menit. Endapan dipisahkan dari filtrat dan ditampung dalam cawan aluminium. Cawan kemudian dikeringkan menggunakan oven suhu 40°C hingga kering kemudian ditimbang. Jumlah endapan tertinggi menunjukkan pH titik isoelektrik dan digunakan sebagai acuan produksi konsentrat protein daun kaliandra.

d. Produksi Konsentrat Protein

Sisa supernatan I dan supernatan II dalam lemari pendingin dikeluarkan kemudian dicampurkan seluruhnya. Larutan diukur pH awalnya kemudian diatur pH sesuai dengan titik isoelektrik pada percobaan sebelumnya. Larutan dimasukan dalam tabung sentrifuse, didiamkan selama 24 jam dalam suhu dingin. Sampel disentrifuse pada kecepatan 4200 rpm selama 15 menit. Endapan dipisahkan dari filtrat kemudian dikeringkan dengan oven suhu 40°C kemudian dianalisis kandungan asam amino menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dan zat antinutrisi tanin menggunakan metode butanol - HCl. Analisis protein kasar menggunakan metode *Kjedhal* menurut AOAC (2005) dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Protein kasar (\%)} : \frac{\text{ml titran} \times \text{N HCl} \times 0,014 \times 6,25}{\text{Berat sampel (X)}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Titik Isoelektrik Konsentrat Protein Daun Kaliandra

Titik isoelektrik konsentrat protein daun kaliandra dilihat berdasarkan endapan protein terbanyak yang dihasilkan. Terjadinya titik isoelektrik karena asam amino bermuatan nol akibat bertambah atau berkurangnya muatan pada asam amino sehingga terbentuk endapan. Jumlah endapan protein daun kaliandra hasil ekstrasi larutan NaOH pH 8. 9. 10 dan buffer asetat pH 4, 5, 6 serta buffer fosfat pH 6, 7, dan 8 pada Tabel 1.

Tabel 1. Endapan protein daun leguminosa hasil ekstrasi larutan NaOH pH 8. 9. 10 dan buffer asetat pH 4, 5, 6 dan buffer fosfat pH 6, 7, dan 8

Ekstraksi NaOH pH dan buffer asetat pH 4	Buffer pH	Daun Leguminosa Kaliandra (g)
8	3	0,013
	4	0,023
	5	0,015
	6	0,022
	7	0,034
	8	0,039
	9	0,014
	10	0,010
9	5	0,049
	6	0,079
	7	0,021
	8	0,046
	3	0,091
	4	0,069
	5	0,062
	6	0,026
10	7	0,083
	8	0,108

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan endapan terbanyak pada ekstraksi NaOH 0,05 N pH 8, 9 dan 10 yaitu sebanyak 0,039 g/15 ml, 0,079 g/15 ml dan 0,108 g/15 ml. Hal tersebut menunjukkan pada pengaturan pH 10 dan ekstraksi menggunakan buffer fosfat pH 8 paling mendekati titik isoelektrik konsentrat daun kaliandra yakni menghasilkan endapan protein sebanyak 0,108 g/15 ml atau 7,2 mg/ml. Hasil penelitian Yatno *et al.* (2018) pada pembuatan konsentrat protein daun kaliandra menunjukkan endapan terbanyak terjadi pada pH 7 dengan endapan terbanyak sebesar 0,0555 g. Perbedaan titik isoelektrik dan hasil rendemen disebabkan pada penelitian terdahulu hanya menggunakan buffer asetat yang bersifat asam pada proses ekstraksi. Yatno *et al.* (2018) melaporkan jumlah endapan terbanyak pada pembuatan konsentrat protein daun lamtoro didapatkan pada pengaturan NaOH pH 10 yaitu sebanyak 2,58 g. Penambahan ekstraksi menggunakan NaOH yang bersifat basa mampu meningkatkan jumlah endapan konsentrat protein daun kaliandra. Nilai pH yang digunakan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi alkali (Kinsella, 1979).

Peningkatan jumlah endapan sejalan dengan peningkatan pH NaOH yang digunakan. Menurut Pratiwi *et al.* (2018) endapan terbanyak yang dihasilkan pada pengaturan NaOH pH 10 karena pH larutan yang digunakan jauh dari pH isoelektrik

dari asam - asam amino penyusun konsentrat protein daun kaliandra. Triyono (2010) menyebutkan semakin besar jarak pH dengan titik isoelektrik asam amino menyebabkan kelarutan protein meningkat sehingga endapan yang dihasilkan semakin banyak. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Sudrajat *et al.* (2016) bahwa kelarutan protein tertinggi ekstraksi dengan pelarut NaOH protein koro benguk (*Mucuna pruriens*) terjadi pada pH 10 dan menurun pada pH 11. Kondisi larutan semakin basa menyebabkan ion OH⁻ mengikat ion H⁺ pada gugus amina sehingga kelarutan protein naik. Sedangkan pada pengaturan pH larutan yang ekstrem (pH>10) dimungkinkan terjadinya denaturasi protein (Pratiwi *et al.* 2018).

Analisis Asam Amino Konsentrat Protein Daun Kaliandra

Hasil pengukuran protein kasar konsentrat protein daun kaliandra mengalami kenaikan dibandingkan protein kasar tepung daun kaliandra yaitu 25,55%. Protein kasar pada ekstraksi NaOH pH 8, 9 dan 10 berturut-turut adalah 60,6% ; 58,28% dan 48,94%. Kenaikan nilai protein kasar disebabkan protein telah terbebas dari komponen-komponen selain protein. Kadar protein kasar konsentrat protein daun pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya. Yatno *et al.* (2016) melaporkan protein kasar konsentrat protein daun kaliandra menggunakan buffer asetat pH sebesar 30,45% dari sebelumnya 22%. Peningkatan kadar protein kasar konsentrat daun kaliandra pada penelitian disebabkan adanya protein yang larut dalam keadaan basa. Protein kasar konsentrat protein daun kaliandra lebih besar dibandingkan bungkil kedelai yang memiliki protein kasar sebesar 43 - 48% (Wati, 1999).

Asam - asam amino yang terdapat pada konsentrat protein daun kaliandra dibandingkan dengan asam - asam amino pada bungkil kedelai. Konsentrat protein daun kaliandra menghasilkan 15 asam amino penyusunnya yang terdiri dari 9 asam amino esensial yaitu metionin, arginin, threonin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, phenilalanin dan valin serta 6 asam amino non esensial yaitu aspartat, glutamin, serin, glisin, tirosin dan alanin. Hasil penelitian menunjukkan kandungan asam - asam amino konsentrat protein daun kaliandra tinggi dari bungkil kedelai kecuali glutamin sejalan dengan kadar protein kasar yang lebih tinggi dari bungkil kedelai. Menurut Saraswati *et al.*(2017) semakin banyak jumlah dan macam asam amino dalam bahan pakan sumber protein akan meningkatkan nilai biologis protein. Komposisi asam amino dalam konsentrat protein daun kaliandra dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Komposisi asam amino konsentrat protein leguminosa

Asam amino	Kaliandra	Bungkil kedelai
Esensial		
Methionin	0,90	0,72
Arginin	3,79	3,59
Threonin	3,29	1,94
Histidin	1,99	1,33
Isoleusin	3,39	2,20
Leusin	5,88	3,77
Lisin	4,19	3,02
Phenilalanin	3,99	2,51
Valin	4,78	2,29
Non - esensial		
Aspartat	7,18	5,62
Glutamin	5,48	8,70
Serin	4,88	2,22
Glisin	4,09	1,91
Tirosin	2,79	1,84
Alanin	3,99	2,22
Total	60,6	43,88

Analisis Zat Antinutrisi Tanin Konsentrasi Protein Daun Kaliandra

Kadar tanin konsentrasi protein daun kaliandra pada penelitian ini menggunakan metode butanol – HCl sebesar 0,01%. Penurunan kadar tanin pada penelitian ini berkaitan dengan titik isoelektrik konsentrasi protein daun kaliandra. Shahidi dan Marian, (2004) menjelaskan kelarutan terendah antara tanin dan protein terjadi pada saat protein mencapai titik isoelektriknya. Titik isoelektrik konsentrasi protein daun kaliandra terjadi pada pengaturan NaOH pH 10 tanin bebas tidak berikatan dengan protein sehingga terurai. Firdausi *et al.* (2013) menjelaskan tanin mampu mengendapkan protein pada dibawah 8 namun mengalami penurunan tajam pada pH > 8 sebab dalam kondisi pH tinggi, terionisasi sehingga tidak dapat membentuk ikatan hidrogen. Leimena (2000) melaporkan serat dan tanin mempengaruhi kadar protein bahan pakan. Penurunan kadar tanin dan serat menyebabkan protein larut dalam ekstraksi basa kemudian mengendap ketika perlakuan asam sehingga protein yang dihasilkan semakin banyak.

Kandungan antinutrisi pada bahan pakan seperti tanin dapat menyebabkan terganggunya penyerapan nutrien, sehingga perlu memperhatikan jumlah pemberian pada ternak unggas. Menurut Kumar *et al.* (2005) kadar tanin dalam pakan unggas yang masih dapat ditolerir sebanyak 2,6 g/kg pakan. Zaki *et al.* (2019) menambahkan kandungan tanin maksimal yang dapat diterima dalam ransum unggas sebesar 0,33%. Kadar tanin dalam penelitian ini sebesar 0,01% masih dalam batas toleransi tanin dalam bahan pakan sehingga konsentrasi protein daun kaliandra aman digunakan sebagai bahan pakan penyusun ransum unggas

KESIMPULAN

Titik isoelektrik konsentrat protein daun kaliandra tercapai pada pengaturan NaOH 0,05 N pH 10 pada ekstraksi pertama dan buffer fosfat pH 8 pada ekstraksi kedua menghasilkan endapan 7,2 mg/ml dengan kandungan protein kasar sebesar 48,94% (lebih tinggi dari bungkil kedelai) serta kandungan asam amino yang lebih lengkap dari bungkil kedelai dengan kandungan tanin sebesar 0,01%.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2005. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 18th ed. Maryland: AOAC International. William Harwitz (ed). United States of America.
- Firdausi A, T. A. Siswoyo dan S. Wiryadiputra. 2013. Identifikasi Tanaman Potensial Penghasil Tanin-protein Kompleks Untuk Penghambatan Aktivitas α -amylase Kaitannya Sebagai Pestisida Nabati. Pelita Perkebunan. 29(1) : 31 – 43.
- Kinsella, J. E. 1979. Function Properties of Soybean Protein. J. American Oil Chem, Soc. 56 : 242 – 257.
- Kumar V, A. V. Elangovan dan A.B. Amdal. 2005. Utilization of reconstituted high-tannin sorghum in the diets of broiler chickens. Asian-Aust J Anim Sci. 18:538-544.
- Leimena, E.N. 2000. Karakteristik Sifat Molekuler dan Fungsional Protein dari Biji Kecipir. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pratiwi H. P., Kasiyati, Sunarno dan M. A. Djaelani. 2019. Bobot Otot dan Tulang Tibia Itik Pengging (*Anas platyrhynchos domesticus L.*) setelah Pemberian Imbuhan Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dalam Pakan. Jurnal Biologi Tropika. 2 (2) : 54 - 61.
- Saraswati, U. Atmomarsono dan S. Kismiati. 2017. Pengaruh Sumber Protein Berbeda terhadap Laju Alir Pakan, Kecernaan Protein dan Retensi Nitrogen Ayam Lokal Persilangan. Jurnal Sains Peternakan Indonesia. 12 (4) : 372 – 378.
- Shahidi, F. dan N. Marian. 2004. Phenolics in Food and Neutraceuticals. CRC Press. Washington D.C.
- Sudrajat A. B. N., N. Diniyah dan R. R. Fauziah. 2016. Metode Ekstraksi Alkali pada Isolat Protein Koro Benguk (*Mucuna pruriens*). Prosiding Seminar Nasional APTA : 192 – 198.
- Tangendjaja B., Wina, E. T. Ibrahim dan B. Palmer. 1992. Kaliandra (*Calliandra calothrysus*) dan Pemanfaatannya. Balai Penelitian Ternak dan The Australian Centre for International Agricultural Research. Bogor.
- Triyono, A. 2010. Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*). Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, 1411-4216.
- Wati A. K., Z. Zuprizal, K. Kustantinah, E. Indarto, N. D. Dono dan W. Wihandoyo. 2018. Performan Ayam Broiler dengan Penambahan Tepung Daun dalam Pakan. Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan, 16(2) : 74-79.

-
- Wina, E. 1999. Kualitas Protein Bungkil Kedelai: Metode Analisis dan Hubungannya dengan Penampilan Ayam. Kumpulan Makalah Feed Quality Management Workshop. American Soybean Association dan Balai Penelitian Ternak : 1-3.
- Yatno. 2009. Isolasi Protein Bungkil Inti Sawit dan Kajian Nilai Biologinya Sebagai Alternatif Bungkil Kedelai Pada Puyuh [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Yatno, Adrizal, R. Murni, Nelson, M. Latief dan Fitriyah. 2015. Pengaruh Lama Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Bahan Pengendap terhadap Jumlah Rendemen dan Protein Recovery Konsentrat Protein Bungkil Inti Sawit. Proseding Seminar Nasional LPPM Universitas Jambi.
- Yatno, Adrizal, R. Murni, S. Fakhri, Suparjo dan Nelson. 2016. Ekstraksi dan Isolasi Protein Daun Lamtoro sebagai Upaya Penyediaan Suplemen Pakan Masa Depan. Laporan Penelitian, Fakultas Peternakan Universitas Jambi
- Yatno, Nelson, R. Murni, Suparjo dan H. L. Syarifah. 2018. Isolasi Protein dan Produksi Konsentrat Protein Daun (KPD) sebagai Suplemen Pakan Ternak. Pastura, 7(2) : 88-94.
- Zaki M. T., Riyanti, R. Sutrisna dan D. Septinova. 2019. Pengaruh Pemberian Indigofera zollingeriana dalam Ransum Terhadap Performa Itik Peking. Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan. 3 (3) : 8 – 13.