

**PENGARUH PENGGUNAAN KULIT BUAH KOPI TERFERMENTASI  
*Trichoderma reesei* YANG DITAMBAH Zn-Cu ISOLEUSINAT TERHADAP  
PRODUKSI AMONIA DAN VOLATILE FATTY ACIDS SECARA IN VITRO**

(THE EFFECT OF USING COFFEE HUSK FERMENTED WITH *Trichoderma reesei* PLUS Zn-Cu ISOLEUSINAT TO WARD PRODUCTION OF AMMONIA AND VOLATILE FATTY ACIDS FOR IN VITRO)

**Lusia Wea, Erna Hartati, Ahmad Saleh**

Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Jln Adisucipto Penfui, Kupang 85001

Email:[Lussy.Lussy@gmail.com](mailto:Lussy.Lussy@gmail.com)

**ABSTRAK**

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Makanan Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana Kupang selama dua bulan. Penelitian ini terdiri dari tiga tahap yaitu: persiapan alat dan bahan, pelaksanaan dan analisis data. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan kulit buah kopi terfermentasi *Trichoderma reesei* dengan penambahan Zn-cu isoleusinat terhadap produksi amonia (NH<sub>3</sub>) dan Volatile Fatty Acids (VFA) *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan P1 kulit buah kopi tanpa fermentasi, P2 kulit buah kopi terfermentasi *Trichoderma reesei*, P3 kulit buah kopi terfermentasi *Trichoderma reesei* dengan penambahan Zn-Cu Isoleusina pada setiap perlakuan diulang lima kali. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan kulit buah kopi terfermentasi jamur *Trichoderma Reesei* dengan penambahan Zn-Cu Isoleusinat berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap produksi NH<sub>3</sub> dan VFA. Pada perlakuan P3 mampu meningkatkan kualitas kulit buah kopi yang ditandai dengan peningkatan produksi NH<sub>3</sub> sebesar 6,6 mM/l dan VFA sebesar 98,08 mM/l. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa penggunaan kulit buah kopi terfermentasi *Trichoderma reesei* dengan penambahan Zn-Cu isoleusinat dapat meningkatkan produksi NH<sub>3</sub> dan VFA dibandingkan dengan kulit buah kopi tanpa fermentasi dan kulit kopi terfermentasi *Trichoderma reesei*.

---

Kata kunci : kulit buah kopi, fermentasi, *Trichoderma reesei*, NH<sub>3</sub>, VFA

**ABSTRACT**

The purpose of the study was to know the influence of fermented coffee husk *Trichoderma reesei* with addition of Zn-cu isoleusinat on the production of Ammonia (NH<sub>3</sub>) and Volatile Fatty Acids (VFA) *in vitro*. This study was conducted at the Laboratory of Food Chemistry Faculty of Animal Husbandry University Nusa Cendana Kupang for two months. This study used a completely randomized design (CRD) with three treatments and five replications. The results showed that the used of fermented coffee husk with *Trichoderma reesei* and also addition of Zn-Cu Isoleusinat improved coffee husk quality which was characterized by increasing of production of NH<sub>3</sub> and VFA significantly (P <0.05). Based on the results of the study, it is concluded that the use of fermented coffee husk with *Trichoderma reesei* and addition of Zn-Cu isoleusinat improves NH<sub>3</sub> and VFA.

---

**Key words:** coffee huks, fermentation, *Trichoderma reesei*, NH<sub>3</sub>, VFA

**PENDAHULUAN**

Kulit buah kopi adalah limbah hasil sampingan pengolahan buah kopi yang proporsinya cukup besar yaitu berkisar antara 40-45 % dari hasil panen. Di Nusa Tenggara

Timur (NTT) pada Tahun 2011 lahan yang ditanami kopi seluas 88.603 ha dengan total produksi sebesar 25.079 ton. Apabila produksi kulit buah kopi 40-45 % dari total

produksi maka jumlah limbah sebanyak 10.031-11.285 ton. Akan tetapi limbah kulit buah kopi yang cukup potensial ini belum banyak dimanfaatkan oleh petani sebagai sumber bahan pakan, dan baru digunakan sebagai bahan dasar pembuatan pupuk kompos, dilihat dari kualitasnya nutrisi kulit buah kopi mengandung protein kasar sebesar 10,4 %, serat kasar 33,17 % dan energi metabolis 14,34 MJ/kg serta pencernaan protein sebesar 65 %, (Azmi dan Gunawan, 2006).

Permasalahan lain yang dihadapi adalah kulit kopi dalam keadaan segar mengandung zat anti nutrisi berupa kafein dan tannin yang cukup tinggi yaitu sebesar 2,8 % dari bahan kering (Guntoro dkk., 2008) sehingga mudah rusak, kurang disukai ternak dan dapat mengganggu pencernaan jika diberikan dalam jumlah banyak. Untuk mengatasi hal tersebut perlu terobosan teknologi sehingga kulit buah kopi dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan secara optimal. Salah satu cara untuk mengatasi masalah diatas adalah dengan teknologi fermentasi menggunakan kapang *Trichoderma reesei*.

*Trichoderma reesei* merupakan jamur berfilamen yang bersifat mesofilik, tidak patogen, mempunyai kemampuan menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Kemampuan *Trichoderma reesei* memproduksi enzim dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhannya seperti: pH, suhu, pengadukan dan aerasi. Aerasi merupakan faktor yang sangat penting pada semua fase oleh karena oksigen diperlukan untuk metabolis energi agar produk fermentasi yang dihasilkan maksimal (Juhasz et al., 2003).

Disamping mengandung zat anti nutrisi pakan ruminansia di daerah tropis umumnya mengandung Zinc (Zn) dan Cuprum (Cu) rendah. Beberapa hasil penelitian memperlihatkan kandungan Zn dan Cu masing-masing 20-38 mg/kg dan 8-10 ppm.

Sementara kebutuhan Zn untuk ternak ruminansia adalah 33-50 mg/kg dan membutuhkan Cu sebesar 10-12 ppm (Underwood, 1977 dalam Tanuwiria dkk., 2008). Pemberian mineral Zn dapat memacu pertumbuhan mikroba rumen (Putra 1999 yang dikutip Tanuwiria 2004). Mikromineral Zn berperan sebagai katiliasator bagi enzim mikroba sehingga proses degradasi dalam rumen dapat tercapai dengan baik. Hartati dkk. (2009) menyatakan bahwa selain mikromineral Zn ternak ruminansia juga membutuhkan Cu karena terlibat dalam beberapa fungsi enzim diantaranya untuk sintesis hemoglobin yang normal. Selanjutnya McDowel (1992) dalam Hartati dkk. (2009) melaporkan bahwa ternak ruminansia hanya mampu menyerap Cu 1-3 %. Karena Cu sulit diserap maka Tanuwiria (2004) telah melakukan penelitian secara *in vitro* menggunakan kombinasi Zn-Cu proteinat dan Hartati dkk. (2009) Zn-Cu isoleusinat dan ZnSO<sub>4</sub> dan hasilnya menunjukkan bahwa suplementasi Zn-Cu proteinat atau Zn-Cu isoleusinat dalam ransum menurunkan produksi NH<sub>3</sub> akan tetapi terjadi peningkatan produksi VFA.

Amonia (NH<sub>3</sub>) merupakan salah satu hasil fermentasi pakan dalam rumen yang berasal dari degradasi protein dalam rumen (Dewhurst dkk., 2000). *Volatil Fatty Acid* (VFA) merupakan produk akhir pencernaan mikroba (karbohidrat dan protein) dan metabolisme bahan makanan dalam rumen yang terdiri dari asetat (C<sub>2</sub>), propionate (C<sub>3</sub>), butiran (C<sub>4</sub>) dan asam-asam lemak lainnya.

Pemanfaatan kulit buah kopi terfermentasi dengan menggunakan *Trichoderma reesei* dengan penambahan Zn-Cu isoleusinat belum pernah diteliti, oleh sebab itu telah dilakukan penelitian dengan judul "Pengaruh Penggunaan Kulit Buah Kopi Terfermentasi *Trichoderma reesei* yang Ditambah Zn-Cu Isoleusinat terhadap Produksi Amonia (NH<sub>3</sub>) dan *Volatil Fatty Acids* (VFA) *In Vitro*."

## METODE PENELITIAN

### Proses Pembuatan Zn-Cu Isoleusinat

Mineral organik Zn-Cu isoleusinat dibuat melalui proses fermentasi menggunakan media

dari bahan lokal, yaitu singkong. Cara pembuatan Zn-Cu isoleusinat yaitu: pertama siapkan 600 g singkong dicacah dan dicampur

dengan masing-masing 200 ml larutan mineral ZnSO<sub>4</sub> dan CuSO<sub>4</sub> pada konsentrasi 3000 ppm untuk Zn dan 500 ppm untuk Cu dalam plastik tahan panas kemudian campuran singkong segar dengan mineral tersebut dikukus hingga masak dan setelah masak diangkat, disimpan dalam wadah plastik dibiarkan sampai dingin lalu taburkan 0,5 g ragi tape komersial di atasnya. Kemudian tambahkan juga 100 ppm asam amino isoleusin wadah dibungkus kertas dan diinkubasikan selama tiga hari dan pada hari ke-4 Zn-Cu isoleusinat siap dipanen. Setelah dipanen tambahkan dedak halus sebagai *carrier* dengan ratio 2:1 dari bahan kering hasil fermentasi dan keringkan dalam oven pada suhu 42°C atau bila dalam skala besar dijemur 1-2 hari atau sampai kering dengan kadar bahan kering 86% selanjutnya Zn-Cu isoleusinat digiling dan siap untuk digunakan.

#### **Aktifasi Bibit *Trichoderma Reesei*.**

Alat yang digunakan yaitu aerator, timbangan analitik, labu ukur, wadah (bokor), Bahan terdiri dari bibit *trichoderma reesei*, air, gula pasir, urea, NPK Zn-Cu isoleusinat. Aktifasi bibit *Trichoderma reesei* sebagai starter untuk perlakuan P2 siapkan 1 liter aquades dipanaskan lalu didinginkan dan selanjutnya ditambah gula pasir, urea, dan NPK masing-masing sebanyak 10 g selanjutnya larutan tersebut diaduk dan ditambah 10 g bibit *Trichoderma reesei*, perlakuan P3 dilakukan hal yang sama pada perlakuan P2 tapi ditambah kedalam larutan *Trichoderma reesei* 2 g Zn-Cu Isoleusinat. Kemudian bahan perlakuan P2 dan P3 diaerasi selama 24 jam. Setelah 24 jam *Trichoderma reesei* yang sudah aktif dan yang mengandung Zn-Cu Isoleusinat siap digunakan sebagai bahan starter untuk fermentasi kulit buah kopi.

#### **Proses Fermentasi**

Alat yang digunakan untuk proses fermentasi yaitu: nyiru, botol sprayer, dan plastik. Bahan yang digunakan: kulit buah kopi dan larutan *Trichoderma reesei* aktif.

Timbang kulit buah kopi sebanyak 100 g, tebarkan secara merata dalam wadah dengan

ketebalan 3-5 cm, kemudian gunakan spayer untuk menyemprot larutan *Trichoderma reesei* aktif secara merata. Hal yang sama dilakukan sampai kulit buah kopi habis selanjutnya kulit buah kopi tersebut ditutup dengan plastik untuk menjaga kelembaban, suhu tetap stabil dan mencegah penguapan serta mengurangi masuknya mikroba pencemar dari udara, setelah 48 jam kulit buah kopi hasil fermentasi dikeringkan lalu dimol siap digunakan untuk analisis sampel dilaboratorium dan percobaan *in vitro*

#### **Metode Pengambilan Cairan Rumen:**

Cairan rumen diambil dari seekor tenak sapi dewasa di Rumah Potong Hewan (RPH) Oeba Kupang dengan menggunakan termos, sampai dilaboratorium cairan rumen disaring dengan menggunakan saringan yang dilapiskan dengan kain kasa dan dipindahkan ke dalam beaker ditempatkan dalam incubator atau penangas air dengan temperature 38°C dan selalu dialiri CO<sub>2</sub>

#### **Prosedur Kerja *In Vitro***

Timbang sampel sebanyak 0,5 g masukan dalam tabung sentrifuge (untuk satu sampel diulang 5 kali), tambahkan 50 ml campuran larutan buffer dan cairan rumen (4:1) kedalam setiap tabung. Sebelum tabung ditutup dengan karet dialiri lebih dahulu dengan CO<sub>2</sub> agar kondisi dalam tabung diusahakan anaerob. Kemudian tabung-tabung diletakkan dalam penangas air temperature 38°C selama 48 jam dan dikocok setiap 3 jam, tabung blangko juga dikerjakan berisi campuran larutan buffer dan cairan rumen. Setelah 48 jam tabung-tabung diangkat dari penangas air lalu direndam dalam air dingin. Tabung diputar dalam centrifuge pada 2500 rpm selama 15 menit, supernatant diambil untuk analisis NH<sub>3</sub> dan VFA (Stilley dan Terry 1963).

#### **Produksi Amonia (NH<sub>3</sub>)**

Pengukuran konsentrasi NH<sub>3</sub> cairan rumen dilakukan dengan metode Mikrodifusi Conway (General Laboratory Procedur, 1996) sebagai berikut:

$N-NH_3 \text{ (mM)} = (\text{ml titrasi} \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1 \text{ 000})$

### Produksi Volatile Fatty Acids (VFA)

Konsentrasi asam lemak terbang total (VFA total) ditentukan dengan cara penyulingan uap (General Laboratory Procedure, 1996). Yaitu di hitung menggunakan rumus:

$$VFAt = \frac{(b-x) \times NHCL \times 1000 / mM}{Volume Slampe}$$

VFAt = Asam lemak terbang total

B = Volume Titrasi Blangko

S = Volume Titrasi Sampel

N = Normalis Larutan HCL

### Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam atau analysis of varian (ANOVA). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan sesuai petunjuk (Steel et al., 1997).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Produksi Amonia

Amonia (NH<sub>3</sub>) merupakan substrat yang penting bagi pertumbuhan mikroba dan proses pencernaan dalam rumen karena NH<sub>3</sub> merupakan sumber nitrogen yang paling banyak dibutuhkan oleh mikroba rumen. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata (P<0,05), terhadap peningkatan produksi NH<sub>3</sub> (Tabel 2). Hal ini terjadi karena proses fermentasi menggunakan *Trichoderma reesei* yang ditambah Zn-Cu Isoleusinat telah berhasil melepaskan kandungan tanin, kafein dan ligning sehingga sehingga serat kasar muda dicerna. Selain sumber kerangka C dan energi diduga juga tersedia protein sebagai sumber N. Ketersediaan kerangka C dan yang cukup tinggi dapat mengoptimalkan fermentasi dalam rumen. Uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa produksi NH<sub>3</sub> antara perlakuan P1-P3 dan P2-P3 terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) terhadap peningkatan produksi NH<sub>3</sub>, sedangkan antara perlakuan P1-P2 tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata.

Hasil penelitian menggambarkan bahwa telah terjadi peningkatan produksi NH<sub>3</sub> pada

kulit biji kopi yang difermentasi *Trichoderma reesei* yang ditambah Zn-Cu isoleusinat sebesar 2% yaitu 6,16 Mm/l. Diduga hal ini disebabkan karena penambahan Zn-Cu isoleusinat sebagai prekursor pembentukan bakteri pencerna serat yang cukup memproduksi enzim pencerna serat dalam pakan, sehingga apabila ketersediaan kerangka C dan energi lebih lanjut dengan ketersediaan sumber N yang cukup maka dapat mengoptimalkan sintesis mikroorganisme, yang tercermin dari produksi NH<sub>3</sub> hasil fermentasi meningkat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Hartati dkk, (2009) pada sapi jantan mudah terjadi peningkatan produksi NH<sub>3</sub> dan VFA sebesar 2,15 % yang mengkonsumsi standing hay rumput kume amoniasi dan konsentrat disuplementasi 150 mg ZnSO<sub>4</sub> /kg BK konsentrat dan 2 % Zn - Cu isoleusinat pada 300 ppm Zn dan 500 ppm Cu dibandingkan tanpa suplementasi. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Sutardi, (1997) bahwa kadar amonia yang dibutuhkan untuk menunjang sintesis protein mikroba adalah antara 4-12 mM.

Tabel 2. Rataan produksi NH<sub>3</sub> dan VFA (mM/L) pada berbagai perlakuan

Vriabel Produksi	Perlakuan			Nilai P
	P1	P2	P3	
NH <sub>3</sub> (mM.)	5,58 <sup>a</sup>	5,59 <sup>a</sup>	6,6 <sup>b</sup>	p<0.05
VFA (mM)	96,27 <sup>a</sup>	97,01 <sup>a</sup>	98,08 <sup>b</sup>	P<0,05

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05)

### Produksi Volatile Fatty Acid

*Volatile fatty acid* merupakan produk utama fermentasi karbohidrat oleh mikroba rumen, karbohidrat akan difermentasi oleh mikroba rumen membentuk VFA yang merupakan sumber energi siap pakai bagi mikroba rumen. Produksi VFA mencerminkan fermentabilitas pakan dan merupakan sumber kerangka karbon (C) dan energi utama bagi ternak. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap peningkatan produksi VFA (Tabel 2). Hal ini terjadi karena adanya degradasi lignin pada kulit kopi sehingga dapat meningkatkan jumlah selulosa dan hemiselulosa enzim yang berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi VFA total dari kulit buah kopi terfermentasi *Trichoderma reesei* yaitu enzim *selulase* karena enzim *selulase* dapat menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa, sehingga karbohidrat yang lebih sederhana tersebut akan mudah difermentasi dalam rumen oleh mikroba menjadi VFA. Hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa pengaruh antara perlakuan P1-P3, P2-P3 berbeda nyata, sedangkan antara perlakuan P1-P2 tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Hasil penelitian menggambarkan bahwa telah terjadi peningkatan produksi VFA pada kulit biji kopi

yang difermentasi *Trichoderma reesei* yang ditambah Zn-Cu isoleusinat sebesar 2 % menjadi 6,16 Mm/l. Diduga hal ini disebabkan karena penambaha Zn-Cu isoleusinat sebagai prekursor pembentukan bakteri pencerna serat yang dapat cukup memproduksi enzim pencerna serat dalam pakan. Kerangka C dan energi lebih lanjut dengan ketersediaan amonia sebagai sumber N yang cukup maka dapat mengoptimalkan sintesis mikroorganisme, yang tercermin pada peningkatan produksi VFA.

Peningkatan konsentrasi VFA mencerminkan peningkatan kandungan karbohidrat pakan yang mudah. Hal ini sejalan dengan penelitian Hartati dkk, (2009) terjadi peningkatan produksi NH<sub>3</sub> dan VFA sebesar 2,15 % pada sapi jantan muda yang mengkonsumsi “standing hay” rumput kume amoniasi dan konsentrat disuplementasi 150 mg ZnSO<sub>4</sub> /kg BK konsentrat dan 2 % Zn-Cu isoleusinat pada 300 ppm Zn dan 500 ppm Cu dibandingkan tanpa suplementasi. Produksi VFA hasil penelitian ini berkisar antara 96,27-98,08 mM/l sesuai dengan pernyataan Sutardi, (1979) bahwa VFA yang baik untuk pertumbuhan optimum mikroba rumen adalah 80-160 mM/l.

### SIMPULAN

Dari hasil dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa: pengaruh kulit buah kopi yang terfermentasi jamur *Trichoderma reesei* yang ditambah Zn-Cu isoleusinat mampu

memproduksi NH<sub>3</sub> dan VFA tertinggi yaitu masing-masing sebesar 6,6 mM/l dan 98,08 mM/l.

### DAFTAR PUSTAKA

- Dewhurst RJ, Davies DR, Merry RJ. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *J Anim Feed Sci Technol* 85: 1-21.
- Guntoro S, Sriyanto N, Yasa MRS. 2008. Pengaruh pemberian limbah kakao olahan terhadap pertumbuhan sapi bali (*feeding of processed cacao by-product to growing bali cattle*). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Bali, Ngurahrai, Denpasar.
- Juhasz T, Kozma K, Szengyel Z, Reczey K. 2003. Production of  $\alpha$ -glucosidase in mixed culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30. *Food Technol Biotechnol* 41(1): 49-53.
- Hartati E, Saleh A, Sulistidjo ED. 2009. Optimalisasi proses fermentasi rumen dan pertumbuhan sapi bali melalui suplementasi Zn-Cu isoleusinat dan ZnSO<sub>4</sub> pada ransum berbasis standinghay rumput kume (*Andropogon timorensis*) amoniasi. *Animal Production* 11 (1): 59-65.

- Sutardi T. 1997. *Peluang Dan Tantangan Pengembangan Ilmu-Ilmu Nutrisi Ternak*. Fakultas Peternakan, IPB. Bogor
- Steel RGD, Torie JH, Dickey DA. 1997. *Principles And Procedures of Statistics: A Biometrical Approach 3<sup>rd</sup> Editon*. Mc Graw-Hill. Book.
- Stilley JMA, Terry. 1963. A Two stage cechnique for the in vitro digestion or forage crops. *J B British Grassi Soc* 18:104-114.
- Tanuwiria UH. 2004. Efek Suplementasi Zn-Cu proteinat dalam ransum terhadap fermentabilitas dan pencernaan *in-vitro*. *Jurnal Ilmu Ternak* 4 (1): 7-12.
- Tanuwiria UH, Ayuningsih B. 2008. Pengaruh suplemen Zn-proteinat, Cu-proteinat dan kompleks Ca-minyak ikan dalam ransum berbasis pucuk tebu amoniasi terhadap performans domba jantan persilangan priangan X barbados. *Jurnal Ilmu Ternak* 8(1):7-12.