Journal of Innovative and Creativity
Journal Homepage: https://joecy.org/index.php/joecy
e-mail: journaljoecy@gmail.com

Faculty of Education
University of Pahlawan Tuanku Tambusai
ISSN 2775-771X (Online)
ISSN 2962-570X **(Printed)**
6 (1) 2026, Page 17211 - 17227

Pengaruh Lama Fermentasi Menggunakan Inokulum Larutan Feses Sapi Segar TerhadapKandungan Anti Nutrisi Kulit Kopi

Miska Orti Bahan[1], Twenfosel O. Dami Dato[2], Marthen L. Mullik[3]
[1,2,3]Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Jln. Adisucipto Penfui, Kupang 85001
e-mail: bahanmiska@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar (LFSS) terhadap kandungan anti nutrisi (tanin, kafein, dan anti tripsin) kulit kopi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Perlakuan tersebut adalah: LF-0 = tanpa fermentasi (kontrol); LF-7 = lama fermentasi 7 hari, LF-14 = lama fermentasi 14 hari, LF-21 = lama fermentasi 21 hari, dan LF-28 = lama fermentasi 28 hari. Variabel yang diamati adalah kandungan anti nutrisi: tanin, kafein, anti tripsin. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut Duncan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar pengaruh sangat nyata (P<0,001) terhadap kandungan tanin, kafein, dan anti tripsin. Disimpulkan bahwa kulit kopi berpotensi digunakan sebagai bahan pakan alternatif untuk ternak. Fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar mampu menurunkan kandungan anti nutrisi seperti tanin, kafein, dan anti tripsin dengan waktu terbaik pada lama fermentasi 28 hari kecuali untuk tanin tanpa fermentasi.

Kata Kunci: Anti tripsin, Fermentasi, Inokulum larutan feses, Kafein, Kulit kopi, Tanin.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of fermentation time using fresh cow feces solution (LFSS) inoculum on the anti-nutrient content (tannin, caffeine, and anti-trypsin) of coffee skin. The method used in this study is a completely randomized design (CRD) method consisting of 5 treatments and 4 replications, so that 20 experimental units are obtained. The treatments are: LF-0 = no fermentation (control); LF-7 = 7 days fermentation time, LF-14 = 14 days fermentation time, LF-21 = 21 days fermentation time, and LF-28 = 28 days fermentation time. The variables observed are the anti-nutrient content: tannin, caffeine, anti-trypsin Data were analyzed using ANOVA and Duncan's extended test. Statistical analysis showed that coffee husk fermentation using fresh cow feces solution inoculum had a highly significant effect (P<0.001) on tannin, caffeine, and trypsin inhibitor content. It was concluded that coffee husk has the potential to be used as an alternative feed ingredient for livestock. Coffee husk fermentation using fresh cow feces solution inoculum reduced antinutrients such as tannin, caffeine, and trypsin inhibitor content, with the best fermentation time being 28 days, except for unfermented tannin.

Keywords: Trypsin inhibitor, Fermentation, Feces solution inoculum, Caffeine, Coffee husk, Tannin.

© The Author(s). 2026 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

PENDAHULUAN

Limbah adalah hasil sisa dari tanaman pertanian atau perkebunan setelah hasil utamanya diambil. Limbah dari perkebunan dan pertanian memiliki potensi untuk bisa dimanfaatkan sebagai pakan. Salah satu limbah perkebunan kopi yang dapat dimanfaatkan sebagai pakan adalah kulit kopi.

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) NTT (2022), hasil perkebunan kopi di Kabupaten Manggarai Timur pada tahun 2022 adalah 9.580,60 ton dengan luas lahan 26.406 ha. Berdasarkan data tersebut, maka pengolahan kopi akan menghasilkan banyak limbah. Dewi dkk. (2021) menyatakan bahwa

proses pengolahan kopi pada umumnya menghasilkan 35% kulit kopi dan 65% biji kopi, maka jumlah limbah kulit kopi di Kabupaten Manggarai Timur pada tahun 2022 sebesar 3.353,21 ton dan tahun 2023 sebesar 3.358,46 ton. Oleh karena itu diperlukan pengolahan lebih lanjut terhadap kulit kopi agar dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai pakan.

Ditinjau dari kandungan gizinya, kulit buah kopi mempunyai kandungan bahan kering 87,4%, protein kasar 11,2%, serat kasar 21%, abu 8,3% (Latief dkk., 2000), calsium 2,086%, fosfor 0,131% dan energi metabolis 885,079 kkal/kg (Subagja dkk., 2003). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan zat makanan pada kulit kopi mempunyai kemiripan dengan zat-zat gizi sumber pakan lainnya seperti dedak padi yang kandungan bahan keringnya 88,44%, protein kasar 11,36%, lemak kasar 14,32%, serat kasar 17,79% (Akmal dan Filawati, 2008; Sitorus dkk.,

2013). Peneliti lain juga melaporkan kandungan nutrisi kulit kopi yaitu bahan kering 90,52% (Londra dan Andri, 2009), protein kasar 10,4% dan serat kasar 17,2% (Zainuddin dan Murtisari, 1995), lignin 52,59% serta anti nutrisi (tanin 2,47% dan kafein 1,36%) (Mayasari, 2009). Kandungan anti nutrisi seperti tanin, kafein dan anti tripsin dapat mengganggu sistem pencernaan ternak, ini merupakan salah satu faktor pembatas penggunaan kulit kopi sebagai pakan. Upaya untuk meningkatkan kualitas nutrien kulit kopi dapat dilakukan dengan cara pengolahan, yaitu dengan cara fermentasi.

Fermentasi merupakan proses penguraian senyawa-senyawa organik oleh mikroorganisme pada keadaan anaerob untuk menghasilkan suatu produk atau senyawa organik yang lebih sederhana (Abercrombie dkk. 1993). Teknologi fermentasi diharapkan mampu menurunkan kandungan anti nutrisi pada kulit kopi. Handayanta dkk. (2014) melaporkan bahwa fermentasi kulit kopi dengan kapang *Aspergillus niger* selama 5 hari mampu menurunkan kandungan tanin sampai 45% sehingga meningkatkan palatabilitas dan nilai nutrisi dari kulit kopi. Fermentasi dapat meningkatkan kecernaan bahan pakan, menurunkan senyawa anti nutrisi, serta meningkatkan kandungan zat bioaktif yang bermanfaat (Nguyen, 2016). Salah satu sumber mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai inokulum dalam fermentasi adalah inokulum larutan feses sapi. Feses sapi merupakan sumber mikroorganisme yang berperan penting dalam proses penguraian bahan organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Cecava, 1995). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu melakukan fermentasi dengan inokulum larutan feses sapi segar pada kulit kopi untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kandungan anti nutrisi.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Kelurahan Oesapa Selatan, Kecamatan Kealapa Lima, Kota Kupang, selama 3 (tiga) bulan, terdiri dari 3 tahap yakni: 2 minggu tahap persiapan bahan, 4 minggu tahap fermentasi, 2 minggu tahap analisis sampel di laboratorium Chem-Mix Pratama dan Insitut Pertanian Bogor, 4 minggu tahap tabulasi dan analisis data.

Materi Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah kulit kopi robusta diperoleh dari petani kopi rakyat di Kabupaten Manggarai Timur, larutan feses sapi sebagai starter inokulum (diambil dari Unit Pelaksaan Teknis Laboratorium Lahan Kering Kepulauan Undana), gula cair sebagai tambahan untuk mikroba dalam inokulum larutan feses sapi segar, dan air. Alat bantu perlengkapan penelitian adalah: Wadah baskom, plastik (sebagai silo), timbangan elektrik ember, gelas ukur, perangkat laboratorium untuk analisisa anti nutrisi variabel yang diamati.

Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkat (RAL) terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga terdapat 20 unit percobaan. Perlakuan tersebut adalah:

LF-0 = Tanpa fermentasi
LF-7 = Lama fermentasi 7 hari
LF-14 = Lama fermentasi 14 hari
LF-21 = Lama fermentasi 21 hari
LF-28 = Lama fermentasi 28 hari

Prosedur Penelitian

Langkah awal kulit kopi dikeringkan dengan memanfaatkan sinar matahari hingga kering, kemudian pengambilan sampel dilakukan untuk pengujian kadar bahan kering bahan sebelum penelitian. Selanjutnya kulit kopi ditimbang dengan berat yang sama untuk semua unit percobaan.

Persiapan larutan inokulum: persiapan air dalam ember sebanyak 20 liter (diprediksi kebutuhan larutan 400 ml setiap unit percobaan), kecuali untuk LF-0 hanya 1 ulangan). Larutan feses sapi segar sebanyak 800 ml (10 ml setiap unit percobaan) dilarutkan dalam air, ditambahkan gula cair sebanyak 200 ml (sebanding dengan jumlah feses sapi segar). Larutan diaduk hingga gula dan feses tercampur homogen, didiamkan selama 30 menit sebelum digunakan untuk memberi kesempatan kepada mikroorganisme dalam feses aktif. Larutan inokulum ini selanjutnya disebut sebagai larutan inokulum feses sapi segar (LFSS).

Kulit kopi yang sudah disiapkan dan ditimbang beratnya masing-masing 1 kg dimasukan ke dalam masing baskom, kemudian dipercik dengan LFSS sebanyak 400 ml, dicampur hingga homogen dan tidak ada adonan yang mengumpal. Saat adonan dikepal (digenggam tidak mengeluarkan air) adonan tidak menggumpal. Selanjutnya, adonan dimasukkan ke dalam plastik yang berfungsi sebagai silo. Adonan harus dipadatkan dalam silo hingga kondisinya anaerob. Setelah itu, plastik ditutup rapat dari luar agar udara tidak dapat masuk ke dalam silo. Sehubungan dengan perlakuan dan unit ulangan, silo diberi nomor kode. Selanjutnya, silo ditempatkan pada suhu ruangan yang teduh. Saat silo ditutup, lama fermentasi dihitung. Sesuai dengan label perlakuan, silo dibuka pada hari ke 7 ,14 , 21, dan 28. Untuk perlakuan LF-0, adonan dicampur dengan larutan inokulum langsung. Setelah ditimbang beratnya, adonan dikeringkan

dan dibawa ke laboratorium untuk diperiksa kandungan nutriennya. Untuk perlakuan LF-0 ini, satu sampel dipertimbangkan.

Setelah fermentasi, silo untuk setiap unit percobaan ditimbang beratnya. Setelah itu, tutup silo dibuka, adonan di dalamnya dikeluarkan, kondisinya diamati secara organoleptik, dan berat adonannya, yang tidak termasuk jamur dan komponen lainnya, ditimbang secara khusus. Selanjutnya, sampel dibuat untuk analisis laboratorium sesuai dengan variabel diamati : kandungan tanin. Kandungan kafein, kandungan anti tripsin. Ini dilakukan dengan menimbang sampel produk sebanyak 500 g, kemudian dikeringkan pada panas matahari, kemudian didinginkan, dan kemudian ditimbang penyusutannya. Sampel diproses dalam beberapa hari (tergantung cuaca) atau hingga berat keringnya konstan. Setelah itu, sampel diblender menjadi tepung. Selanjutnya, sample (tepung) 100 g dibawa ke laboratorium untuk proses analisis proksimat sesuai variabel yang ditemukan.

Variabel yang Diamati

Parameter yang diamati adalah kandungan tanin, kafein, dan anti tripsin adalah komponen yang umumnya ditemukan dalam biji kopi. Tanin memberikan rasa pahit, kafein memberikan efek stimulan, sementara anti tripsin dapat mempengaruhi pencernaan protein. Proses penentuan variabel tanin dan kafein merujuk pada standar operasional prosedur Laboratorium Chem-Mix Pratama dan variabel anti tripsin merujuk pada standar operasional prosedur Institut Pertanian Bogor.

Kandungan Tanin

Menurut Chanwitheesuk *et al.* (2004), ditimbang sampel 500 g yang sudah ditepung, kemudian ditambahkan aquadest sampai volume tertentu misalnya 100 ml, kemudian digojod hingga homogen kemudian disaring atau dicentrifuge, kemudian diambil 1 ml larutan jernih, ditambahkan 0,5 ml follin denis (perbandingan 1:1), kemudian ditambahkan 1 ml larutan $NaCO_3$ jenuh, kemudian ditambahkan 1 ml larutan $NaCO_3$ jenuh, kemudian ditambahkan aquadest sampai volume 10 ml, kemudian divortek larutan hingga homogen setelah dibaca absorbansi sampel dengan mengunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 730 nm, dicatat data yang diperoleh, kemudian dihitung dengan mengunakan kurva standar, kemudian dibuat kurva standar dengan mengunakan tanin acid murni.

Kandungan Kafein

Penentuan kadar kafein mengacu pada prosedur Jacob (1962), sampel kemudian ditimbang sebanyak 5 g ditambahkan 1 g magnesium oksida (MgO) dan 200 ml aquadest, kemudian dipanaskan dengan pendinginan balik selama 2 jam, kemudian diencerkan volume menjadi 250 ml menggunakan labu takar, kemudian diambil 100 ml dilarutkan, selanjutnya ditambahkan 10 ml H_2SO_4 (1:9), dipanaskan hingga volume 25 ml, kemudian cairan dimasukan ke dalam corong, lalu ditambah 10 ml H_2SO_4, kemudian larutan digojog berkali-kali dengan menambahkan klorofrom masing-masing 10, 15, 20, 25 ml, kemudian ditambahkan 5 ml KOH%. Selanjutnya dibilas sekali lagi menggunakan kloroform, kemudian akan terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah merupakan larutan kloroform yang mengikat kafein, lapisan atas

merupakan air dan bahan lainnya. Lapisan bawah kemudian ditampung, selanjutnya dipanaskan dalam oven 100℃ hingga berat konstan.

Kandungan Anti Tripsin

Penentuan kandungan anti tripsin mengacu pada metode Kakade *et al.* (1974) sebagai berikut:

Ekstrak Sampel

1 g sampel kulit kopi yang digiling halus (ukuran 100 mesh) diekstraksi dengan 50 ml 0,01N NaOH selama 1 jam pada pH suspense 9,5-9,8 (jika pH di bawah 8,4, ekstraksi harus diulang dengan larutan NaOH yang lebih kuat sehingga pH suspensi berada dalam rentang 8,4-10,0). Suspensi ini harus dilarutkan hingga

1 ml menghasilkan inhibisi tripsin sebesar 40-60%. Batasan ini diperlukan untuk mengurangi deviasi standar relatif.

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menurut prosedur *Analisis of Variance* (ANOVA) sesuai dengan prinsip RAL. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji berganda Duncan. Program analisis data dilakukan menggunakan program SPSS versi 25 (IBM, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses fermentasi pada kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar (LFSS) diharapkan menurunkan kandungan anti nutrisi dan dapat meningkatkan kandungan nutrisi yang terdapat pada kulit kopi. Adapun rata-rata kandungan anti nutrisi: tanin, kafein, dan anti tripsin pada kulit kopi setelah difermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar dengan lama waktu fermentasi yang berbeda disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan Kandungan Tanin, Kafein, Anti Tripsin Kulit Kopi Fermentasi dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Perlakuan	Tanin	Kafein	Anti Tripsin
	(%)	(%)	(mg/g)
LF-0	0,26^{a}	0,99^{d}	0,17^{e}
LF-7	0,55^{b}	0,74^{c}	0,13^{d}
LF-14	0,81^{c}	0,66^{b}	0,11^{c}
LF-21	0,79^{c}	0,54^{a}	0,08^{b}
LF-28	0,54^{b}	0,51^{a}	0,07^{a}
SEM	0,03	0,14	0,04
Nilai-P	0,001	0,001	0,001

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata (P<0,05). SEM = *Standard error of the treatment means*, LF-0 = tidak difermentasi, LF-7 = lama fermentasi 7 hari, LF-14 = lama fermentasi 14 hari, LF-21 = lama

fermentasi 21 hari, dan LF-28 = lama fermentasi 28 hari.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan bobot molekul tinggi yang mengandung gugus hidroksil dan gugus lainnya untuk membentuk kompleks yang kuat dengan protein dan molekul lain seperti karbohidrat. Tanin dapat ditemui pada setiap tanaman dengan letak dan jumlahnya yang berbeda-beda (pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah-buahan). Senyawa tanin dapat menyebabkan rasa sepat pada buah dan menyebabkan pencoklatan pada bahan (Aditya dkk., 2016).

Makkar (2003[a]) mengemukakan bahwa tanin mengandung sejumlah gugus fungsional yang dapat membentuk kompleks yang kuat dengan molekul protein. Selain itu, juga menghasilkan efek negatif (menghambat pencernaan protein, mengurangi palatabilitas pakan karena tanin rasanya pahit), sedangkan efek positif bagi ternak adalah dapat mengurangi resiko kembung (*bloat*) dengan mengikat protein dalam pakan (Makkar, 2003[b]; Min dan Hart, 2003).

Menurut Pambayun dkk. (2007), tanin merupakan senyawa polifenol dan dari struktur kimianya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis terdiri dari unit asam galat atau asam ellagat yang terikat pada inti glukosa melalui ikatan ester. Jenis tanin ini mudah terurai (terhidrolisis) ketika bereaksi dengan asam, basa, atau enzim. Hasil dari hidrolisis biasanya berupa asam galat, asam ellagat, dan glukosa (Chung *et al*., 2009). Sementara tanin terkondensasi atau disebut juga proantosianidin merupakan polimer dari flavan-3-ol seperti katekin dan epikatekin. Tanin terkondensasi ini dapat ditemukan dalam kulit kopi dan memiliki sifat antioksidan serta dapat mempengaruhi rasa dan warna kopi (Haslam, 1989). Tanin terkondensasi ini lebih stabil terhadap hidrolisis dan memiliki berat molekul yang lebih tinggi dibandingkan tanin terhidrolisis (Scalbert, 2000). Sifat ini membuatnya lebih tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrim dan memiliki efek biologis yang lebih kuat.

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan tanin kulit kopi produk fermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar berkisar 0,26-0,81%, tertinggi pada perakuan LF-14 sebesar 0,81%, kemudian secara berurutan diikuti oleh perlakuan LF-21 sebesar 0,79%, perlakuan LF-7 sbesar 0,55%, perlakuan LF-28 sebesar 0,54%, dan terendah pada perlakuan LF-0 sebesar 0,26%. Terlihat bahwa terjadi peningkatan kandungan tanin tertinggi pada lama fermentasi hingga 14 hari dan kembali menurun pada lama fermentasi 21 hingga 28 hari. Hal ini menunjukkan bahwa lama fermentasi memberi respon yang berbeda-beda terhadap kandungan tanin yang dihasilkan.

Ada kecenderungan pada perlakuan awal (tanpa fermentasi) hingga hari ke-14 kandungan tanin meningkat dan tertinggi. Diduga hal ini ada kaitannya dengan fase pertumbuhan mikroorganisme yang ada dalam substrat dan inokulum itu sendiri. Pada waktu tersebut walaupun nutrien dalam substrat tersedia tetapi mikroorganisme di dalamnya berada pada fase pertumbuhan awal (fase lag), dimana mikroorganisme yang ada butuh waktu untuk beradaptasi (fase lag) dengan lingkungan barunya sehingga

belum melakukan aktivitasnya, juga dalam masa menyiapkan diri untuk pertumbuhan serta belum melakukan pembelahan sel secara aktif. Fase lag ini diprediksi membutuhkan waktu hingga 14 hari. Setelah itu baru tampak kandungan tanin mulai turun hingga hari ke-28, diduga mikroba memasuki fase log (fase pertumbuhan eksponensial) dimana mikroorganisme tumbuh dengan cepat. Pada fase log ini, mikroba mulai melakukan pembelahan sel secara aktif dengan pertumbuhannya yang cepat dan stabil, akibatnya jumlah sel meningkat secara eksponensial (Madigan *et al.,* 2018). Dengan demikian, seiring bertambahnya lama waktu fermentasi, kandungan tanin cenderung mengalami penerunan. Hersila dkk. (2023) mengemukakan bahwa degradasi tanin paling efisien terjadi pada saat bakteri memasuki fase log hingga awal fase stasioner, karena aktivitas enzimatik berada pada titik optimal.

Faktor lainnya, diduga kandungan tanin dalam kulit kopi tergolong dalam bentuk tanin yang terdekradasi yang memiliki struktur yang lebih kompleks dan stabil dibandingkan terhidrolisis. Hal ini sesuai dengan pendapat Suryani dan Sari (2017) yang mengemukakan bahwa dalam proses fermentasi, komponen-komponen kompleks didegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana selama proses fermentasi. Tanin terkondensasi lebih stabil dan tidak mudah diuraikan oleh enzim, sehingga kandungan tanin relatif tinggi setelah fermentasi (Belmares *et al*., 2021). Dalam konteks fermentasi kulit kopi, mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi ini dapat mempengaruhi kandungan tanin dan komponen lainnya.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi kulit kopi dengan menggunakan inokulum larutan feses sapi berpengaruh sangat nyata ($P<0,001$) terhadap kandungan tanin yang bervariatif. Adanya perbedaan yang bervariatif ini dimana dari ke-0 hingga 14 hari meningkat, setelah itu mulai turun hingga 28 hari. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin lama kulit kopi difermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar, maka awalnya yang terjadi peningkatan kandungan tanin dan setelah fermentasi 14 hari baru turun (21 hingga 28 hari). Pola perubahan kandungan tanin ini relatif sama dengan yang didapatkan Ahut (2025) pada kulit kopi tetapi difermentasi dengan inokulum cairan rumen sapi, kandungan taninnya 0,38-0,91% (tertinggi pada hari ke-14 dan terendah pada kontrol) lebih tinggi dari hasil penelitian ini. Perbedaan ini terjadi karena perbedaan jenis inokulum.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa kandungan tanin pada perlakuan LF-0 (0,26%) nyata ($P<0,05$) lebih rendah dibanding perlakuan LF-28 (0,54%), perlakuan LF-7 (0,55%), perlakuan LF-21 (0,79%) dan LF-14 (0,81%). Pada perlakuan LF-28 tidak nyata ($P>0,05$) rendahnya dibanding perlakuan LF-7, tetapi keduanya nyata ($P<0,05$) lebih rendah dibanding perlakuan LF-21 dan perlakuan LF14. Sebaliknya perlakuan LF-21 tidak nyata ($P>0,05$) rendahnya dibanding perlakuan LF-14. Hal ini berarti bahwa kulit kopi tanpa fermentasi menjadi pilihan yang terbaik karena kandungannya yang lebih rendah dibanding yang difermentasi.

Kandungan tanin pada kulit kopi tanpa fermentasi lebih rendah dibandingkan dengan kulit kopi yang difermentasi karena pada prinsipnya selama proses fermentasi terjadi pemecahan senyawa kompleks

menjadi bentuk yang lebih sederhana, sehingga meningkatkan ketersediaan tanin. Namun, tanin sendiri merupakan senyawa anti nutrisi yang dapat mengganggu penyerapan nutrisi. Tren yang terjadi, yaitu kandungan tanin meningkat hingga hari ke-14 dan kemudian kembali turun hingga hari ke-28 walaupun kandungannya masih lebih tinggi dari tanpa fermentasi. Hal ini dapat dijelaskan disebabkan oleh dua faktor: 1) aktivitas enzim; enzim yang dihasilkan selama fermentasi memecah komponen-komponen kompleks menjadi tanin, sehingga meningkatkan kandungan tanin; dan 2) penguraian tanin; setelah hari ke-14, enzim yang dihasilkan mulai menguraikan tanin menjadi komponen yang lebih sederhana, sehingga kandungan tanin menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Suwaryono dan Ismaeni (1987) yang menyatakan bahwa fermentasi adalah proses pemecahan bahan organik oleh mikroorganisme yang menyebabkan terjadinya perubahan sifat bahan pakan akibat dari pemecahan komponen kompleks menjadi yang lebih sederhana dari bahan tersebut.

Proses fermentasi dapat mempengaruhi kadar tanin dalam bahan pakan. Penurunan kadar tanin seringkali terjadi pada tahap awal fermentasi, disebabkan oleh aktivitas mikroba yang menghasilkan enzim tanase, yang menghidrolisis tanin menjadi senyawa yang lebih sederhana, namun pada tahap selanjutnya kadar tanin dapat meningkat kembali akibat akumulasi produk sampingan metabolisme atau pH lingkungan. Fenomena ini menunjukkan adanya interaksi kompleks antara mikroba, enzim, dan kondisi lingkungan selama proses fermentasi, namun seiring dengan berlanjutnya waktu fermentasi, kandungan tanin kembali menurun. Hal ini dikarenakan senyawa tanin yang telah dilepas mengalami peningkatan kembali dengan protein mikroba membentuk kompleks yang tidak larut (Sarni-Manchado *et al.,* 1999). Selama fermentasi, aktivitas mikroba dalam substrat dan inokulum seperti *Saccharomyces cerevisiae* atau *Lactobacillus* juga berperan dalam mengubah struktur tanin dan protein, sehingga mempercepat pembentukan kompleks dan menurunkan kandungan tanin bebas (Spencer *et al.,* 2008).

Kandungan tanin pada penelitian ini lebih rendah dibanding dengan penelitian Sari dkk. (2021) yang melaporkan bahwa pemanfaatan kulit kopi menjadi produk cascara memiliki kandungan tanin antara 1,8-8,56%, sebaliknya lebih tinggi dibanding penelitian Pertiwi (2016) yang melaporkan bahwa kandungan tanin pada kulit kopi yang difermentasi dengan jamur *Aspergillus nigger* dan *Trichoderma viride* selama 14 hari sebesar 0,13-0,15%.

Wina *et al.* (2006) dalam penelitiannya pada limbah teh yang difermentasi menggunakan inokulum mikrobial alamiah menunjukkan bahwa lama fermentasi 5-7 hari cukup efektif menurunkan kandungan tanin. Diaz *et al.* (2014) melaporkan penurunan tanin pada kulit kopi signifikan terjadi pada lama fermentasi 3-5 hari menggunakan inokulum feses sapi. Juga Rahman *et al.* (2019) melaporkan bahwa fermentasi kulit kopi dengan inokulum larutan feses sapi selama 5 hari mampu menurunkan kadar tanin hingga 40%, sementara fermentasi 7 hari memberikan hasil lebih baik tetapi sebaliknya terjadi penurunan kualitas protein kasar. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat titik optimum waktu fermentasi yang efektif untuk menurunkan tanin tanpa menurunkan kualitas nutrisi.

Selain itu, aktivitas metabolik mikroorganisme yang semakin intens juga menyebabkan perubahan pH dan lingkungan kimiawi yang mempercepat degradasi tanin (Zago *et al.*, 2021). Penelitian oleh Shahidi dan Nazek (2004) menegaskan bahwa kandungan tanin dapat menurun drastis setelah waktu fermentasi yang terlalu lama karena proses oksidasi polifenol.

Dalam penelitian ini, kandungan tanin limbah kulit kopi tanpa fermentasi 0,26%, sementara batas penggunaan tanin dalam ransum adalah 0,33% (Widodo, 2002), sehingga limbah kulit kopi tanpa fermentasi dalam penelitian ini masih layak untuk dijadikan sebagai pakan, sedangkan yang difermentasi dengan larutan feses sapi segar selama 7-28 hari cukup tinggi sehingga menjadi tidak layak dijadikan pakan.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Kafein

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam daun teh, biji kopi, dan biji coklat. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis seperti menstimulasi susunan syaraf, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulus otot jantung. Efek samping dari penggunaan kafein secara berlebihan (over dosis) dapat menyebabkan gugup, gelisah, insomnia, dan kejang. Barua dan Chakravati (2009) mengemukakan bahwa selain pada biji kopi, kafein juga ada pada bagian kulit kopi walaupun kadarnya yang lebih rendah. Kandungan kafein pada kopi dipengaruhi oleh jenis kopi, tahap kematangan buah, serta proses pasca panen seperti fermentasi dan pengeringan (Clarke dan Vitzthum, 2001). Esquivel dan Jiménez (2012) mengemukakan bahwa kandungan kafein pada kulit kopi 0,8-1,2% lebih rendah dibanding pada bijinya.

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan kafein kulit kopi fermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar berkisar 0,51-0,99%, tertinggi pada perlakuan LF-0 sebesar 0,99%, kemudian secara berturutan diikuti oleh perlakuan LF-7 sebesar 0,74%, perlakuan LF-14 sebesar 0,66%, perlakuan LF-21 sebesar 0,54% dan terendah pada perlakuan LF-28 sebesar 0,51%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama kulit kopi difermentasi dengan inokulum larutan feses sapi segar, maka semakin menurun kandungan kafeinnya hingga lama fermentasi 28 hari. Fenomena ini berbanding terbalik dengan kandungan tanin. Ini disebabkan karena aktivitas bakteri yang mengalami fase log dimana pada fase log ini bakteri mulai berkembangbiak dengan sangat cepat dan aktivitas metabolismenya sangat tinggi (Madigan *et al.*, 2018) selama fermentasi.

Pada perlakuan tanpa fermentasi (LF-0), mikroba belum berkembangbiak karena pada saat tersebut mikroba masih berada pada fase lag, sehingga kandungan kafein masih berada pada level tertinggi. Tetapi dari hari ke-7 hingga ke-28 kandungan kafeinnya terus menurun yang diikuti pula dengan semakin tingginya aktivitas mikroba yang mendegradasi senyawa kafein. Penurunan kadar kafein disebabkan oleh meningkatnya populasi mikroba yang terus berlangsung hingga hari ke-28. Kondisi ini sesuai dengan pendapat Jayachandran *et al.* (2011) bahwa selama fermentasi, mikroba menggunakan kafein sebagai sumber nitrogen atau energi alternatif di saat sumber nutrisi lainnya habis, akibatnya secara proporsional

kandungan kafein ikut turun. Selain itu, efisiensi penurunan kafein pada fermentasi kulit kopi dipengaruhi oleh faktor suhu, waktu fermentasi, pH, dan jumlah inokulum feses yang digunakan; karena menurut Hernández (2019), penurunan kandungan kafein menjadi optimal ketika proses fermentasi berlangsung secara anaerob pada suhu mesofilik (30-40°C) selama 24-72 jam.

Penurunan kadar kafein diduga karena aktivitas mikrroorganisme feses sapi seperti bakteri, protozoa dan enzim proteolitik mampu mengdegradasi senyawa alkaloid seperti kafein selama proses fermentasi. Beberapa mikroorganisme seperti fungi dan bakteri mampu mendegradasikan kafein dengan cara memanfaatkan kafein yang mengandung sumber karbon dan nitrogen (Farida dkk., 2013). Kiyat dkk. (2019) menjelaskan bahwa enzim proteolitik yang ditemukan pada kulit kopi dan feses luwak mampu membantu menguraikan protein, karena terdapat aktivitas proteolitik yang tinggi yang dihasilkan bakteri proteolitik dalam saluran pencernaan luwak, menyebabkan berkurangnya kadar kafein pada kopi, tetapi sebaliknya kandungan asam amino bebas meningkat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Juwita dkk. (2017) yang menyatakan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi enzim proteolitik, maka kecepatan reaksi akan semakin meningkat, sehingga kinerja enzim ketika menghidrolisis protein pada kafein akan semakin tinggi.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap kandungan kafein kulit kopi hasil fermentasi yang terus menurun. Penurunan kandungan kafein kulit kopi hasil fermentasi yang signifikan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: 1) aktivitas mikroba; mikroba yang ada dalam proses fermentasi dapat menguraikan kafein menjadi komponen lain sehingga kandungan kafein turun; 2) enzim kafeinase; enzim kafeinase yang dihasilkan oleh mikroba dapat memecah kafein menjadi komponen lain seperti teobromin dan asam urat; dan 3) penguraian kafein; kafein dapat diuraikan oleh mikroba menjadi komponen lain seperti CO_2 dan H_2O, sehingga kandungan kafein turun. Hal ini didukung oleh Kristiyanto dkk. (2013) yang mengemukakan bahwa penurunan kandungan kafein disebabkan oleh proses esterifikasi yang menghasilkan pemecahan senyawa kompleks kafein menjadi asam klorogenat sehingga senyawa kafein menjadi bebas dengan ukuran dan berat molekul yang lebih kecil, juga kafein menjadi mudah bergerak untuk berdifusi melewati dinding sel, serta kafein ini menjadi larut dalam air. Lebih jauh dikemukakan bahwa asam kolorogenat yang terlepas dari kafein selanjutnya terdekomposisi menjadi senyawa organik lain kemudian menjadi larut dalam media fermentasi. Semakin lama proses pelarutan maka semakin banyak asam klorogenat yang menjadi larut dalam media fermentasi. Dipertegas oleh Adrianto dkk. (2020) bahwa kadar kafein pada kopi menjadi berkurang berbanding lurus dengan waktu fermentasi, dimana semakin lama fermentasi pada biji kopi maka semakin besar tingkat penurunan kafein pada kopi. Makin lama proses pelarutan maka makin banyak asam klorogenat yang larut dalam media fermentasi.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa kandungan kafein kulit kopi fermentasi pada perlakuan LF-28 (0,51%) tidak nyata ($P>0,05$) rendahnya dibanding perlakuan LF-21 (0,51%) tetapi keduanya nyata

(P<0,05) rendahnya dibanding perlakuan LF-14 (0,66%), perlakuan LF-7 (0,74%, dan perlakuan LF-0 (0,99%). Antar perlakuan LF-21 dengan perlakuan LF-14, LF-7, dan LF-0, juga antar perlakuan LF-14 dengan perlakuan LF-7 dan LF-0, maupun antar perlakuan LF-7 dengan perlakuan LF-0 kesemuanya tidak nyata (P>0,05). Hal ini berarti perlakuan LF-28 menjadi pilihan perlakuan terbaik karena kandungan kafeinnya terendah.

Penurunan kandungan kafein pada kulit kopi yang difermentasi dengan inokulum larutan feses sapi diduga karena adanya aktivitas mikroorganisme yang mampu mendegradasi senyawa kafein. Mikroorganisme dalam feses sapi seperti *Pseudomonas*, *Bacillus* sp., dan *Streptococcus* sp., diketahui menghasilkan enzim kafein demitilase. Penurunan ini merupakan indikator penting terhadap peningkatan kualitas bahan tersebut sebagai sumber pakan. Pemberian pakan dengan kandungan kafein yang rendah cenderung lebih aman meningkatkan palatabilitas, dan mendukung performa ternak melalui peningkatan konsumsi serta efisiensi pemanfaatan nutrien. Dengan demikian, fermentasi kulit kopi menggunakan larutan feses sapi segar berpotensi sebagai teknologi biologis yang efektif untuk menurunkan senyawa anti nutrisi sekaligus meningkatkan nilai guna limbah agroindustri sebagai bahan pakan alternatif.

Adrianto dkk. (2020) melaporkan bahwa fermentasi kulit kopi menggunakan bakteri asam laktat (BAL) *Leuconostoc mesenteroides* (B-155) dan *Lactobacillus plantarum* (B-76) mampu menurunkan kandungn kafein dalam kopi robusta dari 1,11 menjadi 0,28%. Penurunan ini selain disebabkan oleh aktivitas BAL, juga dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi. Adanya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi menyebabkan kadar kafein dalam biji kopi semakin menurun dengan semakin lamanya proses fermentasi (Farida dkk., 2013). Pada kulit kopi hasil penelitian juga terjadi hal yang sama yakni adanya penurunan kandungan kafein. Kopi yang memiliki kandungan kafein yang rendah dihasilkan dari protein yang diurai sehingga meningkatkan asam amino bebas (Adrianto dkk., 2020). Sani dkk. (2023) melaporkan fermentasi biji kopi menggunakan *Aspergillus niger* selama 48 jam kadar kafeinnya turun dari 3,85 menjadi 2,77%. Pada kulit kopi hasil penelitian ini turun dari 0,17 menjadi 0,07%. Menurut SNI 01- 3542-2004 tentang standar mutu kopi bubuk, kadar kafein yang diizinkan adalah pada kisaran 0,9-2% (Rosalinda dkk., 2021).

Hakil *et al.* (1998) dan Zhou *et al.* (2018) menyatakan bahwa kerusakan pada kafein juga disebabkan oleh kapang *Aspergillus niger* yang menggunakan kafein sebagai sumber karbon dan nitrogen, mengubahnya menjadi karbohidrat potensial ketika glukosa dan nutrisi lain untuk metabolismenya terbatas atau tidak ada. Sani dkk. (2023) lebih rinci menjelaskan jika sumber nitrogen sederhana ada dalam jumlah yang banyak untuk memungkinkan degradasi gula, maka kafein tidak digunakan oleh kapang, tetapi jika sumber nitrogen sederhana tidak cukup untuk memungkinkan asimilasi maksimal dari sumber karbon, maka kafein akan digunakan setelah sumber nitrogen utama telah habis.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Anti Tripsin

Anti tripsin merupakan salah satu senyawa anti nutrisi yang secara alami terdapat pada bahan pakan nabati seperti leguminosa dan limbah pertanian, termasuk kulit kopi. Cara kerja senyawa anti tripsin ini menurut Liener (2000) yakni menghambat aktivitas enzim tripsin yaitu enzim proteolitik yang berperan penting dalam proses pencernaan protein di saluran pencernaan ternak. Anti tripsin juga merupakan salah satu senyawa protein yang bersifat menghambat kerja enzim tripsin dalam proses hidrolisis protein. Sebagai contoh: anti tripsin dalam kacang kedelai telah dibuktikan menghambat kerja enzim tripsin pada sapi, babi, unggas, dan manusia (Whitaker dan Feney, 1973). Anti tripsin akan membentuk senyawa kompleks dengan enzim tripsin, sehingga menganggu pemecahan protein menjadi asam amino yang dapat diserap oleh tubuh. Akibatnya, efisiensi penggunaan protein dalam pakan menurun, menyebabkan pertumbuhan ternak menjadi kurang optimal (Makkar dan Becker, 2007).

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan anti tripsin kulit kopi fermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi berkisar 0,07-0,17%, tertinggi pada perlakuan LF-0 sebesar 0,17%, kemudian secara berturutan diikuti oleh perlakuan LF-7 sebesar 0,13%, perlakuan LF-14 sebesar 0,11%, perlakuan LF-21 sebesar 0,08% dan terendah pada perlakuan LF-28 sebesar 0,07%. Hal ini disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme yang mengalami fase log dan fase stasioner pada kontrol (LF-0) hingga hari ke-28. Pada periode ini mikroorganisme berkembangbiak dengan cepat dan aktif memproduksi enzim sehingga seiring dengan lama fermentasi hingga 28 hari, maka mikroba mengalami fase stasioner dimana pertumbuhan bakteri berhenti karena nutrisi mulai habis. Jika waktu fermentasinya ditambah diprediksi akan mengalami fase kematian dimana jumlah sel mulai berkurang karena sel-sel bakteri mulai mati karena kekurangan nutrisi dan kondisi lingkungan yang tidak mendukung (Madigan *et al*., 2018).

Proses fermentasi melibatkan aktivitas mikroorganisme seperti bakteri, khamir, dan kapang, yang memecah senyawa kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana. Seiring waktu fermentasi berlangsung, mikroorganisme menghasilkan enzim protease yang mampu mendegradasi senyawa anti tripsin. Silanikove *et al.* (2001) menunjukkan bahwa kandungan anti tripsin dapat terdegradasi oleh aktivitas mikroba, khususnya melalui enzim protease. Proses ini dipengaruhi oleh suhu, pH, dan jenis mikroorganisme yang terlibat, dan lama fermentasi.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar berpengaruh sangat nyata ($P<0,001$) terhadap kandungan anti tripsin yang terus menurun hingga lama fermentasi 28 hari. Hal ini berarti bahwa semakin lama kulit kopi difermentasi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar maka kandungan anti tripsinnya semakin menurun hingga lama fermentasi 28 hari. Penelitian oleh Musfiroh (2018) menunjukkan bahwa fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi selama 48 jam menurunkan kandungan tanin dan inhibitor tripsin secara signifikan hingga 60-70%. Wina (2006) menyatakan bahwa fermentasi dalam rumen efektif menghilangkan faktor anti nutrisi pada bahan pakan berbasis limbah pertanian.

Penurunan kandungan anti tripsin hasil fermentasi diduga akibat dari waktu yang cukup tersedia sehingga memberi ruang dan waktu yang cukup dengan dukungan asupan sumber energi bagi mikroba untuk menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi anti tripsin sehingga terjadinya penurunan. Nguyen (2016) mengemukakan bahwa fermentasi kulit kopi menggunakan bakteri asam laktat (BAL) selama 96 jam mengakibatkan penurunan kandungan anti tripsin hingga 60%. Penurunan ini berbanding lurus dengan waktu fermentasi dalam penelitian ini, yang berarti semakin lama fermentasi, semakin rendah kandungan anti nutrisi (anti tripsin) sehingga kualitas nutrisi substrat hasil fermentasi juga meningkat. Demikian pula Sitompul dkk. (2013) mengemukakan bahwa fermentasi jerami padi selama 5-7 hari menggunakan inokulum feses sapi, kandungan anti tripsin menurun secara signifikan, sehingga dapat dijadikan pakan alternatif bagi ternak. Hasil-hasil penelitian tersebut sejalan dengan yang terjadi pada penelitian ini menggunakan larutan feses sapi segar dengan lama fermentasi hingga 28 hari. Fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi bukan hanya berfungsi sebagai proses detoksifikasi, tetapi juga sebagai metode peningkatan nilai nutrisi limbah agroindustri. Kondo *et al.* (2014) mengungkapkan bahwa pakan kulit kopi hasil fermentasi memiliki kandungan protein kasar yang lebih tinggi serta lebih rendah kadar senyawa anti nutrisinya dibanding kulit kopi tanpa fermentasi. Penggunaan bahan pakan dengan kadar anti tripsin rendah hasil fermentasi dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan ayam broiler dan kambing muda (Olukosi, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kulit kopi berpotensi digunakan sebagai bahan pakan alternatif untuk ternak. Fermentasi kulit kopi menggunakan inokulum larutan feses sapi segar mampu menurunkan kandungan anti nutrisi seperti tanin, kafein dan anti tripsin dengan waktu terbaik pada lama fermentasi 28 hari.

Berdasarkan kesimpulan di atas disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan dengan variasi dosis dan lama fermentasi untuk mendapatkan dosis dan waktu optimum menurunkan kandungan anti nutrisi tanin, kafein, dan anti tripsin kulit kopi sebelum uji lanjut langsung pemanfaatannya kepada ternak.

DAFTAR PUSTAKA

Abercrombie, M., M. Hickman., M.L. Jhonson, dan M. Thain. 1993. Kamus Lengkap Biologi. Terjemahan: T.S. Sutarmi dan N. Sugiri. Penerbit Erlangga, Jakarta.

Aditya, IW., K.A. Nocianitri, dan N.L.A. Yusasrini. 2016. Kajian kandungan kafein kopi bubuk, nilai pH dan karakteristik aroma dan rasa seduhan kopi jantan (*Pea berry coffee*) dan betina (*Flat beans coffee*) *Jenis Arabika dan Robusta. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA). 5(1):* 1-12.

Adrianto, R., D. Wiraputra., F.D. Agrippina, dan A.Z. Andaningrum. 2020. Penurunan kadar kafein pada biji kopi robusta menggunakan fermentasi dengan bakteri asam laktat *Leuconostoc mesenteroides* (B-155) dan *Lactobacillus plantarum* (B-76). *Jurnal Dinamika Penelitian Industri. 31(2):* 163-169.

Akmal., dan Filawati. 2008, Pemanfaatan kapang *Aspergillus niger* sebagai inokulan fermentasi kulit kopi dengan media cair dan pengaruhnya terhadap performans ayam broiler. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. 11(3):* 150-158. Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Jambi.

Ahut, A.M. 2025. Pengaruh lama fermentasi menggunakan cairan rumen sapi terhadap kandungan anti nutrisi kulit kopi fermentasi. *Skripsi*. Program Studi Peternaan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

Badan Pusat Statistik Nusa Tenggara Timur. 2022. Produksi Kopi Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Nusa Tenggara Timur. 2004-2018.

Belmares, R., R. Cerda, and C. Juárez-Ramírez. 2021. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. *Biotechnology. 34:* 1-10.

Barua, D.N., and R.N. Chakravarti. 2009. Botany and chemistry of tea and coffee. *Journal of Plantation Crops. 37(2):* 95-100.

Clarke, R.J., and O.G. Vitzthum. 2001. *Coffee: Recent Developments*. Blackwell Science.

Cecava, M.J. 1995. *Rumen Bacteria and Microbial Proteins: A Review*. Academic Press.

Chanwitheesuk, A., A. Teerawutgulrag, and N. Rakariyatham. 2004. Screening of antioxidant activity and antioxcidant compounds of some edible plants of Thailand. *Jurnal Foof Chemistry. 92*: 491-497.

Chung, K.T., T. Wong., Y. Wei., C.I. Huang, and Y. Lin. 2009. Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 38(6):* 421-464.

Esquivel, P., and V.M. Jiménez. 2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International. 46(2):* 488-495.

Scalbert, A. 2000. Antioxidant activity of polyphenols and tannins. *American Journal of Clinical Nutrition. 81(1):* 215-217.

Dewi, R.P., J.S. Trisma, dan S. Widodo. 2021. Studi potensi limbah kulit kopi sebagai sumber energi terbarukan di wilayah Jawa Tengah. *Journal of Mechanical Engineering. 2(1):* 62-75.

Diaz, L.F., G.M. Savage, and L.L. Eggerth. 2014. *Organic Waste Recycling: Technology and Management.* CRC Press.

Farida, A., R. Evi, dan A.C. Kumoro. 2013. Penurunan kadar kafein dan asam total pada biji kopi robusta menggunakan teknologi fermentasi anaerob fakultatif dengan mikroba Nopkor MZ-15. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri. 2(3):* 70-75.

Farida, A., R. Evi, dan A.C. Kumoro. 2013. Penurunan kadar kafein dan asam total pada biji kopi robusta menggunakan teknologi fermentasi anaerob fakultatif dengan mikroba Nopkor MZ-15. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri. 2(3):* 70-75.

Hakil, M., S. Denis., G. Viniegra-Gonzalez, and C. Augur. 1998. Degradation and product analysis of caffeine and related dimethylxanthines by filamentous fungi. *Enzyme and Microbial Technology. 22(5):* 355-359.

Handayanta, E., A. Irawan, dan Supriyati. 2014. Pengaruh fermentasi kulit kopi menggunakan *Aspergillus niger* terhadap kandungan tanin. *Jurnal Ilmu Ternak. 14(1):* 45-52.

Haslam, E. 1989. *Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revisited.* Cambridge University Press.

Hersila, N., C. Moralitha., Vauzia, dan Irdawati. 2023. Senyawa metabolit sekunder (tanin) pada tanaman sebagai antifungi. *Jurnal Embrio. 15(1):* 16-22.

Hernández, C.A. 2019. Bioconversion of coffee husk by fermentation. *Waste and Biomass Valorization. 10(2):* 381-390.

Liener, I. E 2000. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Foods Science and Nutrition. 34(1):* 31-67.

Latief Pertiwi, N. 2016. Kandungan lignin, selulosa, hemiselulosa dan tanin limbah kulit kopi yang difermentasi menggunakan jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Sani, A.M., A. Sukainah, dan M. Wijaya. 2023. Fermentasi biji kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan *Aspergillus niger* dalam upaya menurunkan kandungan kafein. Urnal Pendidikan Teknologi Pertanian. 9(1): 83-96. Februari 2023.

Sitompul, A., P. Sinurat, dan M. Siregar. 2013. Pengaruh lama fermentasi jerami padi menggunakan cairan rumen terhadap kandungan nutrien dan kecernaan *in vitro*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 18(1):* 33-40.

Subagja, H., S. Wulandar,i dan Y.R. Manullang. 2003. Analisa ekonomi pemanfaatan kulit kopi sebagai campuran pakan ayam broiler periode finisher. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis. Special Edition October 2003*. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang. Hal. 246-251.

Suryani, E., dan M. Sari. 2017. Analisis tanin dalam kulit kopi. *Jurnal Teknologi Pertanian. 18(2):* 123-130.

Spencer, J.P.E., M.M.A.E. Mohsen., A.M. Minihane, and J.C. Mathers. 2008. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. Review Article. *British Journal of Nutrition. 99:* 12-22.

Sarni-Manchado, P., V. Cheynier, and M. Moutounet. 1999. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47:* 42-47.

Silanikove, N., A. Perevolotsky, and F.D. Provenza. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology. 91(1-2):* 69-81.

Sitorus, T.F., dan A.P. Telambanua. 2021. Pengaruh pemberian kulit buah kopi fermentasi terhadap performans, bobot hati, panjang dan persentase bobot usus halus ayam broiler. Jurnal Visi Eksakta (JVIEKS). 2(1): 51-71. Januari 2021.

Suwaryono, O., dan Y. Ismaeni. 1987. *Fermentasi Bahan Makanan Tradisional*. Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Jacobs, M. 1962. *The Chemical Analysis of Foods and Food Products*. 3rd Ed. D. Van Nostrand Company, Inc., New York.

Jayachandran, S., M. Thangaraj, and M. Krishnan. 2011. Microbial degradation of caffeine in used coffee grounds. *Journal of Environmental Biology. 32(3):* 301-305.

Juwita, A.I., A. Mustafa, dan R. Tamrin. 2017. Studi pemanfaatan kulit kopi arabika (*Coffea arabica* L.) sebagai mikroorganisme lokal (MOL). *Jurnal Agrointek. 11(1):* 39-45.

Kondo, M., K. Kita, and H. Yokota. 2014. Fermented coffee pulp as feed for ruminants. *Animal Feed Science and Technology. 200:* 1-9.

Kakade, M.L., J.J. Rackis., J.E. Ghee, and G. Puski. 1974. Determinimation of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry. 51:* 376-382.

Kristiyanto, D., dan B.D.H. Pranoto, dan Abdullah. 2013. Penurunan kadar kafein kopi arabika dengan proses fermentasi menggunakan Nopkor MZ-15. *Jurnal Teknik Kimia dan Industri. 2(4):* 170-176.

Rosalinda, S., T. Febriananda, dan S. Nurjanah. 2021. Penggunaan Berbagai Konsentrasi Kulit Buah Pepaya dalam Penurunan Kadar Kafein pada Kopi. *TEKNOTAN. 15(1):* 27-34. Agustus 2021.

Kiyat 2019 Londra, IM., dan K.B. Andri. 2009. Potensi Pemanfaatan limbah kopi untuk pakan penggemukan kambing peranakan etawah. *Seminar Nasional Inovasi Untuk Petani dan Peningkatan Daya Saing Produk Pertanian. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. 23(3):* 276-283.

Madigan, M.T., K.S. Bender., D.H. Buckley., W.M. Sattley, and D.A. Stahl. 2018. *Brock Biology of Microorganisms*. 15th ed. British Library Cataloguing in Publication Data Typeset by Energizer Aptara Ltd., Printed and Bound in Malaysia.

Mayasari, N. 2009, Pengaruh penambahan kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) produk fermentasi jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) dalam ransum terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 (*in vitro*). Jurnal KPP Ilmu Hayati LPPM Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Musfiroh, N.N. 2018. Fermentasi kulit kopi dengan cairan rumen: efek terhadap kandungan anti nutrisi. *Jurnal Peternakan Indonesia. 20(2):* 115-121.

Makkar, H.P.S. 2003[a]. Effects and mechanisms of plant secondary metabolites on the nutritional quality of feeds for ruminants. *Animal Feed Science and Technology. 106(1-4):* 3-20.

Makkar, H.P.S. 2003[b]. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research. 49(3):* 241-256.

Makkar, H.P.S., and K. Becker. 2007. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Science and Technology. 63(1):* 211-228.

Min, B.R., and S.P. Hart. 2003. Tannins for reducing enteric methane emissions in ruminants. *Journal of Animal Science/ 81(14):* 102-109.

Nguyen, D.T.L. 2016. Fermentation of coffee husk using Lactic acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology. 223:* 40-48.

Olukosi, O.A. 2007. Performance of broilers fed fermented plant protein. *Animal Feed Science and Technology. 135(1):* 77-88.

Pambayun, R., M. Gardjito., S. Sudarmaji, dan K. Kuswanto. 2007. Kandungan fenol dan sifat anti bakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Majalah Farmasi Indonesia. 18(3):* 141-146.

Rahman, M., R.B. Abdullah, and W.E.W. Khadijah. 2019. Effect of fermentation on the nutritive quality of coffee husk. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 32(2):* 237-245.

Widodo 2002 Whitaker, J.R., and R.E. Feeney. 1973. Enzyme Inhibitors in Foods. ***in:*** *Toxicants Occuring Naturally in Foods*. National Academy of Sciences. 2nd ed. Washington, D.C.

Wina, E. 2006. Degradation of antinutritional factors in feeds through microbial action. *Animal Feed Science and Technology. 128(1):* 49-60.

Wina, E., B. Tangendjaja, and D. Zainuddin. 2006. Fermentation of tea waste with rumen liquor to improve its nutritive value. *Indonesian Journal of Agricultural Science. 7(1):* 1-6.

Zago, M., V. Ladero., Delgado, and B. Mayo. 2021. Impact of fermentation parameters on microbial degradation of tannins in food. *Microorganisms. 9(3):* 556.

Zhou, B., C. Ma., H. Wang, and T. Xia. 2018. Biodegradation of caffeine by whole cells of tea-derived fungi *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus niger* and Optimization for caffeine degradation. *BMC Microbiology. 18(1):* 1-10.

Zainuddin, D., dan T. Murtisari. 1995. Penggunaan limbah kopi agroindustri buah kopi (kulit buah kopi) dalam ransum ayam pedaging (broiler). *Prosiding Pertemuan Ilmiah Komunikasi dan Penyaluran Hasil Penelitian.* Sub Balai Penelitian Klep, Puslitbang Peternakan, Bogor. Hal. 71-78.