



## Optimasi Waktu Fermentasi Ekoenzim dari Limbah Kulit Kopi dengan Sumber Karbon Molase

Hilal Mulyadi,<sup>1</sup> Zahrina Aufiya Kamila,<sup>1</sup> Evi Susanti,<sup>1,2</sup> Norman Yoshi Haryono,<sup>1\*</sup>

Universitas Negeri Malang; Jl. Semarang No. 5

<sup>1</sup>Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

<sup>1</sup>Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

e-mail: \*[norman.haryono.fmipa@um.ac.id](mailto:norman.haryono.fmipa@um.ac.id)

### Abstrak

Indonesia merupakan negara penghasil kopi dengan produksi kopi mencapai 762,38 ribu ton pada tahun 2020. Hal ini menimbulkan permasalahan limbah kulit kopi yang hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan memiliki nilai jual rendah. Maka dilakukan penelitian optimasi pembuatan ekoenzim limbah kulit kopi sebagai upaya pemanfaatan limbah tersebut. Penelitian ini dilakukan melalui lima tahapan; fermentasi pembuatan ekoenzim yang dilakukan secara triplo, uji total fenol, uji organoleptik, uji fitokimia, serta uji antibakteri. Variasi lama waktu fermentasi dilakukan selama 2, 3, dan 4 bulan. Uji total fenol dilakukan dengan metode Folin-ciocalteau. Uji antibakteri dari eco enzyme ini dilakukan dengan metode Disc Diffusion Agar terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah secara umum ekoenzim memiliki warna coklat kehitaman, dengan aroma manis khas madu, memiliki nilai rata-rata pH pada bulan ke-2 sebesar  $3,89 \pm 0,099$ , pada bulan ke-3 sebesar  $3,8 \pm 0,07$ , dan pada bulan ke-4 sebesar  $3,85 \pm 0,058$ . Nilai rata-rata uji fenol pada bulan ke-2 sebesar  $177,318 \pm 18,642$  ppm, pada bulan ke-3 sebesar  $168,076 \pm 35,315$  ppm, dan pada bulan ke-4 sebesar  $144,136 \pm 36,667$  ppm. Berdasarkan uji fitokimia ekoenzim kulit kopi terbukti mengandung senyawa tanin. Aktivitas antibakteri dengan daya hambat maksimal terdapat pada ekoenzim dengan waktu fermentasi 2 bulan sebesar  $1,423 \pm 0,214$  cm terhadap bakteri *E. coli* dan  $1,433 \pm 0,058$  cm terhadap *S. aureus*.

**Kata kunci:** Kopi Indonesia, Limbah Kopi, Ekoenzim, Aktivitas Antibakteri

### 1. PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu bahan pangan yang banyak diolah sebagai minuman dengan total konsumsi di dunia pada periode 2018 hingga 2019 sebesar 10,1 juta Ton menurut data *International Coffee Organization* [1]. Berdasarkan kebutuhan kopi tersebut, Indonesia menjadi salah satu negara penyumbang ekspor kopi terbesar di dunia, dengan produksi kopi sebesar 752.393 Ton pada tahun 2019 dan mengalami peningkatan sebesar 1,31% pada tahun 2020 menjadi sebesar 762.380 Ton [2].

Nilai produksi kopi yang tinggi tersebut dapat menyebabkan dampak limbah terhadap lingkungan. Limbah kulit kopi yang dihasilkan hingga saat ini masih kurang dimanfaatkan dan memiliki nilai jual yang rendah. Limbah kulit kopi saat ini umumnya digunakan sebagai bahan campuran pakan ternak. Namun, penggunaan limbah kulit kopi sebagai pakan ternak tidak dapat mengatasi sepenuhnya dari permasalahan limbah kulit kopi, karena hanya sedikit limbah kulit kopi yang digunakan sebagai pakan ternak. Selain itu, limbah kulit kopi tinggi akan kandungan zat antinutrisi seperti tanin, kafein, dan lignin yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan pada ternak jika diberikan terlalu banyak [3]. Limbah kulit kopi yang tidak digunakan sebagai pakan ternak, biasanya dibuang ke lingkungan dan menyebabkan pencemaran limbah organik terhadap lingkungan.

Metode lain telah digunakan sebagai solusi alternatif pemanfaatan limbah kulit kopi, seperti membuat teh celup, bubuk kulit kopi sebagai pemberi aroma pada produk pangan, bahkan diolah menjadi keripik kulit kopi. Namun, solusi tersebut dinilai kurang efektif, karena limbah kulit kopi mengandung senyawa tanin sebesar 10,05% dari berat kering [4]. Tanin

## Live and Applied Science, Volume 1

adalah senyawa yang dapat menyebabkan efek astringen pada saluran cerna [5].

Cemaran limbah organik di lingkungan tanpa proses yang tepat, dapat menyebabkan timbulnya gas amonia bebas yang dihasilkan dari degradasi bahan organik bernitrogen seperti protein dan asam amino [6]. Limbah kulit kopi memiliki kadar protein sebesar 11 g/100 g berat kering [7]. Gas amonia bebas yang dihasilkan dari limbah kulit kopi yang dibuang ke lingkungan dapat menyebabkan terjadinya pencemaran udara, dimana gas amonia yang dihasilkan dapat teroksidasi di atmosfer dan membentuk asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) dan menyebabkan hujan asam [8]. Limbah kulit kopi dapat dimanfaatkan menjadi produk fermentasi berupa ekoenzim.

Ekoenzim atau *garbage enzyme* merupakan larutan kompleks hasil fermentasi dari limbah organik seperti kulit buah dan sayur yang difermentasikan dengan gula atau molase, dan air. Produk yang dihasilkan dari fermentasi tersebut berupa cairan berwarna coklat beraroma manis asam yang kuat. Produk ekoenzim tersusun atas senyawa organik komposit seperti asam organik, enzim, dan garam mineral [9]. Ekoenzim memiliki banyak kegunaan seperti sebagai pembersih yang lebih aman dari deterjen kimia [10], pupuk organik [11], pengurai cemaran limbah perairan [9], desinfektan [12], hingga sebagai agen bioremediasi limbah minyak kelapa sawit [13].

Ekoenzim merupakan cairan hasil fermentasi sampah organik, gula, dan air dengan komposisi 3:1:10 yang umumnya difermentasi selama tiga bulan [14]. Namun, waktu fermentasi optimum dipengaruhi oleh jenis gula dan limbah organik yang digunakan. Penggunaan berbagai jenis gula dan perbedaan waktu fermentasi dapat akan mempengaruhi karakteristik ekoenzim yang dihasilkan, seperti kadar fenol [12] dan pH [15]. Semakin lama waktu fermentasi beriringan dengan meningkatnya kadar asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan selama fermentasi, menyebabkan kondisi pH semakin rendah dan dapat menyebabkan enzim yang dihasilkan menjadi terdenaturasi [15].

Berdasarkan uraian di atas, maka optimasi waktu fermentasi dalam pembuatan ekoenzim limbah kopi perlu dilakukan untuk memperoleh ekoenzim dengan aktivitas terbaik. Aktivitas ekoenzim terbaik ditentukan dengan parameter pengujian berupa uji organoleptik, uji total fenol, uji fitokimia, dan uji antibakteri.

## 2. METODE

### 2.1 Bahan Percobaan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah limbah kulit kopi yang diperoleh dari petani kopi Desa Sumberdem, Kecamatan Wonosari, Kabupaten Malang. Bahan-bahan pendukung dalam penelitian ini adalah molase, larutan buffer pH 4 dan 7, pH indikator universal, reagen *Dragendorff*, NaOH 2% (b/v), HCl 0,1 M,  $\text{FeCl}_3$  10% (b/v), padatan asam galat, etanol 96%, reagen Folin-Ciocalteu,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% (b/v), media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), *blank disk*, *paper disk Chloramphenicol*, alkohol 70%, isolat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### 2.2 Alat Percobaan

Wadah plastik 1 L, selang, sambungan selang, botol plastik 250 mL, lakban, sendok, timbangan, gelas ukur, kain saring, mangkuk, *beaker glass*, labu ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, Erlenmeyer 100 mL, botol akuades, tisu, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet tetes, *micropipette*, stopwatch, tip pipet, neraca analitik, *cotton bud*, pinset, kertas label, spidol, pH meter, *plastic wrap*, cawan petri, lampu spiritus, kawat ose, vorteks (Dragon Lab MX-5), *centrifuge* (80-1 Table Top Low Speed), Spectrofotometer UV-Vis (*Spectrophotometer* B-ONE Vis 50 DA), *laminar air flow*, inkubator (Mettler BM400), *hot plate*.

### 2.3 Fermentasi Ekoenzim Limbah Kulit Kopi

Sebanyak 150 g limbah kulit kopi ditimbang kemudian dicampur dengan 50 mL molase dan 500 mL air ke dalam wadah plastik 1 L, ditutup dengan tutup yang telah terhubung selang ke botol 250 mL yang berisi aquades untuk menciptakan kondisi fermentasi secara anaerob. Fermentasi dibuat secara triplo untuk tiga variabel waktu berbeda (2, 3, dan 4 bulan).

## 2.4 Pengambilan Sampel

Alat-alat disterilkan dengan alkohol 70%. Kontaminan yang terdapat pada permukaan sampel dibersihkan dengan sendok. Kain saring disiapkan di atas mangkuk, sampel dituangkan di atas kain saring kemudian diperas. Sampel dipindahkan dari mangkuk ke dalam botol plastik 250 mL

## 2.5 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati warna dan aroma, serta melakukan uji pH menggunakan kertas indikator pH universal dan pH meter. Prosedur uji pH dengan kertas indikator pH universal sebagai berikut; dicelupkan kertas indikator ke dalam sampel, kemudian hasilnya dicocokkan dengan skala pH. Prosedur uji pH dengan pH meter sebagai berikut; pH meter dinyalakan, katode dibilas dengan akuades kemudian dikeringkan dengan tisu, kalibrasi dilakukan pada pH meter sesuai dengan hasil pada kertas indikator pH (netral = pH 7, asam < pH 7, basa > pH 7), dibilas katode dengan akuades kemudian dikeringkan dengan tisu, katode dicelupkan ke dalam sampel untuk menguji pH sampel tunggu hingga nilai pH stabil.

## 2.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin secara kualitatif.

### 1. Alkaloid

Sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 2 mL reagen *Dragendorff*. Sampel positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan warna cokelat kemerahan.

### 2. Flavonoid

Sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 2 mL NaOH 2%, lalu ditambahkan beberapa tetes HCl 0,1 M. Sampel positif mengandung flavonoid jika berwarna kuning tajam ketika ditambah NaOH 2% kemudian menjadi bening ketika ditambah HCl 0,1 M.

### 3. Tanin

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 3 mL akuades, ditambah 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 10%. Sampel positif mengandung tanin apabila berubah warna biru kehijauan.

### 4. Saponin

Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok kuat hingga berbusa, diamkan selama 10 menit, kemudian diamati. Sampel positif mengandung saponin jika masih terdapat busa setelah 10 menit.

## 2.7 Uji Total Fenol

Uji total fenol dilakukan dengan metode asam galat.

### 1. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Sebanyak 0,05 g asam galat dilarutkan dalam 1 mL etanol 96%. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambah dengan akuades hingga tanda batas (larutan induk 1000 ppm), dipipet masing-masing 0 mL; 0,75 mL; 1,25 mL; 1,5 mL; 1,75 mL; 2 mL; 2,25 mL larutan induk ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambah akuades hingga tanda batas, dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan diberi label masing-masing 0 ppm; 75 ppm; 100 ppm; 125 ppm; 150 ppm; 175 ppm; 200 ppm; 225 ppm. Sebanyak 0,2 mL larutan standar dari masing-masing konsentrasi dipipet ke dalam tabung reaksi baru. Lalu ditambah 0,8 mL akuades, ditambah 1 mL reagen Folin-Ciocalteu 1:1, dan dihomogenkan, diamkan 8 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambah 3 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10%, dihomogenkan, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada ruang gelap, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Dari hasil pengujian diperoleh persamaan kurva standar sebagai berikut.

### 2. Penentuan Kadar Fenol

Sampel diendapkan dengan sentrifus selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm 4 °C, dipipet 1 mL supernatant ke dalam labu ukur 10 mL, ditambah akuades hingga tanda batas. Kemudian dipipet 0,2 mL ke dalam tabung reaksi, disiapkan blanko akuades, ditambah 0,8 mL akuades, ditambah 1 mL Folin-Ciocalteu 1:1, divorteks, diamkan 8 menit pada suhu kamar,

## Live and Applied Science, Volume 1

ditambah 3 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10%, dihomogenkan. Lalu diinkubasi selama 2 jam pada ruang gelap, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm, hasil absorbansi diekstrapolasi kedalam persamaan (1).

### 2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

#### 1. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 28 g media NA dilarutkan dengan 1 L akuades (1 cawan petri membutuhkan  $\pm$  10 mL media NA), ditutup dengan kapas dan *plastic wrap*, dipanaskan dengan *hot plate*. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada 121 °C tekanan 1 atm selama 1 jam, media NA dipindahkan kedalam cawan petri sebanyak 10 mL secara aseptik.

#### 2. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Sebanyak 0,65 g media NB dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam erlenmeyer 100 mL, ditutup dengan kapas dan *plastic wrap*, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada 121 °C tekanan 1 atm selama 1 jam.

#### 3. Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 1 ose masing-masing isolat *S. aureus* dan *E. coli* diinokulasikan kedalam media NB secara aseptik, ditutup dengan kapas. Kemudian diinkubasi inkubator hingga memperoleh nilai *Optical Density* (OD) 0,6 pada panjang gelombang 600 nm.

#### 4. Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri dipipet kepermukaan media NA, *cotton bud* steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri kemudian dilakukan *spread* pada media NA. Kemudian diletakkan *paper disk chloramphenicol* pada permukaan media NA sebagai kontrol positif, lalu *blank disk* dicelupkan kedalam sampel dan diletakkan pada permukaan media NA, diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji Organoleptik

Tabel 3.1 Data Uji Organoleptik	Sampel n	Parameter			
		pH		Warna	Aroma
		Nilai pH	Rata-rata		
2	1	3,78	$3,89 \pm 0,099$	Cokelat Kehitaman	Manis Seperti Madu
	2	3,82			
	3	3,92			
3	1	3,88	$3,8 \pm 0,07$	Cokelat Kehitaman	Manis Pekat
	2	3,77			
	3	3,75			
4	1	3,82	$3,85 \pm 0,058$	Cokelat Kehitaman	Manis Seperti Kecap
	2	3,92			
	3	3,82			

Berdasarkan Tabel 3.1 berisi data uji pH yang diperoleh, ekoenzim limbah kulit kopi menggunakan sumber karbon molase memiliki pH asam dengan nilai pH berkisar dari 3,5 hingga 4. Hasil pengamatan menunjukkan produk ekoenzim yang dihasilkan memiliki warna cokelat kehitaman, serta memiliki aroma manis yang semakin pekat setiap waktunya. Hasil tersebut sesuai dengan ekoenzim dengan limbah kulit nanas, papaya, dan jeruk, yang memiliki nilai pH 4 [16]. Kondisi pH asam ekoenzim disebabkan karena senyawa asam yang dihasilkan seperti asam asetat dan asam sitrat [17].

3.2 Uji Fitokimia

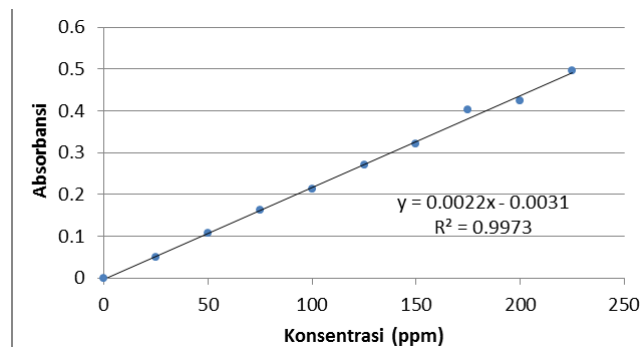
Sampel / Bulan	Alkaloid			Flavonoid			Tanin			Saponin		
	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4
1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-

Berdasarkan Tabel 3.2 menunjukkan ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase mengandung tanin pada semua variabel waktu. Sedangkan alkaloid, flavonoid, dan saponin diperoleh hasil negatif. Hasil tersebut berbeda penelitian terdahulu dengan limbah kulit papaya sebagai bahan utama yang menyebutkan bahwa ekoenzim yang dihasilkan positif mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid [16]. Senyawa tanin yang memperoleh hasil positif sudah sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa kulit kopi mengandung tanin rata-rata sebesar 47,2 mg/L [18].

3.3 Uji Total Fenol

Tabel 3.3 Data absorbansi asam galat

Sampel (ppm)	Absorbansi
25	0,050
50	0,108
75	0,162
100	0,213
125	0,270
150	0,322
175	0,402
200	0,423
225	0,496



Gambar 3.1 Kurva kalibrasi asam galat

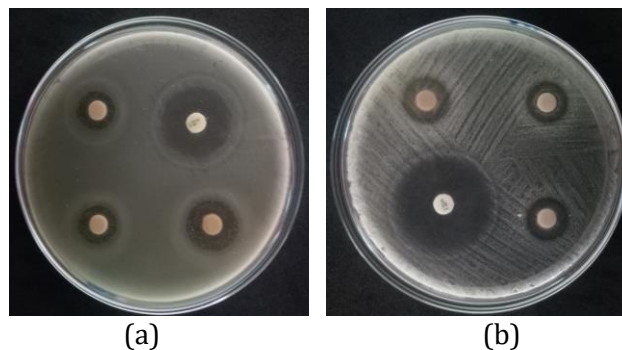
Berdasarkan kurva kalibrasi Gambar 3.1, diperoleh persamaan regresi  $y = 0,0022x + 0,0031$  dan nilai koefisien relasi  $R^2 = 0,9973$ . Persamaan regresi linier menyatakan hubungan matematis antara asam galat dengan absorbansinya. Sedangkan nilai koefisien relasi ( $R^2$ ) menyatakan korelasi antara konsentrasi (x) dan absorbansi (y) [19].

Tabel 3.4 Data hasil uji total fenol

Sampel / Bulan	Konsentrasi (ppm)		
	2	3	4
1	125,500	127,318	167,318
2	164,136	187,318	163,227
3	190,500	189,591	101,864

Berdasarkan data Tabel 3.4 diperoleh ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase memiliki rata-rata total fenol pada bulan ke 2 sebesar  $177,318 \pm 18,642$  ppm, pada bulan ke 3 sebesar  $168,076 \pm 35,315$  ppm, dan pada bulan ke 4 sebesar  $144,136 \pm 36,667$  ppm. Total fenol ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase mengalami penurunan, hal ini tidak sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka kadar fenol semakin meningkat [16]. Perbedaan tersebut dikarenakan perbedaan bahan utama yang digunakan [15]. Fermentasi ekoenzim terbagi menjadi 3 fase produksi, dimana pada bulan pertama fermentasi ekoenzim menghasilkan alkohol, pada bulan ke dua menghasilkan senyawa cuka, dan pada bulan ke tiga menghasilkan enzim [16]. Penurunan fenol ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase dikarenakan fermentasi tersebut sudah memproduksi senyawa cuka dan enzim.

### 3.4 Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 3.2 Uji aktivitas antibakteri  
(a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus*

Tabel 3.5 Hasil uji aktivitas antibakteri

Sampel / Bulan	Daya Hambat (cm)					
	<i>E.coli</i>			<i>S.aureus</i>		
	2	3	4	2	3	4
(+)	2,27	2,50	2,50	3,0	2,80	2,33
1	1,67	0,75	1,40	1,50	0,90	0,77
2	1,30	0,80	1,30	1,40	1,20	0,77
3	1,30	0,90	2,00	1,40	1,10	0,75

Ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (gram positif). Daya hambat terbesar ditunjukkan pada ekoenzim yang difermentasi selama 2 bulan, dengan daya hambat rata rata untuk *E. coli* sebesar  $1,423 \pm 0,214$  cm, dan untuk *S. aureus* sebesar  $1,433 \pm 0,058$  cm. Aktivitas antibakteri ekoenzim limbah kulit kopi disebabkan beberapa senyawa seperti asam klorogenat, kafein, dan trigonelin. Asam klorogenat dapat meningkatkan permeabilitas membran plasma sehingga menurunkan fungsi pertahanan sel bakteri dan terjadi kebocoran dari nukleotida dan isi sitoplasma [20]. Kafein merupakan senyawa yang mengandung banyak nitrogen yang dapat bereaksi dengan asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri yang dapat menyebabkan kerusakan asam amino

## Live and Applied Science, Volume 1

sehingga terjadi perubahan genetik dan lisis sel bakteri [21]. Trigonelin dapat mengganggu stabilitas membran sitoplasma bakteri, ketidak stabilan tersebut dapat menyebabkan pertukaran nutrisi bakteri menjadi terganggu sehingga metabolisme dan pertumbuhan bakteri terhambat [22].

### 4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji kandungan total fenol, senyawa tanin, dan aktivitas antibakteri, produk tersebut berpotensi untuk digunakan sebagai produk desinfektan. Waktu fermentasi paling optimal untuk ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase adalah 2 bulan. Aktivitas ekoenzim dapat ditingkatkan dengan kombinasi bahan organik seperti kulit pepaya, kulit nanas, dan lain lain.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Dana penelitian ini berasal dari Hibah Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] ICO, "Word Coffee Consumption," *Int. Coffee Organ.*, no. August, p. 1, 2021, [Online]. Available: <https://www.ico.org>.
- [2] B. P. Statistik, "STATISTIK KOPI INDONESIA 2020," 2020, [Online]. Available: <https://www.bps.go.id/publication/2021/11/30/b1b6cf2a6aad1ee2d8a4c656/statistik-kopi-indonesia-2020.html>.
- [3] D. R. A. Daning and A. D. Karunia, "Teknologi Fermentasi Menggunakan Kapang *Trichoderma* sp untuk Meningkatkan Kualitas Nutrisi Kulit Kopi sebagai Pakan Ternak Ruminansia," *Agriekstensia*, vol. 17, no. 1, pp. 70–76, 2018, doi: 10.34145/agriekstensia.v17i1.75.
- [4] A. R. Prihadi, A. Maimulyanti, B. Mellisani, and Nurhasanah, "Antioxidant activity, tannin content and dietary fiber from coffee husk extract and potential for nutraceutical," *Rasayan J. Chem.*, vol. 13, no. 2, pp. 955–959, 2020, doi: 10.31788/RJC.2020.1325613.
- [5] A. Fajrina, J. Junuarty, and S. Sabirin, "Penetapan Kadar Tanin Pada Teh Celup Yang Beredar Dipasaran Secara Spektrofotometri UV-Vis," *J. Farm. Higea*, vol. 8, no. 2, pp. 133–142, 2016.
- [6] A. Palakodeti, S. Azman, B. Rossi, R. Dewil, and L. Appels, "A critical review of ammonia recovery from anaerobic digestate of organic wastes via stripping," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 143, no. February, p. 110903, 2021, doi: 10.1016/j.rser.2021.110903.
- [7] L. S. Oliveira and A. S. Franca, *An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks*. Elsevier Inc., 2015.
- [8] E. Kän-man and H. Jönsson, "Including oxidisation of ammonia in the eutrophication impact category," *Int. J. Life Cycle Assess.*, vol. 6, no. 1, pp. 29–33, 2001, doi: 10.1007/BF02977592.
- [9] K. Neupane and R. Khadka, "Production of Garbage Enzyme from Different Fruit and Vegetable Wastes and Evaluation of its Enzymatic and Antimicrobial Efficacy," *Tribhuvan Univ. J. Microbiol.*, vol. 6, no. 1, pp. 113–118, 2019, doi: 10.3126/tujm.v6i0.26594.
- [10] S. Gu *et al.*, "The garbage enzyme with chinese hoenylocust fruits showed better properties and application than when using the garbage enzyme alone," *Foods*, vol. 10, no. 11, 2021, doi: 10.3390/foods10112656.
- [11] Y. Tong and B. Liu, "Test research of different material made garbage enzyme's effect to

- soil total nitrogen and organic matter," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 510, no. 4, 2020, doi: 10.1088/1755-1315/510/4/042015.
- [12] Made Rai Rahayu, M. Nengah, and Yohanes Parlindungan Situmeang, "Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-Enzyme Domestic Organic Waste and Frangipani Flowers (*Plumeria alba*)," *SEAS (Sustainable Environ. Agric. Sci.)*, vol. 5, no. 1, pp. 15–21, 2021, doi: 10.22225/seas.5.1.3165.15-21.
- [13] N. Rasit and O. Chee Kuan, "Investigation on the Influence of Bio-catalytic Enzyme Produced from Fruit and Vegetable Waste on Palm Oil Mill Effluent," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 140, no. 1, 2018, doi: 10.1088/1755-1315/140/1/012015.
- [14] Lolita Endang Susilowati, Mansur Ma'Shum, and Zaenal Arifin, "Pembelajaran Tentang Pemanfaatan Sampah Organik Rumah Tangga Sebagai Bahan Baku Eko-Enzim," *J. Pengabd. Magister Pendidik. IPA*, vol. 4, no. 4, pp. 356–362, 2021, doi: 10.29303/jpmi.v4i4.1147.
- [15] I. A. Hanifah, N. P. V. Primarista, S. Prasetyawan, A. Safitri, T. Adyati, and A. Srihadyastutie, "The Effect of Variations in Sugar Types and Fermentation Time on Enzyme Activity and Total Titrated Acid on Eco-Enzyme Results of Fermentation," *Proc. 7th Int. Conf. Biol. Sci. (ICBS 2021)*, vol. 22, no. Icbis 2021, pp. 585–589, 2022, doi: 10.2991/absr.k.220406.084.
- [16] Rusdianasari, A. Syakdani, M. Zaman, F. F. Sari, N. P. Nasyta, and R. Amalia, "Production of Disinfectant by Utilizing Eco-enzyme from Fruit Peels Waste," *Int. J. Res. Vocat. Stud.*, vol. 1, no. 3, pp. 01–07, 2021, doi: 10.53893/ijrvocas.v1i3.53.
- [17] A. Mahdia, P. A. Safitri, R. F. Setiarini, V. F. A. Maherani, M. N. Ahsani, and M. S. Soenarno, "Analisis Keefektifan Ekoenzim sebagai Pembersih Kandang Ayam dari Limbah Buah Jeruk (*Citrus sp.*)," *J. Ilmu Produksi dan Teknol. Has. Peternak.*, vol. 10, no. 1, pp. 42–46, 2022, doi: 10.29244/jipthp.10.1.42-46.
- [18] N. Arpi, M. Muzaiifa, M. I. Sulaiman, R. Andini, and S. I. Kesuma, "Chemical Characteristics of Cascara, Coffee Cherry Tea, Made of Various Coffee Pulp Treatments," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 709, no. 1, 2021, doi: 10.1088/1755-1315/709/1/012030.
- [19] J. D. Pamungkas, K. Anam, and D. Kusriani, "Penentuan Total Kadar Fenol dari Daun Kersen Segar, Kering dan Rontok (*Muntingia calabura L.*) serta Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH," *J. Kim. Sains dan Apl.*, vol. 19, no. 1, p. 15, 2016, doi: 10.14710/jksa.19.1.15-20.
- [20] F. F. Amalia, "Aktivitas Antibakteri Kopi Robusta Dalam Mempercepatkejadian Penyembuhan Luka Pada Ulkus Diabetikum," *Heal. Tadulako J.*, vol. 1, no. 1, p. 72, 2020, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ndteint.2014.07.001><https://doi.org/10.1016/j.ndteint.2017.12.003><http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2017.02.024>.
- [21] H. A. Tanauma, G. Citraningtyas, and W. A. Lolo, "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*," *Pharmakon*, vol. 5, no. 4, pp. 243–251, 2016.
- [22] B. Lee and D. G. Lee, "Depletion of reactive oxygen species induced by chlorogenic acid triggers apoptosis-like death in *Escherichia coli*," *Free Radic. Res.*, vol. 52, no. 5, pp. 605–615, 2018, doi: 10.1080/10715762.2018.1456658.