Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PENGARUH PERBEDAAN WAKTU INKUBASI ENZIM ALKALIN PROTEASE *Bacillus cereus* LS2B PADA PROSES BUANG RAMBUT PENYAMAKAN KULIT DOMBA



Oleh:

Intan Kurnia Ramadhany

15/378413/PT/06904

SKRIPSI

**Diserahkan guna memenuhi sebagian syarat
yang diperlukan untuk mendapatkan gelar**

SARJANA PETERNAKAN

pada

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA**
2019

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi yang berjudul

PENGARUH PERBEDAAN WAKTU INKUBASI ENZIM ALKALIN PROTEASE *Bacillus cereus* LS2B PADA PROSES BUANG RAMBUT PENYAMAKAN KULIT DOMBA

Diajukan oleh:

Intan Kurnia Ramadhany

15/378413/PT/06904

Disetujui pada tanggal: 20 September 2019

Pembimbing Utama

Ir. Nanung Agus Fitriyanto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM.
NIP. 19790809 200212 1 003

Pembimbing Pendamping

Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si., Ph.D., IPM. ASEAN Eng.
NIP. 19660209 199003 2 001

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

PENGARUH PERBEDAAN WAKTU INKUBASI ENZIM ALKALIN PROTEASE *Bacillus cereus* LS2B PADA PROSES BUANG RAMBUT PRNYAMAKAN KULIT DOMBA

Yang disusun oleh:
Intan Kurnia Ramadhany
15/378413/PT/06904

Telah dipertahankan didepan dewan penguji
pada tanggal 8 Oktober 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN DEWAN PENGUJI

Pembimbing Utama
Sebagai Ketua

Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M. Sc., Ph.D., IPM.
NIP. 19790809 200212 1 003

Anggota

Prof. Ir. Zaenal Bachruddin, M.Sc., Ph.D., IPU., ASEAN Eng.
NIP. 19520428 197803 1 001

Anggota

Novita Kurniawati, S.Pt., M.App., Sc.
NIP.19801128 200501 2 002

Fakultas Peternakan
Universitas Gadjah Mada
a.n. Dekan

Prof. Dr. Ir. Ali Agus, DAA., DEA., IPU., ASEAN Eng.
NIP. 19660822 199010 1 001

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: Intan Kurnia Ramadhany
NIM	: 15/378413/PT/06904
Tahun terdaftar	: 2015
Program Studi	: Ilmu dan Industri Peternakan
Fakultas/Sekolah	: Peternakan Universitas Gadjah Mada

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Skripsi ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang. Lembaga lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah Skripsi ini dikemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau
sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 20 September 2019



Intan Kurnia Ramadhany
15/378413/PT/06904

Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PENGARUH PERBEDAAN WAKTU INKUBASI ENZIM ALKALIN PROTEASE *Bacillus cereus* LS2B PADA PROSES BUANG RAMBUT PENYAMAKAN KULIT DOMBA

Intan Kurnia Ramadhany
15/378413/PT/06904

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu inkubasi enzim alkalin protease *Bacillus cereus* LS2B pada proses buang rambut penyamakan kulit domba. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 12 lembar kulit domba awetan garam. Perlakuan yang diberikan adalah dengan pemberian waktu inkubasi yang berbeda yaitu 12 jam (P1), 18 jam (P2) dan 24 jam (P3) dan sebagai kontrol (P0) adalah proses buang rambut secara konvensional bahan kimia Na_2S dan $Ca(OH)_2$. Kulit yang telah dihasilkan dari proses buang rambut diambil sampel dan dilakukan pengujian histologi, selanjutnya diproses menjadi kulit samak krom. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap yaitu produksi enzim, aplikasi penggunaan enzim untuk buang rambut, pengujian histologi dan pengujian kualitas kulit samak. Data yang didapat dianalisis secara deskriptif untuk pengujian histologi dan analisis statistik RAL pola searah untuk pengujian aktivitas protease dan kualitas kulit samak dengan 3 kali ulangan, perbedaan rerata variabel data akibat perlakuan selanjutnya diuji *Tukey*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat LS2B mampu menghasilkan enzim protease dengan adanya zona bening pada medium yang mengandung kasein. Aktivitas enzim protease tertinggi dihasilkan pada waktu inkubasi 30 menit ($P<0,05$) sebesar 95,67 µg/ml/menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan enzim protease LS2B dengan waktu inkubasi yang berbeda dapat memberikan efek positif terhadap histologi pada proses *unhairing* kulit. Waktu inkubasi 18 jam dapat menghasilkan kulit yang bersih tanpa adanya rambut yang menempel baik secara fisik maupun histologi. Waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap kekuatan tarik dan kemuluran ($P<0,05$) kekuatan tarik tertinggi pada waktu inkubasi 18 jam sebesar 23,41 N/cm^2 dan kemuluran tertinggi pada waktu inkubasi 24 jam sebesar 25,96%, sedangkan waktu inkubasi tidak berpengaruh nyata pada suhu kerut kulit samak.

Kata kunci: Buang rambut, Enzim protease, Waktu inkubasi, Penyamakan.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

THE INFLUENCE OF DIFFERENT INCUBATION TIMES OF ALKALINE PROTEASE ENZYME *Bacillus Cereus* LS2B ON THE UNHAIRING SHEEP SKIN TANNING PROCESS

Intan Kurnia Ramadhany
15/378413/PT/06904

ABSTRACT

This study aimed to understand the influence of different incubation times of alkaline protease enzyme *Bacillus cereus* LS2B on the unhairing sheep skin tanning process. The sample used in this study was 12 sheets of preserved sheep skin salt. The samples were treated differently by the incubation time: 12 hours (P1), 18 hours (P2) and 24 hours (P3) and a conventional unhairing process with chemical Na_2S and $Ca(OH)_2$ was the control (P0). The skin produced from the unhairing process was taken to be a sample and histologically tested to be processed into chrome tanned skin. This study was conducted in four stages: enzyme production, application of the use of enzymes for unhairing, histological testing and leather quality testing. The data found is analyzed descriptively for histological testing and completely randomized design for protease activity and leather quality with 3 times repetition, significant different of the data was continued to be analyzed using Tukey test. The result showed that LS2B isolate can produce protease enzymes by the clear zone appearing on the medium contained casein. The highest protease enzyme activity was found at 30 minutes of incubation ($P < 0.05$) with 95.67 µg/ml/minute. The result showed that the use of LS2B protease enzyme with different incubation times influenced positively on histology in the skin unhairing process. The 18 hours of incubation can produce clean skin without any hair attached either physically or histologically. The incubation time significantly affected the tensile strength and elongation ($P < 0.05$) the highest tensile strength was at 18 hours incubation time with 23.41 N/cm^2 and the highest elongation was at 24 hours incubation time with 25.96%, while the incubation time did not influence significantly at the temperature of the skin wrinkle.

Keywords: Unhairing process Protease enzyme, Incubation time, Tanning.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **ii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**
PERNYATAAN ..... **iv**
INTISARI ..... **v**
ABSTRACT ..... **vi**
DAFTAR ISI ..... **vii**
DAFTAR GAMBAR ..... **ix**
DAFTAR TABEL ..... **x**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xi**
PENDAHULUAN **1**
Latar Belakang 1
Tujuan 4
Manfaat 4
TINJAUAN PUSTAKA 5
Kulit 5
Enzim 6
Enzim protease 7
Karakterisasi *Bacillus cereus* 9
Bacillus cereus LS2B 10
Penyamakan kulit 11
Limbah yang dihasilkan 13
Waktu inkubasi enzim 13
LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS **15**
Landasan Teori 15
Hipotesis 16
MATERI DAN METODE **17**
Materi **17**
Waktu dan tempat penelitian 17
Alat 17
Bahan 17
Metode 18
Peremajaan isolat LS2B 18
Pengukuran zona bening 19
Produksi enzim protease LS2B 19
Pengujian histologi 23
Pengujian kualitas kulit samak 23

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

HASIL DAN PEMBAHASAN 24
Peremajaan Isolat LS2B Penghasil Alkalin Protease 24
Uji Kualitatif Aktivitas Enzim Protease 27
Uji Kuantitatif Aktivitas Enzim Protease 28
Aplikasi Enzim Protease LS2B pada Proses Buang Rambut 33
Pengaruh enzim protease terhadap kualitas kulit 33
KESIMPULAN DAN SARAN 42
Kesimpulan 42
Saran 42
RINGKASAN 43
DAFTAR PUSTAKA 45
UCAPAN TERIMAKASIH 49
LAMPIRAN 51

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Penampang melintang kulit 5
2. Pengamatan zona bening 19
3. Kurva standar tirosin 21
4. Isolat LS2B 24
5. Peremajaan isolat Bacillus cereus LS2B 26
6. Zona bening yang dihasilkan oleh Bacillus cereus LS2B 27
7. Proses produksi enzim 29
8. Kulit setelah *unhairing* 34
9. Hasil uji histologi kulit domba menggunakan enzim protease LS2B 35

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Bahan-bahan pembuatan medium agar 18
2. Bahan-bahan pembuatan *preculture* 20
3. Aplikasi enzim protease LS2B pada kulit 22
4. Aktivitas enzim protease pada substrat kasein 30
5. Hasil pengamatan makroskopis proses *unhairing* 33
6. Hasil uji kekuatan tarik kulit samak domba 37
7. Hasil uji kemuluran kulit samak domba 39
8. Hasil uji suhu kerut kulit samak domba 40

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Analisis data aktivitas protease 51
2. Analisis data pengujian kekuatan tarik 53
3. Analisis data pengujian kemuluran 55
4. Metode Produksi enzim kasar protease LS2B 57
5. Perhitungan aktivitas enzim protease 58
6. Proses dan bahan-bahan penyamakan 59
7. Dokumentasi kegiatan..... 62

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Industri penyamakan kulit merupakan salah satu industri kerajinan yang mampu mendukung perekonomian di Indonesia. Prawiroharsono (2008) menyatakan bahwa kulit di Indonesia merupakan bahan ekspor non-migas yang penting sebagai penyumbang devisa ke 4 setelah produk-produk makanan, minuman dan rokok, peralatan transportasi, mesin dan alat mesin, pupuk kimia dan karet. Industri penyamakan kulit dapat dimanfaatkan sebagai bahan kerajinan tangan, bahan pembuat produk seperti tas, sepatu, jaket dan lain-lain.

Produk kerajinan kulit sampai saat ini masih banyak diminati oleh masyarakat lokal maupun internasional. Diterimanya produk kulit dari Indonesia di pasar internasional karena secara umum kulit yang berasal dari Indonesia memiliki kelebihan seperti permukaan rajahnya halus, rata dan kompak, serta struktur jaringan kulitnya kuat dan padat. Sejak jaman dahulu kulit sapi di Indonesia, khususnya kulit sapi yang berasal dari Pulau Jawa, telah dikenal dengan sebutan *Java box.* Kulit *Java box* ini sangat terkenal di seluruh Negara Eropa. Kulit domba yang berasal dari Indonesia juga memiliki kelebihan dibandingkan dengan domba yang berasal dari negara lain karena struktur rajahnya lebih halus, rata dan kompak, sehingga apabila kulit tersebut diproduksi dengan cara yang baik maka akan menghasilkan kulit dengan kualitas yang baik pula. Kualitas kulit yang baik, menyebabkan Indonesia menjadi salah satu negara pengekspor kulit dan

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

produk kulit utama dunia bersama Cina, India dan Thailand (Thanikaivelan *et al*., 2005).

Industri penyamakan kulit adalah industri yang mengolah kulit mentah menjadi kulit jadi. Kulit jadi adalah kulit hewan yang telah disamak atau diawetkan yang telah terbebas dari rambut dan urat daging di bawah kulit. Proses penyamakan kulit mempergunakan air dalam jumlah yang relatif banyak dan beberapa jenis bahan kimia, sehingga proses ini akan menghasilkan limbah cair yang mengandung berbagai polutan organik dari bahan baku dan polutan kimia dari bahan pembantu proses

Salah satu proses dalam penyamakan kulit adalah proses *unhairing*. Proses *unhairing* adalah proses pembuangan rambut terlebih dahulu untuk kulit-kulit yang akan disamak menjadi produk kulit seperti tas, jaket dan kulit atasan sepatu. Industri penyamakan kulit sebagian besar masih menggunakan zat kimia untuk proses buang rambutnya. Proses buang rambutnya menggunakan zat kimia seperti natrium sulfida (Na_2S) dan sodium sulfida dapat berpotensi sebagai pencemaran udara, air dan tanah lewat limbah cair yang dihasilkan dari proses *unhairing* tersebut. Kandungan sulfida yang tinggi dapat berakibat terbentuknya gas hydrogen sulfide (H_2S) yang jika dalam konsentrasi yang tinggi dan bereaksi dengan air membentuk asam sulfat, dapat merusak kontruksi bangunan beton karena bersifat korosif, maka dari itu diperlukan upaya untuk menangani limbah dalam proses penyamakan kulit khususnya dalam proses *unhairing* agar tidak mencemari lingkungan dan mampu menjadi limbah yang ramah

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

lingkungan. Upaya dalam menangani limbah menjadi limbah yang ramah lingkungan salah satunya dapat dilakukan dengan penggunaan enzim dalam proses buang rambut.

Enzim merupakan biokatalisator yang diproduksi oleh jaringan makhluk hidup digunakan untuk mengkatalisis reaksi yang terdapat pada makhluk hidup dan dapat meningkatkan laju reaksi yang terdapat pada jaringan. Keunggulan enzim sebagai biokatalisator yaitu memiliki spesifikasi tinggi dan dapat mempercepat reaksi kimia tanpa mempengaruhi produk yang dihasilkan. Protease juga termasuk kedalam salah satu kelompok besar enzim dan merupakan suatu enzim yang sering digunakan dalam bidang bioteknologi, hal ini dikarenakan protease sangat selektif dalam menghidrolisis ikatan peptida yang berada didalam substrat yang mengandung protein menjadi oligopeptida dan asam-asam amino (Guangrong *et al.,* 2006).

Faktor yang mempengaruhi kerja enzim diantaranya adalah konsentrasi substrat, suhu, waktu inkubasi, pH. Waktu inkubasi yang dibutuhkan enzim untuk bereaksi dengan substrat secara optimum berbeda-beda, ada beberapa enzim membutuhkan waktu inkubasi yang tepat untuk bereaksi dengan substrat. *Bacillus cereus* LS2B merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease yang dapat dimanfaatkan dalam proses buang rambut penyamakan kulit, maka dari itu dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan waktu inkubasi enzim alkalin

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

protease *Bacillus cereus* LS2B pada proses buang rambut penyamakan kulit domba.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu inkubasi enzim alkalin protease yang diproduksi oleh bakteri *Bacillus cereus* LS2B pada proses buang rambut penyamakan kulit domba yang dilakukan uji secara histologi dan uji kualitas kulit samak berupa kekuatan tarik, kemuluran dan suhu kerut.

Manfaat

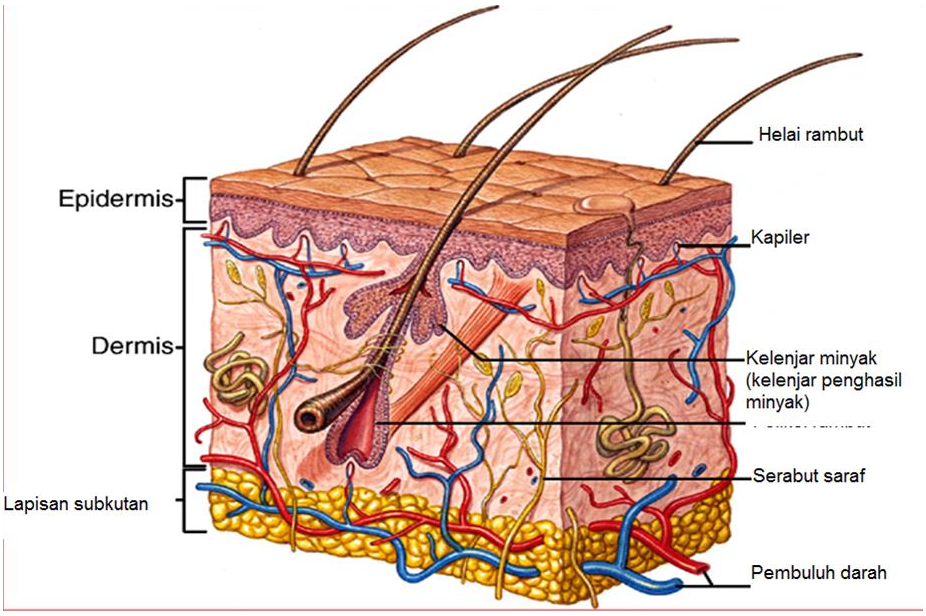
Manfaat penelitian ini adalah proses buang rambut menggunakan enzim diharapkan mampu mengurangi penggunaan bahan kimia pada proses penyamakan kulit sehingga dapat dihasilkan kulit yang memiliki kualitas yang baik dan menjadi proses penyamakan lebih ramah lingkungan serta dapat memperoleh informasi waktu inkubasi yang optimal untuk mendapatkan kualitas kulit yang paling baik pada proses buang rambut menggunakan enzim alkalin protease *Bacillus cereus* LS2B.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

TINJAUAN PUSTAKA

Kulit

Kulit adalah bagian terluar dari struktur manusia, hewan atau tumbuhan. Pada hewan atau manusia kulit adalah lapisan luar tubuh yang merupakan suatu kerangka luar, tempat bulu tumbuh. Kulit berfungsi melindungi badan atau tubuh dari pengaruh-pengaruh luar, misalnya panas, pengaruh yang bersifat mekanis, kimiawi, serta merupakan alat pengantar suhu. Sharphouse (1983) menyatakan bahwa komposisi kimia kulit terdiri atas 64% air, 33% protein, 2% lemak, 0,5% mineral dan 0,5% zat lainnya. Protein kulit terdiri atas 0,3% elastin, 29% kolagen, 2% keratin, 1% albumen dan globulin, 0,7% musin dan mucoid Penampang melintang kulit dapat dilihat pada Gambar 1.



(Sulastry, 2019)

Gambar 1. Penampang melintang kulit

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Kulit hewan secara mikroskopis (histologi) dibagi berdasarkan struktur lapisan yang menyusun kulit. Kulit memiliki tiga lapisan utama yaitu lapisan epidermis, korium dan subkutis. Lapisan epidermis juga disebut lapisan tanduk yang berfungsi sebagai pelindung pada hewan hidup. Korium merupakan tenunan kolagen kulit yang merupakan bahan utama dalam proses-proses penyamakan. Korium sebagian besar dibangun oleh serat kolagen yang merupakan benang-benang halus yang berkelok-kelok dalam berkas-berkas yang terbungkus lembaran anyaman atau tenunan *reticular*. Lapisan subkutis merupakan tenunan pengikat longgar yang menghubungkan korium dengan bagian-bagian lain dari tubuh. Hipodermis sebagian besar terdiri atas serat-serat kolagen dan elastin.

Komposisi kimia kulit terdiri dari dua golongan yaitu golongan protein dan golongan non protein. Protein terbentuk dari kolagen, elastin dan keratin. Kolagen merupakan bagian terpenting dalam teknologi kulit, karena kolagen menjadi dasar susunan kulit samak dan dapat tahan terhadap enzim proteolitik. Protein tak terbentuk (*globular protein*) merupakan media bagi protein terbentuk, dapat larut dalam air dan mudah terdenaturasi karena pemanasan. Protein tak terbentuk terdiri dari albumin globulin. Golongan non protein terdiri dari air, lipid dan bahan mineral (Judoamidjojo, 1974).

Enzim

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya, 2003).

Enzim dapat diperoleh dari sel-sel hidup dan dapat bekerja baik untuk reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel maupun luar sel. Pemanfaatan enzim untuk reaksi-reaksi yang terjadi di luar sel banyak diaplikasikan dalam dunia industri seperti industri makanan, deterjen, penyamakan kulit, kosmetik dan lain sebagainya. Pemanfaatan enzim dapat dilakukan secara langsung menggunakan enzim hasil isolasi maupun dengan cara pemanfaatan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim yang diinginkan (Moon dan Parulekar, 1993). Enzim dapat diperoleh dari makhluk hidup seperti hewan, tumbuhan dan mikroorganisme, meskipun banyak sumber dapat menghasilkan enzim yang berasal dari hewan dan tumbuhan, namun pemanfaatan mikroorganisme sebagai sumber enzim lebih banyak diminati, karena enzim dari mikroorganisme dapat dihasilkan dalam waktu yang singkat, mudah diproduksi dalam skala besar, proses produksi bisa dikontrol, kemungkinan terkontaminasi oleh senyawa-senyawa lain lebih kecil.

Enzim protease

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dibutuhkan secara

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

fisiologi untuk kehidupan organisme pada tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme. Protease tidak hanya berperan dalam proses metabolisme sel, tetapi juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri. Enzim ini merupakan salah satu enzim skala industri dengan tingkat penjualan hingga 60% dari total penjualan enzim di dunia. Aplikasi enzim protease diantaranya pada industri pembuatan detergen, industri penyamakan kulit, bahan aditif pada industri pangan dan zat terapeutik pada bidang farmasi (Moon dan Parulekar, 1993).

Protease dapat dihasilkan oleh tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease terbatas oleh tersedianya lahan tanam dan kondisi pertumbuhan yang sesuai, serta memerlukan waktu produksi yang lama. Produksi protease dari hewan juga dibatasi oleh ketersediaan ternak penghasil enzim. Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang paling potensial dibandingkan tanaman dan hewan. Penggunaan mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik. Beberapa genus bakteri yang diketahui mampu menghasilkan protease di antaranya *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptomyces* dan *Pseudomonas* (Rao *et al.,* 1998; Said dan Likadja, 2012).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Karakterisasi *Bacillus cereus*

Bacillus merupakan bakteri Gram positif yang memproduksi endospora sekaligus toleran terhadap pemanasan dan pengawetan. Bakteri ini memiliki sifat yang sangat baik untuk aplikasi di lapangan. Endospora yang dihasilkan *Bacillus* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia dan fisika, seperti suhu ekstrim, alkohol dan sebagainya. *Bacillus cereus* adalah bakteri bersel tunggal, berbentuk batang pendek (rod) biasanya dalam bentuk rantai panjang, umumnya mempunyai ukuran lebar 1,0 µm hingga 1,2 µm dan panjang 3 µm hingga 5 µm. Suhu pertumbuhan maksimum 37°C sampai 48°C dan minimum 5°C sampai 20°C, suhu pertumbuhan optimum 30°C dan pH pertumbuhan 5,5-8,5 (Jannah R, 2016). Klasifikasi bakteri *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Procaryote
Divisi : Bacteria
Class : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus cereus*

Genus *Bacillus* berbentuk batang, gram positif, aerob (membutuhkan energi) yang membentuk rantai, sebagian besar anggota genus ini adalah organisme saprofit yang lazim terdapat dalam tanah, air, udara dan tumbuh-

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tumbuhan. *Bacillus cereus* merupakan golongan bakteri Gram positif (bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram), bersifat aerob fakultatif dan dapat membentuk spora (endospora). Spora *Bacillus cereus* lebih tahan pada panas kering daripada panas lembab dan dapat bertahan lama pada produk yang kering. Selnya berbentuk batang besar dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya (Jannah R, 2016).

Bacillus cereus LS2B

Bacillus cereus LS2B merupakan *strain* yang didapatkan oleh penelitian sebelumnya yang diperoleh dari isolasi bakteri di sekitar tanah kandang ayam petelur di wilayah Kaliurang, Yogyakarta. Isolat LS2B merupakan *strain* dari bakteri *Bacillus cereus.* Bakteri *Bacillus* banyak hidup di tanah sehingga proses isolasi dilakukan dari tanah dengan pengenceran. Oleh karena mudah diperoleh, bakteri *Bacillus* ini sangat potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Wahyuningsih (2012) menyatakan bahwa isolat *Bacillus* yang diisolasi dari tanah sekitar perkandangan ayam petelur di daerah Yogyakarta mampu menghasilkan enzim protease yang dibuktikan kemampuannya dalam membentuk zona bening pada pengukuran indeks proteolitik, diperkuat dengan pernyataan Fitriyanto *et al*. (2014) Isolat LS2B dari bakteri *Bacillus cereus* mampu menghasilkan enzim protease yang dibuktikan kemampuannya dalam membentuk zona bening pada medium agar yang mengandung susu skim. LS2B menunjukkan aktivitas maksimum sebesar 55,905 U/mg. Enzim yang diproduksi dari

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

isolat LS2B berpotensi sebagai agensia proses *unhairing* dan *bating* pada proses penyamakan kulit.

Penyamakan kulit

Penyamakan adalah proses konversi protein kulit mentah menjadi kulit samak yang stabil, tidak mudah membusuk dan cocok untuk beragam kegunaan. Penyamakan biasanya dilakukan dengan garam basa krom trivalen. Reaksi garam-garam krom dengan grup karboksilat dari protein kulit (kolagen) menjadikan kulit tersebut memiliki stabilitas hidrotermal tinggi, yaitu memiliki suhu pengerutan lebih tinggi daripada 100°C, dan tahan terhadap serangan mikroorganisme, setelah penyamakan krom, kulit hewan disebut *wet blue* atau *blue crust.* Penyamakan merupakan tahap paling penting dalam produksi kulit samak, selama penyamakan kolagen akan memfiksasi bahan penyamak pada situs-situs reaktifnya (Suparno *et al*., 2010).

Proses penyamakan dibagi menjadi empat tahapan umum yaitu: proses pra-penyamakan, penyamakan, pasca penyamakan dan penyelesaian. Proses pra penyamakan terdiri atas proses perendaman dan pencucian, buang rambut dan pengapuran, buang kapur, pengikisan, serta pengasaman. Proses penyamakan bertujuan untuk mengubah sifat kulit yang tidak stabil menjadi lebih stabil dari pengaruh-pengaruh tertentu seperti pengaruh bakteri, zat kimia dan pengaruh fisik. Proses pasca penyamakan terdiri atas proses pencucian, netralisasi, pengecatan dasar dan perminyakan sedangkan proses penyelesaian dilakukan untuk

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

meningkatkan kualitas kulit jadi agar sesuai keinginan dengan cara memberikan perlakuan pada permukaan kulit (Thanikaivelan *et al*., 2004).

Proses buang rambut dan pengapuran bertujuan untuk menghilangkan rambut, epidermis, kelenjar keringat, kelenjar lemak, dan semua substansi kulit selain protein serabut, seperti kolagen yang siap bereaksi dengan bahan penyamak. Ockerman dan Hansen (2000) menyatakan bahwa proses buang rambut dan pengapuran yang dilakukan saat ini adalah dengan menggunakan bahan kimia, mengkombinasikan penggunaan kapur $Ca(OH)_2$ sebagai pembengkak kulit dengan Natrium sulfide (Na_2S) sebagai penghancur rambut.

Industri penyamakan kulit disisi lain menghasilkan limbah bahan kimia yang dapat mencemari lingkungan dan makhluk hidup. Limbah yang dihasilkan dari industri penyamakan kulit ini juga menimbulkan bau yang sangat menyengat dikarenakan adanya pembusukan berbagai sisa kulit dan daging terutama lemak dan protein, serta limbah cair yang mengandung sisa bahan penyamak kimia seperti sodim sulfida, krom, kapur dan amoniak, maka dari itu diperlukan teknologi altternatif penyamakan ramah lingkungan (Pawiroharsono S, 2008). Penyamakan kulit ramah lingkungan ini dilaksanakan dengan menggunakan bahan penyamak biologis dalam bentuk enzim protease yang dihasilkan bakteri *Bacillus cereus* LS2B.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Limbah yang dihasilkan

Proses buang rambut dan pengapuran secara kimia memiliki dampak yang kurang baik bagi lingkungan dan kesehatan pekerja, karena dapat menghasilkan limbah cair dengan tingkat *chemical oxygen demand* (COD), *biological oxygen deman* (BOD) dan sulfida yang tinggi serta menghasilkan limbah padat berupa lumpur hancuran rambut dan kapur, berbagai upaya telah dicoba untuk mengurangi dan mengganti penggunaan $Ca(OH)_2$ dan Na_2S pada proses buang rambut. Proses buang rambut enzimatis dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan Na_2S (Thanikaivelan *et al*., 2005).

Limbah cair tersebut dapat menganggu kelestarian lingkungan dan makhluk hidup di lokasi pembuangan limbah. Instalasi Penanganan Air Limbah (IPAL) yang telah dibangun ternyata belum mampu menangani masalah besarnya volume limbah yang dihasilkan dan besarnya biaya untuk pengoperasian IPAL tersebut. Keadaan inilah yang menyebabkan pencemaran berlangsung terus dan bahkan cenderung makin meningkat. Peningkatan pencemaran ini diperburuk oleh rendahnya tingkat kesadaran para industriawan dan rendahnya penegakan hukum oleh aparat (Pawiroharsono, 2008).

Waktu inkubasi enzim

Kerja enzim oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, suhu, pH dan waktu inkubasi. Salah satu yang dapat berpengaruh terhadap aktivitas enzim adalah waktu inkubasi. Waktu inkubasi adalah

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

waktu yang diperlukan oleh enzim untuk berikatan dengan substrat yang telah tersedia. Waktu inkubasi yang dibutuhkan enzim untuk bereaksi dengan substrat secara optimum adalah berbeda-beda, ada beberapa enzim membutuhkan waktu inkubasi yang lama untuk bereaksi dengan substrat. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya substrat sampai suatu titik, semakin lama waktu inkubasi, maka semakin efektif aktivitas dari enzim tersebut, namun enzim akan berhenti bekerja apabila telah mencapai masa jenuhnya (Volk dan Wheeler, 1988).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS

Landasan Teori

. *Bacillus cereus* LS2B adalah salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim protease. Isolat LS2B merupakan bakteri proteolotik yang menghasilkan zona bening disekitar koloni pada medium yang ditambahkan dengan susu skim. Hal ini membuktikan bahwa enzim ini dapat menghidrolisis protein sehingga dapat memutus ikatan protein. Enzim ini dapat dimanfaatkan pada proses *unhairing* pada industri penyamakan. Industri penyamakan kulit adalah industri yang mengolah kulit mentah menjadi kulit jadi. Limbah dari proses penyamakan kulit apabila tidak dikelola dan diberi perlakuan yang baik dapat menyebabkan pencemaran bagi lingkungan sekitar akibat dari bahan-bahan kimia yang digunakan pada saat proses penyamakan. Upaya yang perlu dilakukan adalah dengan meminimalisir penggunaan zat kimia dan mengganti dengan bahan yang lebih ramah lingkungan seperti enzim. Enzim yang sering digunakan dalam proses penyamakan yaitu enzim protease. Enzim protease dapat diperoleh dari mikroorganisme seperti bakteri, salah satunya adalah bakteri *Bacillus cereus* LS2B.

Enzim alkalin protease LS2B mempunyai sifat seperti enzim pada umumnya yaitu bekerja dengan lingkungan yang sesuai Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor suhu, konsentrasi enzim, pH dan waktu inkubasi enzim. Waktu inkubasi menjadi faktor penting yang harus diperhatikan. Semakin lama waktu inkubasi, maka semakin efektif aktivitas

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

enzim tersebut. Waktu inkubasi yang lama dapat meningkatkan waktu hidrolisis protein sehingga dapat mempercepat proses buang rambut pada kulit domba yang akan dilakukan proses penyamakan

Hipotesis

Peningkatan waktu inkubasi enzim alkalin protease *Bacillus cereus* LS2B dapat mempercepat proses buang rambut, semakin lama waktu inkubasi yang diberikan maka semakin efektif aktivitas enzim, namun enzim akan berhenti bekerja apabila telah mencapai masa jenuhnya.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

MATERI DAN METODE

Materi

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2018 sampai Juni 2019. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Kulit, Hasil Ikutan, dan Limbah Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat

Penelitian ini menggunakan alat yang meliputi erlenmeyer, pH meter, *magnet stirer*, *cutton plug*, kertas payung, autoklaf, cawan petri, tabung reaksi, inkubator, *laminar air flow* (LAF), ose cincin, shaker, conical 50 ml, *sentrifuge*, kertas saring *Whattman*, spektofotometer, drum, gelas ukur, pisau, dan alat-alat standar laboratorium lainnya.

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan yang meliputi kulit domba, bahan-bahan penyamak, *meat extract*, *mocrobiological pepton*, NaCl, aquadest, agar, susu skim lactona, TCA, kasein, larutan standar tirosin, dan bahan-bahan standar laboratorium lainnya.

Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Metode

Peremajaan isolat LS2B

Pembuatan medium agar. Pembuatan medium dilakukan dengan cara mempersiapkan nutrien dasar yang dibutuhkan oleh bakteri protease dilakukan dengan mencampur 1 gram *meat extract*, 1 gram *microbiological peptone*, dan 0,5 gram NaCl dalam 70 ml *aquadest* menggunakan erlenmeyer, kemudian ditambah agar sebanyak 1,5 gram. Pengaturan pH nutrien dasar dilakukan mencapai 7,2. Penambahan *aquadest* dalam nutrien dasar dilakukan hingga mencapai 100 ml. Medium kemudian diaduk dan dipanaskan dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Medium agar ditutup dengan *cutton plug* dan dibungkus dengan kertas payung kemudian disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Volk dan Wheeler, 1988). Bahan-bahan pembuatan medium agar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan-bahan pembuatan medium agar

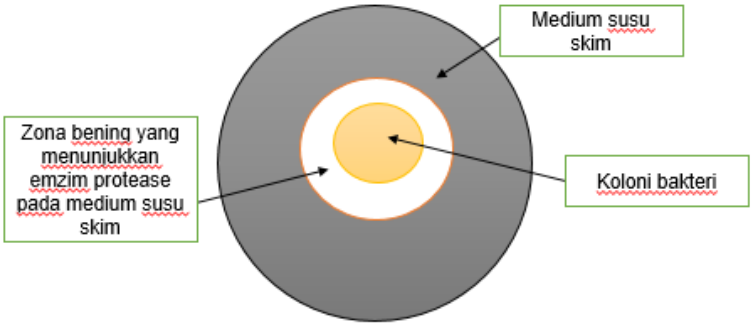
No	Bahan	Persentase (%)	Berat (gram)
1	*Meat extract*	1	1
2	*Microbiological peptone*	1	1
3	NaCl	0,5	0,5
4	Agar	1,5	1,5
5	*Aquadest*		Hingga 100 ml

Peremajaan isolat LS2B. Isolat LS2B dibiakkan pada medium agar menggunakan cawan petri. Selain itu, isolat dibiakan dan disimpan pada agar miring selama 5 hari dan diremajakan seterusnya (Volk dan Wheeler, 1988).

Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Pembuktian produksi protease ekstraseluler pada medium padat

0,1 ml *pre-culture* dari isolat LS2B ditanam dalam medium *nutrient agar* dengan penambahan skim lactona 1,5% dalam cawan petri. Sampel diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasil zona bening yang terbentuk diamati (Volk dan Wheeler, 1988), medium pertumbuhan padat pada pH basa. Pengamatan zona bening dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan zona bening

Produksi enzim protease LS2B

Pembuatan *preculture.* Pembuatan *preculture* dilakukan dengan cara mempersiapkan medium cair yaitu dengan mencampur 0,5 gram *meat extract*, 0,5 gram *microbiological peptone*, dan 0,25 gram NaCl dalam 50 ml *aquadest* dalam erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Selanjutnya, satu ose isolat murni dimasukkan dalam medium cair tersebut dan diinkubasi pada *shaker* selama 24 jam (Volk dan Wheeler, 1988). Bahan-bahan pembuatan *preculture* dapat dilihat pada Tabel 2.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Tabel 2. Bahan-bahan pembuatan *preculture*

No	Bahan	Persentase (%)	Berat (gram)
1	*Meat extract*	1	0,5
2	*Microbiological peptone*	1	0,5
3	NaCl	0,5	0,25
4	*Aquadest*		Hingga 50 ml

Pembuatan medium cair 100 ml (dengan skim 1,5%). Sebanyak 100 ml medium cair dan skim lactona 1,5% dimasukkan dalam erlenmeyer. Medium ditutup dengan *cutton plug* dan kertas payung, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Selanjutnya, 5 ml *preculture* dimasukkan dalam medium dan diinkuasi dalam shaker selama 24 jam (Volk dan Wheeler, 1988).

Pemisahan enzim. Biakan yang telah dishaker selama 24 jam dimasukkan dalam *conical* 50 ml kemudian di*sentrifuge* pada suhu 4°C dengan kecepatan 4000 rpm selama 25 menit. Hasil yang diperoleh akan terbagi menjadi dua bagian yaitu supernatan dan persipitat. Persipitat berisi bakteri dan medium. Supernatan yang diperoleh disebut enzim kasar (Noviyanti *et al*., 2012).

Pengukuran aktivitas enzim protease

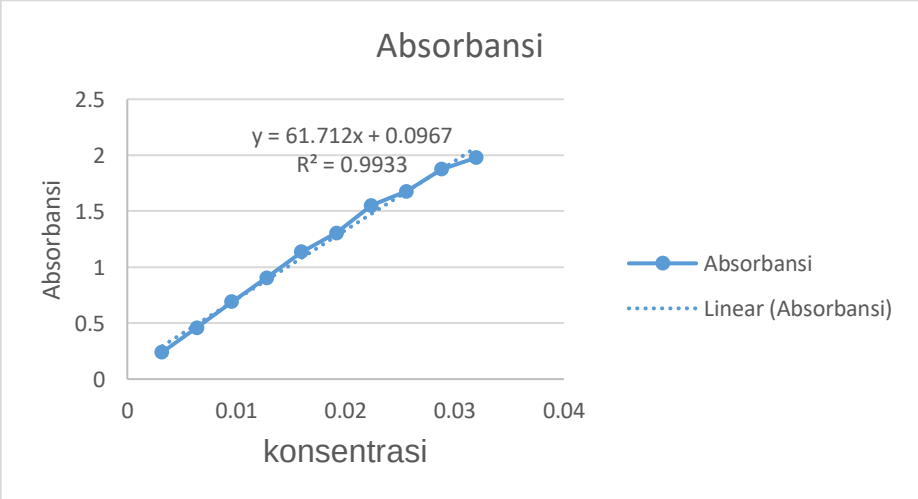
Pengukuran aktivitas enzim protease diawali dengan membuat standar tirosin dengan 10 titik konsentrasi yang telah dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 275 nm, yang kemudian dibuat kurva standar. Kurva standar tirosin dapat dilihat pada Gambar 3. Selanjutnya, menyiapkan 2 tabung reaksi yaitu tabung sampel dan tabung blangko. Kedua tabung diisi dengan 1 ml kasein 2% dan sama-sama diinkubasi 40°C

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

selama 5 menit. Tabung sampel ditambahkan 3 ml enzim yang telah diencerkan 10 kali, sedangkan tabung blangko ditambahkan 3 ml enzim yang telah diencerkan 10 kali dan 5 ml TCA 5%, lalu diinkubasi 40°C dengan masing-masing waktu 15 menit, 30 menit dan 45 menit. Setelah inkubasi tabung sampel ditambahkan 5 ml TCA 5%. Kedua tabung disaring menggunakan kertas saring *Whattman* dan dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 275 nm. Aktivitas enzim dihitung dengan rumus:

(ml substrat+ml enzim+ml TCA)x $\frac{(X\ sampel - x\ blangko)}{100}$) x p x 1/t x 10^6

Keterangan:
x sampel = nilai absorbansi sampel
x blangko = nilai absorbansi blangko
p = pengenceran
t = waktu inkubasi



Gambar 3. Kurva standar tirosin

Aplikasi buang rambut

Proses buang rambut pada kulit domba dilakukan dengan menggunakan enzim protease dilakukan dengan kulit domba segar

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dibersihkan dari sisa daging dan lemak yang menempel. Kulit tersebut kemudian dipotong-potong 10x13 cm. Kulit yang telah dipotong kemudian dibersihkan dengan air dan teepol untuk menghilangkan feses yang menempel, dan darah. Kulit yang sudah bersih dikeringkan untuk menghilangkan air yang masih menempel pada kulit. Langkah selanjutnya adalah penambahan enzim sebanyak 2% dari berat kulit yang diuji dan diinkubasi dalam suhu ruang, sedangkan kontrol dilakukan dengan menggunakan Na_2S dan kapur sebagai agen buang rambut. Kulit yang sudah diberi enzim kemudian diinkubasi. Proses ini dilakukan dengan 3 perlakuan yaitu P1 menggunakan waktu inkubasi 12 jam, P2 menggunakan waktu inkubasi 18 jam, dan P3 menggunakan waktu inkubasi 24 jam dengan 3 ulangan pada setiap perlakuan. Kulit hasil inkubasi dengan enzim kemudian dihilangakan rambutnya atau proses buang rambut. Selanjutnya kulit diambil untuk pengujian histologi sebanyak 1 x 1 cm dan sisanya dilanjutkan pada proses penyamakan secara konvensional hingga menjadi kulit samak dengan metode yang dijelaskan pada lampiran 5. Aplikasi enzim protease LS2B pada kulit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Aplikasi enzim protease LS2B pada kulit

Perlakuan	Berat (gr)	Enzim (2%)	Cara aplikasi
Kontrol	319	-	Direndam dengan bahan kimia
P1	319,8	6,40 gr	Enzim dioleskan di kulit
P2	321,5	6,43 gr	Enzim dioleskan di
P3	324,8	6,50 gr	Enzim dioleskan di kulit kulit

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Pengujian histologi

Kulit untuk keperluan preparat histologis diambil setelah proses buang rambut. Kulit dipotong 1 × 1 cm dengan panjang sejajar garis punggung, kemudian dimasukkan ke dalam cairan fiksatif dengan konsentrasi formaldehid 10% (b/v). Kulit didehidrasi menggunakan alkohol 80, 95, dan 100% (v/v) kemudian dimasukkan ke dalam *xylene*. Kulit dimasukkan ke dalam parafin dan selanjutnya dipotong secara melintang menggunakan *microtom*. Preparat difiksasi dengan timol dan diwarnai dengan metode Mallory dilanjutkan dengan 0,5% HCL dan diberikan amonia, selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis untuk mengidentifikasi folikel rambut.

Pengujian kualitas kulit samak

Pengujian kualitas kulit samak dilakukan meliputi uji kekuatan tarilk, uji kemuluran, dan uji suhu kerut. Kekuatan tarik dan kemuluran kulit diuji menggunakan metode yang mengacu pada SNI 06-1795-1990. Suhu kerut diuji dengan menggunakan metode yang mengacu pada SNI 06-7127-2005. Rumus penghitungan kekuatan tarik:Kekuatan tarik $= \frac{F}{A}$

Keterangan:

F= Gaya yang dibutuhkan (kgx10)

A= luas penampang kulit (cm^2)

Rumus penghitungan kemuluran:

Persentase Kemuluran $= \frac{\text{Panjang akhir (cm)} - \text{panjang awal (cm)}}{\text{panjang awal (cm)}} \text{ x } 100\ \%$

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Isolat LS2B Penghasil Alkalin Protease

Isolat LS2B yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi dari penelitian sebelumnya. Isolat LS2B ini berasal dari kandang peternakan ayam di Kota Yogyakarta. Peremajaan bakteri dilakukan bertujuan untuk menyelamatkan isolat bakteri dari kontaminasi oleh bakteri lain dan memberikan penyegaran pada nutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Ifnawati (2013) menyatakan bahwa pengembangbiakan atau peremajaan bakteri dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang aktif, karena bakteri yang sebelumnya berada di dialam lemari pendingin berada dalam kondisi inaktif. Kondisi bakteri yang inaktif menjadi kurang optimal ketika digunakan dalam produksi enzim. Tujuan lain dilakukannya pengembangbiakan kultur starter adalah untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembangbiak dengan baik dan dapat digunakan sesuai dengan fungsinya. Isolat LS2B dapat dilihat pada Gambar 4.



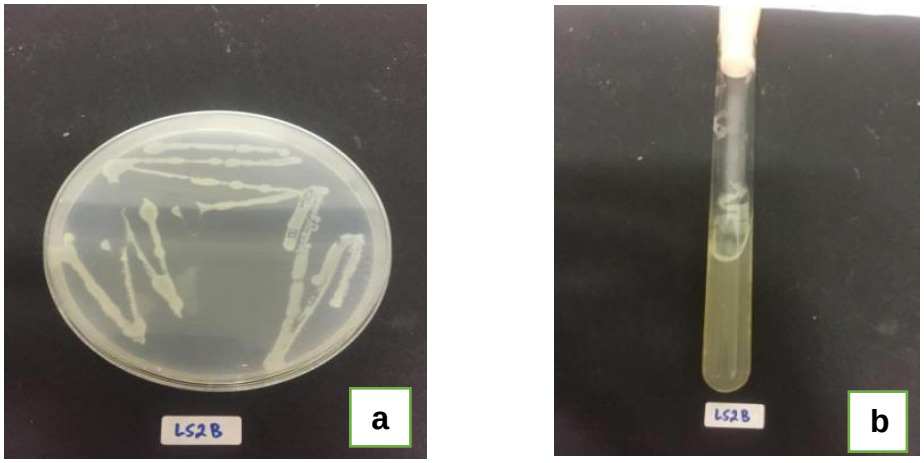
Gambar 4. Isolat LS2B

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Bakteri *Bacillus cereus* tumbuh pada suhu minumum 5°C sampai 20°C dan maksimum pada suhu 37°C sampai 48°C Pertumbuhan optimum bakteri *Bacillus cereus* pada suhu 30°C dan pH pertumbuhan 5,5 sampai 8,5. Brandelli (2005) menyatakan bahwa kondisi medium yang sesuai dengan kondisi optimumnya akan menyebabkan isolat bakteri *Bacillus* dapat tumbuh dengan baik.

Isolat *Bacillus cereus* harus diremajakan secara berkala untuk keberlangsungan hidup isolat tersebut karena memiliki waktu pendek ketika disimpan di dalam refrigerator dengan suhu 4°C. Peremajaan isolat bakteri *Bacillus cereus* dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam media agar yang baru. Peremajaan bakteri perlu dilakukan terus-menerus agar menghasilkan bakteri biakan yang baru dan selalu ada ketersediaan *stock* bakteri *Bacillus cereus*, karena bakteri yang telah didiamkan terlalu lama dapat menyebabkan bakteri tersebut mati dikarenakan nutrisi yang tersedia untuk bakteri telah habis dan media untuk tumbuh rusak. Hasil peremajaan isolat bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 5.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/



Gambar 5. Peremajaan isolat Bacillus cereus LS2B. peremakaan pada medium agar (a), peremajaan pada agar miring (b).

Media yang digunakan dalam peremajaan bakteri adalah media agar padat yang terdiri dari NaCl (Natrium klorida), pepton, meat exctract dan agar. Media tersebut mengandung nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Pelczar dan Chan (2008) menyatakan bahwa semua organisme termasuk bakteri membutuhkan nutrisi untuk memenuhi kehidupan yang diperlukan dalam pertumbuhan organisme tersebut. Ekstrak daging merupakan salah satu komponen yang mengandung karbohidrat, nitrogen, vitamin dan garam, sedangkan pepton merupakan sumber utama nitrogen dan agar sendiri memiliki fungsi sebagai bahan pemadat.

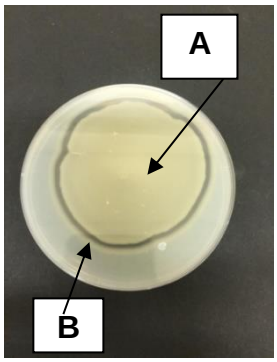
Peremajaan bakteri dilakukan di Laminar Air Flow (LAF) secara aseptis di dekat api bunsen dengan cara sebelum mengambil biakan, ose dipanaskan terlebih dahulu diatas api bunsen. Hal ini bertujuan untuk mematikan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Selanjutnya diambil satu ose biakan bakteri kemudian digoreskan kedalam media agar padat

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dan agar miring. Bakteri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Dwidjoseputro (1994) menyatakan bahwa inkubasi bakteri dilakukan selama 24 jam dan dapat dilakukan pemanenan karena telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat.

Uji Kualitatif Aktivitas Enzim Protease

Uji kualitatif enzim protease yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* bertujuan untuk mengetahui kemampuan yang dimiliki oleh bakteri *Bacillus cereus* dalam menghasilkan enzim protease dengan cara menghidrolisis protein yang berada didalam media *skim milk agar* (SMA) yang awalnya berwarna putih menjadi bening. Aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* dapat diketahui dengan uji kualitatif dengan ada tidaknya zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan dalam media *Skim Milk Agar* (SMA) (Gouda, 2006). Hasil pengamatan zona bening dari bakteri *Bacillus cereus* yang diuji pada media SMA dapat dillihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Zona bening yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* LS2B a. koloni bakteri b. zona bening

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri *Bacillus cereus* pada Gambar 6 menunjukkan bahwa terdapat enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus cereus.* Perubahan warna pada medium susu skim merupakan tanda hilangnya partikel kasein dimedia tersebut, adanya enzim proteolitik ekstraselular bakteri, kasein akan terhidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam amino yang larut. Enzim ekstra selular dari LS2B diduga dapat memecah berbagai senyawa karbohidrat, lipid dan protein rantai panjang menjadi unit-unit rantai pendek atau senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Selain itu menunjukkan pertumbuhan bakteri pada medium tersebut dengan tersedianya nutrien. Hal tesebut sesuai didukung oleh pernyataan Susanti (2003) yang menyatakan bahwa enzim protease yang mendegradasi protein yang terkandung dalam media *Skim Milk Agar* (SMA) yaitu dengan cara memutuskan ikatan peptida dengan masuknya air kedalam molekul kemudian berubah menjadi peptida-peptida rantai pendek dan asam-asam amino yang menyebabkan perubahan warna susu menjadi tidak berwarna atau bening.

Uji Kuantitatif Aktivitas Enzim Protease

Enzim merupakan katalisator yang mampu mempercepat laju reaksi tanpa ikut serta dalam reaksi tersebut. Laju reaksi enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain faktor yang dapat berpengaruh yaitu konsentrasi substrat, lama waktu inkubasi, pH, suhu dan adanya aktivator maupun inhibitor, salah satu yang berpengaruh dalam aktivitas enzim yaitu waktu inkubasi. Brock *et al*. (2004) menyatakan bahwa

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

aktivitas kerja suatu enzim dipengaruhi lama waktu inkubasi yang untuk setiap mikroorganisme menghasilkan suatu enzim membutuhkan waktu yang berbeda beda. Pada umumnya waktu untuk memproduksi enzim optimal terjadi pada fase logaritmik atau eksponensial.

Aktivitas enzim yang terlibat dalam degradasi protein pada proses penyamakan kulit dapat dilihat dari kemampuannya merombak bahan organik dalam substratnya, untuk mendegradasi protein diperlukan aktivitas enzim yang sesuai dengan kondisi lingkungan enzim bekerja (Astuti, 2004). Aktivitas enzim protease diukur dengan cara pemanenan ekstrak kasar enzim protease. Pemanenan ekstrak kasar enzim protease dilakukan dengan mengambil bagian supernatan hasil sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 25 menit pada suhu 4°C. Prinsip utama sentrifugasi adalah memisahkan substansi berdasarkan jenis berat molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang lebih berat akan berada di dasar, sedangkan substansi yang lebih ringan akan berada di atas. Larutan supernatan yang diperoleh kemudian diuji aktivitasnya dengan melihat nilai absorbansi pada alat spektrofotometer. Proses produksi enzim dan enzim kasar hasil sentrifugasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Proses produksi enzim (1), enzim kasar hasil sentrifugasi (2)

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Aktivitas protease diukur dengan cara sebanyak 3 ml ekstrak kasar enzim protease yang telah diencerkan 10 kali ditambahkan 1 ml kasein 2% dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 40°C. Reaksi antara ekstrak kasar protease dan kasein dihentikan dengan penambahan asam trikloro asetat (TCA) 5% dan diikubasi dengan waktu yang berbeda-beda. Pemberian waktu inkubasi yang berbeda-beda bertujuan untuk mengetahui waktu inkubasi yang paling optimum aktivitas enzim protease, yaitu diinkubasi dengan waktu 15 menit, 30 menit dan 45 menit pada suhu 40°C. Larutan reaksi selanjutnya disaring dengan kertas saring *Wathman* dan dibaca absorbansinya. Hasil uji aktivitas enzim protease *Bacillus cereus* LS2B dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas enzim protease pada substrat kasein

Ulangan	Waktu inkubasi		
	15 menit	30 menit	45 menit
1	57,2	97	64,8
2	86	113	42,13
3	77,8	77	26,13
Rata-rata (µg/ml/menit)	73,67±14,84^{ab}	95,67±18,04^{b}	44,35±19,43^{a}

^{a,b}superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikan ($P<0.05$).

Pengukuran aktivitas enzim dari bakteri *Bacillus cereus* LS2B memperlihatkan hasil aktivitas tertinggi terdapat pada waktu inkubasi 30 menit. Aktivitas enzim pada waktu inkubasi 15 menit tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 30 menit dan 45 menit. Waktu inkubasi 30 menit menunjukkan hasil aktivitas enzim berbeda nyata dengan waktu inkubasi 45 menit ($P<0.05$). Aktivitas enzim mengalami kenaikan pada waktu inkubasi 15 menit menuju 30 menit namun mengalami penurunan aktivitas

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

pada waktu inkubasi 45 menit. Hal ini mengindikasikan bahwa enzim dari bakteri *Bacillus cereus* LS2B dapat bekerja optimum pada waktu 30 menit dan mengalami penurunan aktivitas protease pada waktu inkubasi selanjutnya. Penurunan enzim tersebut dapat disebabkan oleh waktu inkubasi yang terlalu lama sehingga substrat yang tersedia telah habis. Zusfahair (2011) menyatakan bahwa perbedaan nilai aktivitas enzim berdasarkan lama waktu inkubasi dikarenakan jika waktu inkubasi terlalu lama membuat aktivitas enzim semakin menurun, hal ini karena enzim mengalami perubahan struktur molekul atau terdenaturasi, sehingga tidak terbentuk produk akibat aktivitas enzim mengalami penurunan. Kecepatan hidrolisis suatu reaksi enzimatik sangat dipengaruhi oleh konsentrasi substratnya. Fifendi (2017) menambahkan bahwa aktivitas kerja suatu enzim dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang tersedia, jika konsentrasi substrat yang digunakan sesuai maka dapat meningkatkan kecepatan reaksi dan ketika jumlah konsentrasi substrat yang digunakan terlalu banyak maka dapat mengurangi kecepatan reaksi enzimatis, hal ini dikarenakan sisi aktif enzim telah jenuh.

Waktu inkubasi adalah waktu yang diperlukan oleh enzim untuk berikatan dengan substrat yang telah tersedia, jika waktu inkubasi yang digunakan cukup singkat maka aktivitas enzim yang dihasilkan akan rendah dikarenakan waktu berinteraksinya sangat singkat sehingga interaksi tidak berlangsung secara keseluruhan sehingga produk yang dihasilkan sedikit (Bentubo dan Gompertz, 2014). Pertumbuhan mikroorganisme dapat

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

berpengaruh terhadap produksi enzim, dikarenakan mikroba dapat menghasilkan enzim pada fase waktu tertentu, sedangkan produksi enzim dapat menurun hal ini dikarenakan oleh pertumbuhan sel mikroorganisme yang mengalami penurunan ketika nutrisi yang berada didalam substrat telah habis, dikarenakan waktu inkubasi terlalu lama (Agustine, 2005)

Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Aplikasi Enzim Protease LS2B pada Proses Buang Rambut

Pengaruh enzim protease terhadap kualitas kulit

Makroskopis. Proses buang rambut menggunakan berbagai tingkat waktu inkubasi, menghasilkan perontokan atau proses buang rambut yang berbeda-beda. Waktu inkubasi dengan enzim yang diberikan yaitu 12 jam, 18 jam dan 24 jam, sedangkan parameter kontrol adalah kulit dengan waktu inkubasi 18 jam dengan menggunakan kapur dan Na_2S**.** Kulit hasil perlakuan buang rambut kimiawi (kontrol) menghasilkan kulit yang bersih dari rambut (100%) sedangkan menggunakan enzim masih meninggalkan sisa rambut pada kulit, kulit yang mampu tercabut rambutnya secara sempurna dengan perlakuan enzim adalah kulit dengan waktu inkubasi enzim selama 18 jam. Hasil pengamatan secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 5.

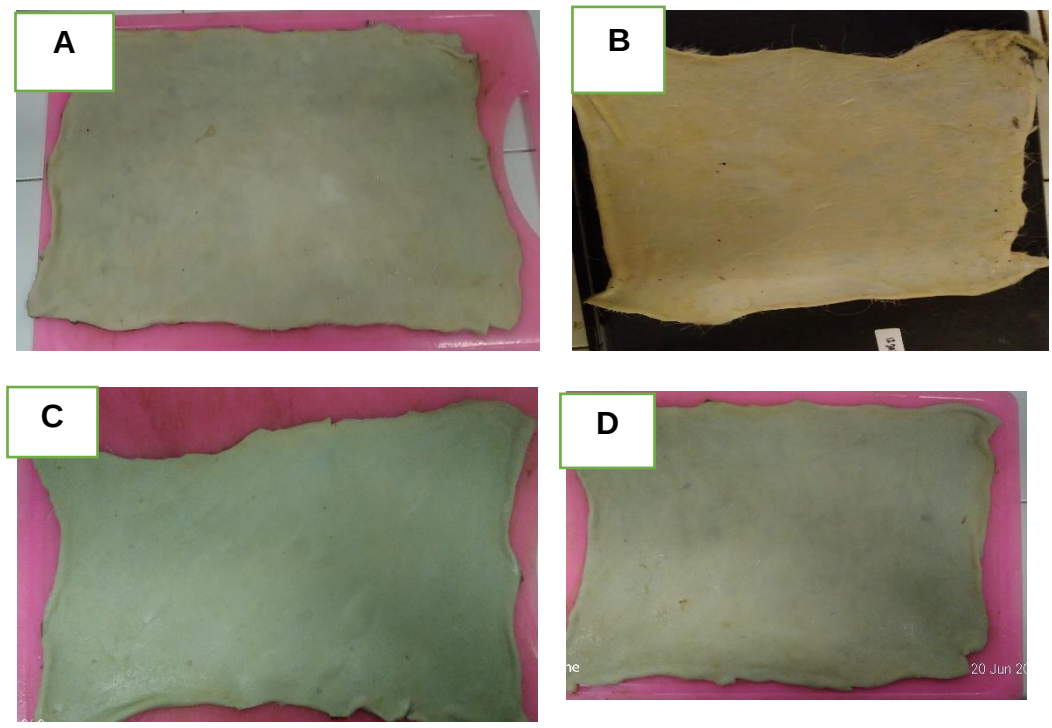
Tabel 5. Hasil pengamatan makroskopis proses *unhairing*

Pengamatan	Waktu inkubasi			Kontrol
	12 jam	18 jam	24 jam	
Tingkat perontokan	75%	100%	100%	100%
Warna kulit	Putih	Putih	Putih	Biru
Rambut	Utuh	Utuh	Utuh	Hancur

Warna kulit yang diproses secara enzimatis menghasilkan kulit bloten berwarna putih khas kulit, sedangkan kulit yang diproses secara konvensional menggunakan zat kimia Na_2S dan kapur menghasilkan kulit berwarna biru. Warna biru sebagai akibat dari adanya reaksi antara Na_2S dengan protein pada kulit (Mukhtar dan Haq, 2008). Pemakaian enzim untuk proses *unhairing* adalah rambut yang dihasilkan relatif utuh. Hal ini didukung oleh pernyataan Widowati *et al*. (2000) menyatakan bahwa enzim

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

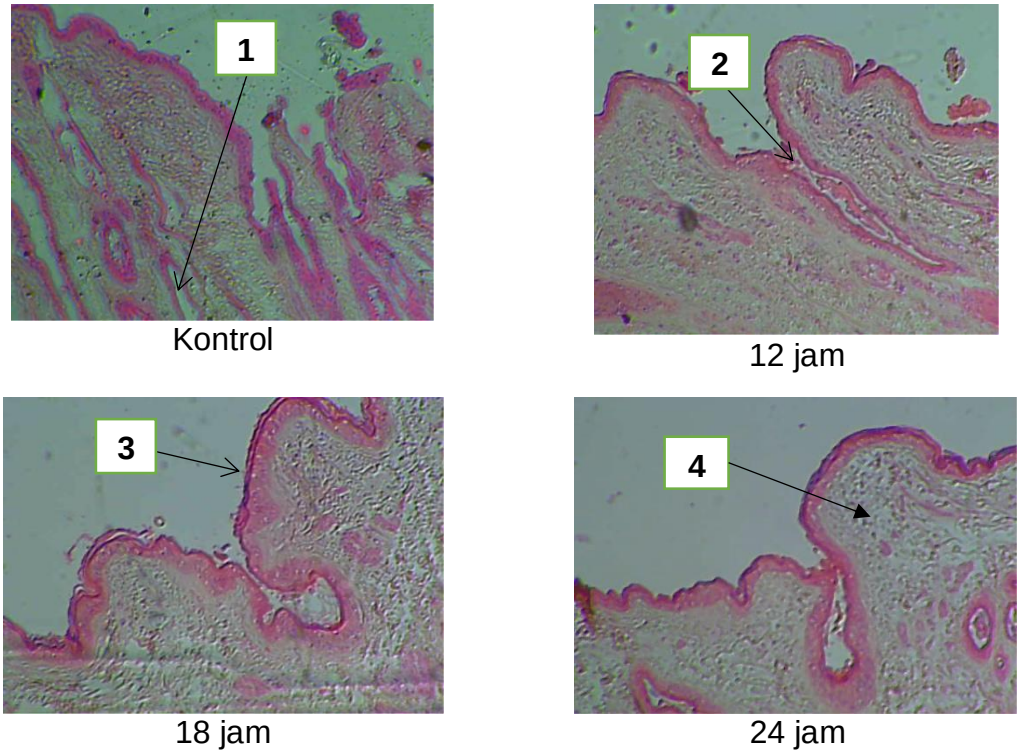
akan menghilangkan lapisan yang menyelubungi sehingga rambut akan tercabut hingga ke akarnya, selama proses enzimatis akan terjadi penghilangan protein nonkolagen, protein tersebut berasal dari jaringan-jaringan yang belum terbuang misalnya kelenjar keringat dan jaringan sekitar bulu. Hasil kulit setelah *unhairing* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kulit setelah *unhairing* a. kontrol, b. waktu inkubasi 12 jam, c. waktu inkubasi 18 jam, d. waktu inkubasi 24 jam

Histologi kulit. Kulit yang telah dilakukan proses *unhairing,* selanjutnya dipotong 1 cm × 1 cm untuk diambil sampel dan dilakukan uji histologi. Uji histologi merupakan uji yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan enzim dalam mencabut rambut yang menempel pada kulit domba tersebut secara fotografi dengan menggunakan mikroskop. Hasil uji histologi kulit dapat dilihat pada Gambar 9.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/



Gambar 9. Hasil uji histologi kulit domba menggunakan enzim protease LS2B

Keterangan :
1. Folikel rambut
2. Sisa rambut
3. Epidermis
4. Jaringan kolagen

Berdasarkan hasil fotomikrograf untuk pengamatan secara histologi, dapat dilihat bahwa pada pengamatan kulit menggunakan enzim dan tanpa menggunakan enzim (kontrol) memperlihatkan hasil yang berbeda. Kulit histologi kontrol tanpa pemberian enzim ketika proses *unhairing,* melainkan menggunakan Na_2S dan kapur menghasilkan kulit dengan bagian epidermis yang tampak rata, folikel rambut sudah kosong hal ini menandakan bahwa rambut sudah lepas dan jaringan kolagen masih utuh. Kulit histologi dengan pemberian enzim dengan waktu inkubasi 12 jam

Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

(P1) menghasilkan kulit dengan bagian epidermis yang tampak rata, folikel rambut sebagian masih berisi rambut yang belum tercabut, dan jaringan kolagen masih utuh.

Kulit dengan pemberian enzim dengan waktu inkubasi 18 jam (P2) menghasilkan kulit dengan bagian epidermis tampak rata, folikel rambut sudah kosong hal ini menandakan bahwa rambut sudah lepas dan jaringan kolagen masih utuh, sedangkan kulit dengan pemberian enzim dan waktu inkubasi 24 jam menghasilkan kulit dengan bagian epidermis tampak rata, folikel rambut sudah kosong hal ini menandakan bahwa rambut sudah lepas dan jaringan kolagen masih utuh. Berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa proses *unhairing* dengan menggunakan enzim dengan waktu inkubasi yang optimum yaitu 18 jam mampu mencabut rambut secara sempurna sama halnya dengan perlakuan kontrol yang mana pada proses *unhairing* menggunakan Na_2S dan kapur.

Waktu inkubasi yang optimum mampu meningkatkan kinerja enzim dalam proses mendegradasi akar rambut, semakin lama waktu inkubasi maka akan semakin efektif enzim tersebut bekerja, namun waktu inkubasi yang terlalu lama juga dapat menyebabkan kinerja enzim menurun dikarenakan nutrisi yang tersedia telah habis. Pemberian enzim protease dapat mencabut akar rambut karena enzim yang digunakan dalam proses *unhairing* mampu mencerna sel-sel lapisan malphigi dan sel-sel basal sekitar akar rambut. Triatmojo *et al*. (2004) menyatakan bahwa Protease

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

mampu mencerna soft keratin pada sel-sel lapisan malphigi dan akar rambut sehingga dapat tercabut sampai akar-akarnya.

Kekuatan tarik. Kekuatan tarik merupakan gaya maksimal yang diperlukan untuk menarik kulit sampai putus. Kekuatan tarik sangat penting pada industri kulit, kekuatan tarik yang tidak memenuhi standar menyebabkan kulit mudah pecah atau retak. Kekuatan tarik yang rendah menunjukkan kualitas serabut yang rendah. Hasil uji kekuatan Tarik kulit samak domba dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji kekuatan tarik kulit samak domba

Ulangan	Waktu inkubasi			
	Kontrol	12 jam	18 jam	24 jam
1	27,61	13,66	23,97	23,09
2	27,21	12,98	23,21	22,99
3	28,11	13,00	23,05	22,32
Rata-rata (mpa)	27,64±0,45^{c}	13,21±0,39^{a}	23,41±0,49^{b}	22,80±0,41^{b}

^{a,b}superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikan (P<0,05)

Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan pemberian perlakuan waktu inkubasi menghasilkan perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan (P<0,05). Kekuatan tarik tertinggi dihasilkan oleh kulit yang diinkubasi selama 18 jam. Kulit dengan perlakuan enzim dengan waktu inkubasi 12 jam berbeda nyata dengan kulit waktu inkubasi 18 dan 24 jam, sedangkan kulit samak dengan waktu inkubasi 18 jam tidak berbeda nyata dengan hasil kulit samak dengan waktu inkubasi 24 jam. Kekuatan tarik kulit yang dihasilkan dari perlakuan-perlakuan pada penelitian ini memenuhi standar yang ditentukan dalam SNI No. 06.4593-1998 tentang kulit jaket domba atau kambing yaitu minimal 1,2 kN/cm^2. Hasil kekuatan tarik kulit samak

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

domba dengan perlakuan enzim LS2B apabila dikonversikan telah memenuhi standar SNI, 1 kN/cm^2 setara dengan 10 megapascal.

Kekuatan tarik dipengaruhi oleh banyaknya kandungan kolagen yang dapat bereaksi dengan krom, oleh karena itu berbagai zat yang digunakan pada proses penyamakan kulit tidak boleh merusak kolagen. Mustakim *et al.* (2010) menyatakan bahwa tingginya komposisi serat kolagen dalam kulit akan berpengaruh terhadap tingginya kekuatan fisik kulit yaitu kemuluran dan kekuatan tarik kulit. Tinggi rendahnya kekuatan tarik kulit dipengaruhi oleh tebal dan tipisnya kulit, kepadatan protein kolagen, tebalnya korium dan makin tinggi kadar lemak kulit mengakibatkan rendahnya kekuatan tarik kulit dan kemuluran yang makin rendah. Rumiyati dan Widodo (1990) kekuatan tarik kulit dipengaruhi oleh perubahan struktur kulit. Serabut-serabut kulit akan mengalami kontraksi dan kekuatan tariknya akan menjadi rendah, selanjutnya kukuatan tarik akan turun bila serabut-serabut kolagen mengalami pembengkakan yang disebabkan oleh air. Kulit yang berada pada konsisi atmosfir biasa mengandung 8-15% air, akan tetapi kandungan air tesebut tergantung dari substansi kulit yang ada. Sifat-sifat kulit dipengaruhi oleh air yang terikat erat pada serat-serat kolagen. Banyaknya uap air yang terserap kulit dipengaruhi oleh suhu, kelembaban dan substansi kulit atau kolagen.

Kemuluran. Kemuluran merupakan keadaan kulit yang bertambah panjang apabila ditarik sampai dengan tidak dapat bertambah panjang lagi sehingga akhirnya kulit menjadi putus. Kemuluran kulit sangat penting pada

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

industri kulit, kemuluran kulit menunjukkan kemampuan kulit untuk mulur, semakin tinggi nilai kemuluran kulit maka kulit semakin mudah longgar. Hasil uji kemuluran kulit samak domba dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji kemuluran kulit samak domba

Ulangan	Waktu inkubasi			
	Kontrol	12 jam	18 jam	24 jam
1	23,96	19,4	23,96	25,93
2	24,10	19,49	23,75	26,18
3	23,98	19,57	23,87	25,76
Rata-rata (%)	24,01±0,44^{b}	19,49±0,08^{a}	23,86±0,10^{b}	23,96±0,21^{c}

^{a,b}superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikan ($P<0.05$)

Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan pemberian perlakuan waktu inkubasi menghasilkan perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan. Kemuluran kulit tertinggi dihasilkan oleh kulit yang diinkubasi selama 24 jam. Hasil uji kemuluran kulit pada waktu inkubasi 12, 18, 24 jam dan kontrol telah sesuai dengan standar SNI No 06.4593-1998 tentang kulit jaket domba atau kambing, yang menetapkan kriteria kemuluran kulit maksimal sebesar 60%. Mustakim *et al.* (2010) menyatakan bahwa kekuatan tarik kulit samak yang tinggi akan diikuti oleh kemuluran yang rendah sampai batas tertentu, setelah itu penurunan kekuatan tarik akan diikuti oleh kenaikan kemuluran.

Faktor yang berpengaruh terhadap kemuluran kulit adalah kandungan protein kulit terutama serabut kolagen dan komposisi kimia yang terdapat dalam kulit. Putusnya serabut kolagen dan komposisi kimia yang terdapat dalam kulit. Putusnya serabut kolagen akan mengurangi kemampuan kulit menahan beban tarikan, sehingga kekuatan terik turun

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tetapi nilai kemuluran naik, komposisi kimia berpengaruh terhadap kemuluran kulit (Roddy, 1978). Nilai kemuluran kulit yang tinggi dapat pula disebabkan oleh hilangnya elastin mulai dari pengawetan hingga penyamakan. Elastin merupakan protein fibrous yang membentuk serat-serat yang sangat elastis, karena mempunyai rantai asam amino yang membentuk sudut sehingga pada saat mendapatkan tegangan akan menjadi lurus dan kembali seperti semula apabila tegangan tersebut dilepaskan, sehingga hilangnya elastin pada protein kulit akan mempengaruhi elastisitas kulut samak (Judoamidjojo, 1974).

Suhu kerut. Suhu kerut adalah suhu tertentu yang mengakibatkan kulit mengalami pengkerutan. Serabut-serabut kolagen atau kulit mentah akan mengkerut lebih kurang sepertiga atau seperempat dari panjang semula jika dipanaskan dalam medium air panas pada suhu tertentu (Soeparno *et al*., 2001). Banyaknya kandungan air dalam molekul kolagen juga mempengaruhi tinggi rendahnya suhu kerut. Kandungan air yang tinggi menyebabkan suhu kerut rendah, sebaliknya kandungan air yang rendah menyebabkan suhu kerut tinggi. Hasil uji suhu kerut kulit samak domba dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji suhu kerut kulit samak domba

Ulangan	Waktu inkubasi			
	Kontrol	12 jam	18 jam	24 jam
1	99	99	99	99
2	99	99	99	99
3	99	99	99	99
Rata-rata (°C)	99	99	99	99

Berdasarkan hasil uji suhu kerut, waktu inkubasi yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata pada nilai suhu kerut. Suhu kerut pada

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

masing-masing perlakuan menghasilkan nilai suhu kerut sebesar 99°C. Purnomo (2002) menyatakan bahwa kulit yang disamak menggunakan bahan samak krom akan menghasilkan nilai temperatur kerut diatas 90°C. Berdasarkan literatur tersebut kulit samak dari ketiga perlakuan diatas dan kontrol telah sesuai dengan literatur.

Soeparno *et al*. (2001), pengkerutan merupakan akibat pemendekat serabut kolagen yang disebabkan hilangnya atau berubahnya rantai ikatan silang molekul kolagen. Pada suhu kerut gaya di dalam molekul protein menjadi lebih besar daripada gaya antar molekul yang mengalami pemanasan ikatan-ikatan rantai samping hanya membantu sebagian kecil ketahanan terhadap air panas, pengkerutan lebih banyak disebabkan oleh putusnya ikatan kolagen dari rantai peptida.

Semakin tinggi ketahanan kulit terhadap panas maka akan menghasilkan kualitas yang baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kurniani (2007) yang menyatakan bahwa suhu kerut berkaitan dengan kematangan kulit karena semakin banyak serabut kulit yang berikatan dengan bahan penyamak, semakin matang kulit semakin tinggi suhu kerut sehingga kualitas kulit semakin baik karena ketahanan kuit terhadap panas semakin tinggi, artinya kulit samak domba ini mempunyai ketahanan panas yang tinggi.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bacillus cereus LS2B mampu memproduksi enzim protease. Enzim protease LS2B memiliki aktivitas protease yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar koloni. Aktivitas enzim protease LS2B tertinggi pada waktu inkubasi 30 menit sebesar 95,67 µg/ml/menit. Kualitas kulit terbaik yang dilihat secara histologi dihasilkan oleh kulit dengan waktu inkubasi 18 jam yang ditandai dengan rambut yang menempel tercabut secara sempurna, tidak terdapat sisa rambut yang tertinggal, epidermis rata dan jaringan kolagen yang utuh. Waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap kekuatan tarik dan kemuluran ($P<0,05$), hasil kekuatan tarik tertinggi yaitu pada perlakuan 18 jam sebesar 23,41 mpa dan kemuluran tertinggi pada perlakuan 24 jam sebesar 25,96%. Waktu inkubasi tidak berpengaruh pada suhu kerut kulit samak.

Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengetahui kualitas limbah cair yang dihasilkan dari proses penyamakan menggunakan enzim protease, sebagai alternatif bahan *unhairing* yang ramah lingkungan.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu inkubasi paling optimum enzim alkalin protease *Bacillus cereus* LS2B pada proses buang rambut kulit samak domba. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Kulit, Hasil Ikutan, dan Limbah Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan November 2018 hingga bulan Juni 2019. Penelitian ini bermanfaat untuk menggurangi penggunaan bahan kimia pada proses penyamakan kulit, sehingga proses penyamakan menjadi lebih ramah lingkungan. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 12 lembar kulit domba awetan garam. Perlakuan yang diberikan yaitu dengan pemberian waktu inkubasi yang berbeda yaitu 12 jam (P1), 18 jam (P2) dan 24 jam (P3) dan sebagai kontrol P0 adalah dengan menggunakan kulit yang di proses *unhairing* menggunakan bahan kimia Na_2S (2%) dan kapur $Ca(OH)_2$ 3%, kemudian kulit yang telah dihasilkan dari proses *unhairing* diambil sampel dan dilakukan pengujian histologi selanjutnya diproses menjadi kulit samak krom. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap penelitian yaitu produksi enzim, aplikasi penggunaan enzim untuk buang rambut, pengujian histologi dan pengujian kualitas kulit. Data yang didapat dianalisis secara deskriptif untuk pengujian histologi dan analisis statistik RAL pola searah untuk pengujian aktivitas protease dan kualitas kulit dengan 3 kali ulangan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim yang dihasilkan isolat LS2B menunjukkan aktivitas protease dengan adanya

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

zona bening. Aktivitas enzim protease tertinggi pada waktu inkubasi perlakuan 30 menit ($P<0,05$) sebesar 95,67 µg/ml/menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan enzim protease LS2B dengan waktu inkubasi yang berbeda dapat memberikan efek positif terhadap histologi pada proses *unhairing* kulit. Waktu inkubasi 18 jam dapat menghasilkan kulit yang bersih tanpa adanya rambut yang menempel baik secara fisik maupun histologi. Waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap kekuatan tarik dan kemuluran ($P<0,05$), hasil kekuatan tarik tertinggi yaitu pada perlakuan 18 jam sebesar 23,41 mpa dan kemuluran tertinggi pada perlakuan 24 jam sebesar 25,96%. Waktu inkubasi tidak berpengaruh pada suhu kerut kulit samak.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR PUSTAKA

Agustine, W. 2005. Penentuan kondisi optimum pertumbuhan dan produksi *Xilanase* Isolat AQ. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Akhdiya, Alina. 2003. Isolasi bakteri penghasil enzim protease alkali termostabil. Buletin Plasma Nutfah. 9 (2): 38-44.

Astuti, E. S. 2004. Penggunaan protease *Rizopus* sp. untuk perendaman kulit kambing pada proses penyamakan kulit. Thesis. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). 1998. SNI 06-4593-1998. Kulit jaket domba atau kambing. Jakarta.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2005. SNI 06-7127-2005. Cara Uji Suhu Pengkerutan Kulit Tersamak. Jakarta

Bentubo, H.D.L. dan Gompertz, O.F. 2014. Effect of temperature and incubation time on thein vitroexpression of protease es, phospholipases, lipases and DNases by different spesies of Trichosporon. Springer Plus, 3. hal 377

Brandelli, A. 2005. Production of an extracellular keratinase from *Chryseobacterium* sp. growing on raw feathers. Electronic Journal of Biotechnology. Departemento de Ciencia de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. Vol 8 (1): 35-42.

Brock, T.D., Madigan, M. T., Martinko, J. M. dan Parker, J. 2004. *Biology of Mikroorganism 7th edition*. New Jersy. Prentice Hall.

Dewan Standardisasi Nasional. 1990. Cara Uji Kekuatan Tarik dan Kemuluran Kulit. SNI 06-1795-1990. Departemen Perindustrian Badan Penelitian dan Pengembangan Industri Republik Indonesia. Jakarta.

Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta. hal 6.

Fifendi. 2017. Mikrobiologi. Penerbit PT Kencana. Depok

Fitriyanto, Nanung A., Vini, O., Yuni, E., Rusman., Takashi Hayakawa., Tomoyuki Nakagawa dan Keiichi. 2014. Isolation and characterization of protease producing strain *Bacillus cereus* from odorous farm soil in tropical area. Prociding of the 16th AAAP Animal Science Congress. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Vol 11: 1308-1310.

Gouda, M. K. 2006. Optimization and purification of alkaline proteases produced by marine *Bacillus* sp. MIG newly isolated from Eastern Harbour of Alexandria. Polish Journal of Microbiology. 55 (2): 119-126.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Guangrong, H., Ying Tiejing., Huo Po dan J. Jiaxing. 2006. Purification and Characterization of a Protease from Thermophilic Bacillus Strain HS08. African Journal of Biotechnology. 5 (24): 2433-2438.

Gupta, R., Beg, Q.K., dan Lorenz, P. 2002. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial application. *Appl Microbiol Biotechnol*. 59:15-32.

Ifnawati, K. 2013. Pengaruh enzim kitinase kasar dari bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae* terhadap pertumbuhan, morfologi dan kadar N-Asetilglukosamin *Fusarium oxysporum*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN). Malang.

Jannah, R. 2016. Pengaruh aplikasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap produktivitas tanaman padi yang terinfeksi penyakit blas sebagai referensi mata kuliah mikrobiologi. Skripsi. Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Darussalam Banda Aceh. pp 10-83.

Judoamidjojo, M. 1974. Dasar Teknologi dan Kimia Kulit. Departemen Teknologi Hasil Pertanian . FATEMETA. Industri Pertanian Bogor. Bogor.

Kurniani, A. G. 2007. Pengaruh metode pengawetan kulit mentah terhadap kualitas kulit pari tersamak. Perikanan UGM Press. Yogyakarta.

Moon, S. H. dan S. J. Parulekar. 1993. *Some observation on protease production in continuous suspension cultures of bacillus firmus. Biotechnology and bioengineering.* 41 (1): 43-54.

Mukhtar, H. dan I. U. Haq. 2008. Production of alkaline protease by *Bacillus subtilis* and its application as a depilating agent in leather processing. Pak. J. Bot. 40 (4): 1673-1679.

Mustakim, Aris S. W. dan A. P. Kurniawan. 2010. Perbedaan dan kualitas kulit Kambing Peranakan Etawa (PE) dan Peranakan Boor (PB) yang disamak krom. Jurnal Ternak Tropika. 11 (1): 38-50.

Noviyanti, T., P. Ardiningsih dan W. Rahmalia. 2012. Pengaruh temperature terhadap aktivitas protease dari daun sansakng (*Pycnarrhena cauliflora Diels*). Jurnal Kimia Khatulistiwa. 1 (1): 45-48.

Ockerman, H.W. and C.L. Hansen. 2000. Animal By-Product Processing & Utilization. CRC Press. Washington.

Pawiroharsono, S. 2008. Penerapan enzim untuk penyamakan kulit ramah lingkungan. Jurnal Teknil Lingkungan. 9 (1): 51-58

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I. UI Press. Jakarta.

Purnomo. 2002. Penyamakan Kulit Ikan Pari. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Rao, M.B., A. M. Tanksale, M. S. Ghatge dan V. V. Deshpande. 1998. Molecular and Biotechnological aspects if microbial proteases. Microbiology and molecular biology reviews. 62: 597-635.

Roddy, W. T. 1978. Histology of Animal Skin. Robert E. Krieger Publishing Co. Huntington. New York.

Rumiyati, V. S. P. dan Widodo. 1990. Hubungan antara kekuatan tarik dengan kemuluran kulit boks. Seminar sehari. HAKTKI. BBKKP. Yogyakarta.

Said, M.I. dan Likadja, J.C. 2012. Isolasi dan identifikasi bakteri yang berpotensi sebagai penghasil enzim protease pada industri penyamakan kulit Pt. Adhi Satria Abadi (Asa), Yogyakarta. Makalah Ilmiah. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.

Sharphouse, J. H. 1983. Leather Technician's Handbook. London. pp 114-134.

Soeparno, Indratiningsih, T., Subaryono dan Rihastuti. 2001. Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

Sulastry, M. S. 2019. Struktur Kulit, Pengertian, Anatomi, Gambar, dan Fungsinya. Tersedia pada https://sel.co.id/struktur-kulit/. Diakses pada 19 Agustus 2019.

Suparno, Ono., Anthony D. C dan Christine S. E. 2010. Teknologi baru penyamakan kulit ramah lingkungan: penyamakan kombinasi menggunakan penyamak nabati, naftol dan oksaolidin. Jurnal teknik industri pertanian. 18(2): 79-84.

Susanti, E. V. H. 2003. Isolasi dan karakterisasi protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15. Journal Biodiversitas. 1 (4): 12-17.

Thanikaevelan, P., J. R. Rao, B. U. Nair and T. Ramasami. 2004. Caprogress and recent trends in biotechnologi methods of leather. Trens Biotechnol. 22 (4):181-188.

Thanikaevelan, P., J. R. Rao, B. U. Nair, and T.Ramasami. 2005. Recent trends in leather making: processes, problems and pathways. Environ. Sci. Technol. 35: 37-79.

Triatmojo, A. S., Nanung, A. F. dan Y. Erwanto. 2004. Penerapan protease *Aspergillus flavus* pada proses buang rambut ramah lingkungan.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Buletin Peternakan. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Vol 28 (4)

Volk, W.A. dan M.F. Wheeler. 1988. Mikrobiologi Dasar. Edisi kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Wahyuningsih, Rina. 2012. Potensi isolat bakteri dari tanah di sekitar kandang peternakan sapi perah dalam mereduksi ammonia dan mengoksidasi nitrit. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

Widowati, T. P., Murwati dan J. Susila. 2000. Pengaruh penambahan anti bakteri terhadap perbanyakan sel bakteri yang ada pada kulit mentah. Seminar Nasional Industri Kulit Karet dan Plastik. Yogyakarta. pp: 216-221.

Zusfahair. 2011. Amobilisasi protease dari *Bacillus* sp. BT 1 menggunakan poliakrilamida. Journal molekul. Vol 6 (2).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan anugerah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul " Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease *Bacillus cereus*. LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada pihak-pihak yang telah berperan dalam penyusunan skripsi ini:

1. Prof. Dr. Ir. Ali Agus, DAA., DEA., IPU., ASEAN Eng. Selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
2. Prof. Ir. Budi Guntoro,S.Pt.,M.Sc.,Ph.D., IPU., ASEAN Eng. Selaku Wakil Dekan bidang Akademik dan Kemahasiswaan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
3. Ir. Tri Satya Mastuti Widi, S.Pt., M.P.,M.Sc., Ph.,D., IPM., ASEAN Eng. Selaku Ketua Program Studi Ilmu dan Industri Peternakan.
4. Ir. Nanung Agus Fitriyanto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. Selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si., Ph.D., IPM., ASEAN Eng. Selaku Dosen pembimbing pendamping
6. Sri Jaka Handayani dan Tentrem selaku orang tua, Puguh Wahyu Setyo T. U dan Titis Tyas Sari selaku kakak beserta keluarga yang telah mendoakan, membimbing dan memberikan fasilitas bagi penulis sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

7. Sindi Ami, Dwi Setyani, Devi Ima, Ani Kurnia, Anis Irvaini, Febriyani Aulia, Onie Adriatien, Basmah Rosyidi, Fitri Andini dan Irvan yang selalu memberikan dukungan, semangat dan bantuan kepada penulis.
8. Mustofiyah dan Dwi Setyani selaku partner penelitian yang memberikan bantuan kepada penulis.
9. Semua pihak yang tidak bisa disebabkan satu persatu, terimakasih atas inspirasi dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang peternakan

Yogyakarta, September 2019

Penulis

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis data aktivitas protease

Aktivitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
15 menit	3	73,6667	14,83824	8,56686	36,8064	110,5269	57,20	86,00
30 menit	3	95,6667	18,03700	10,41367	50,8603	140,4731	77,00	113,00
45 menit	3	44,3533	19,43064	11,21828	-3,9150	92,6217	26,13	64,80
Total	9	71,2289	26,97787	8,99262	50,4919	91,9659	26,13	113,00

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,069	2	6	,934

ANOVA

Aktivitas

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3976,330	2	1988,165	6,462	,032
Within Groups	1846,113	6	307,685		
Total	5822,442	8			

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Multiple Comparisons

Aktivitas

Tukey HSD

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
15 menit	30 menit	-22,00000	14,32214	,341	-65,9443	21,9443
	45 menit	29,31333	14,32214	,182	-14,6309	73,2576
30 menit	15 menit	22,00000	14,32214	,341	-21,9443	65,9443
	45 menit	51,31333*	14,32214	,027	7,3691	95,2576
45 menit	15 menit	-29,31333	14,32214	,182	-73,2576	14,6309
	30 menit	-51,31333*	14,32214	,027	-95,2576	-7,3691

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Aktivitas

Tukey HSD[a]

waktu	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15 menit	3	73,6667	73,6667
30 menit	3		95,6667
45 menit	3	44,3533	
Sig.		,182	,341

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 2. Analisis data pengujian kekuatan tarik

Kekuatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	3	27.6433	.45092	.26034	26.5232	28.7635	27.21	28.11
12 jam	3	13.2133	.38695	.22341	12.2521	14.1746	12.98	13.66
18 jam	3	23.4100	.49153	.28378	22.1890	24.6310	23.05	23.97
24 jam	3	22.8000	.41869	.24173	21.7599	23.8401	22.32	23.09
Total	12	21.7667	5.52621	1.59528	18.2555	25.2779	12.98	28.11

Test of Homogeneity of Variances

Kekuatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.102	3	8	.957

ANOVA

Kekuatan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	334.389	3	111.463	579.054	.000
Within Groups	1.540	8	.192		
Total	335.929	11			

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kekuatan

Tukey HSD

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	12 jam	14.43000*	.35823	.000	13.2828	15.5772
	18 jam	4.23333*	.35823	.000	3.0862	5.3805
	24 jam	4.84333*	.35823	.000	3.6962	5.9905
12 jam	Control	-14.43000*	.35823	.000	-15.5772	-13.2828
	18 jam	-10.19667*	.35823	.000	-11.3438	-9.0495
	24 jam	-9.58667*	.35823	.000	-10.7338	-8.4395
18 jam	Control	-4.23333*	.35823	.000	-5.3805	-3.0862
	12 jam	10.19667*	.35823	.000	9.0495	11.3438
	24 jam	.61000	.35823	.382	-.5372	1.7572
24 jam	Control	-4.84333*	.35823	.000	-5.9905	-3.6962
	12 jam	9.58667*	.35823	.000	8.4395	10.7338
	18 jam	-.61000	.35823	.382	-1.7572	.5372

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Kekuatan

Tukey HSD[a]

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	3	13.2133		
18 jam	3		23.4100	
24 jam	3		22.8000	
Control	3			27.6433
Sig.		1.000	.382	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 3. Analisis data pengujian kemuluran

Kemuluran

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	24.0133	.07572	.04372	23.8252	24.2014	23.96	24.10
12 jam	3	19.4867	.08505	.04910	19.2754	19.6979	19.40	19.57
18 jam	3	23.8600	.10536	.06083	23.5983	24.1217	23.75	23.96
24 jam	3	25.9567	.21127	.12197	25.4319	26.4815	25.76	26.18
Total	12	23.3292	2.47520	.71453	21.7565	24.9018	19.40	26.18

Test of Homogeneity of Variances

Kemuluran

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.313	3	8	.336

ANOVA

Kemuluran

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	67.255	3	22.418	1305.294	.000
Within Groups	.137	8	.017		
Total	67.393	11			

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kemuluran

Tukey HSD

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	12 jam	4.52667*	.10700	.000	4.1840	4.8693
	18 jam	.15333	.10700	.515	-.1893	.4960
	24 jam	-1.94333*	.10700	.000	-2.2860	-1.6007
12 jam	kontrol	-4.52667*	.10700	.000	-4.8693	-4.1840
	18 jam	-4.37333*	.10700	.000	-4.7160	-4.0307
	24 jam	-6.47000*	.10700	.000	-6.8127	-6.1273
18 jam	kontrol	-.15333	.10700	.515	-.4960	.1893
	12 jam	4.37333*	.10700	.000	4.0307	4.7160
	24 jam	-2.09667*	.10700	.000	-2.4393	-1.7540
24 jam	kontrol	1.94333*	.10700	.000	1.6007	2.2860
	12 jam	6.47000*	.10700	.000	6.1273	6.8127
	18 jam	2.09667*	.10700	.000	1.7540	2.4393

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Kemuluran

Tukey HSD[a]

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Control	3		24.0133	
12 jam	3	19.4867		
18 jam	3		23.8600	
24 jam	3			25.9567
Sig.		1.000	.515	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 4. Metode Produksi enzim kasar protease LS2B

a. pembuatan *preculture*

Isolat

- *Meat extract, pepton*, NaCl ditambah aquades
- Di autoklaf di suhu 121°C selama 15 menit
- Didinginkan di dalam LAF
- Tambahkan satu ose isolat bakteri LS2B
- Diinkubasi diatas *shaker* semalam

Preculture

b. pembuatan medium cair (susu skim 1,5 %)

preculture

- *Meat extract, pepton*, NaCl, susu skim ditambah aquades
- Di autoklaf di suhu 121°C selama 15 menit
- Didinginkan di dalam LAF
- Tambahkan 5 ml *preculture*
- Diinkubasi diatas *shaker* semalam

enzim+substansi lain

c. pemisahan enzim kasar

enzim+substansi lain

- Dimasukkan dalam conical 50 ml
- Ditimbang untuk memperoleh berat yang sama
- Diputar dengan sentrifuge kecepatan 4500 rpm 4°C selama 25 menit
- Ambil bagian supernatan

Enzim kasar

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 5. Perhitungan aktivitas enzim protease

Persamaan standar tirosin: Y= 61,712x + 0,0967

R^2= 0,9933

Perlakuan (waktu inkubasi)	Nilai absorbansi blanko	Nilai absorbansi sampel	Nilai sampel	Nilai blanko	Aktivitas enzim (µg/ml/menit)
15 menit	0,449	0,625	0,00856	0,0057	57,2
	0,449	0,722	0,010	0,0057	86
	0,449	0,689	0,00959	0,0057	77,8
30 menit	0,324	0,926	0,0134	0,0037	97
	0,324	1,023	0,0150	0,0037	113
	0,324	0,802	0,0114	0,0037	77
45 menit	0,324	0,926	0,0134	0,00368	64,8
	0,324	0,722	0,010	0,00368	42,13
	0,324	0,567	0,0076	0,00368	26,13

Perhitungan:

Nilai absorbansi blanko=0,449

0,449 = 61,712x + 0,0967

X = 0,0057

Nilai absorbansi sampel=0,625

0,625 = 61,712x + 0,0967

X = 0,00856

$$\text{Aktivitas enzim} = (\text{vol kasein} + \text{enzim} + \text{TCA}) \times \frac{(\text{Sampel-blanko})}{100} \times \text{pengenceran} \times \frac{1}{15} \times 10^6$$

$$\text{Aktivitas enzim} = (1+3+5) \times \frac{0{,}00856-0{,}0057}{100} \times 10 \times \frac{1}{15} \times 10^6$$

= 57,2 µg/ml/menit

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 6. Proses dan bahan-bahan penyamakan

No	Proses	Bahan	Komposisi (%)	Waktu (menit)
1	Soaking	Air	500	30
		Teepol	0,5	
2	Liming	Air	100	
	(kontrol)	Kapur	2	5 x 10
		Na_2S	3	60
3	Unhairing	-	-	-
4	Deliming	Air	60	45
		ZA	3	
		Na Bisulfat	1	
		H_2SO_4	0,5	
5	Bating	Air	100	45
		ZA	0,4	
		Oropon	1	
6	Pickling	Air	100	
		Garam	10	10
		Asam formiat	1	4x15
		H_2SO_4	0,5	2x20
7	Tanning	Krom	8	120
8	Basiting	Sodium formiat	2	7x15
		Soda kue	1,75	10
9	Aging			
10	Samying			
11	Shaving			
12	Wet back	Air	150	45
		FA	0,5	
		Wetting agent	0,3	
13	Retanning	Air	150	60
		Krom	3	
14	Netralisasi	Air	200	

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

		Natrium formiat	0,5	20
		Soda kue	0,75	3 x 15
		Resin akrilik	3	45
15	Dyeing	Air	0	
		Sincal MS	2	29
		Dyestuf	3	60
16	Fat liquoring	Air panas (90°)	100	10
		Derminol	3	
		SAF	2	60
		Peramit	0,5	
		LSW	1	
17	Fixing	Air panas (90°)	100	5
		FA	3 (1:10)	6x12
		Sincal DRA	1	30
		Anti jamur	0,01	15
18	Aging			
19	Top dying	Air	200	
		Brown DR	0,5	10
		FA	0,5	10
20	Sammying			
21	Setting cut			
22	Drying			
23	Conditioning			
24	Staking			
25	Pentang			
26	Finishing (colour coat)	Akriklik A777	50	
		Soft binder	150	
		Binder protein	50	
		Pigment	100	
		Wax H	20	
		Air	630	

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

27	Top coat	Lacquar water	250
		Air	750
		Suhu 100	
28	Plating	Waktu 3 detik	
		Tekanan 5 Mpa	

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba**
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 7. Dokumentasi kegiatan

A. Kulit sebelum dilakukan proses penyamakan



A



B



C



D



E

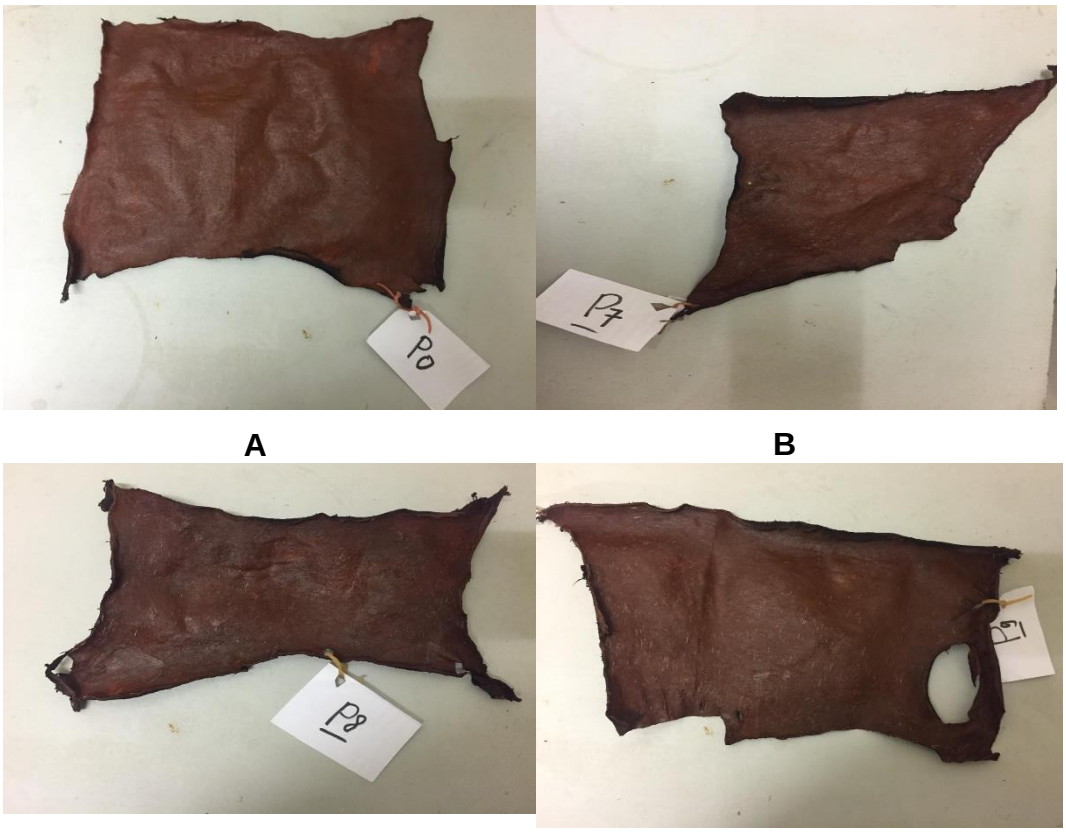


F

Keterangan: Kulit domba segar telah diberi enzim (a), Proses inkubasi kulit (b), Proses cabut rambut pada kulit (c), kulit setelah *unhairing* (d), Proses penyamakan dengan drum (e), Kulit setelah proses penyamakan krom (f).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Pengaruh Perbedaan Waktu Inkubasi Enzim Alkalin Protease Bacillus cereus LS2B pada Proses Buang
Rambut Penyamakan Kulit Domba
Intan Kurnia Ramadhany, Ir. Nanung Agus Fitriyanto., S.Pt., M.Sc., Ph.D., IPM. ; Prof. Ir. Ambar Pertiwiningrum, M.Si
Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

B. Kulit setelah dilakukan proses penyamakan



A **B**

C **D**

Keterangan: Kulit samak perlakuan kontrol (a), kulit samak waktu inkubasi 12 jam (b), kulit samak waktu inkubasi 18 jam (c), kulit samak waktu inkubasi 24 jam (d).