

PEMANFAATAN KULIT TANDUK BIJI KOPI ARABIKA (*COFFEA ARABICA*) SEBAGAI SUBSTRAT PERTUMBUHAN *ASPERGILLUS NIGER* DALAM MEMPRODUKSI ENZIM SELULASE

Irwan¹, Andi Sukainah², Reski Praja Putra³

Studi Pendidikan Teknologi Pertanian Fakultas Teknik, Universitas Negeri Makassar^{1,2,3}

Email: irwanh402@gmail.com

KATA KUNCI

Kulit Tanduk Kopi Arabika, Enzim Selulase, *A. niger*, Waktu Inkubasi, pH, dan Suhu optimum.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger* menggunakan substrat bubuk kulit tanduk biji kopi arabika serta karakterisasi pH dan suhu optimum enzim selulase yang dihasilkan. Jenis penelitian merupakan penelitian eksperimen model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan bubuk kulit tanduk kopi arabika untuk dilakukan analisis awal, selanjutnya perhitungan kepadatan spora kapang *A. niger* dilakukan. Setelah itu, penentuan waktu inkubasi optimum, pH dan suhu optimum enzim selulase dikaji. Kapang *A. niger* ditumbuhkan pada media bubuk kulit tanduk biji kopi arabika dan diinkubasi pada rentan interval 0, 24, 48, 72, 96, 120, dan 144 jam untuk penentuan waktu inkubasi optimum, selanjutnya enzim selulase dikarakterisasi untuk menentukan pH dan suhu optimumnya. Karakterisasi enzim dilakukan pada pH 3, 4, 5, 6, dan 7 serta suhu 30oC, 40oC, 50oC dan 60oC. Hasil pengujian penentuan waktu inkubasi optimum menunjukkan bahwa enzim selulase dihasilkan oleh *A. niger* pada substrat bubuk kulit tanduk biji kopi arabika adalah pada waktu inkubasi 96 jam dengan nilai enzim 2181,93 U/ml, kemudian pH optimum diperoleh pada pH 4 dengan nilai 2053,04 U/ml, dan suhu optimum diperoleh pada suhu 50°C dengan nilai 2614,88 U/ml.

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu hasil komoditas tanaman perkebunan yang memiliki nilai ekonomis cukup tinggi sehingga kopi menjadi salah satu sumber yang dapat memajukan devisa di Indonesia serta memiliki peranan penting dalam memajukan industri perkebunan di Indonesia (Apriliyanto, Purwadi, & Puruhito, 2018). Sentra produksi kopi terbilang sangat banyak dan tersebar di beberapa provinsi di Indonesia, namun pada proses pengolahan kopi terdapat beberapa tahapan yang menghasilkan limbah (Hamdan & Sastra, 2020). Salah satu proses pengolahan kopi yang dilakukan yaitu tahap hulling atau proses pemisahan kulit

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase

tanduk kopi. Menurut Parani dan Eyini (2010) produksi kopi dapat menghasilkan limbah kulit tanduk mencapai 28,7% (KADMIUM & BATIK, n.d.).

Kulit tanduk kopi merupakan kulit kopi paling keras tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa, dimana kulit tanduk kopi memiliki kandungan senyawa organik yang cukup tinggi (Syabriana, 2018). Menurut Permatasari (2019), limbah kulit tanduk kopi memiliki kandungan selulosa sebesar 63%, hemiselulosa sebesar 2,3%, dan lignin sebesar 17%, dimana kandungan unsur karbon yang terdapat dalam senyawa-senyawa organik tersebut cukup besar yaitu 45,3%. Limbah kulit tanduk kopi belum dimanfaatkan secara optimum. Umumnya, limbah kulit tanduk kopi yang dihasilkan hanya dibiarkan di bawah tanaman kopi sebagai bahan organik atau dibakar (Putra, Safrizal, & Marullah, 2020). Kandungan selulosa yang cukup tinggi pada kulit tanduk kopi sangat berpotensi dikembangkan sebagai substrat pertumbuhan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim selulase.

Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Enzim ini mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yaitu glukosa, selobiosa dan selooligosakarida (Purkan et al. 2015). Enzim selulase memiliki peranan penting dalam bidang industri, baik dalam bidang industri tekstil maupun bidang peternakan (Puspitasari & Ibrahim, 2020). Manfaat enzim selulase pada industri tekstil digunakan sebagai biopolishing kain untuk meningkatkan kelembutan dan kecerahannya, sedangkan pada pakan ternak digunakan untuk meningkatkan kualitas gizi dan pencernaan hewan, juga digunakan dalam pembuatan kertas baru dari kertas bekas (Sholihati, 2015). Terbentuknya enzim selulase oleh mikroorganisme selulolitik berasal dari substrat yang mengandung selulosa. Mikroorganisme selulolitik yang dapat digunakan untuk menghasilkan enzim selulase diantaranya adalah kapang *Aspergillus niger* (Ikram-Ul-Haq et al. 2005).

Kapang *A. niger* merupakan mikroorganisme yang dapat tumbuh dan banyak digunakan secara komersial dalam produksi beberapa jenis enzim (Gea, 2018). Selain itu, *A. niger* sendiri merupakan salah satu jenis kapang yang tidak menghasilkan toksin dan juga memiliki sifat yang aman untuk dikonsumsi. Menurut Komari et al (2012), *A. niger* dapat dibiakkan dengan baik dalam media agar, memiliki sifat ramah lingkungan dan bernilai ekonomis. Berdasarkan uraian mengenai limbah kulit tanduk kopi yang jumlahnya terus meningkat maka pengkajian terkait pemanfaatan kulit tanduk kopi sebagai substrat pertumbuhan kapang *A. niger* dalam menghasilkan enzim selulase serta pengujian karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang ini sangat perlu dilakukan (PROBIOTIK, RAYAP, & BALI, n.d.).

Limbah yang dihasilkan dari proses pemisahan kulit kopi dengan biji kopi (proses hulling) dalam bentuk biomassa sangat melimpah jumlahnya, dan biasa dimanfaatkan beberapa persen untuk kompos atau dibakar di sentra penggilingan kopi (Putra et al., 2020). Pemanfaatan kulit tanduk kopi untuk memiliki nilai tambah belum dikembangkan sebagaimana mestinya karena biasanya hanya dibiarkan di bawah tanaman kopi sebagai bahan organik atau dibakar di musim kemarau. Pengusaha penggilingan kopi mengalami kesulitan dalam pemusnahan limbah kulit tanduk ini. Satu-satunya jalan termudah yang ditempuh adalah membakar limbah tersebut di tempat terbuka. endokarp atau kulit tanduk merupakan kulit kopi paling keras tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa (Raudah, 2014).

Enzim merupakan biokatalis berupa protein alami yang dihasilkan oleh sel hidup seperti pada hewan, tanaman dan mikroorganisme (Yuwono, 2019). Secara katalitik, enzim menjalankan fungsinya dalam berbagai reaksi seperti hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerasi,

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase

adisi, transfer gugus, dan kadang-kadang pemutusan rantai karbon (Sumardjo, 2006). Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya, 2003).

Enzim selulase adalah enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yaitu glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Selulase memiliki sistem enzim yang terdiri dari endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase dan β -D-glukosidase. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis mendegradasi selulosa dan melepaskan gula pereduksi sebagai produk akhirnya. Endo-1,4- β -glukanase memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4- β -glukanase memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan β -D-glukosidase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Kim, 2001).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimen. Menurut Sugiyono (2006) metode penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali (Susanti & Nurfitriyanti, 2018). Penelitian dilakukan dalam bentuk percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel perlakuan waktu inkubasi (24, 48, 72, 96, 120, dan 144) dan variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu: kadar air, gula reduksi, total gula, kadar protein, perhitungan jumlah kapang, keasaman (pH), aktivitas enzim selulase, karakterisasi enzim (penentuan pH dan suhu optimum enzim selulase).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bubuk kulit tanduk kopi arabika \pm 210 gram yang diperoleh melalui proses pengeringan, penghalusan dan pengayakan, kemudian dilakukan pengukuran kadar air, gula reduksi, total gula, kadar nitrogen dan kadar protein pada kulit tanduk kopi arabika (Febrina, 2019). Parameter yang diamati pada media kulit tanduk kopi arabika yaitu pH dan jumlah mikroba pada waktu inkubasi (0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, dan 144 jam). Setelah itu, pengukuran protein enzim dan aktivitas enzim selulase pada waktu inkubasi (24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, dan 120 jam) dilakukan. Setelah diperoleh waktu inkubasi optimum selanjutnya dilakukan karakterisasi enzim dengan pengukuran pH optimum (pH 3, pH 4, pH 5, pH 6 dan pH 7) berdasarkan dari data waktu inkubasi optimum menggunakan suhu ruang. Kemudian, pengukuran suhu optimum (30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C) dilanjutkan menggunakan enzim dengan waktu inkubasi optimum dan pH optimum.

Analisis Substrat Kulit Tanduk Kopi Arabika

Analisis substrat yang dilakukan yaitu pengukuran kadar air, gula reduksi, total gula, kadar protein pada kulit tanduk kopi arabika (Towaha & Rubiyo, 2016). Hasil analisis kulit tanduk kopi arabika dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1

Kandungan Kulit Tanduk Kopi Arabika

No	Komponen	Kulit Tanduk Kopi Arabika (%)
1	Kadar Air	3,36±0,03
2	Gula Reduksi	6,08±0,37
3	Total Gula	15,77±0,64
4	Nitrogen	0,93±0,08
5	Protein	5,79±0,47

Sumber : Hasil Penelitian, 2021

1) Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam satuan persen. Banyaknya kadar air yang terdapat pada suatu bahan menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme (Darianto, 2018). Winarno (2002) menyatakan bahwa tingginya kadar air dalam suatu bahan akan menyebabkan kerusakan cepat terjadi diakibatkan mudahnya mikroba berkembang biak. Hasil analisis kadar air pada bubuk kulit tanduk kopi arabika menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar air yaitu 3,36 % (Tabel 1).

2) Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan golongan gula atau karbohidrat yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima electron (Afriza, 2019). Tingginya kadar gula reduksi pada suatu bahan menjadi faktor penting dalam proses pertumbuhan mikroorganisme yang dijadikan sumber karbon selama proses fermentasi (Agustini & Febrian, 2019). Menurut Almatsier (2004) gula reduksi dapat mereduksi semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa) kecuali sukrosa dan pati (polisakarida). Ketersediaan gula reduksi pada substrat kulit tanduk biji kopi arabika yaitu 6,08 % (Tabel 1).

3) Total Gula

Total gula adalah seluruh gula yang terdapat dalam bahan hasil pertanian baik itu monosakarida dan disakarida (SYAKIRIN, 2020). Total gula menjadi sumber karbon yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam proses fermentasi setelah gula reduksi dalam bahan telah digunakan habis. Menurut Shabrina (2018) total gula merupakan kandungan gula keseluruhan dalam suatu bahan hasil pertanian yang terdiri dari gula pereduksi dan gula non-pereduksi. kandungan total gula yang tersedia pada kulit tanduk kopi arabika yaitu 15,77 % (Tabel 1).

4) Protein

Protein merupakan sumber karbon yang digunakan oleh mikroorganisme selama proses fermentasi (Agustine, Okfrianti, & Jumiyati, 2018). Penentuan kadar protein menggunakan metode Formol, dimana metode ini digunakan untuk menentukan kadar protein kasar karena terikat senyawa N, kemudian senyawa tersebut diubah dari organik menjadi anorganik (Usysus, et al 2009). Berdasarkan hasil analisis terhadap kadar nitrogen dan kadar protein pada bubuk kulit tanduk kopi diketahui kandungan nitrogen yaitu 0.93 % dan kandungan protein yaitu 5,79 % (Tabel 1).

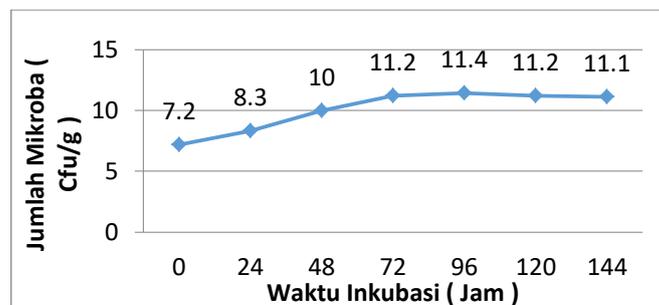
Perhitungan Kerapatan Spora Kapang *Aspergillus niger*

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Sebagai Substrat Pertumbuhan *Aspergillus Niger* Dalam Memproduksi Enzim Selulase

Kerapatan spora kapang *A. niger* dihitung menggunakan hemasitometer di bawah mikroskop binokuler dengan pembesaran 400 kali. Hasil perhitungan kepadatan spora kapang *A. niger* yaitu $7,9 \times 10^7 \pm 0,03$ Spora/ml. Perhitungan kepadatan spora dilakukan untuk mengetahui jumlah sel awal *A. niger* sebelum diinokulasikan ke dalam media kulit tanduk kopi arabika.

Perhitungan Jumlah kapang *Aspergillus niger*

Perhitungan jumlah kapang adalah suatu cara yang digunakan untuk mengetahui jumlah kapang secara kuantitatif dikarenakan koloni yang terbentuk dapat dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop (Karimela & Mandeno, 2019). Satuan koloni yang dihitung menggunakan mikroskop kemudian dinyatakan dalam unit per gram (cfu/g) (Yoni 2016).

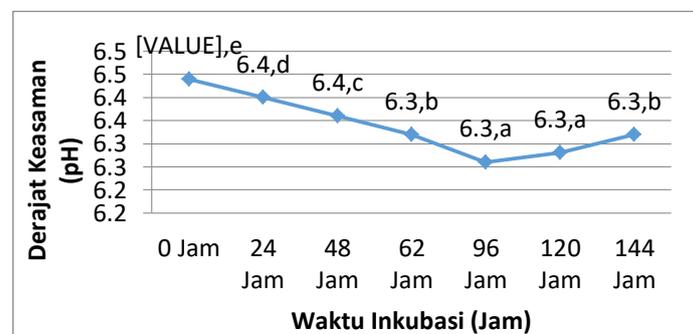


Gambar 1 Perhitungan Jumlah Kapang

Hasil perhitungan jumlah kapang menunjukkan bahwa media bubuk kulit tanduk kopi arabika dapat dimanfaatkan oleh *A. niger* sebagai media pertumbuhan. Kapang berada pada fase log di waktu inkubasi 24 jam hingga 72 jam dan mulai berada pada fase stasioner di waktu inkubasi 72 jam hingga 144 jam.

Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH adalah jumlah konsentrasi ion hidrogen (H^+) pada larutan yang menyatakan tingkat keasaman dan kebasaan yang dimiliki. Nilai pH merupakan besaran fisik dan diukur pada skala 0 sampai 14, bila nilai $pH < 7$ larutan bersifat asam, $pH > 7$ larutan bersifat basa dan $pH = 7$ larutan bersifat netral (Astria et al., 2014).



Gambar 2 Nilai pH

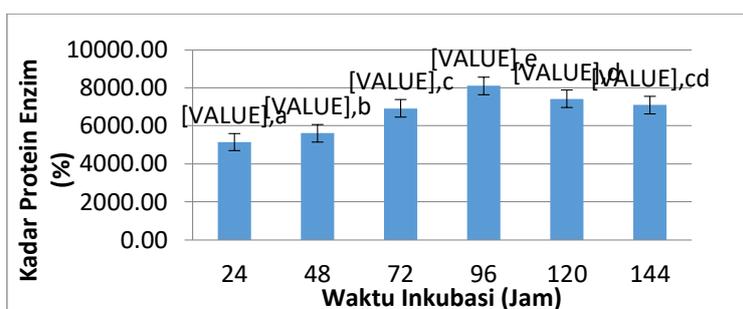
Nilai derajat keasaman (pH) pada waktu inkubasi 0 jam ke 24 jam sudah mengalami perubahan yang pesat, pada waktu tersebut kapang *A. niger* mengalami proses pertumbuhan sehingga metabolisme yang terjadi menghasilkan asam-asam organik yang menyebabkan pH

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Sebagai Substrat Pertumbuhan *Aspergillus Niger* Dalam Memproduksi Enzim Selulase

semakin menurun. Kemudian, pada waktu inkubasi 96 jam hingga 144 jam, pH yang dihasilkan kembali meningkat.

Kadar Protein

Enzim merupakan bagian dari protein yang mengkatalisis reaksi-reaksi kimia (Suberata, 2021). Enzim berfungsi sebagai katalisator yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia (Saputra, Santri, Islam, & Fatmawati, 2022). Suatu enzim dapat mempercepat reaksi dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis (Supriyatna, 2015). Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalisis reaksi antara lain konversi energi dan metabolisme pertahanan sel. Hasil analisis kadar protein enzim dapat dilihat pada Gambar 3.

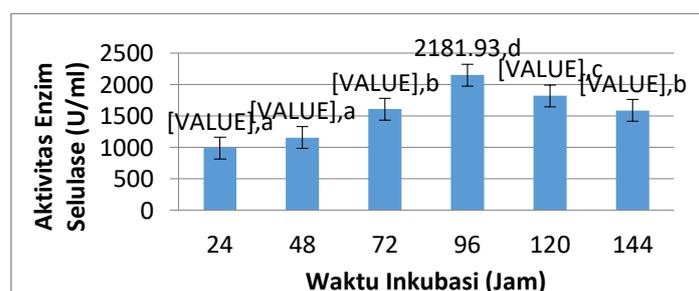


Gambar 3 Kadar Protein

Hasil analisis protein enzim menunjukkan terjadinya perbedaan pada setiap waktu inkubasi. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan isolat *A. niger* pada media produksi berkorelasi positif dengan protein yang dihasilkan. Pada waktu inkubasi 24 jam, pertumbuhan kapang berada pada fase logaritmik hingga waktu inkubasi 96 jam. Sehingga kadar protein yang dihasilkan mengalami peningkatan secara terus menerus hingga waktu inkubasi 96 jam dengan nilai 8108,87%.

Aktivitas Enzim dan Spesifik Enzim Selulase pada Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Enzim selulase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme di luar sel (Larasati, Mulyana, Anggriawan, & Effendi, 2018). Produksi enzim dalam mikroorganisme dapat dikontrol untuk meningkatkan produktivitas enzim oleh mikroorganisme tersebut. Selulase yang dihasilkan bergantung pada hubungan kompleks yang melibatkan berbagai variasi faktor antara lain: ukuran inokulum, pH, suhu, waktu pertumbuhan dan sebagainya (Sakti, 2012). Hasil analisis aktivitas enzim selulase pada waktu inkubasi optimum dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Aktivitas Enzim Selulase Pada Waktu Inkubasi Optimum

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar gula reduksi semakin meningkat dari waktu inkubasi 24 jam hingga waktu inkubasi 96 jam dengan nilai 2,62 %. Hal ini disebabkan pada waktu inkubasi 24 jam hingga 72 jam, isolat kapang A. niger berada pada fase logaritmik dimana pada fase tersebut pertumbuhan isolat kapang A. niger mengalami peningkatan sehingga selulosa yang dipecah menjadi produk sederhana juga meningkat hingga waktu inkubasi 96 jam (fase stationer), dalam hal ini adalah glukosa. Kadar gula reduksi mengalami penurunan pada waktu inkubasi 120 jam yaitu 2,19 % hingga 144 jam menjadi 1,91%. Penurunan kadar gula reduksi disebabkan pada waktu inkubasi 120 jam, isolat kapang A. niger berada pada fase awal kematian (Maryanty, Saputra, & Prasetyo, 2020). Sehingga, kemampuan aktivitas enzim selulase untuk memecah selulosa menjadi glukosa juga semakin menurun.

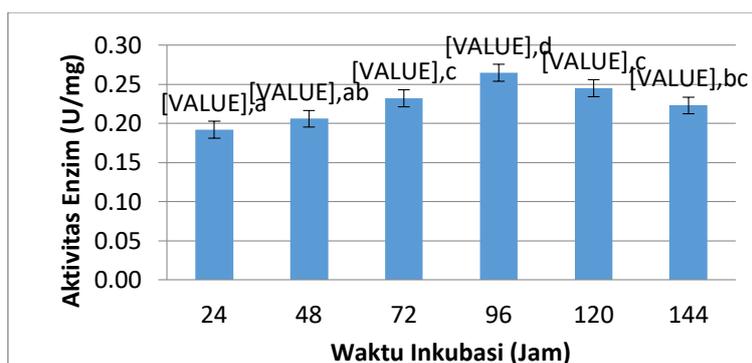
Hal ini menunjukkan bahwa kadar gula reduksi yang dihasilkan pada waktu inkubasi 96 jam berada dikisaran tertinggi, dimana hasil tersebut berkorelasi positif dengan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan. Kadar gula reduksi yang dihasilkan pada waktu inkubasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2
Kadar Gula Reduksi Pada Waktu Inkubasi optimum

Komponen	Gula Reduksi %	
Waktu Inkubasi	24 jam	1,19±0,09
	48 jam	1,39±0,02
	72 jam	1,93±0,15
	96 jam	2,62±0,11
	120 jam	2,19±0,21
	144 jam	1,91±0,19

Sumber : Hasil Penelitian, 2021

Aktivitas spesifik enzim ditentukan oleh dua factor yaitu aktivitas enzim dan kadar protein enzim tersebut (Oktavia, Lestari, Lestari, & Jannah, 2018). Aktivitas spesifik enzim diperoleh dengan membandingkan unit aktivitas enzim dengan kadar protein tiap-tiap enzim. Aktivitas spesifik menyatakan jumlah unit enzim per mg protein atau besarnya aktivitas enzim per jumlah protein yang terkandung dalam campuran enzim yang diuji (Triana, 2005). Hasil analisis aktivitas spesifik enzim (Waktu inkubasi) dapat dilihat pada Gambar 5.



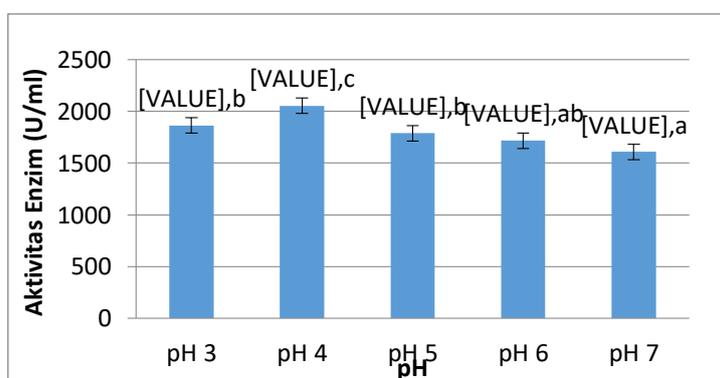
Gambar 5 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Pada Waktu Inkubasi Optimum

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase

Hasil menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi 24 jam aktivitas spesifik enzim selulase mengalami peningkatan hingga pada waktu 96 jam dengan nilai 0.27 U/mg, kemudian nilai aktivitas spesifik enzim mengalami penurunan pada waktu 120 jam hingga 144 jam yaitu 0.25 U/mg dan 0.22 U/mg (Ali, Efendi, Sulistiyanti, Lindrianasari, & Noor, 2017). Hal ini sesuai dengan data aktivitas enzim dan kadar protein enzim, dimana aktivitas enzim mencapai tingkat optimumnya di waktu inkubasi 96 jam. Menurut Bisswanger (2014) kemurnian enzim biasanya ditunjukkan dengan aktivitas spesifik enzim, yaitu unit aktivitas enzim dibagi dengan kandungan protein. Semakin tinggi nilai aktivitas spesifik, maka semakin murni enzimnya.

Aktivitas Enzim dan Spesifik Enzim Selulase pada Penentuan pH Optimum

Enzim memiliki pH optimum dimana pada pH tersebut paling efektif dalam mengikat substrat (Rosyida, 2016). Dalam pengujian pH optimum, enzim yang digunakan adalah enzim selulase yang dihasilkan pada waktu inkubasi optimum yaitu 96 jam. Dalam pengujian pH ini menggunakan 5 skala yaitu 3, 4, 5, 6 dan 7 pada suhu 37oC yang diinkubasi selama 60 menit. Kinerja enzim dalam proses mengkatalisis suatu reaksi akan berjalan baik apabila berada pada kondisi pH yang optimum (Safaria et al., 2013). Aktivitas enzim selulase pada berbagai pH dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6 Aktivitas Enzim Selulase Pada pH Optimum

Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat kapang *A. niger* mengalami peningkatan dari pH 3 dengan nilai aktivitas 1861,35 U/mL ke pH 4 dengan dengan nilai aktivitas 2053,04 U/mL. Aktivitas enzim selulase mulai mengalami penurunan pada pH 5 dengan nilai aktivitas 1788.64 U/mL. Namun, penurunannya tidak jauh berbeda dengan aktivitas enzim pada pH 3.

Proses enzim selulase memecah selulosa menjadi produk yang lebih sederhana seperti glukosa dapat disebut sebagai proses hidrolisis enzimatis yang menghasilkan gula reduksi. Gula reduksi erat kaitannya dengan aktivitas enzim. Semakin tinggi aktivitas suatu enzim, maka semakin tinggi pula gula reduksi yang dihasilkan (Kurniati, Khasanah, & Firdaus, 2021). Hasil analisis gula reduksi yang dihasilkan oleh aktivitas enzim selulase dari kapang *A. niger* akibat perbedaan nilai pH media dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3

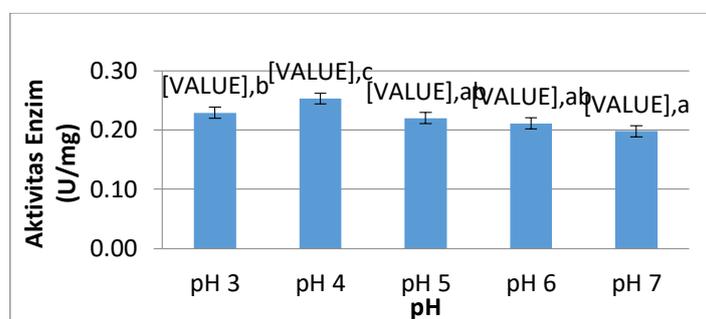
Kadar Gula Reduksi Pada pH Optimum

Komponen		Gula Reduksi %
Derajat Keasaman (pH)	pH 3	2,24±0,19
	pH 4	2,47±0,11
	pH 5	2,15±0,03
	pH 6	2,06±0,05
	pH 7	1,93±0,07

Sumber : Hasil Penelitian, 2021

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar gula reduksi berkorelasi positif dengan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh *A. niger*. Pada pH 3, gula reduksi mengalami peningkatan hingga pada pH 4, yaitu dari 2,24% menjadi 2,47%. Kemudian, gula reduksi mengalami penurunan secara terus menerus hingga pH 7 dengan nilai 1,93%.

Aktivitas spesifik enzim didefinisikan sebagai jumlah unit enzim per miligram protein (PERKEBUNAN, 2020). Nilai aktivitas enzim selulase sejalan dengan aktivitas enzim dan kadar gula reduksi yang dihasilkan. Nilai aktivitas spesifik enzim (pH optimum) dapat dilihat pada Gambar 7.



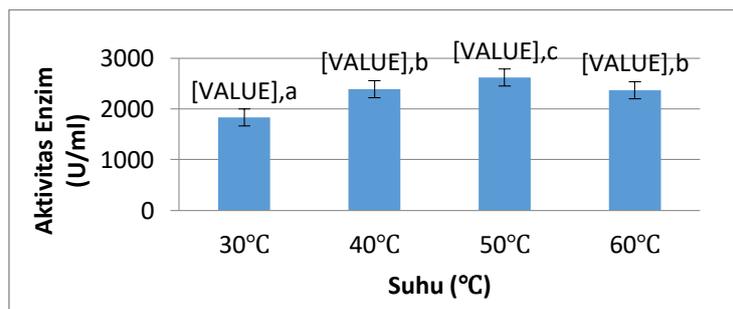
Gambar 7 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Pada pH Optimum

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada pH 3 ke pH 4 terjadi peningkatan aktivitas spesifik enzim yang berbeda. Aktivitas spesifik enzim optimal diperoleh pada pH 4 dengan nilai 0.25 U/mg. Kemudian, aktivitas spesifik enzim selulase mengalami penurunan pada pH 5 hingga pH 7 menjadi 0.20 U/mg. Berdasarkan hasil aktivitas dan spesifik enzim pH optimum didapatkan hasil bahwa pH 4 merupakan pH optimum dalam menghasilkan enzim selulase oleh kapang *A. niger*. Sehingga, kondisi pH inilah yang dilanjutkan dalam tahap penentuan suhu optimum.

Aktivitas Enzim dan Spesifik Enzim Selulase pada Penentuan Suhu Optimum

Suhu sangat berpengaruh terhadap kerja enzim. Enzim dapat menjalankan aktivitasnya pada kisaran suhu tertentu (Wijonarko, Purbowati, & Maksum, 2022). Suhu optimum merupakan suhu yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim. Menurut Poedjadi dan Supriyanti (2006) penurunan suhu akan mengakibatkan enzim tidak aktif, sementara kenaikan suhu juga dapat menyebabkan proses denaturasi yang menyebabkan sisi aktif enzim terganggu dan mengurangi kecepatan reaksi. Kinerja enzim dalam proses mengkatalisis suatu reaksi akan berjalan baik apabila berada pada kondisi suhu yang optimum

Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase (Purkan et al., 2015). Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8 Aktivitas Enzim Selulase Pada Suhu Optimum

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada suhu 30oC nilai aktivitas enzim yaitu 1828,3 U/mL mengalami peningkatan hingga suhu 50oC dengan nilai aktivitas 2614,88 U/mL, sedangkan pada suhu 60oC aktivitas enzim selulase mengalami penurunan menjadi 2367,01 U/mL. Namun, penurunan aktivitas yang terjadi pada suhu 60oC masih berada dikisaran yang sama dengan aktivitas enzim pada suhu 40oC. Menurut Rahayu (2018) pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim sama seperti pengaruh pH terhadap aktivitas enzim yaitu meningkat dengan meningkatnya suhu hingga mencapai maksimum dan kemudian diikuti penurunan aktivitas enzim setelah melewati suhu optimum. Suhu aktivitas enzim pada saat mencapai maksimum disebut sebagai suhu optimum (Faizah, 2017).

Hasil analisis menunjukkan bahwa hasil gula reduksi berbanding lurus dengan aktivitas enzim selulase. Gula reduksi yang dihasilkan pada suhu 30oC berada pada kisaran 2.20%. Kemudian, gula reduksi mengalami peningkatan hingga pada suhu 50oC dengan nilai 3.14%. Namun, pada suhu 60oC gula reduksi mengalami penurunan menjadi 2.84%. Hal ini berkorelasi positif dengan nilai aktivitas enzim selulase yang mengalami peningkatan pada suhu 30oC hingga pada suhu 50oC, kemudian mengalami penurunan pada suhu 60oC. Jumlah gula reduksi yang dihasilkan oleh aktivitas enzim selulase terhadap suhu optimum dapat dilihat pada Tabel 4.

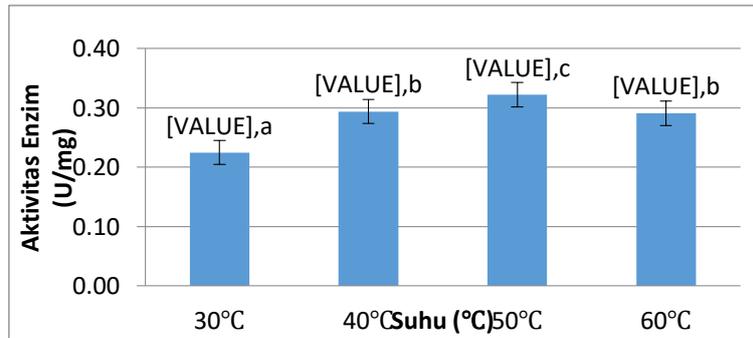
Tabel 4

Kadar Gula Reduksi Pada Suhu Optimum

Komponen		Gula Reduksi %
Suhu	30°C	2,20±0,09
	40°C	2,87±0,04
	50°C	3,14±0,19
	60°C	2,84±0,18

Sumber : Hasil Penelitian, 2021

Aktivitas spesifik menggambarkan tingkat kemurnian suatu enzim, semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim semakin murni enzim tersebut (PERKEBUNAN, 2020). Aktivitas spesifik yaitu banyaknya substrat yang dipecah oleh enzim yang dinyatakan dalam mg/menit. Hasil analisis aktivitas spesifik enzim selulase pada suhu optimum dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Pada Suhu Optimum

Hasil analisis aktivitas spesifik enzim diketahui bahwa pada suhu 30oC nilai aktivitas spesifik enzim selulase 0.23 U/mg dan mengalami peningkatan hingga pada suhu 50oC dengan nilai 0.32 U/mg. Pada suhu 60oC, aktivitas spesifik enzim selulase yang dihasilkan mengalami penurunan menjadi 0.29 U/mg. Berdasarkan data yang diperoleh dapat diketahui bahwa nilai aktivitas spesifik enzim tertinggi berada pada suhu 50oC, kemudian aktivitas spesifik enzim terendah berada pada suhu 30oC. Sehingga dapat dikatakan suhu 50oC sebagai suhu optimum aktivitas spesifik enzim selulase yang diperoleh dari kapang *A.niger* menggunakan substrat bubuk kulit tanduk kopi arabika.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian produksi dan karakterisasi enzim selulase dari kapang *A. niger* menggunakan substrat bubuk kulit tanduk kopi arabika dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut : 1) Waktu inkubasi optimum yaitu 96 jam dengan nilai aktivitas 2148,88 U/ml dan nilai aktivitas spesifik enzim 0,27 U/mg. 2) Nilai pH optimum yaitu pH 4 dengan nilai aktivitas 2053 U/ml dan nilai aktivitas spesifik enzim 0,25 U/mg. 3) Suhu optimum yaitu suhu 50°C dengan nilai aktivitas 2614,88 U/ml dan nilai aktivitas spesifik 0,32 U/mg.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriza, Renita. (2019). Analisis Perbedaan Kadar Gula Pereduksi Dengan Metode Lane Eynon Dan Luff Schoorl Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*). *Jurnal Temapela*, 2(2), 90–96.
- Agustine, Levinna, Okfrianti, Yenni, & Jumiayati, Jumiayati. (2018). Identifikasi total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt dengan variasi sukrosa dan susu skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79–83.
- Agustini, Ni Wayan Sri, & Febrian, Nadhil. (2019). Hidrolisis biomassa mikroalga *Porphyridium cruentum* menggunakan asam (H_2SO_4 dan HNO_3) dalam produksi bioetanol. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*, 41(1), 1–10.
- Ali, Mahrus, Efendi, Eko, Sulistiyanti, Sri Ratna, Lindrianasari, Lindrianasari, & Noor, Nuning Mahmudah. (2017). *Penerapan Konsep Zero Waste Pada Pengolahan Ikan Teri Di Pulau Pasaran, Bandar Lampung*.
- Apriliyanto, Aditiya Muchsin, Purwadi, Purwadi, & Puruhito, Dimas Deworo. (2018). Daya saing komoditas kopi (*Coffea sp.*) di Indonesia. *Jurnal Masepi*, 3(2).
- Darianto, Darianto. (2018). Analisa Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Proses Pengasapan Pada Mesin Pengasapan Ikan Lele. *Journal Of Mechanical Engineering Manufactures Materials And Energy*, 2(2), 56–66.
- Faizah, Mamluatul. (2017). *Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim protease*

- Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase Bacillus subtilis dari daun kenikir (Cosmos sulphureus) yang ditumbuhkan dalam media campuran limbah cair tahu dan dedak.* Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Febrina, Resa Vernia. (2019). *Pengaruh Variasi Massa Ragi Saccharomyces cerevisiae Dan Waktu Fermentasi Terhadap Bioetanol Berbahan Dasar Limbah Kulit Kopi Arabika (Coffea Arabica L).* UIN Ar-Raniry.
- Gea, Alfin Reminis Santason. (2018). *Pengaruh Level Inokulum Aspergillus Niger Terhadap Kandungan Nutrien Dan Asam Sianida Biji Karet.* Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Hamdan, Dani, & Sastra, Andika Ajie. (2020). *A to Z Memulai dan Mengelola Usaha Kedai Kopi.* AgroMedia.
- Kadmium, Adsorpsi Logam Berat Timbal D. A. N., & Batik, Pada Limbah. (n.d.). *Menggunakan Biosorbent Pulpa Kopi Terxanthasi.*
- Karimela, Ely John, & Mandeno, Jeffri A. (2019). Tingkat kontaminasi mikroba pada beberapa unit pengolahan ikan asap pinekuhe di Kabupaten Sangihe. *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan*, 10(1), 61–68.
- Kurniati, Yuni, Khasanah, Iis Elfy, & Firdaus, Kurniawati. (2021). Kajian Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas (Ananas comosus. L). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 10(2), 95–101.
- Larasati, T. R. D., Mulyana, N., Anggriawan, M., & Effendi, Y. (2018). Produksi enzim selulase oleh fungi selulolitik yang diradiasi sinar gamma dalam fermentasi jerami padi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 16(3), 139–147.
- Maryanty, Yanty, Saputra, Fandi Lintang Wahyu, & Prasetyo, Robby. (2020). Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri Lactobacillus delbrueckii dengan Selulase dari Bakteri Bacillus subtilis dan Bacillus circulans. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 4(2), 153–161.
- Oktavia, Yulia, Lestari, Shanti Dwita, Lestari, Susi, & Jannah, Miftahul. (2018). Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease Dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri Stolephorus SP. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10(3), 719–725.
- Perkebunan, D. A. N. (2020). Produksi Enzim Selulase Termotabil Dari Bakteri Ng2 Menggunakan. *Jitp*, 8(2).
- Probiotik, Pengaruh Penggunaan Biosuplemen Mengandung Bakteri, Rayap, Selulolitik Asal, & Bali, Terhadap Produktivitas Itik. (N.D.). *Peternakan*.
- Puspitasari, Dian, & Ibrahim, Muslimin. (2020). Optimasi aktivitas selulase ekstraseluler isolat bakter eg 2 isolasi dari bungkil kelapa sawit (Elaeis guineensis jacq.). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 9(1), 42–50.
- Putra, Riza Aulia, Safrizal, M. Pd, & Marullah, David. (2020). *Pemanfaatan Dan Pengelolaan Energi Baru Terbarukan Dari Limbah Kulit Kopi Berbasis Potensi Masyarakat Di Kabupaten Bener Meriah, Aceh.*
- Rosyida, Irawati. (2016). *Karakterisasi pH, suhu dan konsentrasi substrat pada enzim selulase kasar yang diproduksi oleh Bacillus circulans.* Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Saputra, Ega Arya, Santri, Amalliya, Islam, U., & Fatmawati, N. (2022). Peran enzim dalam metabolisme berdasarkan al-qur'an dan hadist. *No, 1*, 27–35.
- Suberata, I. Wayan. (2021). Metabolisme mikroba. *Simdos. Unud. Ac. Id.*
- Susanti, Sri, & Nurfitriyanti, Maya. (2018). Pengaruh model realistic mathematics education (RME) terhadap kemampuan pemecahan masalah matematika pada siswa kelas VII SMPN 154 Jakarta. *JKPM (Jurnal Kajian Pendidikan Matematika)*, 3(2), 115–122.
- Syabriana, Maliya. (2018). Produksi Bioetanol Dari Limbah Kulit Kopi Menggunakan Enzim Zymomonas Mobilis Dan Saccharomyces Cerevisiae. *Jurnal Serambi Engineering*, 3(1).
- Syakirin, Mulyakin. (2020). *Kajian penambahan gula pasir terhadap sifat kimia dan*

- Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Sebagai Substrat Pertumbuhan Aspergillus Niger Dalam Memproduksi Enzim Selulase organoleptik sirup kersen.* Universitas_Muhammadiyah_Mataram.
- Towaha, Juniaty, & Rubiyo, Rubiyo. (2016). Physical quality and flavor of arabica coffee beans fermented by probiotic microbes from civet digestive system. *Journal of Industrial and Beverage Crops*, 3(2), 61–70.
- Wijonarko, Gunawan, Purbowati, Ike Sitoresmi Mulyo, & Maksum, Ali. (2022). Enzymatic Kinetics of Cellulose Hydrolysis using Cellulase from Goat Rumen Fluids. *Indonesian Journal of Food Technology*, 1(1), 46–58.
- Yuwono, Triwibowo. (2019). *Bioteknologi pertanian*. UGM PRESS.