

# Aktivitas Enzim Ekoenzim Limbah Kulit Kopi Robusta (Coffea robusta) 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>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> Departement Biotechnology, Faculty of Mathematic and Science, Universitas Negeri Malang  
<sup>3</sup> Health and Food Centre, Institute of Research and Community Services, Universitas Negeri Malang, Indonesia

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

<sup>2</sup>Departement Chemistry, Faculty of Mathematics and Science, Universitas Negeri Malang

## Abstrak

Menurut *International coffee Organization (ICO)* konsumsi kopi dunia mencapai 175,6 juta karung (60 kg/karung). Indonesia merupakan salah satu negara penghasil kopi terbesar keempat di dunia dengan produksi biji kopi sebesar 794,8 ribu ton. Proses pengolahan buah kopi menjadi biji kopi menghasilkan limbah berupa kulit dan daging buah kopi, saat ini pemanfaatan limbah kulit kopi masih rendah sehingga nilai jual yang rendah, keberadaannya di lingkungan dapat menyebabkan pencemaran hingga hujan asam. Limbah kulit kopi merupakan limbah organik yang dapat diolah menjadi ekoenzim yang memiliki aktivitas enzimatis sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pembersih juga sebagai desinfektan.

Penelitian ini memanfaatkan limbah kulit kopi menjadi ekoenzim, dimulai dengan pembuatan ekoenzim limbah kulit kopi robusta secara triplo dengan variasi waktu fermentasi 2, 3, dan 4 bulan. Sampel cairan ekoenzim limbah kulit kopi dilakukan uji aktivitas enzim secara kualitatif dengan metode medium lempeng menggunakan substrat minyak zaitun (lipase), susu skim (protease), dan pati (amilase). Hasil pengujian ekoenzim limbah kulit kopi menunjukkan adanya aktivitas protease, tetapi tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim lipase dan amilase. Hasil negatif uji amilase diduga karena aktivitas senyawa fenolik yang dapat menghambat aktivitas enzim amilase. Hasil negatif uji lipase dikarenakan metode yang tidak efektif karena perubahan warna metil merah sebagai indikator aktivitas enzim lipase pada media sulit diamati.

**Kata kunci**— Limbah Kulit Kopi, Ekoenzim, Aktivitas Enzim

## 1. PENDAHULUAN

Biji kopi merupakan hasil pertanian yang banyak diolah sebagai minuman yang memiliki banyak peminat, berdasarkan data dari *International Coffee Organization (ICO)* konsumsi kopi dunia mencapai 175,6 juta karung (60 kg/karung) (International Coffee Organization, 2022). Negara Indonesia menjadi salah satu penghasil biji kopi terbesar di dunia menempati urutan keempat, produksi biji kopi Indonesia sebesar 794,8 ribu ton (Badan Pusat Statistik, 2022).

Pengolahan biji kopi akan menghasilkan limbah berupa kulit kopi yang tidak digunakan pada pembuatan minuman kopi, sehingga limbah kulit kopi tersebut memiliki nilai ekonomi yang rendah karena pemanfaatannya yang masih minim. Sehingga hal tersebut dapat menyebabkan penumpukkan limbah kulit kopi di lingkungan.

Penumpukkan limbah organik di lingkungan dapat mengakibatkan terjadinya fermentasi aerobik yang menghasilkan gas amonia bebas (Palakodeti, Azman, Rossi, Dewil, & Appels, 2021), hingga memicu terjadinya hujan asam dan eutrofikasi (Kän-

man & Jönsson, 2001). Sehingga penting untuk menemukan metode pemanfaatan limbah kulit kopi.

Metode yang dapat digunakan dalam memanfaatkan limbah kulit kopi adalah ekoenzim, ekoenzim merupakan cairan kompleks hasil fermentasi limbah organik dengan substrat gula atau molase (Supriyani, Astuti, & Maharani, 2020). Ekoenzim dibuat dengan mencampurkan limbah organik, gula, dan air dengan perbandingan 3:1:10, kemudian difermentasi secara anaerob umumnya selama 3 bulan. Ekoenzim dapat digunakan dalam banyak hal seperti cairan pembersih lantai (Gu et al., 2021), bioremediasi limbah kelapa sawit (Rasit & Chee Kuan, 2018), dan juga antibakteri (Made Rai Rahayu, Nengah, & Yohanes Parlindungan Situmeang, 2021). Manfaat tersebut dapat berasal dari aktivitas enzimatis yang dimiliki oleh ekoenzim, seperti enzim amilase, lipase, dan protease.

Kandungan ekoenzim ditentukan oleh beberapa faktor seperti waktu fermentasi, jenis limbah organik serta gula yang digunakan dalam fermentasi. Sehingga dalam pembuatan ekoenzim perlu dilakukan optimasi waktu fermentasi untuk menentukan aktivitas ekoenzim terbaik.

Penelitian sebelumnya telah dilakukan pembuatan ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase yang menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin, kadar total fenol sebesar  $177,318 \pm 18,642$ , dan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Mulyadi, 2022) Penelitian ini akan melakukan pembuatan ekoenzim limbah kulit kopi dengan variasi waktu fermentasi, kemudian dilakukan uji aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease.

## 2. METODE

### Bahan Percobaan

Bahan pembuatan ekoenzim terdiri dari limbah kulit kopi yang berasal dari Desa Sumberdem Kecamatan Wonosari Kabupaten Malang, molase, dan air. Bahan pengujian terdiri dari media *Nutrient Agar* (NA), pati, iodine 0,01 M, minyak zaitun, indikator metil merah 0,01%, tween-80 2,5%, susu skim.

### Alat Percobaan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari fermentor sederhana, timbangan, Erlenmeyer

100 mL, pinset, spidol, *plastic wrap*, cawan petri, autoklaf, *laminar air flow*.

### Fermentasi Ekoenzim Limbah Kulit Kopi

Limbah kulit kopi yang diperoleh sebelumnya telah dikeringkan dengan cara dianginkan selama 2 jam agar penyimpanannya lebih lama. Sebanyak 150 g limbah kulit kopi ditimbang kemudian dicampur dengan 50 mL molase dan 500 mL air ke dalam fermentor sederhana untuk menciptakan kondisi fermentasi secara anaerob. Fermentasi dibuat secara duplo untuk tiga variabel waktu berbeda (2, 3, dan 4 bulan). Pengambilan sampel ekoenzim dilakukan dengan membersihkan kotoran pada permukaan ekoenzim menggunakan sendok yang telah disterilisasi dengan alkohol 70%. Ekoenzim dituang pada kain saring diatas mangkuk kemudian diperas, sampel ekoenzim dipindahkan dari mangkuk kedalam botol plastik 250 mL.

### Prosedur Uji Aktivitas Amilase

Kertas cakram dicelupkan pada sampel ekoenzim yang telah diendapkan dan larutan Enzyplex 0,1% sebagai kontrol positif. Kertas cakram diletakkan pada media agar 1% pati diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, media digenangi dengan larutan iodine 0,01 M, kemudian hilangkan larutan iodine yang menggenangi. Larutan iodine akan memunculkan warna biru pada media yang masih mengandung pati.

### Prosedur Uji Aktivitas Lipase

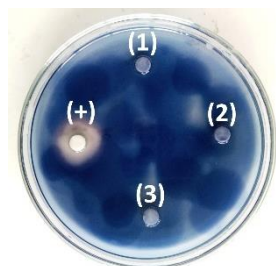
Kertas cakram dicelupkan pada sampel ekoenzim yang telah diendapkan dan larutan Enzyplex 0,1% sebagai kontrol positif. Kertas cakram diletakkan pada media agar 1% pati diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, media digenangi dengan larutan iodine 0,01 M, kemudian hilangkan larutan iodine yang menggenangi. Larutan iodine akan memunculkan warna biru pada media yang masih mengandung pati.

### Prosedur Uji Aktivitas Protease

Kertas cakram dicelupkan pada sampel ekoenzim yang telah diendapkan dan larutan Enzyplex 0,1% (w/v) sebagai kontrol positif. Kertas cakram yang telah dicelupkan pada ekoenzim atau kontrol positif diletakkan pada media agar susu skim 5%, kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Uji Aktivitas Amilase



Gambar 1. Uji Aktivitas Amilase

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Amilase

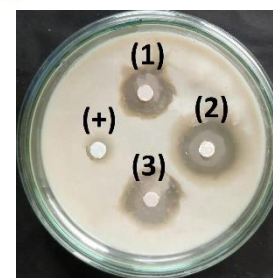
Sampel	Bulan			
	0	2	3	4
(+)	+	+	+	+
1	+	-	-	-
2	+	-	-	-

Hasil uji aktivitas enzim amilase (Tabel 7) menunjukkan bahwa ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase dengan waktu inkubasi 2, 3, dan 4 bulan tidak memiliki aktivitas enzim amilase, sedangkan pada waktu inkubasi bulan ke 0 terdapat aktivitas enzim amilase.

Aktivitas enzim amilase pada ekoenzim limbah kulit kopi pada waktu inkubasi 2, 3, dan 4 bulan diduga telah terinhibisi oleh senyawa fenolik yang terkandung didalam limbah kulit kopi seperti kafein dan asam klorogenat yang merupakan senyawa polifenol. Senyawa polifenol dapat menjadi inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase yang berperan dalam pemecahan senyawa amilum (pati) menghasilkan gula reduksi seperti maltose, maltotriose, dan amilodextrin (Sun, Wang, & Miao, 2020). Sedangkan pada waktu inkubasi bulan ke 0, kandungan kafein dan asam klorogenat yang terkandung didalam kulit kopi belum terkestrak sehingga tidak terdapat didalam cairan ekoenzim yang dihasilkan.

#### Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas enzim protease dilakukan dengan metode medium lempeng susu skim, indikator positif pada penelitian ini ditunjukkan dengan zona bening disekitar kertas cakram (Gambar 2)



Gambar 2. Uji Aktivitas Protease

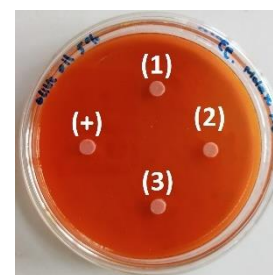
Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Protease

Sampel	Bulan			
	0	2	3	4
(+)	+	+	+	+
1	-	+	+	+
2	-	+	+	+

Ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase memiliki aktivitas enzim protease setelah diinkubasi selama 2, 3, dan 4 bulan, sedangkan pada waktu inkubasi 0 bulan tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim protease. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Rasit & Chee Kuan, 2018), ekoenzim dari kulit buah nanas dan jeruk dengan sumber karbon molasememiliki aktivitas enzim protease.

#### Uji Aktivitas Lipase

Uji aktivitas enzim lipase dilakukan secara kualitatif menggunakan metode medium lempeng dengan indikator metil merah merujuk Husna et al., (2022) dengan modifikasi.



Gambar 3. Uji Aktivitas Lipase

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Lipase

Sampel	Bulan			
	0	2	3	4
(+)	-	-	-	-
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-

Hasil uji aktivitas enzim lipase ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase

(Tabel 3) tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim lipase pada semua variabel waktu fermentasi, diduga karena perubahan warna metil merah karena adanya aktivitas lipase pada medium sulit diamati. Metil merah sebagai indikator yang digunakan pada prinsipnya akan menunjukkan perubahan berdasarkan kondisi pH lingkungannya, metil merah dalam minyak zaitun (pH > 6,2) berwarna kuning, jika minyak zaitun terdegradasi menjadi asam lemak bebas (jika asam lemak dianalogikan sebagai asam asetat maka pH medianya  $\pm 5$ ) karena adanya aktivitas enzim lipase maka metil merah akan berubah menjadi jingga (Bakhtra, Rusdi, & Mardiah, 2016), sehingga akan sulit untuk mengamati hasil uji dengan metode ini karena media minyak zaitun 5% yang digunakan pada pengujian ini telah memiliki warna jingga seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.

#### 4. SIMPULAN

Fermentasi ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase menghasilkan produk dengan aktivitas enzim protease, sehingga ekoenzim limbah kulit kopi dengan sumber karbon molase memiliki potensi dimanfaatkan sebagai desinfektan.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

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

#### DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. (2022). Statistik Kopi Indonesia, (1), 1–14.
- Bakhtra, D. D. A., Rusdi, R., & Mardiah, A. (2016). Penetapan Kadar Protein dalam Telur Unggas Melalui Analisis Nitrogen Menggunakan Metode Kjeldahl. *Farmasi Higea*, 8(2), 143–150. doi:10.1159/000301932
- Gu, S., Xu, D., Zhou, F., Chen, C., Liu, C., Tian, M., & Jiang, A. (2021). The garbage enzyme with chinese hoenylocust fruits showed better properties and application than when using the garbage enzyme alone. *Foods*, 10(11). doi:10.3390/foods10112656
- Husna, Q. N., Laila, A., Biokimia, L., Kimia, J., Lampung, U., Dosen, S., ... Lampung, U. (2022). Skrining Bakteri-Bakteri Isolat Lokal
- Sebagai Penghasil Lipase Toleran Pelarut Organik, 160–167.
- International Coffee Organization. (2022). World Coffee Consumption. *International Coffee Organization*, 2(August), 1. Retrieved from <https://www.ico.org>
- Kän-man, E., & Jönsson, H. (2001). Including oxidisation of ammonia in the eutrophication impact category. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 6(1), 29–33. doi:10.1007/BF02977592
- Made Rai Rahayu, Nengah, M., & Yohanes Parlindungan Situmeang. (2021). Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-Enzyme Domestic Organic Waste and Frangipani Flowers (*Plumeria alba*). *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 5(1), 15–21. doi:10.22225/seas.5.1.3165.15-21
- Mulyadi, H. (2022). Optimasi Waktu Fermentasi Ekoenzim dari Limbah Kulit Kopi dengan Sumber Karbon Molase, 1(x), 0–7.
- Palakodeti, A., Azman, S., Rossi, B., Dewil, R., & Appels, L. (2021). A critical review of ammonia recovery from anaerobic digestate of organic wastes via stripping. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 143(February), 110903. doi:10.1016/j.rser.2021.110903
- Rasit, N., & Chee Kuan, O. (2018). Investigation on the Influence of Bio-catalytic Enzyme Produced from Fruit and Vegetable Waste on Palm Oil Mill Effluent. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 140(1). doi:10.1088/1755-1315/140/1/012015
- Sun, L., Wang, Y., & Miao, M. (2020). Inhibition of  $\alpha$ -amylase by polyphenolic compounds: Substrate digestion, binding interactions and nutritional intervention. *Trends in Food Science and Technology*, 104(July), 190–207. doi:10.1016/j.tifs.2020.08.003
- Supriyani, Astuti, A. P., & Maharani, E. T. W. (2020). Pengaruh Variasi Gula Terhadap Produksi Ekoenzim Menggunakan Limbah Buah Dan Sayur. *Seminar Nasional Edusainstek*, 470–479.