



**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS KULIT BUAH KOPI OLEH
ISOLAT VTM1 (*Aspergillus* sp.) SEBAGAI MEDIUM PRODUKSI
PROTEIN SEL TUNGGAL (*Saccharomyces cereviceae*)**

SKRIPSI

Oleh:

**Fianda Deviyastuti
NIM 141810401022**

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



**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS KULIT BUAH KOPI OLEH
ISOLAT VTM1 (*Aspergillus* sp.) SEBAGAI MEDIUM PRODUKSI
PROTEIN SEL TUNGGAL (*Saccharomyces cereviceae*)**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Fianda Deviyastuti
NIM 141810401022**

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. mama Indah Praptiastuti S.E, papa Bentung Hexsa Ananda S.Sos, adik-adik saya Mutiara Yunanda Deliaastuti, Permata Rizki Nandyastuti dan Bentung Devananda Jabbaril Syafa'at serta seluruh keluarga yang turut mendo'akan dan memberikan segenap kasih dan sayangnya untuk saya;
2. guru-guru mulai dari taman kanak-kanak hingga sekolah menengah atas, serta dosen-dosen di perguruan tinggi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya yang bermanfaat selama ini;
3. Almamater tercinta yaitu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember;
4. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

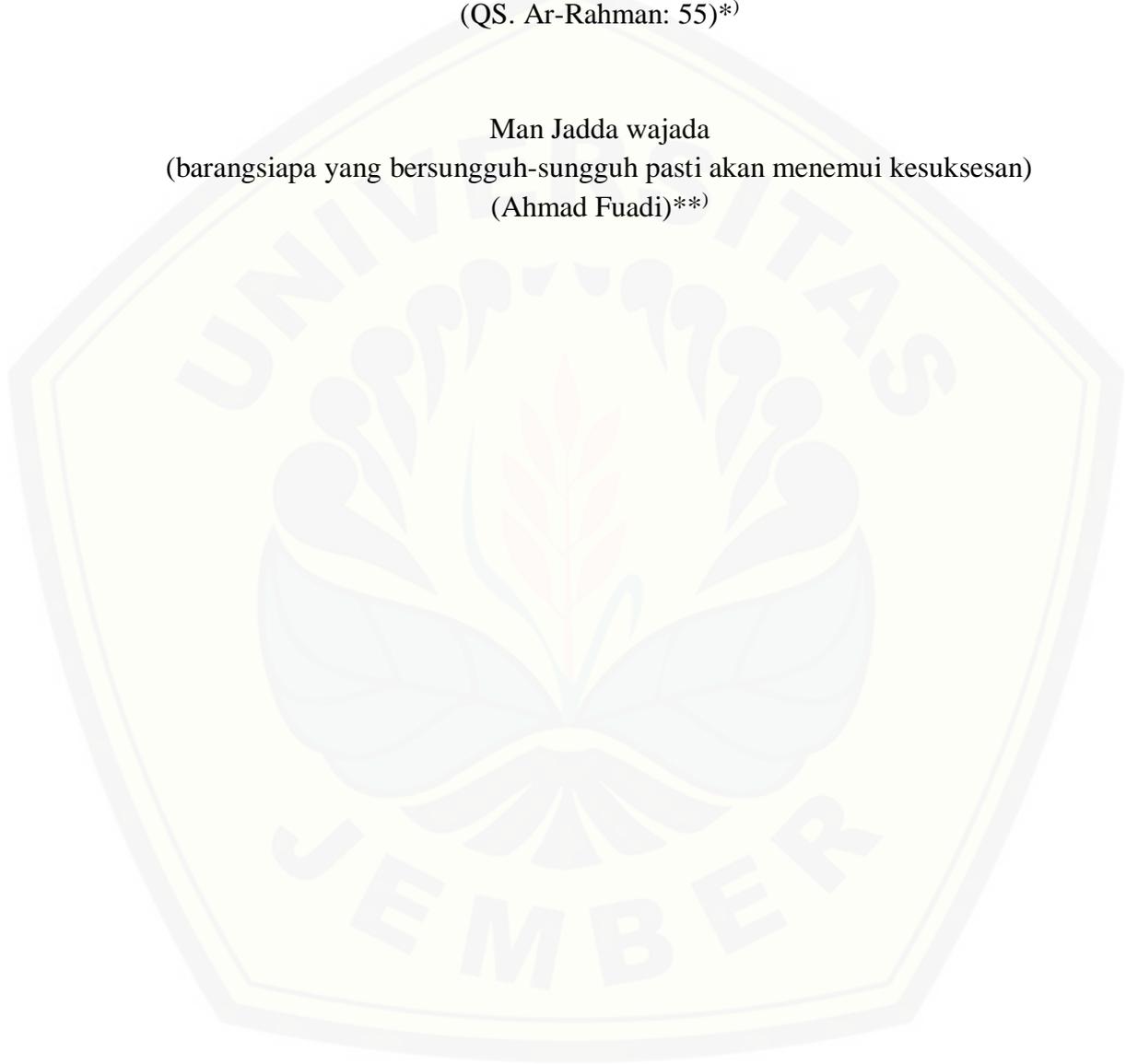
Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan

(QS. Ar-Rahman: 55)*)

Man Jadda wajada

(barangsiapa yang bersungguh-sungguh pasti akan menemui kesuksesan)

(Ahmad Fuadi)**)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahnya Special for Woman*. Bogor: Syaamil Al-Qur'an.

***) Ahmad Fuadi. 2009. *Negeri 5 Menara*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Fianda Deviyastuti

NIM : 141810401022

menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Kulit Buah Kopi Oleh Isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cereviceae*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institut mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia menerima sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan yang saya tulis ini terbukti tidak benar.

Jember, 2 Juli 2018

Yang menyatakan,

Fianda Deviyastuti

NIM 141810401022

SKRIPSI

**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS KULIT BUAH KOPI OLEH
ISOLAT VTM1 (*Aspergillus* sp.) SEBAGAI MEDIUM PRODUKSI
PROTEIN SEL TUNGGAL (*Saccharomyces cereviceae*)**

Oleh:

Fianda Deviyastuti
NIM 141810401022

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Siswanto M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Kulit Buah Kopi Oleh Isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cereviceae*)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.
NIP 196805031994011001

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Anggota II,

Anggota III,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Dra. Mahriani, M.Si.
NIP 195703151987022001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Kulit Buah Kopi Oleh Isolat VTM1 (*Aspergillus* Sp.) Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cereviceae*); Fianda Deviyastuti, 141810401022; 2018; 61 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Indonesia merupakan Produsen ketiga di dunia yang memproduksi kopi dengan beberapa jenis setelah Brazil dan Vietnam. Selain itu Indonesia menjadi pengekspor kopi urutan ke-4 di dunia, sekitar 11% dari total produksi kopi setiap tahunnya. Kapasitas Produksi kopi yang tinggi ini tentunya akan meningkatkan jumlah limbah yang dihasilkan dari pengolahan buah kopi. Limbah yang sangat melimpah di lingkungan yaitu limbah kulit buah kopi, hampir 50% limbah kulit kopi dihasilkan setiap produksinya. Kulit buah kopi mengandung beberapa senyawa organik seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin termasuk dalam polimer alami yang sulit didegradasi di lingkungan. Degradasi polimer dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme, isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) menjadi agen penghidrolisis substrat. Isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) merupakan jenis kapang yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler berupa enzim selulase yang memiliki kemampuan memecah selulosa menjadi monomer berupa glukosa. Glukosa yang dihasilkan ini dapat dimanfaatkan kembali oleh mikroorganisme lain sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan limbah kulit kopi melalui hidrolisis dengan memanfaatkan agen kapang untuk Produksi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cereviceae*). Protein Sel Tunggal (PST) merupakan sel kering yang digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan. PST diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif dalam pemenuhan kebutuhan protein di masa yang akan datang, karena mengandung karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, dan nutrien lain yang dibutuhkan bagi pertumbuhan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 tahap utama yaitu tahap pertama, persiapan penelitian yang meliputi: Peremajaan isolat, pembuatan kurva standart glukosa, pembuatan reagen *Somogyi-Nelson* dan analisis kepadatan spora. Tahap kedua adalah hidrolisis kulit buah kopi yang meliputi: optimasi produksi enzim, produksi skala besar dan analisis gula reduksi dengan metode *Somogyi-Nelson*. Tahap terakhir yaitu produksi PST yang meliputi; penentuan konsentrasi dan waktu optimum pertumbuhan PST dalam hidrolisat kulit buah kopi, kemudian analisis gula reduksi yang digunakan pada pertumbuhan PST.

Hasil dari penelitian ini adalah waktu optimum untuk kepadatan spora yaitu pada hari ke-3 dengan jumlah spora mencapai $1,52 \times 10^8$ sel/ml. Sedangkan untuk waktu optimum produksi enzim yaitu pada inkubasi hari ke-4. Waktu optimum ini digunakan untuk melakukan produksi skala besar (dalam skala laboratorium) hidrolisat kulit buah kopi, karena pada hari ke-4 tersebut kapang berhasil menghasilkan enzim ekstraseluler untuk menghidrolisis substrat sehingga didapatkan konsentrasi gula reduksi yang besar. Hasil dari hidrolisis menunjukkan Isolat VTM 1 (*Aspergillus* sp.) mampu menghidrolisis substrat kulit buah kopi dapat dilihat dari hasil optimasi produksi enzim yaitu aktivitas enzim paling tinggi optimum pada inkubasi hari ke-4 dengan jumlah gula reduksi sebesar 17,25 $\mu\text{g/ml}$. Gula reduksi yang digunakan sebagai sumber karbon, terbukti dimanfaatkan oleh PST untuk pertumbuhannya dengan adanya peningkatan jumlah sel seiring dengan menurunnya jumlah gula reduksi yang terdapat dalam hidrolisat. Konsentrasi tertinggi pertumbuhan PST pada hidrolisat kulit buah kopi yaitu pada tanpa pengenceran dengan waktu optimum inkubasi jam ke-42 dengan jumlah $2,2 \times 10^7$ sel/ml.

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT. Atas segala rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Kulit Buah Kopi Oleh Isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) Sebagai Medium Produksi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cereviceae*)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dosen pembimbing utama Dr. Kahar Muzakhar, S.Si, dosen pembimbing anggota Drs. Siswanto, M.Si, dosen sekaligus penguji saya Drs. Rudju Winarsa, M.Kes dan Dra. Mahriani, M.Si yang telah memberikan ilmu, saran, kritik dan bimbingan yang sangat bermanfaat ;
2. Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang banyak membantu penulis selama penelitian;
4. papa, mama, adik-adik, dan seluruh keluarga yang telah memberikan banyak do'a, motivasi, materi, dan dukungan yang tiada henti;
5. sahabat-sahabat terdekat saya, Lailly Nur Uswatul Hasanah, Iis Maghfiroh, Arina Amalia dan sahabat-sahabat Bivalvia lainnya yang tidak bisa saya sebut satu persatu terhadap dukungan, doa dan semangat untuk saya;
6. seluruh personil laboratorium enzim (Mikrobiologi), Mbak Putri Rahardiyani, Mas Syafiq Ubaidillah, Zunairoh Nida'an, Khilia Nisa', Dwi Nur Hanifah, dan Siti Erlinkha yang telah banyak mendukung dan memberikan pencerahan pada proses penyelesaian skripsi saya;
7. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan penulisan. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 22 Juni 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING.....	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kulit Buah Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i> L.).....	4
2.2 Kapang Isolat VTM 1 (<i>Aspergillus</i> sp.)	7
2.3 Hidrolisis Material Organik	11
2.4 Protein Sel Tunggal (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	12
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
3.2 Alat dan Bahan	16

3.3	Prosedur Penelitian	16
3.3.1	Persiapan Penelitian	18
3.3.2	Hidrolisis Kulit Kopi oleh <i>Aspergillus</i> VTM1	21
3.3.3	Produksi <i>S. cerevisiae</i> . pada Hidrolisat Kulit Kopi.....	22
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1	Analisis Kepadatan Spora <i>Aspergillus</i> VTM1	24
4.2	Optimasi Produksi Enzim	25
4.3	Hasil Hidrolisis Kulit Buah Kopi oleh <i>Aspergillus</i> sp.	26
4.4	Produksi <i>S. cereviceae</i> pada Hidrolisat Kulit Buah Kopi	27
BAB 5.	PENUTUP	31
5.1	Kesimpulan	31
5.2	Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komponen Polisakarida Kulit Buah Kopi.....	6
2.2 Pemanfaatan Limbah Kulit Buah Kopi di Indonesia_	7
2.3 Jenis – jenis Enzim yang dihasilkan <i>Aspergillus</i> sp.....	10
2.4 Mikroorganisme yang digunakan sebagai PST	13
2.5 Komponen sel <i>S.cereviceae</i>	15
4.1 Gula Reduksi hasil Hidrolisis Substrat Kulit Buah Kopi oleh Isolat VTM1 ..	27

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Limbah Kulit Buah Kopi.....	5
2.2 Struktur Buah Kopi.....	6
2.3 Morfologi Koloni <i>Aspergillus</i> sp.	8
2.4 Struktur Selulosa.....	11
2.5 Degradasi Selulosa oleh Enzim	12
2.6 Morfologi Koloni <i>S.cereviceae</i>	14
3.1 Bagan Prosedur Penelitian.....	17
4.1 Kurva Kepadatan Spora <i>Aspergillus</i> sp.....	24
4.2 Kurva Optimasi Produksi <i>crude</i> Enzim	25
4.3 Konsentrasi dan Waktu Optimum Yeast pada Hidrolisat	28
4.4 Hubungan Populasi PST dengan Konsumsi Gula Reduksi	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media	40
A.1 Komposisi Media PDA	40
A.2 Komposisi Media YPD	41
A.3 Komposisi Media YPDA	41
B. Komposisi Reagen Somogyi-Nelson.....	42
A.1 Komposisi Reagen Somogyi	42
A.2 Komposisi Reagen Nelson	42
C. Kurva Standart Glukosa.....	43
A.1 Tabel Standart Glukosa.....	43
A.2 Kurva Standart Glukosa.....	43
D. Kurva Standart Populasi PST	44
A.1 Tabel Standart Populasi PST.....	44
A.2 Kurva Standart Populasi PST.....	44

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan komoditi perkebunan yang sangat penting di dunia. Terdapat sekitar 60 negara penghasil kopi dan Indonesia menempati posisi ketiga setelah Brazil dan Vietnam. Selain buah yang memiliki nilai jual yang tinggi, kopi menghasilkan limbah sampingan berupa kulit kopi. Limbah kulit kopi yang dihasilkan sekitar 50% dari hasil panen (Puslitkoka, 2005). Berdasarkan data Badan Litbang Pertanian (2004), pengolahan kopi merah menghasilkan 65% biji kopi dan 35% limbah kulit kopi. Sebagian masyarakat menanggulangi penumpukan limbah tersebut hanya dengan membakar saja (Murni *et al.*, 2008). Adanya kajian tentang manfaat kulit kopi dapat dijadikan referensi untuk meningkatkan nilai ekonomi dari limbah tersebut, dengan mencari terobosan-terobosan baru dalam pemanfaatan kulit kopi.

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Falahuddin *et al.*, (2016) bahwa limbah kulit kopi dijadikan sebagai pupuk bagi pertumbuhan bibit kopi, selain itu limbah kulit buah kopi juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan etanol sesuai dengan penelitian yang dilakukan Raudah dan Ernawati (2012). Salah satu contoh pemanfaatan yang dapat dilakukan terhadap kulit kopi pada penelitian ini yaitu menggunakannya sebagai medium tumbuh bagi mikroorganisme PST. Medium tumbuh tersebut harus mengandung nutrisi yang mencukupi, nutrisi itu didapat dari hasil hidrolisis senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana dengan bantuan mikroorganisme jenis kapang. Kapang merupakan mikroorganisme penghasil enzim yang baik. Fungsi enzim dalam kehidupan sangatlah penting karena berperan sebagai biokatalisator yaitu mempercepat reaksi yang ada dalam sel atau tubuh sehingga memudahkan terpecahnya molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana (Meryandini *et al.*, 2009). Melalui hidrolisis dengan bantuan isolat kapang VTM1 (*Aspergillus sp.*) yang sebelumnya telah diidentifikasi oleh Yuniar (2013) dalam penelitiannya, limbah kulit kopi dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan Protein Sel Tunggal (PST).

Protein Sel Tunggal adalah sel kering atau biomassa mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan seperti khamir, bakteri, dan ganggang. PST dimanfaatkan manusia sebagai suplemen makanan atau pakan ternak (Ofodile, 2010). PST merupakan salah satu alternatif untuk pemenuhan kebutuhan protein di masa depan karena mempunyai komposisi kandungan asam amino esensial yang dibutuhkan manusia dan hewan (Kuswardani dan Wijajaseputra, 1998). Selain mengandung protein, PST juga mengandung karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, dan nutrisi lain yang dibutuhkan oleh manusia. PST memiliki prospek yang cukup baik untuk dikembangkan lebih lanjut. Hal ini dikarenakan banyak keuntungan yang ditimbulkan dari produksi PST yaitu; proses produksinya tidak memerlukan areal yang luas, tidak menimbulkan limbah, serta proses produksinya cepat (Nasseri *et al.*, 2011). Setiap mikroorganisme yang mampu tumbuh menggunakan selulosa sebagai sumber karbon maka berpotensi digunakan untuk membuat Protein Sel Tunggal (Pawignya, 2011).

Salah satu yeast yang saat ini dikembangkan sebagai agen PST adalah *Saccharomyces cerevisiae*, kandungan protein di dalamnya setara dengan protein yang ada pada kacang kedelai yaitu sebanyak 47-53% (Nasseri *et al.*, 2011). Mikroorganisme ini memanfaatkan nitrogen, karbon, dan mineral dalam medium sebagai substrat metabolisme untuk sintesis komponen sel (Yulita, 2014). *Saccharomyces cereviceae* mempunyai bentuk sel bulat dan ukurannya lebih besar dibandingkan mikroorganisme lainnya sehingga mudah untuk diamati. Selain itu yeast ini dapat tumbuh pada substrat dengan pH yang rendah serta memiliki kandungan asam nukleat yang lebih rendah. (Raudah dan Ernawati, 2012). Kelebihan-kelebihan dari yeast tersebut menjadi dasar pemilihan untuk menumbuhkan mikroorganisme PST yang memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan mikroorganisme lainnya.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini yaitu apakah isolat VTM1 (*Aspergillus* sp.) mampu menghidrolisis substrat kulit buah kopi dan bagaimana pemanfaatan hasil hidrolisis tersebut sebagai medium produksi PST (*Saccharomyces cereviceae*)?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada parameter kemampuan hidrolisis isolat VTM1 pada kulit buah kopi, uji aktivitas enzim serta pertumbuhan optimum PST *Saccharomyces cerevisiae* yang meliputi konsentrasi media dan waktu inkubasi.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat VTM1 dalam menghidrolisis kulit buah kopi serta pemanfaatan hidrolisat kulit buah kopi sebagai medium produksi PST.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi inovasi baru dan pendukung dari alternatif sebelumnya dalam mengatasi dan mengelola limbah kulit buah kopi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kandungan Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Salah satu komoditi pertanian sebagai penghasil sumber devisa Indonesia dan memegang peranan penting dalam pengembangan industri perkebunan ialah tanaman kopi. Buah kopi diolah menjadi bubuk kopi melalui proses pengolahan yang sistematis, dalam kondisi yang segar buah kopi terdiri atas kulit buah 45%, mucilage 10%, kulit biji 5% dan biji kopi 40% (Murni *et al.*, 2008). Menurut Najiyati dan Danarti (1997), terdapat tiga jenis kelompok kopi yang terkenal di Indonesia yaitu kopi Arabika, kopi Robusta, dan kopi Liberika. Jenis kopi yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi adalah kopi Arabika dan Robusta. Kopi jenis Liberika merupakan tanaman endemik Afrika, memiliki karakteristik yaitu buahnya berukuran besar, tumbuh di daerah tropis dan memiliki toleransi tinggi terhadap tanah yang kurang subur (Azwar, 2012). Jenis kopi yang kedua adalah kopi Arabika, kopi ini umumnya tumbuh dan bereproduksi baik di daerah gunung (Karim, 2007). Tanaman kopi arabika tidak bisa mentolerir tanah yang tergenang air karena akan menyebabkan menurunnya hasil panen dalam jumlah besar (Hiwot, 2011).

Jenis kulit buah kopi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi Robusta (*Coffea canephora* L.). Kopi Robusta mendominasi perkebunan kopi karena areal kopi robusta tersebar hampir di seluruh kepulauan Indonesia. Wijaya (2003) melaporkan bahwa sebanyak 245.051 ton kopi Robusta diekspor Indonesia ke mancanegara dalam kurun waktu 1997-2001. Berdasarkan data dari *International Coffee Organization* (2012) menyebutkan bahwa sejak tahun 2010 peningkatan rata-rata konsumsi kopi dunia sebesar 2,5% per tahun. Pada tahun 2020 diperkirakan kebutuhan kopi dunia akan mencapai angka 10,3 juta ton (Chandra *et al.*, 2013). Elias (1979) melaporkan bahwa buah kopi kering terdiri atas 55,4% biji kopi, 28,7% kulit buah (pulp) kering, 11,9% kulit cangkang, dan sisanya sebesar 4,9% berupa lendir kering. Menurut Widyotomo (2013), pulp kopi

kering terdiri atas 12,6% air; 21% serat kasar; 8,3% abu; 12,4% gula pereduksi; 44,4% ekstrak nitrogen.



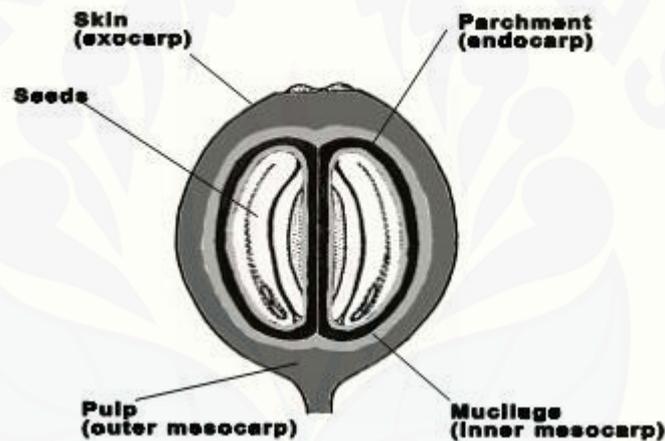
Gambar 2.1 Limbah kulit buah kopi (Pertiwi, 2016)

Limbah kulit buah kopi dimanfaatkan petani sebagai pupuk dan juga sebagai pakan ternak unggas (Raudah dan Ernawati, 2012). Limbah kulit buah kopi mengandung unsur hara dan bahan organik yang potensial dijadikan media tanam. Bahan organik yang terdapat dalam limbah tersebut merupakan salah satu faktor penentu tingkat kesuburan tanah baik fisik, kimia maupun biologi (Berlian *et al.*, 2015). Kandungan nutrisi yang terdapat pada kulit buah kopi seperti protein kasar 10,4% dan serat kasar 17,2% relatif sebanding dengan zat nutrisi rumput sehingga kulit buah kopi berpotensi digunakan sebagai pakan ternak khususnya hewan ruminansia karena dapat memenuhi nutrisi yang dibutuhkan oleh hewan ternak tersebut (Zainuddin dan Murtisari, 1995). Selain itu kulit buah kopi mengandung polisakarida lignoselulosa, Berikut ini komposisi polisakarida (% berat kering) kulit buah kopi.

Tabel 2.1 Komponen polisakarida kulit buah kopi (Diniyah *et al.*, 2013)

Kandungan	(%) berat kering
Selulosa	49
Hemiselulosa	24,5
Lignin	7,63

Buah kopi terdiri dari 5 lapisan yaitu; eksokarp (kulit buah) merupakan bagian terluar dari buah kopi, mesokarp (daging kulit) adalah bagian yang memiliki kadar air yang cukup tinggi, endokarp (kulit tanduk) merupakan bagian kulit kopi yang paling keras tersusun atas selulosa dan hemiselulosa, spermoderm (kulit ari) merupakan kulit yang paling tipis dan menempel pada kulit kopi, bagian buah kopi yang dimanfaatkan untuk diolah menjadi bubuk disebut endosperm (keping biji) (Braham dan Bressani, 1979). Pada penelitian bagian kulit kopi yang diambil yaitu bagian mesoderm (pulp) dan endokarp (kulit tanduk) karena mengandung selulosa, hemiselulosa, karbohidrat, protein dan serat (Kurniawati, 2015). Struktur dari buah kopi dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur buah kopi (Avallone *et al.*, 2002)

Limbah kulit kopi merupakan biomassa yang berpotensi untuk dimanfaatkan bagi kebutuhan manusia kedepannya. Berikut ini beberapa pemanfaatan dari limbah kulit buah kopi yang pernah dilakukan di Indonesia.

Tabel 2.2 Pemanfaatan limbah kulit buah kopi

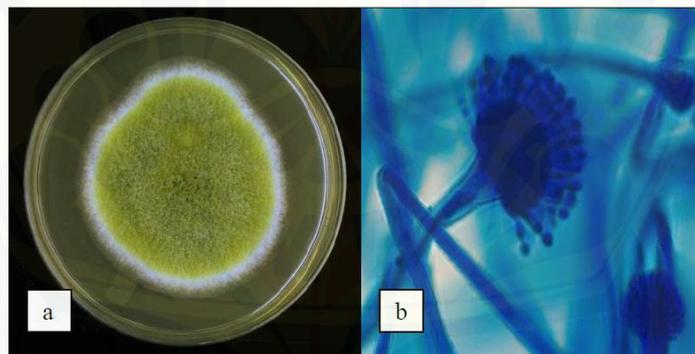
Pemanfaatan	Keterangan	Referensi
Bahan bakar alternatif briket	Pemanfaatan limbah kulit kopi sebagai bahan bakar alternatif dalam bentuk briket dan uji unjuk kerjanya	Nurlela, 2011
Bioetanol	Pemanfaatan kulit kopi Arabika dari proses pulping untuk pembuatan bioetanol	Raudah dan Ernawati, 2012
Pakan ternak	Pemanfaatan kulit buah kopi arabika dalam upaya peningkatan keuntungan UKM dan Pelestarian Lingkungan	Arnawa <i>et al.</i> , 2010
Pupuk organik	Membuat Pakan Ternak dari limbah Perkebunan	Guntoro, 2008
	Pengaruh Pemberian limbah kulit kopi (<i>Coffea robusta</i> L.) terhadap pertumbuhan cabai keriting (<i>Capsicum annum</i> L.)	Berlian <i>et al.</i> , 2015

2.2 Morfologi Kapang Isolat VTM 1 (*Aspergillus* sp.)

Berbagai macam enzim seperti amilase, selulase, dan amiloglukosidase dapat dihasilkan dari mikroorganisme yaitu jenis kapang. Kapang memiliki kemampuan tinggi dalam menghidrolisis selulosa kristalin yang merupakan komponen utama dalam selulosa alami. Kapang banyak dimanfaatkan dalam

industri fermentasi sake, miso, asam-asam organik dan juga pembuatan Protein Sel Tunggal (PST) (Frazier dan Westhoff, 1981). Klasifikasi *Aspergillus* sp. menurut Hardjo *et al.*, (1989) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Filum : Eumycophyta
Kelas : Ascomycetes
Bangsa : Eutiales
Suku : Eurotiaceae
Marga : *Aspergillus*
Jenis : *Aspergillus* sp.



Gambar 2.3 a) Morfologi koloni *Aspergillus* sp. b) Morfologi *Aspergillus* sp. (VTM1) perbesaran 1000x (Yuri, 2012).

Kapang dengan genus *Aspergillus* bersifat kosmopolit yang dapat menghasilkan spora vegetatif (konidia) dalam jumlah besar. Kapang ini juga tergolong tipe kapang yang dapat tumbuh dengan cepat, pada umumnya kapang *Aspergillus* hidup optimal pada suhu 25 – 40 °C sedangkan suhu minimum sekitar 10 °C. *Aspergillus* sp. merupakan kapang yang termasuk dalam mikroorganisme eukariotik, ciri-ciri secara mikroskopis yaitu memiliki hifa bersepta dan bercabang, konidiospora muncul dari foot cell (miselium yang bengkak dan berdinding tebal) membawa stigmata dan akan tumbuh konidia yang membentuk rantai warna hijau. *Aspergillus* sp. mempunyai kepala pembawa konidia yang besar, padat, bulat dan berwarna hitam coklat, mempunyai bagian yang khas yaitu

hifanya berseptat, spora bersifat aseksual, bersifat aerobik sehingga dalam pertumbuhannya membutuhkan oksigen dalam jumlah yang cukup. Namun jika dilihat secara makroskopis, *Aspergillus* sp. memiliki hifa yang fertil dan muncul di permukaan serta hifa vegetatif yang muncul dibawah permukaan (Srikandi, 1992). *Aspergillus* sp. tumbuh optimum pada suhu 37 °C dan pH 6,5. Sedangkan suhu dan pH optimum bagi aktivitas selulase adalah 44 °C dan pH 4,5 (Tong dan Rajendra, 1992).

Aspergillus sp. mampu menghasilkan berbagai jenis enzim, salah satu enzim yang dihasilkan oleh kapang ini yaitu enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis ikatan $\beta(1-4)$ glikosida pada selulosa (Gianfreda dan Rao, 2004). Peran selulosa dalam suatu substrat yaitu menginduksi terbentuknya enzim selulase oleh mikroorganisme selulolitik. Salah satu mikroorganisme selulolitik yang digunakan untuk menghasilkan enzim selulase adalah *Aspergillus* sp. (Nugraha, 2006). Selain enzim selulase mikroorganisme ini mampu menghasilkan enzim protease. Protease merupakan enzim penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena aplikasinya yang luas, dilihat dari peran enzim itu sendiri yang merupakan alternatif untuk menggantikan proses kimiawi dalam suatu produk sehingga tercipta produk yang ramah lingkungan. Hasil penelitian menjelaskan bahwa *Aspergillus* sp. memiliki aktivitas proteolitik pada kisaran pH 8 – 10 dan suhu 40° – 50°C (Triatmojo *et al.*, 2004).

Kapang merupakan mikroorganisme penghasil enzim yang baik. Fungsi enzim dalam kehidupan sangatlah penting karena berperan sebagai biokatalisator yaitu mempercepat reaksi yang ada dalam sel atau tubuh sehingga memudahkan terpecahnya molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana (Meryandini *et al.*, 2009). Kelebihan lainnya dari enzim yaitu dapat menghemat energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi dan tidak ikut bereaksi sehingga produk yang dihasilkan bukan campuran dari enzim. Enzim diharapkan menjadi alternatif untuk mengurangi dampak pencemaran juga pemborosan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Pemakaian enzim meningkat tajam pada 10 tahun terakhir ini karena sifatnya yang efisien, selektif, mengkatalisis

tanpa produk samping serta ramah lingkungan (Mahdiyah, 2015). Berikut ini beberapa macam enzim yang dapat dihasilkan oleh kapang *Aspergillus* sp. :

Tabel 2.3 Jenis - jenis enzim yang dihasilkan *Aspergillus* sp.

Enzim	Fungsi	Hasil	Referensi
Amilase	Aktivitas amilolitik sebagai sumber karbohidrat dalam pembuatan PST	PST (Protein Sel Tunggal)	Naiola, 1979
Lipase	Hidrolisis menjadi monogliserida, dan asam lemak	-Biokatalisis dalam industri biosensor, kimia, farmasi, pestisida, dan makanan	Pera <i>et al.</i> , 2006
Protease	Degradasi Protein untuk agensi proses unhairing	Kulit samak domba	Cihangir dan Sarikaya, 2004
Selulase	Memecah menjadi glukosa dalam proses hidrolisis	Hidrolisis dan mengalami peningkatan glukosa 30,884	Sutarno <i>et al.</i> , 2010

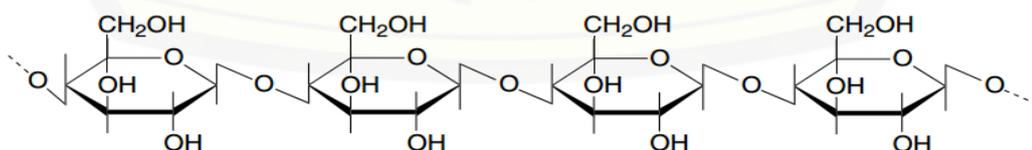
Berdasarkan hasil penelitian Yuniar (2013) didapatkan bahawa Isolat VTM 1 menghasilkan gula reduksi tertinggi pada substrat CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) (8,00 µg/ml) dan pada substrat TKKS (*Tanda Kosong Kelapa Sawit*) (11,36 µg/ml) pada waktu inkubasi 24 jam. Produk gula reduksi dari isolat ini terhadap proses hidrolisis substrat TKKS lebih tinggi dibandingkan isolat yang lainnya. Hal ini dikarenakan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat ini mampu menghidrolisis secara maksimal komponen yang terkandung dalam TKKS. Selain menghasilkan enzim selulase, isolat tersebut juga mampu

menghasilkan enzim-enzim lain yang dapat menghidrolisis komponen hemiselulosa serta lignin dalam TKKS (Lynd *et al.*, 2002).

2.3 Hidrolisis Selulosa oleh Enzim Selulase

Hidrolisis Selulosa terjadi dengan memutus ikatan $\beta(1-4)$ glikosida antara rantai yang satu dengan yang lainnya sehingga terjadi pemecahan selulosa menjadi rantai selulosa yang lebih pendek sampai akhirnya menjadi monomer glukosa (Diah, 2007). Namun proses hidrolisis dapat dihambat oleh struktur kimianya sendiri dan adanya ikatan alami selulosa dengan hemiselulosa dan lignin, sehingga dihasilkan rendemen gula yang rendah (Hawani, 2008). Hidrolisis selulosa menggunakan enzim atau mikroba sangat ditentukan oleh derajat kristalin selulosa, komposisi enzim, luas permukaan kontak, rasio antara inokulum dengan substrat, dan kemurnian substrat (Sukadarti *et al.*, 2010). Lignoselulosa dengan derajat kristalin lebih sulit untuk terdegradasi dibandingkan dengan struktur amorf (Sarkar, 2004). Laju degradasi dapat dinaikkan dengan penggilingan selulosa karena menurunkan derajat kristalin serta memperluas permukaan kontak selulosa-enzim.

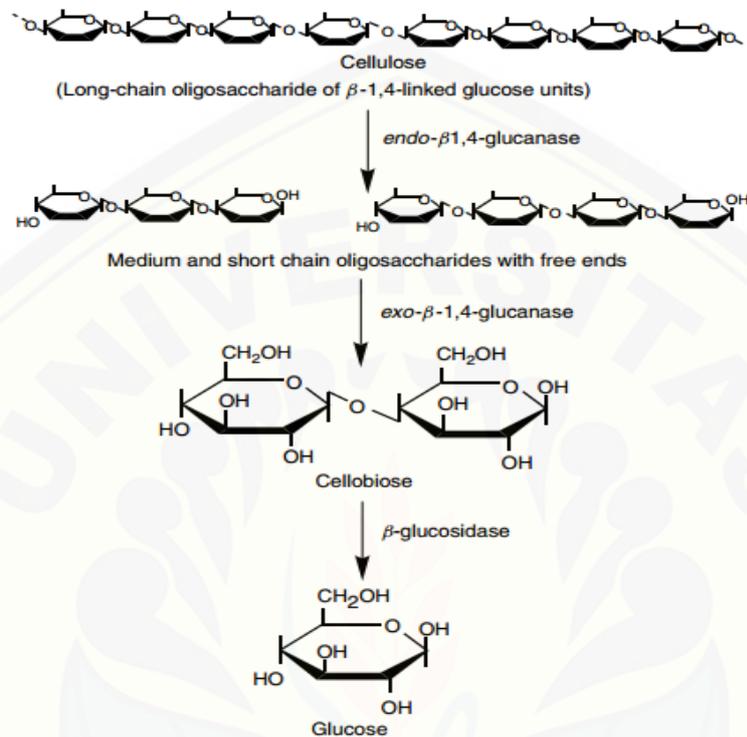
Hasil metabolit primer yang dijadikan sebagai bahan dasar penyusun tumbuhan disebut selulosa. Selulosa berbentuk polimer kristalin yang tersusun atas biopolymer, rantai selulosa dipadatkan oleh inter dan intra ikatan hidrogen. Selulosa merupakan bahan dasar penyusun tumbuhan yang merupakan hasil metabolit primer (Sukumaram *et al.*, 2005). Selulosa ditemukan dalam dinding sel tanaman ataupun fungi yang terbentuk dalam struktur kristalin dan amorf (Moat, Foster, dan Spector, 2002). Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur selulosa (Lehninger, 1993)

Proses degradasi selulosa memerlukan 3 tipe enzim berdasarkan cara kerjanya yang saling berkombinasi yaitu sebuah endo- β -1,4-glukanase berperan sebagai pengubah selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dengan rantai

akir bebas, ekso - β -1,4-glukanase memindahkan disakarida unit selobiosa dari ujung reduksi dan non reduksi rantai oligosakarida. Kemudian β -glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Moat, 2002).



Gambar 2.5 Degradasi selulosa oleh enzim (Moat *et al.*, 2002).

2.4 Morfologi Protein Sel Tunggal (*Saccharomyces cerevisiae*)

Protein Sel Tunggal (PST) adalah biomassa mikroorganisme atau sel kering yang digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan (Madigan *et al.*, 2000). PST sesuai untuk dijadikan sebagai salah satu alternatif dalam pemenuhan kebutuhan protein di masa yang akan datang, karena kandungannya yang sangat baik yaitu mengandung karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, dan nutrisi lain yang sangat dibutuhkan oleh manusia. (Purwitasari *et al.*, 2004). Keunggulan lain yang dimiliki oleh PST adalah memiliki nilai gizi lebih tinggi dibandingkan protein nabati dan tempat produksi minimal (Fardiaz, 1992). Produk biomassa yang berkadar protein ini dihasilkan oleh mikroba yang tumbuh pada substrat yang memiliki unsur nitrogen dan karbon (Pawignya, 2011).

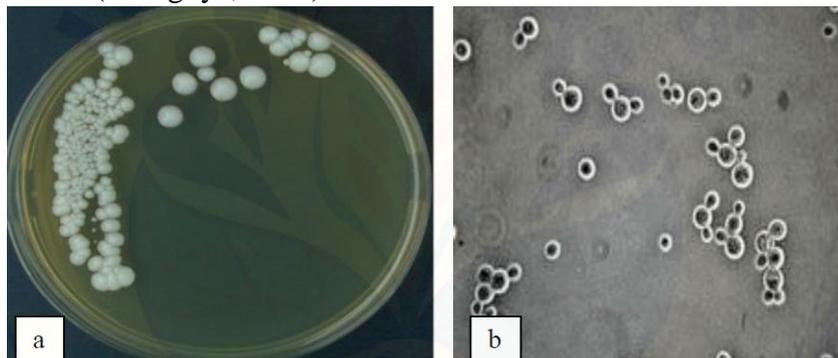
Menurut Tjokroadikoesoemo (1986) serta Gaman dan Sherrington (1992) beberapa kriteria yang penting dalam produksi PST oleh mikroba yaitu mikroba tidak bersifat patogen, memiliki nilai nutrisi yang tinggi, dapat digunakan sebagai pangan atau pakan, tidak bersifat toksik serta biaya produksi yang dikeluarkan sedikit. Beberapa mikroba yang dapat memproduksi PST yaitu bakteri, fungi, algae, dan yeast. Protein yang bersumber dari bakteri lebih banyak dimanfaatkan sebagai pengganti protein dari sumber konvensional seperti hasil perikanan, pertanian, dan peternakan (Ashok *et al.*, 2014). Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri bersifat growth fast (cepat), tidak membutuhkan media atau ruangan yang besar dan memiliki proses regenerasi yang sangat cepat (Megiandri, 2009). Beberapa jenis bakteri yang mampu memproduksi PST yaitu ; *Brevibacterium* sp., *Methylophilus* sp., *Acromobacter delvaevate*, *Acinetobacter calcoaenticu*, *Aeromonas hydrophilla*, *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Cellulomonas* sp., *Methylomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodopseudomonas* sp., dan *Flavobacterium* sp. (Adedayo *et al.*, 2011). Pawignya (2011) menjelaskan bahwa setiap mikroorganisme yang mampu tumbuh menggunakan selulosa sebagai sumber karbon maka berpotensi digunakan untuk membuat Protein Sel Tunggal. Berikut ini beberapa mikroorganisme yang termasuk PST ;

Tabel 2.4 Mikroorganisme yang digunakan sebagai PST

Kelompok	Contoh Mikroorganisme
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Candida utilis</i> , dan <i>Kluyveromyces marxianus</i> (Pawignya, 2011).
Bakteri	<i>Bacillus</i> sp., <i>Cellulomonas</i> sp. (Sukumaran <i>et al.</i> , 2005), <i>Acinobacter calceaceticus</i> , dan <i>Nocardia</i> sp. (Wulandari <i>et al.</i> , 2012), serta <i>Rhodobacter</i> (Batubara, 2010).
Mikroalga	<i>Spirulina</i> sp., <i>Chlorella</i> sp., dan <i>Scenedesmus</i> sp. (Panggabean, 1998).

Produk PST memiliki prospek yang cukup baik jika dikembangkan lebih lanjut, hal ini dikarenakan produksinya tidak membutuhkan areal yang luas, tidak menimbulkan limbah, dan proses produksinya cepat, reproduksi mikroorganisme seperti bakteri dan khamir memberikan hasil yang lebih besar setiap jam, sedangkan ganggang membutuhkan waktu kurang dari satu hari untuk memproduksi PST (Bacha, 2000). Pemanfaatan PST dapat digunakan sebagai pengganti protein dari sumber konvensional seperti hasil pertanian, perikanan, dan peternakan (Ashok, 2014). Beberapa penelitian mengenai Pemanfaatan PST yang telah berhasil dilakukan sebelumnya adalah Pembuat PST dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi yang dilakukan oleh Pawignya (2011), Optimasi Produksi PST dari Bakteri yang terdapat pada Ikan Nila dan Ikan Kembung yang dilakukan oleh Inuhan *et al* (2016) serta Produksi PST *Spirulina* sp. sebagai Super Food dalam Upaya Penanggulangan Gizi Buruk yang dilakukan oleh Amanatin *et al* (2015).

Bahan yang sering digunakan untuk memproduksi PST yaitu bahan yang mengandung gula seperti yeast (Anupama dan Ravindra, 2000). Pemilihan yeast yang digunakan dalam produksi PST harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain; laju pertumbuhan, kemudahan pemeliharaan kultur, kesederhanaan medis, dan kandungan protein serta kualitas gizinya. PST digunakan sebagai sumber protein dan sumber vitamin B juga mineral sehingga harus memenuhi kriteria tersebut. Proses pembuatan PST dilakukan dengan fermentasi, merupakan perubahan substrat menjadi bahan lain karena pengaruh aktivitas mikroba (Ofodile, 2010). Beberapa faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses fermentasi yaitu; kadar gula, kebutuhan nutrisi, pH, temperatur, aerasi dan waktu fermentasi. Kandungan protein kasar pada yeast berkisar 55% - 60% sebanding dengan yang ada pada algae yaitu sebesar 60% sedangkan pada fungi berkisar 50% - 55% (Pawignya, 2011).



Gambar 2.6 a) Koloni *Saccharomyces cerevisiae* b) Sel *Saccharomyces cerevisiae* perbesaran 1000x (Department of Veterinary Disease Biology, 2011).

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yeast merupakan khamir kelas Ascomycetes yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga berpotensi sebagai agen Protein Sel Tunggal (PST). Khamir ini mempunyai bentuk sel oval dan sistem reproduksi berupa pertunasan multilateral. Tunas tersebut muncul disekitar ujung sel (Masithoh, 2012). Sporangya berbentuk bulat atau oval dengan permukaan halus (Fardiaz, 1992). Selain itu *S. cerevisiae* tidak bersifat toksik juga mudah ditumbuhkan pada berbagai media dengan sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air (Amaria *et al.* , 2001). Medium yang biasa digunakan menumbuhkan yeast tersebut yaitu *Yeast Extract Peptone Dextrose* (YEPD) dan *Yeast Extract Peptone Gliserol* (YEPG) (Goeddel, 1990; Purwitasari *et al.*, 2004). *S. Cereviceae* mengandung vitamin B kompleks dan mineral-mineral sehingga sangat baik dikonsumsi sebagai suplemen makanan bagi manusia dan hewan (Tjokroadikoesoemo, 1986). Adapun komposisi sel *S. Cereviceae* dapat dilihat pada tabel 2.6

Tabel 2.6 Komponen sel *S.cereviceae* (Fardiaz, 1992)

Komponen	Jumlah (% berat kering)
Protein	39,0
Lemak	8,0
Polisakarida	34,1
Disakarida	5,0
Asam Nukleat	10,8

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan Januari 2018 sampai Mei 2018

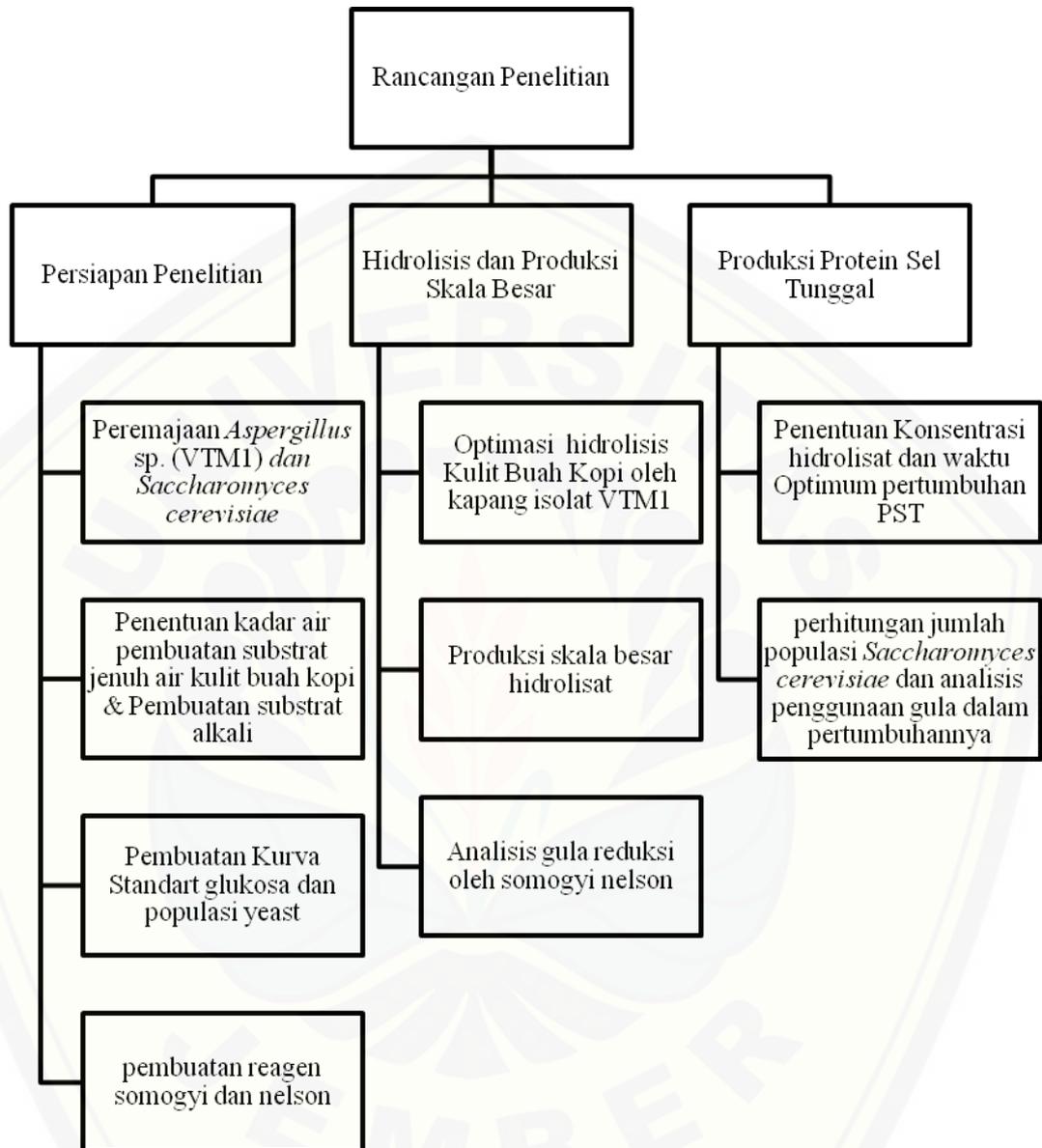
3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, gelas ukur, gelas Beaker, labu Erlenmeyer, spatula, pipet mikro, pipet tetes, pipet volume, tip, falcon, corong, autoklaf, shaker, sentrifuge, oven, lemari es, vortex, penangas air, Laminar Air Flow (LAF), stirrer, inkubator, lampu bunsen, kapas, korek api, kertas tisu, kertas label, spidol penanda, mikroskop, saringan, aluminium foil, pH meter, dan haemocytometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit lunak buah kopi (bagian epikarp) yang sudah dihaluskan dengan mesin selep, biakan *Aspergillus* VTM1, garam fisiologis (NaCl), Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), Medium *Yeast Extract Peptone Dextrose* (YEPD), reagen Somogyi dan Nelson, buffer phospat, akuades, alkohol 70%, asam asetat, garam iodine, dan NaOH 2M.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan dalam 3 tahapan utama. Tahapan-tahapan tersebut dirancang dalam bagan prosedur penelitian yang dapat dilihat dibawah ini



Gambar 3.1 Bagan prosedur penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Sub Kultur *Aspergillus* VTM1 dan *Saccharomyces cerevisiae*

Peremajaan dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat kemudian diinokulasikan pada 5 ml PDA dalam tabung reaksi, setelah itu diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C sebagai stok isolat kapang.

1 ose isolat yeast diinokulasikan ke dalam 10 ml YEPD pada petridish dengan cara streak plate kemudian diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 30° C. Selanjutnya di subkultur 1 ose isolat ke dalam media YEPD miring pada tabung reaksi dan diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 30° C sebagai stok isolat khamir.

b. Persiapan Substrat Alkali Ekstrak Kulit Buah Kopi

Kulit buah kopi didapat dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao di Jenggawah, Jember berupa kulit kering. Kulit Buah Kopi tersebut dihaluskan dengan cara di giling dengan mesin penggilingan sampai diperoleh serbuk kulit buah kopi yang halus. Selanjutnya proses pembuatan substrat alkali ekstrak dilakukan dengan cara mensuspensikan 100 gr bubuk kulit kopi dan dihidrolisis menggunakan 80 gr NaOH 2M yang dilarutkan dalam aquadest 1000 ml. Selanjutnya hasil dari proses tersebut dihomogenkan menggunakan magnetic stire selama 24 jam. NaOH berperan sebagai delignificat, senyawa ini merusak struktur lignin pada bagian klistalin dan amorf. Ion OH⁻ dan NaOH memutus ikatan-ikatan struktur dasar lignin, sedangkan ion Na⁺ akan berikatan dengan lignin membentuk Natrium Fenolat (lebih mudah larut). Setelah 24 jam dilakukan pengaturan pH hingga mencapai 7 dengan menambahkan CH₃COOH sedikit demi sedikit. Hasil hidrolisis difiltrasi menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat. Filtrat diekstraksi dengan etanol dengan perbandingan 6 : 4. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi hingga terbentuk supernatan dan pellet, supernatan dibuang sedangkan pellet dikeringkan pada suhu 50°C.

c. Penentuan Kadar air dalam pembuatan Substrat jenuh air

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 (Kurniawati,2016).

Setelah itu dilakukan pembuatan substrat kulit kopi jenuh air dengan cara sebanyak 10 gram substrat kulit kopi dimasukkan kedalam Erlenmeyer 200 ml kemudian ditambahkan air sesuai kadar air yang telah dihitung. Selanjutnya dilakukan sterilisasi pada substrat tersebut menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 25 menit.

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 aquadest 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°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 mm²)

h = kedalaman bidang hitung (0,1 mm)

d = faktor pengenceran (10⁻¹)

10³ = volume suspense yang diambil (µL)

e. Pembuatan Kurva Standart Glukosa dan Populasi Yeast

Sebanyak 0.01 gram glukosa dilarutkan dalam aquadest hingga 1000 ml. Perlakuan ini merupakan larutan standart dengan konsentrasi 100 µg/ml. Kurva standart ini menggunakan pengenceran dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 µg/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.

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

Kontrol	: 0 µL suspensi yeast + 1000 µL YEPD cair tanpa inokulum
Pengenceran 5X	: 200 µL suspensi yeast + 800 µL YEPD cair tanpa inokulum
Pengenceran 4X	: 400 µL suspensi yeast + 600 µL YEPD cair tanpa inokulum
Pengenceran 3X	: 600 µL suspensi yeast + 400 µL YEPD cair tanpa inokulum
Pengenceran 2X	: 800 µL suspensi yeast + 200 µL YEPD cair tanpa inokulum
Tanpa Pengenceran	: 1000 µL suspensi yeast

e. Pembuatan Reagen Somogyi dan Nelson

Reagen Somogyi dan Nelson digunakan untuk menganalisis gula reduksi ekstrak kasar enzim. Pembuatan Reagen Somogyi menggunakan 4 jenis larutan. Larutan 1 terdiri dari 24 gram Na₂SO₃ dan 12 gram Potassium Sodium yang dilarutkan dalam 240 ml aquades, larutan 2 terdiri dari 1 gram CuSO₄.5H₂O yang dilarutkan dalam 40 ml aquades kemudian ditambahkan 16 gram Na₂HCO₃. Larutan 3 merupakan hasil campuran dari larutan 1 dan 2, sedangkan untuk

larutan 4 dibuat dengan melarutkan 180 gram Na_2SO_4 ke dalam 300 ml aquades sambil dipansakan hingga mendidih. Setelah itu larutan 3 dan 4 dicampurkan dengan aquades hingga volumenya mencapai 1000 ml. Reagen ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam botol gelap, setelah 24 jam reagen ini diinkubasikan pada suhu $20^\circ - 40^\circ\text{C}$.

Reagen Nelson dibuat dengan cara mencampurkan 2 jenis larutan. Larutan 1 dibuat dengan melarutkan 50 gram $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Ammonium heptamolybdate) dalam 500 ml aquadest dan ditambahkan 46 ml sulfanic acid. Larutan kedua dibuat dengan melarutkan 6 gram $\text{NaHSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 25 ml aquades. Kemudian kedua larutan tersebut dicampurkan dan ditambah aquadest hingga volume mencapai 1000 ml. Inkubasi reagen ini sama halnya dengan reagen sebelumnya yaitu pada suhu 37°C selama 24 jam dalam botol gelap, selanjutnya diinkubasi pada suhu $20^\circ - 40^\circ\text{C}$.

3.3.2 Hidrolisis Kulit Kopi oleh *Aspergillus* VTM1

a. Optimasi Hidrolisis Kulit buah kopi oleh Isolat VTM1

Optimasi ini dilakukan dengan menginokulasi 1 ml suspensi *Aspergillus* sp. VTM1 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. Optimasi hidrolisis dilakukan untuk mengetahui waktu terbaik yang dibutuhkan kapang dalam menghasilkan gula reduksi.

b. Hidrolisis Kulit buah Kopi oleh Isolat VTM1

Sebanyak 10 gram substrat kulit buah kopi jenuh air steril diinokulasikan dengan kapang *Aspergillus* sp. VTM1 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

Pemanenan dilakukan menggunakan penambahan 0,01% Na azide dan 1% NaCl kedalam hidrolisat dengan perbandingan 1:4. Kemudian dilakukan shaker selama 6 jam 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 pore filter (Kurniawati,2016).

d. Analisis Gula Reduksi dengan metode Somogyi Nelson

Perhitungan gula reduksi awal dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 ml reagen somogyi ke dalam 0,5 ml hidrolisat, reagen tersebut berfungsi sebagai senyawa yang direduksi kemudian dididihkan pada penangas air selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan pula reagen Nelson 0,5 ml, selanjutnya ditambahkan aquades 2,5 ml dan diukur nilai absorbansi 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.

3.3.3 Produksi *Saccharomyces cerevisiae*. pada Media Hasil Hidrolisat Kulit Kopi

a. Penentuan Konsentrasi Hidrolisat Kulit Buah Kopi dan Optimasi Waktu Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Sebanyak 1 ose koloni *Saccharomyces cerevisiae* diinokulasikan pada 20 ml YEPD cair kemudian dishaker 120 rpm selama 72 jam sampai media menjadi keruh. Selanjutnya diambil 100 µl dari kultur dan diinokulasikan pada 50 ml hidrolisat kulit kopi steril yang telah dilakukan pengenceran 2x, 3x, 4x, dan 5x dari konsentrasi awal dengan 2x pengulangan. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* diinkubasi shaker 120 rpm selama 72 jam pada suhu kamar. Setiap interval 6 jam

dilakukan pengambilan sampel sebanyak 1 ml kemudian dilakukan pengukuran jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*.

b. Perhitungan Jumlah Populasi *Saccharomyces cerevisiae* dan Analisis Penggunaan gula dalam pertumbuhannya

Perhitungan ini dilakukan dengan cara memasukkan 100 μ l sampel kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan waktu inkubasi ke dalam media YEPD 900 μ l dengan 2x pengulangan. Setelah itu suspensi sel pada media YEPD dihomogenkan dan dengan cepat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan persamaan yang didapatkan pada pembuatan kurva standart hubungan *Saccharomyces cerevisiae* pada panjang gelombang 600 nm dengan populasinya pada haemocytometer.

Sampel kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan interval jam disentrifugasi 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan filtrate dari sel. Kemudian 50 μ l filtrat ditambah aquadest 450 μ 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 dimasukkan pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standart glukosa kemudian dibandingkan dengan larutan standart glukosa (Mahmuda, 2016).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Isolat VTM 1 (*Aspergillus* sp.) mampu menghidrolisis substrat kulit buah kopi dapat dilihat dari hasil optimasi produksi enzim yaitu aktivitas enzim paling tinggi optimum pada inkubasi hari ke-4 dengan jumlah gula reduksi sebesar 17,25 µg/ml. Gula reduksi yang digunakan sebagai sumber karbon, terbukti dimanfaatkan oleh PST untuk pertumbuhannya dengan adanya peningkatan jumlah sel seiring dengan menurunnya jumlah gula reduksi yang terdapat dalam hidrolisat. Konsentrasi tertinggi pertumbuhan PST pada hidrolisat kulit buah kopi yaitu pada tanpa pengenceran dengan waktu optimum inkubasi jam ke-42 dengan jumlah $2,2 \times 10^7$ sel/ml.

5.2 Saran

Sebaiknya untuk penelitian selanjutnya ditambahkan metode penambahan nutrisi untuk lebih dari satu jenis mikroorganisme yang akan tumbuh pada medium hasil hidrolisis, sehingga dapat secara maksimal mendukung pertumbuhan dari mikroorganisme tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam dan Shovitri, M. 2013. Pengaruh Waktu dan pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Keratinase dari Isolat *Bacillus* SLII-I. *Jurnal Mikrobiologi*, 1-5.
- Adedayo, M.R., Ajiboye, E.A., Akintunde, J.K., dan Odaibo, A. 2011. Single Cell Proteins; As Nutritional Enhancer, *Pelagia Research Library*, 2(5): 396-409.
- Al-Kayyis, H. K., & Susanti, H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat Pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi Dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 13(2): 81-89.
- Amaria, Isnawati, Rini, dan Tukiran. 2001. Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari limbah buah dan sayur sebagai sumber vitamin B. *Himpunan Makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan*. 138-150.
- Amira, D., Roshanida, A., & Rosli, M. 2012. Effects of Xylanase and Cellulase Production during Composting of EFB and POME using Fungi. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 6(8), 340-343.
- Anupama dan Ravindra P. 2001. Studies on Production of Single Cell Protein by *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation of Rice Bran. *Braz Arch Biol Technol*. 44: 79-88.
- Arnawa, I.K., Martiningsih, E., Budiasa, L.M., dan Sukarna, I.G. 2010. Pemanfaatan Kulit Limbah Buah Kopi Arabika dalam Upaya Peningkatan Keuntungan UKM (Usaha Kecil dan Menengah) dan Pelestarian Lingkungan. *Majalah Aplikasi Iptek Ngayah Universitas Mahasarawati Denpasar*, 1(1): 89-96.
- Ashok, G.V., Pounikar, M.A dan Gulhane, P.A. 2014. Liquid Whey: A Potential Substrate for Single Cell Protein Production from *Bacillus subtilis* NCIM 2010. *International Journal of Life Sciences*, 2(2): 119-123.
- Avallone S, Brillouet JM, Guyot B, Olguin E, Guiraud JP. 2002. Involvement of Pectolytic Micro-organisms in Coffee Fermentation. *Food Sci Technol Int*. 37: 191-198.
- Azwar, A.B. 2012. Intensifikasi Kopi jadi Program Unggulan Baru. *Media Perkebunan*, 99: 16-17.

- Bacha, W.J dan Bacha, L.M. 2000. Color Atlas of Veterinary Histology. Edisi ke 2. Lippincott Williams and Wilkins, Marryland. 227.
- Badan Litbang Pertanian. 2004. *Rancangan Dasar PRIMA TANI (Program Rintisan dan Akselarasi Pemasarakatan Inovasi Teknologi Pertanian)*. Badan Litbang Deptan.
- Batista, L. R., Chalfoun, S. M., Silva, C. F., Cirillo, M., Varga, E. A., dan Schwan, R. F. 2009. Ochratoxin a in Coffee Beans (*Coffea arabica* L.) Processed by Dry and Wet Method. *Journal of Food Control*. 20:784-790.
- Batubara, U. M. 2010. Pembuatan Pakan Ikan dari Protein Sel Tunggal Bakteri Fotosintetik Anoksigenik dengan Memanfaatkan Limbah Cair Tepung Tapioka yang Diuji Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi Sumatera: Universitas Sumatera Utara*.
- Berlian, Zainal., Syarifah, dan Devia. 2015. Pengaruh Pemberian Limbah Kulit Kopi (*Coffea Robusta* L.) Terhadap Pertumbuhan Cabai Keriting (*Capsicum Annum* L.). *Jurnal Biota*, 1(1).
- Braham, J.E. dan R. Bressani.1979. *Coffe Pulp, Composition, Technology and Utilization*. Ottawa: International Development Research.
- Chandra Devi, R. Hanung Ismono, Eka Kasymir. 2013. Prospek Perdagangan Kopi Robusta Indonesia di Pasar Internasional (Indonesian Robusta Coffee Trade Prospects In The International Markets). *JIIA*. Vol 1(1).
- Cihangir, N dan Sarikaya, E. 2004. Investigation of Lipase Production by a New Isolate of *Aspergillus* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(2): 193-197.
- Departmen of Veterinary Disease Biology. 2011. *Saccharomyces cerevisiae*. http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/veterinary/fungus/Saccharomyces_cerevisiae/. Diakses pada 13 Desember 2017.
- Deswal, D., Khasa, Y.P., dan Kuhad, R.C. 2011. Optimization of Cellulasse Production by a Brown Rot Fungus *Formitopsis* sp. RCK2010 Under Solid State Fermentation. *Journal Bioresource Technology*, 102(10):6065-6072.
- Diah, N. M. 2007. Studi Aktivitas Spesifik Selulase dari *Lactobacillus collinoides* yang Dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat. *Skripsi*. Universitas Brawijaya.

- Diniyah N, Maryanto N, Ahmad S, Demi S, Achmad. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi polisakarida larut air dari kulit kopi varietas Arabika (*Coffea arabica*) dan Robusta (*Coffea canephora*). *J Teknologi Pertanian* 14: 73-78.
- Elias, L.G. (1979). Chemical composition of coffee berry by product. p. 11-16. In: J.E. Braham & R. Bressani. *Coffee Pulp, Composition, Technology and Utilization*. International Development Research Centre, Ottawa.
- Falahuddin, I., Restu, A, dan Harmeni, L. 2016. Pengaruh Pupuk Organik Limbah Kulit Kopi (*Coffea Arabica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi. *Jurnal Bioilmi*, 2(2): 108.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Frazier W.C dan Westhoff D.C. 1981. *Food Microbiology*. New Delhi: Tata Me GrawHill Pub, CO.
- Gaman PM, Sherrington KB. 1992. *Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*, Murdijati G, et al, penerjemah. Yogyakarta: Penerbit Gajah Mada University Press. Terjemahan dari: *The Science of Food, An Introduction to Food Science, Nutrition and Microbiology*.
- Gianfreda, L. dan Rao, M.A. 2004. Potential of Extracellular Enzymes in Remediation of Polluted Soils: *A Review, Enzyme and Microbial Technology*. 35: 339-354
- Guntoro, S. 2008. *Membuat Pakan Ternak dari Limbah Perkebunan*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Hardjo, S., Indrasti, N.S., dan Bantacut, T. 1989. *Biokonversi. Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Hawani, E. L. 2008. Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandem Kosong Kelapa Sawit menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Hiwot, H. 2011. Growth and Physiological Response of Two *Coffea Arabica* L. Population Under High and Low Irradiance. *Thesis*. Addis Ababa University.
- Handoko, T., Suhandjaja, dan Muljana. 2012. Hidrolisis Serat Selulosa Dalam Buah Bintaro Sebagai Sumber Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. Vol. 11, No. 1: 26-33.

- International Coffee Organization (ICO). 2012. *All Exporting Countries Total Production Crop Years*. England: International Coffee Organization.
- Inuhan, Berly., Arreneuz, S, dan Wibowo, M.A. 2016. Optimasi Produksi Protein Sel Tunggal (PST) dari Bakteri yang Terdapat Pada Gastrointestinal (GI) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Kembung (*Scomber canagorta*). *JKK*, 5(1): 24-28.
- Ijaz, A., Anwar, Z., Zafar, Y., Hussain, I., Muhammad, A., Irshad, M., dan Mehmood, S. 2011. Optimization of Cellulase Enzyme Production from Corn Cobs Using *Alternaria alternata* by Solid State Fermentation. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 9(2), 51-56.
- Karim, A. 2007. Pengembangan Kopi Arabika Organik di Bener Meriah. Pelatihan Penyuluh Pertanian Lapangan Kabupaten Bener Meriah, Pondok Gajah.
- Kurniawati, Nurleni. 2015. Ekstraksi Senyawa Polifenol Melalui Degradasi Biomassa Lignoselulosa Kulit Kopi Menggunakan Konsorsium Aktinomiset. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawati, Nur Halimah. 2016. Uji Aktivitas *Crude* Enzim Ekstraseluler *Aspergillus* VT12 Dalam Mendekomposisi Polisakarida dari Tepung Kulit Lunak Buah Kopi. *Skripsi*. Jember: FMIPA Biologi Universitas Jember.
- Kuswardani, I., dan Widjajaseputra. (1998). Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* Pada Media Limbah Cair Tahu yang Diperkaya : Kajian Optimasi Waktu Panen. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi*. 604-613.
- Lehninger, A.L. 1993. *Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publisher.
- Lynd, L.R., Paul, J.W., Wilem, H.V., dan Isak, S.K. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Journal of Microbiology and Molecular Biology Review*, 66(3): 506-577.
- Madigan, M.C., J. Martinko, dan J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms*. 9th ed. New York: Prentice Hall International Inc.
- Mahdiyah, D. 2015. Isolat Bakteri dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *Jurnal Pharmascience*, 2(2): 71-79.

- Mahmuda, Nurul. 2016. Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Oleh *Aspergillus* sp. (VTM1) dan *Pestalotiopsis* sp. (VM9) Sebagai Media Tumbuh PST *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Jember: FMIPA Biologi Universitas Jember.
- Mahreni & Suhenry, S. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces cerevisiae* Dalam Media Tepung Kulit Pisang. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, ISSN: 1411-4216.
- Masithoh, Erna. 2012. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Khamir Roti *Saccharomyces cereviceae* pada Media Bekatul dalam Produksi Protein Sel Tunggal. *Skripsi*. Surakarta: FMIPA Biologi UNS.
- Megiandri, A. 2009. Isolasi dan Pencirian Enzim protease Keratinolitik dari Usus Biawak Air. *Skripsi*. Bogor: Departemen Kimia FMIPA, IPB.
- Meryandini Anja et al. 2009. Isolasi Bakteri dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains 2009*; 13: 33-38.
- Moat, A. G., Foster, J. W., dan Spector, M. P. 2002. *Microbial Physiology* (Fourt). A John Wiley dan Sons, INC.
- Murni, R., Suparjo, Akmal dan Ginting, D.L. 2008. *Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan*. Universitas Jambi: Labororim Makanan, Ternak Fakultas Peternakan.
- Naiola, E. 1979. Seleksi Biak *Aspergillus* spp. Penghasil Amilase untuk Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Tepung Ganyong (*Canna edulis* Kerr.). *Jurnal Berita Biologi*, 4(4): 157-162.
- Najiyati, S dan Danarti. 1997. *Budidaya Kopi dan Pengolahan Pasca Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nasseri, A.T, Rasoul-Amini S, Moromvat MH, and Ghasemi Y. 2011. Single Cell Proteins. *American Journal of Food Technology*, 6(2): 103-116.
- Nugraha R. 2006. Produksi enzim selulase oleh *Penicillium nalgiovense* SS240 pada substrat tandan sawit. *Skripsi*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nurlela. 2011. Pemanfaatan Limbah Kulit Kopi sebagai Bahan Bakar Alternatif dalam Bentuk Briket dan Uji Unjuk Kerjanya. *Tesis*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Ofodile, L. N., Kanife, U. C., dan Arojojaye, B. J. 2010. Antifungal Activity of a Nigerian Herbal Plant *Chrysanthellum americanum*. *Journal of Life and Physical Sciences*. 3 (2) : 60-63.

- Oktavia, Y., Andhikawati, A., Nurhayati, T., dan Tarman, K. 2014. Karakterisasi Enzim Kasar Selulase Kapang Endofit dari Lamun. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6(1): 219-228.
- Panggabean, L.M.G. 1998. Mikroalga: Alternate Pangan dan Bahan Industri Dimasa Mendatang. *Oceanografi* 23(1): 19-26.
- Pawignya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi. *Prosiding Seminar nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*.
- Penaloza, W., Molina, M. R., Brenes, R. G., Penaloza, W., dan Bressani, R. 1985. Solid-State Fermentation: an Alternative to Improve the Nutritive Value of Coffee Pulp Solid-State Fermentation: an Alternative to Improve the Nutritive Value of Coffee Pulp. *Applied and Enviromental Microbiology*, 49(2).
- Pera, L.M., Romero, C.M., Baigori, M.D., dan Castro, G.R. 2006. Catalytic Properties of Lipase Extracts From *Aspergillus niger*. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2): 247-252.
- Pertiwi, Nopi. 2016. Kandungan Lignin, Selulosa, Hemiselulosa dan Tanin Limbah Kulit Kopi yang Difermentasu Menggunakan Jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*.
- Prabowo, Danang Ambar. 2009. *Optimasi Pengembangan Media Untuk Pertumbuhan Saccharomyces cerevisiae sp.* Pada Skala Laboratorium.
- Purwitasari, E., Pangastuti, A., dan Setyaningsih, R. 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Jurnal Bioteknologi*. 1(2): 37-42.
- Puslitkoka. 2005. *Panduan Lengkap Budidaya Kakao*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Raudah dan Ernawati. 2012. Pemanfaatan Kulit Kopi Arabika dari Proses Pulping untuk Pembuatan Bioetanol. *Jurnal Reaksi*, 10(21).
- Riyanti, E. I. 2009. Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(3), 101–110.
- Sa'adah, Z., Ika S.N., & Abdullah. 2010. Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus sp. Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2(1):46-51.

- Sarkar, A. K, dan Etters, J. Nolan. 2004. Enzymatic Hydrolysis of Cotton Fiber: Modeling Using Empirical Equation. *The Journal of Cotton Science*, 8: 254-260.
- Sharah, Annisa., Karnila, Rahman., D. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi Dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger sp.*). Jom, 1-8.
- Sopandi, T. 2014. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta : Andi Press
- Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta : PT Gramedia
- Sukadarti, S., Siti D. K, Heri P., Wasis P.S., dan Tri M. 2010. Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur *Trichoderma reesei*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. Yogyakarta.
- Sukumaran, Rajeev K., Reeta Rani Singhania, and Ashok Pandey. 2005. Microbial Cellulose Production, Applications and Challenges. *Journal of Scientific dan Industrial Research*.
- Sutarno, R. J., Zahara, T. A., dan Idiawati, N. 2010. Hidrolisis Enzimatik Selulosa dari Ampas Sagu Menggunakan Campuran Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *JKK*, 2(1): 52-57.
- Syafie, Y. 2014. Efektifitas Enzim Protease *Aspergillus sp.* pada Proses Unhairing Terhadap Histologi Kulit Samak. *Jurnal Bioedukasi*, 3(1): 313-317.
- Thontowi, A. 2007. Produksi β -Glucan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentator. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*. 8(4), 253-256.
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1986. *HFS dari Industri Ubi Kayu dan Lainnya*. Gramedia. Jakarta. 229 hlm.
- Tong, C. and, dan Rajendra, K. 1992. Effect of Carbon and Nitrogen Sources on the Growth and Production of Cellulase Enzymes of a Newly Isolated *Aspergillus sp.* *Jurnal Pertanika*, 15(1): 45-50.
- Triatmojo, A.S, Nanung, A.F, dan Y. Erwanto. 2004. Penerapan Protease *Aspergillus flavus* pada Proses Buang Rambut Ramah Lingkungan. *Bulletin Peternakan*, 28(4).
- 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*, (July), 1-6.

- Widyotomo, S. 2010. Evaluasi Kinerja Mesin Pengupas Kulit Buah Kopi Basah Tipe Silinder Horisontal. *Jurnal Teknik Pertanian*, 8: 27-38.
- Widyotomo, S. 2013. Potensi Teknologi Diversifikasi Limbah Kopi Menjadi Produk Bermutu dan Bernilai Tambah. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*. Vol. 1, No.1: 63-80.
- Wignyanto, S. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2(1), 68-77.
- Wijaya H. 2003. Sambutan Ketua Umum BPP AEKI. Dalam : I. Bersten. 2003. *Coffee, Sex, and Health. A History of Anti Coffee Crusaders and Sexual Hiysteria*. Australia: Helian Books.
- Wulandari, E, Idiyanti, T, and Sinaga, E. 2012. Limbah Molas : Pemanfaatan Sebagai Sumber Karbohidrat untuk Perkembangbiakan Mikroorganisme. *Valensi*, 2(5).
- Yulita, Eli. 2014. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Karet Remah Sebagai Media Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* vulgaris untuk Pakan Alami Ikan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 25(1): 1-11.
- Yuniar, W. 2013. Skrining dan Identifikasi Kapang Selulolitik Pada Proses Vermikompositing Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). *Skripsi: Universitas Jember*.
- Yuri, 2012. *Aspergillus* sp. <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.co.id/2012/02/aspergillus-flavus.html>. diakses pada 13 Desember 2017.
- Zainuddin, D dan Murtisari. 1995. Penggunaan Limbah Agro-Industri Buah Kopi (Kulit Buah Kopi) dalam Ransum Ayam Pedaging (Broiler). *Prosiding Pertemuan Ilmiah Komunikasi dan Penyaluran Hasil Penelitian*. Semarang. Sub Balai Penelitian Klepu, Puslitbang Peternakan, Badan Litbang Pertanian, p. 71-78.

LAMPIRAN

Lampiran A. KOMPOSISI MEDIA

A.1 Komposisi Media Potato Dekstrosa Agar (PDA)

No	Bahan	Jumlah/ Liter
1	Kentang	200 gram
2	Dekstrosa	10 gram
3	Agar	17 gram
4	Akuades	1000 ml

Cara pembuatan media PDA:

1. Menyiapkan *beaker glass* yang telah berisi akuades 1000 ml di atas *hot plate*
2. Menyiapkan bahan-bahan yang telah ditimbang sebelumnya. Untuk kentang yang telah dikupas, dipotong kecil seperti dadu.
3. Memasukkan potongan dadu kentang ke dalam akuades yang telah mendidih dan aduk sesekali. Setelah mendidih, dibiarkan selama 15 menit. Hal ini bertujuan meluruhkan sari-sari kentang.
4. Menyaring sari kentang ke dalam *beaker glass* yang baru. Setelah itu, dekstrosa dan agar dimasukkan ke dalam sari kentang tersebut.
5. Memanaskan sari kentang yang telah tercampur dengan dekstrosa dan agar, sambil terus diaduk hingga mendidih.
6. Mengangkat medium yang sudah mendidih dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet volume. Untuk media PDA miring, medium yang digunakan sebanyak 5 ml dalam setiap tabung reaksi. Sedangkan untuk media PDA dalam cawan petri, medium yang digunakan sebanyak 10 ml dalam setiap tabung reaksi. Setelah dingin, mulut tabung ditutup menggunakan kapas.
7. Melakukan sterilisasi medium menggunakan autoclave pada tekanan 15 lbs atau 1 atm, suhu 121 °C selama 15-20 menit.
8. Medium didiamkan selama beberapa menit (hangat-hangat kuku). Setelah itu, untuk media PDA miring, medium diletakkan secara miring dan untuk media

PDA agar dalam cawan petri, medium dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibungkus menggunakan kertas dorslag.

A.2 Komposisi Media *Yeast Ekstract Pepton Dextrose (YPD)*

No	Bahan	Jumlah/ Liter
1	Yeast	0.025 gram
2	Pepton	0.05 gram
3	Dektrosa	0.03 gram
4	Akuades	1000 ml

A.3 Komposisi Media *Yeast Extract Pepton Dextrose Agar (YPDA)*

No	Bahan	Jumlah/Liter
1	Yeast	0.225 gram
2	Pepton	0.45 gram
3	Dektrosa	0.45 gram
4	Agar	0.3375 gram
5	Akuades	1000 ml

Cara pembuatan media YEPD *broth* dan agar:

1. Menyiapkan *beaker glass* yang telah berisi akuadees 1000 ml di atas *hot plate*.
2. Menyiapkan bahan-bahan yang telah ditimbang sebelumnya. Penambahan agar berlaku untuk pembuatan media YEPD agar, sedangkan untuk YEPD *broth* tidak ditambahkan agar.
3. Memasukkan bahan ke dalam akuades dan diaduk hingga mendidih.
4. Mengangkat medium yang sudah mendidih dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet volume. Untuk media YEPD miring, medium yang digunakan sebanyak 5 ml dalam setiap tabung reaksi. Sedangkan untuk media YEPD dalam cawan petri, medium yang digunakan sebanyak 10 ml dalam setiap tabung reaksi. Setelah dingin, mulut tabung ditutup menggunakan kapas.

5. Melakukan sterilisasi medium menggunakan autoclave pada tekanan 15 lbs atau 1 atm, suhu 121 °C selama 15-20 menit.
6. Medium didiamkan selama beberapa menit (hangat-hangat kuku). Setelah itu, untuk media YEPD miring, medium diletakkan secara miring dan untuk media YEPD agar dalam cawan petri, medium dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibungkus menggunakan kertas dorslag.

Lampiran B. KOMPOSISI REAGEN SOMOGYI-NELSON

B.1 Komposisi Reagen Somogyi

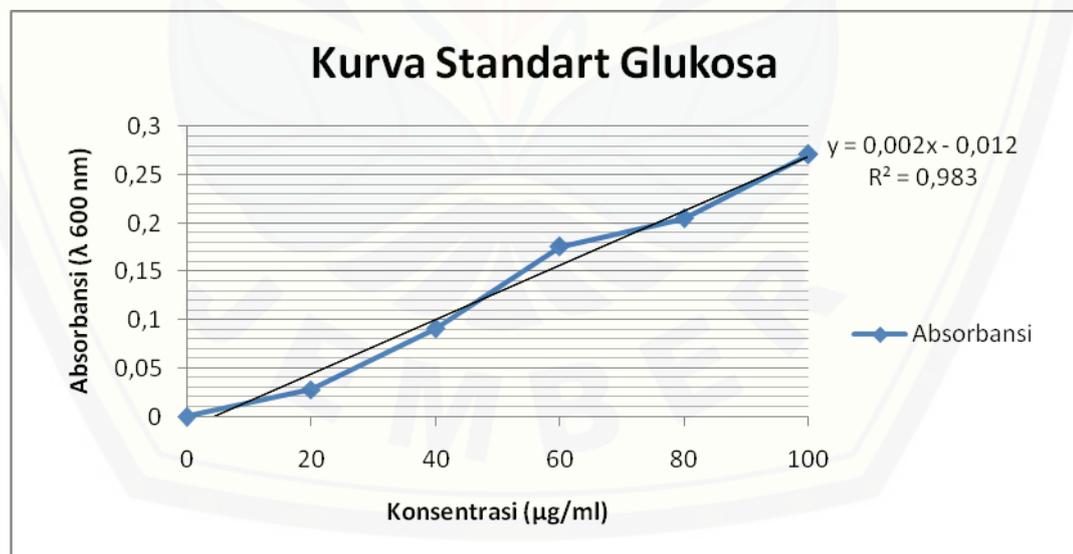
No	Bahan	Jumlah/Liter
1	Na ₂ CO ₃	24 gram
2	C ₄ H ₄ KNaO ₆ H ₂ O	12 gram
3	NaHCO ₃	16 gram
4	CuSO ₄ .5H ₂ O 10 %	40 ml
5	Na ₂ SO ₄	180 gram
6	Akuades	1000 ml

B.2 Komposisi Reagen Nelson

No	Bahan	Jumlah/Liter
1	(NH ₄) Mo ₇ O ₂₄	50 gram
2	H ₂ SO ₄	46 gram
3	NaHSO ₄ . 7H ₂ O	6 gram
4	Akuades	1000 ml

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

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	ABS (500 nm)
0	0
20	0,028
40	0,091
60	0,176
80	0,205
100	0,271

C.2 Kurva Standart Glukosa

Lampiran D. KURVA STANDART POPULASI PST**D.1 Tabel Standart Populasi PST**

ABS (600 nm)	Populasi PST x10 ⁶ (sel/ml)
0	0
0,078	1,25
0,138	1,4325
0,243	1,995
0,302	2,7675
0,407	4,145

D.2 Kurva Standart Populasi PST