

## DINAMIKA KOMUNITAS BAKTERI DAN RAGI PADA PROSES PENGOLAHAN KOPI ROBUSTA DENGAN PEMROSESAN BASAH (WET): PENAPISAN ISOLAT DOMINAN

Windy Natalia Nusaly<sup>1\*</sup>, Kresyan Pentury<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Indonesia

\*Corresponding Author e-mail: windynusaly@gmail.com

### ABSTRAK

Jenis pengolahan kopi berdampak secara langsung terhadap komunitas mikroba yang terdapat di dalamnya serta kualitas kopi yang dihasilkan. Pengolahan kopi dengan proses basah (wet) diketahui dapat menghasilkan kopi dengan profil aroma dan citarasa yang baik. Penelitian ini bertujuan mengetahui dinamika komunitas bakteri dan ragi selama proses pascapanen serta menentukan mikroba dominan yang terlibat dalam pengolahan kopi Robusta menggunakan proses basah. Metode yang digunakan yaitu isolasi bakteri dan ragi menggunakan medium selektif dengan adanya penambahan antibiotik, selanjutnya dilakukan identifikasi morfologi dan perhitungan indeks keanekaragaman (H), dominansi (D) dan pemerataan (E) berdasarkan isolat bakteri dan ragi yang diperoleh, serta penapisan isolat dominan berdasarkan hasil analisis dominansi dan aktivitas enzimatisnya. Hasil isolasi diperoleh komunitas ragi (51,7%) dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan komunitas bakteri (48,3%). Komunitas mikroba pada pengolahan basah kopi Robusta memiliki indeks keanekaragaman jenis ( $H'$ ) = 2,48, pemerataan (E) = 0,74 dan dominansi (D) = 0,17. Hasil penapisan isolat melalui uji enzimatis menunjukkan isolat bakteri B10 dan ragi Y2 terpilih sebagai isolat dominan dan dapat digunakan sebagai kultur starter dalam proses fermentasi terkontrol.

*Keywords : dinamika komunitas, kopi robusta, wet process*

### PENDAHULUAN

Pengolahan kopi pascapanen merupakan serangkaian proses yang panjang dan diketahui berpengaruh terhadap kualitas minuman kopi yang dihasilkan. Berdasarkan prosesnya, pengolahan kopi dapat dilakukan menggunakan 3 cara yaitu basah (*wet*), semi kering (*semidry*) dan kering (*dry*) [14]. Pemrosesan basah (*wet*) merupakan pemrosesan yang melibatkan penggunaan air dimana buah kopi hasil pemetikan kemudian dikupas dan difermentasi dengan cara direndam dalam wadah berisi air dengan lama waktu tertentu selanjutnya dicuci dan dikeringkan. Pengolahan semi kering (*semidry*) merupakan proses peralihan antara pengolahan *dry* dan *wet* dimana biji kopi yang telah dikupas kemudian dikeringkan. Pengolahan kering (*dry*) juga dikenal sebagai pengolahan natural, dimana buah kopi hasil pemetikan kemudian dikeringkan tanpa melalui proses fermentasi di bawah air. Pengolahan kopi dengan pemrosesan basah (*wet*) diketahui memiliki keunggulan dalam kualitas aroma yang dihasilkan. Tahapan dalam pemrosesan basah yaitu pemetikan, sortasi air, pengupasan kulit buah (*pulping*), fermentasi, pencucian (*washing*), pengeringan, pengupasan kulit tanduk (*hulling*), *resting*, pemanggangan (*roasting*), penggilingan (*grinding*) dan penyimpanan (*storage*) [14] [11].

Selama proses pascapanen kopi dimulai dari tahap pemetikan hingga pengeringan tidak terlepas dari aktifitas berbagai komunitas mikroba, bahkan selama fermentasi kopi, mikroba menghasilkan beragam metabolit. Aktivitas mikroba selama fermentasi menentukan konsentrasi gula bebas (glukosa dan fruktosa) dan asam amino bebas pada biji kopi dan selanjutnya berkontribusi pada produksi senyawa Maillard dan

volatil selama proses pemanggangan. Dampak dari fermentasi pada pengolahan basah diketahui meningkatkan kualitas kopi karena adanya aromatik senyawa yang dihasilkan selama degradasi lapisan lendir oleh aktifitas mikroba [5]. Selain berdampak positif, proses fermentasi yang tidak terkontrol dapat menyebabkan terjadinya *overfermented* yang dapat menghasilkan kopi dengan citarasa yang tidak diinginkan.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa dengan adanya pengontrolan selama fermentasi melalui penambahan mikroba dominan dan waktu fermentasi yang dikontrol mampu menghasilkan kopi dengan kualitas *fine* [11] [17]. Dengan mengetahui profil komunitas mikroba serta perannya selama proses pengolahan kopi dengan proses basah (*wet*) maka dapat ditentukan mikroba yang berperan secara dominan dalam tahapan tersebut. Pemilihan mikroba yang sesuai melalui proses penapisan isolat dominan dianggap penting untuk dilakukan, karena berdampak positif pada rasa dan aroma kopi selama fermentasi. Mikroba dominan yang diperoleh dapat dijadikan sebagai kultur starter dan diharapkan dapat dikomersilkan untuk digunakan dalam industri pengolahan kopi secara terkontrol.

## METODE

### 1. Isolasi Bakteri dan Ragi

Medium yang digunakan dalam tahap isolasi mikroba yaitu NA (*Nutrient Agar*) yang ditambahkan antibiotik *Nystatin* untuk isolasi bakteri, PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang ditambahkan antibiotik *Amoxycilin* untuk isolasi ragi dan NaCl 0.89 % sebagai larutan fisiologis. Untuk isolasi bakteri asam laktat (BAL) menggunakan medium selektif MRS agar. Sampel kopi jenis Robusta diambil dari perkebunan kopi di daerah Lampung, Kab. Lampung Barat dengan ketinggian mencapai 848 mdpl. Pengambilan sampel dilakukan pada setiap tahap pascapanen pemrosesan basah dimulai dari tahap pemetikan (P1), sortasi air (P2), *pulping* (P3), fermentasi (F), pencucian (AW) dan pengeringan (48-240 jam). Pada tahap pengeringan pengambilan sampel dilakukan selama selang waktu 2 hari (48 jam) sekali hingga kadar air mencapai 11-13%. Setiap pengambilan sampel diukur pH, suhu dan kadar air. Isolasi mikroba menggunakan metode *spread plate* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1-3 hari. Semua koloni yang tumbuh diberi kode isolat dan dilakukan perhitungan TPC (*Total Plate Count*) [2]:

$$\text{Rumus TPC} = \frac{\text{jumlah koloni yang terhitung}}{\text{tingkat pengenceran}} \times 10$$

Pemurnian mikroba menggunakan metode gores kuadran. Uji gram menggunakan metode KOH [15]. Preservasi isolat dilakukan dalam media agar miring dan stok gliserol [4].

### 2. Penentuan Indeks Keanekaragaman (H), Dominansi (D) dan Kemerataan (E)

Setiap isolat bakteri maupun ragi yang diperoleh dari keseluruhan tahap pascapanen kemudian dilakukan identifikasi morfologi dan diberikan kode isolat, selanjutnya dilakukan analisis indeks-indeks komunitas (Keanekaragaman Jenis (H'), Dominansi (D) dan Kemerataan (E)) [2].

Rumus Indeks Keanekaragaman Jenis (Shanon-Wiener) [18] yaitu:

$$ID = H' = -\sum Pi \ln Pi \text{ dimana } Pi = \frac{ni}{N}$$

Keterangan:

$ni$  = jumlah individu tiap jenis

$N$  = jumlah total seluruh jenis

$H'$  = indeks keanekaragamana Shanon-Winner

$Pi$  = indeks kemelimpahan

Rumua Indeks Dominansi (Simpson) [18] yaitu:

$$D = \sum Pi^2 \text{ dimana } Pi = \frac{ni}{N}$$

Keterangan:

$D$  = indeks dominansi Simpson

$ni$  = jumlah individu suatu jenis

$N$  = jumlah individu dari seluruh jenis

Rumus Indeks Kemerataan (Evenness) [18] yaitu:

$$P_i = \frac{H'}{H'_{max}}$$

dimana H' max adalah ln S

Keterangan:

E = indeks kemerataan (nilai antara 0-1)

H' = indeks keanekaragaman Shannon - Wiener

S = jumlah jenis

### 3. Uji Aktivitas Enzimatis

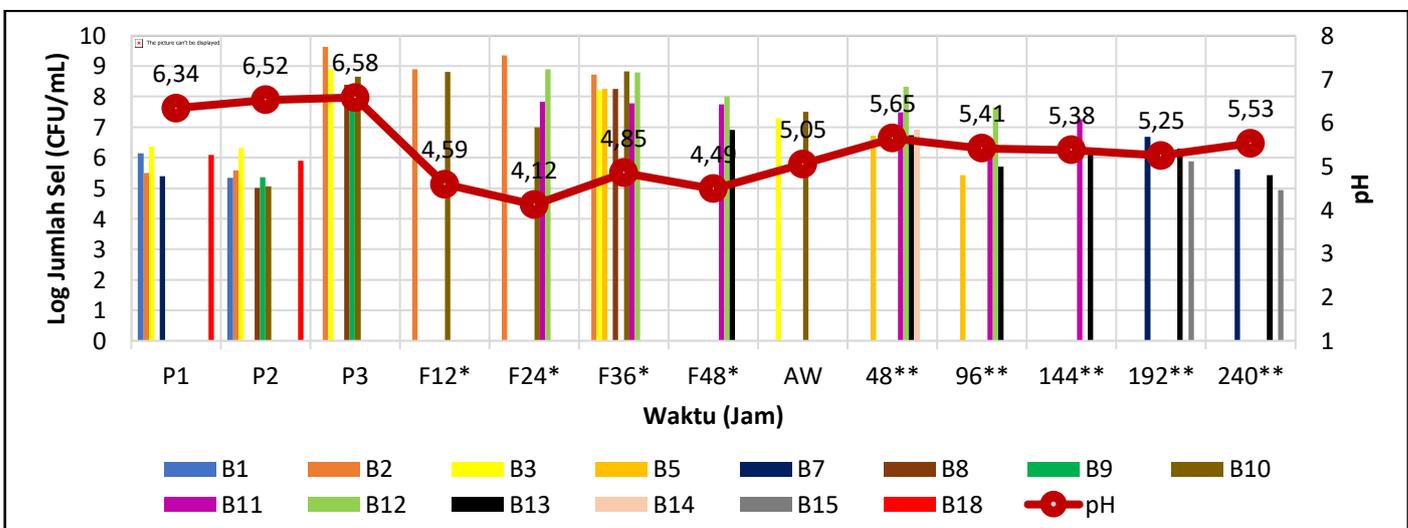
Pengujian aktivitas pektinolitik pada bakteri menggunakan medium LB (*Luria Bertani*) agar yang mengandung pektin citrus 5 g L-1 [19] dan pada ragi menggunakan medium *Yeast Extract Peptone Dextrosa Agar* (YEPDA) yang mengandung 10 g L-1 pektin citrus [1]. Larutan uji menggunakan 5 mL *Congo red* 1%. Pengujian aktivitas amilolitik pada bakteri menggunakan medium LB (*Luria Bertani*) agar yang mengandung amilum 10 g L-1 [9] dan pada ragi menggunakan medium *Yeast Extract Peptone Dextrose Agar* (YEPDA) yang mengandung 10 g L-1 amilum [20]. Larutan uji menggunakan 5 mL larutan lugol. Pengujian aktivitas selulolitik pada bakteri menggunakan medium medium LB (*Luria Bertani*) agar yang mengandung CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 5 g L-1 [6] dan pada ragi menggunakan medium *Yeast Extract Peptone Dextrose Agar* (YEPDA) yang mengandung 10 g L-1 CMC [3]. Larutan uji menggunakan 5 mL *Congo red* 1%. Pengujian aktivitas proteolitik pada bakteri menggunakan medium medium LB (*Luria Bertani*) agar yang mengandung *skim milk* 20 g L-1 [10] dan pada ragi menggunakan medium *Yeast Extract Peptone Dextrose Agar* (YEPDA) yang mengandung 28 g L-1 *skim milk* [16]. Isolat bakteri berumur 24 jam dan ragi berumur 48 jam dipindahkan ke medium selektif, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

### 4. Penapisan Isolat Dominan

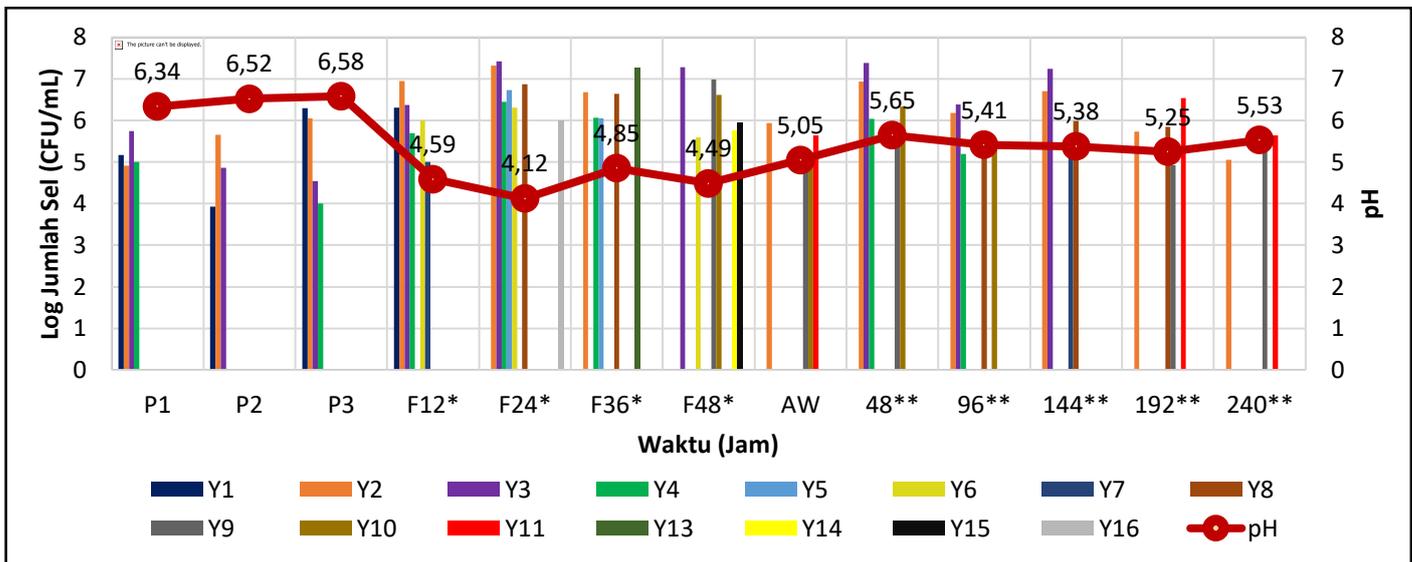
Penapisan isolat dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri dan ragi dominan yang akan dijadikan sebagai kultur starter. Hal ini dilakukan berdasarkan nilai dominansi tertinggi yang diperoleh dari setiap isolat serta kemampuannya dalam menghidrolisis substrat (aktivitas enzimatis yang dimiliki).

## HASIL & PEMBAHASAN

Pada pengolahan basah (*wet*) kopi Robusta dengan sampel buah kopi dari perkebunan kopi kabupaten Lampung Barat diperoleh komunitas bakteri dengan persentase 48,3% (14 isolat). Hasil uji gram menunjukkan Dari ke-14 isolat bakteri yang berhasil diisolasi 71,4% merupakan bakteri gram positif (10 isolat yaitu B1, B5, B7, B8, B10, B11, B13, B14, B15 dan B18) dan 28,6% merupakan bakteri gram negatif (4 isolat yaitu B2, B3, B9 dan B12).



**Gambar 1. Dinamika Komunitas Bakteri pada Pengolahan Basah (*Wet*) Kopi Robusta** (Keterangan: B = Isolat Bakteri; P1 = Pemetikan; P2 = Sortasi air; P3 = *Pulping*; F (\*) = Fermentasi, AW=Setelah Pencucian, 48-240 (\*\*)= Pengerangan).

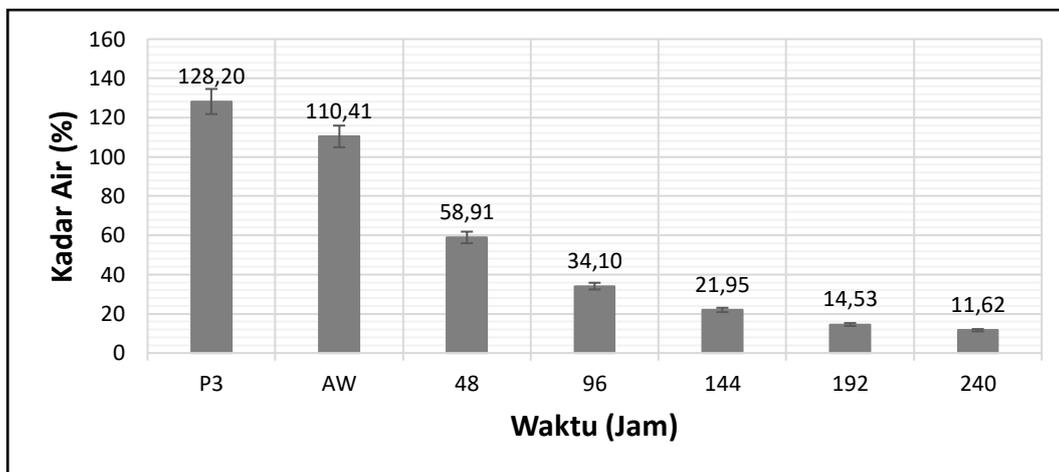


**Gambar 2. Dinamika Komunitas Ragi pada Pengolahan Basah (Wet) Kopi Robusta** (Keterangan: Y = Isolat Ragi; P1 = Pemetikan; P2 = Sortasi air; P3 = *Pulping*; F (\*) = Fermentasi, AW=Setelah Pencucian, 48-240 (\*\*)= Pengeringan).

Dari ke-14 isolat bakteri yang berhasil diisolasi, 4 diantaranya merupakan bakteri asam laktat yaitu isolat B7, B8, B14 dan B15. Komunitas bakteri pada tahap pemetikan (P1) berjumlah 6,8 log CFU/mL dan mencapai komunitas tertinggi pada tahap *pulping* (P3) dengan jumlah populasi 9,8 log CFU/mL (Gambar 1). Selain komunitas bakteri, pada pengolahan kopi Robusta dengan pemrosesan basah ditemukan komunitas ragi dengan persentase yang lebih tinggi dibandingkan bakteri yaitu 51,7% (15 isolat yaitu Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y6, Y7, Y8, Y9, Y10, Y11, Y13, Y14, Y15 dan Y16). Komunitas ragi yang terdapat pada tahap pemetikan (P1) berjumlah 5,9 log CFU/mL dan mencapai komunitas tertinggi pada fermentasi 24 jam (F24) dengan jumlah 7,8 log CFU/mL (Gambar 2).

Hasil analisis indeks-indeks komunitas menunjukkan bahwa indeks keanekaragaman jenis bakteri dan ragi pada pengolahan kopi Robusta dengan pemrosesan basah (*wet*) tergolong sangat stabil pada tahap fermentasi 36 jam dengan nilai  $H' = 2,48$  (Tabel 1). Semakin tinggi nilai  $H'$ , maka tingkat kestabilan komunitas bakteri dan ragi pada pengolahan basah kopi Robusta semakin tinggi. Suatu komunitas yang memiliki nilai  $H' < 1$  dikatakan komunitas kurang stabil, jikan nilai  $H'$  antara 1-2 dikatakan komunitas stabil, dan jika nilai  $H' > 2$  dikatakan komunitas sangat stabil [8]. Nilai  $H'$  yang tinggi pada tahap fermentasi 36 jam (F36) disebabkan karena kadar air (Gambar 3) serta nutrisi yang tinggi saat fermentasi memfasilitasi pertumbuhan mikroba sehingga pada tahap ini ditemukan mikroba dengan jumlah jenis yang melimpah, serta lebih banyak dari tahap lainnya. Untuk mengetahui tingkat kestabilan suatu jenis dalam suatu komunitas digunakan nilai E ( $E = 0 < 0,3$  tingkat kestabilan keragaman jenis tergolong rendah;  $E = 0,3 < 0,6$  tingkat kestabilan keragaman jenis tergolong sedang;  $E = > 0,6$  tingkat kestabilan keragaman jenis tergolong tinggi [8]. Tabel 1 menunjukkan pada tahap fermentasi 36 jam (F36) memiliki nilai E tertinggi yaitu mencapai 0,74 dan nilai E terendah terdapat pada tahap setelah pencucian (AW) sebesar 0,52. Pada tahap ini Sebagian besar bakteri dan ragi hilang akibat adanya pencucian setelah dilakukan fermentasi. Pada tahap F36 diketahui komunitas tersebut tergolong memiliki tingkat kestabilan keragaman yang tinggi, sedangkan pada tahap AW diketahui memiliki tingkat kestabilan keragaman yang tergolong sedang.

Hasil analisis indeks dominansi jenis menunjukkan pada tahap P1, P2 dan F24 didominasi oleh isolat bakteri B3 dengan nilai D pada setiap tahap yaitu 0,015, 0,014 dan 0,013. Pada tahap P3 dan F12 didominasi oleh isolat bakteri B2 dengan nilai D pada setiap tahap sebesar 0,022 dan 0,027. Pada tahap F36 dan AW didominasi oleh isolat bakteri B10 dengan nilai D sebesar 0,009 dan 0,042. Pada tahap F48, 48-96 jam pengeringan didominasi oleh isolat bakteri B12 dengan nilai D berturut-turut sebesar 0,017, 0,014 dan 0,019. Setelah 144 jam pengeringan didominasi oleh isolat bakteri B11 dengan nilai D sebesar 0,035. Setelah 192 jam pengeringan didominasi oleh isolat bakteri B7 dengan nilai D sebesar 0,025. Pada akhir pengeringan didominasi oleh isolat ragi Y11 dengan nilai D mencapai 0,030. Hasil analisis dominansi jenis secara keseluruhan menunjukkan nilai dominansi jenis tertinggi diperoleh oleh isolat bakteri B10 ( $D = 0,042$ ) dan ragi Y2 (0,026) pada tahap AW. Tingginya dominansi dua isolat di atas menunjukkan terjadinya pemusatan dominansi hanya pada jenis tertentu, sehingga indeks dominansi pada tahap AW menjadi tinggi ( $D = 0,17$ ) (Tabel 1).



**Gambar 3. Persentase Kadar Air (%) Biji Kopi Robusta Selama Tahap Pengeringan dengan Pemrosesan Basah (Wet)** (Keterangan: P3 = *Pulping*; AW = Setelah Pencucian; 48-240 jam = Pengeringan).

Tingginya indeks dominansi menunjukkan kelimpahan setiap jenis di area ini tidak merata, sehingga indeks kemerataannya lebih rendah ( $E = 0,52$ ) (Tabel 1). Hasil ini sesuai pendapat seorang peneliti yang menyatakan bahwa adanya dominansi jenis tertentu dan tidak meratanya persebaran jenis menyebabkan nilai kemerataan jenis semakin kecil [7]. Rendahnya kemerataan dan jumlah jenis ini menyebabkan rendahnya keanekaragaman di area ini ( $H' = 1,78$ ) (Tabel 1).

**Tabel 1. Jumlah Jenis, Jumlah Individu, Indeks Keanekaragaman, Indeks Dominansi dan Indeks Kemerataan.**

Kode	Jumlah												
	P1	P2	P3	F12	F24	F36	F48	AW	48	96	144	192	240
S	9	10	9	8	11	12	9	6	10	9	6	7	6
N	50,30	52,99	64,63	54,01	80,14	91,53*	60,82	36,40	68,78	54,26	38,60	41,92	32,25
H'	2,19	2,30	2,16	2,06	2,39	2,48*	2,19	1,78	2,30	2,19	1,79	1,94	1,79
D	0,11	0,10	0,12	0,13	0,09	0,08	0,11	0,17*	0,10	0,11	0,17	0,14	0,17
E	0,65	0,68	0,64	0,61	0,71	0,74*	0,65	0,52	0,68	0,65	0,53	0,58	0,53

Keterangan: S = Jumlah Jenis; N = Jumlah Individu; H' = Indeks Keanekaragaman; D = Indeks Dominansi; E = Indeks Kemerataan; \* = Nilai Tertinggi.

Pada awal pemrosesan hingga 96 jam setelah pengeringan ditemukan komunitas bakteri dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan komunitas ragi. Hal ini disebabkan karena bakteri memiliki waktu generasi yang lebih singkat dibandingkan ragi serta kemampuan dalam mengkonsumsi gula sederhana sebagai sumber karbon, selain itu beberapa jenis bakteri yang diketahui memiliki kemampuan dalam menghidrolisis pektin menghasilkan gula sederhana (glukosa, ramnosa, L-arabinosa dan D-galakturonat) sebagai sumber karbon tambahan untuk metabolisme ragi [13]. Jumlah komunitas bakteri mengalami penurunan saat memasuki tahap pencucian dan pengeringan. Proses pencucian diduga menghilangkan sisa lapisan lendir yang menempel pada perkarmen biji kopi sementara saat proses pengeringan terjadi penurunan kadar air secara berangsur-angsur (Gambar 3). Kondisi ini tentu menyebabkan terjadinya stres kekeringan, hilangnya sebagian besar kandungan nutrisi dan penumpukan hasil metabolisme berupa asam organik berdampak secara langsung terhadap penurunan jumlah komunitas bakteri. Pada akhir pengeringan yaitu pada 144 jam hingga 240 jam pengeringan ditemukan komunitas ragi dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan komunitas bakteri. Hal ini disebabkan karena ragi memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi stres kekeringan selama proses pengeringan dengan memetabolisme gula sederhana yang merupakan hasil metabolisme bakteri di awal pemrosesan [12].

Dinamika komunitas bakteri maupun ragi selama proses pengolahan kopi berkaitan dengan kandungan polisakarida (pektin, selulosa dan amilum), gula sederhana dan protein yang terdapat pada buah kopi yang menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba. Aktivitas enzim pektinolitik, selulolitik, amilolitik dan proteolitik yang dihasilkan oleh mikroba berkontribusi dalam hidrolisis gula sederhana, polisakarida (pektin) dan protein yang terdapat pada kulit, daging buah dan lendir kopi. Pada tahap P1

(pemetikan), P2 (sortasi air) dan P3 (*pulping*) ditemukan komunitas mikroba pektinolitik, amilolitik, proteolitik dan selulolitik dengan jumlah komunitas paling tinggi terdapat pada tahap P3. Hal ini disebabkan karena pada lapisan mesokarp (daging buah dan *mucilage*) buah kopi kaya akan karbohidrat (glukosa, fruktosa dan pektin) protein, lemak, mineral, tanin, polifenol dan kafein. Pektin merupakan polimer karbohidrat utama yang terdapat pada mesokarp dan pada tahap P3 terlihat bahwa komunitas bakteri tertinggi berasal dari mikroba pektinolitik. Hidrolisis pektin menghasilkan gula sederhana (glukosa, ramnosa, L-arabinosa dan D-galakturonat) sebagai sumber karbon untuk metabolisme ragi dan sebagai prekursor dalam pembentukan aroma. Komunitas mikroba selulolitik juga hadir selama tahapan P1, P2 dan P3 dengan aktivitas paling tinggi terdapat pada tahap P3, karena pada lapisan endokarp diketahui kaya akan selulosa, hemiselulosa, lignin dan abu. Mikroba amilolitik ditemukan pada tahap awal (P1, P2 dan P3) juga pada tahap pengeringan yang didominasi oleh isolat ragi. Pada tahap pengeringan juga didominasi oleh mikroba proteolitik karena pada bagian itegumen (*silver skin*) biji kopi terdapat kandungan polisakarida (selulosa dan hemiselulosa), monosakarida, protein dan polifenol. Hidrolisis protein oleh mikroba proteolitik menghasilkan beberapa jenis asam amino yang berkontribusi jawab dalam pembentukan citarasa pada kopi [5] [13].

**Tabel 2. Hasil Uji Enzimatis Isolat Bakteri**

No.	Kode Isolat	Pektinase	Selulase	Amilase	Protease
1	B1	++	++++	-	-
2	B2	-	-	+	+
3	B3	+	++	+	-
4	B5	-	-	-	-
5	B7	-	-	-	-
6	B8	+	+	+	-
7	B9	-	-	+	-
8	B10	+	++	++	-
9	B11	-	-	-	+
10	B12	-	-	-	+
11	B13	-	-	-	-
12	B14	-	-	+	+
13	B15	-	-	-	-
14	B18	-	-	-	-

Keterangan: + = terdapat zona bening (semakin banyak tanda +, zona bening semakin besar)  
- = tidak terdapat zona bening

Berdasarkan hasil analisis dominansi jenis dan uji enzimatis dipilih 2 isolat dominan yaitu bakteri B10 dan ragi Y2 karena kedua isolat ini memiliki nilai indeks dominansi tertinggi dengan aktivitas enzim yang dimiliki oleh bakteri B10 yaitu pektinase, selulase dan amilase (Tabel 2), serta isolat ragi Y2 yang memiliki keseluruhan aktivitas enzim yaitu pektinase, amilase, selulase dan protease (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa kedua isolat ini dapat dijadikan sebagai kultur starter untuk digunakan dalam proses fermentasi kopi Robusta secara terkontrol.

## KESIMPULAN

Pada Pengolahan kopi Robusta dengan penrosesan basah (*wet*) terdapat komunitas ragi dengan persentase (51,7%) yang lebih tinggi dibandingkan komunitas bakteri (48,3%). Dari ke-14 isolat bakteri yang berhasil diisolasi 71,4% merupakan bakteri gram positif (10 isolat) dan 28,6% merupakan bakteri gram negatif (4 isolat). Komunitas mikroba pada pengolahan basah kopi Robusta memiliki indeks keanekaragaman jenis ( $H'$ ) = 2,48, indeks pemerataan (E) = 0,74 dan indeks dominansi (D) = 0,17. Hasil analisis dominansi jenis dan uji enzimatis menunjukkan bahwa isolat bakteri B10 dan ragi Y2 terpilih sebagai isolat dominan dan dapat digunakan sebagai kultur starter dalam proses fermentasi terkontrol.

Tabel 3. Hasil Uji Enzimatis Isolat Ragi

No.	Kode Isolat	Pektinase	Selulase	Amilase	Protease
1	Y1	+	-	+	+
2	Y2	+	+	+	+
3	Y3	+	-	+	-
4	Y4	-	-	-	+
5	Y5	+	+	+	-
6	Y6	-	-	+	-
7	Y7	-	+	+	-
8	Y8	-	-	-	-
9	Y9	-	-	+	-
10	Y10	+	-	+	+
11	Y11	-	-	-	-
12	Y13	-	+	-	-
13	Y14	-	-	-	-
14	Y15	-	+	-	-
15	Y16	+	-	+	-

Keterangan: + = terdapat zona bening (semakin banyak tanda +, zona bening semakin besar)

- = tidak terdapat zona bening

## PUSTAKA

- [1] Berutu, M. A. C. 2017. Isolasi Mikroba Penghasil Pektinase dan Optimalisasi Produksinya pada Penjernihan Sari Buah Apel (*Malus Domestica*). Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- [2] Capuccino, J. G., and Sherman, N. 2008. *Microbiology: A Laboratory Manual 8th Edition*. Pearson: Sans Fransisco.
- [3] Carrasco M., Villarreal P., Barahona S., Alcaíno J., Cifuentes V., and Baeza M. 2016. *Screening and Characterization of Amylase and Cellulase Activities in Psychrotolerant Yeasts*. BMC Microbiology. 16(21): 1-9. doi:10.1186/s12866-016-0640-8.
- [4] Evangelista S. R., Miguel P. D. G. M., Silva C. F., Pinheiro A. C. M., and Schwan R. F. 2015. *Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation*. International Journal of Food Microbiology. 210: 102–112. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008.
- [5] Haile M., and Kang W. H. 2019. *The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality*. Journal of Food Quality. 2019: 1-6. doi:10.1155/2019/4836709.
- [6] Hidayat I. 2004. Skrining Aktivitas Enzim *Bacillus* sp. yang Diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun. Berita Biologi. 7(1): 25-32.
- [7] Magguran A. E. 1988. *Ecological Diversity and its Measurement*. London: Chapman and Hall.
- [8] Mawazin dan Subiakto A. 2013. Keanekaragaman dan Komposisi Jenis Permudaan Alam Hutan Rawa Gambut Bekas Tebangan Di Riau. Indonesian Forest Rehabilitation Journal. 1 (1): 59-73.
- [9] Moradi M., Shariati P., Tabandeh F., Yakhchali B., and Khaniki B. G. 2014. *Screening and Isolation of Powerful Amylolytic Bacterial Strains*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(2): 758-768.
- [10] Novalia D., Yuanita S. P., Wikandari R. P. 2014. *Screening Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Singgahan Tuban*. UNESA Journal of Chemistry. 3(3): 49-54.
- [11] Nusaly N.W. 2020. Standarisasi Fermentasi pada Produksi Honey Kopi Robusta dengan Variasi Perbandingan Inokulum dan Lama Waktu Fermentasi. Tesis Program Magister. Institut Teknologi Bandung.
- [12] Pereira D. V. G., Soccol T. V., Pandey A., Medeiros P. B. A., Lara A. R. M. J., Gollo L. A., and Soccol S. R. 2014. *Isolation, Selection and Evaluation of Yeasts for Use in Fermentation of Coffee Beans by the Wet Process*. International Journal of Food Microbiology. 188(2014): 60-66. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.008.
- [13] Pereira D. V. G., Neto D. P. D., Júnior M. I. A., Vásquez S. Z., Medeiros P. B. A., Vandenberghe S. P. L., and Soccol R. C. 2018. *Exploring the Impacts of Postharvest Processing on the Aroma Formation of Coffee Beans – A review*. Food Chemistry. 272: 441-452. doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.061.

- [14] Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2008: Klon-klon Unggul Kopi Robusta dan Beberapa Pilihan Komposisi Klon Berdasarkan Kondisi Lingkungan. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- [15] Ritonga H. I. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif dari Sampel Tanah di Sekolah Peternakan Rakyat (SPR), Kabupaten Muara Enim, Sumatera Selatan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- [16] Rodarte P. M., Dias R. D., Vilela M. D., and Schwan F. R. 2011. *Proteolytic Activities of Bacteria, Yeasts and Filamentous Fungi Isolated from Coffee Fruit (Coffea Arabica L.)*. Acta Scientiarum Agronomy. 33(3): 457-464. doi:10.4025/actasciagron.v33i3.6734
- [17] Syachnoormalieta F. I. 2018. Optimasi Fermentasi Wine Coffee Dengan Variasi Perbandingan dan Persentase Jumlah Inokulum. Tesis Program Magister. Institut Teknologi Bandung.
- [18] Sulistyani H. T., Rahayuningsih M., dan Partaya. 2014. Keanekaragaman Jenis Kupu-Kupu (Lepidoptera: Rhopalocera) di Cagar Alam Ulolanang Kecubung Kabupaten Batang. Unnes Journal of Life Science. 3 (1): 9-17.
- [19] Widowati E., Utami R., Nurhartadi E., Andriani M. A. M., dan Hanifah R. 2014. Produksi dan Karakterisasi Enzim Pektinase Bakteri Pektinolitik dari Limbah Kulit Jeruk untuk Klarifikasi Jus Lemon (Citrus Limon). Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 7(1): 20-25.
- [20] Wulandari P. T., Sukmawati D., dan Kurniati H. T. 2017. Isolasi dan Seleksi Khamir Amilolitik Asal Buah Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lam.). Bioma. 13(1): 37-42. doi:0.21009/Bioma13(1).5.