



**HIDROLISIS KULIT KOPI OLEH *Aspergillus* sp. VTM5  
SERTA PEMANFAATAN HIDROLISATNYA SEBAGAI  
MEDIUM PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL  
*Saccharomyces cerevisiae***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Dwi Nur Hanifah Aprilia**  
**141810401018**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**HIDROLISIS KULIT KOPI OLEH *Aspergillus* sp. VTM5  
SERTA PEMANFAATAN HIDROLISATNYA SEBAGAI  
MEDIUM PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL  
*Saccharomyces cerevisiae***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Dwi Nur Hanifah Aprilia  
141810401018**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua saya, Alm Ayahanda H. Rachmadi Ridhollah dan Ibunda Astini, atas segala dukungan dan doa yang terus terpanjat dalam setiap sujudnya;
2. kakak saya Eko Rachmad Purwadi dan seluruh keluarga atas dukungan dan motivasinya;
3. guru-guru dan dosen-dosen sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi, atas bimbingannya;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

**MOTTO**

Musuh yang paling berbahaya di atas dunia ini adalah penakut dan bimbang.  
Teman yang paling setia, hanyalah keberanian dan keyakinan yang teguh.

(Andrew Jackson)\*)

Bersikaplah kukuh seperti batu karang yang tidak putus-putus-nya dipukul ombak.  
Ia tidak saja tetap berdiri kukuh, bahkan ia menenteramkan amarah ombak dan gelombang itu.

(Marcus Aurelius)\*\*)

---

\*) Andrew Jackson. 1839. *Truth is mighty and will always ultimately prevail-it is the attribute of duty*: South Carolina.

\*\*\*) Marcus Aurelius. 1915. *Meditation: Living, Dying and the Good Life*.  
Translated by Gregory Hays.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Nur Hanifah Aprilia

Nim : 141810401018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Hidrolisis Kulit Kopi Oleh *Aspergillus* sp. VTM5 Serta Pemanfaatan Hidrolisatnya Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Penelitian ini merupakan proyek penelitian yang dibiayai oleh Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Juli 2018

Yang menyatakan

Dwi Nur Hanifah Aprilia

NIM 141810401018

**SKRIPSI**

**HIDROLISIS KULIT KOPI OLEH *Aspergillus* sp. VTM5  
SERTA PEMANFAATAN HIDROLISATNYA SEBAGAI  
MEDIUM PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL  
*Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

Dwi Nur Hanifah Aprilia  
NIM 141810401018

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M. Kes.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Hidrolisis Kulit Kopi Oleh *Aspergillus* sp. VTM5 Serta Pemanfaatan Hidrolisatnya Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas  
Jember

**Tim Penguji:**

Ketua

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.  
NIP 196805031994011001

Anggota II

Prof.Ir.Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc., D.Agr.Sc.  
NIP 19551022198212001

Anggota I

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.  
NIP 196008161989021001

Anggota III

Drs. Siswanto, M.Si.  
NIP 196012161993021001

Mengesahkan

Dekan

Drs. Sujito, Ph.D  
196102041987111001

## RINGKASAN

**Hidrolisis Kulit Kopi Oleh *Aspergillus* sp. VTM5 Serta Pemanfaatan Hidrolisatnya Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae***; Dwi Nur Hanifah Aprilia; 141810401018; 2018; 45 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi selain teh dan cokelat. Produksi kopi di Indonesia mencapai 600.000 ton per tahun dan lebih dari 80% berasal dari perkebunan rakyat. Tingginya produksi kopi di Indonesia juga diikuti oleh peningkatan jumlah limbah kulit kopi yang belum dimanfaatkan secara optimal sehingga mencemari lingkungan karena menurunkan kualitas air sungai, menimbulkan bau tidak sedap dan mengganggu estetika. Kulit kopi memiliki kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi terutama selulosa. Lignoselulosa mengandung tiga komponen penyusun utama, yaitu selulosa (63% berat), hemiselulosa (2.3% berat), dan lignin (17% berat). Tingginya kadar selulosa pada polisakarida dapat dihidrolisis menjadi monomer – monomer gula sederhana. Hidrolisis selulosa merupakan pemecahan senyawa selulosa menjadi monomer – monomer gula sederhana dengan menggunakan enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang selulolitik. Salah satu kapang selulolitik yaitu *Aspergillus* sp. yang merupakan jenis kapang dengan kemampuannya dalam menghasilkan berbagai macam enzim seperti selulase, amylase, dan aminoglukosidase. *Aspergillus* sp. memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase tertinggi dibandingkan dengan kapang jenis lainnya. Hidrolisis enzimatik dengan menggunakan isolat kapang *Aspergillus* sp. ini diharapkan mampu menghasilkan gula reduksi maksimal melalui proses enzimatik, sehingga gula hasil hidrolisis dapat dimanfaatkan sebagai alternatif media pertumbuhan.

Protein sel tunggal (PST) merupakan protein yang berupa sel kering atau biomassa renik, seperti kapang, khamir, bakteri atau ganggang yang dapat



digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu mikrob PST yang sedang dikembangkan. Khamir tersebut tergolong kedalam kelas Ascomycetes yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi sehari – hari, selain itu *Saccharomyces cerevisiae* mengandung vitamin yang merupakan vitamin B kompleks. *Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell” dan mampu berkembang biak didalam substrat yang mengandung gula sederhana seperti glukosa maupun gula kompleks disakarida seperti sukrosa. Oleh karena itu, hidrolisat kulit kopi dengan kandungan gula reduksinya diharapkan mampu digunakan sebagai media tumbuh alternatif *Saccharomyces cerevisiae*.

Penelitian ini meliputi persiapan penelitian, hidrolisis kulit kopi oleh kapang *Aspergillus* sp. VTM5, dan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada hidrolisat kulit kopi dengan variasi konsentrasi dan waktu inkubasi. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa hidrolisis kulit kopi menggunakan kapang *Aspergillus* sp. VTM5 menghasilkan konsentrasi gula reduksi yaitu 446.6 µg/ml. Pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* paling tinggi yaitu pada konsentrasi tanpa pengenceran yaitu sebesar  $2.9 \times 10^6$  µg/mL di jam ke-48 dan diikuti dengan penurunan gula reduksi. Dengan demikian, *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh pada media hidrolisat kulit kopi.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan limpahan rahmat, nikmat serta hidayah-Nya sehinggal penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Hidrolisis Kulit Kopi Oleh *Aspergillus* sp. VTM5 Serta Pemanfaatan Hidrolisatnya Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu prasyarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. selaku dosen pembimbing utama yang dengan penuh kesabaran telah meluangkan waktu, pikiran, saran, serta motivasi dalam penyusunan skripsi ini;
2. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku dosen pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyusunan skripsi ini;
3. Prof.Ir.Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc., D.Agr.Sc dan Drs. Siswanto, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang sangat membangun dalam penyusunan skripsi ini;
4. Dr. Retno Wimbaningrum, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang dengan penuh kesabaran telah meluangkan waktu, memberikan motivasi dan semangat yang tiada hentinya selama penyusunan skripsi ini;
5. bapak dan ibu dosen, staff akademik, serta teknisi laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, atas segala ketulusan dan keikhlasannya dalam membantu selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini;
6. Alm ayahanda H. Rachmadi Ridhollah, ibunda astini, dan kakakku Eko Rachmad P serta seluruh keluarga yang telah memberikan semangat dan doa serta dukungan hingga terselesaikannya skripsi ini;
7. rekan penelitian Laboratorium Mikrobiologi Syafiq Ubaidillah, Putri Rahardian, Fianda Deviyastuti, Khilia Nisa’, Zunairoh Nidaan Khofiyah,

Siti erlinkha, Nurhalimah, Eka Yanuarti, Dela Dwi, Nur Amalina, Aria Fransisca, Laili Nur Uswatun , Ratna Safitri, Azizah. Desy Lutfi serta sahabatku Dini Atika Novianti, Nita Nur Jannah, Ayu Puspitasari, Linda Yanti, Rifqi, Ummuh Salamah, Dewi Rohmawati, Lisma, Linda Budi terima kasih atas segala semangat dan kebersamaannya;

8. segenap teman – teman Biologi 2014, KKN kelompok 90, Kosan KPM, dan Kosan Letter U terima kasih atas keceriaan, motivasi dan dukungannya selama ini;
9. serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 31 Juli 2018

Penulis

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan .....	3
1.5 Manfaat .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Kulit Kopi .....	4
2.2 Selulosa .....	7
2.3 <i>Aspergillus</i> sp.....	9
2.4 Enzim Selulase .....	11
2.5 Protein Sel Tunggal <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15

3.3 Prosedur Penelitian.....	15
3.3.1 Persiapan Penelitian .....	17
3.3.2 Hidrolisis Kulit Kopi Oleh <i>Aspergillus</i> sp. VTM5 .....	21
3.3.3 Pertumbuhan PST <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Pada Media Hasil Hidrolisat Kulit Buah Kopi .....	22
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	24
4.1 Kepadatan Jumlah Spora <i>Aspergillus</i> sp. VTM5 pada Media Agar Alkali Kopi 1% .....	24
4.2 Optimasi Hidrolisis Kulit Kopi oleh <i>Aspergillus</i> . sp VTM5.....	25
4.3 Hasil Hidrolisis Kulit Kopi oleh <i>Aspergillus</i> sp. VTM5.....	27
4.4 Optimasi Pertumbuhan PST <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Pada Media Hasil Hidrolisat Kulit Kopi .....	27
4.5 Analisis Konsentrasi Sisa Gula Reduksi Hidrolisat Kulit Kopi.....	30
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	32
5.1 Kesimpulan .....	32
5.2 Saran.....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	33
<b>LAMPIRAN</b> .....	38

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Komponen Organik Kulit Kopi.....	6
2.2 Pemanfaatan Limbah Kopi.....	7
2.3 Perbedaan Komposisi Kelompok Utama Mikroorganisme .....	13
4.1 Analisis Gula Reduksi Hasil Hidrolisat Kulit Kopi .....	27

**DAFTAR GAMBAR**

2.1 a) Morfologi Kopi Robusta b) Penampang Melintang Buah Kopi .....	4
2.2 Limbah Kulit Kopi Setelah Proses Pengupasan (Pulping).....	6
2.3 Struktur Selulosa .....	8
2.4 a) Gambar Mikroskopis <i>Aspergillus niger</i> b) Gambar mikroskopis <i>Aspergillus</i> sp. VTM5 .....	10
2.5 Mekanisme Hidrolisis Selulosa Oleh Enzim Selulase .....	11
2.6 a) Sel Tunggal <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Perbesaran 10x40 .....	14
b) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . .....	14
4.1 Kepadatan Jumlah Spora <i>Aspergillus</i> sp. VTM5 Pada Media Agar Alkali Kopi 1% .....	24
4.2 Optimasi Hidrolisis Kulit Kopi Oleh <i>Aspergillus</i> sp. VTM5.....	26
4.3 Optimasi Pertumbuhan PST <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Pada Media Hasil Hidrolisat Kulit Kopi .....	29
4.4 Analisis Konsentrasi Sisa Gula Reduksi Hidrolisat Kulit Kopi.....	31

DAFTAR LAMPIRAN

A. Komposisi Media .....	38
A.1 Komposisi Media Potato Dextrose Agar (PDA).....	38
A.2 Komposisi Media Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD).....	38
A.3 Komposisi Media Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPDA).....	38
B. Komposisi Reagen Somogyi – Nelson .....	39
B.1 Komposisi Reagen Somogyi dalam 1 liter .....	39
B.2 Komposisi Reagen Nelson dalam 1 liter .....	39
C. Standart Glukosa .....	39
C.1 Nilai Absorbansi Standart Glukosa .....	39
C.2 Kurva Standart Glukosa .....	40
D. Pertumbuhan <i>Aspergillus</i> sp. (VTM5) .....	40
D.1 Jumlah Spora <i>Aspergillus</i> sp .....	40
E. Hasil Optimasi Waktu Hidrolisis Kulit Kopi.....	41
E.1 Hasil Optimasi Waktu Hidrolisis Kulit Kopi oleh <i>Aspergillus</i> sp. VTM41	
F. Hasil Hidrolisis Kulit Kopi .....	41
F.1 Hasil Hidrolisis Kulit Kopi oleh <i>Aspergillus</i> sp. VTM5.....	41
G. Standart Populasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	42
G.1 Hasil Standart Populasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	42
G.2 Kurva Standart Populasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	42



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi selain teh dan cokelat. Indonesia merupakan negara produsen kopi terbesar ketiga didunia setelah Brazil dan Vietnam dengan menyumbang sekitar 6% produksi total kopi dunia. Produksi kopi di Indonesia mencapai 600.000 ton pertahun dan lebih dari 80% berasal dari perkebunan rakyat (Pertwi, 2016), selain menjadi produsen Indonesia juga merupakan negara pengekspor kopi terbesar keempat dengan pangsa pasar mencapai 11% di dunia (Raharjo, 2013). Tingginya produksi kopi di Indonesia juga berakibat pada tingginya jumlah limbah kulit kopi. Tanaman kopi dimanfaatkan untuk diambil buahnya saja, sehingga kulit buah kopi menjadi salah satu limbah terbesar di sektor pertanian. Dalam penelitian sebelumnya telah dilakukan beberapa pemanfaatan kulit kopi untuk mengurangi jumlah limbah yang semakin meningkat. Pemanfaatan kulit kopi diantaranya digunakan sebagai ameliorant tanah untuk meningkatkan daya dukung tanah bagi pertumbuhan dan produksi tanaman (Pujiyanto, 2007), pembuatan bioetanol (Murni *et al.*, 2015), sebagai bahan bakar bentuk bricket (Khusna & Susanto, 2015), dan sebagai kompos (Valentiah *et al.*, 2015). Namun beberapa pemanfaatan tersebut belum mampu memberikan hasil yang optimal. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemanfaatan limbah kulit kopi untuk mengurangi jumlah limbah dan memberikan nilai tambah.

Kulit kopi mengandung sekitar 63% selulosa, 17% lignin, 11.5% protein, 2.3% hemiselulosa, 1.80 – 8.56% tannin, 6.5% pectin, 12.4% gula reduksi, 2.0% gula non reduksi dan 1.3% caffeine. Selain itu kulit kopi juga mengandung senyawa toksik terhadap lingkungan di antaranya kafein, tannin, dan polyphenol apabila dibuang begitu saja (Corro *et al.*, 2013).

Tingginya kandungan selulosa dalam kulit kopi dapat dihidrolisis secara enzimatis dengan menggunakan kapang selulolitik. Beberapa kapang memiliki kemampuan menguraikan senyawa selulosa menjadi senyawa yang lebih

sederhana yang dapat dimanfaatkan oleh organisme yang lain (Subowo, 2015). Selain itu kapang mampu memanfaatkan senyawa organik dan anorganik yang digunakan sebagai sumber nutrisi dan menghasilkan berbagai macam enzim yang memiliki sifat biokimia yang dapat diaplikasikan dalam bioteknologi (Guimeraes *et al.*, 2006).

*Aspergillus* sp. VTM5 merupakan salah satu jenis kapang yang tergolong kedalam genus *Aspergillus*. *Aspergillus* merupakan anggota kelas Deutoromycetes yang banyak ditemukan di tanah, air, dan makanan yang membusuk. Genus *Aspergillus* memiliki kelebihan dibandingkan dengan kapang jenis lainnya karena kemampuannya menghasilkan enzim selulase dalam jumlah yang sangat tinggi (Soeka & Sastraadmadja, 1992). Menurut Yuniar, kapang VTM5 mampu menghasilkan enzim selulase tertinggi yaitu pada medium CMC 0.5% pada PH 7 dan suhu 37<sup>0</sup>C, selain itu kapang tersebut mampu menghasilkan gula reduksi pada medium CMC sebesar 7.72 µg/mL yang berasal dari aktivitas selulase. Aktivitas selulase menyatakan kemampuan enzim dalam menguraikan selulosa menjadi gula reduksi (Yuniar, 2013). Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas untuk mengoptimalkan pemanfaatan limbah padat kulit buah kopi perlu dilakukan suatu penelitian tentang hidrolisis kulit buah kopi oleh *Aspergillus* sp VTM5 dan selanjutnya hasil hidrolisatnya digunakan sebagai media tumbuh bagi PST *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimanakah kemampuan *Aspergillus* sp. VTM 5 dalam menghidrolisis limbah kulit kopi dan pemanfaatan hasil hidrolisatnya sebagai medium pertumbuhan PST *Saccharomyces cerevisiae*?

### 1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada hidrolisis limbah kulit kopi oleh inokulum *Aspergillus* sp. VTM 5 dengan analisis gula reduksi, selanjutnya hidrolisatnya dijadikan sebagai media tumbuh PST *Saccharomyces cerevisiae*. Adapun penentuan parameter pertumbuhan meliputi konsentrasi dan waktu optimum untuk menghasilkan biomassa *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Aspergillus* sp. VTM5 dalam menghidrolisis limbah kulit kopi dan pemanfaatan hasil hidrolisatnya sebagai media pertumbuhan PST *Saccharomyces cerevisiae*.

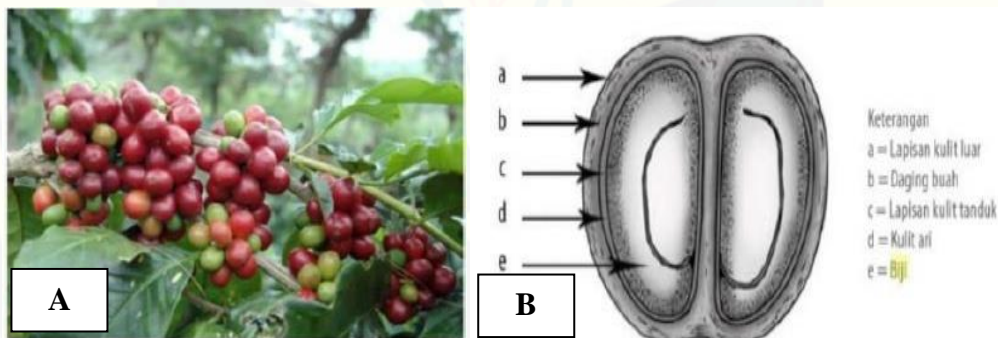
### 1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat berupa informasi ilmiah mengenai pemanfaatan limbah kulit kopi yang dapat digunakan untuk meningkatkan nilai guna dari limbah kulit kopi yaitu sebagai medium tumbuh PST *Saccharomyces cerevisiae*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kulit Kopi

Kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi selain teh dan cokelat. Indonesia merupakan negara produsen kopi terbesar ketiga didunia setelah Brazil dan Vietnam dengan menyumbang sekitar 6% produksi total kopi dunia. Produksi kopi di Indonesia mencapai 600.000 ton pertahun dan lebih dari 80% berasal dari perkebunan rakyat (Pertwi, 2016), selain menjadi negara produsen kopi terbesar, Indonesia juga merupakan negara pengeksport kopi terbesar keempat dengan pangsa pasar mencapai 11% di dunia (Pertwi, 2016). Buah kopi terdiri atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas 3 bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp), dan lapisan kulit tanduk (endocarp) yang keras dan tipis (Asti, 2015). Daging buah yang telah matang mengandung lendir dan senyawa gula. Kulit tanduk buah kopi memiliki struktur agak keras dan membungkus biji kopi. Biji kopi tersusun atas (1) Kulit ari; (2) Lembaga; (3) Celah atau center cut (Asti, 2015).



Gambar 2.1: a) Morfologi Kopi Robusta ( Asti, 2015) dan b) Penampang melintang buah kopi (Asti, 2015).

Klasifikasi *Coffea robusta* Lindl. Ex De Will menurut Sulistyningtyas (2017), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Subkindom : Tracheobionta  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Sub Kelas : Asteridae  
Ordo : Rubiales  
Famili : Rubiaceae  
Genus : Coffea  
Spesies : *Coffea robusta* Lindl.Ex De Will

Buah kopi biasanya diolah melalui 2 cara yaitu pengolahan secara basah (wet process) dan kering (dry process) (Sulistyningtyas, 2017). Pengolahan kopi secara basah akan menghasilkan limbah padat berupa kulit buah pada proses pengupasan kulit buah (pulping) dan kulit tanduk pada saat penggerbusan (hulling). Kulit buah (pulp) kopi pada umumnya ditumpuk disekitar lokasi pengolahan selama beberapa bulan. Limbah kulit kopi hasil pengolahan basah pada umumnya belum dimanfaatkan secara optimal sehingga mencemari lingkungan karena menurunkan kualitas air sungai, menimbulkan bau tidak sedap dan mengganggu estetika (Pujiyanto, 2007).



Gambar 2.2: Limbah Kulit Kopi setelah proses pengupasan (pulping) (Sumber: Pertiwi, 2016).

Kulit kopi mengandung senyawa selulosa yang sangat tinggi yaitu sekitar 63%. Struktur biomassa selulosa merupakan struktur yang kompleks, oleh karena itu biomassa selulosa merupakan material yang sulit didegrasi dan dikonversi (Murni *et al.*, 2015), selain itu kulit kopi juga mengandung C-organik, nitrogen, fosfor, kalium, dan beberapa unsur hara seperti Ca, Mg, Fe, Cu, dan Zn (Pujiyanto, 2007). Komponen – komponen dalam kulit buah kopi ditunjukkan dalam Tabel 2.1

Tabel 2.1 Komponen organik kulit kopi (%)

No.	Komponen	Kadar (%)
1.	Selulosa	63
2.	Lignin	17
3.	Protein	11.5
4.	Hemiselulosa	2.3
5.	Tannin	1.80 – 8.56
6.	Pektin	6.5
7.	Gula reduksi	12.4
8.	Gula non reduksi	2.0
9.	Kafein	1.3

Sumber : Corro *et al.*, 2013.

Limbah kulit kopi merupakan biomassa yang sangat berpotensi untuk dimanfaatkan di masa depan. Berikut beberapa pemanfaata kulit kopi yang pernah dilakukan di Indonesia disajikan pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Pemanfaatan limbah kulit kopi

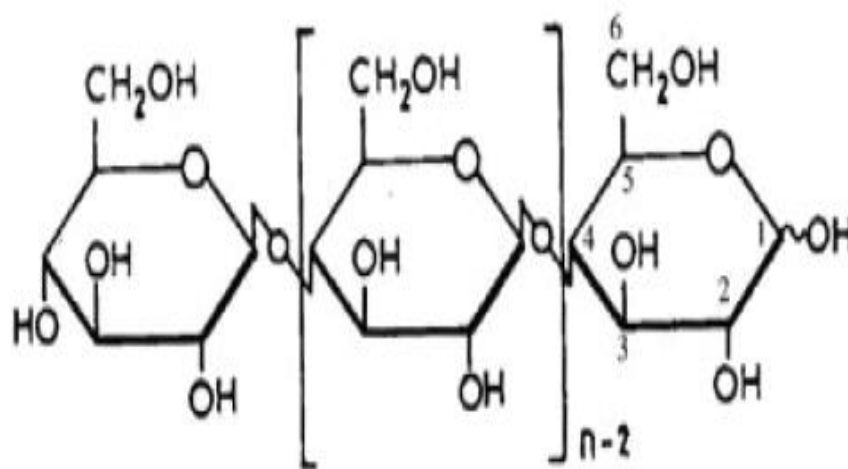
Pemanfaatan	Keterangan	Referensi
Sebagai ameliorant tanah	Pemanfaatan Kulit Buah Kopi dan Bahan Mineral Sebagai Amelioran Tanah Alami	Pujiyanto, 2007
Bioetanol	Optimasi Proses Bioetanol Dari Kulit Kopi Dengan Menggunakan Proses Hidrolisis Vibrous Bed Bioreaktor	Murni <i>et al.</i> , 2015
Bahan bakar bentuk bricket	Pemanfaatan Limbah Padat Kopi Sebagai Bahan Bakar Alternatif Dalam Bentuk Bricket Berbasis Biomass	Khusna & Susanto, 2015
Kompos	Aplikasi Kompos Kulit Kopi Untuk Perbaikan Sifat Kimia dan Fisika Tanah Inceptisol Serta Meningkatkan Produksi Brokoli	Valentiah <i>et al.</i> , 2015

## 2.2 Selulosa

Selulosa merupakan senyawa yang memiliki rumus kimia  $(C_6H_{10}O_5)_n$  yang merupakan material penyusun jaringan tumbuhan. Dalam senyawa ini banyak ditemukan melimpah, dan produksi setiap tahunnya mencapai  $100 \times 10^9$  ton. Senyawa ini cukup resistant dan sulit terdekomposisi. Sektor pertanian merupakan salah satu sektor yang menghasilkan berbagai macam limbah yang mengandung selulosa seperti jerami padi, batang jagung, batang dan daun ubi jalar, batang dan daun kacang-kacangan. (Subowo, 2015).

Selulosa terdiri atas unit monomer D-glukosa yang terikat melalui ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik. Gugus fungsional dari rantai selulosa adalah gugus hidroksil. Gugus  $-OH$  ini dapat berinteraksi satu dengan yang lainnya atau dengan gugus –

O,-N,-S dengan membentuk ikatan hidrogen. Ikatan -H juga terjadi antara gugus -OH selulosa dengan air. Struktur rantai selulosa distabilkan oleh ikatan hidrogen yang kuat disepanjang rantai. Di dalam selulosa alami yang berasal dari tanaman, rantai selulosa diikat bersama-sama membentuk mikrofibril yang sangat terkristal (highly crystalline) dimana setiap rantai selulosa diikat bersama-sama dengan ikatan hidrogen (Sitorus, 2011).



Gambar 2.3: Struktur Selulosa (Putera, 2012).

Dalam selulosa tersintesis sebagai molekul rantai lurus dari residu glukosil, sekitar 30 molekul individu glukosa bergabung membentuk unit yang lebih besar yang dikenal dengan nama fibril dasar (protofibril). Unit ini bergabung lagi membentuk unit yang lebih besar yang dikenal dengan mikrofibril. Kemudian mikrofibril bergabung membentuk serat selulosa. Serat selulosa memiliki karakteristik serat yang cukup halus, memiliki struktur linear, memiliki ikatan hidrogen intramolekuler, sehingga selulosa sulit untuk terdekomposisi tanpa bantuan bahan kimia atau enzim. (Sitorus, 2011).

Selulosa memiliki sifat fisik dan kimia. Sifat fisik dari senyawa selulosa ialah (Putera, 2012).

- a. Dapat terdegradasi oleh hidrolisa, oksidasi, fitokimia, maupun secara mekanis



- b. Tidak larut dalam air maupun pelarut organik, namun sebagian larut dalam larutan alkali
- c. Dalam keadaan kering, selulosa bersifat higroskopis (baik dalam menyerap air), keras. Sedangkan dalam keadaan banyak air, maka selulosa bersifat lunak. Jadi fungsi air adalah sebagai pelarut
- d. Selulosa dalam bentuk kristal memiliki sifat yang lebih kuat dibandingkan dengan bentuk amorf.

### 2.3 *Aspergillus* sp.

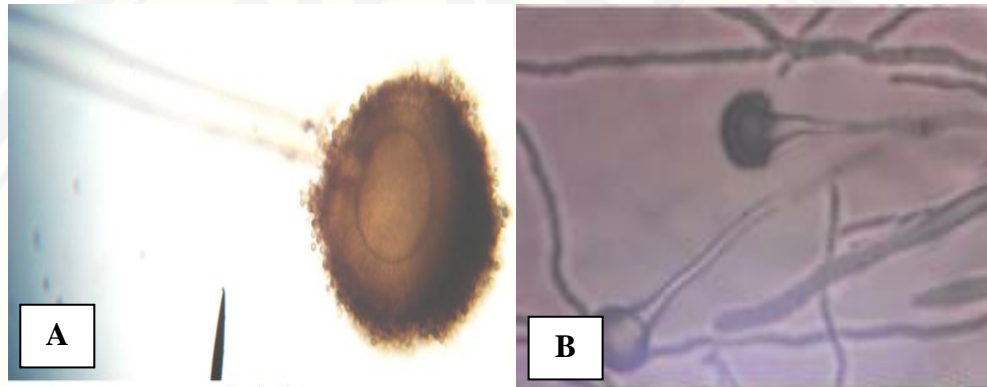
*Aspergillus* sp. merupakan salah satu jenis kapang yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan berbagai macam enzim seperti amylase, selulase dan aminoglukosidase. Kapang ini banyak dimanfaatkan dalam industri asam organik, fermentasi sake, dan pembuatan protein sel tunggal (Naiola, 2008). *Aspergillus* sp. juga mampu menghasilkan enzim protease yaitu enzim yang mampu menghidrolisis senyawa protein (Astuti *et al.*, 2015).

*Aspergillus* sp. memiliki ciri mikroskopis berupa hifa bersekat dan bercabang, pada bagian ujung hifa terutama pada bagian yang tegak membesar yang merupakan konidioforanya, konidiofor pada bagian ujung membentuk fesikel (Fardiaz, 1992). Sedangkan ciri secara makroskopis yaitu dapat tumbuh secara cepat pada suhu ruang dengan membentuk koloni berbentuk granular, berserabut dengan berbagai warna (Jawetz, 2005). Klasifikasi *Aspergillus* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom	:Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Eurotiomycetes
Ordo	: Eurotiales
Family	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus</i> sp.

(Hardjo *et al.*, 1989).

Menurut penelitian yang dilakukan Yuniar (2013) *Aspergillus* sp. VTM5 merupakan anggota dari kelas Actinomycetes dengan ciri makroskopis warna hijau cerah, permukaan seperti bubuk atau tepung, bentuk terpecah, tepi rata atau berserat, tidak ada eksudat, tidak ada garis radial atau konsentris, sedangkan ciri mikroskopis hifa septa dengan konidia berbentuk bulat



Gambar 2.4 :A. Gambar mikroskopis *Aspergillus niger* (Ade, 2013),  
B. Gambar mikroskopis *Aspergillus* sp.VTM5 (Yuniar, 2013).

VTM5 merupakan pengkodean *Vermicomposting Top Middle* yang berarti mikroorganisme tersebut ditemukan pada lapisan atas dan tengah dari tanah hasil vermicomposting, sedangkan angka 5 menunjukkan urutan mikroorganisme yang ditemukan (Yuniar,2013). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Yuniar menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp.VTM5 mampu menghasilkan enzim selulase tertinggi setelah dilakukan uji secara semi kuantitatif yang ditunjukkan dengan indeks aktifitas selulase.

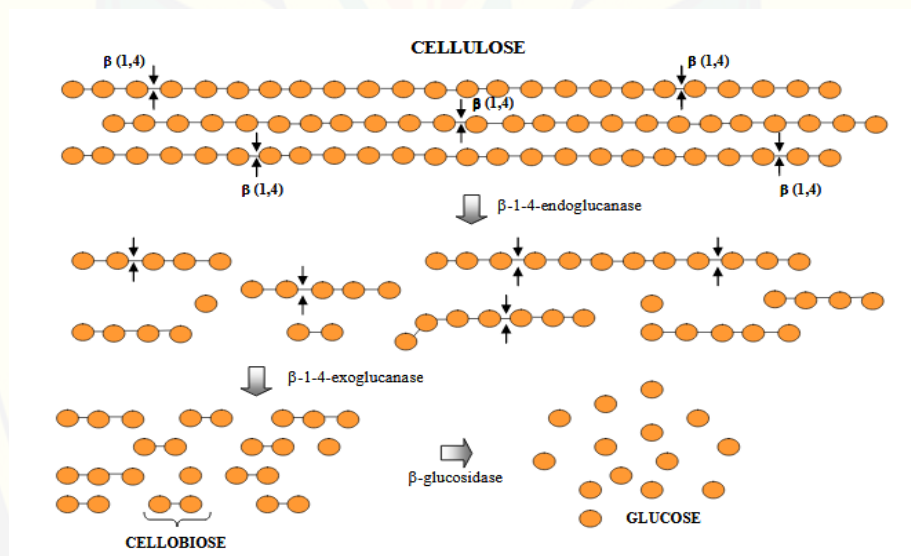
*Aspergillus* sp. VTM5 mampu menghasilkan gula reduksi tertinggi pada media CMC yaitu sekitar 7.72  $\mu\text{g/ml}$ , hal ini dikarenakan media CMC merupakan media selulosa murni yang memiliki struktur amorf yang mudah larut dalam air sehingga lebih mudah terurai. Kemampuan kapang tersebut dalam menghidrolisis media CMC diduga karena adanya kompleks enzim yang dominan yaitu endo- $\beta$ -1,4-glukanase yang memotong secara acak daerah amorf pada rantai selulosa (Lynd, 2004).

## 2.4 Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan protein yang terdapat didalam sel hidup yang berfungsi sebagai biokatalisator dalam reaksi biokimia (Setyoko & Utami, 2016). Enzim tersebut merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa menjadi gula sederhana. Degradasi selulosa merupakan proses yang kompleks dan merupakan aksi sinergis oleh beberapa enzim. Enzim selulase sesungguhnya merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari beberapa macam enzim yang bekerja secara bertahap menguraikan selulosa menjadi glukosa (Kasmiran & Tarmizi, 2012).

Enzim selulase terdiri atas 3 macam enzim yang bekerja secara bertahap diantaranya: (Setyoko & Utami, 2016)

- Endo- $\beta$ -1,4-D glukonase berperan terutama pada bagian amorf rantai selulosa
- Exo  $\beta$ -1,4- D glukonase atau exo  $\beta$ -1,4-D-selobiohidrase yang memecah bagian kristal rantai selulosa
- B-glukosidase merupakan unit enzim yang penting menghasilkan produk glukosa dari pemecahan selulosa



Gambar 2.5: Mekanisme enzim selulase menghidrolisis selulosa (Sumber: Mussatto & Teixeira, 2010).

Beberapa mikroorganisme penghasil enzim selulase diantaranya *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., dan *Penicillium* spp. *Aspergillus niger* merupakan salah satu jenis kapang yang memiliki kemampuan baik dalam menghasilkan enzim selulase dan aminoglukosidase. Enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* tergolong kedalam enzim ekstraseluler yang mampu memecah molekul-molekul kompleks menjadi molekul sederhana (Kasmiran & Tarmizi, 2012).

### 2.5 Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*

Protein sel tunggal merupakan protein yang berupa sel kering atau biomassa renik seperti kapang, khamir, bakteri atau ganggang yang dapat digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan. Dalam pembuatan protein sel tunggal selain jasad renik dengan daya rombak yang kuat, komposisi bahan dasar, teknologi proses yang digunakan akan menentukan produk yang dihasilkan. Bahan baku dalam pembuatan PST harus mengandung air, sumber N, sumber C dan mineral (Naiola, 2008).

Protein sel tunggal juga menjadi salah satu alternatif untuk pemenuhan protein dimasa depan karena memiliki komposisi asam amino yang sangat dibutuhkan oleh manusia dan juga hewan. Produksi protein sel tunggal memiliki beberapa kelebihan diantaranya bernilai gizi tinggi karena memiliki kadar protein, vitamin, dan lemak yang cukup tinggi serta kandungan asam amino yang lengkap (Masithoh, 2012). Persamaan reaksi produksi protein sel tunggal dalam proses fermentasi adalah sebagai berikut:

$$C_6H_{12}O_6 + \text{Sumber } N_2 + \frac{3}{4} O_2 \text{ Mikroorganisme} + \text{Mineral} + \text{Nutrien} \rightarrow \text{Massa sel baru (PST)} + C_5H_9NO_4 + CO_2 + H_2O \text{ (Pawignya, 2011).}$$

Berbagai mikroorganisme digunakan untuk produksi protein sel tunggal, namun khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang cocok digunakan dalam produksi protein sel tunggal, hal ini karena kualitas gizi yang unggul yang terkandung di dalamnya. Perbedaan komposisi kelompok utama mikroorganisme (% berat kering) ditunjukkan oleh Tabel 2.3

Tabel 2.3. Perbedaan komposisi kelompok utama mikroorganisme

Composition	Fungi	Algae	Yeast
Protein	30-45	40-60	45-55
Fat	2-8	7-20	2-6
Ash	9-14	8-10	5-10
Nucleic acid	7-10	3-8	6-12

(Sumber: Miller & Litsky, 1976)

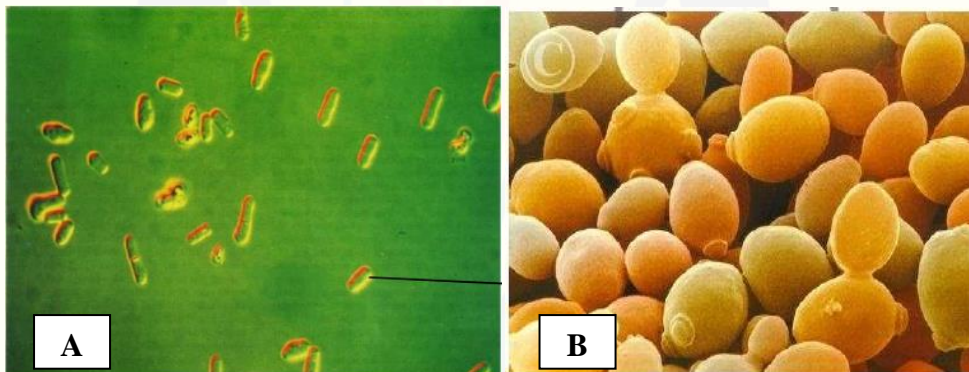
Mikroorganisme penghasil PST umumnya tumbuh pada limbah yang memiliki unsur karbon dan nitrogen. Bakteri, fungi, algae dan khamir merupakan jenis mikroorganisme yang mampu memproduksi PST. Mikroorganisme yang digunakan sebagai penghasil PST harus memiliki beberapa kriteria yaitu tidak bersifat patogen, memiliki nilai nutrisi yang baik, dapat digunakan sebagai makanan atau pakan, tidak mengandung senyawa yang beracun, dan biaya produksinya murah. Pemanfaatan PST dapat digunakan sebagai pengganti protein dari sumber konvensional seperti hasil pertanian, perikanan, dan peternakan (Inuhan *et al.*, 2016).

Salah satu mikroorganisme PST yang sedang dikembangkan ialah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir yang tergolong ke dalam kelas Ascomycetes yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi sehari sehari, selain itu *Saccharomyces cerevisiae* mengandung vitamin yang merupakan vitamin B kompleks (Purwitasari *et al.*, 2004).

*Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell”. Yeast jenis ini mampu berkembang biak didalam substrat yang mengandung gula sederhana seperti glukosa maupun gula kompleks disakarida seperti sukrosa. Berikut ini merupakan klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae*:

Kingdom : Eukaryota  
Phylum : Fungi  
Subphylum : Ascomycota  
Class : Saccharomycetes  
Ordo : Saccharomycetales  
Family : Saccharomycetaceae  
Genus : Saccharomyces  
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*  
(Zely, 2014).

*Saccharomyces cerevisiae* memiliki ciri morfologi bentuk oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5  $\mu\text{m}$  atau 20-25  $\mu\text{m}$  dengan lebar 1-10  $\mu\text{m}$ . koloni berbentuk rata, mengkilap dan halus. Yeast ini mampu hidup pada kisaran suhu 25-46°C dan kisaran pH antara 2.5-4.5 (Agustining, 2012).



Gambar 2.6:a) Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* perbesaran 10X40 (Agustining, 2012) dan  
b) *Saccharomyces cerevisiae* (Masithoh, 2012).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Januari 2018 sampai Juli 2018 dan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

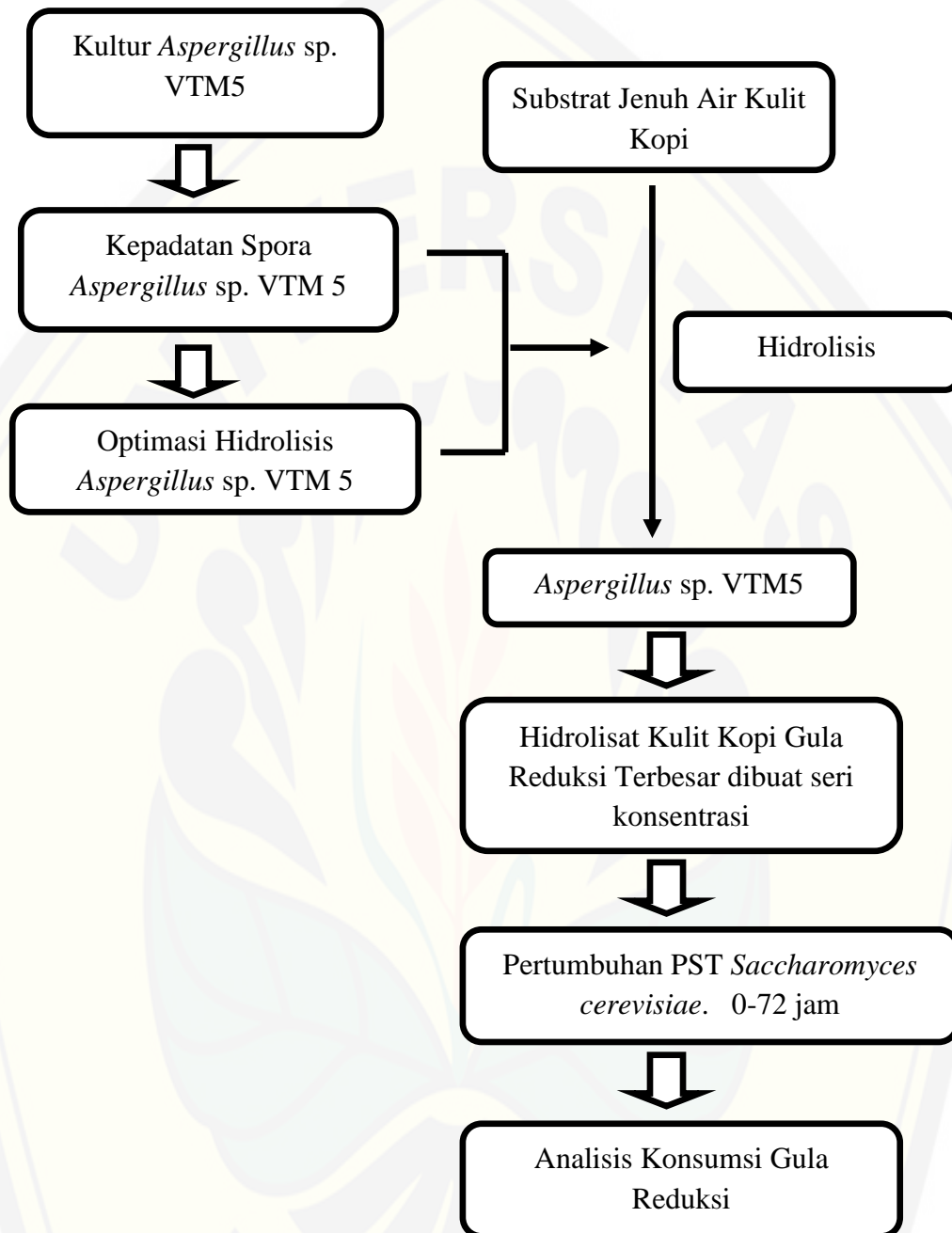
### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari neraca analitik, jarum ose, lampu bunsen, tabung reaksi, autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF), Erlenmeyer 1000 mL, sentrifuse, tabung falcon, gelas ukur, beaker glass, spidol, korek api, spatula, saringan, magnetic stirrer, Erlenmeyer 250 mL, nampan, oven, petridish, ph meter, rak tabung reaksi, pipet volum, inkubator, penangas air, lemari es, tabung kaca, kamera, pipet tetes, tip, spektrofotometer Metash, Haemocytometer, mikroskop Olympus, mikro pipet, vortex, mortar dan alu, marker, water bath, lemari es, ayakan tepung, dan nampan.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kulit lunak buah kopi, akuades, isolat *Aspergillus* sp. VTM5 dan isolat *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Tangerang Selatan, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), Reagen *Somogyi-Nelson*, alcohol 70%, kapas, tisu, kertas saring whatman, aluminium foil, NaOH, buffer asetat, alcohol 97%, media *Yeast Extract Pepton Dextrose* (YPD), *Yeast Extract Pepton Dextrose Agar* ( YPDA) dan garam fisiologis.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri atas tiga tahapan yaitu, persiapan bahan penelitian, hidrolisis substrat kulit buah kopi oleh *Aspergillus* sp. VTM5, dan produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* pada media hasil hidrolisis kulit kopi.





### 3.3.1 Persiapan Penelitian

#### a. Persiapan sampel kulit buah kopi dan peremajaan isolat *Aspergillus sp.* VTM5

Persiapan sampel kulit buah kopi dilakukan dengan mengeringkan sampel hingga kadar airnya kurang dari 1% kemudian dihaluskan dan disimpan dalam kantong plastik. Sedangkan peremajaan *Aspergillus sp.* VTM5 dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat kedalam 5 ml media PDA miring, selanjutnya isolat diinkubasi 72 jam 30°C yang digunakan sebagai stok isolat kapang.

#### b. Peremajaan isolat *Saccharomyces cerevisiae*

Peremajaan isolat *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose isolat kedalam 10 mL media YPD agar pada cawan petri dengan cara streak plate kemudian, diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C. Selanjutnya 1 ose isolat di subkultur pada 5 mL YPD agar miring pada tabung reaksi dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C sebagai stok isolat khamir.

#### c. Pembuatan substrat alkali kulit kopi.

Pembuatan substrat alkali ekstrak kulit buah kopi ini dilakukan melalui 2 tahapan utama yaitu pembuatan serbuk kulit buah kopi dan substrat alkali ekstrak. Pembuatan serbuk kulit buah kopi dilakukan dengan mengeringkannya di bawah sinar matahari hingga kadar airnya mencapai kurang dari 1%, setelah itu kulit buah kopi yang sudah kering digiling dengan mesin penggiling. Sampel yang telah digiling kemudian diayak dengan menggunakan ayakan mikrobentos 200 – 600 mikron.

Pada tahap kedua, yaitu pembuatan substrat alkali ekstrak dilakukan dengan cara mencampurkan sebanyak 200 gram bubuk kulit buah kopi dalam 80 gram NaOH 2M dan dilarutkan dalam 1000 ml aquadest. Hasil proses ini dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam. NaOH merupakan senyawa kimia yang mampu merusak struktur lignin bagian kristalin dan amorf, mampu memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa, serta mampu

menyebabkan pengembangan struktur selulosa (Gunan *et al.*, 2010). Setelah 24 jam, pH larutan diatur hingga mencapai pH 7 dengan menambahkan larutan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) sedikit demi sedikit. Kemudian hasil hidrolisis difiltrasi dengan menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya diekstraksi menggunakan alkohol 97% dengan perbandingan antara alkohol dan filtrat yaitu 6:4. Campuran tersebut kemudian disentrifugasi selama 3 menit hingga terbentuk pellet dan supernatant, supernatant kemudian di buang sedangkan pellet diambil dan dikeringkan pada suhu  $50^\circ\text{C}$ .

#### **d. Pembuatan Kurva Kepadatan Spora**

Kapang ditumbuhkan pada media agar kulit buah kopi alkali 0.1%. Media agar kulit buah kopi alkali 0.1% dibuat dengan mencampurkan 0.1 gram ekstrak alkali dan 1.7 gram agar dalam 100 mL akuadest diatas hot plate hingga larut. Media disterilisasi dan diinkubasi selama 3 hari. Satu ose isolat kapang umur 3 hari yang telah diremajakan diinokulasikan pada media agar kulit buah kopi alkali 0.1% dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu  $30^\circ\text{C}$ . Setiap 24 jam dilakukan perhitungan spora dengan menambahkan 1 mL aquadest pada tabung biakan dan dikerik menggunakan ose kemudian dituang kedalam 9 mL aquadest steril, kemudian jumlah spora dihitung menggunakan Haemocytometer dengan rumus:

$$S = \frac{n}{L \times h \times d} \times 10^3$$

Keterangan : S = jumlah spora

n = rata- rata jumlah spora

L = luas bidang pandang ( $0,04 \text{ mm}^2$ )

h = kedalaman bidang hitung (0,1 mm)

d = faktor pengenceran ( $10^{-1}$ )

$10^3$  = volume suspense yang diambil ( $\mu\text{L}$ )

#### **e. Penentuan kadar air pembuatan substrat jenuh air kulit kopi.**

Kulit buah kopi ditimbang sebanyak 5 gram yang kemudian dimasukkan kedalam kantong teh dan direndam didalam aquadest selama 30 menit. Kantong yang berisi kulit buah kopi digantung hingga air tidak menetes lagi kemudian ditimbang untuk mengetahui berat basahnya. Selanjutnya kulit buah kopi dioven

pada suhu 50°C selama 6 jam dan ditimbang, kemudian dioven kembali pada suhu 50°C selama 6 jam dan ditimbang, sampai hasil yang didapatkan konstan untuk mengetahui berat kering. Selisih antara berat basah dan berat kering merupakan kadar air kulit buah kopi.

Setelah diketahui kadar air, selanjutnya digunakan untuk membuat substrat kulit kopi jenuh air dengan cara sebanyak 50 gram substrat kulit kopi dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml kemudian ditambahkan air sesuai kadar air yang telah dihitung. Selanjutnya dilakukan sterilisasi pada substrat tersebut menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

#### **f. Pembuatan larutan *Somogyi* dan *Nelson***

Larutan *Somogyi* dan *Nelson* digunakan untuk menganalisis gula reduksi ekstrak kasar enzim. Larutan *Somogyi* dibuat dengan mencampurkan 4 jenis larutan yaitu larutan 1, larutan 2, larutan 3, dan larutan 4. Larutan 1 terdiri atas 24 gram  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  dan 12 gram potassium sodium yang dilarutkan dalam 240 ml aquadest, larutan 2 terdiri atas 1 gram  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  yang dilarutkan dalam 40 ml aquadest kemudian ditambahkan 16 gram  $\text{NaHCO}_3$ , larutan 3 merupakan hasil campuran dari larutan 1 dan larutan 2, sedangkan larutan 4 dibuat dengan melarutkan 180 gram  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  kedalam 300 ml aquadest sambil dipanaskan hingga mendidih. Larutan 3 dan larutan 4 kemudian dicampur dan ditambah dengan aquadest hingga volumenya mencapai 1000 ml. Larutan ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam botol gelap, setelah 24 jam larutan ini kemudian disimpan pada suhu 20°C – 40°C.

Larutan *Nelson* dibuat dengan mencampurkan 2 buah larutan. Larutan pertama dibuat dengan melarutkan 50 gram  $(\text{NH}_4)\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  dalam 500 ml aquadest dan ditambahkan 46 ml sulfanic acid. Larutan kedua dibuat dengan melarutkan 6 gram  $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 25 ml aquadest. Kedua larutan ini kemudian dicampurkan dan ditambahkan dengan aquadest hingga volumenya mencapai 1000 ml. Larutan ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam botol gelap, setelah 24 jam larutan ini kemudian disimpan pada suhu 20°C – 40°C.

#### **g. Pembuatan Kurva Standart Glukosa**

Kurva standart glukosa dibuat dengan menggunakan analisis gula reduksi menggunakan metode *Somogyi – Nelson*. Sebanyak 0.01 gram glukosa dilarutkan dalam aquadest hingga 100 ml. Perlakuan ini merupakan larutan standart dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Kurva standart ini menggunakan pengenceran dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100  $\mu\text{g/ml}$ , kemudian ditambah 0.5 ml reagen *Somogyi* pada masing – masing tabung dan dipanaskan pada penangas air selama 15 menit. Kemudian didinginkan dan ditambah 0.5 ml reagen *Nelson* dan 2.5 ml aquadest. Masing – masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Kurva standart dibuat dengan membuat grafik hubungan antara kadar glukosa dengan absorbansi gula reduksi hasil hidrolisis.

#### **h. Pembuatan Kurva Standart Populasi Yeast**

Pembuatan media YPD agar pada cawan petri untuk peremajaan isolat, YPD cair pada erlenmeyer sebagai media pertumbuhan dan YPD cair tanpa inokulum untuk seri pengenceran. Stok isolat *Saccharomyces cerevisiae* diinokulasikan 1 ose pada media YPD agar pada cawan petri dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C, kemudian 1 ose koloni tunggal dari stok cawan petri diinokulasikan pada 20 mL YPD cair dan diinkubasi shaker selama 3 hari pada suhu 30°C. dilakukan seri pengenceran *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut:

Kontrol : 0  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 1000  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Pengenceran 5X : 200  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 800  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Pengenceran 4X: 400  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 600  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Pengenceran 3X : 600  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 400  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Pengenceran 2X : 800  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 200  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Pengenceran 0X : 1000  $\mu\text{L}$  suspensi yeast + 0  $\mu\text{L}$  YPD cair tanpa inokulum

Selanjutnya setiap seri pengenceran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm dengan 3 kali pengulangan dilanjutkan menghitung populasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan Haemocytometer. Perhitungan populasi PST pada Haemocytometer dilakukan dengan menghitung sel pada 25 kotak sedang dengan 3 kali pengulangan.

### 3.3.2 Hidrolisis Kulit Kopi Oleh *Aspergillus* sp. VTM5

#### a. Optimasi hidrolisis kulit kopi oleh kapang *Aspergillus* sp. VTM5

Optimasi hidrolisis dilakukan untuk mengetahui waktu terbaik yang dibutuhkan kapang dalam menghasilkan gula reduksi. Optimasi ini dilakukan dengan menginokulasi 1 ml suspensi *Aspergillus* sp. VTM5 yang telah diinkubasi sesuai dengan waktu inkubasi kepadatan spora pada 10 gram substrat kulit buah kopi. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari dengan pemanenan gula reduksi setiap hari mulai hari ke-1 hingga hari ke-7. Hidrolisat yang didapatkan kemudian dianalisis gula reduksi menggunakan *Somogyi-Nelson*. Kemudian hasil gula reduksi yang diperoleh dibandingkan dengan kurva standart glukosa yang telah dibuat sebelumnya.

#### b. Hidrolisis kulit buah kopi oleh kapang *Aspergillus* sp. VTM5

Sebanyak 200 gram substrat kulit buah kopi jenuh air steril dalam 20 erlenmeyer diinokulasikan dengan kapang *Aspergillus* sp. VTM5 yang selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi terbaik yang telah dilakukan sebelumnya pada optimasi hidrolisis kulit buah kopi, kemudian substrat disterilkan menggunakan *autoclave*. Setelah itu dilakukan pemanenan hidrolisat hasil hidrolisis.

#### c. Pemanenan hidrolisat hasil hidrolisis kulit kopi

Pemanenan dilakukan menggunakan penambahan 1% NaCL dan 0.01% NaAzide dalam 400 mL aquadest kedalam hidrolisat dengan perbandingan 1:2. Kemudian dilakukan shaker selama 12 jam pada suhu ruang untuk dihomogenkan. Selanjutnya difiltrasi menggunakan kaca Buchner filter corong hingga diperoleh hidrolisat hasil fermentasi kulit buah kopi. Hidrolisat tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan filtrat dari pellet yang masih tersisa, kemudian difilter menggunakan minipore filter.

#### d. Analisis gula reduksi dengan metode *Somogyi* dan *Nelson*

Sebanyak 0.5 ml hidrolisat ditambah 0.5 ml reagen *Somogyi* yang berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik dan kemudian dididihkan pada penangas air selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan 0.5 ml reagen *Nelson*

yang berfungsi untuk mengikat gula reduksi hasil hidrolisat substrat. Selanjutnya ditambahkan 2.5 ml aquadest dan diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm. Data absorbansi diplot pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standart glukosa yang nantinya dibandingkan dengan larutan standart glukosa.

### **3.3.3 Pertumbuhan PST *Saccharomyces cerevisiae* Pada Media Hasil Hidrolisat Kulit Buah Kopi**

#### **a. Penentuan konsentrasi hidrolisat kulit kopi dan waktu optimum pertumbuhan PST *Saccharomyces cerevisiae*.**

Koloni tunggal *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 1 ose diinokulasikan pada 20 ml media YPD cair kemudian diinkubasi shaker 120 rpm, 72 jam sampai kultur menjadi keruh. Selanjutnya sebanyak 100 µl dari kultur diinokulasikan pada 50 mL hidrolisat kulit buah kopi steril yang telah dilakukan pengenceran 2X, 3X, 4X dan 5X dari konsentrasi awal dengan 2 kali ulangan. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada hidrolisat kulit buah kopi diinkubasi shaker 120 rpm, 72 jam dan setiap interval 6 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 1 mL yang akan digunakan untuk pengukuran jumlah sel dan konsumsi dari gula reduksi yang dimiliki oleh hidrolisat.

#### **b. Perhitungan jumlah populasi *Saccharomyces cerevisiae* pada hidrolisat kulit kopi**

Sampel kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan interval jam diambil sebanyak 100 µl kemudian ditambahkan aquadest 900 µl (pengenceran 10 kali). Selanjutnya perhitungan populasi dilakukan menggunakan spektrofotometer yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Hasil absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan kedalam persamaan dari kurva standart hubungan jumlah populasi *Saccharomyces cerevisiae* pada spektrofotometer dan Haemocytometer.

#### **c. Analisis konsentrasi sisa gula reduksi hidrolisat kulit kopi**

Sampel kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan interval jam disentrifugasi 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan filtrat dari sel.

Kemudian 50  $\mu\text{l}$  filtrat ditambah aquadest 450  $\mu\text{l}$  kemudian ditambahkan 0.5 ml reagen Somogyi yang berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik dan kemudian dididihkan pada penangas air selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan reagen Nelson 0.5 ml yang berfungsi mengikat gula reduksi hasil hidrolisis substrat. Kemudian ditambahkan aquadest 2.5 ml dan diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Data absorbansi diplot pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standart glukosa yang nantinya dibandingkan dengan larutan standart glukosa.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

*Aspergillus* sp. VTM 5 mampu menghidrolisis substrat kulit kopi, waktu optimasi hidrolisis yaitu pada hari ke-5 dengan konsentrasi gula reduksi sebesar 446.6 µg/ml. Hidrolisat hasil hidrolisis kulit kopi selanjutnya dijadikan sebagai medium tumbuh PST *Saccharomyces cerevisiae*. PST *Saccharomyces cerevisiae* mampu tumbuh pada media hidrolisat kulit kopi dengan pertumbuhan optimum terjadi pada konsentrasi tanpa pengenceran yaitu jumlah sel sebesar  $2.9 \times 10^6$  sel/ml selama waktu inkubasi 48 jam.

### 5.2 Saran

Penelitian ini merupakan langkah awal pengkajian pemanfaatan limbah kulit kopi sebagai salah satu alternatif media pertumbuhan protein sel tunggal *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan juga pengkajian terhadap parameter yang lain seperti suhu, pH, dan lain lain untuk mengoptimalkan pertumbuhan protein sel tunggal *Saccharomyces cerevisiae*.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Ade, F.Y. 2013. Isolasi dan Identifikasi Jamur-Jamur Pendegradasi Amilosa Pada Empelur Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). Jurnal Ilmiah. Vol 2(1).
- Agustining, D. 2012. Daya Hambat *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum*. Skripsi. Universitas Jember.
- Ambriyanto, K.S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa Dari Serasah Daun Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schaum). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh November.
- Anjarsari, B., & Effendi, H. 2005. Pembuatan Protein Sel Tunggal Dari Limbah Cair Pulp Kakao Oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Infomatek*.7: 93-105.
- Ardhana, M.M., Fleet, G.H. 2003. The Microbial Ecology Of Cocoa Bean Fermentation In Indonesia. *International Journal Of Food Microbiology*.86(12):87-99.
- Asti, S.I.P. 2015. Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit. Skripsi. Universitas Jember.
- Budiarti, S.W., Purwaningsih, H., & Suwanti. 2013. Kontaminasi Fungi *Aspergillus* sp. Pada Biji Jagung di Tempat Penyimpanan Dengan Kadar Air yang Berbeda. *Seminar Nasional Serealia*: 482 - 487.
- Corro, G., Paniagua, L., Pal, U., Banuelos, F., & Rosas, M. 2013. Generation Of Biogas From Coffee-Pulp And Cow-Dung Co Digestion: Infrared Studies Of Postcombustion Emissions. *Energy Conversion and Management*.74: 471-481.
- Elevri, P.A., & Putra, S.R. 2006. Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Yang Dimobilisasi Dengan Agar Batang. *Akta Kimindo*. 1(2):105-114.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: Gramedia Utama.
- Guimeraes, L.H.S. 2012. Carbohydrates From Biomass: Sources and Transformation by Microbial Enzymes. *Intech*: 443.
- Hardjo, S., Indrasasti, N.S., & Bantacut, T. 1989. *Biokonversi. Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.

- Idiawati, N., E.M, Harfinda., & L, Arianie. 2014. Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Pada Ampas Sagu. *Jurnal Natur Indonesia*. Vol 16(1): 1 – 9.
- Inuhan, B; Savante. A., & Muhammad. A.W. 2016. Optimasi Produksi Protein Sel Tunggal (PST) Dari Bakteri Yang Terdapat Pada Gastrointestinal (GI) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Kembung (*Scomber canagorta*). *JKK*. Vol 5(1): 24 – 28
- Irma. 2015. Optimasi Media Pertumbuhan *Aspergillus niger* Dengan Menggunakan Tepung Singkong. *Skripsi*. UIN Alauddin Makassar.
- Jawetz. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Kasmiran, A & Tarmizi. 2012. Aktivitas Enzim Sellulase Dari kapang Selulolitik Pada Substrat Ampas Kelapa. *Lentera*. Vol 12(1).
- Khusna, D., & J. Susanto. 2015. Pemanfaatan Limbah Padat Kopi Sebagai Bahan Bakar Alternatif Dalam Bentuk Bricket Berbasis Biomass ( Studi Kasus di PT. Santos Jaya Abadi Instant Coffee). *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan III*. Institut Teknologi Adhi Tama Surabaya.
- Kuswardani, I., & Wijajaseputra. 1998. Produksi Protein Sel Tunggal *Phanrochaele chrysosporium* Pada Media Limbah Cair Tahu Yang Diperkaya Kajian Optimasi Waktu Panen. *Prosiding Seminar Teknologi Pangan dan Gizi*: 604-613.
- Lynd, L.R. 2004. Microbial Cellulose Utilization. *Fundamental and Biotechnology Review*. *Microbial Mol Bio Rev*. Vol 66: 506 - 577.
- Machfud, S., E.G., & K. 1989. *Fermentator*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mahmuda, N. 2016. Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Oleh *Aspergillus* sp. (VTM 1) dan *Pestalotiopsis* sp. (VTM 9) Sebagai Media Tumbuh Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*: Universitas Jember.
- Masithoh, E. 2012. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Khamir Roti *Saccharomyces cerevisiae* Pada Media Bekatul Dalam Produksi Protein Sel Tunggal. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Mazzoleni, S., Landi, C., Carteni, F., Alteriis, E.D., Gionnin, F., Paciello, L., & Parascandola, P. 2015. A Novel Process Based Model of Microbial Growth: Self- Inhibition in *Saccharomyces cerevisiae* Aerobic Fed-Batch Cultures. *Microbial Cell Factories*. 14(1): 1-14.

- Miller, B.M., & W. Litsky. 1976. Single Cell Protein In Industrial Microbiology. *McGrow-Hill Book Co*: New York.
- Murni., F. Arifan., & Z. Abidin. 2015. Optimasi Proses Bioetanol Dari Kulit Kopi Dengan Menggunakan Proses Hidrolisis Vibrous Bed Bioreaktor. *Traksi*. Vol 15(1).
- Mussatom S.I., & Teixeira. J.A. 2010. Lignocellulose As Raw Material In Fermentation Processes. *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Technology*: 897 - 907.
- Naiola, E. 2008. Seleksi biak *Aspergillus* spp. Penghasil Amilase Untuk Pembuatan Protein Sel Tunggal Dari Tepung Ganyon (*Canna edulis* Kerr). *Beritabiologi*. Vol 4. No 4.
- Nuraida, L., Sihombing, S.H., & Fardiaz, S. 1996. Produksi Karotenoid Pada Limbah Cair Tahu, Air Kelapa, dan Onggok Oleh Kapang *Neurospora* sp. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 7 (1). 67-74.
- Pangesti, N.W.I., Pangastuti., & Retnaningtyas. 2012. Pengaruh Penambahan Molase Pada Produksi Enzim Xilanase Oleh Fungi *Aspergillus niger* Dengan Substrat Jerami Padi. *Bioteknologi*. Vol 9(2): 41 – 48.
- Pawingnya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal Dari Limbah Nanas Dengan Proses Fermentasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*.
- Pertiwi, N. 2016. Kandungan Lignin, selulosa, Hemiselulosa, dan Tanin Limbah Kulit Kopi Yang di Fermentasi Menggunakan Jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viridae*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin.
- Pujiyanto. 2007. Pemanfaatan Kulit Buah Kopi dan Bahan Mineral Sebagai Amelioran Tanah Alami. *Pelita Perkebunan*. Vol 23(2).
- Putera, R.D.H. 2012. Ekstraksi Serat Selulosa Dari Tanaman Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Dengan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Purkan., Purnama., & Sumarsih. 2015. Produksi Enzim Selulase Dari *Aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu Sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol 16(2): 95 – 102.
- Purwitasari, E., A. Pangastuti., & R. Setyaningsih. 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi 1*. Vol 2: 37 - 42.

- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikrob*. Edisi 1<sup>st</sup> pp. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putri, L.S.E. 2008. Konversi Pati Ganyong (*Canna edulis* Ker) Menjadi Bioethanol Melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal Of Biological Diversity*.9(2):112-116.
- Raharjo, T.B. 2013. Analisis Penentu Ekspor Kopi Indonesia. *Jurnal Ilmiah*. Universitas Brawijaya.
- Sa'adah, Z., N, Ika., & Abdullah. 2008. Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Jerami Dengan Sistem Fermentasi Padat. *Teknik Kimia*. Universitas Dipenogoro.
- Salsabilah, U., Mardiana, D., & Indahyanti, E. 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Pati Biji Durian Menjadi Etanol. *Kimia Student Journal*.2(1):331-336.
- Saragih, J. 2010. Pengaruh Delignifikasi Menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* dan Hidrolisis Oleh Kapang Selulolitik Terhadap Kualitas Tongkol Jagung Sebagai Pakan Ternak. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Setyoko, H.,& B. Utami. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi Untuk Hidrolisis Biomassa. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol 13(1): 863 – 867.
- Silaban, B.M.J. 2017. Optimasi Fermentasi Produksi Etanol Dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) Menggunakan Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia Stipitis* Dengan Response Surface Methodology. *Skripsi*: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Subowo, Y.B. 2015. Isolasi dan Seleksi Jamur Tanah Pengurai Selulosa Dari Berbagai Lingkungan. *Proseminas Masy Biodiversitas Indonesia*. Vol 1. No3: 423 - 427.
- Sulistyaningtyas, A.R. 2017. Pentingnya Pengolahan Basah (Wet Processing) Buah Kopi Robusta (*Coffea robusta* Lindl.ex.de.Will) Untuk Menurunkan Resiko Kecacatan Biji Hijau Saat Coffea Grading. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil – Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Sitorus, R.S. 2011. Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Dengan Metode Steaming dan Enzimatik. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Valentiah, F.V., E. Listyarini., & S. Prijono. 2015. Aplikasi Kompos Kulit Kopi Untuk Perbaikan Sifat Kimia dan Fisika Tanah Inceptisol Serta

Meningkatkan Produksi Brokoli. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya*. Vol 2(1): 147 – 154.

Wahono, S.K., Damayanti, E., Rosyida, V.T., D., & Sadyastuti, E.I. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* Pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*:1-6.

Wachid, M. 2011. Potensi Bioethanol Dari Limbah Kulit Ari Kedelai Limbah Produksi Tempe. *Gamma*.6:113-122.

Widyanti, E.M. 2010. Produksi Asam Sitrat Dari Substrat Molase Pada Pengaruh Penambahan VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Produktivitas *Aspergillus niger* ITBCC L<sub>74</sub> Terimobilisasi. *Tesis*. Universitas Diponegoro.

Yuniar, W. 2013. Skrining dan Identifikasi Kapang Selulolitik Pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). *Skripsi*. Universitas Jember.

Yuliana, N. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal Dari Tempoyak. *Journal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*.13(2):108-116.

Zeli, F.D. 2014. Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol Dari Serabut Kelapa Pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan Dengan Enzim selulase. *Skripsi*. Universitas Bengkulu.

**LAMPIRAN****A.KOMPOSISI MEDIA****A.1 Komposisi Media *Potato Dextrose Agar (PDA)***

No.	Bahan	Jumlah
1	Kentang	200 gram
2	Dextrose	20 gram
3	Agar	15 gram
4	Akuadest	1000 ml

**Langkah Pembuatan**

1. Memanaskan *Beaker glass* berisi akuades kurang lebih 1000 ml diatas *hot plate*.
2. Menimbang *dextrose* 20 gram dan *Bacto-Agar* 15 gram dengan menggunakan *aluminium foil* sebagai tempat bahan sesuai dengan takaran masing-masing.
3. Mengupas kentang kemudian menimbang seberat 200 gram, lalu dicuci dan setelah agak kering dipotong seperti dadu.
4. Memasukkan kentang yang telah dipotong seperti dadu ke dalam akuades pada butir 1 yang telah mendidih, sambil sekali-kali diaduk sampai mendidih, setelah mendidih biarkan dalam keadaan tersebut sampai  $\pm 15$  menit. Hal ini bertujuan untuk meluruhkan sari-sari kentang.
5. Menyaring air kentang dengan cara: diatas *Beaker glass* kosong diberi saringan teh yang berisi kapas bersih, kemudian tuangkan rebusan kentang tadi; ukur *filtrat* (sari kentang) dengan menggunakan gelas ukur, jika hasilnya kurang dari 1000 ml maka harus ditambahkan akuades sampai 1000 ml yang dilakukan dengan cara; sisa rebusan kentang pada butir 4 dibilas dengan akuades lalu digoyang-goyang kemudian disaring lagi.
6. Menuang *filtrat* dari gelas ukur ke dalam *Beaker glass* (yang digunakan sebagai tempat menyaring pada butir 5), kemudian tambahkan *Bacto-Agar* dan *Dextrose* ke dalam *filtrat*.

7. Memanaskan medium dalam *Beaker glass* (pada butir 6) diatas *hot plate* sambil diaduk terus sampai mendidih (jangan sampai gosong).
8. Mengangkat medium sesudah mendidih dan agar sudah larut seluruhnya, dari *hot plate* sampai terus diaduk.
9. Memasukkan medium kedalam tabung reaksi dengan menggunakan pipet ukur 10 ml dan penyedotnya (*pipet filler*).
10. Menutup/menyumbat tabung reaksi dengan kapas sampai tertutup rapat (setiap 10 tabung reaksi, diatasnya ditutup dengan kertas sampul cokelat (warna yang mengkilap/permukaan licin berada diluar)), kemudian seluruh tabung reaksi diikat dengan karet gelang tahan panas.
11. Melakukan sterilisasi dengan menggunakan autoclave pada tekanan 15 lbs atau 1 atm, suhu 121°C selama 15-20 menit.

#### A.2 Komposisi Media Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPDA)

No.	Bahan	Jumlah
1	Glukosa	20 gram
2	Yeast Extract	10 gram
3	Peptone	20 gram
4	Agar	15 gram
5	Aquadest	1000 ml

#### Langkah Pembuatan

1. Memanaskan beaker glass berisi akuades kurang lebih 1000 ml diatas hot plate.
2. Menimbang glukosa 20 gram, yeast extract 10 gram, peptone 20 gram, dan agar 15 gram dengan menggunakan aluminium foil sebagai tempat bahan sesuai dengan takaran masing-masing.
3. Memanaskan semua medium dalam beaker glass diatas hot plate sampai terus diaduk hingga mendidih (jangan sampai gosong).
4. Mengangkat medium sesudah mendidih dan agar sudah larut seluruhnya dari hot plate dan terus diaduk.
5. Memasukkan medium kedalam tabung reaksi dengan menggunakan pipet ukur 10 ml dan penyedotnya (*pipet filler*).

6. Menutup/menyumbat tabung reaksi dengan kapas sampai tertutup sangat rapat.
7. Melakukan sterilisasi dengan menggunakan autoclave pada tekanan 15 lbs atau 1 atm, suhu 121°C selama 15-20 menit.

### A.3 Komposisi Media Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD)

No.	Bahan	Jumlah
1	Glukosa	20 gram
2	Yeast Extract	10 gram
3	Peptone	20 gram
4	Aquadest	1000 ml

#### Langkah Pembuatan

1. Memanaskan beaker glass berisi akuades kurang lebih 1000 ml diatas hot plate.
2. Menimbang glukosa 20 gram, yeast extract 10 gram, peptone 20 gram, dan agar 15 gram dengan menggunakan aluminium foil sebagai tempat bahan sesuai dengan takaran masing-masing.
3. Memanaskan semua medium dalam beaker glass diatas hot plate sampai terus diaduk hingga mendidih (jangan sampai gosong).
4. Mengangkat medium sesudah mendidih dari hot plate dan terus diaduk.
5. Memasukkan medium kedalam tabung reaksi dengan menggunakan pipet ukur 10 ml dan penyedotnya (pipet filler).
6. Menutup/menyumbat tabung reaksi dengan kapas sampai tertutup sangat rapat.
7. Melakukan sterilisasi dengan menggunakan autoclave pada tekanan 15 lbs atau 1 atm, suhu 121°C selama 15-20 menit.



**B.KOMPOSISI REAGEN SOMOGYI – NELSON****B.1 Komposisi Reagen Somogyi dalam 1 liter**

No.	Bahan	Rumus Kimia	Jumlah
1	Natrium Karbonat	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	24 gram
2	Potassium Sodium Tetrat Tetrahidrat	$\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	12 gram
3	Kupfer (II) Sulfat Pentahidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	40 ml
4	Natrium Hydrogen Carbonat	$\text{NaHCO}_3$	16 gram
5	Natrium Sulfat	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	180 gram
6	Akuadest		1000 ml

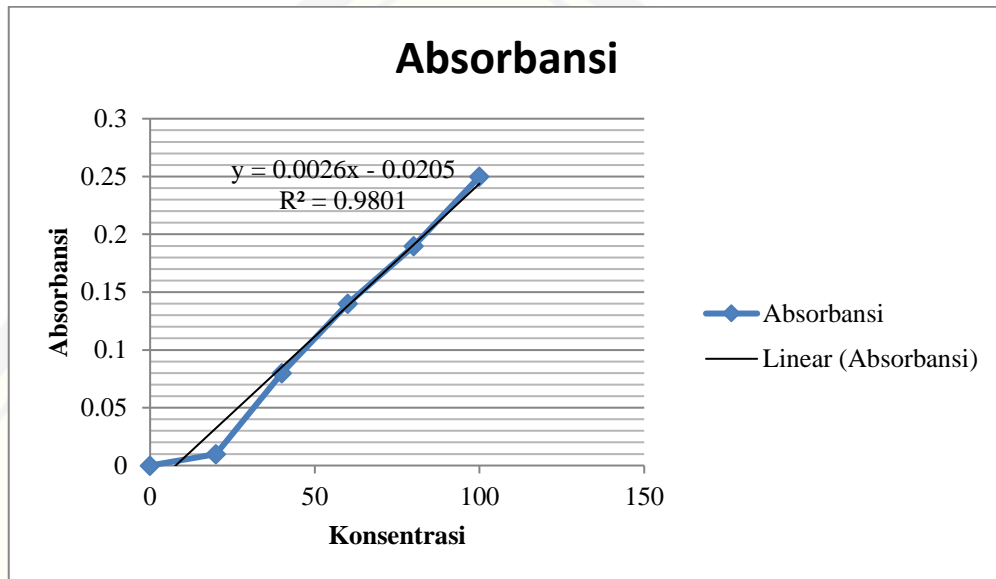
**B.2 Komposisi Reagen Nelson dalam 1 liter**

No.	Bahan	Rumus Kimia	Jumlah
1	Ammonium Molibdat	$(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50 gram
2	Sodium Arsenat	$\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6 gram
3	Sulfuric Acid	$\text{H}_2\text{SO}_4$	46 ml
4	Aquadest		1000 ml

**C. STANDART GLUKOSA****C.1 Tabel Standart Glukosa**

Konsentrasi	Absorbansi (500 nm)
0	0
20	0.01
40	0.08
60	0.14
80	0.19
100	0.25

### C.2 Kurva Standart Glukosa



### D. Pertumbuhan *Aspergillus sp.* (VTM5)

#### D.1 Jumlah Spora *Aspergillus sp.* (VTM5)

Hari	Jumlah Spora/ml
1	$8 \times 10^6$
2	$8.15 \times 10^7$
3	$1.427 \times 10^8$
4	$1.69 \times 10^8$
5	$1.107 \times 10^8$
6	$4.62 \times 10^7$
7	$2.72 \times 10^7$

**E.HASIL OPTIMASI WAKTU HIDROLISIS KULIT KOPI****E.1 Hasil Optimasi Waktu Hidrolisis Kulit Kopi oleh *Aspergillus* sp. VTM5**

Waktu (Hari)	Gula Reduksi ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	3.07
2	9.42
3	10.96
4	19.61
5	27.69
6	8.65
7	4.80

**F. HASIL HIDROLISIS KULIT KOPI****F.1 Hasil Hidrolisis Kulit Kopi oleh *Aspergillus* sp. VTM5**

Ulangan	Gula Reduksi ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	440.6
2	428.3
3	451.7
4	445.2
5	467.1

**G.STANDART POPULASI *Saccharomyces cerevisiae* PADA HAEMOCYTOMETER DAN SPEKTROFOTOMETER****G.1 Hasil Standart Populasi *Saccharomyces cerevisiae* Pada Haemocytometer dan Spektrofotometer**

Konsentrasi	Absorbansi (600 nm)	Jumlah Sel/ml
Kontrol	0	0
5X	0.345	3550000
4X	0.470	6530000
3X	0.556	9056667
2X	0.577	13870000
Tanpa Pengenceran	0.611	17553333

**G.2 Kurva Standart Populasi *Saccharomyces cerevisiae* pada Haemocytometer dan Spektrofotometer**

