

**PENERAPAN PROTEASE *Aspergillus sp* PADA PROSES
BUANG RAMBUT RAMAH LINGKUNGAN**Suharjono Triatmojo, Yuny Erwanto, dan Nanung Agus Fitriyanto¹**INTISARI**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari *Aspergillus sp* dalam proses buang rambut penyamakan kulit terhadap kualitas kulit samak dan limbah cair yang dihasilkan. Penelitian dilakukan dengan membandingkan kelompok kulit yang mengalami proses buang rambut dengan enzim protease jamur *Aspergillus sp* dengan kontrol (kulit yang dikapur dan buang rambut secara konvensional, tanpa penambahan enzim). Jamur yang digunakan dalam penelitian ini ada dua macam yaitu jamur *A. oryzae* dan *A. flavus*. Perlakuan pada penelitian ini adalah buang rambut dengan enzim protease jamur *A. oryzae* dengan level 1% (P_1), 1,5% (P_2) dan 2% (P_3), selanjutnya diulas dengan 1% Na_2S . Perlakuan yang sama diterapkan juga untuk protease jamur *A. flavus*. Sebagai kontrol (P_0) adalah proses buang rambut secara kimia atau konvensional yaitu menggunakan 3% Na_2S dan 6% $Ca(OH)_2$. Kedua kelompok tersebut selanjutnya disamak *glazed*. Materi yang digunakan adalah sebanyak 21 lembar kulit kambing garaman. Setiap lembar kulit dibagi menjadi dua bagian sepanjang garis punggung sehingga diperoleh 42 belahan. Kulit secara acak dialokasikan ke dalam empat perlakuan yaitu P_0 , P_1 , P_2 , dan P_3 , masing-masing perlakuan terdiri dari 6 belahan kulit. Kulit diproses *soaking*, *liming*, buang rambut, dan *deliming*, diambil contoh kulit untuk dibuat preparat histologi, dan diambil limbah cairnya untuk diuji BOD, COD, pH, dan kandungan sulfidanya. Selanjutnya kulit diproses lebih lanjut sampai menjadi kulit samak *glazed*. Diambil sampel pada bagian kroupun untuk uji fisik kulit yang meliputi kekuatan tarik, kemuluran, suhu kerut, dan kerut maksimal. Data yang terkumpul dianalisis variansi dengan rancangan percobaan pola searah dengan program Microstat. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada beda nyata kualitas fisik kulit samak *glazed* yang dibuang rambutnya dengan protease *A. flavus*, sedangkan yang diproses buang rambut dengan protease *A. oryzae* kekuatan tarik dan suhu kerutnya berbeda. Beban cemaran buang rambut secara konvensional lebih tinggi daripada yang menggunakan enzim protease jamur. Kesimpulan : buang rambut dengan protease *Aspergillus sp* maupun secara konvensional menghasilkan kulit yang kualitas fisiknya memenuhi Standar Nasional Indonesia. Limbah cair pada proses buang rambut dengan enzim protease jamur *Aspergillus sp* lebih ramah lingkungan dibanding dengan metode konvensional.

(Kata kunci : Buang rambut, Protease *Aspergillus sp*, Kualitas fisik kulit samak, Limbah penyamakan kulit).

Buletin Peternakan 28 (4) : 193 - 106, 2004

¹ Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

**APPLICATION FROM PROTEASE OF *Aspergillus sp* ON UNHAIRING
PROCESS OF ENVIRONMENTALLY ACCEPTABLE****ABSTRACT**

This study was conducted to know the effects of *Aspergillus sp* on the unhairing process, quality of the tannery skin and tannery effluent character. The research was divided into two group i.e unhairing process using protease from *Aspergillus sp* and conventional unhairing using lime-sulfide agent (control). *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus flavus* were used to produced protease enzyme. The levels of protease enzyme from both of *Aspergillus* were 1% (P1), 1,5% (P2), and 2% (P3) and then all treatment was limed with 1% of Na_2S . The conventional unhairing was conducted using 3% of Na_2S and 6% of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ as a control. The tanning process was the *glace tanning*. Twenty four pair of goat skins were cut into halves and were processed by standard methods. The skins were divided by random sampling into four groups. The replication was six sample each group. The finished leathers were subjected to histology analysis and the tannery effluent was taken for BOD, COD, pH and sulfide content analysis. The data were collected and analyzed using one way classification by MICROSTAT software. The results of the experiment showed there were no significant differences on physical quality of leathers which unhaird using enzyme from *Aspergillus flavus* compared than control. The significant differences were showed in tensile strength and shrinkage temperature of leathers which unhaird using enzyme from *Aspergillus oryzae*. The conventional unhairing processing resulted higher pollution of tannery effluent than unhairing using protease enzyme from *Aspergillus sp*. In conclusions, the conventional unhairing and the protease enzyme unhairing produced national standard of finished leathers, but the effluent pollution was higher in the conventional unhairing process.

(Key words : Unhairing, Protease of *Aspergillus sp*, Physical quality of finished leather, Effluent pollution).

Pendahuluan

Produksi industri kulit di Indonesia saat ini telah mengalami kemajuan yang pesat. Pemerintah telah mencanangkan bahwa industri kulit merupakan prioritas untuk dikembangkan mengingat kulit merupakan produk andalan ekspor. Di pihak lain, aktivitas di bidang perkulitan juga menghasilkan limbah dari berbagai macam proses di dalamnya yang tidak bisa dihindari keberadaannya. Karakteristik limbah pengolahan kulit dapat dikelompokkan menjadi 3 jenis, yaitu limbah cair, padat, dan gas. Limbah industri kulit menjadi berbahaya karena banyak bahan kimia yang digunakan pada setiap tahapan penyamakan kulit. Tidak semua bahan akan termanfaatkan sehingga timbulnya limbah tidak bisa dihindari. Selaras dengan berkembangnya kepedulian masyarakat dan pemerintah pada

kesehatan dan keselamatan lingkungan maka dewasa ini industri diusahakan untuk memanfaatkan bahan-bahan yang alami guna meminimalisir adanya limbah yang berbahaya. Proses buang rambut adalah salah satu tahapan dalam proses penyamakan kulit yang potensial menghasilkan limbah padat berupa rambut dan juga dari limbah kimia sisa bahan peluruh rambut seperti Na_2S atau $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Buang rambut dengan kapur dan Na_2S berpengaruh negatif terhadap limbah yang dihasilkan yaitu meningkatkan kandungan COD dan bahan padat tersuspensi (TSS), menghasilkan bau yang sangat tajam, serta lingkungan kerja menjadi tidak nyaman. Selama penanganan limbah penyamakan kulit juga dihasilkan gas H_2S yang sangat beracun (Kamini *et al.*, 2002).

Upaya untuk mengurangi limbah kimia dengan proses yang ramah lingkungan telah

menjadi tuntutan banyak pihak yang harus terus diupayakan baik lewat kajian, penelitian, maupun aplikasi langsungnya di lapangan. Akhir-akhir ini telah diteliti kemungkinan penggunaan enzim dalam proses buang rambut (Gehring *et al.*, 2002; Paul *et al.*, 2001; Thangam *et al.*, 2001; Ediani *et al.*, 2002). Enzim yang digunakan dapat berasal dari tanaman, hewan, maupun mikroorganisme. Enzim mikroorganisme berasal dari bakteri, yeast, maupun fungi. Enzim dari mikroorganisme banyak digunakan karena mudah dan murah dalam proses produksinya (Sarkar, 1995; Kamini *et al.*, 2002). Buang rambut secara enzimatik banyak mempunyai keuntungan antara lain: a) mengurangi jumlah pemakaian Na_2S , b) kualitas rambut atau wol yang diperoleh lebih baik dan nilai jualnya lebih tinggi, c) tidak dihasilkan bau yang menyengat, d) kualitas produk kulit samak lebih baik, e) tidak perlu adanya proses bating, dan f) penghematan biaya proses (Kamini *et al.*, 2002). Buang rambut secara enzimatik banyak menggunakan enzim yang bekerja pada suasana netral, yaitu enzim-enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus sp* dan *Penicillium sp* (Kamini *et al.*, 2002). Ediani *et al.* (2002) telah berhasil mengaplikasikan protease *Rhizopus sp.* sebagai bahan buang rambut ramah lingkungan. Penelitian ini dikerjakan dengan tujuan untuk: a) membandingkan aktivitas enzim protease jamur *A. oryzae* dan *A. flavus* pada substrat *wheat bran* dan dedak halus, b) mengetahui pengaruh penggunaan protease dari *Aspergillus sp* pada proses buang rambut terhadap kualitas kulit yang meliputi kualitas fisik dan organoleptik kulit, dan c) membandingkan kualitas limbah penyamakan kulit yang dihasilkan dari proses buang rambut menggunakan enzim dengan limbah dari proses buang rambut secara konvensional.

Materi dan Metode

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah jamur *A. oryzae* dan *A. flavus* yang diperoleh dari Pusat Studi Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Kultur jamur dipelihara dan diremajakan secara rutin di dalam agar miring PDA (potato dextrose

agar). Dedak halus dan *wheat bran* dibeli dari perwakilan Bogasari Yogyakarta, kedua macam bahan ini digunakan sebagai media tanam jamur. Dua puluh satu lembar kulit kambing garaman sebagai materi untuk aplikasi enzim protease jamur sebagai agensia buang rambut.

Bahan kimia yang dipakai adalah : Kasein Hammersten, Buffer glisin, NaOH, TCA, NaNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Kaolin, Na_2S , Standar tirosin, H_2SO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Ferro Ammonium Sulfat, FeCl_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Na_2SO_3 , Akuades, dan bahan kimia untuk penyamakan kulit.

Alat yang dipakai adalah ruang inkubasi suhu 30°C kelembaban 80%, almari pendingin suhu $-10-15^\circ\text{C}$, besek bambu, blender merk National, oven pengering suhu $30-120^\circ\text{C}$, Spektrofotometer UV Shimadzu, drum penyamak kulit skala laboratorium, alat uji kemuluran dan kuat tarik, alat uji suhu kerut, alat uji BOD/OT meter dan COD reaktor, pH meter, timbangan analitik, dan alat-alat gelas.

Pemeliharaan dan peremajaan kultur jamur

Jamur di dalam ampul diencerkan dengan lima tetes akuades steril. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam agar potato dektrosa miring, diinkubasi pada ruang steril selama 2 hari, kemudian disimpan di dalam refrigerator suhu 4°C .

Kultur jamur di dalam agar miring selanjutnya ditumbuhkan di dalam cawan petri yang berisi medium PDA, kemudian diinkubasi pada ruang suhu kamar kelembaban 80% selama 2 hari. Selanjutnya, jamur digunakan untuk produksi enzim skala aplikasi.

Produksi enzim protease

Wheat bran dan dedak halus komersial digunakan sebagai substrat untuk produksi enzim protease. Bahan yang berupa *wheat bran* /dedak halus sebanyak 200 g, ditambah 300 ml larutan garam yang setiap literanya mengandung NaNO_3 (2 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g), KCl (0,5 g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sekelumit) dan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

sekelumit, dan diatur pHnya menjadi 7.0, selanjutnya disterilkan pada tekanan 15 psi selama 20 menit. Tabung reaksi yang sudah diisi 10 ml akuades juga disterilkan. Besek dan ruang fermentasi disterilkan dengan alkohol 70%. Bahan yang telah disterilkan selanjutnya dimasukkan ke dalam besek yang diberi alas kertas, selanjutnya diinokulasi dengan 10 ml larutan jamur, diratakan, dan difermentasikan selama 2 hari di ruang fermentasi pada suhu kamar dan kelembaban 80%. Substrat yang telah ditumbuhi jamur dikeringkan di dalam oven suhu 45°C selama 48 jam, setelah kering (kadar air sekitar 10%) dihaluskan dengan cara diblender. Enzim protease jamur *A. flavus* dan *A. oryzae* kasar disimpan di dalam kantong plastik polietilen, kemudian diuji aktivitasnya.

Pengujian aktivitas protease

Aktivitas enzim protease kasar jamur *A. flavus* dan *A. oryzae* diuji menurut metode Malathi dan Cakraborty (1991) yang dimodifikasi. Pengujian aktivitas enzim dengan substrat kasein, buffer glisin-NaOH pada pH 9,5, dan untuk menghentikan aktivitasnya digunakan trikloroasetat (TCA). Ditimbang 1 g preparat enzim kasar kering, dilarutkan ke dalam 50 ml akuades steril, dihomogenkan dengan cara diaduk selama 5 menit pada *magnetic stirrer*, disaring dengan kertas saring Whatman No.1, dan filtrat yang dihasilkan diuji aktivitasnya. Ke dalam 1 ml larutan kasein 2,5% ditambahkan 1,9 ml larutan buffer glisin NaOH (0,1M pH 9,5) dan 0,1 ml larutan enzim, dicampur dengan cara divorteks dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 42°C. Pada akhir masa inkubasi, ditambahkan 2 ml larutan TCA 5%, dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit, dan disaring dengan kertas saring Whatman no.1. Filtrat diamati absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm. Sebelum pengukuran absorbansi enzim, telah dibuat lebih dulu kurva standart larutan tirosin. Konsentrasi enzim diperoleh dengan mengplotkan absorbansi enzim ke dalam kurva standart. Aktivitas enzim dihitung dengan rumus :

Aktivitas enzim (U/mg) = [tirosin] x 1/T x [enzim dalam larutan uji]

Aplikasi enzim dalam penyamakan kulit

Sediaan enzim protease jamur *A. flavus* dan *A. oryzae* digunakan sebagai agensia buang rambut dalam samak *glazed* kulit kambing. Digunakan 21 lembar kulit kambing garaman, setiap lembar dibelah menjadi dua belahan hingga diperoleh 42 belahan kulit. Kulit diaplikasikan ke dalam 7 perlakuan yaitu P₀ (kontrol), P₁, P₂, dan P₃ buang rambut dengan *A. flavus* serta P₁, P₂, dan P₃ buang rambut dengan enzim protease *A. oryzae*. P₁, P₂ dan P₃ masing-masing adalah level enzim sebanyak 1%, 1,5% dan 2%. Sebagai kontrol adalah buang rambut secara konvensional yaitu menggunakan 6% kapur dan 3% Na₂S. Ulangan setiap perlakuan 6 belahan kulit. Kulit kambing awetan garam yang digunakan dalam penelitian ini, setelah dicuci dan direndam seperti pada umumnya pada tahapan proses penyamakan kulit, diperlakukan sebagai berikut:

- Kulit diproses buang rambut dengan cara konvensional (10% kapur dan 4% Na₂S)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 1% *A. flavus* dan 1% Na₂S (P₁)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 1,5% *A. flavus* dan 1% Na₂S (P₂)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 2% *A. flavus* dan 1% Na₂S (P₃)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 1% *A. oryzae* dan 1% Na₂S (P₁)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 1,5% *A. oryzae* dan 1% Na₂S (P₂)
- Kulit diproses buang rambut dengan enzim 2% *A. oryzae* dan 1% Na₂S (P₃).

Buang rambut dilakukan secara ensimatis dimana kulit dioles dengan pasta yang terdiri dari 7% kaolin dan enzim sesuai dengan perlakuannya, pH diatur menjadi 9,5 dengan kapur, dibiarkan selama 20 jam, selanjutnya kulit diputar dalam drum yang berisi 100% air dan 1% Na₂S, baru dilanjutkan dengan buang rambut. Selanjutnya diambil contoh air limbah untuk dianalisis pH, BOD, COD dan sulfida. Proses selanjutnya dilakukan secara bersama-sama dengan metode penyamakan pada

umumnya hingga diperoleh kulit samak *glazed* (cara penyamakan terlampir).

Cara uji histologi

Pengambilan sampel untuk uji fisik dan sensoris sesuai dengan SNI. 06-0643-1989: Cara Menyiapkan Contoh Uji Kulit untuk Pengujian Fisik dan Kimiawi. Sampel kulit setelah proses buang rambut diambil sampel untuk dibuat preparat histologi pada bagian punggung dengan jarak 2,5 cm dari garis punggung dan 12,5 cm dari ekor (sedikit modifikasi karena kulitnya kecil). Contoh uji yang diambil sebesar (0,75x0,5) cm dengan panjang sejajar garis punggung. Contoh uji dimasukkan ke dalam cairan fiksatif asam format 10%. Setelah dilakukan pencucian, dehidrasi, penjernihan, impregnasi, embedding dan pemotongan, dilakukan pengecatan menggunakan eosin-hematoksilin (Mc Manus dan Mowry, 1960). Preparat histologi diamati dengan mikroskop dan dibuat fotomikrografinya dengan Nikon digital camera.

Cara uji fisik dan organoleptik

Kulit samak *glazed* diambil contoh untuk uji fisik dan sensoris pada bagian punggung dengan jarak 5 cm dari garis punggung dan 12,5 cm dari ekor. Contoh uji kuat tarik dan kemuluran dibuat pola sesuai dengan SNI 06-0643-1989.

Kekuatan tarik. Kekuatan tarik adalah besarnya beban yang digunakan untuk memutuskan cuplikan sampel kulit dibagi dengan luas permukaan dan dinyatakan dalam kg/cm².

Kemuluran Kulit. Kemuluran kulit adalah pertambahan panjang kulit pada saat ditarik sampai putus, dibagi dengan panjang semula, dan dinyatakan dalam persen (%).

Suhu kerut kulit. Sampel untuk uji suhu kerut dimasukkan dalam larutan gliserin (75% gliserin: 25% air), kemudian dipanaskan dengan kompor listrik. Suhu gliserin dinaikkan secara bertahap dan kemudian dicatat suhu terjadinya pengkerutan sampel sebagai suhu kerut kulit.

Kerut maksimal. Pemanasan dilanjutkan selama 15 menit, diukur persen pengkerutannya dan dinyatakan sebagai kerut maksimal.

Uji organoleptik. Uji organoleptik meliputi sisa rambut, ketahanan sobek, dan kelentingan.

Cara uji limbah cair

Limbah cair diuji pH, BOD, COD dan sulfida. pH diuji dengan pH meter, BOD menurut SNI 19-1664-1989, COD menurut APHA, 1998 *section* 5220C, sulfida menggunakan metode *metilen blue* (SNI 19-1664-1989).

Analisis statistik

Percobaan produksi enzim dan uji aktivitas enzim menggunakan pola faktorial 2x2 (faktor I adalah strain jamur, yaitu *A. oryzae* dan *A. flavus*; faktor II adalah macam substrat yaitu *wheat bran* dan dedak halus). Percobaan buang rambut menggunakan rancangan percobaan pola serah. Data yang terkumpul dianalisis variansi. Perbedaan rerata perlakuan di uji dengan metode Tukey's.

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim protease

Enzim protease jamur *A. flavus* dan *A. oryzae* diuji aktivitasnya pada pH 9,5 dengan buffer Glisin-NaOH dan substrat kasein. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada interaksi antara macam jamur dengan macam substrat, juga tidak ada perbedaan aktivitas enzim antara protease *A. flavus* dan *A. oryzae* yang ditumbuhkan pada media *wheat bran* maupun dedak halus (Tabel 1).

Jamur *A. oryzae* maupun *A. flavus* tumbuh baik pada kedua macam media tersebut pada suhu ruang (29-30°C) dan kelembaban sekitar 80%. Hasil penelitian ini bertentangan dengan hasil penelitian Malathi dan Chakraborty (1991) yang menyebutkan bahwa jamur *A. flavus* tumbuh baik pada berbagai media alami tetapi hanya *wheat bran* saja yang menghasilkan aktivitas enzim, sedangkan

ricebran tidak, ini diduga disebabkan oleh perbedaan strain jamur.

Kualitas fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed*

Hasil pengujian kekuatan fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed* disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3. Hasil penelitian selanjutnya dibandingkan dengan standar mutu kulit kambing *glazed* menurut standar nasional (SNI 06-024-1989). Kualitas fisik kulit yang dibuang rambut dengan enzim dibanding kontrol (buang rambut secara konvensional) tidak berbeda nyata. Setelah dibandingkan dengan SNI untuk kulit samak *glazed*, ternyata semua memenuhi standar mutu bahkan kekuatan tariknya jauh di atas standar $>150 \text{ kg/cm}^2$, sedangkan kemulurannya $<$ dari 55%. Pada uji organoleptik, masih dijumpai sisa rambut pada bagian tengkuk dengan prosentase antara 1% sampai 4%. Pada buang rambut dengan enzim, tidak digunakan kapur sehingga proses buang rambutnya kurang sempurna. Kapur berfungsi untuk menghidrolisis protein globular dan protein keratin, membengkakkan kulit, dan menyabunkan lipida kulit. Pemakaian enzim sebaiknya dikombinasi dengan kapur agar hasil kulit samaknya lebih baik. Suhu kerut berada disekitar $108-109^\circ\text{C}$. Ini menunjukkan bahwa penyamakannya sudah sempurna, tidak terjadi kerusakan serabut dan ikatan silang di antara serabut dengan krom sangat baik.

Secara organoleptik, dapat dikatakan kualitas kulitnya cukup bagus karena tahan sobek, kenyal, dan tidak gembos. Hasil

pengujian fisik dan organoleptik pada kulit kambing samak *glazed* yang dibuang rambut dengan protease *A. oryzae* menunjukkan secara umum tidak terdapat perbedaan yang nyata kecuali kekuatan tarik dan suhu kerut. Namun bila dibandingkan dengan SNI untuk kulit kambing samak *glazed* semua memenuhi standar kecuali masih ada rambut yang tertinggal pada bagian tengkuk yang tidak melebihi 5%. Pengulasan kulit kambing yang telah diperlakukan dengan enzim protease dengan Na_2S sebanyak 1% ternyata belum cukup untuk merontokkan semua rambut. Menurut Frendrup (2000), buang rambut dengan pasta kapur dan Na_2S memerlukan 5-15% Na_2S dan 40-70% air. Pemakaian enzim protease sebaiknya dikombinasi dengan basa (Sarkar, 1995) agar dapat diperoleh hasil yang baik. Basa (misal kapur) akan membantu mencerna protein globular, protein keratin, dan membengkakkan kulit. Pada buang rambut secara ensimatis, kekuatan tarik masih sangat tinggi. Hal ini diduga dosis enzim yang dipakai kurang banyak sehingga protein globular belum semuanya dapat dihilangkan dari kulit dan masih tersesmentasi di antara serabut kolagen sehingga menghasilkan kulit samak Hasil penyamakan sudah bagus. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya suhu kerut. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Ediar *et al* (2002), dimana buang rambut dengan enzim protease *Rhizopus* menghasilkan kuat tarik yang cukup tinggi ($193,00 \text{ kg/cm}^2$). Menurut Sarkar (1995), pengapuran dan buang rambut kulit kambing

Tabel 1. Aktivitas enzim protease (U/mg) *A. flavus* dan *A. oryzae* yang ditanam pada media *wheat bran* dan dedak halus yang dinokulasi pada suhu dan kelembaban kamar. (*The Enzyme protease activity (U/mg) of A. flavus and A. oryzae that planted on wheat bran and rice bran inoculated on different temperature and humidity*)

Media tanam (<i>Planting medium</i>)	Macam jamur (<i>Kind of fungi</i>)	
	<i>A. flavus</i>	<i>A. oryzae</i>
<i>Wheat bran</i>	16,763 \pm 0,3764	16,316 \pm 0,3889
Dedak halus (<i>Rice bran</i>)	16,686 \pm 0,5556	17,225 \pm 1,4604
Rerata (<i>Mean</i>)	16,725 \pm 0,04265	16,770 \pm 1,0777

dibutuhkan dosis yang lebih tinggi karena struktur kulit kambing lebih padat dan lebih kompak dibandingkan dengan kulit domba. Baik buang rambut secara konvensional maupun enzimatis perlu diperbaiki dosis basa dan enzimnya agar kulit samak yang dihasilkan lemas dan kekuatan tarikannya tidak terlalu tinggi. Nilai kemuluran semua perlakuan memenuhi standar nasional yaitu berada di bawah nilai 55% (SNI 06-0234-1989). Kulit kambing yang disamak *glazed* ini memenuhi syarat sebagai kulit atasan sepatu.

Kondisi kulit dari semua perlakuan hampir sama, ketahanan sobeknya tinggi,

kelentingan dari agak kenyal sampai kenyal, dan kulitnya tidak gembos. Sayangnya masih ada rambut yang tertinggal di bagian tengkuk. Menurut Simoncini *et al.* (1965) yang disitasi oleh Ediari *et al.* (2002), buang rambut secara enzimatis akan menyebabkan tercabutnya akar bulu juga terbukanya ikatan-ikatan serabut, sehingga buang bulu secara enzimatis sebenarnya tidak lagi memerlukan proses *bating*. Namun demikian untuk kulit yang memerlukan kelemasan tinggi (misal kulit jaket) proses *bating* masih tetap diperlukan walaupun tidak seberat proses *bating* pada umumnya.

Tabel 2. Kualitas fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed* yang dibuang rambutnya dengan enzim protease *A. flavus* (*Physical and organoleptics characteristics of goat leather tanning glazed that unhaired using protease of A. flavus*)

Parameter (Parameters)	<i>A. flavus</i>			
	0%	1%	1,5%	2%
Kekuatan tarik, kg/cm ² (<i>Tensile strenght, kg/cm²</i>)	331,78	310,70	349,93	354,80
Kemuluran, % (<i>Elongation at break, %</i>)	43,48	47,09	42,01	45,12
Suhu kerut, °C (<i>Shrinkage temperature, °C</i>)	109,3	109,0	108,7	109,3
Kerut maksimal, °C (<i>Maximum shrinkage, °C</i>)	18,64	21,81	22,78	23,90
Rambut (<i>Hair</i>)	Bersih (<i>None</i>)	Masih ada <5% (<i>Few (<5%)</i>)	Masih ada <3% (<i>Few (<3%)</i>)	Masih ada <1% (<i>Few (<1%)</i>)
Ketahanan sobek (<i>Breaking load</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)
Kelentingan (<i>Flexibility</i>)	Kenyal (<i>Firm</i>)	Kenyal (<i>Firm</i>)	Kenyal (<i>Firm</i>)	Agak keras (<i>Rather firm</i>)
Keadaan kulit (<i>Leather condition</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)

Tabel 3. Kualitas fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed* yang dibuang rambutnya dengan enzim protease *A. oryzae* (*Physical and organoleptics characteristics of goat leather tanning glazed that un-haired using protease of A. oryzae*)

Parameter (Parameters)	<i>A. oryzae</i>			
	0%	1%	1,5%	2%
Kekuatan tarik, kg/cm ² (<i>Tensile strenght, kg/cm²</i>)	331,78 ^a	270,85 ^b	377,08 ^a	369,65 ^a
Kemuluran, % (<i>Elongation at break, %</i>)	43,48	36,61	40,28	44,05
Suhu kerut, °C (<i>Shrinkage temperature, °C</i>)	109,3 ^a	110,2 ^a	106,3 ^b	109,7 ^a
Kerut maksimal, °C (<i>Maximum shrinkage, °C</i>)	18,64	28,38	23,45	19,08
Rambut (<i>Hair</i>)	Bersih (<i>None</i>)	Masih ada <5% (<i>Few (<5%)</i>)	Masih ada <3% (<i>Few (<3%)</i>)	Masih ada <1% (<i>Few (<1%)</i>)
Ketahanan sobek (<i>Breaking load</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)	Tinggi (<i>High</i>)
Kelentingan (<i>Flexibility</i>)	Kenyal (<i>Firm</i>)	Agak kenyal (<i>Rather firm</i>)	Agak kenyal (<i>Rather firm</i>)	Kenyal (<i>Firm</i>)
Keadaan kulit (<i>Leather condition</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)	Tidak gembos (<i>Not soft</i>)

^{ab} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada beda nyata yang signifikan ($P < 0,05$). (*Different superscript at the same raw indicating significant differences ($P < 0.05$)*).

Pengaruh enzim protease *Aspergillus sp.* terhadap struktur kulit

Hasil pemotretan terhadap preparat histologi menunjukkan bahwa enzim protease jamur *Aspergillus sp.* mencerna protein epidermis dan asesorisnya lebih baik daripada kapur dan Na₂S. Enzim protease mencerna protein pada pangkal rambut sehingga rambut yang dihasilkan lebih utuh, sedangkan Na₂S hanya menghidrolisis rambut pada permukaan, tidak sampai ke akar rambut, sehingga akar rambut masih tertinggal di dalam kulit. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Widowati *et al.* (2002) yang menggunakan enzim protease *Rhizopus sp.* sebagai agensia buang rambut. Bahan penghilang rambut seperti sulfida akan menghancurkan rambut dan bagian epidermis kulit yang mengandung keratin dengan jalan memutus ikatan disulfida (Sarkar, 1995), sedangkan enzim proteolitik

akan mencerna sel-sel pada lapisan malphigi atau pada *stratum germinativum*, juga pada sel-sel basal sekitar akar rambut, sehingga akar rambut dapat lepas selama proses buang rambut. Rambut hasil buang rambut dengan Na₂S biasanya terpotong-potong dan akar rambut masih tertinggal di dalam kulit. Menurut Widowati *et al.* (2002), buang rambut dengan protease jamur mengakibatkan rambut tercabut sampai ke pangkal rambut, sedangkan buang rambut dengan Na₂S hanya akan menghilangkan rambut di bagian permukaan kulit yang bersinggungan dengan kemikalia.

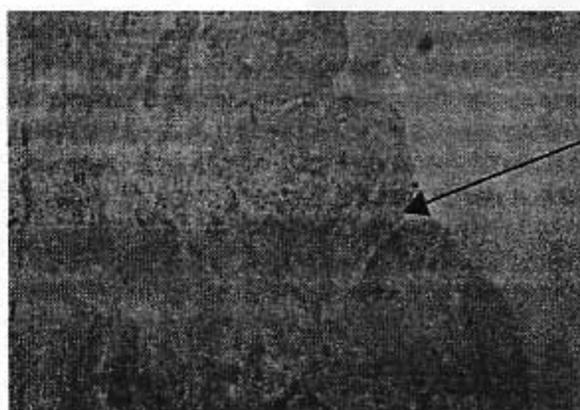
Kualitas limbah cair

Sampel untuk uji limbah cair diambil dari air buangan proses buang bulu dan penghilangan kapur. Hasil uji limbah cair ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kualitas limbah cair proses buang rambut secara enzimatis dan konvensional
(*Characteristics of wastewater from conventional and enzymatic dehairing process*)

Parameter (Parameters)	Kontrol (Control)	Ensim 1% (1% Enzyme)	Ensim 1,5% (1.5% Enzyme)	Ensim 2% (2% Enzyme)
<i>Aspergillus oryzae</i>				
pH	12 ^a	10 ^b	10,5 ^b	10 ^b
BOD (mg/l)	13204 ^a	6202 ^b	6402 ^b	6602 ^b
COD (mg/l)	34074 ^a	17037 ^b	13704 ^b	18148 ^b
Sulfida, mg/l (Sulfide, mg/l)	1650,8 ^a	1025,5 ^b	922,5 ^b	978,3 ^b
<i>Aspergillus flavus</i>				
pH	12 ^a	9,5 ^b	10,0 ^b	9,0 ^b
BOD (mg/l)	13204 ^a	5802 ^b	4202 ^b	5202 ^b
COD (mg/l)	34074 ^a	11852 ^b	13333 ^b	16667 ^b
Sulfida, mg/l (Sulfide, mg/l)	1650,8 ^a	1156,5 ^b	1088,3 ^b	1284,5 ^b

^{ab} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)
(*Different superscript at the same raw indicating significant differences ($P < 0.05$)*).

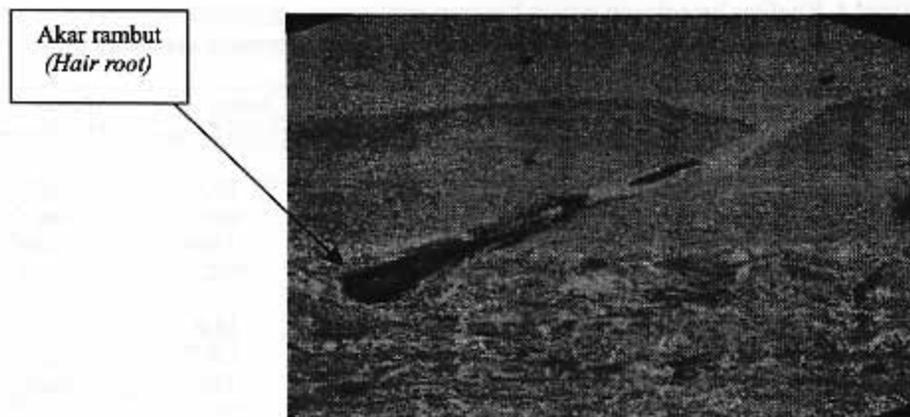


Rambut tercabut
sampai pangkalnya
(*The hair was
pulled till it root*)

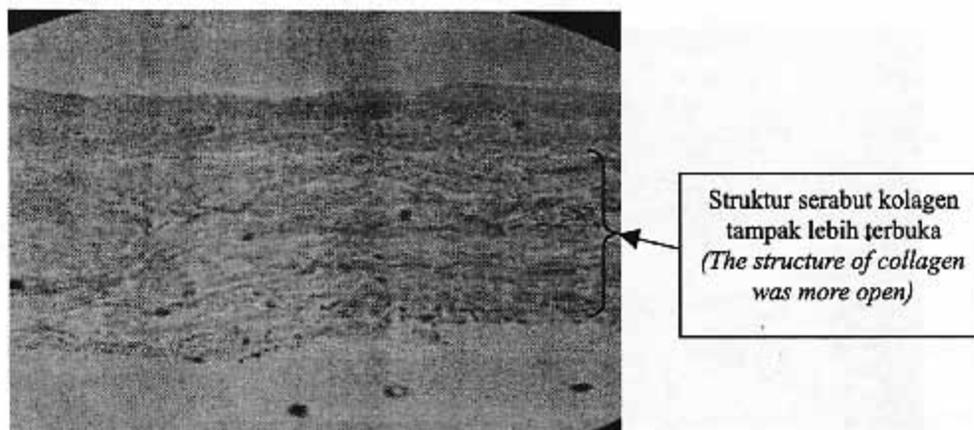
Gambar 1. Foto mikrograf penampang kulit yang diproses buang rambut dengan enzim
Aspergillus flavus 1,5% (*Photomicrograph of skin 1.5% defeathered
using enzyme of A. flavus*).

Dari Tabel 4 tersebut tampak bahwa kualitas limbah cair yang dihasilkan oleh proses buang rambut secara enzimatis baik dengan enzim asal *A. flavus* maupun *A. oryzae* relatif sama yaitu lebih baik daripada secara konvensional. Proses buang rambut dengan kapur dan Na_2S menghasilkan limbah cair dengan pH, BOD, COD dan sulfida jauh lebih tinggi daripada yang diproses buang rambut dengan enzim. Proses buang rambut secara konvensional menggunakan Na_2S lebih tinggi daripada secara enzimatis yaitu 3%, sedangkan pada buang rambut secara enzimatis hanya 1% saja, jadi memang sudah seharusnya sulfida

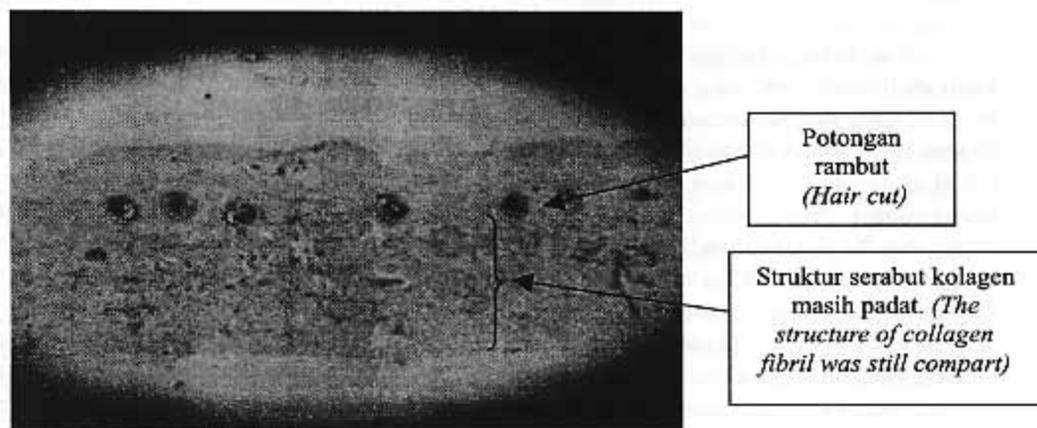
pada limbahnya juga lebih rendah. Proses buang rambut secara konvensional bersifat lebih alkalis dibanding secara enzimatis sehingga juga lebih membahayakan pekerja. Mengurangi jumlah pemakaian Na_2S menyebabkan kualitas wol dan rambut yang diperoleh lebih baik dan nilai jualnya lebih tinggi, kualitas produk kulit samak lebih baik, tidak perlu adanya proses bating, dan biaya proses lebih hemat. Buang rambut dengan enzim juga menekan bau gas H_2S dan menurunkan pH sehingga lingkungan lebih nyaman dan tidak membahayakan pekerja.



Gambar 2. Foto mikrograf penampang kulit yang diproses buang rambut secara konvensional (Photomicrograph of skin defeathered conventionally).



Gambar 3. Foto mikrograf potongan melintang kulit yang diproses buang rambut dengan 2% enzim protease *Aspergillus oryzae* (Photomicrograph of skin defeathered using 2% enzyme of *A. oryzae*).



Gambar 4. Foto mikrograf potongan melintang kulit yang diproses buang rambut dengan cara konvensional (Photomicrograph of skin defeathered conventionally).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Jamur *A. oryzae* dan *A. flavus* tumbuh subur dan menghasilkan enzim protease pada substrat *wheat bran* dan dedak halus. Aktivitas protease *A. flavus* sama dengan *A. oryzae*, baik pada substrat *wheat bran* maupun dedak halus.

Kualitas fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed* yang diproses buang rambut dengan protease *A. flavus* dan *A. oryzae* sama dan memenuhi SNI, meski masih terdapat sisa rambut berkisar antara 1-4%.

Limbah cair yang dihasilkan proses buang rambut secara enzimatis lebih ringan beban cemarannya dibanding dengan yang dibuang rambut secara konvensional.

Saran

Agar kualitas fisik dan organoleptik kulit kambing samak *glazed* lebih bersih dan memenuhi syarat SNI maka dosis pemakaian enzim protease *Aspergillus sp* untuk buang rambut perlu ditingkatkan.

Daftar Pustaka

- Ediari, P., Titik P. Widowati, Hadi Mustofa, T. C. Bambang Supriyono, R. Jaka Susila. 2002. Penerapan Protease *Rhizopus sp* pada Proses Buang Bulu Ramah Lingkungan. Laporan Penelitian, BBKPP, p. 154-160.
- Frendrup, W. 2000. Hair-safe Unhairing Methods in Leather Processing. UNIDO. Gehring, A. G. G. L. DiMaio, W. N. Marmer, C. E. Mazenko. 2002. Unhairing with Proteolytic Enzymes derived from *Streptomyces griseus*" JALCA. Vol: 97/10: 406-412.
- Kamini, N. R., C. Hemachander, J. Geraldine Sandana Mala and R. Puvanakrishnan. 2002. "Microbial Enzyme Technology as an Alternative to Conventional Chemicals in Leather Industry. www.ias.ac.in.
- Malathi, S. and R. Chakraborty. 1991. Production of Alkaline Protease by New *Aspergillus flavus* Isolate Under Solid Substrate Fermentation Conditions for Use as Adepilaton Agent. Applied and Environmental Microbiology. Vol 97/3: 712-716.
- Mc Manus, J. F. A. And R. Mowry. 1960. Stanning Methods (Histologic and Histochemical), Harper and Brother. New York.
- Paul, R. G, I. Mohamed, D. Davighi, V. L. Addy, A. D. Covington. 2001. The Use of Neutral Protease in Enzymatic Unhairing" JALQA Vol: 96/5: 180-185.
- Sarkar, K. T. 1995. Theory and Practice Leather Manufacture. The Author 4th evenue., C.L.S. press. Mahatma Gandhi Road, Madras.
- Thangam, E., T. Nagarajan, G. Raj Kumar, N. Chandrababu. 2001. "Aplication of Alkaline Protease Isolated from *Alkaligenes Fecalis* for Enzymatic Unhairing in Tanneries. JALQA Vol:96/4: 127-132.
- Widowati, T. P., Puji Ediari S, Hadi Mustofa, R. Jaka Susila, T. C. Bambang Supriyono. 2002. Penggunaan protease *Rhizopus sp* sebagai agensia proses buang bulu. JNK. 9(1.1): 23-26.