



**MODIFIKASI PENGOLAHAN BIJI KOPI DENGAN
PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE DARI
TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
UNTUK MENINGKATKAN MUTU
ORGANOLEPTIK
KOPI ROBUSTA**

SKRIPSI

Oleh

Danar Ilma Firdaus

NIM 141710101116

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



**MODIFIKASI PENGOLAHAN BIJI KOPI DENGAN
PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE DARI
TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
UNTUK MENINGKATKAN MUTU
ORGANOLEPTIK
KOPI ROBUSTA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Strata Satu (S-1) Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

oleh

Danar Ilma Firdaus

NIM 141710101116

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

PERSEMBAHAN

Ucapan syukur atas kuasa Allah SWT. Limpahan kasih sayang serta anugerah kemudahan yang telah diberikan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua dan kakak tercinta. Terimakasih atas doa, dukungan dan motivasi yang selalu diberikan kepada saya selama ini,
2. Para pendidik yang telah mendidik, membimbing saya dan memotivasi saya dari Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi.
3. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“and you shall not find any refuge besides Him”



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Danar Ilma Firdaus

NIM : 141710101116

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya skripsi yang berjudul “**Modifikasi Pengolahan Biji Kopi dengan Penambahan Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Meningkatkan Mutu Organoleptik Kopi Robusta**”, adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan kepada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Januari 2019
Yang menyatakan,

Danar Ilma Firdaus
141710101116

SKRIPSI

**MODIFIKASI PENGOLAHAN BIJI KOPI DENGAN
PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE DARI
TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
UNTUK MENINGKATKAN MUTU
ORGANOLEPTIK
KOPI ROBUSTA**

Oleh:

Danar Ilma Firdaus

NIM 141710101116

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Modifikasi Pengolahan Biji Kopi dengan Penambahan Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Meningkatkan Mutu Organoleptik Kopi Robusta**” karya Danar Ilma Firdaus (NIM. 141710101116) telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 29 Januari 2019

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.
NIP. 196912121998021001

Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P.
NIP. 760016850

Ketua Tim Penguji

Anggota

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
NIP. 196307011989031004

Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P.
NIP. 760016797

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng.
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Modifikasi Pengolahan Biji Kopi dengan Penambahan Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Meningkatkan Mutu Organoleptik Kopi Robusta; Danar Ilma Firdaus; 141710101116; 2019: 43 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Biji kopi robusta yang diolah secara fermentasi dengan penambahan enzim protease biduri diharapkan mampu memperbaiki citarasa kopi yang dihasilkan, namun belum diketahui konsentrasi dan lama fermentasi yang tepat dalam pengaplikasiannya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi dan lama waktu yang tepat dalam pengolahan kopi robusta sehingga didapat mutu sensori yang baik dan *mild* kafein.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kombinasi 2 faktor (konsentrasi protease biduri 1, 3, 5% dan lama fermentasi 12, 24, 36 jam) serta perlakuan kontrol sebagai pembanding yang masing-masing kombinasi dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Adapun parameter yang diamati meliputi: (1) mutu organoleptik (metode *cup test*) menggunakan panelis ahli yang terdiri atas atribut *fragrance/roma, flavor, aftertaste, salt/acid, bbitter/sweet, mouthfeel/body, balance, uniform cups, clean cup, overall*; (2) senyawa volatil menggunakan GC-MS dengan metode SPME; dan (3) kadar kafein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari perlakuan konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis terhadap semua parameter pengamatan dari sampel bubuk kopi robusta yang meliputi sifat organoleptik, komposisi senyawa volatil dan kadar kafein. Hasil final score yang ditentukan dari atribut citarasa (*fragrance/roma, flavor, aftertaste, salt/acid, bitter/sweet, mouthfeel/body, uniform cup, balance, clean cup, dan overall*) menunjukkan bahwa kopi robusta dengan perlakuan konsentrasi dan lama fermentasi memiliki nilai lebih tinggi (> 80) dibanding nilai organoleptik kopi robusta kontrol (61,67). Nilai tersebut menunjukkan bahwa semua sampel perlakuan termasuk ke dalam kategori *fine* (nilai 80-90), dibanding dengan perlakuan kontrol yang termasuk ke dalam kategori *average* (nilai 60-70). Sampel perlakuan dengan penambahan enzim konsentrasi 1, 3, dan 5% selama 36 jam berturut-turut teridentifikasi sebanyak 43, 42, dan 42 senyawa volatil, sedangkan sampel kontrol yang teridentifikasi sebanyak 39 senyawa. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat senyawa baru yang teridentifikasi. Senyawa volatil yang teridentifikasi pada sampel bubuk kopi robusta dapat digolongkan ke dalam beberapa kelompok, meliputi *pyrazine, furan, ketone, acid, alcohol, pyrrole, aldehyde, dan heterocyclic N*. Penambahan protease biduri menghasilkan kopi robusta dengan kadar kafein yang lebih rendah dibanding tanpa penambahan protease biduri. Konsentrasi protease biduri dan lama fermentasi

menghasilkan kopi robusta dengan kadar kafein yang bervariasi. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri yang digunakan dan semakin lama fermentasi menghasilkan kopi robusta dengan kadar kafein yang semakin rendah. Secara keseluruhan dari hasil perlakuan enzimatis menggunakan protease biduri dihasilkan kopi dengan mutu spesialti (*Fine Robusta*) dan *mild* kafein.



SUMMARY

Modification of Green Coffee Beans Processing with Protease Extracted from Biduri (*Calotropis gigantea*) to Improving Quality of Coffee Organoleptic; Dinar Ilma Firdaus; 141710101116; 2019: 43 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, Jember University.

Robusta coffee beans which are processed by fermentation with the addition of the Biduri protease are expected to be able to improve the taste of the coffee produced, but the concentration and length of fermentation were not yet known in the application. Therefore, it is necessary to conduct research to determine the concentration and the correct length of time in processing robusta coffee so that good sensory quality and mild caffeine are obtained.

The study used a Completely Randomized Design (CRD) with a combination of 2 factors (1, 3, 5% protease concentration and 12, 24, 36 hours fermentation length) as well as control treatment as a comparison of three replications. The parameters observed included: (1) organoleptic quality (cup test method) using expert panelists consisting of attributes of aroma/fragrance, flavor, aftertaste, salt/acid, bitter/sweet, balance, body, clean cup, overall; (2) volatile compounds using GC-MS with the SPME method; and (3) caffeine levels.

The results showed that there was an effect of the treatment of Biduri protease concentration and fermentation length on all observed parameters from robusta coffee powder samples which included organoleptic properties, volatile compound composition and caffeine content. The final score determined by flavor attributes (fragrance/aroma, flavor, aftertaste, salt/acid, bitter/sweet, mouthfeel/body, uniform cup, balance, clean cup, and overall) showed that the robusta coffee with concentration and fermentation length has a higher value (> 80) than the value of robusta control organoleptic coffee (61,67). This value indicated that all treatment samples are included in the fine category (value 80-90), compared to the control treatment which belongs to the average category (values 60-70). The treatment samples with the addition of enzymes concentrations 1, 3, and 5% for 36 consecutive hours were identified as 43, 42, and 42 volatile compounds. The volatile compounds identified in Robusta coffee powder samples can be classified into several groups, including pyrazine, furan, ketone, acid, alcohol, pyrrole, aldehyde, and heterocyclic N. Addition of biduri proteases produced the robusta coffee with lower caffeine levels than without additions biduri proteases. The biduri protease concentration and the length of fermentation would produced robusta coffee with varying levels of caffeine. The higher biduri proteases concentration used and the longer the fermentation produced the robusta coffee with lower caffeine content. Overall from the enzymatic treatment using biduri proteases produced coffee with special qualities (Fine Robusta) and mild caffeine.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Modifikasi Pengolahan Biji Kopi dengan Penambahan Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Meningkatkan Mutu Organoleptik Kopi Robusta” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata satu (S-1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh sebab itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Ahmad Nafi', S.TP., M.P. selaku Dosen Pembimbing Akademik
4. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang selalu membimbing serta memberikan ilmu demi kelancaran studi.
5. Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si. dan Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P. selaku Dosen Penguji Skripsi yang telah memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan skripsi yang saya susun.
6. Orang tua saya, bapak Fatkurohman dan ibu Minuk Sri Haryati, kakak saya Galuh Ayuningtyas dan Cahya Gemilar Amansyah yang selalu mendoakan atas kelancaran saya dalam menyelesaikan studi.
7. Seluruh dosen, karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

8. Shara Indriati Pramono, Febri Setiawan, dan Rado Heksa Sampurna yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada saya untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Teman-teman seperjuangan THP 2014, khususnya THP B 2014 yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.
10. Keluarga “UK-PSM Symphony Choir” yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama pelaksanaan penelitian
11. Teman-teman “Benkel Café” yang telah berbagi ilmu dan pengalaman di bidang kopi.
12. Seluruh pihak yang turut membantu dalam penyusunan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan dan belum dapat dikatakan sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan bagi sempurnanya laporan ini.

Jember, 29 Januari 2019

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora. L.</i>).....	4
2.2 Pengolahan Kopi secara Basah	6
2.3 Kafein.....	7
2.4 Enzim Protease	7
2.5 Enzim Protease Tanaman Biduri.....	8
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	10
3.2.1 Bahan Penelitian	10
3.2.2 Alat Penelitian	10

3.3 Metode Penelitian	10
3.3.1 Rancangan Percobaan	10
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	11
3.4 Parameter Penelitian	13
3.5 Prosedur Analisis	14
3.5.1 Uji Citarasa menurut metode <i>Specialty Coffee Association of America</i> (SCAA, 2015)	14
3.5.2 Analisis Senyawa Volatil dengan GC-MS	15
3.5.3 Uji Kadar Kafein (Sudarmadji <i>et al.</i> , 1984)	16
3.6 Analisis Data	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Hasil Pengujian Citarasa Sifat Organoleptik (<i>Cup Test</i>)	18
4.1.1 <i>Fragrance/Aroma</i> dan <i>Flavor</i>	18
4.1.2 <i>Aftertaste, Salt/Acid, dan Bitter/Sweet</i>	20
4.1.3 <i>Mouthfeel/Body</i>	23
4.1.4 <i>Balance, Uniform Cups, Clean Cups, dan Overall</i>	24
4.1.5 <i>Final Score</i>	27
4.2 Senyawa Volatil Kopi	29
4.3 Kadar Kafein	38
BAB 5. KESIMPULAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN-LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi kimia pulp kopi.....	5
Tabel 2.2 Komposisi kimia kopi robusta dan arabika.....	5
Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan konsentrasi protease biduri dan lama	10
Tabel 4.1 Karakteristik aroma sampel kopi robusta	27
Tabel 4.2 Daftar senyawa volatil pada sampel kontrol.....	30
Tabel 4.3 Daftar senyawa volatil sampel perlakuan penambahan enzim	31
Tabel 4.4 Data luas area <i>peak</i> senyawa volatil	32
Tabel 4.5 Karakteristik aroma sampel kopi	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur buah kopi	4
Gambar 3.1 Pembuatan enzim protease biduri.....	10
Gambar 3.2 Diagram alir proses pengolahan kopi	12
Gambar 3.3 Diagram alir uji citarasa (<i>cup test</i>)	14
Gambar 4.1 Nilai <i>cup test fragrance/aroma</i> kopi robusta	18
Gambar 4.2 Hasil <i>cup test flavor</i> kopi	19
Gambar 4.3 Hasil <i>cup test aftertaste</i> kopi robusta.....	20
Gambar 4.4 Hasil <i>cup test salt/acid</i> kopi robusta.....	21
Gambar 4.5 Hasil <i>cup test bitter/sweet</i> kopi robusta	21
Gambar 4.6 Hasil <i>cup test mouthfeel/body</i> kopi robusta	22
Gambar 4.7 Hasil <i>cup test balance</i> kopi robusta.....	23
Gambar 4.8 Hasil <i>cup test uniform cups</i> kopi robusta.....	24
Gambar 4.9 Hasil <i>cup test clean cups</i> kopi robusta.....	24
Gambar 4.10 Hasil <i>cup test overall</i> kopi robusta	25
Gambar 4.11 Hasil <i>final score</i> citarasa kopi robusta.....	26
Gambar 4.12. <i>Peak</i> senyawa volatil biji kopi robusta perlakuan kontrol	28
Gambar 4.13. <i>Peak</i> senyawa volatil biji kopi robusta perlakuan 1% 36 jam.....	29
Gambar 4.14. <i>Peak</i> senyawa volatil biji kopi robusta perlakuan 3% 36 jam.....	29
Gambar 4.14. <i>Peak</i> senyawa volatil biji kopi robusta perlakuan 3% 36 jam.....	30
Gambar 4.15 Kadar kafein kopi robusta	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto obyek dan kegiatan penelitian	44
Lampiran 2. Hasil uji (<i>cup test</i>) citarasa kopi enzimatis nilai tertinggi	45
Lampiran 3. Hasil uji (<i>cup test</i>) citarasa kopi enzimatis (nilai terendah)	46
Lampiran 4. Hasil uji (<i>cup test</i>) citarasa kopi kontrol (tanpa enzim)	47
Lampiran 5. Hasil analisis senyawa volatil (sampel kontrol)	48
Lampiran 6. Hasil analisis senyawa volatil (kopi hasil enzimatis 1% 36 jam) ..	50
Lampiran 7. Hasil analisis senyawa volatil (kopi hasil enzimatis 3% 36 jam) ..	52
Lampiran 7. Hasil analisis senyawa volatil (kopi hasil enzimatis 5% 36 jam) ..	53

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang dibudidayakan di Indonesia. Produksi kopi di Indonesia lebih banyak didominasi oleh kopi jenis robusta dibandingkan arabika. Data luas areal kopi robusta tahun 2016 sebesar 912.135 ha dibandingkan dengan luas areal perkebunan kopi arabika pada tahun yang sama sebesar 321.158 ha (Suwandi *et al.*, 2016). Lebih lanjut, menurut Suwandi *et al.* (2016) produksi dan produktivitas kopi jenis robusta juga lebih tinggi dibandingkan arabika. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa kopi robusta memiliki potensi untuk dikembangkan dengan ketersediaannya yang melimpah bila dibandingkan dengan arabika.

Kopi arabika dan robusta memiliki ciri khas tersendiri, baik dari mutu kimia maupun organoleptiknya. Salah satu mutu kimia dalam biji kopi yang khas adalah keberadaan kafein, sebagaimana menurut Schwan and Fleet (2014) bahwa kadar kafein kopi arabika dan robusta berturut-turut sekitar 1,5 dan 2,5%. Diantara beberapa mutu organoleptik kopi arabika adalah memiliki rasa yang asam, *body* yg lemah/rendah, lebih beraroma kopi, sedangkan kopi robusta lebih kepada rasa pahit, *full-bodied*, kurang beraroma (dibandingkan dengan arabika) (Schwan dan Fleet, 2014). Menurut Brando (2004) perbedaan tersebut selain disebabkan oleh faktor genetik kopi, juga karena faktor lingkungan seperti metode penanaman, tanah dan iklim, dan pengolahan pasca-panen kopi. Prastowo *et al.* (2010) menyebutkan bahwa kopi robusta pada umumnya diolah dengan cara kering atau tanpa adanya fermentasi, berbanding terbalik dengan pengolahan kopi arabika yang dilakukan proses fermentasi. Lebih lanjut Prastowo *et al.* (2010) menambahkan bahwa proses fermentasi pada biji kopi dapat mengurangi rasa pahit pada kopi, serta terbentuknya kesan *mild*. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlunya dilakukan modifikasi pengolahan biji kopi robusta untuk menghasilkan kopi dengan kualitas atau mutu yang lebih baik.

Beberapa penelitian tentang kopi telah dikembangkan pada pengolahan kopi secara basah untuk memperbaiki citarasa / mutu organoleptik maupun mutu kimia pada kopi. Oktadiana *et al.* (2013) melaporkan bahwa penambahan enzim bromelin pada perlakuan lama fermentasi kopi 36 jam dan konsentrasi nanas 40% pada pengolahan biji kopi berpengaruh pada menurunnya kadar kafein. Selain itu, modifikasi fermentasi kopi dengan beberapa bakteri juga memiliki pengaruh pada karakteristik kopi, seperti menurut Lee *et al.* (2016) menggunakan *Rhizopus oligosporus*, dihasilkan peningkatan senyawa *precursor* pembentuk aroma. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa beberapa cara yang dapat dilakukan dalam memodifikasi kopi untuk meningkatkan citarasa dan memperbaiki mutu kimia dapat dilakukan secara fermentasi dengan menambahkan mikroba maupun hidrolisis secara enzimatis. Selain enzim bromelin, salah satu enzim yang dapat digunakan dalam metode hidrolisis adalah enzim protease dari tanaman biduri.

Pemanfaatan tanaman biduri masih belum dimaksimalkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Van Stenis, 1992 dalam Witono, 2013). Enzim yang terkandung di dalamnya sangat besar potensinya untuk diterapkan pada pengolahan pangan, sebagaimana menurut Witono *et al.*, (2007) bahwa protease biduri efektif digunakan untuk mengekstrak VCO. Selain itu juga dapat dimanfaatkan dalam pengempukan daging (Witono *et al.*, 2002), pembuatan keju (Witono *et al.*, 2003), dan pengembangan flavor (Witono, 2014) melalui reaksi maillard. Enzim protease biduri masih dapat dikembangkan lebih lanjut aplikasinya dalam pengolahan pangan, salah satunya yaitu pada pengolahan kopi untuk memperbaiki mutu, baik kimia maupun organoleptik.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan enzim protease dalam pengolahan kopi berpengaruh pada kualitas kopi. Menurut Oktadiana *et al.* (2013) fermentasi kopi dengan enzim protease bromelin pada perlakuan fermentasi kopi 36 jam dan konsentrasi nanas 40% pada pengolahan biji kopi berpengaruh terhadap menurunnya kadar kafein, sehingga diduga adanya

pengaruh enzim protease pada pengolahan biji kopi. Namun, masih terdapat kelemahan dari segi citarasa.

Biji kopi yang diolah dengan penambahan enzim protease biduri diharapkan mampu memperbaiki citarasa kopi yang dihasilkan, namun belum diketahui konsentrasi dan lama hidrolisis yang tepat dalam pengaplikasiannya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi dan lama waktu yang tepat dalam pengolahan kopi robusta sehingga didapat mutu sensori yang baik dan *mild kafein*.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui pengaruh penambahan enzim protease biduri pada pengolahan biji kopi robusta terhadap mutu organoleptik, senyawa volatil, dan kadar kafein biji kopi.
2. Menentukan konsentrasi penambahan enzim protease biduri dan lama waktu hidrolisis yang tepat dalam pengolahan biji kopi.

1.4 Manfaat

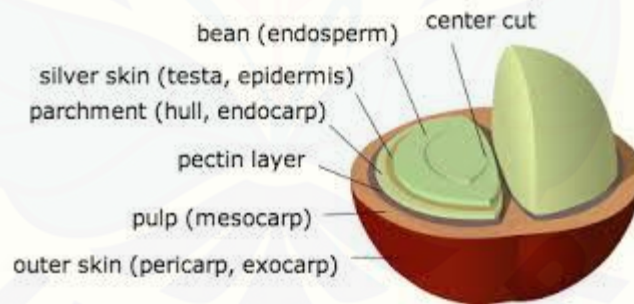
Adapun manfaat yang diharapkan dapat diraih dari hasil penelitian ini meliputi:

1. Dihasilkan kopi yang memiliki citarasa lebih baik sebagai alternatif produk kopi baru.
2. Memberikan informasi terkait pengolahan kopi dan produk kopi yang dihasilkan dari pengolahan dengan enzim protease dari tanaman biduri.
3. Meluasnya pemanfaatan tanaman biduri untuk proses-proses industri pangan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta (*Coffea canephora*. L)

Indonesia merupakan salah satu negara yang membudidayakan kopi. Terdapat tiga jenis kopi yang dibudidayakan di Indonesia, yaitu kopi arabika, liberika dan robusta. Kopi arabika adalah kopi yang paling baik mutu dan cita rasanya. Ciri-ciri kopi arabika adalah biji picak dan daun hijau tua berombak-ombak. Kopi liberika berasal dari Angola dan masuk ke Indonesia sejak tahun 1965. Meskipun sudah cukup lama penyebarannya tetapi hingga saat ini jumlahnya masih terbatas karena kualitas buah yang kurang bagus dan rendemennya rendah (Najiyati dan Danarti, 1997). Kopi robusta digolongkan lebih rendah mutu cita rasanya dibandingkan kopi arabika. Sebagian besar produksi kopi robusta di seluruh dunia dihasilkan secara kering, namun kopi robusta memiliki kelebihan yaitu lebih kental dan warnanya yang lebih kuat (Siswoputranto, 1992). Gambar bagian-bagian biji kopi dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Buah Kopi

(Sumber: <http://www.tamannacoffee.esy.es/tahap.html>)

Kopi robusta berasal dari Kongo dan tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian sekitar 500-700 meter di atas permukaan laut, dengan suhu rata-rata 15-25°C. Menurut Prastowo (2010), kopi robusta resisten terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh jamur HV (*Hemileia Vastatrix*) dan memerlukan syarat tumbuh dan pemeliharaan yang ringan, sedangkan produksinya lebih tinggi. Kopi robusta juga

sudah banyak tersebar di wilayah Indonesia dan Filipina. Ciri-ciri dari tanaman kopi robusta yaitu tinggi pohon mencapai 5 meter, sedangkan ruas cabangnya pendek. Batangnya berkayu, keras, tegak, putih ke abu-abuan. Seduhan kopi robusta memiliki rasa seperti coklat dan aroma yang khas, warna bervariasi sesuai dengan cara pengolahan. Kopi bubuk robusta memiliki tekstur lebih kasar dari kopi arabika. Kadar kafein biji mentah kopi robusta lebih tinggi dibandingkan biji mentah kopi arabika, kandungan kafein kopi robusta sekitar 2,2 % (Spillane, 1990). Komposisi kimia pulp kopi tersaji pada Tabel 2.1, sedangkan komposisi kimia kopi arabika dan robusta sebagaimana tertera pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Pulp Kopi

Komponen	Segar (%)	Kering (%)
Kadar air	76.70	12.6
Serat Kasar	3.40	21.5
Protein Kasar (N x 6.25)	2.10	11.5
Abu	1.50	8.3
Nitrogen – free extract	15.80	49.2

Sumber: Braham dan Bressani (1979) dalam Rohman (2013)

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Kopi Robusta dan Arabika

Komponen	Robusta (%)	Arabika (%)
Kafein	2.4-3.5	1.2
Trigonellin	0.7	1
Asam-asam karboksilat	0.7-3.5	1-3.1
Asam-amino bebas	0.8	0.5
Total asam amino	10.3	10.3
Asam klorogenat	10.3	7.1
Total lemak	7-15	13-17
Mineral	4.4	4.2
Karbohidrat	60.8	58.9

Sumber: Ellias (1979) dalam Rohman (2013)

2.2 Pengolahan Kopi secara Basah

Prinsip pengolahan kopi secara basah dalam prosesnya banyak menggunakan air. Mutu kopi yang dihasilkan cara ini pada umumnya baik dan prosesnya cepat. Cara pengolahan kopi basah dapat dilakukan dengan cara tradisional dan modern (Setyohadi, 2007). Pengolahan basah dimulai dengan proses pemanenan yang baik, dimana pada pengolahan ini dipastikan biji kopi yang digunakan adalah biji kopi yang telah benar-benar matang, kemudian dibersihkan dan dibuang daging buah serta kulitnya lalu difermentasi. Proses pembersihan daging atau *demucilage* dapat dipercepat dengan menggunakan bakteri *Aspergillus niger* (Murthy dan Naidu, 2011). Proses fermentasi dilakukan dengan cara merendam biji kopi dengan menggunakan air selama lebih kurang 72 jam (Clarke dan Macrae, 1985). Selain itu, jenis wadah dan lama fermentasi juga berpengaruh pada pengolahan kopi, sebagaimana menurut Balya *et al.* (2013) jenis wadah dan lama fermentasi berpengaruh terhadap mutu SNI, fisik dan organoleptik biji kopi arabika.

Beberapa penelitian tentang kopi telah dikembangkan pada pengolahan kopi secara basah untuk memperbaiki citarasa pada kopi. Oktadiana dkk (2013) melaporkan bahwa penambahan enzim bromelin pada perlakuan lama fermentasi kopi 36 jam dan konsentrasi nanas 40 % pada pengolahan biji kopi berpengaruh terhadap menurunnya kadar kafein.

Modifikasi fermentasi dengan beberapa bakteri juga memiliki pengaruh terhadap karakteristik kopi, sebagaimana menurut Rohman (2013) yang melakukan penelitian dengan bakteri proteolitik dan kombinasi bakteri xylanolitik dan selulolitik dihasilkan kopi dengan kadar kafein yang lebih rendah dari kopi luwak. Dalam pembentukan citarasa dan aroma, peningkatan senyawa precursor pembentuk aroma juga dapat dilakukan dengan fermentasi biji kopi dengan *Rhizopus oligosporus* (Lee *et al.*, 2016a). Lebih lanjut, Lee *et al.* (2016b) menambahkan perlakuan yang baik dalam penyangraian biji kopi hasil fermentasi dengan *R. oligosporus*, lebih baik *light roast* dibandingkan dengan *medium* dan *dark roast*.

2.3 Kafein

Kafein berfungsi sebagai perangsang dan kaffeol sebagai unsur flavor. Pada saat penyangraian kopi, bagian kafein berubah menjadi kaffeol dengan jalan sublimasi (Ciptadi dan Nasution, 1985). Kafein dalam kopi terdapat dalam bentuk ikatan kalium kafein klorogenat dan asam klorogenat. Ikatan ini akan terlepas dengan adanya air panas, sehingga kafein dengan cepat dapat terserap oleh tubuh. Asam klorogenat terdapat secara luas pada tanaman namun kurang mempunyai efek fisiologi dibandingkan dengan kafein. Pada proses penyangraian, trigonellin pada biji kopi sebagian akan berubah menjadi asam nikotinat (niasin), yaitu jenis vitamin dalam kelompok vitamin B (Mahendradatta, 2007).

Kafein sering digunakan sebagai perangsang kerja jantung dan meningkatkan produksi urin. Dalam dosis yang rendah kafein dapat berfungsi sebagai bahan pembangkit stamina dan penghilang rasa sakit. Mekanisme kerja kafein dalam tubuh adalah menyaingi fungsi adenosin (salah satu senyawa yang dalam sel otak bisa membuat orang cepat tertidur). Kafein itu tidak memperlambat gerak sel-sel tubuh melainkan kafein akan membalikkan semua kerja adenosin sehingga menghilangkan rasa kantuk, dan memunculkan perasaan segar, sedikit gembira, mata terbuka lebar, jantung berdetak lebih kencang, tekanan darah naik, otot-otot berkontraksi dan hati akan melepas gula ke aliran darah yang akan membentuk energi ekstra. Itulah sebabnya berbagai jenis minuman pembangkit stamina umumnya mengandung kafein sebagai bahan utamanya (Suriani, 1997).

2.4 Enzim Protease

Protease disebut juga peptidase atau proteinase, merupakan enzim golongan hidrolase yang akan memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana, seperti oligopeptida pendek atau asam amino, dengan reaksi hidrolisis pada ikatan peptida. Menurut Lehninger (1997) Enzim merupakan golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai biokatalisator pada reaksi-reaksi biokimia. Enzim ini diperlukan oleh semua makhluk hidup karena bersifat

esensial dalam metabolisme protein. Protein ini memiliki banyak struktur sekunder beta-sheet dan alpha-helix yang sangat pendek (Poliana, 2007).

Protease berperan dalam sejumlah reaksi biokimia seluler. Selain diperlukan untuk degradasi protein nutrisi, enzim protease terlibat dalam sejumlah mekanisme patogenisitas, proses koagulasi darah, proses sporulasi, diferensiasi, sejumlah proses pasca translasi protein dan mekanisme ekspresi protein ekstraseluler (Rao dkk., 1998).

Protease dapat diklasifikasikan berdasarkan sumbernya yaitu protease dari tanaman, hewan, dan mikroba. Berdasarkan letak pemecahan ikatan peptidanya protease dapat dibedakan menjadi endoprotease dan eksoprotease. Eksoprotease menguraikan protein dari ujung rantai sehingga dihasilkan satu asam amino dan sisa peptida, kemudian pada tingkat berikutnya akan dihasilkan beberapa asam amino. Endoprotease hanya mengurai peptida pada bagian dalam rantai protein, sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida (Suhartono, 2002). Menurut Rao *et al.* (1998), protease dapat pula dikelompokkan berdasarkan pH kerjanya yang terbagi tiga bagian, yaitu protease asam, netral, dan alkalis. Pengelompokan ini ditemukan sejalan dengan ditemukannya tingkat homologi deret gen penyandi dan deret asam amino yang menyusun enzim.

2.5 Enzim Protease Tanaman Biduri

Biduri merupakan tanaman lahan kering yang banyak ditemukan pada lahan-lahan kosong dengan periode kering yang lama. Biduri dikenal dengan berbagai nama di seluruh Indonesia, seperti rubik, biduri, lembega, rembega, rumbigo di Sumatra. babakoan, badori, biduri, widuri, saduri, sidoguri, bidhuri, burigha di Jawa. Manori, maduri di Bali. Muduri, rembega, kore, krokoh, kolonsusu, modo kapauk, modo kampauk di Nusa Tenggara, dan rambega di Sulawesi. Sedangkan di dunia dikenal dengan nama giant milk weed, mudar plant, crown flower, kapal-kapal, atau oscherstrauch (Witono, 2013). Menurut Van Stenis (1992) dalam Witono (2013) biduri sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma.

Cara mendapatkan enzim protease biduri menurut Witono (2002) adalah dengan memotong atau melukai tanaman biduri, kemudian getahnya ditampung dalam wadah, lalu dibawa dan disimpan dalam keadaan dingin (lebih kurang 4°C). Penelitian lebih lanjut Witono *et al.* (2007a) melaporkan bahwa enzim protease mengalami peningkatan aktivitas spesifik yang sangat tinggi yaitu 291,5% (hampir 3 kali lipat) setelah dilakukan purifikasi. Dalam pengujian bahan pangan pun menunjukkan bahwa protease biduri efektif digunakan untuk mengekstrak VCO, dimana semakin tinggi konsentrasi protease biduri, viskositas VCO semakin meningkat, dan kualitas VCO yang diproduksi secara enzimatik lebih baik daripada VCO yang diproses secara fermentasi spontan (Witono dkk., 2007b).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei s/d November 2018.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi jenis Robusta yang diperoleh dari Desa Sidomulyo Kecamatan Silo-Jember. Enzim protease yang diekstrak dari getah tanaman biduri yang diperoleh dari pantai Watuolo Jember dan air. Bahan kimia yang digunakan berspekifikasi pro-analysis yang meliputi: NaH_2PO_4 (Merck), Na_2HPO_4 (Merck), tirosin, TCA (Merck), HCL, NaCl (Merck) dan aquades.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, baskom, kotak es, sendok, plastik, lemari pendingin, oven, vis *pulper*, alat penggiling kopi, alat penyangrai kopi (Probat), ayakan, gelas ukur, tabung reaksi, alat spektrofotometer UV-Vis, alat GC-MS (Agilent 7890 A-5975), botol timbang, dan eksikator.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kombinasi 2 faktor (konsentrasi protease biduri 1, 3, 5% dan lama hidrolisis 12, 24, 36 jam) dan perlakuan kontrol sebagai pembanding yang masing-masing kombinasi dilakukan

sebanyak tiga kali ulangan. Merujuk kedua faktor tersebut, maka diperoleh 9 kombinasi perlakuan sebagaimana tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Protease Biduri dan Lama Hidrolisis

Konsentrasi Enzim (A)	Lama Hidrolisis (B)		
	12 Jam (B1)	24 Jam (B2)	36 Jam (B3)
0% (Kontrol) (A0)			
1% (A1)	A1B1	A1B2	A1B3
3% (A2)	A2B1	A2B2	A2B3
5% (A3)	A3B1	A3B2	A3B3

Keterangan : Kontrol (A0) tanpa penambahan enzim

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu pembuatan protease biduri, pembuatan kopi, pengujian organoleptik (*cupstest*) dan pengujian kimia kopi yang dihasilkan.

1. Pembuatan Enzim Protease Biduri

Pembuatan protease biduri diawali dengan mengambil getah dari tanaman biduri. Selanjutnya dilakukan penambahan buffer phosphate pH 7, kemudian dilakukan sentrifugasi dan terakhir pemisahan supernatant. Enzim protease kasar kemudian dilakukan pengujian aktivitas menggunakan metode Watter (1984) untuk mengetahui aktivitas enzim protease biduri kasar yang didapatkan.

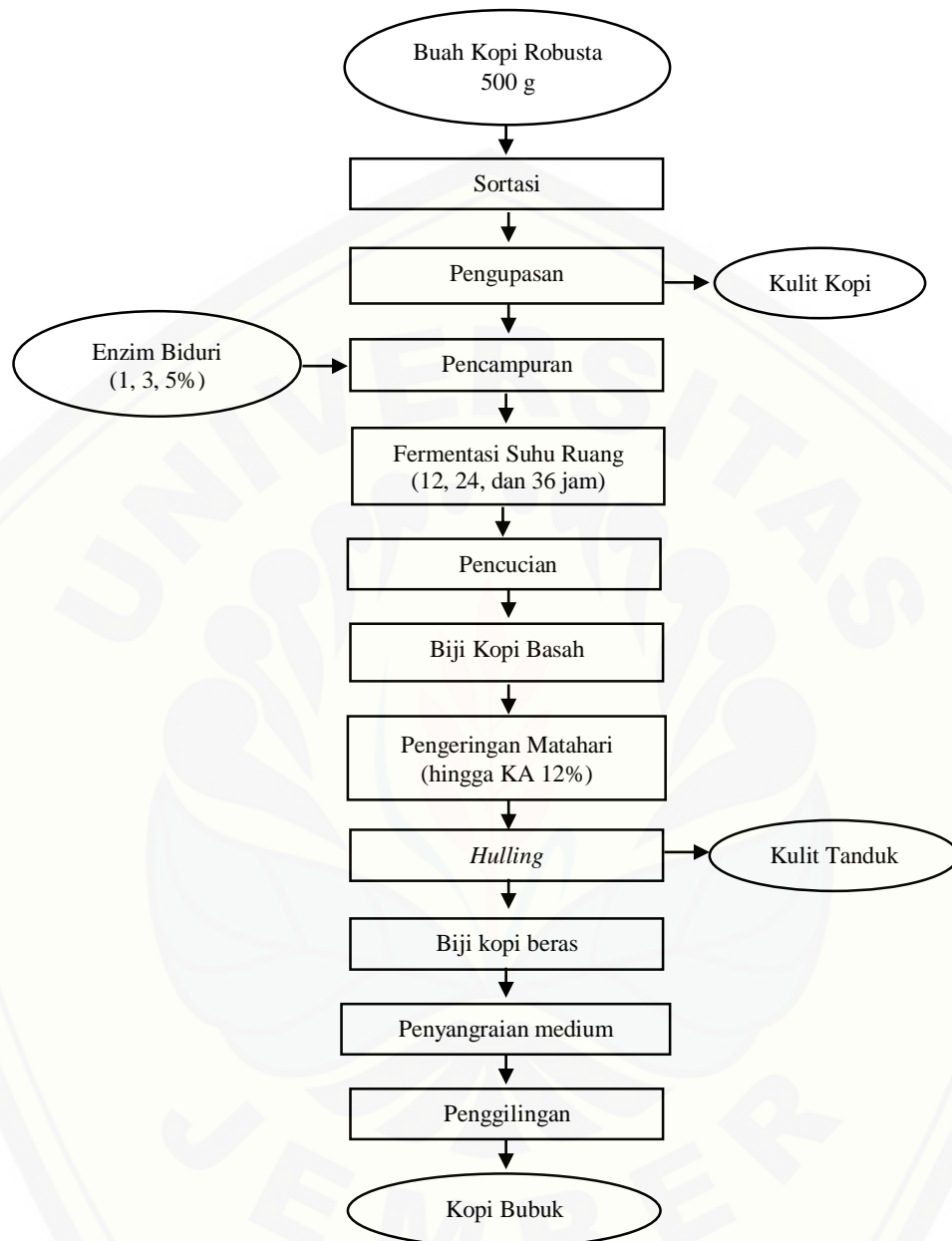
2. Pembuatan Kopi

Langkah awal dalam pembuatannya ialah penimbangan buah kopi Robusta sebanyak 400 g. Buah kopi selanjutnya dilakukan sortasi untuk memisahkan buah kopi inferior, maupun memisahkan dari kotoran ranting, daun dan pengotor lain. Setelah itu dilakukan pengupasan kulit kopi. Proses selanjutnya ialah pencampuran biji kopi dengan penambahan enzim protease biduri konsentrasi 1, 3 dan 5%. Dilanjutkan dengan pemeraman (hidrolisis). Pemeraman dilakukan untuk menciptakan cita rasa

khas kopi dengan perombakan senyawa pada *pulp* kopi oleh enzim protease biduri. Pemeraman dilakukan secara anaerob dengan menggunakan wadah tertutup selama 12, 24, dan 36 jam. Setelah pemeraman, biji kopi dicuci dengan air hingga bersih (tidak ada sisa *pulp*). Setelah bersih, biji kopi dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan metode *sun drying* yang bertujuan untuk mengurangi kadar air hingga kurang dari 12%. Setelah pengeringan, biji kopi dilakukan proses *hulling* untuk menghilangkan kulit tanduk kopi. Biji kopi kering selanjutnya dilakukan penyangraian medium (suhu 180°C selama 11-12 menit). Proses ini bertujuan untuk memunculkan aroma khas kopi. Kopi sangrai yang dihasilkan selanjutnya dilakukan penggilingan untuk mengecilkan ukuran sehingga dihasilkan kopi bubuk. Diagram alir proses pengolahan kopi dapat dilihat pada Gambar 3.2.

3. Pengujian Citarasa

Pengujian citarasa diawali dengan penyiapan perlengkapan *cuptest* yaitu *cup* kopi ukuran 150 sebanyak 3 *cup* untuk 1 sampel, masing-masing *cup* berisi 10-11 g kopi fermentasi bubuk. Pengujian pertama dilakukan uji *fragrance* yaitu uji aroma kopi dalam bentuk kering, selanjutnya dilakukan penyeduhan dengan air panas dan didiamkan selama 5 menit agar kopi terekstrak optimal dan dilanjutkan uji aroma kopi. Pengujian aroma kopi dilakukan dengan memecah (*break*) lapisan kopi yang mengapung dan mencium aromanya. Pengujian citarasa kopi dilakukan dengan mengambil 1 sendok seduhan kopi kemudian dihirup dan dirasakan terkait: *flavor*, *acidity*, *aftertaste*, *sweetness*, *bitterness*, *clean up*, *balance*, *uniform cup*, *overall*, dan cacat rasa. Kemudian cairan kopi yang dihirup dibuang pada ember penampung. Pengujian *body* seduhan kopi dilakukan dengan mengambil 1 sendok seduhan kopi kemudian menggosokkan cairan kopi ke langit-langit mulut dan rasakan *body*-nya (SCAA, 2015)



Gambar 3.2 Diagram Alir Proses Pengolahan Kopi (Schwan dan Fleet, 2014)

3.4 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian pengolahan biji kopi dengan penambahan enzim protease biduri ini meliputi:

1. Mutu organoleptik, dilakukan dengan metode *cup test* menggunakan 3 orang panelis ahli. Adapun parameter pengujiannya adalah sebagai berikut:
 - a. *fragrance/aroma*
 - b. *flavor*
 - c. *aftertaste*
 - d. *salt/acid*
 - e. *bitter/sweet*
 - f. *mouthfeel/body*
 - g. *balance*
 - h. *clean cups*
 - i. *uniform cups*
 - j. *Overall*
2. Pengujian senyawa volatil menggunakan alat GC-MS dengan metode SPME
3. Pengujian kadar kafein

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Uji Citarasa menurut metode *Specialty Coffee Association of America* (SCAA, 2015)

Pengujian citarasa dilakukan dengan metode (SCAA (2015) dengan cara penyiapan *cup* kopi seukuran 150 ml sebanyak 5 cup untuk satu sampel. Masing-masing *cup* berisi kopi sangrai 10-11 g. Pengujian pertama yang dilakukan adalah uji *fragrance* (aroma kopi dalam bentuk kering). Selanjutnya pengujian aroma kopi dilakukan dengan menyeduh kopi menggunakan air panas dan didiamkan selama 5 menit agar kopi terekstrak optimal. Pengujian aroma kopi dilakukan dengan memecah lapisan kopi yang mengapung dan mencium aromanya. Pengujian citarasa kopi dilakukan dengan mengambil satu sendok seduhan kopi kemudian dihirup dan dirasakan: *flavor*, *aftertaste*, *salt/acid*, *bitter/sweet*, *mouthfeel/body*, *balance*, *clean cups*, *uniform cups*, *overall*, dan cacat citarasa. Pengujian *mouthfeel/body* dilakukan dengan mengambil 1 sendok seduhan kopi ke langit-langit mulut dan dirasakan.

3.5.2 Analisis senyawa volatil dengan GC-MS

Biji kopi sangrai digiling menggunakan *grinder*, sampai menjadi bubuk halus (80 mesh). Sampel ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dimasukkan dalam vial SPME sebanyak 22 ml, setelah itu dipanaskan dalam *waterbath* suhu 80°C sampai menjadi perubahan kenampakan tabung vial. Kemudian komponen *flavor* yang ada di dalam vial dihisap menggunakan fiber DVB/CAR/PDMS selama 45 menit. Selanjutnya diinjeksi ke GC-MS.

a. Injeksi Sampel pada GC-MS (Gonzalez-Rioz *et al.*, 2007)

Komponen *flavor* kopi yang telah berada di SPME DVB/CAR/PDMS kemudian diinjeksi ke alat GC-MS untuk identifikasi komponen volatilnya. Alat GC Agilent 7890A dan MS Agilent 5975C yang dilengkapi dengan tiga sumbu *detector* serta massanya sekitar 33-550. Kolom yang digunakan DB-WAX. Gas pembawa dalam analisis ini yaitu helium 0,8 ml/menit karena tergolong gas mulia yang tidak mempengaruhi sampel. *Detector* yang digunakan adalah jenis *Mass Spectrometry*. Suhu injektor mencapai 250°C. Mode *injector* yang digunakan berupa *splitless* karena katup pemisah pada *inlet* ditutup sehingga semua sampel masuk pada ujung kolom. Kecepatan *split* 50 ml/menit. Suhu awal injeksi sebesar 60°C, kemudian laju kenaikan 5°C/menit sampai mencapai suhu akhir sebesar 230°C dengan menahan penambahan suhu selama 5 menit.

b. Analisis Kromatogram GC-MS

Hasil pendeteksian ditunjukkan dalam bentuk *peak-peak*. *Peak* ini menunjukkan keberadaan suatu komponen senyawa pada sampel. Setiap *peak*, mempresentasikan suatu komponen senyawa tertentu yang mempunyai waktu retensi yang berbeda-beda. Penggunaan *software* Agilent GC-MS Postrun Analysis suatu *peak* dapat diketahui berapa waktu retensinya. Waktu retensi diperlukan untuk menentukan nilai *Linear Retention Indices* (LRI). Nilai LRI masing-masing *peak* dihitung berdasarkan data waktu retensi n-alkana. Standar (C8-C31) yang disuntikkan pada kondisi sama dengan kondisi penyuntikan sampel. Penyuntikan kadar alkana ini dilakukan secara terpisah

atau tidak bersamaan dengan sampel. Waktu retensi standar alkana juga dapat diketahui dengan cara yang sama melalui software Agilent GC-MS Postrun Analysis.

Cara melakukan identifikasi komponen kimia volatil dengan GC-MS adalah (1) mencocokkan MS (Mass Spectra) komponen kimia target hasil injeksi sampel dengan MS yang terdapat pada *library software*, (2) mengkonfirmasi dengan kecocokan antara nilai LRI hitung komponen tersebut dengan LRI dari referensi pada kolom yang sama, (3) jika kecocokan ditemukan pada kedua hal di atas, komponen kimia volatil tersebut berhasil teridentifikasi, (4) jika tidak ada kecocokan, proses identifikasi perlu dilakukan dari awal kembali dengan mulai mencari kecocokan antara MS komponen target dengan MS lainnya pada *library software*.

3.5.3 Uji Kadar Kafein (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Penentuan kadar kafein dilakukan dengan menimbang 5 g bubuk kopi dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambah 5 g MgO dan aquades sebanyak 200 ml. Selanjutnya dididihkan perlahan-lahan selama 2 jam. Setelah dididihkan kemudian diencerkan dengan aquades dalam labu takar sehingga volume tepat 500 ml, selanjutnya disaring. Diambil filtrat sebanyak 300 ml dimasukkan ke dalam labu godok, ditambah 10 ml H₂SO₄ (1:9), kemudian dididihkan sehingga volume cairan tinggal ± 100 ml. Cairan dimasukkan ke dalam corong pemisah. Labu godok di bilas dengan sedikit asam sulfat (1:99) dan digojok berkali-kali dengan kloroform berturut-turut menggunakan 25 ml, 20 ml, 15 ml, dan 10 ml. Cairan bilasan dimasukkan ke dalam corong pemisah. Penambahan 5 ml KOH 1% ke dalam corong pemisah kemudian digojok dan dibiarkan beberapa lama sampai cairan terpisah jelas. Cairan bagian bawah merupakan larutan kafein dalam kloroform, dikeluarkan dan ditampung dalam erlenmeyer. Penambahan lagi 10 ml larutan kloroform ke dalam corong pemisah, digojok dan dibiarkan sampai cairan terpisah jelas, selanjutnya cairan bagian bawah dikeluarkan dan ditampung dalam erlenmeyer yang sama seperti di atas. Perlakuan ini diulang sekali lagi. Larutan kafein dalam kloroform ini kemudian

dipanaskan dalam penangas air sehingga tinggal residunya, selanjutnya dikeringkan dalam oven 100°C sampai diperoleh berat konstan yang merupakan berat kafein kasar.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini yaitu nilai *cup test*, senyawa volatil, dan kadar kafein. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk nilai *cup test* dan senyawa volatil untuk memudahkan intepretasi. Data kadar kafein dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji beda DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf uji $\alpha \leq 5\%$, selanjutnya data disajikan dalam bentuk tabel dan histogram.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Pengolahan kopi secara basah (*wet processing*) dengan penambahan enzim protease biduri memberikan peningkatan pada skor *cup test* mutu organoleptik dan bertambahnya senyawa volatil kopi yang teridentifikasi. *Final score cup test* tertinggi yaitu pada sampel konsentrasi 1% enzim selama 36 jam hidrolisis dengan skor 83,42. Senyawa volatil yang teridentifikasi pada sampel kontrol sebanyak 39, berbanding dengan senyawa volatil pada sampel dengan penambahan enzim protease biduri 1%, 3%, dan 5% mengalami peningkatan sebanyak 43, 42, dan 42 senyawa. Hal tersebut menunjukkan terdapat senyawa baru yang teridentifikasi dengan penambahan enzim protease biduri.
2. Jika ditinjau dari mutu organoleptik (berdasarkan hasil *cup test*), maka konsentrasi yang tepat dapat digunakan adalah 1% dengan lama waktu 36 jam hidrolisis, dengan kadar kafein 2,3%.

5.2 Saran

Saran pada penelitian selanjutnya, dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim terhadap kandungan gula reduksi, asam organik, dan senyawa non volatil lain, karena komponen tersebut berperan dalam pembentukan citarasa kopi.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, M., Murakami, K., Hirano, Y., Ikeda, M., Iwatsuki, K., Wada, A., Tokuno, K., Onishi, M., dan Iwabuchi, H. 2007. Analysis of the headspace volatiles of freshly brewed Arabica coffee using solid-phase microextraction. *Journal of Food Science*, 72, C388-C396
- Brando, C. H. J. 2004. *Harvesting and Green Coffee Processing*. In: Wintgenz, J.N. (Ed.) *Coffee Growing, Processing, Sustainable Production*. Wiley-VCH.
- Budryn, G., Nebesny, E., Kula, J., Majda, T. dan Krysiak, W. 2011. HS-SPME/GC/MS profiles of convectively and microwave roasted ivory coast Robusta coffee brew. *Czech Journal of Food Science*, 29, 151-160
- Burdock, G. A. 2010. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients Sixth Edition*. London: CRC Press.
- Caporaso, N., M. B. Whitworth, C. Cui dan I. D. Fisk. 2018. Variability of single bean coffee volatile compounds of arabica and robusta roasted coffees analysed by spme-gc-ms. *Food Research International* 108: 628-640.
- Ciptadi, W. dan M. Z. Nasution. 1985. *Pengolahan Kopi*. Fakultas Teknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fitri, S. N. 2008. *Pengaruh Berat Dan Waktu Penyeduhan Terhadap Kadar Kafein Dari Bubuk Teh*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Gonzalez-Rioz, O., Suarez-Quiroz, M. L., Boulanger, R., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J.-P, dan Schorr-Galindo, S. 2007. Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma II: Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 297-307
- Kitson, F. G., Larsen, B. S., McEwen, C.N. 2002. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*. Academic Press. USA.
- Kivancli, J. dan Y. Elmaci. 2015. Characterization of turkish-style boiled coffee aroma by gc/ms and descriptive analysis techniques. *International Journal of Food Properties*.

- Lee, L. W., M. W. Cheong, P. Curran, B. Yu, dan S. Q. Liu. 2015. Coffee fermentation and flavor – an intricate and delicate relationship. *Journal of Food Chemistry* 185: 182-191.
- Lee, W. L., Cheong, M. W., Curran, P., Yu B., Liu, S. Q. 2016a. Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: I. Green coffee. *J. Food Chemistry*. 211 (2016) 916–924.
- Lee, W. L., Cheong, M. W., Curran, P., Yu B., Liu, S. Q. 2016b. Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: I. Effects of different roast levels. *J. Food Chemistry*. 211 (2016) 916–924.
- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid I. Erlangga. Jakarta.
- Mahendradatta, M. 2007. Pangan Aman dan Sehat Prasyarat Kebutuhan Mutlak Sehari-hari. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Murthy, P. S dan Naidu, M. M. 2011. Improvement of Robusta Coffee Fermentation with Microbial Enzymes. *Journal of Applied Sciences* 3 (4): 130-139, 2011.
- Najiyati, S., dan Danarti. 2004. *Kopi Budidaya dan Penanganan Pasca Panen*. Penebar Swadaya. Depok.
- Oktadiana, F. D., Argo, B. D., Hermanto, M. B. 2013. Pemanfaatan Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea Sp*) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem* Vol. 1 No. 3, Oktober 2013, 265-273.
- Poliana J. and A.P. MacCabe. 2007. *Industrial Enzymes: Structure, Function, and Applications*. Springer. ISBN. Hal 24. Dordrecht.
- Poltronieri, P. Dan F. Rossi. 2016. Review challenges in specialty coffee processing and quality assurance. *Challenges* 7: 19.
- Prastowo, B., E. Karmawati, Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto dan S.J. Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor.
- Rao, M. B, Tanksale, A. M, Ghatge, M. S, and Deshpande, V. V. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *J. Microbiol. Mol. Bio. Rev.*62:597-635.

- Rohman, H. 2013. Produksi Kopi Secara Enzimatis Menggunakan Bakteri Proteolitik Dan Kombinasi Bakteri Selulolitik Dan Xilanolitik Dari Luwak. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Schwan, R. F., dan Fleet, G. H. 2014. *Cocoa and Coffee Fermentations*. CRC Press Taylor and Francia Group. New York.
- Silva, Cristina Ferreira. 2014. Microbia Activity During Coffee Fermentation. In: Schwan, R.F and Fleet, G. (Eds.) *Cocoa and Coffee Fermentation*. CRC Press, Boca Raton, FL
- Setyobudi, A. 2011. Penggunaan Kopi Luwak Bermedia Tepung Maizena dan Ragi Roti Pada Fermentasi Kering Kopi Robusta. *Skripsi*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember. Jember.
- Speciality Coffee Association of America. 2015. *SCAA Protocols: Cupping Speciality Coffee*. The Speciality Coffee Association of America. America.
- Spillane, J. J. 1990. Komoditi Kopi Peranannya Dalam Perekonomian Indonesia. Kanisius. Yogyakarta.
- Standar Nasional Indonesia. 2008. *Biji Kopi*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Sunarharum, W. B. 2016. The Compositional Basis of Coffee Flavour. *Thesis*. Australia. The University of Queensland.
- Sunarharum, W. B., D. J. Williams, dan H. E. Smyth. 2014. Complexity of coffee flavor: a compositional and sensory perspective. *Food Research International* 62: 315-325.
- Suriani. 1997. Analisis Kandungan Kafein dalam Kopi Instan Berbagai Merek yang Beredar di Ujung Pandang. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Suwandi, L. Nuryati, A. Yasin, D. R. Triyanti, dan D. Indrati. 2016. *Outlook Kopi 2016 Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Sekretariat Jenderal, Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Uganda Coffee Development Authority. 2010. *Robusta Cupping Protocols*. International Coffee Organization. London.

- Widyotomo, S., Purwadaria, H.K., Ismayadi, C. 2012. Peningkatan Mutu dan Nilai Tambah Kopi Melalui Pengembangan Proses Fermentasi dan Dekafeinasi. Prosiding InSINas 2012.
- Witono, Y., 2002. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Tanaman Biduri. *J. Teknologi Hasil Pertanian* 1(1), 1- 14.
- Witono, Y., Aulanni'am, Subagio, A. dan Widjanarko, S. B. 2007a. Purifikasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 18 (1), 1-9.
- Witono, Y., Aulanni'am, Subagio, A. and Widjanarko, S.B. 2007b. Ekstraksi Virgin Coconut Oil Secara Enzimatis Menggunakan Protease Dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *AgriTech-UGM*, 27 (3), 100-106.
- Witono, Y. 2013. *Enzim Biduri Agen Aktif Potensial Untuk Proses Pangan*. Pustaka Radja. Surabaya.

LAMPIRAN

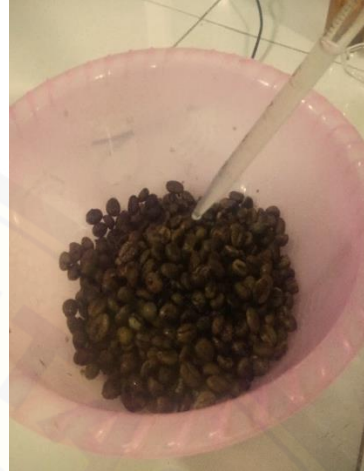
Lampiran 1. Foto Obyek dan Kegiatan Penelitian



Pemberian Enzim Biduri



Pengupasan Kulit Kopi



Pemberian Enzim Biduri



Proses Fermentasi
(Pemeraman) Kopi



Proses Penjemuran
(Sinar Matahari)



Proses Hulling
(Pengupasan Kulit Tanduk)



Biji Kopi Kering Hasil Proses Enzimatis



Lampiran 2. Hasil Uji (Cup Test) Citarasa Kopi Enzimatis Nilai Tertinggi



LABORATORIUM PENGUJI
(Laboratory for Testing)
PUSAT PENELITIAN KOPI DAN KAKAO INDONESIA
(Indonesian Coffee And Cocoa Research Institute)
“LP PUSLITKOKA”

FR-LP. 5.10.01.02.01.-C3

LAPORAN HASIL UJI CITARASA (Report of Cup Testing)

No.02.18.1.0432 - C

No. Contoh (Sample Number) : 02.18.1.0432
 Tanggal Penerimaan Contoh (Sample received) : 24-10-2018
 Tanggal Pengujian (Date of testing) : 02-11-2018 — 05-11-2018
 Jenis Contoh (Kind of sample) : Biji Kopi/green beans Robusta
 Identitas Contoh (Sample identity) : Kopi Robusta Kode 314.

Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*	Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*
Fragrance/Aroma	7.92	Uniform Cups	10.00
Flavor	7.92	Balance	7.83
Aftertaste	7.92	Clean Cups	10.00
Salt/Acid	7.92	Overall	8.00
Bitter/Sweet	7.83	Taint-Faults	0.00
Mouthfeel/Body	8.08	Final Score**	83.42
Notes: Caramelly, Hasmatic Rice, Spicy, Chocolatey.			

* Keterangan skor: 6.0–6.75= Good; 7.00–7.75=Very good; 8.00– 8.75=Excellent;9.00 – 9.75=Outstanding (score notation)

**Final Score notation: Nilai Minimum untuk (Minimum Value for) Specialty Grade = 80

Catatan (Notes):

Hasil analisis ini hanya menerangkan atribut mutu Berdasarkan contoh yang diuji BUKAN menerangkan atribut nama, jenis atau asal contoh (This result explains only the attribute of the quality based on the sample tested, NOT explain Attributes of name, type and origin of the sample).

Hasil analisis ini hanya berlaku selama 3 bulan (This result valid within 3 months).

Jember, 05-11-2018

Manajer Teknis

Ariza Budi Tunjung, M Si

Scanned by CamScanner

Lampiran 3. Hasil Uji (Cup Test) Citarasa Kopi Enzimatis (Nilai Terendah)



LABORATORIUM PENGUJI
(Laboratory for Testing)
PUSAT PENELITIAN KOPI DAN KAKAO INDONESIA
(Indonesian Coffee And Cocoa Research Institute)
“LP PUSLITKOKA”

FR-LP. 5.10.01.02.01.-C3

LAPORAN HASIL UJI CITARASA (Report of Cup Testing)

No.02.18.1.0434 - C

No. Contoh (Sample Number) : 02.18.1.0434
 Tanggal Penerimaan Contoh (Sample received) : 24-10-2018
 Tanggal Pengujian (Date of testing) : 02-11-2018 — 05-11-2018
 Jenis Contoh (Kind of sample) : Biji Kopi/green beans Robusta
 Identitas Contoh (Sample identity) : Kopi Robusta Kode 702.

Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*	Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*
Fragrance/Aroma	7.83	Uniform Cups	10.00
Flavor	7.75	Balance	7.58
Aftertaste	7.67	Clean Cups	10.00
Salt/Acid	7.67	Overall	7.58
Bitter/Sweet	7.67	Taint-Faults	0.00
Mouthfeel/Body	7.75	Final Score**	81.58

Notes: Caramely, Basmatic Ricc, Very Astringent, Chocolatey, Astringent.

* Keterangan skor: 6.0–6.75= Good; 7.00–7.75=Very good; 8.00– 8.75=Excellent;9.00 – 9.75=Outstanding (score notation)

**Final Score notation: Nilai Minimum untuk (Minimum Value for) Specialty Grade = 80

Catatan (Notes):

Hasil analisis ini hanya menerangkan atribut mutu Berdasarkan contoh yang diuji BUKAN menerangkan atribut nama, jenis atau asal contoh (This result explains only the attribute of the quality based on the sample tested, NOT explain Attributes of name, type and origin of the sample).

Hasil analisis ini hanya berlaku selama 3 bulan (This result valid within 3 months).

Jember, 05-11-2018

Manajer Tckp



Ariza Budi Tunjung Sari, S.TP, M.Si

Lampiran 4. Hasil Uji (Cup Test) Citarasa Kopi Kontrol (Tanpa Enzim)



LABORATORIUM PENGUJI
(Laboratory for Testing)
PUSAT PENELITIAN KOPI DAN KAKAO INDONESIA
(Indonesian Coffee And Cocoa Research Institute)
“LP PUSLITKOKA”

FR-LP. 5.10.01.02.01.-C3

LAPORAN HASIL UJI CITARASA (Report of Cup Testing)

No.02.18.1.0439 - C

No. Contoh (Sample Number) : 02.18.1.0439
 Tanggal Penerimaan Contoh (Sample received) : 24-10-2018
 Tanggal Pengujian (Date of testing) : 02-11-2018 — 05-11-2018
 Jenis Contoh (Kind of sample) : Biji Kopi/green beans Robusta
 Identitas Contoh (Sample identity) : Kopi Robusta Kode 941.

Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*	Karakteristik (Characteristic)	Skor Citarasa (Cup Testing Score)*
Fragrance/Aroma	7.33	Uniform Cups	10.00
Flavor	6.75	Balance	7.08
Aftertaste	6.58	Clean Cups	10.00
Salt/Acid	6.67	Overall	6.33
Bitter/Sweet	6.67	Taint-Faults	-6.67
Mouthfeel/Body	7.58	Final Score**	61.67
Notes: Chocolatey, Rather Rubbery, Earthy, Fault, Woody, Astringent.			

* Keterangan skor: 6.0–6.75= Good; 7.00–7.75=Very good; 8.00– 8.75=Excellent;9.00 – 9.75=Outstanding (score notation)

**Final Score notation: Nilai Minimum untuk (Minimum Value for) Specialty Grade = 80

Catatan (Notes):

Hasil analisis ini hanya menerangkan atribut mutu Berdasarkan contoh yang diuji BUKAN menerangkan atribut nama, jenis atau asal contoh (This result explains only the attribute of the quality based on the sample tested, NOT explain Attributes of name, type and origin of the sample).

Hasil analisis ini hanya berlaku selama 3 bulan (This result valid within 3 months).

Jember, 05-11-2018

Manajer Teknis



Ariza Budi Tunjung, M.Si

Lampiran 5. Hasil Analisis Senyawa Volatil (Sampel Kontrol)

No.	Retention Time	R. match	Prob	Nama Senyawa	Identifikasi
1	8.405	935	82,8	Pyridine	MS
2	10,767	923	68,9	Pyrazine, methyl	MS
3	11,711	906	78,1	2-Propanone, 1-hydroxy-	MS
4	12,508	950	83,0	Pyrazine, 2,5-dimethyl-	MS
5	12,839	915	83,3	Pyrazine, ethyl-	MS
6	14,474	902	68,1	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	MS
7	16,127	943	77,6	Acetic acid	MS
8	16,847	926	67,1	2-Propanone, 1-(acetyloxy)-	MS
9	17,727	861	74,0	Furfuryl formate	MS
10	17,804	839	68,2	Pyrazine, 3,5-diethyl-2-methyl-	MS
11	18,990	941	92,7	2-Furanmethanol, acetate	MS
12	20,029	921	96,0	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	MS
13	21,050	903	66,8	Furan, 2,2'-methylenebis	MS
14	21,346	879	74,1	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	MS
15	22,367	912	62,1	Ethanone, 1-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	MS
16	22,933	886	84,9	Butanoic acid, 3-methyl-	MS
17	23,488	900	66,5	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	MS
18	24,102	803	68,5	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	MS
19	27,072	924	98,3	1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)-	MS
20	27,928	955	73,6	Phenol, 2-methoxy-	MS

21	30,797	906	96,7	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	MS
22	31,074	955	70,6	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	MS
23	32,054	920	95,5	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	MS
24	32,202	879	82,5	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	MS
25	32,444	869	81,9	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	MS
26	37,184	797	75,4	à-Furfuryliden-à-furylmethylamine	MS
27	40,974	961	74,5	3-Pyridinol	MS

Lampiran 6. Hasil Analisis Senyawa Volatil (Kopi Hasil Enzimatis 1 % 36 Jam)

No.	Retention Time	R. match	Prob	Nama Senyawa	Identifikasi
1	8,423	929	78,3	Pyridine	MS
2	10,619	886	81,6	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	MS
3	10,779	921	66,4	Pyrazine, methyl-	MS
4	11,723	896	74,6	2-Propanone, 1-hydroxy-	MS
5	12,520	948	81,5	Pyrazine, 2,5-dimethyl-	MS
6	12,721	912	62,9	Pyrazine, 2,6-dimethyl-	MS
7	12,845	910	80,6	Pyrazine, ethyl-	MS
8	14,486	905	69,1	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	MS
9	15,478	883	65,8	Pyrazine, 2-(n-propyl)-	MS
10	16,015	856	60,7	Pyrazine, 2,6-diethyl-	MS
11	16,121	946	77,0	Acetic acid	MS
12	16,393	903	67,3	Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	MS
13	16,729	946	79,4	Furfural	MS
14	17,556	977	76,0	Pyrazine, 2-ethenyl-6-methyl-	MS
15	17,798	860	67,7	Pyrazine, 3,5-diethyl-2-methyl-	MS
16	18,276	892	76,9	Pyrrole	MS
17	18,984	942	92,7	2-Furanmethanol, acetate	MS
18	20,029	941	95,3	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	MS
19	21,345	897	74,6	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	MS
20	22,361	907	63,8	Ethanone, 1-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	MS
21	22,697	938	68,5	2-Furanmethanol	MS

22	22,933	882	81,6	Butanoic acid, 3-methyl-	MS
23	23,488	914	70,1	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	MS
24	24,108	813	71,1	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	MS
25	27,072	932	98,2	1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)-	MS
26	27,196	919	62,4	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	MS
27	27,928	918	68,7	Phenol, 2-methoxy-	MS
28	29,285	913	72,0	Butylated Hydroxytoluene	MS
29	30,803	919	95,9	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	MS
30	32,054	916	94,0	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	MS
31	32,202	913	78,7	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	MS
32	32,450	889	87,7	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	MS
34	40,974	945	71,7	3-Pyridinol	MS
35	42,615	928	89,8	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	MS
36	46,458	867	91,5	Caffeine	MS

Lampiran 7. Hasil Analisis Senyawa Volatil (Kopi Hasil Enzimatis 3% 36 Jam)

No.	Retention Time	R. match	Prob	Nama Senyawa	Identifikasi
1	8,441	950	80,6	Pyridine	MS
2	10,637	901	85,6	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	MS
3	10,778	917	66,2	Pyrazine, methyl-	MS
4	11,741	920	84,0	2-Propanone, 1-hydroxy-	MS
5	12,520	943	82,3	Pyrazine, 2,5-dimethyl-	MS
6	12,727	910	74,7	Pyrazine, 2,6-dimethyl-	MS
7	12,851	914	81,9	Pyrazine, ethyl-	MS
8	13,984	922	69,8	1-Hydroxy-2-butanone	MS
9	14,486	910	70,8	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	MS
10	15,489	885	66,2	Pyrazine, 2-(n-propyl)-	MS
11	16,080	944	74,6	Acetic acid	MS
12	16,398	906	69,5	Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	MS
13	16,729	961	74,0	Furfural	MS
14	17,390	826	65,6	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	MS
15	17,555	979	77,1	Pyrazine, 2-ethenyl-6-methyl	MS
16	17,803	912	69,3	Pyrazine, 3,5-diethyl-2-methyl-	MS
17	18,270	899	78,9	Pyrrrole	MS
18	18,907	814	85,3	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	MS
19	20,029	940	95,4	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	MS
20	21,340	921	72,3	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	MS
21	22,367	891	63,3	Ethanone, 1-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	MS

22	22,739	932	77,4	2-Furanmethanol	MS
23	22,933	894	86,9	Butanoic acid, 3-methyl-	MS
24	23,488	914	69,8	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	MS
25	24,096	802	69,4	4(H)-Pyridine, N-acetyl	MS
26	25,005	927	73,5	2(5H)-Furanone	MS
27	27,066	928	98,3	1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)-	MS
28	27,928	919	69,7	Phenol, 2-methoxy-	MS
29	29,285	892	60,2	Butylated Hydroxytoluene	MS
30	30,797	927	96,5	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	MS
31	32,054	923	94,7	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	MS
32	32,196	906	75,6	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy	MS
33	32,450	832	87,9	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	MS
34	37,751	878	64,5	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	MS
35	40,968	957	72,0	3-Pyridinol	MS
36	42,615	930	91,6	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	MS
37	46,470	903	95,0	Caffeine	MS

Lampiran 8. Hasil Analisis Senyawa Volatil (Kopi Enzimatis 5% 36 Jam)

No.	Retention Time	R. match	Prob	Nama Senyawa	Identifikasi
1	8,417	960	83,7	Pyridine	MS
2	10,625	901	81,0	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	MS
3	10,773	923	68,4	Pyrazine, methyl-	MS
4	11,735	911	80,0	2-Propanone, 1-hydroxy-	MS
5	12,526	943	81,0	Pyrazine, 2,5-dimethyl-	MS
6	12,721	891	76,0	Pyrazine, 2,6-dimethyl-	MS
7	12,851	910	82,7	Pyrazine, ethyl-	MS
8	13,996	924	71,9	1-Hydroxy-2-butanone	MS
9	14,486	894	63,3	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	MS
10	15,489	866	65,1	Pyrazine, 2-(n-propyl)-	MS
11	16,109	977	79,3	Acetic acid	MS
12	16,393	896	69,5	Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl	MS
13	16,723	953	79,8	Furfural	MS
14	17,396	849	78,6	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	MS
15	17,556	977	76,1	Pyrazine, 2-ethenyl-6-methyl-	MS
17	18,270	884	73,8	Pyrrole	MS
18	18,606	849	63,1	3(2H)-Thiophenone, dihydro-2-methyl-	MS
19	18,902	841	84,4	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	MS
20	18,978	944	93,1	2-Furanmethanol, acetate	MS
21	20,023	939	95,7	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	MS
22	21,345	925	74,1	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	MS

23	22,750	942	68,5	2-Furanmethanol	MS
24	22,933	884	87,9	Butanoic acid, 3-methyl-	MS
25	23,494	915	72,7	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	MS
26	24,102	802	69,4	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	MS
27	25,011	914	61,4	2(5H)-Furanone	MS
28	27,066	923	98,5	1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)-	MS
29	27,928	914	69,4	Phenol, 2-methoxy-	MS
30	29,291	911	61,1	Butylated Hydroxytoluene	MS
31	30,803	897	95,5	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	MS
32	32,060	953	94,8	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	MS
33	32,202	913	77,4	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	MS
34	32,450	879	84,6	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	MS
35	37,184	805	72,9	à-Furfuryliden-à-furylmethylamine	MS
36	37,757	879	61,6	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	MS
37	40,974	955	70,7	3-Pyridinol	MS
38	42,615	921	88,2	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	MS
39	46,464	908	94,4	Caffeine	MS

Lampiran 9. Hasil perhitungan Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.860(a)	8	.357	595.821	.000
Intercept	111.427	1	111.427	185711.265	.000
konsentrasi	2.700	2	1.350	2249.858	.000
waktu	.159	2	.079	132.488	.000
konsentrasi * waktu	.001	4	.000	.469	.758
Error	.011	18	.001		
Total	114.298	27			
Corrected Total	2.871	26			

Duncan

konsentrasi	N	Subset			
		1	2	3	
5	9		1.6222		
3	9			2.0800	
1	9				2.3922
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Duncan

waktu	N	Subset			
		1	2	3	
36	9		1.9400		
24	9			2.0267	
12	9				2.1278
Sig.		1.000	1.000	1.000	