

Pengaruh Penggunaan Enzim Keratinase dari Bakteri *exiguobacterium* sp. Dg1 Pada Proses Buang Rambut Ramah Lingkungan Terhadap Kualitas Limbah Cair

(Effect Of The Keratinase Enzyme from Exiguobacterium Sp. DG1 Bacteria Used In Environmentally Friendly Dehairing Process To Liquid Waste Quality)

Jajang Gumilar¹, Suharjono Triatmojo², Lies Mira Yusiati², Ambar Pertiwinigrum²

¹⁾Mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

²⁾Universitas Gadjah Mada

Email: jgumilar@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kualitas limbah cair yang dihasilkan dari proses buang rambut enzimatis menggunakan enzim keratinase yang berasal dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 dibandingkan dengan kualitas limbah cair yang dihasilkan dari proses buang rambut konvensional sebagai kontrol perlakuan. Kualitas limbah cair didasarkan pada *total solid*, *total volatile solid*, *suspended solid*, dan *volatile suspended solid*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan rancangan acak lengkap menggunakan 20 lembar kulit Domba Garut. Perlakuan terdiri atas penggunaan enzim keratinase sebanyak 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan kontrol perlakuan menggunakan Na_2S sebanyak 2,5%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak empat kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan enzim keratinase menghasilkan kandungan *total solid*, *total volatile solid*, *suspended solid*, dan *volatile suspended solid* berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol perlakuan buang rambut konvensional. Proses buang rambut enzimatis menggunakan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 mampu menurunkan kandungan *total solid* sebesar 60,29 - 68,68%, *total volatile solid* sebesar 60 - 68%, *suspended solid* sebesar 57,22 - 61,76%, dan *volatile suspended solid* sebesar 55,86 - 61,63% dibandingkan dengan proses buang rambut konvensional.

Kata kunci: enzim keratinase, *exiguobacterium* sp. DG1, buang rambut, limbah cair

Abstract

This study aims was to determine differences in the liquid waste quality generated from the dehairing enzymatic process using keratinase enzyme derived from Exiguobacterium sp. DG1 bacteria compared to the effluent quality that was produced by conventional dehairing process as a treatment control. Effluent quality based on the total solid, total volatile solid, suspended solids and volatile suspended solids. This study was conducted experimentally with completely randomized design uses 20 sheets of Garut Sheep skin. The treatment consisted of the enzyme keratinase using as much as 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, and the treatment control using Na_2S of 2.5%. Each treatment was repeated four times. The results showed that the using of enzyme keratinase treatment generate total solid, total volatile solid, suspended solids and volatile suspended solids, that had significant difference ($P < 0.05$) than the waste generated by conventional dehairing treatment. Enzymatic dehairing process using keratinase enzyme from bacteria Exiguobacterium sp. DG1 able to decreased the total solid of 60.29 to 68.68%, total volatile solid at 60-68%, suspended solids of 57.22 to 61.76%, and volatile suspended solids of 55.86 to 61.63% compared with the waste that produced from conventional dehairing process.

Key words: keratinase enzyme, *exiguobacterium* sp. DG1, dehairing, liquid waste

Pendahuluan

Industri kulit serta produk dari kulit merupakan salah satu industri andalan nasional. Bahan baku industri ini berbasis kepada sumber daya alam dalam negeri, sehingga memberikan nilai tambah yang cukup tinggi. Domba Garut merupakan salah satu sumber daya kulit dan produk kulit dari Indonesia diminati oleh pasar luar negeri. Produk yang disukai oleh konsumen luar negeri diantaranya adalah produk sarung tangan, alas kaki, pakaian jadi, jaket, dan garmen kulit lainnya. Produk sarung tangan khususnya sarung tangan golf buatan Indonesia sudah dikenal konsumen internasional terutama konsumen di Amerika, Eropa, dan Jepang. Indonesia menguasai 36,3% pangsa pasar dunia untuk sarung tangan kulit, 15% untuk sepatu olahraga, 1 – 2% sepatu non olahraga, 4,3% produk pakaian jadi, jaket dan garmen kulit, serta 5% untuk produk tas, dompet, ikat pinggang dan lain-lain (Untari *et al.*, 2009). Kulit domba yang memiliki kualitas terbaik di dunia berasal dari domba-domba berambut yang ada di daerah tropis (Tancous *et al.*, 1981), Domba Garut merupakan salah satu domba yang memiliki rambut tebal dan menghasilkan kulit dengan kualitas baik.

Saat ini industri penyamakan kulit menghasilkan produk dengan nilai tambah besar, tetapi limbah yang dihasilkannya dapat mencemari lingkungan. Penyamakan kulit mendegradasi protein dan lemak kulit dengan menggunakan berbagai jenis bahan kimia, hal ini menyebabkan proses pengolahan kulit menghasilkan berbagai jenis limbah. Bahan-bahan kimia yang digunakan hanya sekitar 70% dapat berikatan dengan substansi kulit, selebihnya akan dijumpai di dalam limbah, baik pada limbah padat maupun limbah cair (Triatmojo, 2009).

Saravanabhavan *et al.*, (2007) mengemukakan bahwa limbah penyamakan kulit sebagian besar (70 – 80%) dihasilkan oleh proses pra-penyamakan. Proses buang rambut konvensional menggunakan kapur dan sulfida, berkontribusi sekitar 80% dari total limbah pra penyamakan, menghasilkan gas beracun yaitu hidrogen sulfida serta limbah padat berupa bubur rambut dan kapur (Jaouadi *et al.*, 2009).

Berbagai penelitian dilakukan untuk mengganti kedua zat kimia tersebut, tetapi tidak mungkin mengganti kedua zat kimia tersebut secara keseluruhan (Thanikaivelan *et al.*, 2007). Enzim keratinase merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah limbah yang disebabkan oleh penggunaan natrium sulfida. Enzim ini memiliki sifat yang sangat efektif untuk melisiskan rambut sehingga dapat mengurangi kandungan sulfida pada limbah serta memungkinkan didapat rambut dengan kualitas yang masih baik (Giongo *et al.*, 2007).

Penggunaan enzim keratinase pada proses buang rambut (*hair saving dehairing*) memiliki keuntungan karena memungkinkan memisahkan rambut dan menghindari material semi gelatin bubur rambut, sehingga zat organik pada limbahnya menjadi sedikit, sedangkan proses buang rambut konvensional menggunakan sulfida (*hair destroying*) menyebabkan rambut menjadi hancur sehingga meningkatkan zat organik pada limbahnya. Buang rambut secara enzimatik menghasilkan rambut yang relatif utuh sehingga limbah cairnya memiliki kandungan padatan yang rendah (Triatmojo dan Abidin, 2014). Penelitian ini mempelajari pengaruh penggunaan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 pada proses buang rambut kulit Domba Garut terhadap cemaran pada limbah cair dibandingkan dengan proses buang rambut konvensional secara kimiawi menggunakan Na₂S.

Materi dan Metode

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: enzim kasar keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1, kulit Domba Garut jantan, Ca(OH)₂, Na₂S, air, asam formiat. Peralatan penelitian yang digunakan meliputi: *trial drum* penyamakan kulit, timbangan, kertas pH, termometer, peralatan penyamakan kulit, pisau, gunting, kertas saring, pH meter, oven, tanur, desikator, alat-alat gelas seperti erlenmeyer, corong, *beaker glass*, dan lain-lain.

Penelitian ini dilaksanakan dengan cara sebagai berikut: kulit Domba Garut sebanyak 20 lembar diacak untuk dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing empat lembar. Satu kelompok diberikan

perlakuan proses buang rambut konvensional dengan menggunakan kapur Ca(OH)_2 sebanyak 6% dan Na_2S sebanyak 2,5% (b/b) sebagai kontrol perlakuan. Keempat kelompok lainnya diberikan perlakuan buang rambut enzimatis menggunakan enzim kasar keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 sebanyak 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% (v/b). Masing-masing perlakuan buang rambut enzimatis diberikan Ca(OH)_2 sebanyak 6% dan Na_2S sebanyak 0,25% (b/b) (Thanikaivelan *et al.*, 2005). Persentase dihitung berdasarkan berat kulit mentah.

Penentuan cemaran pada limbah cair mengacu kepada metode yang dikemukakan oleh Tchobanoglous dan Burton (1992). Total solid (TS) dianalisis dengan cara mengevaporasi limbah pada oven. Pelaksanaannya adalah sebagai berikut: cawan *gosh* disiapkan dan dipanaskan pada suhu 600°C menggunakan *muffle furnace* selama 60 menit. Cawan *gosh* didinginkan dan disimpan dalam desikator sampai digunakan. Sampel diambil dan diletakkan pada suhu kamar. Cawan *gosh* kosong ditimbang (TS_B), kemudian dimasukkan sampel sebanyak 20 ml pada cawan *gosh*. Cawan *gosh* berisi sampel tersebut disimpan pada oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Cawan *gosh* berisi sampel dikeluarkan dari oven, didinginkan, kemudian ditimbang (TS_A). Total solid dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Total Solid (mg/l)} = (\text{TS}_A - \text{TS}_B) \times 1000 / \text{sampel (ml)}$$

Volatile Total Solids diukur dengan cara : sampel dimasukkan dalam cawan *gosh* dan ditimbang sebagai berat VTS_A . Sampel dimasukkan ke dalam *muffle furnace* pada suhu 550°C atau 600°C selama 20 sampai 30 menit kemudian dikeluarkan dari *muffle furnace*, didinginkan dan ditimbang sebagai berat akhir (VTS_B). *Volatile total solids* dihitung menggunakan rumus :

$$\text{VTS (mg/l)} = (\text{VTS}_A - \text{VTS}_B) \times 1000 / \text{sample (ml)}$$

Keterangan:

VTS_A = Berat sampel + cawan *gosh* dan *filter* sebelum *ignition* (mg)

VTS_B = Berat sampel + cawan *gosh* dan *filter* setelah *ignition* (mg)

Suspended solid (SS) diukur dengan menggunakan langkah sebagai berikut: diambil sampel limbah sebanyak 50 ml,

disiapkan dan ditempatkan *filter* atau kertas saring tepat di atas corong, kemudian sampel disaring dan ditimbang sebagai berat awal (SS_B). Padatan yang tersaring atau tertahan di *filter* dioven pada suhu 105°C sampai kering atau menguap. Sampel dikeluarkan dari oven, didinginkan dan ditimbang sebagai berat akhir (SS_A). *Suspended solids* dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{SS (mg/l)} = (\text{TSS}_A - \text{TSS}_B) \times 1000 / \text{sampel (ml)}$$

Keterangan :

SS_A = Berat sampel akhir + kertas *filter* cawan *gosh* (mg)

SS_B = Berat cawan *gosh* + kertas *filter* (mg)

Volatile Suspended Solids diukur dengan cara: sampel dimasukkan dalam cawan *gosh* dan ditimbang sebagai berat VSS_A . Sampel dimasukkan ke dalam *muffle furnace* pada suhu 550°C atau 600°C selama 20 sampai 30 menit kemudian dikeluarkan dari *muffle furnace*, didinginkan dan ditimbang sebagai berat akhir (VSS_B). *Volatile suspended solids* dihitung menggunakan rumus :

$$\text{VSS (mg/l)} = (\text{VSS}_A - \text{VSS}_B) \times 1000 / \text{sample (ml)}$$

Keterangan :

VSS_A = Berat sampel + cawan *gosh* dan *filter* sebelum *ignition* (mg)

VSS_B = Berat sampel + cawan *gosh* dan *filter* setelah *ignition* (mg)

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan yang terdiri atas perlakuan buang rambut konvensional sebagai kontrol (P_0) dan penggunaan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 sebanyak 0,5% (P_1), 1% (P_2), 1,5% (P_3), dan 2% (P_4). Pengaruh perlakuan terhadap parameter penelitian diuji menggunakan analisis ragam dan untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan dengan kontrol dilakukan Uji *Dunnett's Test* (Gaspersz, 2006).

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh Penggunaan Enzim Keratinase dari Bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 terhadap Total Solid

Total Solid (TS) merupakan total partikel-partikel padat yang ada pada limbah

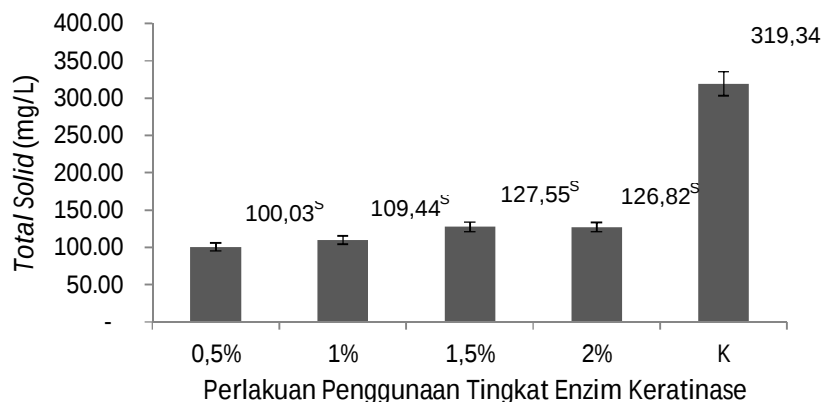
cair, baik yang mengendap maupun yang tersuspensi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan buang rambut enzimatis menggunakan enzim keratinase sebanyak 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% masing-masing menghasilkan TS sebanyak 100,03, 109,44, 127,55, dan 126,82 mg/l, sedangkan perlakuan buang rambut kimiawi menggunakan Na_2S sebanyak 2,5% menghasilkan TS sebesar 319,34 mg/l. Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa semua perlakuan buang rambut enzimatis menghasilkan TS berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan dengan TS kontrol (Gambar 1).

Thanikaivelan *et al.* (2005) mengemukakan bahwa TS untuk proses buang rambut pada umumnya adalah 90 – 200 mg/l, oleh karena itu proses buang rambut enzimatis pada penelitian ini telah sesuai dengan standar tersebut, sedangkan kontrol perlakuan berupa proses buang rambut secara kimiawi menghasilkan TS yang lebih besar dari standar tersebut. Hasil penelitian ini juga menunjukkan telah terjadi penurunan TS antara 60,29% - 68,68%. Hasil ini lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian Thanikaivelan *et al.*, (2004) yang dapat menurunkan TS sebanyak 31%, tetapi lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Saranabhavan *et al.*, 2007, yang dapat menurunkan TS sebanyak 85%. Tingginya nilai TS pada limbah cair pada kontrol perlakuan berupa buang rambut secara kimia menggunakan Na_2S terjadi karena rambut

menjadi hancur seperti bubur, kemudian hancuran rambut tersebut bercampur dengan air sehingga limbah cairnya menjadi pekat, sedangkan pada buang rambut enzimatis rambutnya masih utuh sehingga tidak bercampur dengan air. Hal ini sejalan dengan pendapat Sundararajan *et al.*, (2011) yang menyatakan bahwa buang rambut enzimatis dapat mencabut rambut secara keseluruhan dengan epidermis dan akar rambutnya sehingga beban limbah (*pollution load*) pada limbah cairnya berkurang.

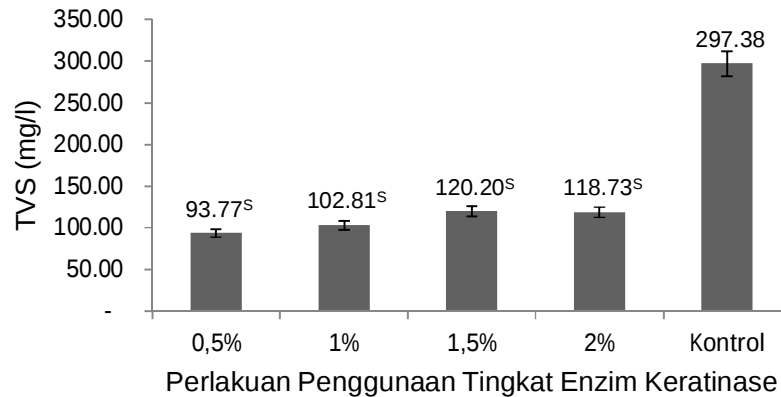
Pengaruh Penggunaan Enzim Keratinase dari Bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 terhadap Total Volatil Solid

Total volatile solid (TVS) merupakan seluruh partikel-partikel padat pada limbah cair yang menguap apabila dipanaskan pada suhu 550°C selama dua jam. Peningkatan penggunaan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 sebanyak 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% pada proses buang rambut menghasilkan kecenderungan peningkatan nilai TVS yaitu sebanyak 93,77, 102,81, 120,20, dan 118,73 mg/l, sedangkan kandungan TVS kontrol perlakuan adalah 297,38 mg/ml. Analisis statistika menunjukkan bahwa semua perlakuan penggunaan enzim keratinase menghasilkan limbah dengan kandungan TVS yang berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol perlakuan buang rambut kimiawi menggunakan 2,5% natrium sulfida (Gambar 2).



Gambar 1. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan *total solid* limbah cair proses buang rambut kulit Domba Garut.

Keterangan: huruf kecil diatas angka menunjukkan signifikansi dibandingkan dengan kontrol perlakuan ($P < 0,05$)



Gambar 2. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan total volatile solid limbah cair proses buang rambut kulit Domba Garut.

Keterangan: huruf kecil diatas angka menunjukkan signifikansi dibandingkan dengan kontrol perlakuan ($P < 0,05$)

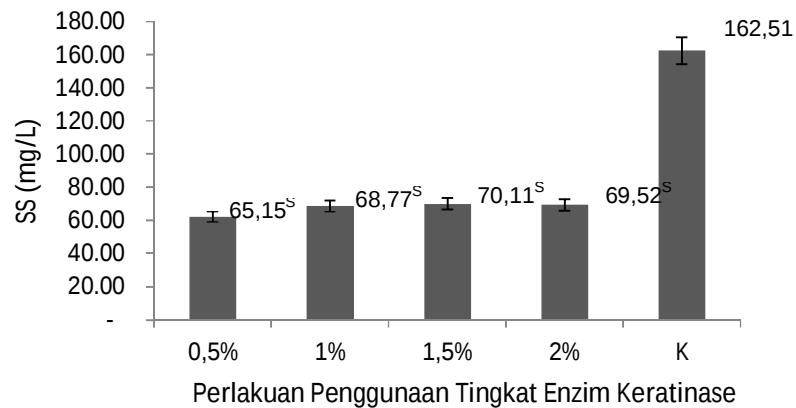
Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan enzim keratinase dari *Exiguobacterium* sp. DG1 dapat menurunkan kandungan TVS pada limbah cair sebesar 60 – 68%, dibandingkan dengan buang rambut secara konvensional menggunakan Na_2S . Kandungan TVS menggambarkan kandungan zat organik pada partikel-partikel padat di dalam limbah cair. Rendahnya nilai TVS pada proses buang rambut secara enzimatik dapat menunjukkan bahwa kandungan zat-zat organik yang ada pada limbah tersebut lebih sedikit dibandingkan dengan proses buang rambut konvensional secara kimiawi. Hal ini sejalan dengan pendapat Gupta dan Ramnani (2006) bahwa penggunaan enzim keratinase pada proses buang rambut (*hair saving dehairing*) memiliki keuntungan karena memungkinkan dapat memisahkan rambut dan menghindari terbentuknya bubur rambut, sehingga zat organik pada limbahnya menjadi lebih sedikit.

Pengaruh Penggunaan Enzim Keratinase dari Bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 terhadap *Suspended Solid*

Suspended Solid (SS) merupakan jumlah padatan yang tersuspensi pada limbah cair. Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 3, menunjukkan bahwa perlakuan enzimatik menggunakan enzim keratinase yang berasal dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1

sebanyak 0,5% menghasilkan SS sebesar 62,15 mg/l, sedangkan penggunaan enzim keratinase sebanyak 1%, 1,5%, dan 2% masing-masing menghasilkan SS sebanyak 68,77, 70,11, dan 69,52 mg/l, dan buang rambut kimiawi sebagai kontrol perlakuan menghasilkan SS sebanyak 162,51 mg/l. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa semua perlakuan penggunaan enzim keratinase menghasilkan limbah dengan kandungan SS yang berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol perlakuan.

Lebih kecilnya kandungan SS pada limbah cair buang rambut secara enzimatik menggunakan enzim yang berasal dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 dibandingkan dengan buang rambut secara kimiawi dapat terjadi karena penggunaan zat kimia Na_2S pada proses buang rambut menjadikan rambut hancur seperti bubur, sehingga banyak partikel kecil yang berasal dari penghancuran rambut tersebut tersuspensi pada limbah cairnya, sedangkan penggunaan enzim keratinase pada proses buang rambut menyebabkan rambut tercabut secara utuh, sehingga partikel yang tersuspensi pada limbah cairnya juga tidak terlalu banyak dibandingkan dengan kontrol perlakuan. Hal ini sejalan dengan pendapat Thanikaivelan *et al.* (2005) yang mengemukakan bahwa penggunaan enzim pada proses buang rambut dapat mengurangi *total suspended solid*.



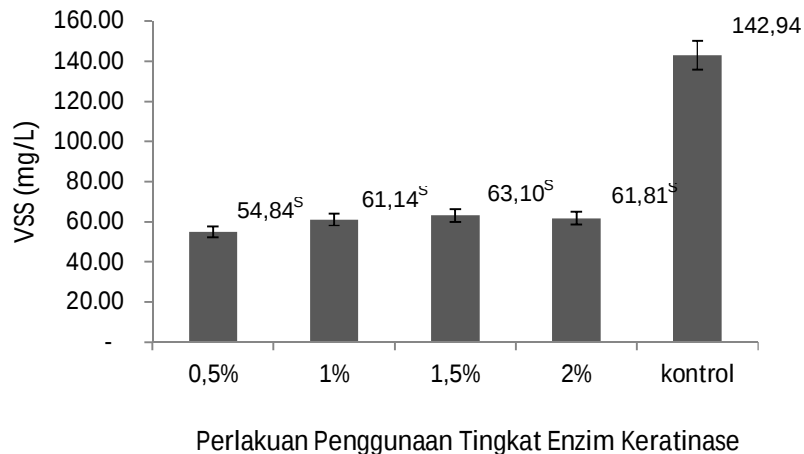
Gambar 3. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan *suspended solid* limbah cair proses buang rambut kulit Domba Garut.

Keterangan: huruf kecil diatas angka menunjukkan signifikansi dibandingkan dengan kontrol perlakuan ($P < 0,05$).

Pengaruh Penggunaan Enzim Keratinase dari Bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 terhadap Volatil Suspended Solid

Volatil suspended solid (VSS) merupakan zat organik dalam bentuk partikel-partikel tersuspensi pada limbah cair yang menguap apabila dipanaskan pada suhu 550°C selama dua jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan enzim keratinase yang berasal dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 sebesar 0,5% menghasilkan kandungan VSS sebanyak 54,84 mg/l sedangkan penggunaan enzim keratinase sebanyak 1%; 1,5%; dan 2%

masing-masing menghasilkan limbah cair dengan kandungan VSS sebesar 61,14, 63,10, dan 61,81 mg/l. Kandungan VSS kontrol mencapai 142,94 mg/l. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa semua tingkat penggunaan enzim keratinase pada proses buang rambut, menghasilkan VSS yang berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih sedikit dibandingkan dengan VSS yang dihasilkan dari kontrol perlakuan menggunakan Na_2S sebanyak 2,5% (Gambar 4). Penurunan kandungan VSS mencapai 55,86% sampai 61,63%.



Gambar 4. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan volatile suspended solid limbah cair proses buang rambut kulit Domba Garut.

Keterangan: huruf kecil diatas angka menunjukkan signifikansi dibandingkan dengan kontrol perlakuan ($P < 0,05$).

Rendahnya kandungan VSS pada limbah cair proses buang rambut secara enzimatis menggunakan enzim keratinase menunjukkan bahwa kandungan partikel-partikel bahan organik yang tersuspensi lebih sedikit dibandingkan dengan limbah cair dari proses buang rambut secara kimiawi, hal ini terjadi karena pencabutan rambut secara keseluruhan dengan akar rambutnya pada proses buang rambut secara enzimatis menyebabkan rambut terpisah dengan limbah cairnya sehingga beban cemaran limbah cairnya pun mengalami pengurangan, sedangkan buang rambut secara kimia menggunakan Na_2S “hair destroying” menyebabkan rambut hancur menjadi bubur dan bercampur dengan limbah cair sehingga kandungan zat-zat organik pada limbah cairnya menjadi tinggi (Macedo *et al.*, 2005).

Kesimpulan

Berdasarkan uraian pada hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa penggunaan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 pada proses buang rambut Domba Garut menghasilkan kualitas limbah cair berupa *total solid*, *total volatile solid*, *suspended solid*, dan *volatile suspended solid* yang lebih rendah dibandingkan dengan kualitas limbah cair yang dihasilkan dari proses buang rambut konvensional menggunakan Na_2S sebanyak 2,5%. Penggunaan enzim keratinase dari bakteri *Exiguobacterium* sp. DG1 juga menghasilkan penurunan beban cemaran limbah cair dibandingkan dengan proses buang rambut secara kimiawi menggunakan Na_2S sebanyak 2,5%, yaitu *total solid* 60,29 - 68,68%, *total volatile solid* 60 - 68%, *suspended solid* 57,22 - 61,76%, dan *volatile suspended solid* 55,86 - 61,63%.

Daftar Pustaka

- Gaspersz V. 2006. Teknik analisis aalam penelitian percobaan. Jilid 1. Cet. ke 3. Tarsito. Bandung. 136 - 140.
- Giongo, J.L., F. Oise, S. Lucas, F. Casarin, P. Hebs, and A. Brandelli. 2007. Keratinolitik proteases of *Bacillus* species isolatd from the Amazon basin showing remarkable de-hairing activity. *World J. Microbiol, Biotechnol.* 23: 375 - 382.
- Gupta R., and P. Ramnani. 2006. Mikroba keratinases and their prospective applications: an overview. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70: 21 - 33.
- Jaouadi, B., S. E. Chaabouni, M.B. Ali, E.B. Messaoud., B. Naili, A. Dhoubi, and S. Bejar. 2009. Excellent laundry detergent compatibility and high dehairing ability of the *Bacillus pumilus* cbs alkalin proteinase (SAPB). *Biotechnol. Bioprocess. Eng.* 14: 503 - 512.
- Macedo, A. J., W.O. Beys Da Silva, R. Gava, D. Driemier, J. A. P. Henriques, and C. Termigonu. 2005. Novel keratinase from *Bacillus subtilis* s14 exhibiting remarkable dehairing capabilities. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 594 - 596.
- Saravanabhavan, S., J.R. Rao, B.U. Nair, and T. Rasamani. 2007. An eco-efficient rationalized leather process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 82: 971 - 984.
- Sundararajan, S., C.N. Kannan, and S. Chittibabu. 2011. Alkaline protease from *Bacillus cereus* VITSN04: Potential application as a dehairing agent. *J. Biosci. Bioeng.* 111 (2): 128 - 133.
- Tancous, J. J., W. T. Roddy, and O. Flahtery. 1981. Defek-Defek Pada kulit Mentah dan Kulit Samak. Terjemahan. R. M. Judoamidjodjo. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Tchobanoglous, G. and F. L. Burton, 1992. Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, and Reuse. Third Ed. Mc Graw-Hill Inc. Toronto. 71 - 83.

- Thanikaivelan, P., J.R. Rao, B.U. Nair, and T. Ramasami. 2004. Progress and recent trends in biotechnological methods for leather. *Trends Biotechnol.* 22 (4): 181 - 188.
- Thanikaivelan, 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.
- Thanikaivelan P., C.K. Bharath, S. Saravanabhavan, J.R. Rao, B. Chandrasekaran, N.K. Chandrababu, and B.U. Nair. 2007. Integrated hair removal and fiber opening process using mixed enzymes. *Clean Techn. Environ. Policy.* 9: 61 – 68.
- Triatmojo, S. 2009. Implementasi Produksi Bersih dalam Industri Penyamakan Kulit Guna Peningkatan Efisiensi dan Pencegahan Pencemaran Lingkungan. Seminar Sehari, Dies Natalis ke 51, Akademi Teknologi Kulit, Yogyakarta. 2.
- Triatmojo S., M. Z. Abidin. 2014. Penyamakan Kulit Ramah Lingkungan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 99 – 101.
- Untari, S., Emiliana, Sulistiyah Wrd, S. Sutyasmi, dan J. Susilo. 2009. Mapping Industri Kreatif Produk Kulit di Pulau Jawa. Program Hibah Diknas 2009. Balai Besar Karet Kulit dan Plastik, Yogyakarta. 1 - 3.