



SKRIPSI

**KARAKTERISTIK KIMIA KOPI BIJI ROBUSTA HASIL
FERMENTASI MENGGUNAKAN MIKROFLORA
ASAL FESES LUWAK**

Oleh :

Reza Adi Wijayani

071710101053

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

2015



**KARAKTERISTIK KIMIA BIJI KOPI ROBUSTA HASIL
FERMENTASI MENGGUNAKAN MIKROFLORA
ASAL FESES LUWAK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Progam Studi Teknologi Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh:

Reza Adi Wijayani

NIM. 071710101053

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

2015

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang Maha dari segala Maha serta sholawat kepada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada:

1. Ayahku Alm. Muhammad Yani terima kasih telah membesarkanku, mendidikku, dan doaku tidak akan pernah putus untukmu.
2. Ibuku Uswatun Khasanah tercinta, atas semua kasih sayang, nasehat, untaian do'a yang tidak pernah putus dan semua pengorbanannya untukku;
3. Istriku tercinta, atas semua kasih sayang, kesabaran, dan pengertian yang tiada habisnya.
4. Adik-adikku tersayang, Putri Endivia Q.A, Rara Ayu M.R, dan Muhammad Fathan Abdillah yang selalu memberi semangat selama ini;
5. Keluarga besar H. Sya'roni yang tak dapat kusebutkan satu persatu, yang berikan semangat penuh untukku;
6. Sahabat-sahabat setiaku Edy F, Rijal, Nasarudin Kurniawan dan M. Khoirul Affandi yang selalu ada bersamaku semenjak kuliah, You're my bestfriends forever, tak lupa pula sahabat yang selalu dituakan bang M. Sholehudin.
7. Sahabat-sahabatku sedari kecil Joko Priambodo, Hamdan, Findra, dan Nur Kholis terimakasih tak enggan berteman dengan ku hingga kini.
8. Yang terhormat guru-guruku sejak SD sampai Perguruan Tinggi, yang telah memberikan ilmu serta bimbingan yang sangat berharga;
9. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;

MOTTO

Hidup akan selalu memberikan 1 tantangan, dan tantangan berikutnya

Hidup Tak selalu berkenaan dengan kerja keras,
Hidup selalu berkenaan dengan rencana yang di atas

Naak,,, jangan lupa bangun pagi, sholat, dan mandi ...
Agar rezekimu selalu terpenuhi,,,...
(ayah dan ibu)

Tidak ada yang tidak mungkin, karena langitlah batasnya . .
(Istri tercinta)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Reza Adi Wijayani

NIM : 071710101053

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta Hasil Fermentasi Menggunakan Mikroflora Asal Feses Luwak* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Maret 2015

Yang menyatakan,

Reza Adi Wijayani

NIM. 071710101053

SKRIPSI

**KARAKTERISTIK KIMIA BIJI KOPI ROBUSTA HASIL
FERMENTASI MENGGUNAKAN MIKROFLORA
ASAL FESES LUWAK**

Oleh

Reza Adi Wijayani

NIM 071710101053

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Ir. M. Fauzi, M.Si.

NIP.196307011989031004

Ir. Giyarto, M.Sc.

NIP.196607181993031013

PENGESAHAN

Skripsi berjudul **Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta Hasil Fermentasi Menggunakan Mikroflora Asal Feses Luwak** karya Reza Adi Wijayani NIM. 071710101053 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari/tanggal : Jum'at / 09 Februari 2015

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Tim penguji

Ketua,

Anggota,

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.

NIP 19641109 198902 1 002

Dr. Ir. Sih Yuwanti. MP.

NIP 19650708 199403 2 002

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Yuli Witono, STP, MP.

NIP 19691212 199802 1 001

RINGKASAN

Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta Hasil Fermentasi Menggunakan Mikroflora Asal Feses Luwak; Reza Adi Wijayani, 071710101053; 2015; 49 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan andalan Indonesia, tetapi mutu kopi Indonesia belum dapat dikatakan baik. Nilai jual kopi rendah khususnya kopi robusta. Produk kopi yang terkenal dan memiliki nilai jual yang tinggi adalah kopi luwak, baik kopi luwak robusta ataupun arabika. Penelitian- penelitian yang berkenaan dengan mikroflora dalam saluran pencernaan luwak untuk meningkatkan nilai jual biji kopi telah dilakukan. Fermentasi secara kering pada pengolahan biji kopi, diduga memiliki kemiripan dengan fermentasi di dalam pencernaan luwak. Dalam feses luwak diketahui terdapat bakteri asam laktat yang berperan dalam fermentasi biji kopi luwak. Penelitian penggunaan mikroflora pada feses luwak sebagai starter fermentasi kering biji kopi telah dilakukan. Tetapi belum banyak diketahui karakteristik kimia kopi biji robusta (beras) hasil olahan fermentasi kering menggunakan kultur atau mikroflora feses luwak segar. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui karakteristik kimia biji kopi hasil olahan semi basah menggunakan starter mikroflora asal feses luwak.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada bulan Agustus 2012 sampai dengan Februari 2013.

Penelitian dilakukan dengan pengolahan biji kopi robusta secara semi basah (fermentasi kering) menggunakan starter mikroflora asal feses luwak. Percobaan dirancang secara faktorial dengan faktor lama fermentasi, terdiri dari 4 tingkat yaitu 0 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Lama perlakuan 0 jam digunakan sebagai kontrol. Parameter analisis yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, analisis kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar

karbohidrat, analisis kadar gula reduksi, analisis nilai pH, analisis total asam tertitrasi, dan analisis kadar kafein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak memiliki karakteristik sebagai berikut : selama 24 jam kadar air berkisar antara 10,5-11,4%, kadar protein 11,33-13,15%, kadar lemak 6,68-8,35%, kadar abu 3,39-3,61%, kadar karbohidrat 64,81-66,26% (*by difference*), kadar gula reduksi 4,57-7,01%, pH 5,8-6,6, total asam tertitrasi 0,002-0,005% dan kadar kafein 6600-11000 mg/kg. Biji kopi robusta hasil fermentasi 16 jam memiliki nilai proksimat yang mendekati kopi luwak robusta asli hasil penelitian Marcone (2004), dengan kadar kafein sesuai hasil penelitian Chan and Garcia (2011) sebesar 10000 mg/kg.

SUMMARY

Chemical Characteristics of Robusta Coffee Beans Fermented by Microflora Civet Feces; Reza Adi Wijayani, 071710101053; 2015; 49 pages; Department of Agricultural Technology Faculty of Agriculture, University of Jember.

Coffee is one of Indonesian plantation commodity, but the quality of Indonesian coffee can not be said to be good. Resale value is very low especially robusta coffee. Coffee products are famous and have a high selling price is the civet coffee, good coffee Luwak Robusta or Arabica. Studies relating to the microflora in the digestive tract to increase the selling civet coffee beans has been done. Dry fermentation in processing coffee beans, allegedly has similarities with fermentation in the digestive mongoose. In civet feces are known lactic acid bacteria involved in the fermentation of the beans. Research using microflora from civet feces as a starter also been done. But not much is known chemical characteristics of Robusta coffee beans (rice) processed using a dry fermentation cultures or microflora from fresh civet feces. The purpose of this study to determine the chemical characteristics of coffee beans processed using the wet spring starter microflora from civet feces.

Research conducted at the Laboratory of Process Engineering of Agricultural Products, Laboratory of Chemistry and Biochemistry and Food and Agricultural Products, Faculty of Agriculture, University of Jember in August 2012 until February 2013.

The research was conducted with the processing of robusta coffee beans in semi wet (dry fermentation) using the starter microflora from civet feces. Factorial designed experiment with fermentation time factor, consisting of four levels, namely 0 hours, 8 hours, 16 hours, and 24 hours. Experiments were performed 3 times replications. 0 hour long treatment were used as controls. Observation parameters include the analysis of protein content, fat content, water content, total analysis tertitiasi acid (lactate), analysis of the pH value, ash content analysis, analysis of lignin and cellulose, reducing sugar content analysis, karbohidrat analysis, and analysis of the caffeine content.

The results showed that the robusta coffee beans fermented by microflora civet feces has the following characteristics: for 24 hours fermentation has a moisture content ranged from 10.5 to 11.4%, protein content from 11.33 to 13.15%, fat content from 6,68 to 8.35%, ash content from 3.39 to 3.61%, karbohidrat content from 64,81 to 66,26% (by difference), reducing sugar content from 4.57 to 7.01%, pH value from 5.8 to 6, 6, a total acid content from 0.002 to 0.005% , and caffeine levels 6600-11000 mg / kg. Robusta coffee beans fermented 16 hours have values close proximate civet

coffee robusta original research results Marcone (2004), with high levels of caffeine according to the results of research Chan and Garcia (2011) amounted to 10000 mg / kg.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta Hasil Fermentasi Menggunakan Mikroflora Asal Feses Luwak*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih pada:

1. Dr. Yuli Witono, S. TP. M.Sc., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian;
3. Prof. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberi saran selama menjadi mahasiswa;
4. Ir. M. Fauzi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Giyarto, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. selaku dosen penguji I, dan Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P. selaku dosen penguji II, terimakasih atas kesediaa dan masukannya sebagai penguji;
6. Keluargaku, *Ayah* dan *Ibu*, serta ketiga adik kandungku (Putri Endivia Q.A, Rara Ayu M.R dan Muhammad Fathan Abdillah), atas semua perhatian, kasih sayang, doa dan semua pengorbanan yang menjadi motivasi terbesarku selama ini;
7. Penyemangatku, Ina Soraya, buat senyuman, buat saran, doa, semangat dan juga ”*sayangnya*” yang jadikanku slalu tersenyum menjalani semuanya;
8. Keluarga besar *Semboro*, atas doa dan dukungan akan tiap langkah yang kutempuh demi kebaikan dan kemajuanku;
9. Rekan penelitianku Nandha Dhimas, dan Mey Linda buat kebersamaan selama penelitian ini berlangsung.
10. Teman-teman seangkatan (THP_2007) semuanya, *saat terakhir, adalah saat terindah bersama kalian,,,, selama 7 tahun kini yang tersisa hanya 5;*

11. Teknisi Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (Mbak Wim dan Pak Mistar), dan semua teknisi Laboratorium di THP, atas bantuan dan kerjasamanya selama kami penelitian;
12. Segenap dosen dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian;
13. Pihak-pihak yang selalu mendukungku yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Maret 2015

Penulis

Special thank's to:

Allah SWT

Maha dari segala maha, Alhamdulillah atas segala keberuntungan yang tiada akhir hingga kini

Engkau yang selalu lebih dekat sehasta bila kumendekat sejengkal, ketika aku berjalan mendekatimu, engkau berlari kearahku, ketika kutak tau engkau berada dimana, ternyata engkau selalu melihatku, mengawasiku dan menjagaku . . .

Maafkan aku yang selalu lalai dalam mengingatmu . . .

Maafkan aku yang terlalu sibuk karena bingung dengan dunia yang kau beri ini . . .

Semoga aku dapat lebih baik, menuju jalan lurus kearahmu, setelah lulus wisuda nanti . . .

Nabi Muhammad Saw,

Diriku ingin seperti engkau, tapi tak seujung kuku kumendekatimu . . .

Aku tak pernah mengenalmu, tapi . . . engkau abadi dalam cerita-cerita yang kudengar sejak kecil . . .

i love you all...

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMARRY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kopi	5
2.1.1 Struktur Buah Kopi	6
2.1.2 Karakteristik Kimia Biji Kopi	7
2.1.3 Senyawa Penyusun Biji Kopi	9
2.1.3.1 Protein	9
2.1.3.2 Lemak	9
2.1.3.3 Kabohidrat	10

2.1.3.4 Asam Klorogenat.....	11
2.1.3.5 Kafein.....	12
2.1.4 Fermentasi Biji Kopi	13
2.1.5 Pengolahan Biji Kopi	16
2.1.5.1 Pengolahan Cara Kering	16
2.1.5.2 Pengolahan Cara Basah	17
2.1.5.3 Pengolahan Cara Semi Basah	20
2.1.6 Sortasi Biji Kopi	23
2.2 Kopi Luwak	24
2.2.1 Karakteristik Kimia Kopi Luwak	25
2.3 Fermentasi Menggunakan Bakteri Asam Laktat Luwak	27
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	30
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	30
3.3 Metode Penelitian	30
3.3.1 Rancangan Penelitian	30
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	31
3.4 Metode Analisis	33
3.4.1 Analisis Kadar Air	34
3.4.2 Analisis Kadar Protein	34
3.4.3 Analisis Kadar Lemak	35
3.4.4 Analisis Kadar Abu.....	36
3.4.5 Analisis Kadar Karbohidrat.....	36
3.4.6 Analisis Kadar Gula Reduksi.....	36
3.4.7 Analisis Nilai pH	38
3.4.8 Analisis Total Asam Titrasi.....	38
3.4.9 Analisis Kadar Kafein	38
3.5 Analisis Data	39

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Kadar Air	40
4.2 Kadar Protein	41
4.3 Kadar Lemak	42
4.4 Kadar Abu	43
4.5 Kadar Karbohidrat	44
4.6 Kadar Gula Reduksi	45
4.7 Nilai pH	46
4.8 Total Asam Titrasi	47
4.9 Kadar Kafein	48
BAB 5. PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Karakteristik kimia biji kopi robusta dan kopi arabika	8
2.2 Komponen karbohidrat pada biji kopi robusta dan arabika	10
2.3 Syarat mutu umum biji kopi Indonesia	23
2.4 Karakteristik kimia biji kopi robusta dan kopi luwak robusta	26
2.5 Kandungan kafein dan α -tokoferol dalam biji kopi robusta dan luwak robusta sebelum dan sesudah disangrai	27
2.6 Kandungan mineral dalam biji kopi robusta dan luwak robusta sebelum dan sesudah di sangrai	27

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur buah kopi	7
2.2 Struktur asam klorogenat	11
2.3 Struktur kafein	12
2.4 Alur pengolahan biji kopi secara kering	17
2.5 Alur pengolahan biji kopi secara basah	18
2.6 Alur pengolahan biji kopi secara semi basah	21
2.7 Binatang luwak dan kopi luwak dalam bentuk feses	25
3.1 Pembuatan Starter inokulum dari feses segar luwak	32
3.2 Diagram alir pengolahan biji kopi secara semi basah	33
4.1 Grafik kadar air biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak	40
4.2 Grafik kadar protein biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak	42
4.3 Grafik kadar lemak biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak.....	43
4.4 Grafik kadar abu biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak	45
4.5 Grafik kadar karbohidrat biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak	45
4.6 Grafik kadar gula reduksi biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak.....	46
4.7 Grafik nilai pH biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak.....	47
4.8 Grafik total asam tertitrasi biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak.....	48
4.9 Grafik kadar kafein biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Pengolahan Biji Kopi Robusta Secara Semi Basah	59
B. Biji Kopi Robusta Hasil Olahan Secara Semi Basah	62
C. Data Hasil Uji Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta	64
C.1 Hasil Analisis Kadar Air	64
C.2 Hasil Analisis Kadar Protein	65
C.3 Hasil Analisis Kadar Lemak	66
C.4 Hasil Analisis Kadar Abu	67
C.5 Hasil Analisis Kadar Karbohidrat.....	68
C.6 Hasil Analisis Gula Reduksi.....	69
C.7 Hasil Analisis Nilai pH.....	71
C.8 Hasil Analisis Total Asam Titrasi	71
C.9 Hasil Analisis Kadar Kafein	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu bahan minuman penyegar yang sangat digemari. Minuman ini memiliki aroma harum yang khas dan cita rasa nikmat. Meskipun banyak informasi mengenai dampak buruk minuman kopi bagi kesehatan, tetapi hal itu tidak mempengaruhi kepopuleran jenis minuman ini. Kopi yang banyak dijumpai di pasaran diproduksi dari 2 spesies tanaman yang menghasilkan kopi berbeda, yaitu kopi arabika dan kopi robusta. Kedua jenis kopi ini kaya akan kandungan senyawa aktif seperti asam nikotinat, trigonelin, asam quinolinat, asam tanat, asam pirogalat, dan khususnya kafein. Kopi juga merupakan sumber penting dari polifenol diantaranya asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, dan asam sinapat (Hecimovic, *et al.*, 2011).

Luas areal perkebunan kopi Indonesia tahun 2013 mencapai 1,3 juta hektar. Luas lahan produktif mencapai 955 ribu hektar, terdiri dari 760 ribu hektar berupa lahan perkebunan kopi robusta dan 195 ribu hektar berupa lahan perkebunan kopi arabika. Pada tahun yang sama Indonesia mengekspor 450.000 metrikton jenis kopi robusta dan 216.000 metrikton kopi arabika. Hal ini menunjukkan bahwa kopi merupakan salah satu komoditi penghasil devisa yang sangat penting bagi Indonesia (AEKI, 2013).

Mutu kopi robusta Indonesia belum dapat dikatakan baik karena lebih dari 65% dari produk ekspor kopi Indonesia secara keseluruhan adalah Grade IV. Tetapi, faktanya 70% produksi kopi Indonesia mampu dipasarkan ke berbagai negara dan sisanya digunakan untuk konsumsi domestik. Kondisi ini menggambarkan bahwa kopi Indonesia sangat tergantung pada pasar ekspor. (AEKI, 2012).

Rendahnya mutu kopi robusta terutama disebabkan oleh pengelolaan kebun, panen dan penanganan pasca panen yang kurang memadai karena mayoritas kopi, khususnya kopi robusta diproduksi oleh perkebunan rakyat dengan cara pengolahan secara kering. Disamping itu, pasar kopi masih menyerap

seluruh produk kopi dan belum memberikan insentif harga yang memadai untuk kopi bermutu baik (Ditjenbun, 2012).

Pengolahan kopi dapat dilakukan secara kering dan secara basah. Pengolahan kopi secara kering masih disukai oleh petani kopi, meskipun kualitas biji kopi yang dihasilkan lebih rendah dibanding pengolahan secara basah. Kepraktisan menjadi alasan petani kopi tetap menggunakan cara kering. Pengolahan kopi secara basah membutuhkan banyak air dan menghasilkan limbah cair yang besar. Upaya untuk menekan kebutuhan air digunakan metode semi basah atau fermentasi kering. Metode pengolahan kopi secara semi basah diduga memiliki kemiripan dengan cara pengolahan kopi luwak oleh binatang luwak.

Upaya pengusahaan kopi luwak menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan devisa. Produktivitas kopi luwak di Indonesia masih rendah. Kopi luwak mengalami keterbatasan produksi karena proses pengolahan kopi harus dilakukan di dalam perut binatang luwak. Berbagai upaya pengusahaan kopi luwak telah dilakukan baik melalui penangkaran binatang luwak, seperti dilakukan oleh PTPN XII dan penggunaan bakteri probiotik dalam lambung luwak (Zahiroh, *et al*, 2013), penggunaan ragi kopi dari isolat bakteri yang dominan dari feses luwak (Giyarto, *et al*, 2010). Telaah teknologi pengolahan kopi dengan fermentasi kering telah dilakukan dengan menggunakan ragi kopi berbasis isolat bakteri dominan dalam feses binatang luwak (Fauzi, 2008).

Hasil penelitian Aisa (2008), telah ditemukan 5 spesies Bakteri Asam Laktat (BAL) dan teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus faecium* dari isolasi kotoran luwak segar, dengan persentase jumlah berturut-turut 21,74%; 17,39%; 21,74%; 26,09%, dan 13,04%. Mikroba-mikroba tersebut kemudian dikembangbiakan pada sumber karbon tetes tebu dan gula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolate bakteri tumbuh baik pada sumber karbon tetes tebu 1-1,5%.

Pada uji citarasa, penelitian yang dilakukan Agustini (2011), penambahan ragi kopi luwak bermedia tepung beras pada fermentasi kering kopi robusta terbaik yaitu pada konsentrasi 10^7 cfu/g pada jam ke 24 dengan skor *preference*

7.25. Hasil ini masih sedikit lebih rendah dibandingkan dengan skor uji cita rasa kopi luwak arabika original sebesar 7.75. Penilaian sifat organoleptik tidak cukup memberikan informasi mengenai level mutu biji kopi luwak non original. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian sifat kimiawi kopi luwak hasil olahan secara semi basah menggunakan mikroflora dari feses segar luwak.

Menurut Ridwansyah (2003) selama fermentasi biji kopi beras terjadi beberapa perubahan kimia pada biji kopi antara lain pemecahan komponen *mucilage*, pemecahan gula, perubahan warna kulit, dan perubahan suhu. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Marcone (2004), yang menemukan fermentasi khususnya dalam lambung luwak dapat mempengaruhi perubahan nilai pH, total asam, gula reduksi, kafein, protein, lemak dan mineral-mineral lainnya.

Senyawa kimia terpenting yang berpengaruh pada kualitas minuman kopi antara lain asam amino, gula, kafein, caffeol, golongan fenol dan asam tidak mudah menguap. Kafein yang menstimuli kerja saraf, caffeol memberikan flavor dan aroma yang baik. Golongan fenol dan asam tidak mudah menguap asam kofeat, asam klorogenat, asam ginat dan riboflavin yang berpengaruh pada pembentukan cita rasa dan aroma minuman kopi (Mabrouk dan Deatherage dalam Ciptadi dan Nasution,1985).

1.2 Permasalahan

Penelitian tentang karakteristik kimia biji kopi luwak telah banyak dilakukan seperti penelitiannya Marcone (2004), dan penelitian Chan dan Garcia (2011). Tetapi penelitian tentang karakteristik kimia biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak belum banyak dilakukan sehingga perlu dilakukan penelitian

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik kimia kopi biji robusta hasil olahan secara semi basah menggunakan kultur atau mikroflora dari feses luwak.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh informasi mengenai karakteristik kimia kopi biji robusta hasil olahan secara semi basah menggunakan kultur feses luwak.
2. Meningkatkan pengembangan produk hulu dan hilir kopi robusta.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

Kopi dikonsumsi pertama kali pada abad ke-9 di Ethiopia. Saat ini kopi merupakan minuman yang masih difavoritkan dan dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat di seluruh dunia dalam berbagai kesempatan, bahkan menjadi salah satu menu utama dalam perjamuan resmi. Kopi dapat digolongkan sebagai minuman psikostimulant yang akan menyebabkan orang tetap terjaga, mengurangi kelelahan, dan membuat perasaan menjadi lebih bahagia. Oleh karena itu, tidak mengherankan di seluruh dunia kopi menjadi minuman favorit, terutama bagi kaum pria. Tanaman kopi di Indonesia pertama kali didatangkan oleh Belanda dari Malabar (India) tahun 1698-1699 dan ditanam disekitar Jakarta, yaitu jenis kopi arabika. Jenis kopi ini tersebar keseluruh pelosok pulau Jawa pada sekitarnya tahun 1880-an dan kemudian dinamakan kopi Jawa (Ciptadi dan Nasution, 1978).

Tanaman kopi termasuk dalam golongan famili Rubiaceae yang mempunyai 500 macam genus dan lebih dari 6000 spesies. . Biasanya tumbuh berupa semak atau pohon kecil yang dapat mencapai 5 meter ketika tidak berbuah. Daunnya berwarna hijau gelap dan mengkilat, biasanya panjangnya 10-15 cm dan mempunyai lebar 6 cm. Bunganya berwarna putih dan berbau harum. Bijinya berbentuk oval, dengan panjang kira-kira 1,5 cm, berwarna hijau saat belum matang, kemudian berwarna kuning ketika hendak matang, kemudian kemerah-merahan, dan menjadi hitam ketika kering. Biasanya dikotil tapi 5-10% merupakan monokotil yang disebut peaberries. Biji kopi ini umumnya matang sekitar tujuh hingga sembilan bulan. Kopi tumbuh di daerah tropis dan tumbuhan peralihan yang tumbuh di lereng gunung.

Secara garis besar menurut Yahmadi (1988), tanaman kopi dapat dibagi menjadi 3 jenis yaitu: Kopi Arabika (*Coffea arabica*), Kopi Robusta (*Coffea canephora*), Kopi Liberica (*Coffea liberica*).

Kopi Arabika berasal dari Ethiopia dan Albessinia. Kopi arabika menghendaki daerah dengan ketinggian antara 700-1700 m dpl dan sangat peka terhadap penyakit *Hemilia Vastratrix* (HV). Meskipun rata-rata produktivitasnya

sedang (4,5-5 kui kopi beras/ha/th) tetapi kualitas dan harganya lebih tinggi dari jenis kopi yang lain. Kopi robusta berasal dari Kongo dan kini mendominasi perkebunan kopi di Indonesia. Selain lebih resisten terhadap penyakit HV juga produksinya lebih tinggi daripada jenis arabika dan liberica, yaitu rata-rata 9-13 ku/ha/th. Namun, kualitas buahnya lebih rendah daripada kopi arabika. Sedangkan kopi liberica berasal dari Angola dan jumlahnya di Indonesia kini terbatas karena kualitas buah dan rendemennya rendah ($\pm 12\%$). Selain itu jenis ini tidak terlalu disukai karena rasanya yang terlalu asam.

Klasifikasi dari tanaman kopi menurut Armansyah (2010) adalah sebagai berikut :

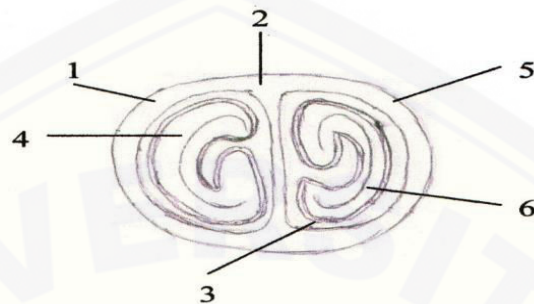
- Kingdom : Plantae
Division : Spermatophyta
Class : Dicotyledonae
Ordo : [Gentianales](#)
Family : Rubiaceae
Genus : *Coffea*
Species : 1. *Coffea robusta*
2. *Coffea Arabica*
3. *Coffea liberica*

2.1.1 Struktur Buah Kopi

Buah kopi terdiri atas tiga lapisan yaitu kulit buah (exocarp), lapisan daging (mesocarp) dan lapisan kulit tanduk (endocarp) yang tipis tapi keras (Sri Najiayati dan Danarti, 1990). Exocarp atau kuli buah adalah kulit bagian terluar dari bagian kopi yang terdiri dari lapisan tipis, liar dan berwarna hijau apabila masih muda dan berangsur-angsur berwarna merah tua apabila siap masak dan siap panen, mesocarp atau daging buah adalah yang berlendir dan mempunyai rasa yang agak manis apabila sudah masak dengan jumlah air yang banyak. Endocarp (kulit tanduk) merupakan lapisan tanduk yang menjadi batas kulit dengan biji yang keadaannya agak keras (Djumarti, 1999).

Pada umumnya, buah kopi mengandung dua butir biji, tetapi terkadang hanya mengandung satu butir atau bahkan tidak berbiji (hampa) karena bakal biji

tidak berkembang secara sempurna. Biji terdiri dari kulit biji dan lembaga. Lembaga (endosperm) merupakan bagian yang dimanfaatkan untuk membuat minuman kopi (Najiyati dan Danarti,1990). Struktur buah kopi dalam bentuk irisan penampang melintang dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Penampang lintang buah kopi

1. Lapisan kulit luar / exsocarp
2. Lapisan daging / mesocarp
3. Lapisan kulit tanduk / endocarp
4. Lembaga
5. Kulit ari
6. Celah

Gambar 2.1 Struktur buah kopi (Djumarti, 1999)

Biji kopi umumnya terdiri atas sepasang biji kopi yang saling melekat. Biji tersebut dilapisi oleh kulit tanduk, yang keras dan kulit ari yang tipis menempel langsung dipermukaan biji kopi.

2.1.2 Karakteristik Kimia Biji Kopi

Senyawa kimia yang ada didalam kopi terdiri dari senyawa volatil dan non-volatil. Senyawa volatil berpengaruh pada aroma kopi, sedangkan senyawa non-volatil akan berpengaruh terhadap mutu kopi. Pada kopi juga terdapat *chlorogenic acid*, yaitu salah satu jenis senyawa polifenol yang menjadi antioksidan kuat di dalam kopi. Kopi jenis robusta kandungan senyawa polifenolnya lebih tinggi dibandingkan kopi arabika. Komponen penting lainnya dalam biji kopi adalah kafein dan kafeol. kafein mempunyai sifat sebagai perangsang syaraf dan merupakan senyawa yang sangat penting dalam bidang farmasi dan kedokteran, sedangkan kafeol merupakan komponen penambah cita rasa dan aroma (Mulato, 2006).

Karakteristik kimia biji kopi berbeda-beda, tergantung dari jenis kopi, tanah tempat tumbuh dan pengolahan kopi. Kopi robusta mengandung lebih banyak asam amino bebas. Kandungan kafein pada kopi robusta lebih tinggi dari pada kopi arabika. Hal ini menyebabkan kopi robusta lebih sepat dari pada kopi arabika. Penyangraian biji kopi dapat meningkatkan total aktivitas antioksidan. Penyangraian selama 10 menit (tingkat sedang-gelap) akan mengoptimalkan aktivitas antioksidan dan pemutusan rantai radikal bebas *invitro*. Penelitian terhadap kopi robusta dan arabika dari enam negara yang berbeda, menunjukkan kopi robusta lebih memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding Arabika dan kopi robusta yang disangrai lebih tinggi aktivitas antioksidannya dari pada biji kopi hijau yang belum dipanggang. (Nicoli, *et. al.* 1997; Daglia, *et al.*, 2000). Gambaran secara umum tentang karakteristik kimia biji kopi robusta dan arabika dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik kimia biji kopi robusta dan kopi arabika (%bobot kering)

Komponen	Biji Kopi Arabika	Kopi Arabika Sangrai	Biji Kopi Robusta	Kopi Robusta Sangrai
Kaffein	0,9-1,2	1,0	1,6-2,4	2,0
Trigonelline	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lemak	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Asam Klorogenat	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-.,6
Asam Alifatis	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-1,2	1,0-1,5
Oligosakarida	6,0-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5
Total Polisakarida	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Asam amino	2,0	0	-	0
Protein	11,0-13,0	13,0-15,0		13,0-15,0
Humic acids	-	16,0-17,0		16,0-17,0
Mineral	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0

Sumber : Clarke dan Macrae, (1987)

2.1.3 Senyawa Penyusun Biji Kopi

2.1.3.1 Protein

Protein merupakan salah satu senyawa penyusun kopi. Protein adalah suatu makromolekul yang tersusun dari asam-asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Protein memiliki molekul yang besar, karena itu sering dimasukkan dalam makromolekul yang kompleks. Molekul-molekul protein terutama disusun oleh atom karbon (C), hydrogen (H), oksigen (O) dan nitrogen (N). Sebagian besar protein juga mengandung sulfur (S) dan fosfor (P), unsur-unsur lainnya lebih jarang terdapat. Pada dasarnya protein dibentuk oleh satuan-satuan asam amino yang membentuk “polimer” sehingga memerlukan senyawa-senyawa yang panjang. Setiap molekul asam amino terdiri dari atom C yang mengikat gugus amino ($-NH_2$) yang bersifat basa, gugus karboksil ($-COOH$) yang bersifat asam, atom hidrogen dan satu gugus sisi samping (R) seperti yang disajikan pada gambar 1A. Gugus amino dari asam amino dapat bereaksi dengan gugus karboksil dari asam amino lainnya dengan mengeluarkan satu molekul H_2O dan membentuk ikatan peptide. Dua molekul asam amino yang membentuk ikatan peptide disebut dipeptida. Gugus amino dan karboksil bebas dari dipeptida tersebut dapat bereaksi lagi dengan asam-asam amino lainnya membentuk polipeptida.

Komposisi asam amino pembentuk cadangan protein dalam biji kopi, berbeda dari cadangan protein yang berada dalam batang atau jaringan vegetatif. Protein biji biasanya kekurangan satu atau lebih dari tiga asam amino esensial yaitu asam amino, lisin, triptofan dan metionin tergantung spesies dan kultivar tanaman (Gardner *et al.*, 1991). Kandungan protein rata-rata pada biji kopi adalah 10 % (Clifford, 1985).

2.1.3.2 Lemak

Lemak atau fat merupakan salah satu senyawa dari lipida. Lipida sendiri merupakan kelompok senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik non polar, seperti kloroform dan eter, dan sukar larut dalam air. Lipida bersama-sama dengan protein dan karbohidrat merupakan komponen pembentuk struktur

sel hidup, beserta komponen turunannya. Lemak dalam bahan makanan pada umumnya dipisahkan dari lain komponen yang terdapat dalam bahan tersebut dengan cara ekstraksi dengan suatu pelarut misalnya petroleum ether, etil ether, khloroform atau benzena dan dilaporkan atau dinamakan sebagai “ether soluble fraction” atau crude part”. Sesungguhnya “crude fat” tersebut bukan saja terdiri dari lemak (gliserida) tetapi termasuk lilin, fosfolipida, cerebrosida, tirinan lipid seperti sterol, pigmen, hormon dan minyak atsiri dan sebagainya.

Lemak total merupakan lemak yang berikatan dengan senyawa lain sebagai cadangan makanan, yang terletak pada organ-organ penyimpanan cadangan makanan seperti biji. Lemak pada biji kopi terdiri dari *triacylglycerols* 75,2%, asam lemak 18,5%, ester dari sterol dan asam lemak 3,2%, sterol 2,2%, *tocopherol* 0,04-0,06%, *phosphat* 0,1-0,5%, *tryptamine derivatives* 0,6-0,1%. Kadar lemak total pada kopi arabika antara 15-17% sedangkan pada robusta antara 7-11,5% dan 0,2-0,3% terdapat pada lapisan lilin pelindung biji (Indar, 2001)

2.1.3.3 Karbohidrat

Karbohidrat dalam biji kopi merupakan senyawa larut air atau tidak larut. Jenis karbohidrat tersebut antara lain arabinosa, fruktosa, mannosa, galaktosa dan glukosa (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Komponen karbohidrat pada biji kopi robusta dan arabika

Komponen Karbohidrat	Arabika Bobot Kering (%)	Robusta Bobot Kering (%)
Sukrosa	6-9	3-7
Polisakarida	43,0-45,0	46,9-48,3
Arabinosa	3,4-4	3,8-4,1
Mannosa	22	22
Glukosa	7,2	8,2
Galaktosa	11	13,1
Rhamnosa	0,3	0,3
Xylosa	0-0,2	0-0,2

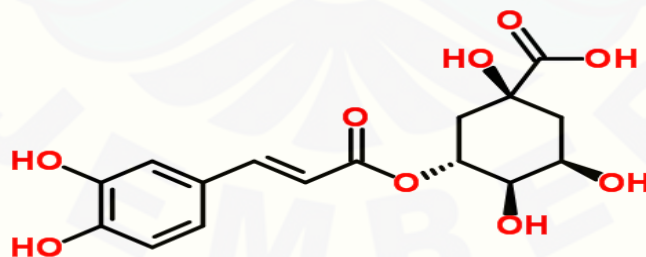
Sumber : Illy dan Viani (1995)

Didinding sel biji kopi tersusun dari selulosa dan hemiselulosa. Khususnya berupa β -1,4 mannan, arabinogalaktan, dan pektin. Perbedaan kadar karbohidrat, tebal dinding sel, serta tingkat kematangan setiap jenis kopi sangat mempengaruhi karakter dan cita rasa biji kopi.

Glukosa berkorelasi negatif dengan tingkat aroma, tetapi berkorelasi positif dengan kemanisan (*sweetness*). Sementara itu fruktosa berkorelasi negatif dengan tingkat kemanisan. Karbohidrat berpengaruh terhadap warna cokelat pada kopi yang sudah disangrai, memperkuat body, dan berperan kepada pembentukan senyawa volatil. Selama penyangraian, karbohidrat berubah menjadi polisakarida larut air, oligosakarida, monomer, melaoidin, karamel, dan senyawa volatil.

2.1.3.4 Asam klorogenat

Asam klorogenat merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada biji kopi yang merupakan senyawa ester dari trans-asam sinamat dan asam quinat. Secara umum asam klorogenat dibentuk dari asam kafeat dan asam quinat. Asam klorogenat dan asam kafeat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat secara *in vitro*. Kopi merupakan minuman harian yang paling banyak menyumbang asam klorogenat. Telah diteliti bahwa dalam 200 ml Kopi Arabika mengandung 70-200 mg asam klorogenat, sedangkan Kopi Robusta mengandung 70-350 mg asam klorogenat. Kopi diperkirakan mensuplai 70% dari asupan harian antioksidan (Clifford, 1999).



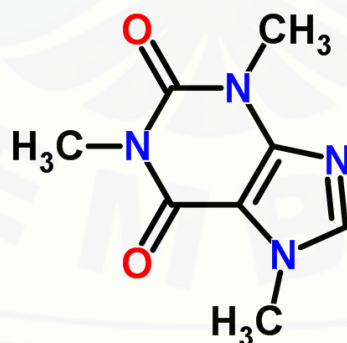
Gambar 2.2 Struktur asam klorogenat (Sumber: Chempider 2013)

Penyangraian biji kopi secara dramatis akan menaikkan total aktivitas antioksidan. Penyangraian selama 10 menit (tingkat sedang-gelap) akan

mengoptimalkan aktivitas antioksidan dan pemutusan rantai radikal bebas *invitro*. Penelitian terhadap kopi robusta dan arabika dari enam negara yang berbeda, menunjukkan kopi robusta lebih memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding arabika dan yang disangrai lebih tinggi dari pada biji kopi hijau (belum dipanggang). Dengan metode ABTS●+, penyangraian ringan hingga sedang secara signifikan memberikan aktifitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding kopi hijau *in vitro*. Anehnya, terjadi penurunan kandungan asam klorogenat 19% pada penyangraian ringan dan 45% pada penyangraian sedang. Diduga ada senyawa lain yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Melanoidin adalah polimer coklat yang dibentuk oleh reaksi Maillard selama proses penyangraian dan jumlahnya bisa meningkat hingga 25% dari *dry matter*. Dengan metode ABTS●+, diketahui melanoidin secara signifikan menunjukkan aktivitas antioksidan *in vitro* (Borrelli, *et al.*, 2002).

2.1.3.5 Kafein

Kafein (1,3,7-trimetilxantin) merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada kopi setelah asam klorogenat. Kafein adalah alkaloid dari group xantin yang sangat populer karena mudah didapatkan pada berbagai hidangan, makanan dan minuman. Beberapa sumber kafein selain berbagai varietas kopi (Kopi Robusta dan arabika) juga daun teh, biji kola, dan biji coklat. Kafein juga terdapat pada makanan harian seperti *soft drink*, *energi drink* dan beberapa obat-obatan seperti obat stimulan, penghilang rasa sakit, dan flu (Tello, *et al.*, 2011).



Gambar 2.3 Struktur kafein (1,3,7-trimetilxantin) (Sumber : Chemspider, 2013)

Bentuk murni kafein dijumpai sebagai kristal berbentuk tepung putih atau berbentuk seperti benang sutera yang panjang dan kusut. Bentuk Kristal benang itu berkelompok akan terlihat seperti bulu domba. Kristal kafein mengikat satu molekul air, dapat larut dalam air mendidih. Di dalam pelarut organik maka pengkristalan yang terjadi tanpa ikatan molekul air. Kafein mencair pada suhu 235-237°C dan akan menyublim pada suhu 176°C di alam ruangan terbuka. Kafein tidak berbau, menggumpal, mempunyai rasa yang sangat pahit dan mengembang di dalam air. Larutan bersifat netral terhadap kertas lakmus. Bentuk hidratnya mekar di udara. Kafein larut dalam air, alcohol, atau kloroform tetapi kurang larut dalam eter. Kelarutan naik dalam air panas pada suhu 80°C atau alkohol panas pada suhu 60°C) (Ridwansyah, 2003). Kafein merupakan derivat purin, tidak mengendap seperti kebanyakan alkaloid dalam uji identifikasi senyawanya. Kafein biasanya terdeteksi dengan mencampur sedikit potasium klorat dan satu tetes asam hidroklorat, diuapkan hingga agak kering dan menimbulkan aroma amonia. Warna ungu akan tercipta jika terdapat kafein dan derivat purin lainnya. Uji ini disebut *Murexide test* (Evans dan Trease, 2002).

2.1.4 Fermentasi Biji Kopi

Fermentasi biji kopi dapat dilakukan secara basah dan secara kering. Fermentasi secara basah dilakukan dengan merendam biji kopi dalam genangan air. Fermentasi cara kering dilakukan dengan cara menyimpan biji kopi HS basah di dalam wadah plastik yang bersih dengan lubang penutup dibagian bawah atau dengan menumpuk biji kopi HS di dalam bak semen dan ditutup dengan karung goni.

Fermentasi bertujuan untuk membantu melepaskan lapisan lendir yang masih menyelimuti kopi yang keluar dari mesin pulper. Proses fermentasi ini dapat terjadi dengan bantuan jasad renik bakteri asam laktat disebut pemeraman atau peragian. Selama fermentasi terjadi pemecahan komponen lapisan lendir yaitu protopektin dan gula dengan dihasilkan asam dan alkohol. Dengan terjadinya proses pemecahan komponen lapisan lendir tersebut maka akan terlepas dari permukaan kulit tanduk biji. Fermentasi pada biji kopi memiliki tujuan

menghilangkan kandungan gula biji kopi karena gula dapat menyebabkan tumbuhnya kapang ketika biji kopi disimpan. Hal ini dapat mempengaruhi mutu biji kopi. Fermentasi juga berguna untuk memudahkan pengelupasan kulit ari saat biji kopi di *huller*. (Djumarti, 2005).

Selama proses fermentasi berlangsung mikroorganisme yang diharapkan tumbuh dan berkembang adalah khamir dan bakteri, karena berguna dalam mendapatkan biji kopi yang bermutu tinggi. Jenis khamir yang sering dijumpai selama fermentasi antara lain: *Saccharomyces cerevisiae*, *S.theobromae*, *S.ellipsoideus*, *S.apiculatus*, dan *S. anomalus* (Manurung dan Soenaryo, 1978). Sedangkan jenis bakteri yang dapat dijumpai dalam fermentasi biji kopi menurut mulato (2004) adalah bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat.

Indikator utama terjadinya fermentasi selain penurunan nilai pH adalah adanya asam laktat sebagai hasil dari degradasi gula pada pulp biji kopi dari fermentasi menggunakan mikroflora feses segar luwak. Nilai asam tertitrasi adalah persentase asam dalam bahan yang ditentukan secara titrasi dengan basa standar (Herawati, 2009). Total asam tertitrasi dinyatakan dengan persen asam laktat. Total asam tertitrasi pada pangan ditentukan oleh titrasi asam basa untuk memperkirakan konsentrasi total asam. Sebagian besar asam tersebut merupakan asam organik yang mempengaruhi cita rasa, warna, stabilitas mikrobial dan kualitas pangan (Sadler dan Murphy, 2003).

Menurut Djumarti (2005) perubahan yang terjadi selama proses fermentasi:

a. Pemecahan getah komponen mucilage

Bagian yang terpenting lapisan berlendir/getah adalah komponen protopektin yaitu suatu "*insoluble complex*" tempat terjadinya meta cellular lactice dari daging buah yaitu pectin lamella tengah pengikat sel satu dan sel yang lain. Bahan tersebut akan terurai dalam proses fermentasi oleh kegiatan enzim katalase yang memecah protopektin dalam buah kopi. Makin matang buah kopi kandungan enzim pektinase/protopektinase semakin banyak. Enzim ini sangat peka/sensitif terhadap perubahan pH. Pada pH 5,5-6,0 pemecahan getah cukup cepat, pada pH 4,0 bisa 2x lebih cepat dan pada pH 3,65 bisa 3x lebih cepat.

b. Pemecahan gula

Sukrosa merupakan komponen penting dalam daging buah kopi. Kadar gula daging buah akan meningkat dengan cepat selama proses pematangan buah sehingga rasanya manis. Gula adalah senyawa yang larut dalam air, oleh karena itu dengan adanya proses pencucian lebih dari 15 menit akan menyebabkan terjadinya banyak kehilangan konsentrasinya. Oleh karena itu kadar gula dalam daging biji akan mempengaruhi konsentrasi gula di dalam getah beberapa jam setelah fermentasi. Gula ini merupakan substrat bagi mikroorganisme. Bakteri pemecah gula ini bekerja 5 sampai 24 jam dalam proses fermentasi. Sebagai hasil proses pemecahan gula adalah asam laktat dan asetat dengan asam laktat yang lebih besar. Dengan terbentuknya asam ini maka pH turun menjadi lebih kecil dari 5,0. Akan tetapi pada akhir fermentasi asam laktat ini dikonsumsi oleh bakteri sehingga terjadi kenaikan pH lagi. Asam-asam lain yang dihasilkan dari proses fermentasi ini adalah etanol, asam butirat dan propionat. Asam terakhir ini akan memberikan "*Onion flavor*".

c. Perubahan warna kulit ari biji kopi

Apabila biji kopi telah terpisahkan dari pulp dan parchment maka kulit ari akan berwarna coklat. Juga jaringan daging biji akan berwarna sedikit kecoklatan yang tadinya berwarna abu-abu atau abu-abu kebiruan. Warna kulit ari biji kopi demikian ini kurang menarik karena berwarna suram. Proses "*browning*" ini terjadi karena oksidasi polifenol. Peristiwa browning ini tidak terjadi bila air pencucian dengan kondisi alkali.

2.1.5 Pengolahan Biji Kopi

Buah kopi dipanen secara manual dengan cara memetik buah yang telah masak. Ukuran kematangan buah ditandai oleh perubahan warna kulit buah. Kulit buah berwarna hijau tua ketika masih muda, berwarna kuning ketika setengah masak dan berwarna merah saat masak penuh dan menjadi kehitam-

hitaman setelah masak penuh terlampaui (*over ripe*). Kematangan buah kopi juga dapat dilihat dari kekerasan dan komponen senyawa gula di dalam daging buah.

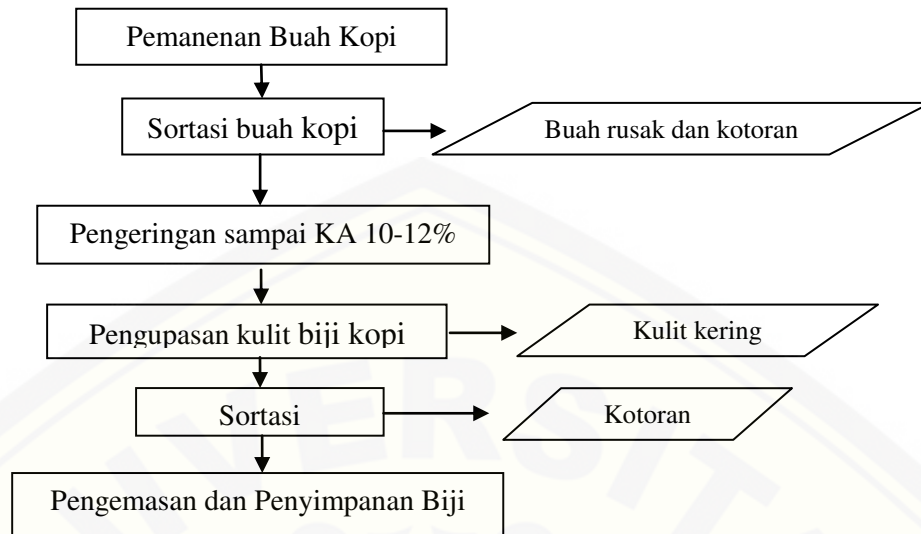
Buah kopi yang masak mempunyai daging buah lunak dan berlendir serta mengandung senyawa gula yang relatif tinggi sehingga rasanya manis. Sebaliknya daging buah muda sedikit keras, tidak berlendir dan rasanya tidak manis karena senyawa gula masih belum terbentuk maksimal. Kandungan lendir pada buah yang terlalu masak cenderung berkurang karena sebagian senyawa gula dan pektin sudah terurai secara alami akibat respirasi.

Pengolahan bertujuan agar mutu biji kopi tetap terjamin dan sekaligus merupakan pengawasan agar biji kopi tidak mudah rusak. Pengolahan tersebut sangat menentukan mutu produk akhir biji kopi kering yang dihasilkan. Buah kopi sering disebut kopi gelondong basah adalah buah kopi hasil panen dari kebun dan kadar airnya masih berkisar antara 60 - 65%. Biji kopi masih terlindung oleh kulit buah, daging buah, lapisan lendir, kulit tanduk dan kulit ari (Mulato, 2002).

Biji kopi HS adalah biji kopi berkulit tanduk (*cangkang*) hasil pengolahan buah kopi dengan pengolahan secara basah (*wet process*). Kulit daging buah (*pulp*) dan lapisan lendir telah dihilangkan melalui beberapa tahapan secara mekanis atau fermentasi dan pencucian dan air biji kopi HS dalam kondisi basah berkisar antara 60 – 65 % dan setelah dikeringkan menjadi 12 %. Kopi gelondong kering adalah buah kopi kering setelah diolah dengan pengolahan secara kering (tanpa melibatkan air untuk pengolahan). Biji kopi masih terlindung oleh kulit daging buah, lapisan lendir, kulit tanduk dan kulit ari dalam kondisi kering. Biji kopi labu adalah biji kopi hasil semi basah, yang telah dilakukan pengeringan awal dan dikupas kulit tanduknya (kadar air \pm 40 %) (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

2.1.5.1 Pengolahan Cara kering

Metode pengolahan cara kering banyak dilakukan mengingat kapasitas olah kecil, mudah dilakukan, peralatan sederhana dan dapat dilakukan di rumah petani. Tahapan pengolahan kopi cara kering dapat dilihat pada Gambar 2.4.



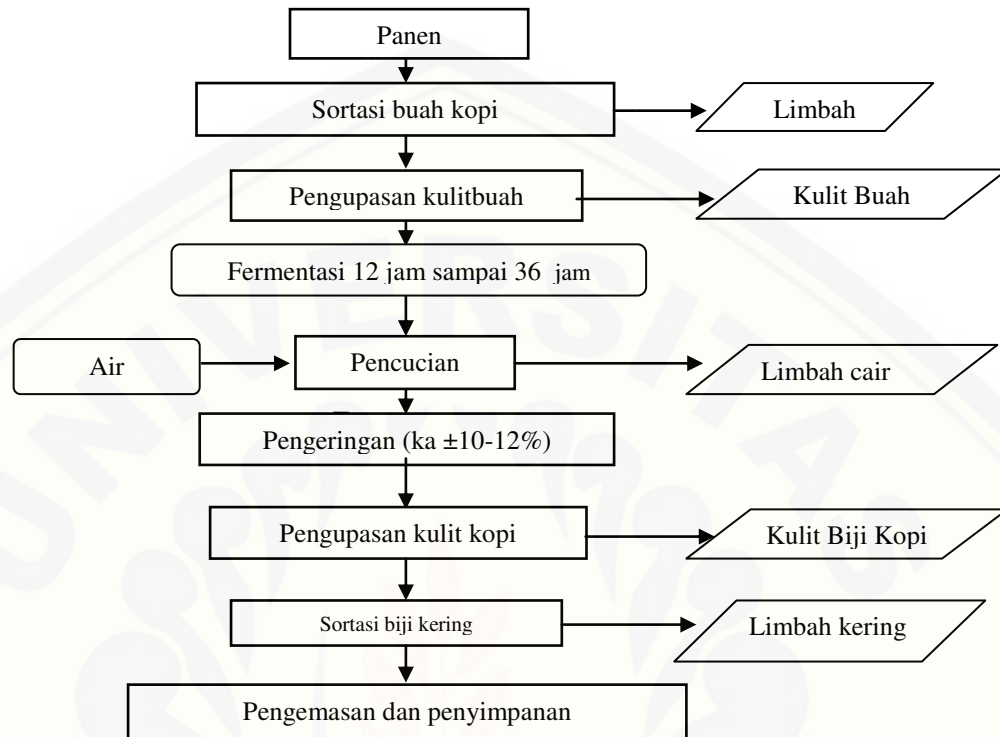
Gambar 2.4 Alur pengolahan kopi secara kering (*Dry Process*) (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006)

Kopi yang sudah dipetik dan disortasi harus sesegera mungkin dikeringkan agar tidak mengalami kimia yang bisa menurunkan mutu. Kopi dikatakan kering apabila waktu diaduk terdengar bunyi gemerisik. Beberapa petani mempunyai kebiasaan merebus kopi gelondang lalu dikupas kulitnya, kemudian dikeringkan. Kebiasaan tersebut harus dihindari karena dapat merusak kandungan zat kimia dalam biji kopi dan menurunkan mutu. Apabila udara tidak cerah pengeringan dapat dilakukan menggunakan alat pengering mekanis. Pengeringan selesai bila kadar air telah mencapai maksimal 12,5 %. Biasanya pengeringan memerlukan waktu 2-3 minggu dengan cara dijemur. (Mulato, 2006)

Hulling pada pengolahan kering bertujuan untuk memisahkan biji kopi dari kulit buah, kulit tanduk dan kulit arinya. *Hulling* dilakukan dengan menggunakan mesin pengupas (*huller*). Tidak dianjurkan untuk mengupas kulit dengan cara menumbuk karena mengakibatkan banyak biji yang pecah. Beberapa tipe *huller* sederhana yang sering digunakan adalah *huller* putar tangan (manual), *huller* dengan penggerak motor, dan *hummermill*. (Mulato, 2006)

2.1.5.2 Pengolahan Cara Basah (*Fully Washed*)

Tahapan pengolahan kopi cara basah dapat dilihat pada skema berikut :



Gambar 2.5 Alur pengolahan kopi secara basah (*Fully washed*) (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006)

Pada proses ini pertama-tama dilakukan pengupasan kulit buah dengan menggunakan alat dan mesin pengupas kulit buah (*pulper*). Pulper dapat dipilih dari bahan dasar yang terbuat dari kayu atau metal. Air dialirkan kedalam silinder bersamaan dengan buah yang akan dikupas. Sebaiknya buah kopi dipisahkan atas dasar ukuran sebelum dikupas. Selanjutnya yaitu fermentasi yang umumnya dilakukan untuk pengolahan kopi Arabika, bertujuan untuk meluruhkan lapisan lendir yang ada dipermukaan kulit tanduk biji kopi. Selain itu, fermentasi mengurangi rasa pahit dan mendorong terbentuknya kesan “*mild*” pada citarasa seduhan kopi arabika. Fermentasi ini dapat dilakukan secara basah dengan merendam biji kopi dalam genangan air, atau fermentasi cara kering dengan cara menyimpan biji kopi HS basah di dalam wadah plastik yang bersih dengan lubang penutup dibagian bawah atau dengan menumpuk biji kopi HS di dalam bak semen dan ditutup dengan karung goni. Agar fermentasi berlangsung merata, pembalikan

dilakukan minimal satu kali dalam sehari. Lama fermentasi bervariasi tergantung pada jenis kopi, suhu, dan kelembaban lingkungan serta ketebalan tumpukan kopi di dalam bak. Akhir fermentasi ditandai dengan meluruhnya lapisan lendir yang menyelimuti kulit tanduk. Waktu fermentasi berkisar antara 12 sampai 36 jam (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

Pencucian bertujuan menghilangkan sisa lendir hasil fermentasi yang menempel di kulit tanduk. Untuk kapasitas kecil, pencucian dikerjakan secara manual di dalam bak atau ember, sedangkan kapasitas besar perlu dibantu mesin. Pengeringan bertujuan mengurangi kandungan air biji kopi HS dari 60 – 65 % menjadi maksimum 12,5 %. Pada kadar air ini, biji kopi HS relatif aman dikemas dalam karung dan disimpan dalam gudang pada kondisi lingkungan tropis. Pengeringan dilakukan dengan cara penjemuran, mekanis, dan kombinasi keduanya. (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

Penjemuran merupakan cara yang paling mudah dan murah untuk pengeringan biji kopi. Penjemuran dapat dilakukan di atas para-para atau lantai jemur. Profil lantai jemur dibuat miring lebih kurang $5 - 7^\circ$ dengan sudut pertemuan di bagian tengah lantai. Ketebalan hamparan biji kopi HS dalam penjemuran sebaiknya 6 – 10 cm lapisan biji. Pembalikan dilakukan setiap jam pada waktu kopi masih basah. Pada areal kopi Arabika, yang umumnya didataran tinggi, untuk mencapai kadar air 15 -17 %, waktu penjemuran dapat berlangsung 2 – 3 minggu (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

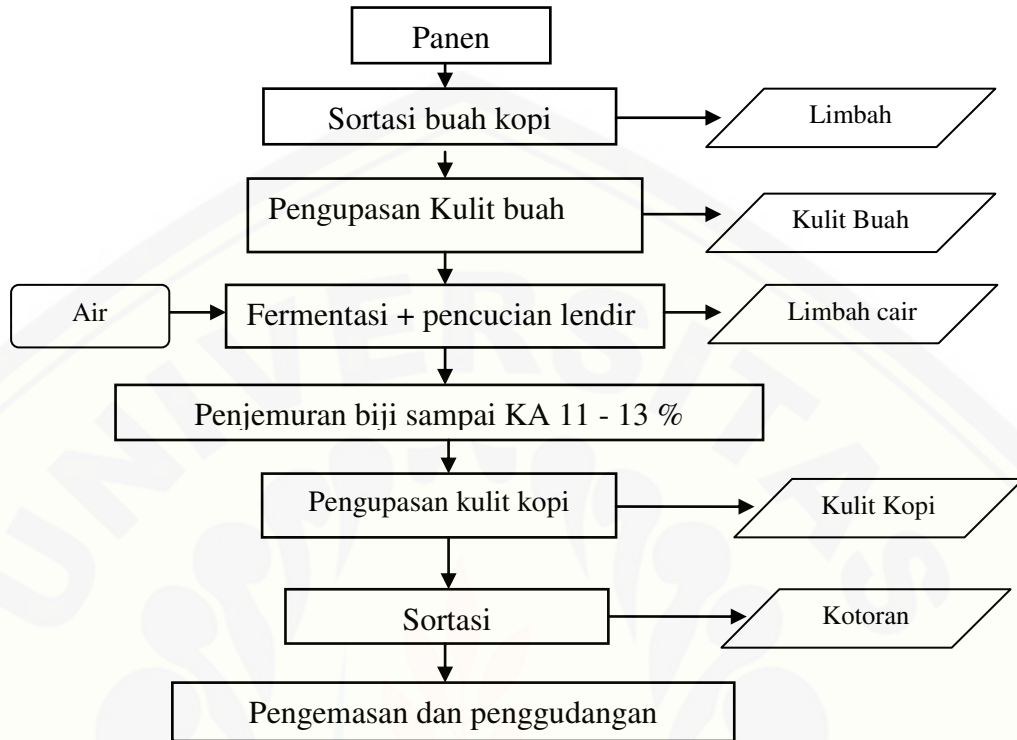
Pengeringan mekanis dapat dilakukan jika cuaca tidak memungkinkan untuk melakukan penjemuran. Pengeringan dengan cara ini sebaiknya dilakukan secara berkelompok karena membutuhkan peralatan dan investasi yang cukup besar dan tenaga pelaksana yang terlatih. Dengan mengoperasikan pengering mekanis secara terus menerus siang dan malam dengan suhu $45 - 50^\circ \text{C}$, dibutuhkan waktu 72 jam untuk mencapai kadar air 12,5 %. Penggunaan suhu tinggi di atas 60°C untuk pengeringan kopi Arabika harus dihindari karena dapat merusak citarasanya. Sedangkan untuk kopi Robusta, biasanya diawali dengan suhu lebih tinggi, yaitu sampai $90 - 100^\circ \text{C}$ dengan waktu 20 – 24 jam untuk mencapai kadar air maksimum 12,5 %, (pemanasan yang lebih singkat), karena

jika terlalu lama maka warna permukaan biji kopi cenderung menjadi kecoklatan. Untuk kopi Robusta dibutuhkan waktu 20-24 jam untuk mencapai kadar air 12,5 %. pengeringan kombinasi dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah penjemuran untuk menurunkan kadar air biji kopi sampai 20 – 25 %, dilanjutkan dengan tahap kedua, yaitu dengan menggunakan mesin pengering. Apabila biji kopi sudah dijemur terlebih dahulu hingga mencapai kadar air 20 – 25 %, maka untuk mencapai kadar air 12,5% diperlukan waktu pengeringan dengan mesin pengering selama 24 – 36 jam dengan suhu 45-50 °C. Pengupasan dimaksudkan untuk memisahkan biji kopi dari kulit tanduk yang menghasilkan biji kopi beras. Pengupasan dapat dilakukan dengan menggunakan mesin pengupas (*huller*). Sebelum dimasukkan ke mesin pengupas (*huller*), biji kopi hasil pengeringan didinginkan terlebih dahulu (*tempering*) selama minimum 24 jam (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

2.1.5.3 Pengolahan Cara Semi Basah (*Semi Washed Process*)

Pengolahan secara semi basah saat ini banyak diterapkan oleh petani kopi arabika di NAD, Sumatera Utara dan Sulawesi Selatan. Cara pengolahan tersebut menghasilkan kopi dengan citarasa yang sangat khas, dan berbeda dengan kopi yang diolah secara basah penuh (WP). Ciri khas kopi yang diolah secara semi-basah ini adalah berwarna gelap dengan fisik kopi agak melengkung. Kopi Arabika cara semi-basah biasanya memiliki tingkat keasaman lebih rendah dengan *body* lebih kuat dibanding dengan kopi olah basah penuh (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

Cara semi-basah juga dapat diterapkan untuk kopi Robusta. Secara umum kopi yang diolah secara semi-basah mutunya sangat baik. pengolahan secara semi-basah lebih singkat dibandingkan dengan pengolahan secara basah penuh. Untuk dapat menghasilkan biji kopi hasil olah semi-basah yang baik, maka harus mengikuti prosedur pengolahan yang tepat, yaitu seperti pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Alur pengolahan kopi secara semi-basah (Semi-Washed) (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006)

Pengupasan kulit buah (pulp) sama dengan pada cara basah-penuh. Untuk dapat dikupas dengan baik, buah kopi harus tepat masak (merah) dan dilakukan sortasi buah sebelum dikupas, yaitu secara manual dan menggunakan air untuk memisahkan buah yang diserang hama. Pengupasan dapat menggunakan pulper dari kayu atau metal. Jarak silinder dengan silinder pengupas perlu diatur agar diperoleh hasil kupasan yang baik (utuh, campuran kulit minuman) beberapa tipe pulper memerlukan air untuk membantu pengupasan Biji HS harus dibersihkan dari kotoran kulit dan lainnya sebelum difermentasi. Untuk memudahkan pencucian, biji kopi HS perlu difermentasi selama semalam atau lebih. Apabila digunakan alat-mesin pencuci lendir, fermentasi dapat dilalui. fermentasi dilakukan secara kering dalam wadah karung plastik atau tempat dari plastik yang bersih. Setelah difermentasi semalam kopi HS dicuci secara manual atau menggunakan mesin pencuci (*washer*).

Pengeringan awal dimaksudkan untuk mencapai kondisi tingkat kekeringan tertentu dari bagian kulit tanduk/cangkang agar mudah dikupas walaupun kondisi biji masih relatif basah. pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran selama 1-2 hari sampai kadar air mencapai sekitar $\pm 40\%$, dengan tebal lapisan kopi kurang dari 3 cm (biasanya hanya satu lapis) dengan alas dari terpal atau lantai semen. Kemudian Biji kopi dibalik-balik setiap ± 1 jam agar tingkat kekeringannya seragam. Selama pengeringan kebersihan Kopi harus dijaga.

Pengupasan kulit tanduk/cangkang pada kondisi biji kopi masih relatif basah dapat dilakukan dengan menggunakan *huller* yang didisain khusus untuk tersebut. Agar kulit dapat dikupas maka kondisi kulit harus cukup kering walaupun kondisi biji yang ada didalamnya masih basah. Kondisi *huller* harus bersih, berfungsi normal dan bebas dari bahan-bahan yang dapat mengkontaminasi kopi sebelum digunakan. Dilakukan pengupasan sesaat setelah pengeringan/penjemuran awal kopi HS. Apabila sudah bermalam sebelum dikupas kopi HS harus dijemur lagi sesaat sampai kulip cukup kering. Huller diatur sesuai aturan dan aliran bahan kopi agar diperoleh pengupasan yang optimum. Sejumlah tertentu porsi kulit masih terikut bersama biji kopi labu yang keluar dari lubang keluaran biji. Hal tersebut tidak begitu masalah, karena porsi kulit tersebut mudah dipisahkan dengan tiupan udara (*aspirasi*) setelah kopi dikeringkan (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

Biji kopi labu yang keluar harus segera dikeringkan, penyimpanan biji kopi yang masih basah harus dihindari karena akan terserang jamur yang dapat merusak biji kopi baik secara fisik atau citarasa, serta dapat terkontaminasi oleh mikroba. Setelah digunakan huller dibersihkan, agar sisa-sisa kopi dan kulit yang masih basah tidak tertinggal dan berjamur di dalam mesin (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

Biji kopi hasil pengupasan dikeringkan dengan penjemuran atau menggunakan mesin pengering mekanis. Aturan tebal hamparan biji kopi kurang dari 5 cm, dengan menggunakan alas plastik atau terpal atau lantai semen. Penjemuran langsung diatas permukaan tanah harus dihindari agar tidak

bercampur dengan benda-benda asing. Pengeringan selesai bila dicapai kadar air biji 11-12% biasanya diperlukan waktu 3-5 hari dalam kondisi normal. Penyimpanan biji kopi yang belum kering dalam waktu yang lebih dari 12 jam harus dihindari, karena akan rusak akibat dari serangan jamur (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

2.1.6 Sortasi Biji Kopi

Sortasi dilakukan untuk memisahkan biji kopi dari kotoran-kotoran non kopi seperti serpihan daun, kayu atau kulit kopi. Biji kopi beras juga harus disortasi secara fisik atas dasar ukuran dan cacat biji. Sortasi ukuran dapat dilakukan dengan ayakan mekanis maupun dengan manual. Kemudian dilakukan Pemisahan biji-biji kopi cacat agar diperoleh massa biji dengan nilai cacat sesuai dengan ketentuan SNI 01-2907-2008.

Sortasi biji merupakan proses akhir yang memisahkan biji kopi berdasarkan kualitasnya, sehingga memenuhi standart mutu yang sudah ditetapkan. Menurut Sivetz dan Foote (1963) pada proses pengolahan kopi ada beberapa prinsip yang harus diperhatikan untuk memperoleh biji kopi bermutu tinggi. Pertama buah harus dipetik pada kondisi prima dan dipisahkan dari buah yang terlalu masak, yang kedua adalah buah yang dipetik harus segera diproses, yang ketiga harus dihindari adanya kontaminasi benda-benda asing, terutama mikroorganisme. Adapun persyaratan mutu atau standar mutu secara umum biji kopi menurut SNI 01-2907-2008 ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.3 Syarat mutu umum biji kopi Indonesia menurut SNI 01-2907-2008

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Biji berbau busuk dan bau kapang	-	Bebas (tidak ada)
2.	Serangga hidup	-	Bebas (tidak ada)
3.	Kadar Air	% fraksi massa	Maksimal 12,5
4.	Kadar kotoran	% fraksi massa	Maksimal 0,5

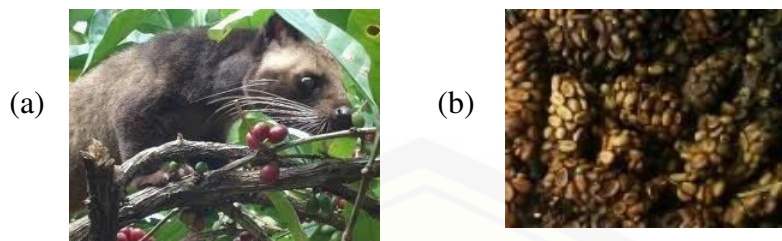
Sumber : Badan Standar Nasional 2008

2.2 Kopi Luwak

Kopi luwak merupakan biji kopi yang diambil dari sisa kotoran luwak. Biji kopi ini diyakini mempunyai rasa yang berbeda setelah dimakan dan melewati saluran pencernaan luwak. Kemashuran kopi ini di kawasan Asia Tenggara telah lama diketahui, namun baru terjadi luas di peminat kopi setelah publikasi pada tahun 1980 an (Anonim, 2009).

Pada saat biji berada dalam system pencernaan luwak, terjadi fermentasi secara alami selama kurang lebih 10 jam. Prof. Massimo Marcone dari Guelph University, Kanada, menyebutkan fermentasi pada pencernaan luwak ini meningkatkan kualitas kopi karena selain berada pada suhu fermentasi optimal 24-26°C juga dibantu dengan enzim dan bakteri yang ada pada pencernaan luwak. Kandungan protein kopi luwak lebih rendah dari pada kopi biasa karena perombakan protein melalui fermentasi lebih optimal. Protein ini berperan sebagai pembentuk rasa pahit pada kopi saat disangrai sehingga kopi luwak tidak sepahit kopi biasa karena kandungan proteinnya rendah. Komponen yang menguap pun berbeda antara kopi luwak dan kopi biasa. Terbukti aroma dan cita rasa kopi luwak yang sangat khas. Fermentasi tak lazim oleh luwak ini membuat sebagian orang enggan mengkonsumsinya karena jijik atau takut. Padahal menurut Massimo, kandungan bakteri pada kopi luwak yang telah dioven lebih rendah daripada kopi dengan biasa (Aeki, 2010).

Ciri-ciri kopi luwak asli terlihat seperti terkena getah, warnanya kusam, sedangkan yang sangat bersih biasanya kopi bekas di makan kelawar, ciri-ciri kopi luwak asli untuk yang sudah berupa biji kopi, warnanya lebih cerah, karena mengalami proses peram selama di dalam perut binatang luwak, binatang luwak (Gambar 2.7a) memilih buah-buahan yang sudah hampir kelewat matang, sehingga sudah menebar aroma harum, dan aroma kopi luwak asli mirip aroma bunga kopi mekar, aroma seperti aroma bunga kopi ini menyatu dengan biji kopi selama di dalam perut binatang luwak, sehingga bau kopi luwak asli berbeda dengan bau kopi biasa. Rasa kopi luwak asli berbeda dengan rasa kopi biasa, kopi luwak asli sangat beraroma dan ada rasa asam (Aeki, 2010)



Gambar 2.7 Binatang luwak (a) dan Kopi luwak dalam bentuk feses (b)
(Sumber: Anonim, 2010)

2.2.1. Karakteristik Kimia Kopi Luwak

Penelitian mengenai komposisi kimia biji kopi luwak telah banyak dilakukan baik itu kopi luwak robusta ataupun kopi luwak arabika. Marcone (2004) menyatakan bahwa enzim proteolitik (pemecah protein) pada lambung luwak menyebabkan terpecahnya protein pada biji kopi. Hal ini mempengaruhi terjadinya perubahan warna, rasa dan aroma pada biji kopi dalam lambung luwak. Terpecahnya protein membuat biji kopi menjadi lebih harum, rasa pahit berkurang dan meningkatkan amino bebas. Dalam perut luwak kopi mengalami suatu akibat penetrasi asam lambung dan enzim-enzim pencernaan sehingga biji kopi menjadi lebih rapuh.

Kopi juga mengalami pengolahan basah karena asidifikasi dalam lambung luwak dan kemudian mengalami fermentasi oleh mikroflora dalam usus. fermentasi alami dalam usus oleh bakteri asam laktat juga akan mempengaruhi rasa kopi dan ini sangat mirip dengan pengolahan kopi dengan cara fermentasi untuk menghasilkan mutu yang lebih baik. fermentasi ini juga yang menyebabkan warna biji kopi menjadi lebih gelap (Gambar 2.7b). Hal ini berbeda pada pengolahan basah biji kopi pada umumnya, yang hanya bermanfaat untuk menghilangkan getah atau lendir dari kopi, yang apabila lendir diabaikan akan mengalami fermentasi sekunder selama pengeringan dan penyimpanan dan akhirnya akan merusak rasa.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Marcone (2004) yang membandingkan biji kopi robusta dan biji kopi luwak robusta. Pada Tabel 2.4 dapat diketahui bahwa kelembaban, kandungan protein, dan beberapa mineral: K, P, C, Mg, Fe lebih rendah dan kadar lemak, abu, dan karbohidrat lebih tinggi pada Kopi Luwak

Robusta dibandingkan dengan Kopi Robusta. Lebih lanjut Marcone (2004) menyatakan bahwa kenaikan asam amino bebas dalam saluran pencernaan luwak karena penguraian protein biji kopi oleh enzim proteolitik.

Tabel 2.4 Karakteristik kimia biji kopi robusta dan kopi luwak robusta

Analisis	Kopi Robusta	Kopi Luwak Robusta
Proximat (%)		
Kelembapan	11.7	9.2
Protein	14.5	13.5
Lemak	12.0	13.0
Abu	3.4	3.6
Karbohidrat	58.4	60.7

(Sumber : Marcone, 2004)

Penelitian Chan dan Garcia (2011) membandingkan analisis karakteristik kimia pada kopi Luwak dan kopi bukan luwak menunjukkan α -tokoferol pada biji Kopi Luwak Robusta lebih rendah dibandingkan dengan biji kopi Robusta. penyangraian dapat meningkatkan kandungan α -tokoferol baik pada biji kopi bukan luwak maupun biji kopi luwak. Chan dan Garcia menyatakan bahwa pemanasan pada saat proses fermentasi dapat merusak membrane sel dan vakuola pada biji kopi, sehingga menyebabkan pengeluaran α -tocopherol dan kafein. Kandungan α -tokoferol pada kopi luwak lebih sedikit (Tabel 2.5). Kenaikan kadar kafein ini didukung dengan pernyataan Asihara *et al.*, (1996) yang menyebutkan bahwa pemanasan pada fermentasi biji kopi dapat meningkatkan kandungan kafein pada biji kopi robusta. Peningkatan kadar kafein ini dapat dikarenakan kerusakan membran sel serta vakuola di mana kafein biasanya terletak, yang disebabkan oleh proses pemanasan pada saat fermentasi. Kerusakan ini merupakan cara yang efektif untuk meningkatkan kadar kafein. Chan dan Garcia meneliti beberapa kandungan mineral (kecuali bromin dan karbon) ditemukan lebih rendah pada kopi luwak, karena diabsorbsi dalam saluran cerna luwak (Tabel 2.6).

Tabel 2.5 Kandungan kafein dan α -tokoferol dalam biji kopi robusta dan luwak robusta sebelum dan sesudah disangrai

	Biji Kopi Robusta	Kopi Robusta Disangrai	Biji Kopi Luwak Robusta	Kopi Luwak Robusta Disangrai
Kafein (ppm)	39,978	44,922	41,772	47,599
α -tokoferol (ppm)	0,419	1,320	0,328	0,349

Sumber: Chan dan Garcia (2011)

Tabel 2.6 Kandungan kadar mineral dalam biji kopi robusta dan luwak robusta sebelum dan sesudah disangrai.

Mineral (%)	Kopi Robusta Hijau	Kopi Robusta Disangrai	Kopi Luwak Robusta Hijau	Kopi Luwak Robusta Disangrai
C	43.24	58.90	64.02	64.86
O	44.77	30.72	31.59	25.89
Na	-	0.74	-	0.66
Mg	1.02	0.72	-	0.66
K	5.76	1.87	0.75	2.67
Ca	0.85	0.34	0.18	0.44
Fe	-	0.69	-	0.14
Zn	1.24	1.40	-	0.18
Cu	1.39	2.11	0.09	1.62
Br	1.73	2.52	3.37	3.10

Sumber: Chan dan Garcia (2011)

2.3. Fermentasi Kopi Menggunakan Bakteri Asam Laktat Luwak

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang atau bulat, katalase negative dan oksidase atau positif. Bakteri asam laktat tidak membentuk spora, pada umumnya tidak motil tetapi ada beberapa yang motil. Bakteri ini bersifat mikroalifilik hingga anaerob, membentuk asam dan dapat tumbuh pada kisaran suhu 15°C - 45°C. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alcohol dan garam yang tinggi, tumbuh pada pH 3,8-8,0 serta mampu memfermentasi monosakarida dan disakarida (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988).

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat sebagai hasil utama dari metabolisme karbohidrat. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya, menimbulkan rasa asam serta menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya (Buckle, 1987). Bakteri asam laktat mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat juga menghasilkan senyawa tertentu yang dapat meningkatkan nilai organoleptik makanan dan minuman, termasuk rasa dan bau yang mengundang selera serta memperbaiki penampilan (Suriawiria, 2003).

Pemanfaatan BAL oleh manusia telah dilakukan sejak lama, yaitu untuk fermentasi makanan. Bakteri asam laktat banyak digunakan untuk pengawetan dan memperbaiki tekstur dan cita rasa bahan pangan (Afrianto dan Liviawati, 1989). Bakteri asam laktat mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hydrogen peroksida dan bakteriosin. Dengan terbentuknya zat anti bakteri dan asam maka pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *E.coli* akan dihambat (Afrianto, dkk, 2006)

Metabolisme pokok dari bakteri asam laktat adalah kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula-gula sederhana sebelum difermentasi. Fermentasi glukosa pada prinsipnya terdiri dari dua tahap yaitu:

- a. Pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan paling sedikit dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa.
- b. Senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagai hasil fermentasi (Suwasono, 2006).

Bakteri asam laktat luwak merupakan jenis bakteri asam laktat yang dapat dimanfaatkan untuk keuntungan manusia . Penelitian yang dilakukan oleh Aisa (2008), Isolasi mikroba yang aktif dalam kotoran luwak segar telah ditemukan 5 spesies BAL (Bakteri Asam Laktat) dan teridentifikasi sebagai *Lactobacillus*

plantarum, *Lactobacillus brevis*, *Leconostoc paramesenteroides*, *Leconostoc mesentroides* dan *Streptococcus faecium*. Persentase jumlah berturut-turut 21,74%;17,39%;21,74%;26,09% dan 13,04%. Mikroba-mikroba tersebut kemudian dikembangbiakan pada sumber karbon tetes tebu dan gula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolate bakteri tumbuh baik pada sumber karbon tetes tebu 1-1,5%.

Pada penelitian yang dilakukan Lukman (2011), Kopi robusta yang diberi ragi kopi luwak bermedia tepung maizena pada perlakuan jumlah sel awal 10^8 cfu/gr pada jam ke 16 memiliki hasil uji citarasa dengan nilai 7.0 (*Good*) tetapi lebih rendah bila dibandingkan dengan skor uji cita rasa kopi luwak arabika sebesar 7.75.

Hasil penelitian Setyobudi (2011), tentang penggunaan ragi kopi luwak bermedia tepung maizena dan ragi roti pada fermentasi kering kopi robusta, menyatakan bahwa penambahan jumlah ragi kopi luwak bermedia tepung mizena dan ragi roti pada fermentasi kering kopi robusta terbaik pada konsentrasi 10^8 cfu/g dengan nilai hasil uji citarasa 7.0 (*Good*) atau setara dengan 1,43 g ragi kopi luwak tanpa ragi roti dengan lama fermentasi 16 jam lebih rendah dibandingkan dengan skor uji cita rasa kopi luwak arabika sebesar 7.75.

Hasil penelitian Agustini (2011), menunjukkan bahwa penambahan ragi kopi luwak bermedia tepung beras pada fermentasi kering kopi robusta terbaik pada konsentrasi 10^7 cfu/g selama 24 jam dengan skor preference 7.25 (*Good*). Nilai ini masih rendah dibandingkan dengan skor uji cita rasa kopi luwak arabika sebesar 7.75.

Pada penelitian yang dilakukan Gunawan (2011), menunjukkan bahwa penambahan ragi kopi luwak bermedia tepung beras dan ragi roti pada fermentasi kering kopi robusta terbaik pada konsentrasi 10^7 cfu/gr yang mempunyai skor cita rasa 7,25 dengan lama fermentasi 24 jam. Hasil ini masih rendah dibandingkan dengan skor uji cita rasa kopi luwak arabika sebesar 7.75.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di perkebunan kopi rakyat Desa Sidomulyo Kecamatan Silo Kabupaten Jember pada bulan Agustus tahun 2012, Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember pada bulan September 2012 - Februari 2013 .

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta dari perkebunan rakyat Desa Sidomulyo, feses luwak, MRS Broth, aquades, larutan kafein baku / standar 200 ppm. NaOH 0,1N, NaOH 30%, HCl 3% , , CH₃COOH 3% , KI 20% , H₂SO₄ 25% , Natrium tiosulfat 0,1 N, Glukosa anhidrat, Na₂CO₃, reagen Folin, pereaksi Nelson Somogy, Aluminium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini PH meter, roaster, cawan porselen, mikropipet, inkubator, eksikator, luminair flow, blue tip, jarum ose, termometer, spatula, kantong plastik, neraca analitik, kain sifon, autoklaf, bunsen, timbangan, karung goni, kertas saring, pompa, spektrofotometer uv-vis.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan pengolahan biji kopi robusta secara semi basah melalui fermentasi dengan menggunakan starter mikroflora asal feses luwak. Percobaan dirancang secara factorial dengan faktor lama fermentasi, terdiri dari 4 tingkat yaitu 0 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Lama perlakuan 0 jam digunakan sebagai kontrol.

Parameter analisis yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar karbohidrat, kadar gula reduksi, nilai pH, total asam tertitrasi, dan kadar kafein.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

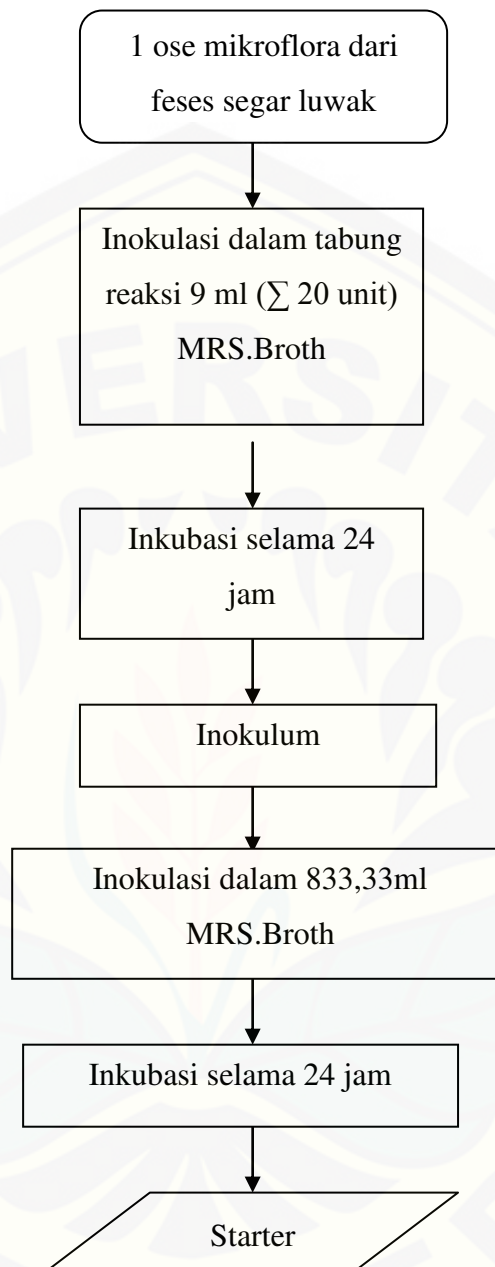
Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap

Tahap I. Pembuatan Media

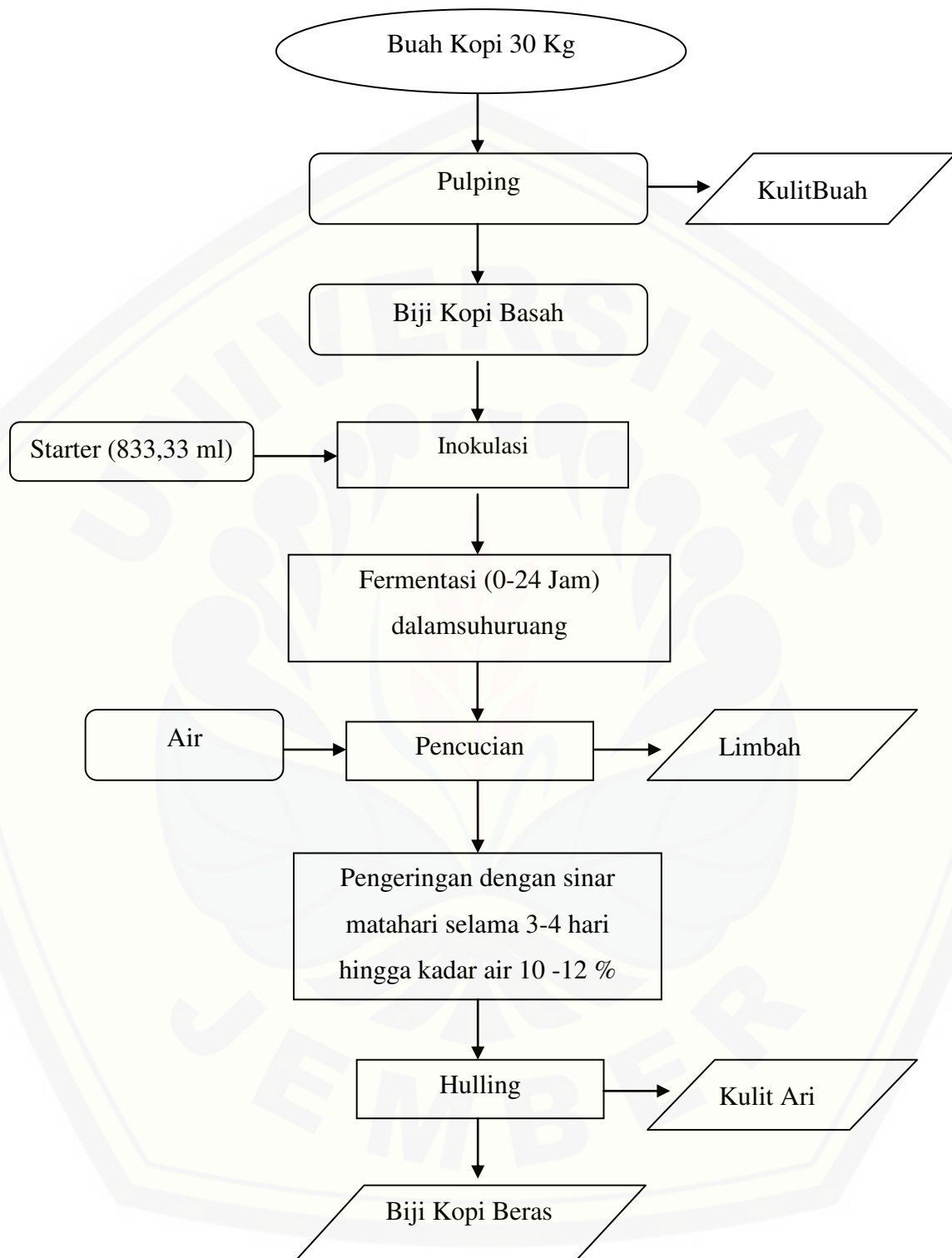
Pertama yang dilakukan adalah menyiapkan 2500 ml aquadest, kemudian ditambahkan media mrs broth sebanyak 52,229, diaduk hingga homogen dan dilakukan pemanasan sampai suhu 100 °C (sampai mendidih), kemudian dituang dalam tabung reaksi masing-masing 9 ml, sebanyak 20 unit, dan sisanya dituang dalam Erlenmeyer. Tutup tabung reaksi berisi media dengan kapas dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit, setelah itu dilakukan pendinginan media.

Tahap II. Pembuatan Starter

1 ose feses segar luwak diisolasi ke dalam 9 ml media MRS.BROTH yang berjumlah 20 unit dalam tabung reaksi dan ditumbuhkan selama 24 jam, kemudian inokulum diinokulasikan ke dalam 2500 ml MRS BROTH dan diinkubasi selama 24 jam. Kopi robusta sebanyak 30 kg difermentasi dengan menggunakan biakan mikroflora yang telah ditumbuhkan dengan media MRS BROTH sebanyak 833,33 ml dari 2500 ml media (Gambar 3.1). Penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan lama waktu fermentasi 0 jam , 8 jam , 16 jam , dan 24 jam dalam suhu ruang 20-25 °C. Kopi robusta yang telah difermentasi kemudian diambil masing-masing sampel kopi biji. Setiap sampel yang diambil langsung dicuci dan dikeringkan secara alami menggunakan sinar matahari selama 4 hari hingga diperoleh kadar air 10-12%. Setelah itu kopi robusta yang telah selesai dihulling kemudian dianalisa karakteristik kimia kopi biji robusta yang difermentasi menggunakan mikroflora feses segar luwak. Diagram alir dapat dilihat pada gambar 3.2



Gambar 3.1 Pembuatan starter inokulum dari feses segar luwak



Gambar 3.2 Diagram alir proses pengolahan kopi fermentasi secara semi-basah

3.4 Metode Analisis

3.4.1 Analisis Kadar Air (Metode Oven, Sudarmadji, 1997)

Botol timbang kosong dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105°C selama 30 menit didinginkan dalam eksikator kemudian ditimbang (a gram). Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang seberat 2 gram dalam botol timbang yang telah dikeringkan (b gram). Sampel dimasukkan kedalam oven dengan suhu 100-105 °C selama ±6 jam kemudian didinginkan dalam eksikator (± 30 menit) dan ditimbang (c gram). Kadar air ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

a = Berat botol timbang kosong (gram)

b = Berat bahan dan botol timbang sebelum di oven (gram)

c = Berat bahan dan botol timbang setelah di oven (gram)

3.4.2 Analisis Kadar Protein (Metode MikroKjeldhal, Sudarmadji, 1997)

Sampel sebanyak 1 gram dimasukkan dalam labu kjeldahl. Kemudian ditambahkan 5 g K₂SO₄, 0,25 g HgO dan 0,1 ml H₂SO₄. Kemudian semua bahan dalam labu kjeldahl dipanaskan dalam lemari asam sampai berhenti berasap. Selanjutnya diteruskan dengan pemanasan tambahan sampai mendidih dan cairan menjadi jernih selama lebih kurang satu jam, lalu bahan didinginkan (destruksi). Kemudian ditambahkan 40 ml aquades, beberapa lempeng Zn dan 35 ml larutan NaOH-Na₂S₂O₃ ke dalam labu kjeldahl. Setelah itu labu kjeldahl segera dipasang pada alat distilasi. Labu Kjeldahl perlahan – lahan dipanaskan sampai dua lapisan cairan tersebut tercampur, kemudian pemanasan diteruskan dengan cepat sampai mendidih (destilasi). Distilat yang dihasilkan ditampung dengan Erlenmeyer yang telah berisi dengan 15 ml larutan asam borat 4 % dengan 2-4 tetes indikator *methyl red*. Titrasi distilat yang diperoleh dengan larutan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna. Larutan blanko dibuat dengan mengganti bahan dengan aquades, kemudian destruksi, distilasi dan titrasi. Kadar protein dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(V1 - V2) \cdot N \cdot 0,014 \cdot f.k. \cdot BM}{W \cdot 1000} \times 100\%$$

W = Berat sampel.

V1 = Volume HCl 0,02 N yang dipergunakan sebagai sampel.

V2 = Volume HCl yang dipergunakan sebagai blanko.

N = Normalitas HCl (0,02)

f.k . = Faktor konversi dari nitrogen ke protein (6,25)

BM = Berat molekul nitrogen (14,008)

3.4.3 Analisis Kadar Lemak (Metode Soxhlet, Sudarmadji, 1997)

Kertas saring dioven pada suhu 60°C, kemudian ditimbang (a gram). Sebanyak 2 gram sampel dimasukkan kedalam tabung ekstraksi soxhlet dalam timbale atau kertas saring yang telah diketahui beratnya. Bahan yang sudah dimasukkan dalam kertas saring dioven, kemudian ditimbang (b gram). Air pendingin diuapkan melalui kondensor dalam tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi yang diisi pelarut petroleum benzene secukupnya selama 4-6 jam, Sampel kemudian diambil dan dioven pada suhu 60°C, ditimbang (c gram) dan diulang beberapa kali hingga diperoleh berat konstan. Kadar lemak dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

a = berat kertas saring (gram)

b = berat kertas saring dan sampel setelah dioven (gram)

c = berat kertas saring dan sampel setelah disoxhlet (gram)

3.3.4 Analisis Kadar Abu (Metode Gravimetri, Sudarmadji, 1997)

Cawan yang akan digunakan di oven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105 °C dan didinginkan pada eksikator dan ditimbang (a gram). Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dalam cawan yang sudah dikeringkan (b gram),

kemudian dibakar diatas nyala pembakaran (tanur) sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan didalam tanur hingga mencapai suhu 550-600 °C. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam eksikator dan ditimbang (c gram). Tahap ini di ulangi hingga diperoleh berat yang konstan. Perhitungan kadar abu dapat dihitung menggunakan rumus :

$$Kadar\ Abu\ (\%) = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

a = Bobot cawan kosong (gram)

b = Bobot contoh + cawan sebelum diabukan (gram)

c = Bobot contoh + cawan sesudah diabukan (gram)

3.3.5 Kadar Karbohidrat (Metode By Difference, Winarno, 2002)

Penentuan karbohidrat by difference dilakukan dengan mengurangi 100 % total komponen dasar antara lain kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar gula reduksi. Rumus perhitungan karbohidrat adalah sebagai berikut :

$$Karbohidrat\ (\%) = 100\% - \%(protein + lemak + abu + air + gula\ reduksi)$$

3.3.6 Kadar Gula Reduksi Metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji, 1997)

(i) pembuatan kurva standar

10 mg glukosa anhidrat dilarutkan dalam 100 ml aquades dari larutan glikosa tersebut dibuat 6 larutan glukosa standar dengan konsentrasi masing-masing 0,0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1ml setelah itu disiapkan 6 tabung reaksi yang kering dan bersih, kemudian isi masing-masing dari ke 5 tabung dengan 1ml larutan glukosa standar diatas, sedangkan satu tabung diisi dengan aquades sebagai blanko. Tambahkan 1ml pereaksi nelson pada setiap tabung, lalu panaskan dalam air mendidih selama 20 menit, setelah itu dinginkan hingga mencapai suhu 25°C, setelah dingin ditambahkan 1ml pereaksi arsenomolibdat. Gojok hingga semua endapan Cu₂O yang ada larut kembali. Setelah endapan Cu₂O larut sempurna tambahkan 7ml aquades dan gojoklah hingga homogen, selanjutnya absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang

gelombang 540nm. Setelah itu buat kurva yang menunjukkan hubungan antar kadar gula dan absorbansi.

(ii) penentuan gula reduksi

1 gr sampel dilarutkan kedalam 75 ml aquadest, kemudian divorteks selama 15 menit agar menjadi homogen dan disaring. Ambil filtrat dari sampel kemudian tera dalam labu ukur 100ml, siapkan tabung reaksi dan diisi dengan 1 ml larutan dan tambahkan 1 ml pereaksi Nelson. lalu dipanaskan dengan menggunakan air mendidih selama 20 menit. Dinginkan dan lanjutkan dengan penambahan 1 ml larutan Arsenomolibdat. Lalu digojok hingga endapan Cu_2O larut, kemudiam di tambah aquadest sampai 10 ml dan gojok hingga homogen. Selanjutnya baca larutan dengan absorbansi dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang yaitu 540 nm dan buat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara kadar gula dengan absorbansi. Persentase kadar gula reduksi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

Dari kurva standar akan diperoleh rumus : $y = ax + b$

Dimana nilai $x = \frac{y-b}{a}$

dimana: $x = \text{mg gula reduksi}$

$y = \text{nilai absorbans}$

a dan $b = \text{nilai dari persamaan kurva standart}$

maka akan diperoleh

$$\text{Kadar Gula Reduksi} = \frac{\text{FP} \times \text{mg gula reduksi}}{\text{beratsample} \times 1000} \times 100\%$$

3.3.7 Nilai pH (AOAC, 1984)

Pengukuran nilai ph dilakukan menggunakan alat pH-meter. Sebelum digunakan alat dikalibrasi dengan buffer pH 7 dan buffer pH 4. Sejumlah 5 gram contoh dihaluskan, ditambahkan dengan 50 ml aquadest, dan diaduk hingga

merata. Nilai pH diukur dengan menempatkan elektroda pada sampel, dan nilai pH dilihat pada layar pH-Meter.

3.3.8 Total Asam Tertitrasi *Metode Acidi-alkalimetri (Fardiaz, 1992)*

5 gr sampel diencerkan dengan menggunakan aquadest 50 ml, yang kemudian disaring dengan menggunakan kain sifon. Sampel yang telah disaring dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan diencerkan ke dalam aquades. Sampel yang diencerkan diambil sebanyak 5 ml dan ditambahkan 2 tetes fenolftalein 1%, setelah itu dilanjutkan dengan proses titrasi. Titrasi dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 0,1N sampai timbul menjadi warna merah muda. Total asam titrasi diasumsikan sebagai total asam laktat. Untuk perhitungan total asam dapat digunakan rumus seperti dibawah ini:

$$\text{Kadar Asam Laktat}(\%) = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BM \times FP}{\text{gr sampel} \times 1000} \times 100\%$$

3.3.9 Kadar Kafein *Metode Bailey-Andrew (AOAC, 1999)*

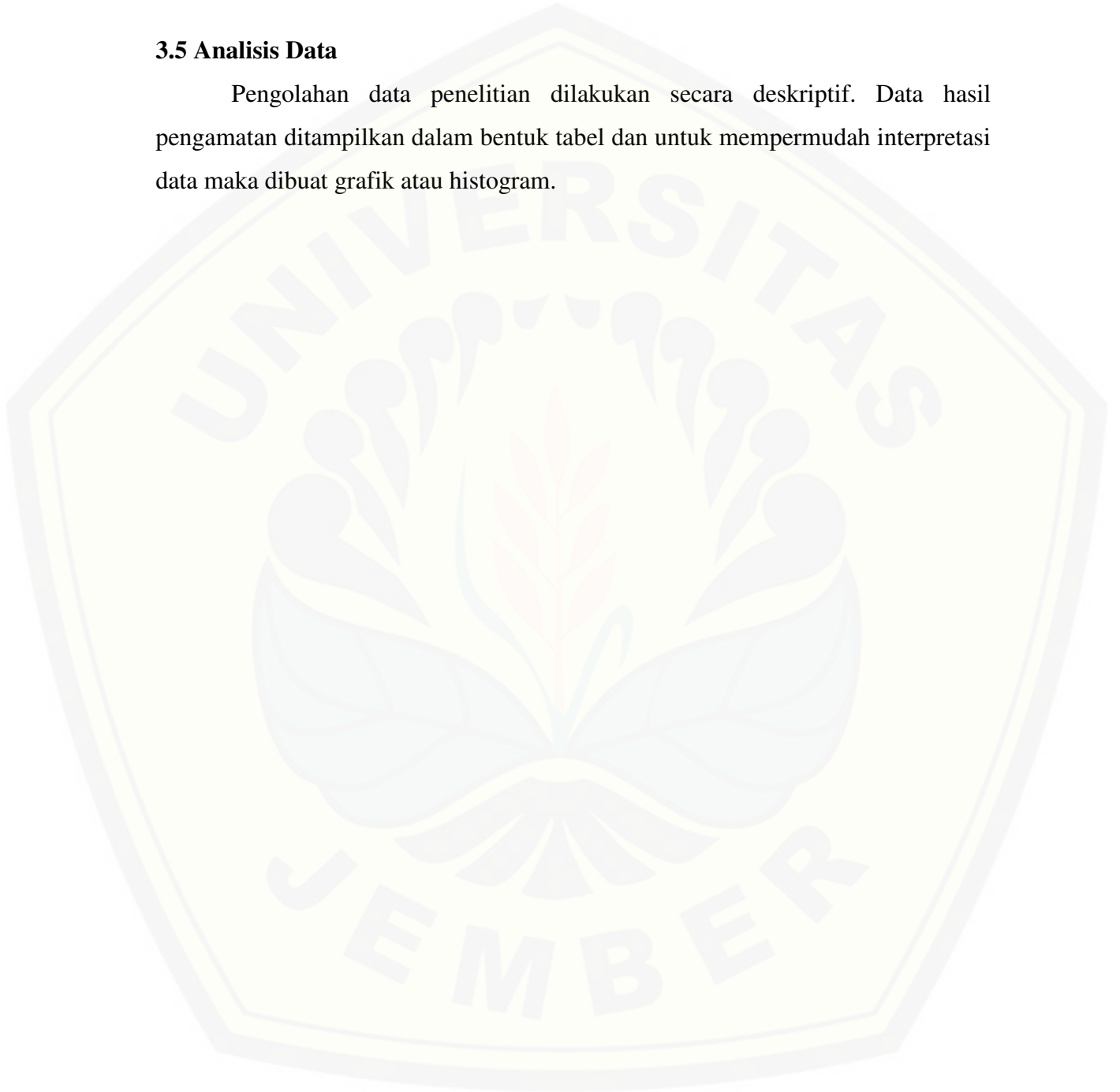
Timbang 5 gr sampel halus (30 mesh) ke dalam erlenmeyer masukkan 5 gr MgO ditambah 200 ml aquades. Pasang pendingin balik didihkan pelan-pelan selama 2 jam lalu didinginkan kemudian diencerkan sebanyak 500 ml lalu disaring. Dipindahkan filtrat 300 ml ke labu godog ditambah 10 ml asam sulfat (1:9) kemudian di didihkan sampai volume tinggal 100 ml. Cairan dimasukkan corong pemisah dan digojog berkali-kali dengan chloroform berturutan menggunakan 25, 20, 15, 10, 10, dan 10 ml . Semua cairan dimasukkan ke corong pemisah, kemudian ditambah 5 ml KOH 1% digojog dan dibiarkan sampai cairan terpisah. Cairan bagian bawah dikeluarkan ke dalam erlenmeyer. Corong pemisah ditambah lagi 10 ml chloroform lalu digojog biarkan sampai terpisah jelas kemudian cairan bagian bawah dikeluarkan dicampur dengan cairan dalam erlenmeyer. Pencucian diulang 1x lagi . Larutan dalam chloroform didalam erlenmeyer tadi diuapkan solvenya pada waterbath sehingga tinggal residunya. Kemudian dikeringkan dalam oven 100 °C sampai bobot konstan (~ bobot kafein kasar).

$$\text{Kadar Kafein} = \frac{grN \times 3.464 \times 500}{grcontoh \times 300} \times 100\%$$

Faktor konversi N ke kafein = 3,464

3.5 Analisis Data

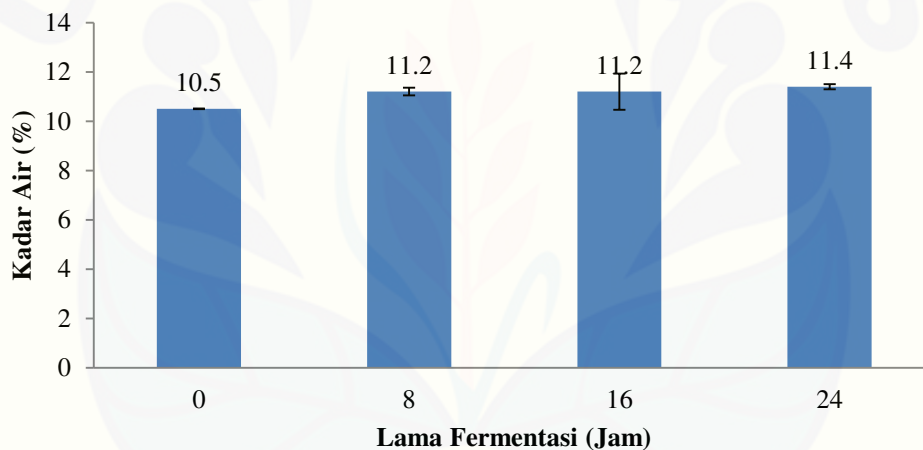
Pengolahan data penelitian dilakukan secara deskriptif. Data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel dan untuk mempermudah interpretasi data maka dibuat grafik atau histogram.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kadar Air

Kadar air merupakan komponen penting dalam penentuan mutu kopi. Hal ini dikarenakan kadar air yang terlalu tinggi dapat menyebabkan timbulnya jamur pada biji kopi pada saat penyimpanan. Menurut SNI biji kopi dikatakan bermutu baik bila memiliki kadar air kurang dari 12 %. Oleh sebab itu kadar air merupakan salah satu komponen yang selalu di uji pada biji kopi. Hasil uji kadar air biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak menunjukkan semakin lama fermentasi semakin tinggi kadar air yang terdapat pada biji kopi. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.1 .



Gambar 4.1 Kadar air biji kopi hasil fermentasi menggunakan starter mikroflora feses luwak

Pada Gambar 4.1 diketahui bahwa pada lama fermentasi 0 jam, 8 jam 16 jam, dan 24 jam, berturut turut memiliki kadar air 10, 53%, 11, 2%, 11,2%., dan 11.4%. Perlakuan lama fermentasi 8 jam , 16 jam, dan 24 jam mengalami peningkatan kadar air bila dibandingkan pada perlakuan 0 jam. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu fermentasi aktivitas mikroflora feses segar luwak semakin meningkat. Peningkatan aktivitas mikroflora dapat meningkatkan degradasi senyawa dalam biji kopi. Degradasi senyawa makromolekul dalam biji kopi diduga akan meningkatkan pengikatan molekul air. Hal ini sesuai dengan

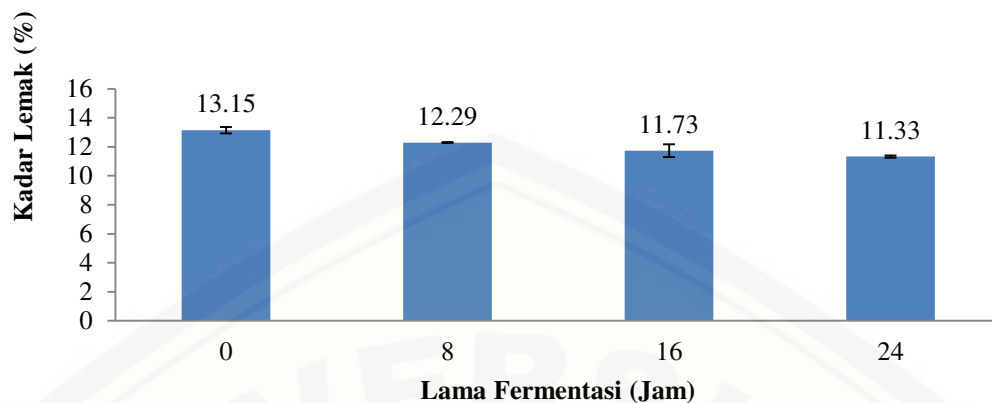
pendapat Fardiaz (1992) bahwa pada fermentasi terjadi perombakan glukosa menjadi karbondioksida (CO_2) dan air (H_2O) sehingga akan meningkatkan kadar air pada bahan kering.

Fermentasi akan mempengaruhi kandungan air yang terdapat dalam biji kopi hasil fermentasi. Hasil analisa kadar air biji kopi tertinggi diperoleh pada perlakuan lama fermentasi 24 jam sebesar 11.4%. Peningkatan kadar air pada perlakuan fermentasi 24 jam terjadi karena diduga dalam pertumbuhannya, mikroflora feses segar luwak berada dalam fase stasioner sehingga air (H_2O) yang dihasilkan lebih banyak. Hal ini didukung dengan kadar gula reduksi yang rendah pada perlakuan 24 jam. Terjadinya perombakan glukosa yang besar sehingga kadar air pada biji kopi yang dihasilkan lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lama fermentasi lainnya.

Hasil analisa kadar air mulai dari perlakuan 0 jam sampai 24 jam nilainya fluktuatif. Fluktuatifnya nilai kadar air ini menurut Sudarmadji, *et al* (1997) dikarenakan kadar air merupakan komponen yang tidak tetap karena mudah terpengaruh oleh faktor-faktor dari luar. Seluruh sampel biji kopi hasil fermentasi ini bila mengacu pada standart SNI dapat dikatakan bahwa seluruh sampel bermutu baik karena memiliki kadar air kurang dari 12%.

4.2 Kadar Protein

Protein berperan dalam pembentukan rasa pahit dalam biji kopi. Semakin tinggi kadar protein dalam biji kopi maka minuman kopi yang dihasilkan cenderung lebih pahit (Pangabea, 2011). Hasil analisa kadar protein biji kopi robusta yang difermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak diketahui bahwa lama fermentasi yang dilakukan dapat mempengaruhi penurunan kadar protein dimana semakin lama fermentasi kadar protein semakin menurun. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.2.

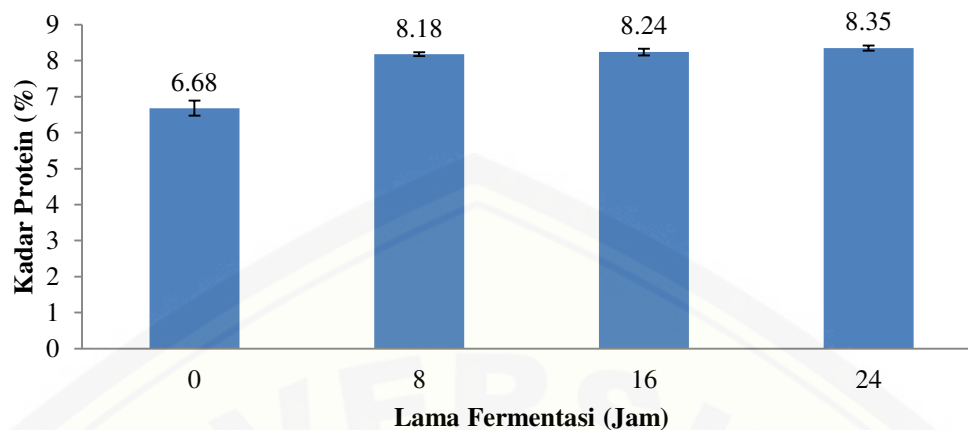


Gambar 4.2 Kadar protein biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

Hal ini menurut Marcone (2004) karena dalam saluran pencernaan luwak terdapat mikroflora yang memiliki enzim proteolitik sehingga mampu memecah dan kemudian unuk digunakan sebagai sumber energi. Menurut Fardiaz (1992) bahwa saat fermentasi berlangsung, mikroorganismenya dapat menggunakan karbohidrat, protein, dan lemak sebagai sumber energi. Hal ini didukung oleh pendapat Setyatwan (2007) yang menyatakan bahwa lama inkubasi berkaitan erat dengan waktu yang dapat digunakan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak kandungan zat yang digunakan bakteri untuk hidupnya sehingga jumlah zat makanan yang tersisa semakin sedikit termasuk senyawa protein.

4.3 Kadar Lemak

Hasil analisa kadar lemak pada biji kopi robusta yang difermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak diketahui bahwa selama fermentasi terjadi peningkatan kadar lemak pada biji kopi robusta. Semakin lama fermentasi kadar lemak semakin meningkat. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.3.

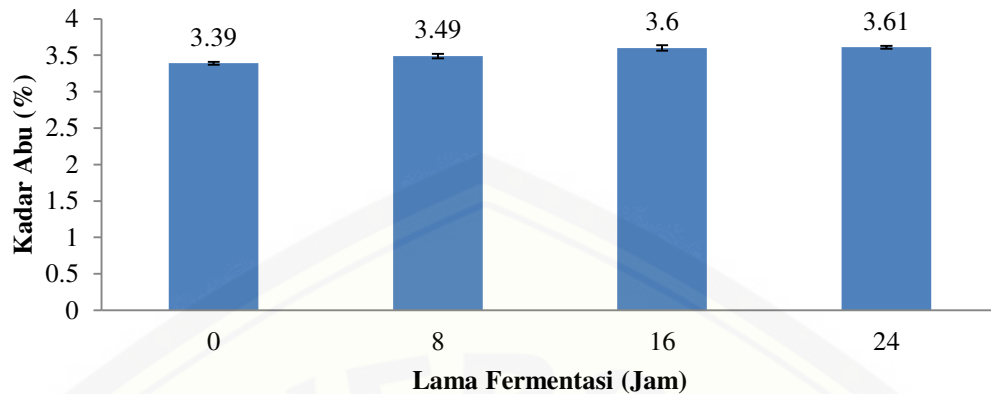


Gambar 4.3 Kadar lemak biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

Kecenderungan peningkatan kadar lemak tersebut diduga diakibatkan pendegradasian senyawa-senyawa makromolekul yang terdapat dalam biji kopi baik itu dari senyawa protein ataupun senyawa karbohidrat. Dari penelitian Aisa (2008) dapat diketahui bahwa pada mikroflora feses segar luwak terdapat sedikit khamir dan beberapa jenis bakteri. Dari hasil analisis total asam dan nilai pH diketahui bahwa mikroflora dalam pencernaan luwak pada fermentasi ini dapat menghasilkan asam-asam organik. Asam-asam organik ini diduga dapat mensintesa lemak. Pada hasil analisis protein diketahui bahwa kadar protein mengalami penurunan ini dapat diduga akibat pemecahan (hidrolisis) protein menjadi asam amino. Peningkatan kadar lemak dapat dikarenakan terdapatnya asam-asam organik dan asam amino yang dapat digunakan untuk mensintesa lemak (Lehninger A, 1992)

4.4 Kadar Abu

Hasil analisa kadar abu biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar abu yang tidak terlalu signifikan pada biji kopi. Selama fermentasi terjadi peningkatan kadar abu pada biji kopi robusta. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.4.

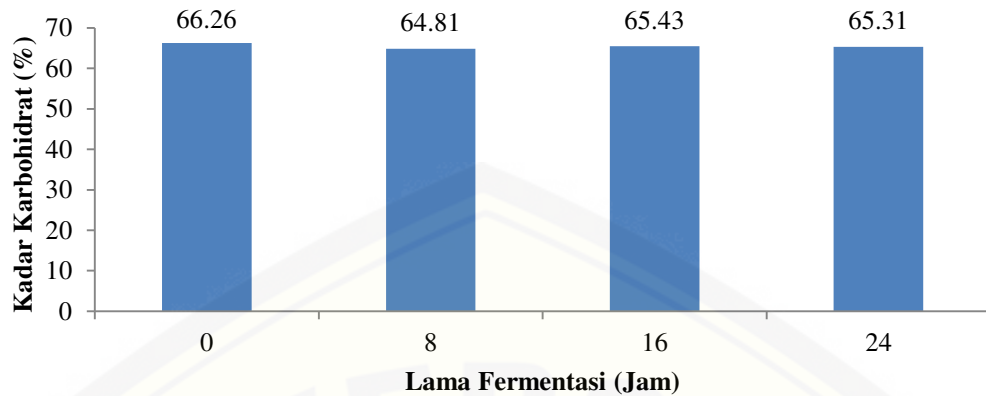


Gambar 4.4 Kadar abu pada biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

Dari Gambar 4.4 diketahui bahwa sedikit terjadi peningkatan kadar abu pada biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora feses segar luwak seiring dengan lama fermentasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Marcone (2004) dimana kadar abu kopi luwak robusta (3.6%) lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar abu kopi robusta (3.4%). Menurut Clarke dan Macrae (1985) semakin lama fermentasi yang dilakukan maka kadar abu akan semakin meningkat. Lamanya fermentasi akan menyebabkan terjadinya perombakan komponen-komponen zat dalam kopi karena meningkatnya suhu pada waktu fermentasi. Selain itu biji kopi banyak mengandung mineral-mineral yang dapat meningkatkan kelarutan seperti logam monovalen yaitu natrium dan kalium serta fosfor dan sulfur yang terdapat dalam jumlah besar.

4.5 Kadar Karbohidrat

Karbohidrat menyumbang lebih dari 50 % dari berat kering biji kopi. Kadar karbohidrat selain dari gula reduksi pada biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora feses luwak dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kadar kabohidrat pada biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

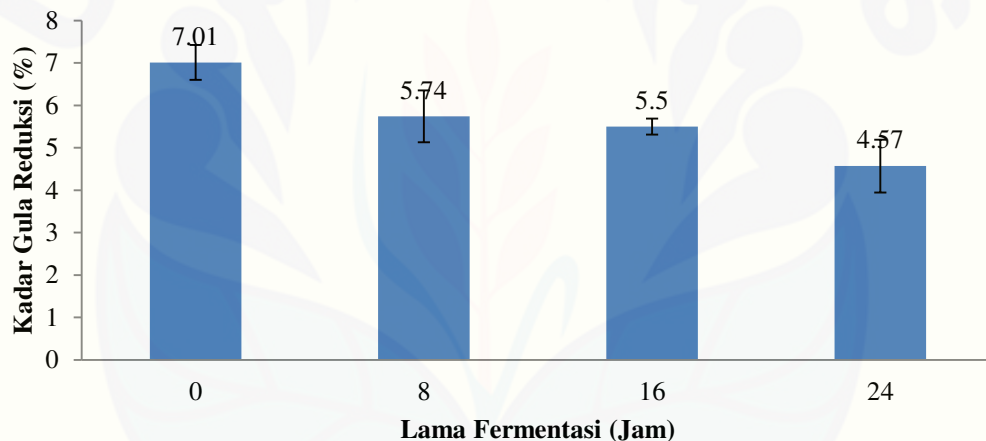
Pada Gambar 4.5 diketahui bahwa kadar kabohidrat biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora feses segar luwak mengalami penurunan. Penurunan ini karena digunakannya karbohidrat sebagai sumber energi mikroflora feses segar luwak. Kadar karbohidrat dianalisa dengan menggunakan metode *by difference* sehingga komponen-komponen kimia lain dapat sangat berpengaruh. Sehingga peningkatan kadar abu akibat fermentasi dapat mempengaruhi proporsi jumlah karbohidrat.

Pada starter mikroflora feses luwak yang digunakan terdapat sedikit khamir dan banyak bakteri asam laktat yang pada umumnya menghasilkan sejumlah besar asam laktat (Aisa, 2008). Khamir yang terdapat dalam starter cenderung memfermentasikan substrat karbohidrat untuk menghasilkan etanol bersama sedikit produk akhir lainnya (Buckle dkk, 1987). Penurunan kadar karbohidrat selama proses fermentasi biji kopi menggunakan mikroflora feses luwak dapat dikarenakan beberapa hal. Polisakarida akan terlebih dahulu dipecah menjadi gula-gula sederhana. Glukosa digunakan sebagai sumber energi untuk menghasilkan metabolisme berupa asam-asam organik. Selain glukosa jenis karbohidrat lain juga digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi untuk pertumbuhan mikroorganisme (Ardhana, 1982). Hal ini diperkuat dengan pendapat Darwis dan Sukara (1990), bahwa mikroba membutuhkan senyawa sumber energi yang diperoleh dari perombakan senyawa organik maupun anorganik. Sumber energi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat

(CH_2O) dan hidrokarbon (CH_2). Karbohidrat dalam bentuk serat kasar merupakan material organik yang menyumbangkan unsur karbon (C) pada proses biokonversi zat makanan dalam proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba untuk menghasilkan energi.

4.6 Kadar Gula Reduksi

Kadar gula reduksi dapat dijadikan salah satu indikator terjadinya fermentasi. Selama fermentasi terjadi pemecahan karbohidrat oleh mikroflora feses segar luwak menjadi molekul gula sederhana. Perubahan kadar gula reduksi pada biji kopi robusta yang difermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak dapat dilihat pada Gambar 4.6.



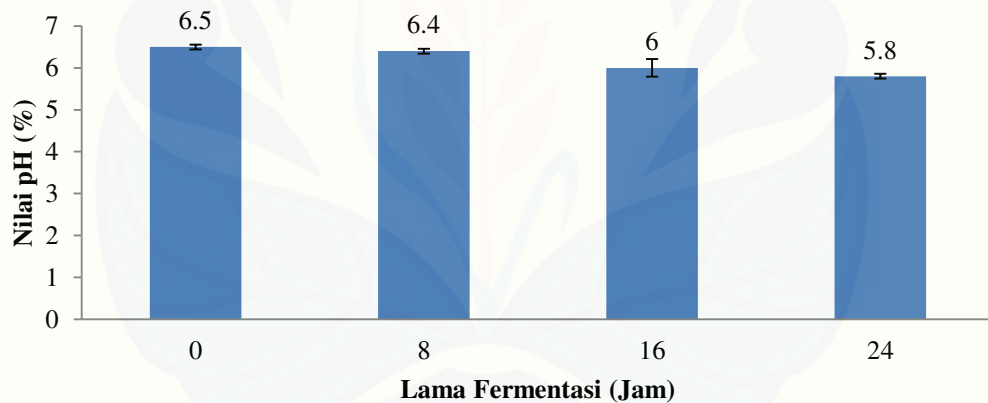
Gambar 4.6 Kadar gula reduksi pada biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

Dari Gambar 4.6 dapat dilihat bahwa seiring dengan penambahan lama fermentasi kandungan gula reduksi biji kopi semakin menurun. Penurunan kadar gula reduksi diakibatkan adanya aktifitas mikroflora feses segar luwak yang ditambahkan. Mikroflora feses segar luwak menggunakan glukosa pulp biji kopi dan biji kopi untuk pertumbuhan dan pembentukan asam sehingga menyebabkan penurunan gula reduksi dan peningkatan keasaman biji kopi.

Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa penurunan gula reduksi diikuti dengan penurunan nilai pH serta meningkatnya kandungan asam pada biji kopi. Menurut Pramanik (2003), penurunan kadar gula reduksi diikuti oleh penambahan keasaman substrat atau nilai pH semakin menurun dengan bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini diperkuat dengan pendapat Katz, (2005) yang menyatakan bahwa kadar gula reduksi selama fermentasi cenderung mengalami penurunan karena mikroflora dapat menggunakan gula sederhana yang ada.

4.7 Nilai pH

Salah satu indikator terjadinya fermentasi adalah adanya perubahan derajat keasaman sebagai akibat metabolisme yang dilakukan oleh bakteri asam laktat yang terdapat pada mikroflora feses segar luwak. Hasil pengujian nilai pH pada biji kopi hasil fermentasi kering dengan penambahan starter mikroflora feses luwak dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Perubahan nilai pH biji kopi hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak

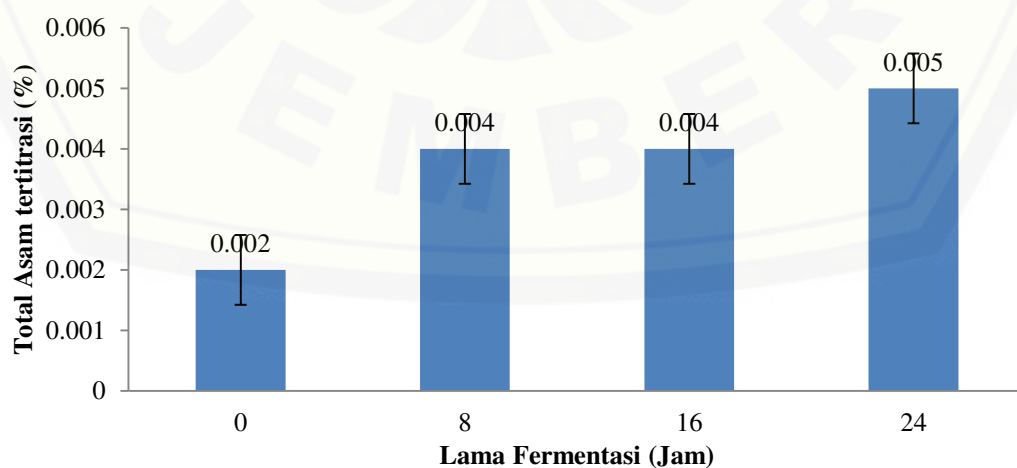
Dari Gambar 4.7 dapat diketahui terjadi penurunan pH selama biji kopi difermentasi. Penurunan nilai pH disebabkan adanya peningkatan asam-asam organik yang terbentuk selama fermentasi dilakukan. Pembentukan asam-asam organik terjadi akibat adanya aktivitas metabolisme mikroba yang ditambahkan terutama bakteri asam laktat dalam fermentasi tersebut. Pada lama fermentasi 0 jam nilai pH biji kopi lebih tinggi bila dibandingkan dengan sampel waktu

perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan inokulum mampu meningkatkan aktivitas metabolisme dalam mendegradasi gula pulp seiring dengan perlakuan lama fermentasi. Lama fermentasi cenderung meningkatkan kadar asam biji kopi. Berarti inokulum mikroflora feses segar luwak yang ditambahkan mampu melakukan aktivitas saat fermentasi.

Penurunan nilai pH selama fermentasi menunjukkan bahwa jumlah sel mikroba pada mikroflora feses segar luwak mampu mendegradasi gula pada biji kopi sehingga menjadi lebih asam. Hal ini mengindikasikan bahwa mikroflora yang terdapat dalam feses luwak segar mengandung kelompok mikroorganisme yang mampu menghasilkan asam-asam organik. Hal ini diperkuat pendapat Singh *et al.*, (2003) yang menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas sel mikroorganisme akan diimbangi dengan penurunan pH atau peningkatan akumulasi asam.

4.8 Total Asam Tertitrasi

Total asam tertitrasi dapat dijadikan salah satu indikator terjadinya fermentasi. Hal ini dikarenakan setiap fermentasi yang dilakukan oleh mikroflora pasti menghasilkan asam-asam organik akibat proses metabolisme yang dilakukan oleh mikroflora yang digunakan sebagai starter. Perubahan total asam tertitrasi pada biji kopi robusta hasil dari penambahan starter mikroflora feses luwak dapat dilihat pada Gambar 4.8.



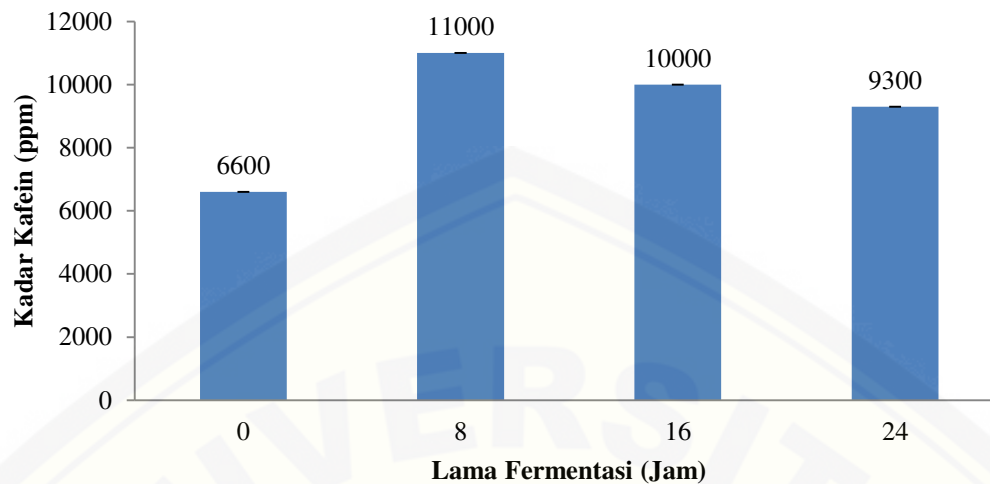
Gambar 4.8 Total Asam Tertitrasi pada biji kopi robusta hasil dari fermentasi menggunakan starter mikroflora feses luwak

Pada Gambar 4.8 jumlah asam tertitrasi cenderung semakin meningkat seiring peningkatan lama fermentasi. Pada perlakuan 0 jam yaitu 0.002, total asam tertitrasi sangat rendah bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan 0 jam belum terjadi fermentasi. Asam tertitrasi mulai mengalami peningkatan pada perlakuan 8 jam, 16 jam, dan 24 jam berturut-turut yaitu 0.004, 0.004, dan 0.005. Dari gambar dapat dikatakan bahwa peningkatan total asam yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh lama fermentasi.

Peningkatan total asam titrasi terjadi karena pembentukan asam-asam organik sebagai hasil degradasi gula oleh starter mikroflora feses segar luwak yang ditambahkan. Menurut Yang (2000), fermentasi oleh bakteri asam laktat ditandai dengan peningkatan jumlah asam-asam organik, dimana jumlah dan jenis asam yang dihasilkan bergantung pada spesies, komposisi media fermentasi dan kondisi pertumbuhan bakteri asam laktat. Mikroflora dalam saluran pencernaan luwak dapat tumbuh dengan baik dan terkonsentrasi merombak senyawa karbohidrat menjadi bentuk yang lebih sederhana dan merubahnya menjadi asam-asam organik karena tercukupinya nutrisi makro maupun mikro pada media fermentasi. Menurut Charalampopoulos *et al.*, (2002) aktivitas mikroba selama proses fermentasi akan menyebabkan turunnya pH seiring dengan meningkatnya keasaman produk sebagai asam laktat, dan asam-asam organik lainnya akan terakumulasi.

4.9. Kadar Kafein

Hasil analisa kadar kafein biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak diketahui bahwa Fermentasi menggunakan mikroflora feses luwak dapat mempengaruhi kadar kafein yang terdapat pada biji kopi robusta . Walaupun memiliki nilai yang fluktuatif secara keseluruhan kadar kafein mengalami penurunan. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Kadar kafein biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan mikroflora asal feses luwak.

Hasil analisa kadar kafein lama fermentasi 8 jam, 16 jam, dan 24 jam masing-masing mengalami peningkatan kadar kafein bila dibandingkan dengan lama fermentasi 0 jam (Gambar 4.9). Kenaikan kadar kafein ini menurut Asihara *et al.*, (1996) dikarenakan pemanasan pada fermentasi biji kopi dapat meningkatkan kandungan kafein pada biji kopi robusta. Peningkatan kadar kafein ini dapat dikarenakan kerusakan membran sel serta vakuola di mana kafein biasanya terletak, yang disebabkan oleh proses pemanasan pada saat fermentasi. Kerusakan ini merupakan cara yang efektif untuk meningkatkan kadar kafein.

Pada penelitian Chan dan Garcia (2011), kadar kafein (47,6 mg/kg) biji kopi luwak robusta lebih tinggi dibanding kadar kafein (44,9 mg/kg) biji kopi robusta (Tabel 2.5). Chan dan Garcia menyatakan bahwa pemanasan pada saat proses fermentasi dapat merusak membrane sel dan vakuola pada biji kopi, sehingga menyebabkan pengeluaran α -tocopherol dan kafein. Penelitian Septia, (2010), juga menunjukkan hubungan kenaikan kadar kafein dengan proses fermentasi (buatan) pada biji kopi dibandingkan biji kopi biasa.

Secara keseluruhan dari data yang didapat, semakin lama fermentasi biji kopi cenderung mengalami penurunan. Penurunan ini diduga karena larutnya senyawa kafein seiring lama fermentasi. Kafein merupakan senyawa yang mudah larut pada air, alcohol, dan kloroform. Kelarutan naik dalam air panas pada suhu

80°C atau alkohol panas pada suhu 60°C) (Ridwansyah, 2003). Pada biji kopi seiring lama fermentasi maka suhu akan meningkat hingga mencapai suhu lebih dari 50 °C. Mikroflora feses segar luwak pada saat fermentasi menghasilkan produk sampingan berupa alcohol (Fauzi, 2008).



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian diketahui bahwa biji kopi robusta hasil fermentasi menggunakan starter mikroflora asal feses luwak memiliki karakteristik sebagai berikut : selama 24 jam kadar air berkisar antara 10,5-11,4%, kadar protein 11,33-13,15%, kadar lemak 6,68-8,35%, kadar abu 3,39-3,61%, kadar karbohidrat 64,81-66,26%(by difference), kadar gula reduksi 4,57-7,01%, pH 5,8-6,6, total asam tertitrasi 0,002-0,005% dan kadar kafein 6600-11000 mg/kg. Biji kopi robusta hasil fermentasi 16 jam memiliki nilai proksimat yang mendekati kopi luwak robusta asli hasil penelitian Marcone (2004), dengan kadar kafein sesuai hasil penelitian Chan and Garcia (2011) sebesar 10000 mg/kg.

5.2 Saran

Perlu dikaji analisa lebih mendalam mengenai kandungan asam-asam organic yang mampu dihasilkan oleh mikroflora feses luwak dan perlu juga dikaji analisa fermentasi yang lebih mendalam dengan pengkondisian suhu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeki. 2010. <http://www.aeki-aice.org/page/luwakkopi#/produkid/2010>. September 2010
- Aeki. 2013. <http://www.aeki-aice.org/page/ekspor/id/2013>. Agustus 2013.
- Agustini, Ririn. 2011. “Studi Optimasi Dosis Ragi Kopi Luwak Multikultur Bermedia Tepung Beras Pada Pengolahan Kopi Robusta Secara Semi Basah”. Skripsi. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UJ.
- Anonim. 2003. *Mendongkrak Harga Kopi Domestik Melalui Diversifikasi dan Peningkatan Kualitas*. Jakarta: Pusat Standartisasi dan Akreditasi-Deptan.
- Aisa, Fitriyah Nur. 2008. “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Feses-Kopi Luwak (Civet Coffee) Sebagai agen Fermentasi Biji Kopi” Skripsi. FTP-Universitas Jember.
- Ardhana, M. 1982. “The Microbial Ecology og Tape Ketan Fermentation”. Thesis. The University of New South Wales University, Sydney.
- Armansyah M., 2010. *Mempelajari Minuman Formulasi Dari Kombinasi Bubuk Kakao Dengan Jahe Instan*. Teknologi Pertanian. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Ashihara H, Monteiro AM, Gillies FM, Crozier A. 1996a. Biosynthesis of caffeine in leaves of coffee. *Plant Physiol*. 111: 747-753.
- Ashihara H, Monteiro AM, Moritz T, Gillies FM, Crozier A . 1996b. Catabolism of caffeine and related purine alkaloids in leaves of *Coffea arabica L*. *Planta* 198: 334-339.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 365 hlm.
- Borrelli, R.C., Visconti, A., Menella, C., Anese, M., & Fogliano, V. 2002. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:22, 6527 – 6533.
- BSN. 2008. Sni 01-2907-2008. Jakarta. Ics 67.140.20
- Brown, A. 2000. *Understanding Food Principle and Preparations*. Wadsworth. Belmont.
- Chemspider.2013a.<http://www.chemspider.com/ChemicalStructure.1405788.html>. Agustus 2013.
- Chemspider. 2013b. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2424.html>. Agustus 2013.
- Ciptadi dan Nasution A. 1978. *Pengolahan Kopi*. Bogor : Departemen Teknologi Hasil Pertanian Fatemeta IPB.

- Ciptadi, W. dan Nasution, M.Z. 1985. *Pengolahan Kopi*. Fakultas Teknologi Institut Pertanian Bogor.
- Chan, S. & Garcia, E. 2011. Comparative Physicochemical Analyses of Regular and Civet Coffee. *The Manila Journal of Science*, 7:1, 19 – 23.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S.S., Webb, C. 2002. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from “Ting” in The Northern Province of South Africa. Thesis. University of Pretoria. Pretoria.
- Choi, H.K., & Curhan, G. 2007. Coffee, tea, and caffeine consumption and serum uric acid level: the third national health and nutrition examination survey, *Arthritis Care & Research*, 57:5, 816-821.
- Clarke, R.J. & Macrae, R. 1987. *Coffee chemistry*. Volume 1. Elsevier Applied Science, London, and New York.
- Clifford, M.N. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 362 – 372.
- Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Berte, F., & Gazzani, G. 2000. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1449–1454.
- Darwis, A.A., dan E. Sukara. 1990. *Teknologi Mikrobial*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dermawansyah. 2010. Komoditas Kopi. <http://dermawansyah91.wordpress.com/2010/12/20/komoditas-kopi-harus-ikuti-standar-internasional/>. Diakses pada tanggal 18 maret 2011 jam 08.18 WIB.
- Direktorat Jenderal Perkebunan, Departemen Pertanian. 2012. Statistik Perkebunan Indonesia 2009 – 2012 (Kopi), Jakarta.
- Ditjenbun. 2012. http://ditjenbun.deptan.go.id/perbenpro/index.php?option=com_content&view=article&id=213:perbaikan-mutu-kopi-indonesia&catid=34:berita. Senin, 18 Juni 2012 06:37.
- Djumarti. 1999. *Teknologi Pengolahan Kopi dan Kakao*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Djumarti. 2005. *Teknologi Pengolahan Kopi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNEJ.
- Evans, W.B., & Trease. 2002. *Caffeine in Pharmacognosy*. Edisi 15. New York: WB Saunders, 126, 388, 389.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

- Fauzi, M. 2008. "Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat biji kopi luwak (*Civet Coffe*)". Laporan Penelitian. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Gardner, F.P., Pearce, P. R. B., Mitchell, R. L. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI Press: Jakarta.
- Giyarto, Fauzi, M, and Bakri, A. 2010. *Rekayasa teknologi fermentasi biji kopi robusta: Aplikasi ragi kopi berbasis isolat bakteri asam laktat kopi luwak dan ragi roti*. Lembaga Penelitian-Universitas Jember.
- Ginandjar, I. 1977. *Fermentasi Biji Mucuna proriens DC dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Protein*. Disertasi. IPB. Bandung.
- Gunawan, Hery. 2011. "Pengolahan Kopi Robusta Secara Semi Basah Menggunakan Inokulum Ragi Kopi Luwak Bermedia Tepung Beras: Studi Optimasi Penambahan Ragi roti Pada fermentasi Biji Kopi". Skripsi. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UJ.
- Harvad Women's Health . 2009. <http://majalahkesehatan.com/manfaat-kopi-bagi-kesehatan/>. 14 februari 2010.
- Ismayadi, C. 1999. *Penyimpanan Biji Kopi dan Kakao*. Jember: Balai Penelitian Perkebunan Jember.
- Iyayi EA. 2004. Changes in the cellulose, sugar, and crude protein contents of agro-industrial by-products fermented with *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium sp.* *Afr J Biotechnol.* 3:186-188.
- Katz, A. 2005. Egg Consumption and Endothelial Function : A Randomized Controlled Crossover Trial. *Int J Cardiol*, 99 (1),65-40.
- Kuswanto, K. R. ,dan Sudarmadji, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. www. Blogger. Com.
- Lawalata, H.J. 2001. *Fermentasi Bekasang oleh Bakteri Asam Laktat dengan Jeroan Ikan Tongkol (Euty affinis) Sebagai Substrat*. Thesis Pasca Sarjana UGM. Jember: www.blogger.com//ikatan mahasiswa kecamatan tebas.htm. Diakses Tanggal 26 april 2010.
- Lehninger, Albert. 1982. *Dasar – Dasar Biokimia Jilid I*. Erlangga. Jakarta
- Lukman, Irul. 2011. "Studi Optimasi Dosis Ragi Kopi luwak Multikultur Bermedia Tepung Maizena Pada Pengolahan Kopi Robusta Secara Semi Basah". Skripsi . Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UJ.
- Manurung, Z. N. dan Soenaryo. 1978. *Pengolahan Coklat pada Perkebunan Besar*. Bogor: Balai Penelitian Perkebunan Bogor.
- Marcone, M. F. 2004. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi luwak robusta) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International*, 37:9. 901 – 912.
- Mulato, Sri. 2002. Simposium Kopi 2002 dengan tema Mewujudkan perkopian Nasional Yang Tangguh melalui Diversifikasi Usaha Berwawasan

- Lingkungan dalam Pengembangan Industri Kopi Bubuk Skala Kecil Untuk Meningkatkan Nilai Tambah Usaha Tani Kopi Rakyat. Denpasar : 16 – 17 Oktober 2002. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Mulato, Sri. *et al.*, 2004. *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kopi*. Jember: Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Kopi dan Kakao, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Najiyati, S dan Danarti, 1990. *Budidaya dan Penanganan Lepas Panen Kopi*, Penebar swadaya, Jakarta.
- Nicoli, M.C., Anese, M., Manzocco, L., &. Lericci, C.R. 1997. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie . Food Science and Technology*, 30. 292-297.
- Pramanik, K., 2003. *Parametrics Studies on Batch Alcohol Fermentation Using Saccharomyces cerevisiae Yeast Extracted From Toddy*, Department of Chemical Engineering, Regional Engineering College, Andra Pradesh.
- Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Agromedia pustaka. Bandung
- Purwadaria T.1997. The Correlation between Amylase and Cellulase Activities with Starch an Fibre Contents on The Fermentation of Cassapro (Cassava Protein) with *Aspergillus niger*. *Proc Indonesian BiotechnolConference*. Jakarta, 17-19 Juni, 1997. 1: 379-390.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2006. *Pengolah Produk Primer dan Sekunder Kopi*, Jember.
- Ramos-Valdivia A, de la Torre M, Casas-Campillo C. 1983. Solid State Fermentation of Cassava with *Rhizopus Oligosporus*. In *Production and Feeding of Single Cell Protein*. Ed. M.P. Ferranti dan A. Fiechter. *Appl Sci Pub*, London.
- Randi Sumitro, 2006. *Kebijakan Pengembangan Industri Pengolahan dan Pemasaran Kopi*. Bina Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian, Departemen Pertanian. Jakarta.
- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Sadler, G.D. and P.A. Murphy. 2003. pH and Titratable Acidity. Di dalam : Suzane Nielsen (Ed). *Food Analysis Third Edition*: Purdue University, West Lafayette, Indiana
- Septia, S. 2010. *Mempelajari pengaruh konsentrasi ragi dalam formulasi inokulum fermentasi dan lama penyangraian terhadap mutu kopi bubuk*” Skripsi. FTP- Universitas Sumatra Utara.
- Setyatwan H. 2007. Peningkatan Kualitas Nutrisi Duckweed Melalui Fermentasi Menggunakan *Trichoderma reesei*. *JIT*. 7(2) :113-116.

- Setyobudi, Antok. 2011. Penggunaan Ragi Kopi Luwak Bermedia Tepung Maizena dan Ragi Roti Pada Fermentasi Kering Kopi Robusta. . Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UJ.
- Singh, T. K., M. A. M Drake and K. R. Cadwallader. 2003. Flavour of Cheddar Cheese : A Chemical and Sensory Perspective. *Food Science and Food Safety*. Vol 2:139-162.
- Sivets, M and H. E. Foote. 1963. *Coffee Processing Technology vol 1*. Westport: The AVI Publication Inc., Connecticut.
- Spallane, jj. 1990. *Komoditi Kopi*. Kanisius. Yogyakarta
- Stephanie dan Purwadaria, T. 2013. *Fermentasi Substrat Padat Kulit Singkong Sebagai Bahan Pakan Ternak Unggas*. [Puslitbang Peternakan](#). Hal 15-22.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Suriawiria, U. 2003. *Mikrobiologi Air*. Penerbit PT Alumni, Bandung.
- Sumarsono, 1999, *Proses Pengolahan Kopi Arabika*, PTPN XII Blawan, Bondowoso.
- Suwasono, Sony. 2006. *Teknologi Fermentasi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNEJ.
- Suprapti, L. 2006. *Pengawetan Telur Asin, Tepung Telur, dan Telur Beku*. Kanisius. Yogyakarta.
- Tello, J., Viguera, M., & Calvo, L. (2011). *Extraction of caffeine from robusta coffee (coffea canephora vr. robusta) hus ks using supercritical carbon dioxide*. The Journal of Supercritical Fluids, 59. 53-60.
- Yahmadi, M. 1998. Peluang dan Tantangan Pemasaran Kopi Jawa Timur. Workshop Pengendalian Hama Terpadu Pada Komoditas Kopi . 24 Pebruari 1998 di Surabaya. Bagpro PHT-PR/IPM-SECP Jatim. 1-8
- Yang, Z. 2000. *Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria*. Academia Dissertation Department of Food Technology University of Helsinki. Helsinki.
- Zahiroh, S, Noor, E, dan Meryandini, A. 2013. Fermentasi biji kopi menggunakan bakteri selulolitik, xilanolitik dan proteolitik asal luwak. *Journal IPB*. Intitut Pertanian Bogor. Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran A. Gambar Pengolahan Biji Kopi Secara Semi Basah



Gambar A.1 Biji Kopi dimasukkan ke dalam mesin pulper



Gambar A.2 Biji Kopi dipulper



Gambar A.3 Biji Kopi dimasukkan dalam karung dan dimasukkan starter



Gambar A.4 Biji kopi difermentasi waktu dengan perlakuan lama fermentasi



Gambar A.5 Penjemuran Biji Kopi

Lampiran B. Biji Kopi Robusta Hasil Olahan Semi Basah Menggunakan Mikroflora feses Luwak



B.1 Biji Kopi Robusta Lama Perlakuan 0 Jam



B.2 Biji Kopi Robusta Lama Perlakuan 8 Jam



B.3 Biji Kopi Robusta Lama Perlakuan 16 Jam



B.4 Biji Kopi Robusta Lama Perlakuan 24 Jam

Lampiran C. Hasil uji Karakteristik Kimia Biji Kopi Robusta**C.1 Kadar Air**

Sampel	Sebelum Oven		Setelah oven Botol+bahan	Kadar Air	Rata- rata	Stadev
	Botol timbang	Berat bahan				
0 Jam						
Ulangan 1	12.789	2.018	14.595	10.50		
Ulangan 2	12.985	2.021	14.793	10.54	10.52	0.02
Ulangan 3	13.357	2.022	15.166	10.53		
8 Jam						
Ulangan 1	12.349	2.018	14.141	11.19		
Ulangan 2	12.473	2.019	14.261	11.44	11.23	0.15
Ulangan 3	12.851	2.022	14.648	11.13		
16 Jam						
Ulangan 1	12.723	2.018	14.512	11.35		
Ulangan 2	12.744	2.019	14.548	10.64	11.23	6.47
Ulangan 3	12.782	2.017	14.562	11.75		
24 Jam						
Ulangan 1	12.583	2.018	14.371	11.40		
Ulangan 2	13.339	2.017	15.124	11.50	11.40	0.10
Ulangan 3	14.629	2.017	16.418	11.30		

Kadar air dihitung menggunakan rumus :

$$Kadar\ Air\ (\%) = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\ %$$

a = Berat botol timbang kosong (gram)

b = Berat bahan dan botol timbang sebelum di oven (gram)

c = Berat bahan dan botol timbang setelah dioven (gram)

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

Berat botol timbang = 12,789

Berat bahan + botol timbang = 14,807

Berat bahan + botol timbang setelah oven = 14,595

$$Kadar\ Air\ (\%) = \frac{(14,807 - 14,595)}{(14,807 - 12,789)} \times 100\ %$$

$$= 10.50\ %$$

C.2 Kadar Protein

Sampel	Berat sampel	Volume Hcl pada Sampel	Volume Hcl pada blanko	N Hcl	% Protein	Rata-rata	Stadev
0 Jam							
Ulangan 1	0.507	7.98	0.35	0.098	12.91	13.15	0.22
Ulangan 2	0.511	8.30	0.35	0.098	13.35		
Ulangan 3	0.509	8.17	0.35	0.098	13.18		
8 Jam							
Ulangan 1	0.509	7.62	0.35	0.098	12.26	12.29	0.04
Ulangan 2	0.508	7.65	0.35	0.098	12.33		
Ulangan 3	0.508	7.62	0.35	0.098	12.28		
16 Jam							
Ulangan 1	0.511	7.58	0.35	0.098	12.14	11.73	0.44
Ulangan 2	0.508	7.33	0.35	0.098	11.79		
Ulangan 3	0.508	7.02	0.35	0.098	11.26		
24 Jam							
Ulangan 1	0.508	7.10	0.35	0.098	11.40	11.33	0.08
Ulangan 2	0.510	7.09	0.35	0.098	11.34		
Ulangan 3	0.511	7.05	0.35	0.098	11.25		

Kadar protein dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(V1 - V2) \cdot N \cdot f.k. \cdot BM}{W \cdot 1000} \times 100\%$$

W = Berat sampel.

V1 = Volume HCl 0,098 N yang dipergunakan sebagai sampel.

V2 = Volume HCl yang dipergunakan sebagai blanko.

N = Normalitas HCl (0,098)

f.k. = Faktor konversi dari nitrogen ke protein (6,25)

BM = Berat molekul nitrogen (14,008)

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

$$W = 0,507$$

$$V1 = 7,98$$

$$V2 = 0,35$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(7,98 - 0,35) \cdot 0,098 \cdot 6,25 \cdot 14,008}{0,507 \cdot 1000} \times 100\%$$

$$= 12,91\%$$

C.3 Kadar Lemak

Sampel	Sebelum Oven		Setelah oven Kertas saring+ban	Setelah Soxhlet	Kadar Lemak	Rata-rata	Stadev
	Berat kertas saring	Berat bahan					
0 Jam							
Ulangan 1	0.239	2.044	2.286	2.148	6.74		
Ulangan 2	0.304	2.037	2.339	2.207	6.45	6.68	0.21
Ulangan 3	0.342	2.005	2.34	2.203	6.86		
8 Jam							
Ulangan 1	0.284	2.019	2.303	2.139	8.12		
Ulangan 2	0.281	2.008	2.286	2.121	8.23	8.18	0.06
Ulangan 3	0.352	2.023	2.343	2.180	8.19		
16 Jam							
Ulangan 1	0.308	2.042	2.355	2.188	8.16		
Ulangan 2	0.302	2.032	2.317	2.149	8.34	8.24	0.09
Ulangan 3	0.342	2.046	2.387	2.219	8.21		
24 Jam							
Ulangan 1	0.339	2.034	2.369	2.201	8.28		
Ulangan 2	0.311	2.038	2.349	2.179	8.34	8.35	0.07
Ulangan 3	0.272	2.031	2.314	2.142	8.42		

Contoh Perhitungan :

Kadar lemak dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Lemak}(\%) = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

a = berat kertas saring (gram)

b= berat kertas saring dan sampel setelah dioven (gram)

c= berat kertas saring dan sampel setelah disoxhlet (gram)

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

a = 0,239

b= 2,286

c=2,148

$$\begin{aligned} \text{Kadar Lemak}(\%) &= \frac{(2,286 - 2,148)}{(2,286 - 0,239)} \times 100 \% \\ &= 6,74 \% \end{aligned}$$

C.4 Kadar Abu

Sampel	Sebelum pengabuan		Setelah pengabuan kurs+bahan	Kadar abu	Rata-rata	Stadev
	Berat kurs	Berat bahan				
0 Jam						
Ulangan 1	31.069	2.011	31.137	3.38		
Ulangan 2	34.658	2.021	34.727	3.41	3.39	0.02
Ulangan 3	31.513	2.016	31.581	3.37		
8 Jam						
Ulangan 1	31.534	2.021	31.604	3.46		
Ulangan 2	32.204	2.018	32.275	3.52	3.49	0.03
Ulangan 3	31.634	2.009	31.704	3.48		
16 Jam						
Ulangan 1	31.275	2.009	31.347	3.58		
Ulangan 2	32.319	2.016	32.391	3.57	3.60	0.04
Ulangan 3	31.433	2.008	31.506	3.64		
24 Jam						
Ulangan 1	32.237	2.021	32.310	3.61		
Ulangan 2	32.553	2.004	32.625	3.59	3.61	0.02
Ulangan 3	31.423	2.009	31.496	3.63		

Contoh perhitungan :

Kadar abu dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

a = Bobot cawan kosong (gram)

b = Bobot contoh + cawan sebelum diabukan (gram)

c = Bobot contoh + cawan sesudah diabukan (gram)

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

a = 31,069

b = 33,080

c = 31,137

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{31,137 - 31,069}{33,080 - 31,069} \times 100\%$$

$$= 3,38 \%$$

C.5 Kadar Karbohidrat

Sampel	Kadar Air	Kadar Protein	Kadar Lemak	Kadar Abu	Kadar Karbohidrat	Rata-Rata	Stadev
0 Jam							
Ulangan 1	10.50	12.91	6.74	3.38	66.47		
Ulangan 2	10.54	13.35	6.45	3.41	66.25	66.26	0.20
Ulangan 3	10.53	13.18	6.86	3.37	66.06		
8 Jam							
Ulangan 1	11.19	12.26	8.12	3.46	64.97		
Ulangan 2	11.44	12.33	8.23	3.52	64.48	64.81	0.25
Ulangan 3	11.13	12.28	8.19	3.48	64.92		
16 Jam							
Ulangan 1	11.35	12.14	8.16	3.58	64.77		
Ulangan 2	10.64	11.79	8.34	3.57	65.66	65.43	0.33
Ulangan 3	11.75	11.26	8.21	3.64	65.14		
24 Jam							
Ulangan 1	11.40	11.40	8.28	3.61	65.31		
Ulangan 2	11.50	11.34	8.34	3.59	65.23	65.31	0.09
Ulangan 3	11.30	11.25	8.42	3.63	65.40		

Kadar karbohidrat dihitung menggunakan rumus :

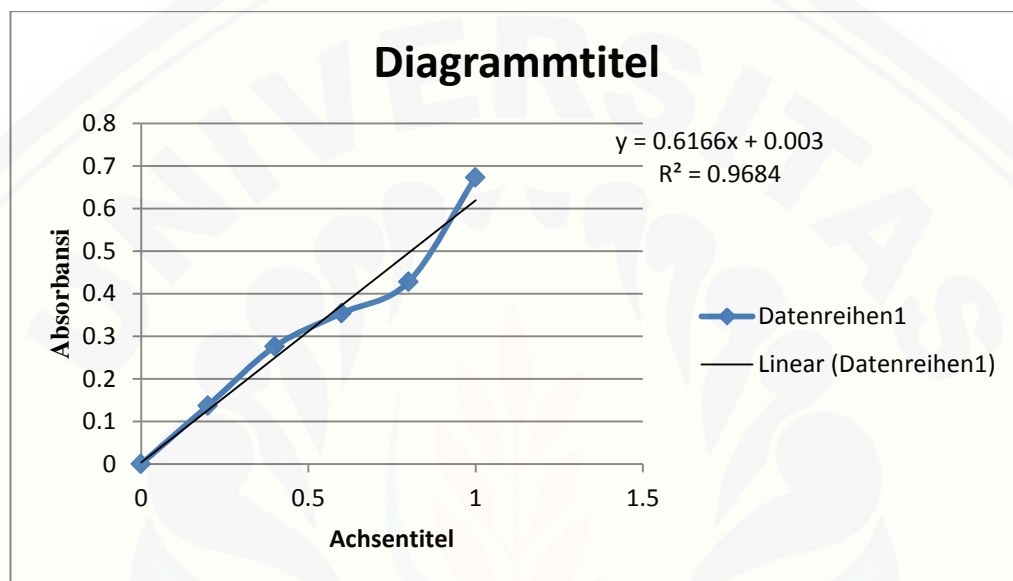
$$\text{Karbohidrat (\%)} = 100\% - \%(\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

$$\begin{aligned} \text{Karbohidrat (\%)} &= 100\% - \%(12,91 + 6,74 + 3,38 + 10,50) \\ &= 66,47 \end{aligned}$$

C.6 Kadar Gula Reduksi

0	Absorbansi
0.2	0.137
0.4	0.276
0.6	0.354
0.8	0.428
1	0.673



Dari kurva standar diperoleh persamaan :

$$y = 0.616x + 0.003$$

$$x = \frac{y - 0.003}{0.616}$$

Dimana x = mg gula reduksi

Kemudian menghitung kadar gula reduksi menggunakan rumus

$$\text{Kadar Gula Reduksi} = \frac{\text{FP X mg gula reduksi}}{\text{berat sample X 1000}} \times 100\%$$

	Berat sampel	absorbansi	mg gula reduksi	Kadar gula reduksi	Rata-rata	Stadev
0 Jam						
Ulangan 1	1.009	0.444	0.715909	7.095234		
Ulangan 2	1.009	0.411	0.662338	6.564298	7.009426	0.409031
Ulangan 3	1.009	0.461	0.743506	7.368746		
8 Jam						
Ulangan 1	1.009	0.378	0.608766	6.033362		
Ulangan 2	1.009	0.385	0.62013	6.145985	5.738398	0.611028
Ulangan 3	1.009	0.316	0.508117	5.035846		
16 Jam						
Ulangan 1	1.009	0.356	0.573052	5.679405		
Ulangan 2	1.009	0.345	0.555195	5.502426	5.497063	0.185081
Ulangan 3	1.009	0.333	0.535714	5.309359		
24 Jam						
Ulangan 1	1.009	0.242	0.387987	3.845263		
Ulangan 2	1.009	0.305	0.49026	4.858868	4.563903	0.625679
Ulangan 3	1.009	0.313	0.503247	4.987579		

Contoh perhitungan :

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

Absorbansi = 0,444

Berat sampel = 1,009

Kemudian menghitung mg gula reduksi menggunakan persamaan kurva standart

$$x = \frac{0,444 - 0.003}{0.616}$$

X= 0,7159

Kemudian menghitung kadar gula reduksi menggunakan rumus

$$\text{Kadar Gula Reduksi} = \frac{100 \times 0,7159}{1,009 \times 1000} \times 100\%$$

= 7,095

C.7 Nilai pH

Perlakuan/Sample	0	8	16	24
U1	6.6	6.4	6.2	5.9
U2	6.5	6.3	5.8	5.9
U3	6.5	6.4	6.1	5.8
Total	19.5	19.1	18.1	17.6
Rataan	6.53	6.37	6.03	5.87
Standart Deviasi	0.058	0.058	0.21	0.06

C.8 Total Asam tertitrasi

Sampel	Berat sampel	Volume NaOH pada Sampel	Volume NaOH pada blanko	N NaOH	% Total Asam	Rata-rata	Stadev
0 Jam							
Ulangan 1	5.005	0.9	0	0.1	0.003		
Ulangan 2	5.005	0.6	0	0.1	0.002	0.002	0.00058
Ulangan 3	5.005	0.6	0	0.1	0.002		
8 Jam							
Ulangan 1	5.005	1.1	0	0.1	0.004		
Ulangan 2	5.005	1.4	0	0.1	0.005	0.004	0.00058
Ulangan 3	5.005	1.2	0	0.1	0.004		
16 Jam							
Ulangan 1	5.005	1.2	0	0.1	0.004		
Ulangan 2	5.005	1.5	0	0.1	0.005	0.004	0.00058
Ulangan 3	5.005	1.1	0	0.1	0.004		
24 Jam							
Ulangan 1	5.005	1.4	0	0.1	0.005		
Ulangan 2	5.005	1.7	0	0.1	0.006	0.005	0.00058
Ulangan 3	5.005	1.5	0	0.1	0.005		

Dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar asam Laktat}(\%) = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BM \times FP}{\text{gr sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

ml NaOH = 0.9

gr sampel = 5.005

N NaOH = 0.0981

Faktor pengenceran = 100:50 = 2

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{0.9 \times 0.0981 \times 0.09 \times 2}{5.005 \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0.003 \%$$

C.9 Kadar Kafein

Sampel	Berat sampel	Berat Residu (gr N)	Kadar Kafein	Rata-rata	Stadev	Kafein (mg/kg)	Rata-rata
0 Jam							
Ulangan 1	5.013	0.0057	0.66			6600	
Ulangan 2	5.012	0.0056	0.65	0.66	0.001	6500	6600
Ulangan 3	5.012	0.0057	0.66			6600	
8 Jam							
Ulangan 1	5.013	0.0094	1.08			10800	
Ulangan 2	5.013	0.0099	1.14	1.1	0,04	10140	11000
Ulangan 3	5.014	0.0093	1.07			10700	
16 Jam							
Ulangan 1	5.012	0.0084	0.97			9700	
Ulangan 2	5.012	0.0086	0.99	1	0,04	9900	10000
Ulangan 3	5.013	0.009	1.04			10400	
24 Jam							
Ulangan 1	5.014	0.0081	0.93			9300	
Ulangan 2	5.013	0.0083	0.96	0.93	0,03	9600	9300
Ulangan 3	5.012	0.0079	0.91			9100	

Kadar kafein dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar kafein} = \frac{\text{gr N} \times 3.464 \times 500}{\text{gr contoh} \times 300} \times 100\%$$

Dimana

Faktor konversi dari nitrogen ke kafein = 3,464

Pada perlakuan 0 jam ulangan 1 diperoleh :

Berat residu (gr N) = 0,0057

Berat bahan = 5,013

$$\text{Kadar kafein} = \frac{0,0057 \times 3.464 \times 500}{5,013 \times 300} \times 100\%$$

$$= 0,66 \%$$

Konversi dalam satuan mg/kg (ppm)

$$\frac{0,66 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} = \frac{6600 \text{ mg}}{1 \text{ kg}} = 6600 \text{ mg/kg (ppm)}$$

