



**KARAKTERISASI KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL
DENGAN PENAMBAHAN ENZIM α -AMILASE
SELAMA FERMENTASI**

SKRIPSI

Oleh:
YULI DEWI PUJI ASTUTIK
NIM 131710101045

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**KARAKTERISASI KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL
DENGAN PENAMBAHAN ENZIM α -AMILASE
SELAMA FERMENTASI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh:

YULI DEWI PUJI ASTUTIK

NIM 131710101045

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Miftahul Choiron, S.TP, M.Sc.

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Sunarko dan Ibu Sriwahyuni tercinta, sebagai penyemangat, motivator dan inspiratorku, tanpa kalian tak mungkin aku sampai pada titik ini, terimakasih untuk segala *support* dan pengorbanannya selama ini.
2. Adikku tercinta Reta Ayu Dian Isnaini. Kamu bukan hanya adik tapi sekaligus rival dan *supporter*. Semoga segala mimpi-mimpi dan perjuanganku yang belum sempat tercapai dapat kau teruskan. *Keep fighting!*
3. Teman-teman proyek kopi Unni, Ninda, Bertus, Ikhwan, Eris, Vani, Dita, Ucup yang sudah rela tidak tidur 2 hari demi fermentasi kopi. Kalian luar biasa.
4. Keluarga besar THP-C 2013, kalian yang selalu jadi teman berjuang selama aku menyelesaikan kuliah ini. Empat tahun bersama kalian terasa sangat istimewa. Terimakasih THP-C 2013 untuk semua kenangannya dibangku kuliah.
5. Teruntuk keluarga kontrakan, teman sekamar, teman tetangga kamar, teman kuliah, sesama pejuang skripsi dan anak rantau Riri, Paula, Kikiw, suwun rek masa-masa kuliah bareng kalian istimewa.
6. Seorang teman, kakak, sahabat, *partner*, motivator yang sudah bersedia direpotin selama menyelesaikan skripsiku. Terimakasih banyak pak boss buat semua dukungan, bantuan dan semangatnya.
7. Dosen Pembimbing Utama Ir. Mukhammad Fauzi M.Si sekaligus pemilik proyek kopi luwak, terimakasih banyak atas bimbingan dan segala dukungannya pak. Pak Miftahul Choiron S.TP.,M.Sc selaku dosen pembimbing anggota skripsi saya dan Bu Wiwik Siti Windrati selaku dosen pembimbing akademik. Terimakasih banyak pak bu atas semua ilmu dan bimbingannya.

8. Terimakasih untuk semua teknisi laboratorium jurusan THP FTP UNEJ atas segala bantuan dan bimbingannya selama saya menjalankan penelitian.

MOTTO

Merakit mimpi lewat doa, mewujudkan lewat usaha, dan menikmati hasil lewat syukur. Tuhan sudah mengukur kemampuan, menakar porsi yang sesuai bagi tiap-tiap mereka yang mau berproses.

(Penulis)

Barang siapa yang melapangkan satu kesusahan dunia dari seorang mukmin maka ALLAH melapangkan darinya satu kesusahan dihari kiamat

(HR. MUSLIM)

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuli Dewi Puji Astutik

NIM : 131710101045

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “KARAKTERISASI KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL DENGAN PENAMBAHAN ENZIM α -AMILASE SELAMA FERMENTASI” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 10 Juni 2017

Yang menyatakan,

Yuli Dewi Puji Astutik

NIM 131710101045

SKRIPSI

**KARAKTERISASI KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL
DENGAN PENAMBAHAN ENZIM α -AMILASE
SELAMA FERMENTASI**

Oleh:

YULI DEWI PUJI ASTUTIK

NIM 131710101045

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Miftahul Choiron, S.TP, M.Sc.

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

2017

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi berjudul “KARAKTERISASI KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL DENGAN PENAMBAHAN ENZIM α -AMILASE SELAMA FERMENTASI” karya Yuli Dewi Puji Astutik NIM 131710101045 telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Senin, 12 Juni 2017

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota

Ir. Mukhammad Fauzi M.Si
NIP 196307011989031004

Miftahul Choiron S.TP., M.Sc
NIP 198503232008011002

Tim penguji:

Ketua

Anggota I

Dr. Ir. Sih Yuwanti M.P
NIP 196507081994032002

Ir. Giyarto M.Sc
NIP 196607181993031013

Mengesahkan
Dekan

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

RINGKASAN

Karakterisasi Kimia Kopi Luwak Robusta Artifisial Dengan Penambahan Enzim α -Amilase Selama Fermentasi; Yuli Dewi Puji Astutik; 131710101045; 2017; 72 Halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kopi luwak memiliki nilai ekonomis tinggi. Kopi ini memiliki keistimewaan berupa flavor dan citarasa yang khas. Flavor serta citarasa ini terbentuk selama buah kopi berada dalam sistem pencernaan hewan luwak akibat fermentasi serta hidrolisis yang terjadi. Fermentasi dan hidrolisis memberikan perubahan pada komposisi kimia biji kopi yang mempengaruhi peningkatan kualitas biji kopi yang dihasilkan. Salah satu enzim yang berperan dalam hidrolisis dalam sistem pencernaan hewan luwak adalah enzim α -amilase. Enzim ini dapat menghidrolisis komponen pati menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa. Disisi lain produktivitas dari kopi luwak masih fluktuatif, sehingga diperlukan suatu upaya produksi kopi memanfaatkan teknologi fermentasi untuk menghasilkan kopi dengan kualitas yang hampir sama dengan kopi luwak asli. Kopi luwak robusta artifisial dapat membantu mengatasi permasalahan rendahnya harga jual kopi robusta dan menjaga kontinuitas produk kopi luwak robusta artifisial di pasaran.

Penelitian ini dilakukan dengan fermentasi kopi robusta menggunakan inokulum ragi feses luwak dan penambahan enzim α -amilase selama 8, 16, 24, dan 32 jam. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pembuatan inokulum mikroflora, pembuatan ragi dan fermentasi buah kopi robusta. Enzim α -amilase ditambahkan selama fermentasi untuk mengetahui pengaruhnya pada kualitas kimia kopi luwak robusta artifisial yang dihasilkan. Kontrol yang digunakan yaitu kontrol 1 berupa kopi luwak robusta komersial dan kontrol 2 berupa kopi robusta tanpa fermentasi. Hasil penelitian diolah menggunakan aplikasi SPSS 15.0 *for Windows* dan dianalisis menggunakan ANOVA taraf 5% dan uji lanjut *Tukey*.

Hasil penelitian menunjukkan lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar kafein, dan penambahan enzim α -amilase tidak memberikan pengaruh pada kadar kafein kopi luwak robusta artifisial. Kadar kafein dengan nilai tertinggi A1B0 (0,8%) dan terendah A4B1 (0,45%). Semakin lama fermentasi kadar kafein akan mengalami penurunan akibat degradasi komponen kafein menjadi senyawa *uric acid*. Lama fermentasi dan penambahan enzim tidak memberikan pengaruh signifikan pada parameter kadar glukosa. Kadar glukosa tertinggi yaitu pada A1B1 (9,31%) sedangkan yang terendah A4B0 (8,92%). Semakin lama fermentasi kadar glukosa akan semakin menurun karena glukosa diubah oleh mikroba menjadi asam-asam organik selama fermentasi sehingga kadarnya cenderung mengalami penurunan. Pada parameter pH lama fermentasi memberikan pengaruh yang signifikan sedangkan penambahan enzim tidak berpengaruh pada pH. pH tertinggi yaitu perlakuan A1B1 (6,2), sedangkan yang terendah yaitu perlakuan A4B1 (5,9). Semakin lama fermentasi maka jumlah asam-asam organik yang terakumulasi akan semakin meningkat sehingga mempengaruhi penurunan pH. Lama fermentasi dan penambahan enzim tidak memberikan pengaruh signifikan pada parameter kadar air. Kadar air tertinggi yaitu A1B1 (10,82%) sedangkan yang terendah pada A4B0 (9,55%). Semakin lama fermentasi maka suhu bahan akan meningkat dan aktivitas mikrobial serta enzim akan semakin optimal. Panas menyebabkan komponen *pulp* menjadi encer dan pori-pori biji membesar dan menyebabkan banyak komponen air yang menguap sehingga kadar air semakin turun. Pada parameter total asam tertitrasi, lama fermentasi dan penambahan enzim memberikan pengaruh yang signifikan. Total asam tertitrasi tertinggi yaitu pada perlakuan A4B1 (1,83%), sedangkan terendah pada perlakuan A1B0 (1,35%). Semakin lama fermentasi maka jumlah asam laktat yang terbentuk sebagai hasil dari katabolisme bakteri asam laktat semakin tinggi. Pada parameter degradasi protein, lama fermentasi dan penambahan enzim memberikan pengaruh yang signifikan. Persentase N-Amino tertinggi yaitu pada perlakuan A4B1 (0,2%), sedangkan terendah pada perlakuan A1B0 (0,09%). Semakin lama fermentasi jumlah metabolit yang diduga sebagai enzim protease akan semakin banyak diproduksi oleh mikroba. Semakin banyak

enzim maka proses pemecahan komponen protein dalam bahan akan semakin optimal sehingga kadar N-amino akan semakin meningkat. Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan A4B1 (fermentasi 32 jam dengan penambahan enzim) memiliki karakteristik kimia paling mendekati kopi luwak asli (kontrol 1).

SUMMARY

Chemical Characterization of Artificial Robusta Luwak Coffee by Addition Alpha–Amylase Enzyme During Fermentation; Yuli Dewi Puji Astutik; 131710101045; 2017; 72 pages ; Department Of Agriculture Food Product Faculty Of Agricultural Technology University Of Jember.

Kopi Luwak has high economic value. This coffee has special flavor and taste. Flavor and taste are formed during the coffee cherries in the digestive system of luwak due fermentation and hydrolysis. Fermentation and hydrolysis provide a change of chemical composition of coffee beans that affect improvement the quality of luwak coffee. One of enzymes that plays a role in the hydrolysis in luwak digestive system is α -amylase enzyme. This enzyme can hydrolyzes starch component into simple sugars like glucose. On the other hand, the productivity of luwak coffee is still fluctuating, so it takes a coffee production effort utilizing fermentation technology to produce coffee with a quality that approach the original luwak coffee. Artificial robusta luwak coffee can solve the problem of low price of robusta coffee and keep the artificial robusta luwak coffee continuity in the market.

This research was conducted by robusta coffee fermentation using starter culture of luwak feces and addition of α -amylase enzyme during 8, 16, 24, and 32 hours. Steps of this research include the manufacture of microflora inoculum, starter culture preparation and fermentation of robusta coffee cherries. The α -amylase enzyme is added during fermentation to determine the effect on the chemical quality of resulted artificial robusta luwak coffee. As control treatment used commercial robusta luwak coffee (control 1) and control 2 is robusta coffee bean without fermentation. Results were processed using SPSS 15.0 for Windows and analyzed using ANOVA 5% level and Tukey further test.

The results showed that fermentation had effect on caffeine level, and addition of α -amylase enzyme not had effect on caffeine level of artificial robusta luwak coffee. The highest caffeine content was A1B0 (0.8%) and the lowest was

A4B1 (0.45%). The longer the fermentation, caffeine levels will decrease due to degradation of caffeine components into uric acid compounds. Fermentation and addition of α -amylase enzyme did not give significant effect on glucose level. The highest glucose level was A1B1 (9.31%) while the lowest A4B0 (8.92%). The longer fermentation will decrease glucose level because glucose is converted by microbes into organic acids during fermentation so that the levels tend to decrease. In the pH parameter, the fermentation had significant effect while the addition of enzyme had no effect on pH. The highest pH was treatment A1B1 (6,2), while the lowest was treatment A4B1 (5,9). The longer fermentation will increase amount of accumulated organic acids, thus affecting the decrease in pH. Fermentation and addition of α -amylase enzyme did not give significant effect on water content. The highest water content was A1B1 (10.82%) while the lowest A4B0 (9.55%). The longer fermentation will increase temperature of the material and the microbial activity and the enzyme activity will be more optimal. Heat causes the pulp components to dilute and enlarge the pores of the seeds and cause many components of water to evaporate so that the water content decreases. In the parameter of total titrated acids, fermentation and enzyme addition had a significant effect. The highest total titrated acids was A4B1 treatment (1.83%), while the lowest was A1B0 (1.35%). The longer the fermentation time the amount of lactic acid formed as a result of catabolism of lactic acid bacteria is higher. In protein degradation parameter, fermentation and addition of enzyme had significant effect. N-Amino level was highest in treatment A4B1 (0,2%), while lowest was treatment A1B0 (0,09%). The longer fermentation, will be increasing the amount of metabolites suspected as protease enzymes produced by microbes. The more enzymes then the process of breaking the protein components in the material will be more optimal so that N-amino level will increase. Based on the researched, A4B1 (32 hours fermentation with addition of α -amylase enzyme) had chemical characteristic approach with the origin luwak coffee (control 1).

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke Hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat limpahan Rahmat dan Karunia-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul *Karakterisasi Kimia Kopi Luwak Robusta Artifisial Dengan Penambahan Enzim α -Amilase Selama Fermentasi*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Skripsi ini membahas tentang pengaruh lama waktu fermentasi dan penambahan enzim α -amilase terhadap karakteristik kimia kopi luwak robusta artifisial yang dihasilkan. Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Siswoyo Soekarno S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Giyarto, M.Sc selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Bapak Ir. Mukhammad Fauzi M.Si selaku dosen pembimbing utama skripsi, bapak Miftahul Choiron S.TP., M.Sc selaku dosen pembimbing anggota skripsi, serta Ibu Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P selaku dosen pembimbing akademik.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan pada penulisan skripsi ini. Kritik konstruktif dari pembaca sangat penulis harapkan untuk penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Jember, 07 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	v
LEMBAR PERNYATAAN	vi
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vii
LEMBAR PENGESAHAN	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	xii
PRAKATA	xiv
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi	3
2.2 Kopi Robusta	6
2.2.1 Komposisi Kimia Kopi Robusta.....	7
2.2.2 Standard Nasional Indonesia Kopi Robusta.....	8
2.3 Pengolahan Kopi	10
2.3.1 Pengolahan Kopi Cara Kering.....	10
2.3.2 Pengolahan Kopi Cara Basah	11
2.3.3 Metode Semi Basah	12

2.4 Perubahan yang Terjadi Selama Fermentasi Kopi	13
2.4.1 Pemecahan Getah Komponen <i>Mucilage</i>	14
2.4.2 Pemecahan Gula	14
2.4.3 Perubahan Warna Kulit Ari Biji Kopi	14
2.5 Mikroba yang Berperan Selama Fermentasi Kopi	15
2.6 Kopi Luwak	16
2.7 Enzim α-Amilase.....	18
2.7.1 Mekanisme Kerja Enzim α -Amilase.....	18
2.8 Kopi Luwak Artifisial.....	19
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.1.1 Tempat Penelitian	21
3.1.2 Waktu Penelitian.....	21
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.2.1 Bahan Penelitian	21
3.2.2 Alat Penelitian	21
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	22
3.3.1 Rancangan Percobaan	22
3.3.2 Tahapan Penelitian.....	22
3.4 Parameter Pengamatan	26
3.4.1 Kadar Kafein Metode Baily-Andrew	26
3.4.2 Kadar Glukosa Metode Elektrokimia	27
3.4.3 pH.....	28
3.4.4 Kadar Air Metode Thermogravimetri.....	28
3.4.5 Analisis Total Asam Titrasi	29
3.4.6 Analisis Degradasi Protein Metode Formol Nitrogen	29
3.5 Analisis Data	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Kadar Kafein	31
4.2 Kadar Glukosa.....	33
4.3 Derajat Keasaman (pH)	35

4.4 Kadar Air	38
4.5 Total Asam Tertitrasi	40
4.6 Degradasi Protein	42
BAB 5. PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi kimia biji kopi robusta/ 100 gram.....	7
Tabel 2.2 Komposisi kimia <i>pulp</i> kopi	7
Tabel 2.3 Syarat mutu kopi robusta pengolahan kering	8
Tabel 2.4 Syarat mutu khusus kopi robusta pengolahan kering	8
Tabel 2.5 Syarat mutu khusus kopi robusta pengolahan basah	9
Tabel 2.6 Syarat mutu kopi bubuk	9
Tabel 2.7 Karakteristik kimia kopi luwak robusta	17

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-bagian buah kopi	4
Gambar 2.2 Hidrolisis pati oleh enzim α -amilase	19
Gambar 2.3 Mekanisme hidrolisis enzim α amilase	19
Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan starter ragi.....	23
Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan ragi kopi luwak	24
Gambar 3.3 Diagram alir pembuatan kopi luwak artifisial	25
Gambar 4.1 Kadar kafein kopi luwak robusta artifisial (%)	31
Gambar 4.2 Kadar glukosa kopi luwak robusta artifisial (%)	33
Gambar 4.3 pH kopi luwak robusta artifisial	36
Gambar 4.4 Kadar air kopi luwak robusta artifisial (%)	38
Gambar 4.5 Total asam tertitrasi kopi luwak robusta artifisial (%)	40
Gambar 4.6 Degradasi protein kopi luwak robusta artifisial (%)	43

DAFTAR LAMPIRAN

A. Kadar Kafein (%)	53
B. Kadar Glukosa (%)	57
C. pH (Derajat Keasaman)	60
D. Kadar Air (% wb)	60
E. Total Asam Tertitrasi (TAT %)	64
F. Degradasi Protein (%)	68

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi luwak memiliki nilai ekonomis tinggi dengan harga jual mencapai US\$ 100 per 450 gram biji kopi (*Indonesian Trade Promotion Center* Osaka, 2012). Kopi luwak diperoleh dari biji kopi yang tidak dapat dicerna oleh sistem pencernaan luwak dan keluar bersama feses. Selama dalam pencernaan luwak, biji kopi dapat mengalami fermentasi oleh mikroflora pada saluran pencernaan luwak (Hadipernata dan Nugraha, 2012). Biji kopi akan mengalami hidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan seperti amilolitik, proteolitik dan lipolitik yang dihasilkan oleh mikroflora dalam sistem pencernaan luwak. Proses tersebut memberikan perubahan komposisi kimia biji kopi yang dapat meningkatkan kualitas aroma dan citarasa kopi luwak (Marcone, 2004). Salah satu enzim hidrolisis yang berperan penting dalam sistem pencernaan luwak adalah enzim amilolitik. Enzim ini dapat menghidrolisis komponen karbohidrat terutama pati menjadi glukosa dan gula-gula sederhana (Wilujeng dan Wikandari, 2013). Karbohidrat dari biji kopi akan mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan gula-gula sederhana lain menghasilkan rasa manis setelah fermentasi (Redgwell dan Fischer, 2006). Perubahan kimia biji kopi dalam sistem pencernaan luwak menghasilkan kopi dengan flavor dan citarasa yang khas.

Keistimewaan flavor dan citarasa kopi luwak menyebabkan permintaan pasar cukup tinggi. Namun, hal ini belum diimbangi dengan kontinuitas produksi kopi luwak dikarenakan keterbatasan hewan luwak dalam menghasilkan kopi luwak (Pahlevi dkk., 2014). Upaya yang sudah dilakukan untuk mengatasi rendahnya produktivitas kopi luwak adalah dengan penangkaran hewan luwak. Cara ini tidak efektif karena biaya operasionalnya tinggi dan sifat alamiah dari hewan luwak yang tidak bisa dikontrol untuk produksi kopi luwak. Alternatif lain yang pernah dilakukan adalah dengan fermentasi menggunakan ragi yang mengandung mikroflora feses luwak. Cara ini dinilai lebih efektif dari cara sebelumnya karena dapat menghasilkan kopi luwak dengan jumlah yang bisa

disesuaikan dengan kebutuhan serta biaya operasional yang lebih ekonomis. Berdasarkan penelitian Afandi (2011) fermentasi kopi robusta selama 24 jam menggunakan ragi kopi luwak dapat mempengaruhi karakteristik kimia biji kopi terutama penurunan pH, peningkatan asam tertitrasi dan penurunan kadar gula pereduksi. Perubahan sifat kimia ini masih belum bisa menyerupai karakteristik kimia kopi luwak asli. Hal ini diduga karena mikroba tidak mampu menghasilkan enzim α -amilase dengan jumlah yang cukup untuk memecah pati dari *pulp* kopi selama fermentasi.

Menurut Fardiaz (1988) hidrolisis amilosa menjadi glukosa bekerja kurang sempurna tanpa penambahan enzim α -amilase karena jumlah enzim yang dihasilkan oleh bakteri tidak mencukupi untuk memecah substrat amilosa. Padahal selama fermentasi akan terjadi peristiwa kimiawi yang sangat berguna untuk pembentukan senyawa prekursor citarasa seperti asam organik, asam amino dan gula pereduksi (Jackels dan Jackels, 2005). Pengolahan kopi luwak artifisial menggunakan bahan baku kopi robusta didukung oleh produktivitas kopi robusta di Indonesia. Pada tahun 2014 produksi kopi robusta di Indonesia mencapai 535.014 ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2015). Jumlah kopi robusta yang melimpah belum diimbangi dengan teknologi pengolahannya. Sebagian besar kopi robusta diolah secara kering oleh petani sehingga kualitas dan harganya rendah. Oleh karena itu perlu upaya perbaikan pengolahan kopi robusta yaitu dengan penambahan enzim α -amilase selama fermentasi dengan menggunakan ragi dari feses luwak. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan kopi luwak robusta artifisial dengan karakteristik kimia yang mendekati kopi luwak robusta asli.

1.2 Perumusan Masalah

Kopi luwak artifisial mulai banyak dikembangkan dengan beragam metode salah satunya fermentasi menggunakan ragi yang mengandung mikroflora feses luwak. Pengolahan kopi luwak artifisial dengan fermentasi selama 24 jam menggunakan penambahan ragi feses luwak sudah dilakukan sebelumnya oleh Afandi (2011). Metode tersebut dapat mempengaruhi karakteristik kimia biji kopi

yang dihasilkan terutama penurunan pH, peningkatan asam tertitrasi dan penurunan gula pereduksi. Namun, perubahan tersebut masih belum bisa menghasilkan kopi dengan karakteristik kimia yang sama dengan kopi luwak asli. Hal ini diduga karena selama fermentasi mikroflora tidak menghasilkan enzim pencernaan yang cukup untuk hidrolisis komponen kimia kopi terutama pati. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kombinasi lama fermentasi dan penambahan enzim α -amilase untuk menghasilkan kopi luwak artifisial dengan karakteristik yang mendekati kopi luwak robusta asli.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

- a. mengetahui pengaruh penambahan enzim α -amilase dan ragi feses luwak selama fermentasi terhadap karakteristik kimia kopi luwak robusta artifisial.
- b. mengetahui karakteristik kimia kopi luwak robusta artifisial hasil kombinasi lama fermentasi dan ada tidaknya penambahan enzim α -amilase.
- c. mengetahui perlakuan dengan karakteristik kimia yang mendekati kopi luwak robusta asli.

1.4 Manfaat Penelitian

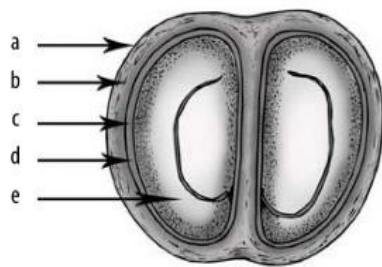
Manfaat dari penelitian ini adalah

- a. memberikan informasi tentang cara pengolahan kopi luwak robusta artifisial menggunakan kombinasi lama fermentasi dan penambahan enzim α -amilase, dan mengetahui perlakuan terbaik untuk menghasilkan kopi luwak robusta artifisial dengan karakteristik kimia mendekati kopi luwak robusta asli.
- b. sebagai alternatif pengembangan teknologi pengolahan kopi robusta untuk menghasilkan kopi luwak robusta artifisial dengan kualitas kimia yang hampir sama dengan aslinya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

Kopi merupakan salah satu komoditas ekspor penting dari Indonesia. Baik di luar maupun di dalam negeri kopi sudah sejak lama dikenal oleh masyarakat dan umum dikonsumsi sebagai produk minuman (Prastowo dkk., 2010). Bagian-bagian buah kopi secara lebih jelasnya dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



Keterangan:

a = lapisan kulit luar(*eksokarp*)

b = lapisan buah(*mesokarp*)

c = lapisan kulit tanduk(*endocarp*)

d = kulit ari

e = biji

Gambar 2.1 Bagian-bagian buah kopi (Pangabea, 2011)

Pada bagian kulit luar kopi terdiri atas lapisan tipis, liat dan pada buah yang masih muda akan berwarna hijau tua lalu berangsur-angsur berwarna hijau kuning, kuning, merah hingga merah kehitaman. Lapisan daging buah merupakan bagian berlendir dan memiliki rasa yang sedikit manis apabila sudah masak. Lapisan kulit tanduk merupakan bagian dalam dengan struktur yang keras. Biji kopi sendiri terdiri lembaga (embrio) dan kulit ari, sedangkan bagian celah merupakan rongga kosong berupa saluran memanjang sepanjang ukuran biji Kustantini (2014). Buah kopi yang sudah masak umumnya berwarna kuning kemerahan sampai merah tua, tetapi pada buah kopi yang terserang penyakit bubuk menjadi buah kopi berwarna kuning sebelum benar-benar tua. Buah kopi biasanya memiliki dua keping biji tetapi beberapa buah hanya memiliki satu keping biji (Djumarti, 2005). Kopi terdiri dari 65% biji kopi dan 35% limbah kulit kopi. Pada bagian biji dan kulitnya masih mengandung *pulp* (Muryanto dkk.,

2004). Sistematika tanaman kopi dalam dunia botani dapat diklasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Rubiales
Famili : Rubiaceae
Genus : Coffea
Spesies : *Coffea canephora*, *Coffea arabica*

(Poland and Jassens, 2010; Fuferti, dkk., 2013)

Jenis kopi yang dikenal di Indonesia yaitu robusta dan arabika. Pada saat ini penyebaran tanaman kopi robusta di Indonesia lebih dari 95%, sedangkan selebihnya adalah kopi arabika dan jenis lainnya. Meskipun kopi robusta semula ditanam dan diusahakan oleh perkebunan besar, namun dalam perkembangannya tanaman ini lebih potensi sebagai tanaman rakyat karena kopi robusta lebih mudah ditanam dan tahan terhadap kondisi pertumbuhan yang kurang menguntungkan. Kopi mengandung senyawa antioksidan yang lebih banyak dibandingkan jenis minuman lainnya. Asam khlorogenat adalah antioksidan dominan yang ada pada biji kopi yaitu berupa ester yang terbentuk dari asam trans-sinamat dan asam quinat (Ramalakshmi dan Muthuchelian, 2012).

Asam khlorogenat merupakan senyawa penting yang mempengaruhi pembentukan rasa, bau, dan flavor saat penyangraian kopi dan merupakan parameter penentu kualitas kopi (Farah dan Donangelo, 2006). Disamping kandungan antioksidannya kopi juga mengandung senyawa yang membahayakan kesehatan yaitu kafein dan asam organik yang tinggi. Kafein merupakan salah satu derivat xantin yang mempunyai daya kerja sebagai stimulant otot jantung, relaksasi otot polos dan meningkatkan diuresis dengan tingkat yang berbeda. Kandungan kafein dan asam organik yang tinggi dapat membahayakan karena dapat menimbulkan gejala jantung berdebar, gangguan lambung, tangan gemetar, gelisah, ingatan berkurang dan sukar tidur (Tan dan Raharja, 2002). Tiap jenis

kopi memiliki kandungan kafein yang berbeda seperti pada kopi robusta yang mengandung kafein 2,473% sedangkan kopi arabika mengandung kafein 1,994%.

2.2 Kopi Robusta

Kopi robusta pertama kali ditemukan di Kongo pada tahun 1898 dan mulai masuk ke Indonesia pada tahun 1900. Walaupun kualitas buahnya lebih rendah dibandingkan dengan kopi arabika, produksi kopi robusta lebih tinggi dibandingkan kopi arabika jika dikelola secara intensif. Keunggulan lain dari kopi robusta diantaranya lebih resisten terhadap serangan hama dan penyakit (khususnya penyakit HV atau penyakit karat daun), mampu tumbuh dengan baik pada ketinggian tempat 400-700 mdpl dan masih toleran pada ketinggian tempat kurang dari 400 mdpl (suhu 21-24°C). Jenis-jenis kopi Robusta adalah Quilou, Uganda dan Canephora (Najiyati dan Danarti, 1997 *dalam* Kristiyanto dkk., 2013). Kopi robusta tahan terhadap penyakit karat daun, dan memerlukan syarat tumbuh dan pemeliharaan yang ringan, sedang produksinya jauh lebih tinggi. Oleh karena itu kopi ini cepat berkembang, dan mendesak jenis-jenis kopi lainnya. Saat ini lebih dari 90% dari areal pertanaman kopi Indonesia terdiri atas kopi robusta (Prastowo dkk., 2010).

Beberapa sifat penting dari kopi robusta adalah sebagai berikut:

- a. Tidak mudah terserang penyakit HV (*Hemileia vastatrix*) atau penyakit karat daun.
- b. Tumbuh baik pada tempat dengan ketinggian 400-700 mdpl, tetapi masih toleran terhadap ketinggian kurang dari 400 mdpl dengan temperatur 21-24°C.
- c. Tumbuh pada daerah yang memiliki waktu paparan hujan 3-4 bulan secara berurutan dengan 3-4 kali hujan kiriman.
- d. Produksi lebih tinggi dari kopi arabika maupun liberika.
- e. Kualitas buah lebih baik dibandingkan kopi arabika tetapi lebih tinggi dibandingkan kopi liberika.
- f. Rendemen biji kopi berkisar 22% (Lilis, 2001).

2.2.1 Komposisi Kimia Kopi Robusta

Perbedaan jenis kopi menyebabkan perbedaan komponen kimia penyusun baik biji maupun bagian *pulp* kopi. Komposisi kimia biji kopi robusta dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Komposisi kimia biji kopi robusta/ 100 gram

Komponen	Biji kopi (%)
Kafein	2,3
Trigonelline	0,70
Lemak	9,40
Total asam khlorogenat	9,90
Karbohidrat	50,7
Asam amino	11,8
Asam organik	2,3
Senyawa volatil	-
Melanoidin	-
Mineral (abu)	4,40

Sumber : Macrae (2010)

Berdasarkan **Tabel 2.1** komposisi kimia biji kopi didominasi oleh komponen karbohidrat dan asam-asam amino, sedangkan senyawa lain seperti kafein, lemak dan asam-asam organik jumlahnya tidak terlalu mendominasi. Komponen karbohidrat memiliki persentase paling tinggi pada biji kopi yaitu sebesar 50,7%.

Pada buah kopi segar mengandung komponen *pulp*. Bagian *pulp* merupakan lapisan berlendir yang letaknya diluar kulit tanduk kopi dan memiliki rasa manis. Komposisi kimia *pulp* kopi dapat dilihat pada **Tabel 2.2**.

Tabel 2.2 Komposisi kimia *pulp* kopi (gram/ 100 gram *dry basis*)

Komposisi (%)	<i>Pulp</i> kopi
Protein	4-12
Lemak	1-2
Mineral	6-10
Karbohidrat	45-89
Kafein	1
Tanin	1-9

Sumber : Preedy (2014)

Menurut Mathur dkk.,(2014) asam tertitrasi dari biji buah kopi robusta sebesar 2,55 ml NaOH/g, sedangkan pH dari biji buah kopi adalah 6,64 dengan kadar air 11,36% dan total padatan terlarut 40%. Dalam hal ini varietas dari masing-masing jenis kopi tentu menjadi salah satu penentu komposisi kimianya. Selain itu proses pengolahan biji kopi juga berperan pada perubahan kimia yang terjadi pada biji kopi seperti turunnya kadar kafein setelah biji kopi mengalami fermentasi (Farida dkk., 2013).

2.2.2 Standard Nasional Indonesia Kopi Robusta

standard menjadi salah satu aspek penting dari suatu produk dan menjadi persyaratan minimal yang harus terpenuhi terutama untuk produk pangan. Syarat mutu kopi robusta pengolahan kering dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

Tabel 2.3 Syarat mutu umum khusus kopi robusta pengolahan kering

No	Kriteria	Satuan	Persyaratan
1.	Serangga hidup		Tidak ada
2.	Biji berbau busuk dan atau berbau kapang		Tidak ada
3.	Kadar air	% fraksi massa	Maks. 12,5
4.	Kadar kotoran	% fraksi massa	Maks. 0,5

Sumber: SNI 01-2907-2008

Syarat mutu umum khusus biji kopi robusta olah kering diatur menurut SNI 01-2907-2008 memiliki kadar air maksimal 12,5%. Kadar air berperan penting pada proses penyimpanan biji kopi. Semakin tinggi kadar air maka daya simpan biji kopi berkurang dan mudah ditumbuhi jamur. Syarat mutu khusus kopi robusta berdasarkan ukuran biji untuk pengolahan kering dan pengolahan basah dapat dilihat pada **Tabel 2.4** dan **Tabel 2.5**.

Tabel 2.4 Syarat mutu khusus kopi robusta pengolahan kering

Ukuran	Kriteria	Satuan	Persyaratan
Besar	Tidak lolos ayakan berdiameter 6,5 mm (<i>sieve no. 16</i>)	% fraksi massa	Maks lolos 5
Kecil	Lolos ayakan diameter 6,5 mm, tidak lolos ayakan berdiameter 3,5 mm (<i>sieve no.9</i>)	% fraksi massa	Maks lolos 5

Sumber: SNI 01-2907-2008

Syarat mutu khusus biji kopi robusta pengolahan kering dibagi menjadi ukuran besar dan kecil. Ukuran besar memiliki syarat maksimal lolos 5 % fraksi massa, sedangkan ukuran kecil memiliki syarat maksimal lolos 5 % fraksi massa.

Tabel 2.5 Syarat mutu khusus kopi robusta pengolahan basah

Ukuran	Kriteria	Satuan	Persyaratan
Besar	Tidak lolos ayakan berdiameter 7,5 mm (<i>sieve no. 19</i>)	% fraksi massa	Maks lolos 5
Sedang	Lolos ayakan diameter 7,5 mm, tidak lolos ayakan berdiameter 6,5 mm (<i>sieve no.16</i>)	% fraksi massa	Maks lolos 5
Kecil	Lolos ayakan diameter 6,5 mm, tidak lolos ayakan berdiameter 5,5 mm (<i>sieve no.14</i>)	% fraksi massa	Maks lolos 5

Sumber: SNI 01-2907-2008

Syarat mutu khusus kopi robusta pengolahan basah ditentukan berdasarkan satuan % fraksi massa yang menentukan kategori ukuran biji kopi. Berdasarkan SNI 01-2907-2008 terdapat tiga ukuran biji kopi robusta pengolahan basah yaitu besar, sedang dan kecil.

Selain syarat mutu biji kopi robusta juga terdapat syarat mutu kopi bubuk. Kopi bubuk berasal dari biji kopi yang telah mengalami penyangraian dan digiling serta diayak dengan ukuran mesh tertentu hingga berbentuk bubuk. Syarat mutu kopi bubuk diatur dalam SNI 01-3542-2004 yang disajikan pada **Tabel 2.6**.

Tabel 2.6 Syarat mutu kopi bubuk (SNI 01-3542-2004)

Kriteria	Satuan	Syarat
Keadaan (bau, rasa dan warna)	-	normal
Kadar air	% w/w	Maks. 7
Kadar abu	% w/w	Maks. 5
Kealkalian abu	M 1 NaOH/ 100 gr	Maks. 60
Kadar kafein	% w/w	Maks. 2,0
Cemaran logam (Pb, Cu, Zn, Sn, Hg)	Mg/kg	Maks. 2, 30, 40, 40, 0,03
Cemaran arsen	Mg/kg	Maks 1,0
Cemaran mikroba	Koloni/gram	Maks 10 ⁶
Angka lempeng total	Koloni/gram	Maks 10 ⁶
Kapang	Koloni/gram	Maks 10 ⁴

Sumber: SNI 01-3542-2004

Berbeda dengan syarat mutu kadar air biji kopi robusta kering maksimal 12,5%, syarat mutu kadar air kopi bubuk menurut SNI 01-3542-2004 maksimal 7%. Kadar kafein maksimal 2% sebagai batas aman kopi dapat dikonsumsi. Jika kadar kafein lebih dari 2% dikhawatirkan akan memberikan efek negatif bagi kesehatan konsumen.

2.3 Pengolahan Kopi

Selain dibedakan dari segi jenisnya, kopi juga dapat dibedakan dari cara pengolahannya. Cara pengolahan kopi yang digunakan dapat mempengaruhi komposisi kimia dan cita rasa kopi yang dihasilkan. Pengolahan kopi dapat dibedakan menjadi pengolahan cara kering, basah dan semi basah. Masing-masing teknik pengolahan memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing.

2.3.1 Pengolahan Kopi Cara Kering

Pengolahan kopi secara kering atau biasa disebut pengolahan kopi rakyat dilakukan melalui tahapan-tahapan pemanenan, sortasi buah, penjemuran atau pengeringan, pengupasan kopi, sortasi biji dan pengemasan serta penyimpanan (Natawidjaya dkk., 2012).

a. Pemanenan

Pemanenan buah kopi dilakukan secara manual dengan cara memetik buah yang telah masak. Ukuran kemasakan buah ditandai dengan 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 terlampaui masak penuh (*over ripe*).

b. Sortasi buah

Sortasi buah dilakukan untuk memisahkan buah yang superior (masak, bernas, seragam) dari buah inferior (cacat, hitam, pecah, berlubang dan terserang hama/penyakit). Sortasi buah kopi juga dapat menggunakan air untuk memisahkan buah yang diserang hama. Kotoran seperti daun, ranting, tanah dan kerikil harus dibuang, karena dapat merusak mesin pengupas.

c. Penjemuran

Buah kopi yang sudah dipanen dan disortasi harus sesegera mungkin dikeringkan agar tidak mengalami proses kimia yang bisa menurunkan mutu. Buah kopi dikatakan sudah kering apabila waktu diaduk terdengar bunyi gemerisik. Penjemuran dapat dilakukan dengan menggunakan alat para para, lantai jemur dan terpal. Penjemuran langsung di atas tanah atau aspal jalan harus dihindari supaya tidak terkontaminasi jamur. Pengeringan dilakukan hingga kadar air maksimal 12,5%.

d. Pengupasan kopi

Pengupasan kulit buah kopi kering bertujuan untuk memisahkan biji kopi dari kulit buah, kulit tanduk dan kulit ari. Pengupasan dilakukan dengan menggunakan mesin pengupas (*huller*). Beberapa tipe *huller* sederhana yang sering digunakan adalah *huller* putar tangan (manual) dan *huller* dengan penggerak motor. Pengupasan kulit dengan cara menumbuk tidak dianjurkan karena mengakibatkan banyak biji yang pecah.

e. Sortasi biji

Secara umum sortasi biji dilakukan untuk mengelompokkan biji kopi berdasarkan mutu dan ukurannya. Keseragaman mutu (kecacatan) dan ukuran menjadi hal yang penting untuk produk biji kopi.

2.3.2 Pengolahan Kopi Cara Basah

Tahapan pengolahan biji kopi secara basah menurut Permentan No.52 tahun 2012

- a. Pengupasan kulit buah (*pulping*) dilakukan dengan menggunakan alat dan mesin pengupas kulit buah (*pulper*). *Pulper* dapat dipilih dari bahan dasar yang terbuat dari tembaga/logam atau kayu. Air dialirkan ke dalam silinder bersamaan dengan buah yang akan dikupas. Sebelum proses pengupasan buah kopi disortasi berdasarkan ukurannya.
- b. Fermentasi umumnya dilakukan untuk penanganan kopi arabika, bertujuan untuk menguraikan lapisan lendir yang ada di permukaan kulit tanduk biji kopi. Selain itu, fermentasi mengurangi rasa pahit dan mendorong

terbentuknya kesan “*mild*” pada citarasa seduhan kopi arabika, sedangkan pada kopi robusta fermentasi dilakukan hanya untuk menguraikan lapisan lendir yang ada di permukaan kulit tanduk. Proses fermentasi dapat dilakukan secara basah dengan merendam biji kopi dalam bak air atau fermentasi secara kering dengan menyimpan biji kopi HS basah di dalam karung goni atau kotak kayu atau wadah plastik yang bersih dengan lubang di bagian bawah dan ditutup dengan karung goni. Waktu fermentasi berkisar antara 12 sampai 36 jam. Agar proses fermentasi berlangsung merata, pembalikan dilakukan minimal satu kali dalam sehari.

- c. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan sisa lendir hasil fermentasi yang menempel di permukaan kulit tanduk. Untuk kapasitas kecil, pencucian dikerjakan secara manual di dalam bak atau ember, sedangkan kapasitas besar perlu dibantu mesin pencuci biji kopi.
- d. Pengeringan bertujuan mengurangi kandungan air biji kopi HS dari sekitar 60 % menjadi maksimum 12,5 % agar biji kopi HS relatif aman dikemas dalam karung dan disimpan dalam gudang pada kondisi lingkungan tropis.
- e. Pengupasan kulit kopi HS (*Hulling*) dimaksudkan untuk memisahkan biji kopi dari kulit tanduk untuk menghasilkan biji kopi beras dengan menggunakan mesin pengupas. Biji kopi HS yang baru selesai dikeringkan harus terlebih dahulu didinginkan sampai suhu ruangan sebelum dilakukan pengupasan, sedangkan biji kopi yang sudah disimpan di dalam gudang dapat dilakukan proses pengupasan kulit.

2.3.3 Metode Semi Basah

Tahapan pengolahan biji kopi secara semi basah menurut Permentan No.52 tahun 2012

- a. Pengupasan kulit buah (*pulping*) sama dengan cara basah-penuh. Untuk dapat dikupas dengan baik, maka buah kopi harus sudah melalui sortasi. Pengupasan dapat menggunakan *pulper* dari bahan tembaga, logam atau kayu. Jarak silinder dengan silinder pengupas perlu diatur agar diperoleh

hasil kupasan yang baik (biji utuh, campuran kulit minimal). Beberapa tipe *pulper* memerlukan air untuk membantu proses pengupasan.

- b. Pembersihan lendir secara mekanik (*Demucilaging*). Pembersihan sisa lendir di permukaan kulit tanduk dilakukan secara mekanik dengan alat *demucilager* tanpa menggunakan air.
- c. Pengeringan biji pada proses semi basah mengacu kepada cara pengeringan secara basah.
- d. Pengupasan kulit tanduk pada kondisi biji kopi yang masih relatif basah (kopi labu) dapat dilakukan dengan menggunakan mesin pengupas yang didesain khusus. Agar kulit tanduk dapat dikupas maka kondisi kulit harus cukup kering walaupun kondisi biji yang ada didalamnya masih basah.
- e. Sortasi dilakukan untuk memisahkan biji kopi berdasarkan ukuran, cacat biji dan benda asing. Sortasi ukuran dapat dilakukan dengan ayakan mekanis maupun dengan manual. Cara sortasi biji yaitu dengan memisahkan biji-biji kopi cacat agar diperoleh massa biji dengan nilai cacat sesuai dengan ketentuan SNI 01-2907-2008.
- f. Pengemasan dan pengudangan bertujuan untuk memperpanjang daya simpan hasil. Pengemasan biji kopi harus menggunakan karung yang bersih dan baik, serta diberi label sesuai dengan ketentuan SNI 01-2907-2008 kemudian simpan tumpukan kopi dalam gudang yang bersih, bebas dari bau asing dan kontaminan lainnya.

2.4 Perubahan yang Terjadi Selama Fermentasi Kopi

Selama fermentasi terjadi pemecahan komponen lapisan lendir yaitu protopektin dan gula dengan dihasilkan asam dan alkohol. Dengan terjadinya pemecahan komponen lapisan lendir tersebut maka akan terlepas dari permukaan kulit tanduk biji. Menurut Djumarti (2005) perubahan yang terjadi selama fermentasi meliputi pemecahan *pulp*, pemecahan gula, dan perubahan warna kulit ari biji kopi.

2.4.1 Pemecahan *Pulp*

Bagian yang terpenting lapisan berlendir/getah adalah komponen protopektin yaitu suatu “*insoluble complex*” tempat terjadinya meta *cellular lactice* dari daging buah yaitu pektin lamella tengah pengikat sel satu dan sel yang lain. Bahan tersebut akan terurai dalam fermentasi oleh kegiatan enzim 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 dua kali lebih cepat dan pada pH 3,65 bisa 3 kali lebih cepat.

2.4.2 Pemecahan Gula

Sukrosa merupakan komponen penting dalam daging buah kopi. Kadar gula daging buah akan meningkat dengan cepat selama pematangan buah sehingga rasanya manis. Gula adalah senyawa yang larut dalam air, oleh karena itu dengan adanya 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 fermentasi. Sebagai hasil 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. Asam-asam lain yang dihasilkan dari fermentasi ini adalah etanol, asam butirrat dan propionat.

2.4.3 Perubahan Warna Kulit Ari Biji Kopi

Proses *browning* terjadi karena oksidasi polifenol. Peristiwa *browning* ini tidak terjadi bila air pencucian dengan kondisi alkali. Metabolisme pokok dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya 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.

Dalam tahap pertama fermentasi glukosa selalu terbentuk asam piruvat. Banyak kapang menghasilkan enzim yang bermanfaat bagi industri pangan, seperti enzim amilolitik (memecah pati), proteolitik (memecah protein), dan lipolitik (memecah lemak) (Suwasono, 2006).

2.5 Mikroba yang Berperan Selama Fermentasi Kopi

Kehadiran mikroorganisme dalam fermentasi biji kopi merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi kualitas kopi yang dihasilkan. Selama fermentasi biji kopi terdapat bakteri, khamir dan jamur berfilamen. Selama fermentasi biji kopi mikroba yang mendominasi adalah jenis bakteri aerobik, bakteri asam laktat, *Enterobacteriaceae*, yeast dan jamur berfilamen. Jumlah bakteri aerobik, bakteri asam laktat dan *Enterobacteriaceae* meningkat dari awal waktu fermentasi hingga 24 jam. Khamir dan jamur berfilamen memiliki populasi yang lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri selama fermentasi.

Bakteri dominan yang terdeteksi pada permukaan buah kopi dan biji kopi yang difermentasi adalah *Enterobacteriaceae*. Bakteri asam laktat yang dominan selama fermentasi biji kopi diantaranya yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* dan *E. casseliflavus*. Adanya bakteri asam laktat ini menyebabkan penurunan pH. Selain itu jenis *Enterobacteriaceae* memiliki aktivitas pektinolitik yaitu dapat menghidrolisis komponen pektin dari biji kopi (Nasanit dan Satayawut, 2015).

Menurut penelitian Wilujeng dan Wikandari (2013) didalam kopi terdapat kandungan glukosa yang dapat didegradasi menjadi asam laktat oleh *L. plantarum* B1765 pada fermentasi kopi. Selain itu, *L. plantarum* B1765 mempunyai enzim amilolitik yang dapat mendegradasi pati menjadi glukosa kemudian menjadi asam

laktat. Oleh karena itu dengan semakin lama *L. plantarum* B1765 memfermentasi biji kopi arabika maka pemecahan glukosa pada kopi akan menghasilkan asam laktat yang semakin banyak sehingga aroma pada kopi fermentasi akan semakin berbau asam seiring dengan lamanya fermentasi.

Menurut hasil penelitian Fauzi (2008) mikroba yang berperan selama fermentasi biji kopi menggunakan ragi yang mengandung mikroflora feses luwak sebagian besar adalah golongan bakteri asam laktat yang terdiri dari 23 isolat. Seluruh isolat pada umumnya mampu tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dan mampu menghasilkan asam serta menurunkan pH. Empat isolat bakteri asam laktat yang mampu memproduksi dekstran diduga sebagai *Leuconostoc mesenteroides* dan tahan terhadap konsentrasi garam yang tinggi. Pada uji amonia tiga isolat mampu memproduksi amonia diduga sebagai *Streptococcus faecium*. Namun ada tujuh isolat genus *Leuconostoc* yang tidak mampu memproduksi dekstran dan memfermentasi berbagai jenis karbohidrat yaitu *Leuconostoc paramesenteroides*. Pada uji kemampuan memfermentasi berbagai jenis karbohidrat, genus *Lactobacillus* ditemukan lima isolat dari spesies *Lactobacillus plantarum* dan empat isolat dari spesies *Lactobacillus brevis*. Seluruh isolat terdiri dari lima spesies bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *Streptococcus faecium*. Dari lima spesies tersebut yang paling dominan pada biji kopi luwak adalah *Leuconostoc poramesenteroides*.

2.6 Kopi Luwak

Menurut Permentan 37 tahun 2015 kopi luwak merupakan produk kopi khas Indonesia yang diperoleh dengan cara mengumpulkan biji kopi yang keluar bersama kotoran (feses) luwak. Kopi luwak pada mulanya diperoleh dari luwak liar yang hidup secara alamiah. Akan tetapi sejalan dengan meningkatnya permintaan pasar, maka kopi yang diproduksi dengan luwak saat ini lebih banyak diperoleh dari luwak yang dipelihara. Kopi luwak memiliki cita rasa yang sangat istimewa karena melalui proses enzimatik di dalam saluran pencernaan luwak. Adanya enzim pemecah protein (protease) di dalam lambung luwak menyebabkan

kadar protein yang lebih rendah pada kopi luwak, sehingga mengurangi rasa pahit. Selain itu kopi luwak juga mengandung kadar kafein yang lebih rendah, sehingga lebih aman bagi penderita penyakit jantung dan lambung (*maag*).

Kelebihan binatang luwak adalah kemampuannya untuk melakukan pemilihan atau sortasi terhadap biji kopi yang baik. Dalam hal ini, luwak hanya akan memakan biji kopi yang telah masak/merah dan tidak memiliki cacat. Oleh sebab itu, dari jumlah biji kopi basah yang diberikan, hanya sekitar 10-15 persen saja yang dimakannya, dan jumlah itulah yang diproses lebih lanjut untuk dijadikan kopi bubuk (Bank Indonesia, 2011). Kopi luwak merupakan kopi yang memiliki cita rasa yang terbaik dan terkenal di dunia karena keunikan rasa dan kenikmatannya (Wilujeng dan Wikandari, 2013). Proses fermentasi alami yang terjadi dalam perut luwak mengakibatkan terjadinya perubahan komposisi kimia pada biji kopi dan dapat meningkatkan kualitas rasa kopi, karena selain berada pada suhu fermentasi optimal juga dibantu dengan enzim dan bakteri yang ada pada pencernaan luwak. Karakteristik kimia kopi luwak robusta dapat dilihat pada **Tabel 2.7**.

Tabel 2.7 Karakteristik kimia kopi luwak robusta dan kopi robusta per 100 gram

	Kopi luwak robusta	Kopi robusta
Analisis proximat (%)		
Air	9,2	11,7
Protein	13,5	14,5
Lemak	13,0	12,0
Abu	3,6	3,4
Karbohidrat	60,7	58,4

Sumber : Marcone (2004)

Kopi luwak mengandung kafein sangat rendah hanya berkisar 0.5–1 %. Rendahnya kadar kafein kopi luwak ini disebabkan oleh proses fermentasi dalam sistem pencernaan luwak yang mampu mengurangi kadar kafein kopi sehingga dapat menciptakan kenikmatan pada kopi luwak dan aroma yang sangat harum (Fuferti dkk., 2013). Menurut Hadipernata dan Nugraha (2012) kandungan gula total dari biji kopi dengan feses luwak adalah 2,32% dan karbohidrat 49,79%.

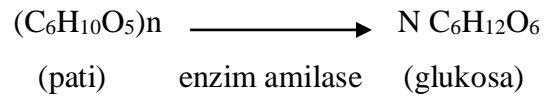
2.7 Enzim α -Amilase

Enzim adalah molekul protein yang berperan sebagai biokatalis dan berfungsi untuk mengkatalisis reaksi-reaksi metabolisme yang berlangsung pada makhluk hidup. Fungsi ini dipengaruhi oleh faktor lingkungannya seperti temperatur, keasaman (pH), konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan aktivator (Bahri dkk., 2012). Amilase adalah enzim yang dapat menghidrolisis molekul pati menghasilkan produk berupa dekstrin dan polimer kecil glukosa (Reddy dkk., 2003). Enzim amilase dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu endoamilase dan eksoamilase. Menurut Fardiaz (1988) pati dapat dipecah oleh enzim amilase menjadi komponen dengan berat molekul lebih rendah dan lebih larut. Enzim tersebut memecah ikatan α -1,4-glikosida dari molekul pati. Hidrolisis amilum menjadi glukosa kurang sempurna apabila tidak ditambahkan enzim α -amilase. Hal ini disebabkan tidak ada pemutusan ikatan spesifik pada homopolimer rantai ikatan α -1,4-glikosida amilum sehingga glukosa yang dihasilkan tidak optimal. Menurut Ratanakhochai dkk. (1992) berat molekul enzim α -amilase terbesar adalah 210 kDa. Sivaramakrishnan dkk (2006) menyebutkan sejumlah mikroorganisme mampu menghasilkan enzim α -amilase diantaranya yaitu jamur dan bakteri seperti *Aspergillus oryzae*, *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Bacillus licheniformis*. Reddy dkk (2003) menambahkan bahwa enzim α -amilase pada umumnya stabil pada pH 4-11.

2.7.1 Mekanisme Kerja Enzim α -Amilase

Hidrolisis merupakan proses pemecahan rantai molekul polimer menjadi molekul penyusunnya yang lebih sederhana. Hidrolisis polimer pati menjadi molekul yang lebih sederhana telah menjadi salah satu tahapan penting dalam dunia industri. Hidrolisis pati menggunakan enzim amilase dapat mencapai derajat hidrolis pati hingga 42%-97% tergantung jenis substrat dan waktu inkubasi. Enzim amilase akan memecah substrat pati melalui tiga tahapan utama yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Secara molekuler, pemecahan amilase dibantu oleh residu asam amino pada sisi aktif enzim (Nangin dan Aji, 2015). Dalam hidrolisis pati dipecah menjadi gula reduksi dengan menggunakan enzim

α -amilase. Proses pemecahan pati oleh enzim amilase menurut Jayanti (2011) dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



Gambar 2.2 Hidrolisis pati oleh enzim α -amilase

Enzim α -amilase hanya bekerja spesifik untuk menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik tetapi mampu melewati titik percabangan (ikatan α -1,6-glikosidik) untuk memutuskan ikatan-ikatan α -1,4-glikosidik diseberrangnya sehingga menghasilkan isomaltase. Hasil hidrolisis pati dan glikogen oleh α -amilase adalah oligosakarida, maltosa dan sejumlah kecil glukosa yang mempunyai konfigurasi gula α (Sivaramakrishnan dkk., 2006). Mekanisme hidrolisis enzim α -amilase dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 Mekanisme hidrolisis enzim α -amilase (Jayanti, 2011)

Cara kerja α -amilase terjadi melalui dua tahap yaitu degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi secara cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahap kedua relatif lambat yaitu pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir secara tidak acak (Jayanti, 2011).

2.8 Kopi Luwak Artifisial

Kopi luwak artifisial atau kopi luwak in-vitro adalah kopi dengan karakteristik mirip dengan kopi luwak namun dihasilkan tanpa melalui proses hidrolisis dan fermentasi alami dalam sistem pencernaan hewan luwak. Dengan kata lain kopi luwak artifisial diproduksi dengan merekayasa teknologi fermentasi yang digunakan. Beragam upaya yang pernah ditempuh oleh beberapa peneliti untuk produksi kopi luwak artifisial yaitu dengan penambahan papain, fermentasi menggunakan mikroflora feses luwak mupun dengan penambahan ragi. Menurut

Arafat (2011) rekayasa teknologi fermentasi dengan aplikasi ragi kopi luwak mampu meningkatkan produksi kopi identik kopi luwak. Dengan demikian maka akan dihasilkan biji kopi luwak yang memiliki kualitas yang hampir sama dengan kopi luwak asli. Berdasarkan hasil penelitian Fauzi dkk (2016) kopi luwak in-vitro dengan penambahan ragi kopi luwak selama fermentasi dapat menghasilkan karakteristik flavor yang mirip dengan kopi luwak asli. Komponen flavor dari kopi luwak hasil fermentasi berkisar 59-72 komponen dan didominasi oleh komponen hidrokarbon (15,72%), furan (25,03%), fenol (28,76%), pirazin (11,06%), piridin (9,99%), benzen (0,37%), asam organik (5,75%) dan alkohol (3,01%). Masing-masing komponen berperan penting dalam penentuan kualitas kopi yang dihasilkan terutama rasa dan flavor.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Terpadu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2016 hingga Maret 2017.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buah kopi robusta segar yang berasal dari perkebunan kopi Sidomulyo Kecamatan Silo Kabupaten Jember, kopi luwak robusta dengan feses dari Garahan Kecamatan Silo Kabupaten Jember Jawa Timur, MRSB, enzim α -amilase dengan spesifikasi hidrolisis 4000 u/gram (SUNTAQ *International Limited*), tepung beras, gula kristal putih, aquades, plastik steril, alkohol dan kertas saring, MgO, *chloroform*, KOH, glukosa anhidrat, alkohol, buffer pH 7, buffer pH 4, fenolftalein, NaOH, H₂SO₄, formaldehid, dan asam oksalat.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *pulper*, *huller*, bak fermentasi, termometer, kompor listrik, oven, autoklaf, neraca analitik, mortar dan alu, blender, ayakan 60 mesh, *hotplate*, pH-meter, eksikator, alat-alat gelas.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu lama waktu fermentasi biji kopi serta ada atau tidaknya penambahan enzim α -amilase selama fermentasi.

Kontrol 1 : kopi luwak robusta

Kontrol 2 : kopi robusta tanpa fermentasi

Faktor A : lama waktu fermentasi

A1 : 8 jam

A2 : 16 jam

A3 : 24 jam

A4 : 32 jam

Faktor B : penambahan enzim α -amilase

B0 : tanpa penambahan enzim α -amilase

B1 : dengan penambahan enzim α -amilase

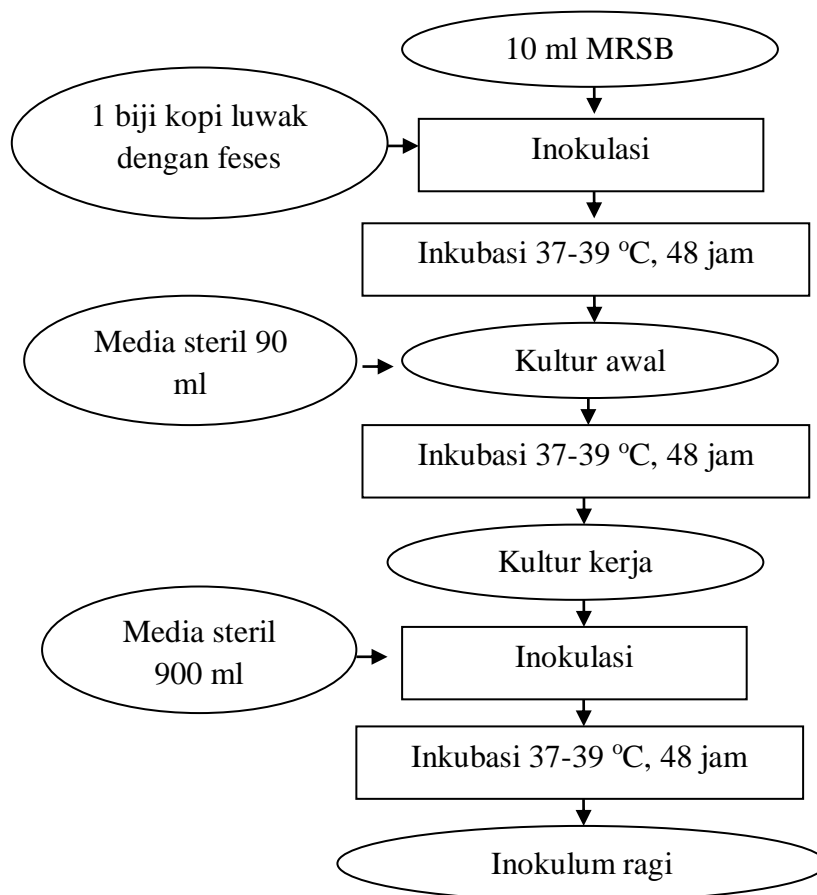
Total terdapat delapan kombinasi perlakuan. Pada masing-masing kombinasi faktor lama fermentasi dengan penambahan enzim α -amilase dilakukan sampling untuk selanjutnya dianalisis karakteristik kimiawinya. Pengulangan percobaan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan selanjutnya dilakukan pengujian berdasarkan parameter kimianya.

3.3.2 Tahapan Penelitian

a. Pembuatan Starter Ragi Kopi Luwak

Sebanyak satu biji kopi luwak yang masih mengandung feses diinokulasikan ke dalam 10 ml media MRSB. Inkubasi dilakukan pada suhu 37-39°C selama 48 jam. Kultur awal mikroflora feses luwak dalam media MRSB dihasilkan setelah inkubasi. Media steril berupa larutan gula kristal putih atau sukrosa (3%) dan aquades disiapkan sebanyak 990 ml. Media steril tersebut dibagi menjadi dua bagian yaitu 90 ml dan 900 ml. Kultur awal yang terdapat pada media MRSB diinokulasikan ke dalam 90 ml media steril dan diinkubasi pada suhu 37-39°C selama 48 jam. Kultur kerja yang dihasilkan

diinokulasikan ke dalam 900 ml media steril lalu dilakukan inkubasi 37-39°C selama 48 jam. Kultur yang dihasilkan dijadikan sebagai inokulan pada pembuatan ragi kering. Diagram alir pembuatan starter dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.

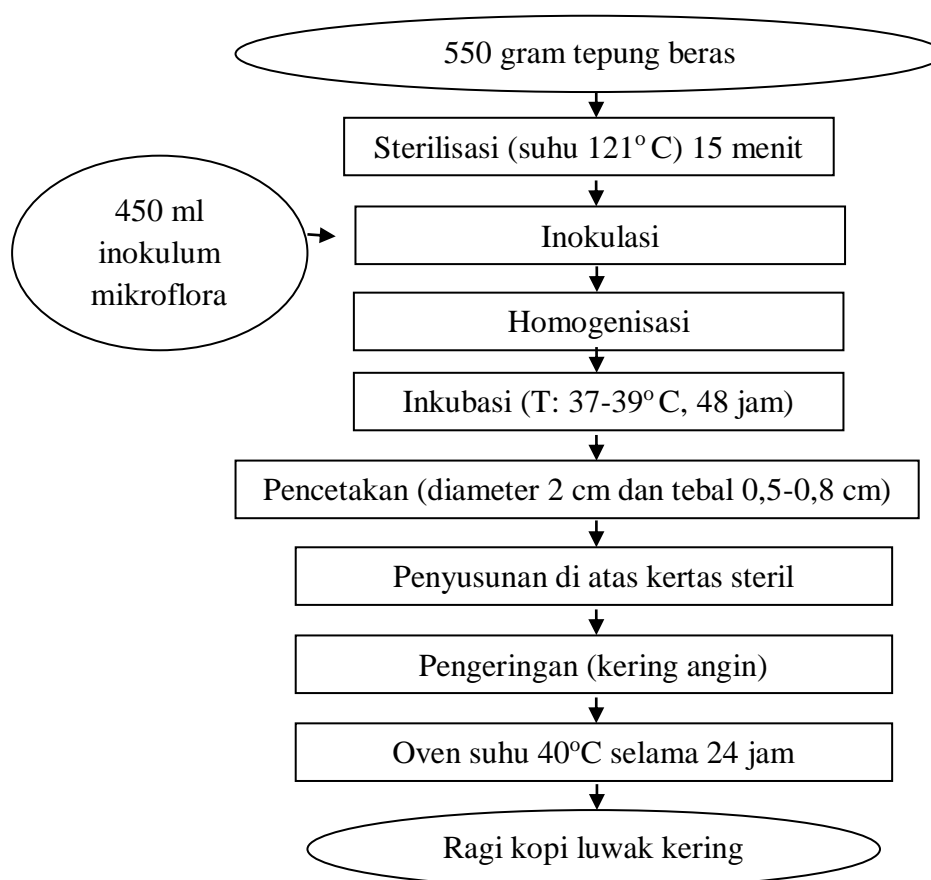


Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan starter ragi (Fauzi dkk., 2016)

b. Pembuatan Ragi Kopi Luwak

Untuk membuat satu kilogram adonan ragi feses luwak basah digunakan 550 gram tepung beras dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml. Erlenmeyer yang sudah berisi tepung beras ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Tepung beras dipindahkan ke dalam kantong plastik steril setelah proses sterilisasi dan diturunkan suhunya. Sebanyak 450 ml inokulum feses luwak dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diaduk hingga homogen. Campuran tepung beras

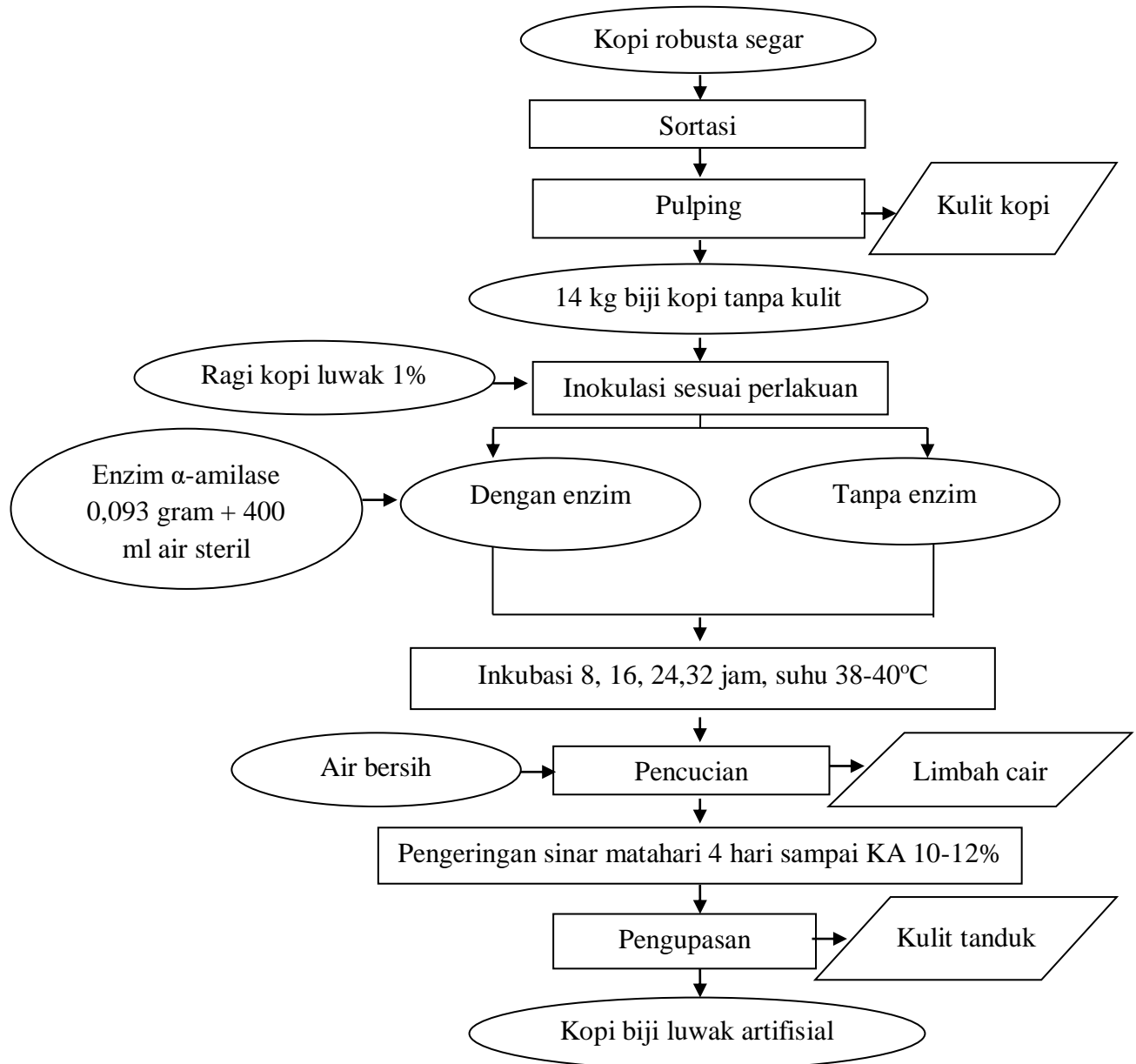
dan inokulum diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37-39 °C untuk optimalisasi pertumbuhan mikroflora. Campuran yang telah diinkubasi kemudian dicetak secara manual dengan diameter rata-rata 2 cm dan disusun di atas kertas steril dan dikering anginkan. Pengovenan dilakukan pada suhu 40°C selama 24 jam untuk mengurangi kadar air sehingga menjadi ragi kering. Diagram alir pembuatan ragi kopi luwak dapat dilihat pada **Gambar 3.2**.



Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan ragi kopi luwak (Fauzi dkk., 2016)

c. Diagram Alir Fermentasi Kopi Luwak Artifisial

Kopi luwak artifisial adalah pengolahan buah kopi menjadi kopi biji dengan memanfaatkan teknologi fermentasi dan rekayasa proses untuk menghasilkan kopi biji yang memiliki karakteristik menyerupai kopi luwak asli. Diagram alir proses pembuatan kopi luwak artifisial dapat dilihat pada **Gambar 3.3**.



Gambar 3.3 Diagram alir pembuatan kopi luwak artifisial (Fauzi dkk., 2016)

Pembuatan kopi luwak artifisial diawali dengan menyiapkan buah kopi robusta segar. Buah kopi robusta disortasi untuk memilih buah kopi yang masak optimal dan menghilangkan buah kopi yang lewat masak dan buah kopi yang masih hijau. Buah kopi hasil sortasi dilakukan pulping menggunakan mesin *pulper* untuk memisahkan antara biji kopi dengan kulit buahnya. Kopi tanpa kulit dihomogenisasi dengan cara diaduk manual. Pada

perlakuan tanpa penambahan enzim maka langsung ditambahkan 1% ragi feses luwak dari berat total biji kopi yang difermentasi dan diaduk hingga homogen dan diinkubasikan selama 8, 16, 24 dan 32 jam pada suhu 38-40°C. Ragi yang mengandung mikroba asal feses luwak membantu proses fermentasi kopi menjadi kopi luwak artifisial dengan cara menguraikan komponen kimia dari biji kopi yang difermentasi.

Pada perlakuan penambahan enzim, setelah ditambahkan ragi feses luwak 1% juga ditambahkan 0,093 gram enzim α -amilase per 14 kg biji kopi hasil pulping yang sudah dilarutkan dalam air steril (400 ml) untuk membantu hidrolisis komponen kimia (pati) biji kopi sehingga menjadi komponen yang lebih sederhana (glukosa) yang dapat dijadikan substrat untuk pertumbuhan mikroba asal feses luwak. Enzim α -amilase yang ditambahkan dihitung sesuai persentase *pulp* kopi yang difermentasi (18% dari berat total biji) dan memperhitungkan kemampuan enzim memecah substrat (4000 unit/ gram). Masing-masing perlakuan diinkubasikan selama 8, 16, 24, dan 32 jam pada suhu 38-40°C. Fermentasi dihentikan dengan cara mencuci biji kopi menggunakan air mengalir. Biji kopi bersih dikeringkan menggunakan sinar matahari selama empat hari sampai kadar air 10-12%. Biji kopi kering dikupas untuk memisahkan biji kopi dengan kulit tanduknya.

3.4 Parameter Pengamatan

Kopi biji luwak artifisial yang telah diproses akan dianalisis secara kimia dengan menggunakan beberapa parameter uji. Parameter uji yang diamati pada penelitian ini terdiri dari kadar kafein, kadar glukosa, pH, kadar air, total asam tertitrasi dan N-amino.

3.4.1 Kadar Kafein Metode Bailey-Andrew (Sudarmadji dkk., 1997)

Analisis dilakukan dengan menimbang 5 gram sampel halus (60 mesh) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang ditambahkan 5 gram MgO dan 200 ml aquades. Erlenmeyer yang berisi sampel tersebut dididihkan menggunakan pendingin balik hingga 2 jam. Hasil pendidihan disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat selanjutnya ditera hingga volumenya 500

ml. Sebanyak 300 ml filtrat dipindahkan ke *beakerglass* dan ditambahkan 10 ml asam sulfat (1:9) kemudian dididihkan sampai volume larutan menjadi 100 ml. Larutan dimasukkan ke dalam corong pemisah dan digojog dengan chloroform berurutan sejumlah 25, 20, 15, 10, 10, dan 10 ml. Ke dalam corong pemisah ditambahkan 5 ml KOH 1% lalu digojog. Larutan akan terpisah menjadi dua bagian. Bagian bawah berwarna bening dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Ke dalam corong pemisah ditambahkan lagi 10 ml chloroform lalu digojog dan dibiarkan hingga campuran terpisah kembali. Cairan bagian bawah dikeluarkan dan dicampur dengan cairan yang berada pada labu takar. Cairan dalam labu takar ditera menggunakan chloroform hingga volume 100 ml. Cairan pada labu takar dicuplik tiga kali sebanyak 10 ml dan masing-masing dimasukkan ke dalam botol timbang. Botol timbang dioven hingga pada suhu 60°C. Kadar kafein dapat dihitung menggunakan rumus

$$\text{kadar kafein (\%)} = \frac{\text{berat residu} \times \text{FP}}{\text{gram bahan}} \times 100\%$$

3.4.2 Kadar Glukosa Metode Elektrokimia (GlucoDr Strip, 2013)

Pengukuran kadar glukosa sampel kopi luwak robusta artifisial dilakukan dengan cara mengecilkan ukuran biji kopi kering dan dilakukan pengayakan dengan ukuran 60 mesh. Selanjutnya masing-masing sampel kopi ditimbang 0,1 gram. Sebanyak 0,1 gram sampel dilarutkan menggunakan 10 ml aquades dalam labu takar dan digojog hingga homogen. Sampel kopi luwak robusta artifisial dilakukan pengukuran kadar glukosa menggunakan strip GlucoDr dengan alat glukometer berdasarkan pada pengukuran arus listrik yang disebabkan oleh reaksi glukosa dengan bahan reaksi (reagen) pada elektroda emas dari strip.

Sampel yang sudah diencerkan diambil dengan menggunakan pipet dan diteteskan sebanyak 15 μ ke strip yang telah dipasang pada glukometer. Setelah 11 detik maka akan muncul nilai kadar glukosa dari sampel yang dinyatakan dalam mg/dL. Standardisasi dilakukan dengan cara membuat kurva standart glukosa anhidrat dengan perbedaan konsentrasi larutan.

Kalibrasi alat GlucoDr dilakukan dengan mengukur kadar glukosa dari glukosa anhidrat pada tiga konsentrasi yang berbeda yaitu pada konsentrasi 75 mg/100 ml, 150 mg/100 ml dan 225 mg/100 ml. Hasil pengukuran diploting dalam bentuk grafik yang disertai persamaan linearisasi. Persamaan yang diperoleh dijadikan standard untuk perhitungan kadar glukosa sampel.

$$\text{kadar glukosa (\%)} = \frac{C}{\text{gram bahan} \times 1000} \times \text{FP} \times 100\%$$

keterangan : C = kadar glukosa yang didapat dari persamaan linearisasi (mg/dL)

3.4.3 pH (AOAC, 1984)

Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat pH-meter. Sebelum digunakan alat pH-meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer pH 7 dan buffer pH 4. Sejumlah 5 gram sampel yang telah dihaluskan (60 mesh), ditambahkan dengan 50 ml aquadest, dan diaduk hingga homogen. Nilai pH diukur dengan menempatkan elektroda pH-meter pada sampel yang telah diencerkan. Nilai pH sampel akan terbaca secara otomatis dan dapat dilihat pada layar pH-meter.

3.4.4 Kadar Air Metode Thermogravimetri (Sudarmadji dkk., 1997)

Pengukuran kadar air sampel kopi luwak robusta artifisial dilakukan dengan pengeringan botol timbang kosong dalam oven bersuhu 100-105°C selama 30 menit didinginkan dalam eksikator 15 menit kemudian dilakukan penimbangan (a gram). Sampel yang akan diukur kadar airnya dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Sampel halus ditimbang seberat 2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang kosong yang telah dikeringkan (b gram). Botol timbang yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven yang bersuhu 100-105°C selama 24 jam kemudian didinginkan dalam eksikator (± 15 menit) dan ditimbang (c gram). Penimbangan sampel dilakukan hingga berat konstan (selisih 0,0002 gram). Kadar air ditentukan dengan menggunakan rumus

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

Keterangan: a : Berat botol
 b : Berat botol+sampel sebelum dioven
 c : Berat botol+sampel setelah dioven

3.4.5 Analisis Total Asam Titrasi Metode Acidi-Alkalimetri (Fardiaz, 1992)

Analisis total asam titrasi dilakukan dengan menimbang 5 gram sampel yang telah dihaluskan (60 mesh) dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dilakukan pengenceran menggunakan aquadest 50 ml. Kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat sampel yang telah disaring dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan diencerkan menggunakan aquades. Sampel yang diencerkan diambil sebanyak 5 ml dan ditambahkan 2 tetes fenolftalein 1%, setelah itu dilanjutkan dengan titrasi. Titrasi dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 0,01N sampai berubah warna menjadi merah muda. Total asam titrasi diasumsikan sebagai total asam laktat yang terukur dari sampel. Untuk perhitungan total asam dapat digunakan rumus dibawah ini:

$$\text{TAT (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM asam laktat} \times \text{FP}}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100\%$$

3.4.6 Analisis Degradasi Protein Metode Formol Nitrogen (Sudarmadji dkk., 1997)

Sebanyak 2 gram biji kopi dihaluskan menggunakan mortar dan alu hingga berukuran 60 mesh. Sampel biji kopi yang telah halus dilarutkan dalam aquades sebanyak 20 ml dan dihomogenkan. Larutan disaring menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung pada labu ukur 100 ml. Ampas yang diperoleh diekstrak kembali menggunakan aquades dan disaring. Filtrat hasil penyaringan ditampung dalam labu takar. Labu takar ditera hingga volumenya 100 ml dan diambil sebanyak 10 ml filtrat dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 20 ml aquades serta 1 ml indikator fenolftalein 1%. Campuran larutan didiamkan selama 2 menit. Larutan sampel kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,01 N hingga berubah warna menjadi merah muda. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 ml formaldehid 37% dan dititrasi kembali dengan larutan NaOH

0,01N hingga warna menjadi merah, jumlah NaOH yang dipakai untuk titrasi dicatat.

Blanko yang digunakan untuk titrasi formol terdiri dari 20 ml aquades dan ditambahkan dengan 1 ml indikator fenolflatein 1% dan 2 ml formaldehid 37%. Blanko dititrasi menggunakan NaOH 0,01 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Volume NaOH yang digunakan untuk titrasi dicatat. Rumus yang digunakan untuk mengetahui persen N-amino bahan adalah

$$\%N = \frac{(\text{titrasi sampel-blanko}) \times N \text{ NaOH} \times 14,008 \times FP}{\text{Berat bahan} \times 1000} \times 100\%$$

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing-masing parameter uji kimia diolah menggunakan aplikasi statistik SPSS 15,0 *for Windows* dan dianalisis menggunakan ANOVA dengan taraf 5%. Jika diketahui berbeda nyata maka diuji lanjut menggunakan uji *Tukey*. Hasil analisis ditampilkan dalam bentuk tabel. Untuk memudahkan interpretasi, data yang dihasilkan selanjutnya diploting dalam bentuk grafik disertai dengan standard deviasi.

adalah untuk memfasilitasi pemecahan protein dan membunuh mikroba patogen. Oleh karena itu degradasi protein kopi luwak asli lebih optimal dibandingkan kopi pada penelitian ini.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan

- a. Lama fermentasi kopi robusta berpengaruh pada karakteristik kimia kopi luwak robusta artifisial meliputi parameter pH, total asam tertitrasi, kadar kafein, dan persen N-amino.
- b. Penambahan enzim α -amilase berpengaruh pada karakteristik kimia kopi luwak robusta artifisial meliputi parameter total asam tertitrasi, dan persen N-amino.
- c. Kopi luwak robusta artifisial dengan penambahan α -amilase memiliki karakteristik kimia yaitu kadar kafein berkisar (0,45%-0,65%), kadar glukosa (9,03%-9,31%), pH (5,90-6,20), kadar air (10,25%-10,82%), total asam tertitrasi (1,59%-1,83%) dan degradasi protein (0,11%-0,20%). Karakteristik kopi luwak robusta artifisial tanpa penambahan α -amilase memiliki kadar kafein (0,54%-0,80%), kadar glukosa (8,92%-9,26%), pH (5,99-6,16), kadar air (9,55%-10,29%), total asam tertitrasi (1,35%-1,51%) dan degradasi protein (0,09%-0,19%).
- d. Kadar kafein, kadar glukosa, kadar air dan pH semakin menurun dengan semakin lama fermentasi. Total asam tertitrasi dan persen N-amino semakin meningkat dengan semakin lama fermentasi.
- e. Perlakuan A4B1 (lama fermentasi 32 jam dengan penambahan α -amilase) memiliki nilai paling mendekati karakteristik kimia kopi luwak robusta asli.

5.2 Saran

Sebagai saran untuk penelitian selanjutnya diharapkan dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui aktivitas enzim α -amilase selama proses fermentasi kopi agar diketahui tingkat efektivitas penambahan enzim α -amilase selama fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, I. L. 2011. Studi Optimasi Dosis Ragi Kopi Luwak Multikultur Bermedia Tepung Maizena pada Pengolahan Kopi Robusta Secara Semi Basah. *Skripsi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.
- Anggraini, A. dan Yuniarta. 2015. Pengaruh Suhu Dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik Dan Organoleptik Sari Edamame. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3 (3):1015-1025.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis*. Arlington: AOAC International.
- Arafat, M. 2011. Fermentasi Kering Dengan Modifikasi Ragi Kopi Luwak Dan Ragi Roti Pada Pengolahan Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Skripsi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.
- Asngad, A. dan Suprpti. 2009. Lama Fermentasi Dan Dosis Ragi Yang Berbeda Pada Fermentasi Gaplek Ketela Pohon (*Manihot utilissima*, Pohl) Varietas Mukibat Terhadap Kadar Glukosa Dan Bioetanol. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. Vol 10 (1): 1 – 9.
- Astuti, B.C., 2014. Pengaruh Perbedaan Suhu Fermentasi Moromi terhadap Sifat Kimia dan Mikroflora Moromi Kecap Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 9 (1): 8-15.
- Badan Standardisasi Nasional. 2004. SNI 01-3542-2004 *Syarat Mutu Bubuk Kopi*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. 2008. SNI 01-2907-2008 *Syarat Mutu Biji Kopi*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Bahri, S., M. Mirzan., dan M. Hasan., 2012. Karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan (*Zea mays ceratina* L.). *Jurnal Natural Science*. Vol 1 (1): 132-143.
- Bank Indonesia. 2011. *Pola Pembiayaan UMKM Usaha Perkebunan Kopi Robusta dan Industri Pengolahan Kopi Luwak*. Bengkulu: Bank Indonesia.
- Butt, M.S., A.M.T. Sultan, A. Imran, M. Yasin dan M. Imran. 2011. Evaluating the effect of decaffeination on nutritional and antioxidant status of different coffee brands. *Internet Journal of Food Safety*. Vol 13 (1): 198-207.

- Ciptaningsih, E. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. *Tesis*. Depok: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pendidikan Universitas Indonesia.
- Deliani. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Protein, Lemak, Komposisi Asam Lemak dan Asam Fitat pada Pembuatan Tempe. *Tesis*. Medan: Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara.
- Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A. dan Mubarik N.R. 2012. Senyawa Antimikrobia yang Dihasilkan dari Mikroorganisme Bekasam. *Jurnal Akuatik* 3(2): 135-145.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2015. *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kopi 2013-2015*. Jakarta: Kementerian Pertanian.
- Djumarti. 2005. *Teknologi Pengolahan Kopi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.
- Dwijosepputro, D. 1994. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Farah, A. dan C.M. Donangelo., 2006. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* Vol 18 (1): 23-36.
- Fardiaz, S. 1988. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Farida, A., E. Ristianti R., A.C. Kumoro. 2013. Penurunan kadar kafein dan asam total pada biji kopi robusta menggunakan teknologi fermentasi anaerob fakultatif dengan mikroba NOPKOR MZ-15. *Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri*. Vol 2 (3): 70-75.
- Fauzi, M. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Biji Kopi Luwak (*Civet Coffee*). *Laporan Penelitian*. Jember: Universitas Jember.
- Fauzi, M. Giyanto dan S. Wulandari. 2016. Karakteristik citarasa dan komponen flavor kopi luwak robusta in vitro berdasarkan dosis ragi kopi luwak dan lama fermentasi. *Seminar Nasional Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat* 2016.
- Fuferti, M. Z., Syakbaniah dan Ratnawulan. 2013. Perbandingan karakteristik fisis kopi luwak (*civet coffee*) dan kopi biasa jenis arabika. *Pillar of Physics*. Vol 2 (2): 68-75.
- Glucodr Strip. 2013. *Medical Instruments*. Korea: All medicus Co., Ltd.
- Gokulakrishnan, S., Chandrajad K., S.N. Gummadi, 2005. Microbial and Enzymatic Methods for The Removal of Caffeine. *Journal Enzyme and Microbial Technology Elsevier*. Vol 1(37): 225-232.

- Hadipernata, M. dan S. Nugraha. 2012. Identifikasi Fisik, Kimia Dan Mikrobiologi Biji Kopi Luwak Sebagai Dasar Acuan Teknologi Proses Kopi Luwak Artificial. *Prosiding Insinas 2012*:117-121.
- Herawati, D.A. dan Wibawa D.A. 2009. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Waktu Fermentasi Terhadap Hasil Pembuatan Soyghurt. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*. Vol. 1 (2): 48-58.
- Indonesian Trade Promotion Center Osaka. 2012. *Market brief HS 0901 Kopi*. Jepang: Indonesian Trade Promotion Center Osaka.
- Jackels S.C dan C.F. Jackels., 2005. Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: a field study in nicaragua. *J. Food Sci*. Vol 70 (1): C321-C325.
- Jayanti, R.T. 2011. Pengaruh pH Suhu Hidrolisis Enzim α -Amilase dan Konsentrasi Ragi Roti untuk Produksi Etanol Menggunakan Pati Bekatul *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Koskei, K.R., M. Patrick, dan M. Simon. 2015. Effect of coffee processing technologies on physicochemical properties an sensory qualities of coffee. *African journal of food science*. Vol 9 (4): 230-236.
- Kristiyanto, D., B.D.H. Pranoto, dan Abdullah. 2013. Penurunan kadar kafein kopi arabika dengan proses fermentasi menggunakan nopkor mz-15. *Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri*. Vol 2 (4): 170-176.
- Kustantini, D. 2014. *Beberapa Hal yang Mempengaruhi Viabilitas Benih (Biji) Kopi (Coffea sp)*. Surabaya: BBPPTP Surabaya.
- Lilis. 2001. Kasus Fisika Pangan dua Jenis Kopi (*Coffea sp*) yang Diukur Beberapa Sifat Fisiknya. *Skripsi*. Bogor: Jurusan Fisika IPB.
- Macrae. 2010. *Chemistry of Coffe*. Germany: Elsevier.
- Marcone, N.F. 2004. Composition and properties of Indonesia palm civet coffee (kopi luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Res. Int* . Vol 37 (9): 901–912.
- Mathur, R., P.N. Navya, K. Basavaraj, dan Pushpa, S.M., 2014. Bioprocess of robusta cherry coffee with polyphenol oxydase and quality enhancement. *Eur Food Res Technol*. Vol 240 (1): 319–325.
- Mayasari. 2016. Pemurnian Enzim Amilase Kasar Dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Muryanto, U. Nuschati, D. Pramono dan T. Prasetyo. 2004. Potensi Limbah Kulit Kopi Sebagai Pakan Ayam. *Lokakarya Nasional Inovasi Teknologi dalam Mendukung Usaha Ternak Unggas Berdaya Saing*.
- Nangin, D. dan Aji. 2015. Enzim amilase pemecah pati mentah dari mikroba: kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3(3): 1032-1039.
- Nasanit, R. dan K. Satyawut. 2015. Microbiological study during coffee fermentation of *coffea arabica* var. Chiangmai 80 in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. Vol 49: 32 – 41.
- Natawidjaya, H., M.U. Ametung, E. Suharyanto, S. Mulato dan Dedi. 2012. *Pedoman Teknis Penanganan Pascapanen Kopi*. Jakarta: Direktorat Pascapanen Dan Pembinaan Usaha Kementerian Pertanian.
- Ningsih, D.R., U. Rastuti, R. Kamaludin. 2012. Karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Sumber Daya Pedesaan Dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II 2012*.
- Oktadina, F.D., B.D. Argo, M.B. Hermanto, 2013. Pemanfaatan Nanas (*Ananas comosus L. Merr*) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea sp*) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*. Vol 1 (3): 265-273.
- Pahlevi, R., W.A. Zakaria, dan U. Kalsum. 2014. Analisis Kelayakan Usaha Agroindustri Kopi Luwak Di Kecamatan Balik Bukit Kabupaten Lampung Barat. *JIIA*. Vol 2 (1): 48-55.
- Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. 1st edition. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Peraturan Menteri Pertanian. 2012. *PERMENTAN tentang Pedoman Penanganan Pascapanen Kopi nomor 52 tahun 2012*. Jakarta: Menteri Pertanian.
- Peraturan Menteri Pertanian. 2015. *PERMENTAN tentang Cara Produksi Kopi Luwak Melalui Pemeliharaan Luwak yang Memenuhi Prinsip Kesejahteraan Hewan Nomor 37 tahun 2015*. Jakarta: Menteri Pertanian.
- Poland, H. A.J. and M. J. J. Jassens. 2010. Growth and production of coffee. Germany: *Eyclopedia of Life Support System*.
- Prastowo, B., E. Karnawati, Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto, dan S.J. Munarso, 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Preedy, V. 2014. *Coffee in health and disease prevention*. London UK: Elsevier.

- Rahmayanti, D. 2010. Pemodelan Dan Optimasi Hidrolisa Pati Menjadi Glukosa Dengan Metode Artificial Neural Network-Genetic Algorithm (ANN-GA). *Skripsi*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Ramalakshmi, S dan Muthuchelian K. 2012. Evaluation of antioxidant potential and antimicrobial studies of bark of medical plant *Mallotus tetracoccus* (Roxb.) Kurz. *Journal of medicinal plants research*. Vol 6(38): 5156-5165
- Ratanakhochai, K., Kaneko, J., Kamio, Y. dan Izaki, K., 1992. Purification and properties of a maltotetraose and maltotriose producing amylase from *Chloroflexus aurantiacus*. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 4(58): 651-659.
- Reddy, N.S., Annapoorna .N., and K.R.S. Sambasiva R., 2003. An Overview of The Microbial α -Amylase Family. *African Journal of Biotechnology*. Vol 2 (12): 645-648.
- Redgwell, R. and M. Fischer. 2006. *Coffee carbohydrates*. Switzerland: Nestle Research Centre Lausanne.
- Siddharth, S., J.R. Elizabeth, A.A. Anja, N. Rounaq S., G. Vrindha, M. Bishwambhar, dan V. Suneetha. 2012. A preliminary study and first report on caffeine degrading bacteria isolated from the soils of chittoor and vellore. *International research journal of pharmacy*. Vol 3 (3): 305-309.
- Sivaramakrishnan S, D Gangadharan, KM Nampoothiri, CR Soccol and A Pandey. 2006. α -amylases from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments. *Food Technology Biotechnology*. Vol 44(2): 173–184.
- Sudarmadji, S., B. Hariyono., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suwasono, S. 2006. *Teknologi Fermentasi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Tan, H.T., Raharja, K., 2002. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tobing, I.M.L., 2009. Pengendalian fermentasi dengan pengaturan konsentrasi ragi dan lama fermentasi terhadap mutu kopi instran secara mikroenkapsulasi. *Skripsi*. Sumatera Utara: Departemen Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Usmiati, S. dan T. Utami. 2008. Pengaruh bakteri probiotik terhadap mutu sari kacang tanah fermentasi. *Jurnal Pasca Panen*. Vol.5 (2): 27-36.

- Wijaya, J.C. dan Yunianta. 2015. Pengaruh penambahan enzim bromelin terhadap sifat kimia dan organoleptik tempe gembus (kajian konsentrasi dan lama inkubasi dengan enzim). *Jurnal pangan dan agrindustri*. Vol 3 (1): 96-106.
- Wilujeng, A. dan P.R.Wikandari. 2013. Pengaruh lama fermentasi kopi arabika (*Coffea arabica*) dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* B1765 terhadap mutu produk. *Unesa Journal of Chemistry*. 2.
- Yuliana, N. 2007. Profil Fermentasi Rusip yang Dibuat dari Ikan Teri (*Stolephorus sp*). *Agritech*. Vol 27 (1): 12-17.
- Zahiroh, S. 2013. Fermentasi Biji Kopi Menggunakan Bakteri Selulolitik, Xilanolitik Dan Proteolitik Asal Luwak. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

LAMPIRAN

A. KADAR KAFEIN (%)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	0,7556	0,8111	0,8222	0,7963	0,0357
A2B0	0,5667	0,6500	0,7667	0,6611	0,1005
A3B0	0,6556	0,6889	0,4333	0,5926	0,1389
A4B0	0,5667	0,6556	0,4111	0,5444	0,1237
A1B1	0,5111	0,8667	0,5778	0,6519	0,1890
A2B1	0,6667	0,5889	0,6667	0,6407	0,0449
A3B1	0,5000	0,6778	0,5778	0,5852	0,0891
A4B1	0,4778	0,4333	0,4444	0,4519	0,0231
Kopi luwak (kontrol 1)				0,6889	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				1,1000	

Uji ANOVA Kadar Kafein

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
FERMENTASI	1,00	8jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	6
	4,00	32 jam	6
ENZIM	0,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: KAFEIN

FERMENTASI	ENZIM	Mean	Std. Deviation	N
8jam	tanpa enzim	0,7963	0,03568	3
	dengan enzim	0,6519	0,18902	3
	Total	0,7241	0,14512	6
16 jam	tanpa enzim	0,6611	0,10046	3
	dengan enzim	0,6408	0,04492	3
	Total	0,6510	0,07049	6
24 jam	tanpa enzim	0,5926	0,13896	3
	dengan enzim	0,5852	0,08913	3
	Total	0,5889	0,10449	6
32 jam	tanpa enzim	0,5445	0,12376	3
	dengan enzim	0,4518	0,02316	3
	Total	0,4982	0,09442	6
Total	tanpa enzim	0,6486	0,13479	12
	dengan enzim	0,5824	0,12370	12
	Total	0,6155	0,13096	24

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: KAFEIN

F	df1	df2	Sig.
2,745	7	16	0,045

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+FERMENTASI+ENZIM+FERMENTASI * ENZIM

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: KAFEIN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0,210(a)	7	0,030	2,603	0,054
Intercept	9,093	1	9,093	788,815	0,000
FERMENTASI	0,165	3	0,055	4,776	0,015
ENZIM	0,026	1	0,026	2,282	0,150
FERMENTASI * ENZIM	0,019	3	0,006	0,537	0,664
Error	0,184	16	0,012		
Total	9,487	24			
Corrected Total	0,394	23			

a R Squared = 0,532 (Adjusted R Squared = 0,328)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kafein

Tukey HSD

(I) fermentasi	(J) fermentasi	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Differenc e (I-J) Lower Bound			Upper Bound	Upper Bound
8 jam 0	16 jam 0	0,1352	0,08766	0,775	-0,1683	0,4387
	24 jam 0	0,2037	0,08766	0,339	-0,0998	0,5072
	32 jam 0	0,2518	0,08766	0,144	-0,0517	0,5553
	8 jam 1	0,1444	0,08766	0,718	-0,1591	0,4479
	16 jam 1	0,1555	0,08766	0,644	-0,1480	0,4590
	24 jam 1	0,2111	0,08766	0,301	-0,0924	0,5146
	32 jam 1	0,3445(*)	0,08766	0,021	0,0410	0,6480
16 jam 0	8 jam 0	-0,1352	0,08766	0,775	-0,4387	0,1683
	24 jam 0	0,0685	0,08766	0,992	-0,2350	0,3720
	32 jam 0	0,1167	0,08766	0,874	-0,1868	0,4202
	8 jam 1	0,0093	0,08766	1,000	-0,2942	0,3128
	16 jam 1	0,0204	0,08766	1,000	-0,2831	0,3239
	24 jam 1	0,0759	0,08766	0,985	-0,2276	0,3794
	32 jam 1	0,2093	0,08766	0,310	-0,0942	0,5128
24 jam 0	8 jam 0	-0,2037	0,08766	0,339	-0,5072	0,0998
	16 jam 0	-0,0685	0,08766	0,992	-0,3720	0,2350
	32 jam 0	0,0481	0,08766	0,999	-0,2554	0,3516
	8 jam 1	-0,0593	0,08766	0,997	-0,3628	0,2442
	16 jam 1	-0,0482	0,08766	0,999	-0,3517	0,2553
	24 jam 1	0,0074	0,08766	1,000	-0,2961	0,3109
	32 jam 1	0,1408	0,08766	0,741	-0,1627	0,4443
32 jam 0	8 jam 0	-0,2518	0,08766	0,144	-0,5553	0,0517
	16 jam 0	-0,1167	0,08766	0,874	-0,4202	0,1868
	24 jam 0	-0,0481	0,08766	0,999	-0,3516	0,2554
	8 jam 1	-0,1074	0,08766	0,913	-0,4109	0,1961
	16 jam 1	-0,0963	0,08766	0,948	-0,3998	0,2072
	24 jam 1	-0,0407	0,08766	1,000	-0,3442	0,2628
	32 jam 1	0,0926	0,08766	0,957	-0,2109	0,3961
8 jam 1	8 jam 0	-0,1444	0,08766	0,718	-0,4479	0,1591
	16 jam 0	-0,0093	0,08766	1,000	-0,3128	0,2942
	24 jam 0	0,0593	0,08766	0,997	-0,2442	0,3628
	32 jam 0	0,1074	0,08766	0,913	-0,1961	0,4109
	16 jam 1	0,0111	0,08766	1,000	-0,2924	0,3146
	24 jam 1	0,0667	0,08766	0,993	-0,2368	0,3702
	32 jam 1	0,2000	0,08766	0,359	-0,1035	0,5035
16 jam 1	8 jam 0	-0,1555	0,08766	0,644	-0,4590	0,1480
	16 jam 0	-0,0204	0,08766	1,000	-0,3239	0,2831
	24 jam 0	0,0482	0,08766	0,999	-0,2553	0,3517

	32 jam 0	0,0963	0,08766	0,948	-0,2072	0,3998
	8 jam 1	-0,0111	0,08766	1,000	-0,3146	0,2924
	24 jam 1	0,0556	0,08766	0,998	-0,2479	0,3591
	32 jam 1	0,1889	0,08766	0,424	-0,1146	0,4924
24 jam 1	8 jam 0	-0,2111	0,08766	0,301	-0,5146	0,0924
	16 jam 0	-0,0759	0,08766	0,985	-0,3794	0,2276
	24 jam 0	-0,0074	0,08766	1,000	-0,3109	0,2961
	32 jam 0	0,0407	0,08766	1,000	-0,2628	0,3442
	8 jam 1	-0,0667	0,08766	0,993	-0,3702	0,2368
	16 jam 1	-0,0556	0,08766	0,998	-0,3591	0,2479
	32 jam 1	0,1334	0,08766	0,786	-0,1701	0,4369
32 jam 1	8 jam 0	-0,3445(*)	0,08766	0,021	-0,6480	-0,0410
	16 jam 0	-0,2093	0,08766	0,310	-0,5128	0,0942
	24 jam 0	-0,1408	0,08766	0,741	-0,4443	0,1627
	32 jam 0	-0,0926	0,08766	0,957	-0,3961	0,2109
	8 jam 1	-0,2000	0,08766	0,359	-0,5035	0,1035
	16 jam 1	-0,1889	0,08766	0,424	-0,4924	0,1146
	24 jam 1	-0,1334	0,08766	0,786	-0,4369	0,1701

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the 0,05 level.

Tukey HSD kafein

fermentasi	N	Subset	
		a	b
32 jam 1	3	0,4518	
32 jam 0	3	0,5445	0,5445
24 jam 1	3	0,5852	0,5852
24 jam 0	3	0,5926	0,5926
16 jam 1	3	0,6408	0,6408
8 jam 1	3	0,6519	0,6519
16 jam 0	3	0,6611	0,6611
8 jam 0	3		0,7963
Sig.		0,310	0,144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 0,012.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b Alpha = 0,05.

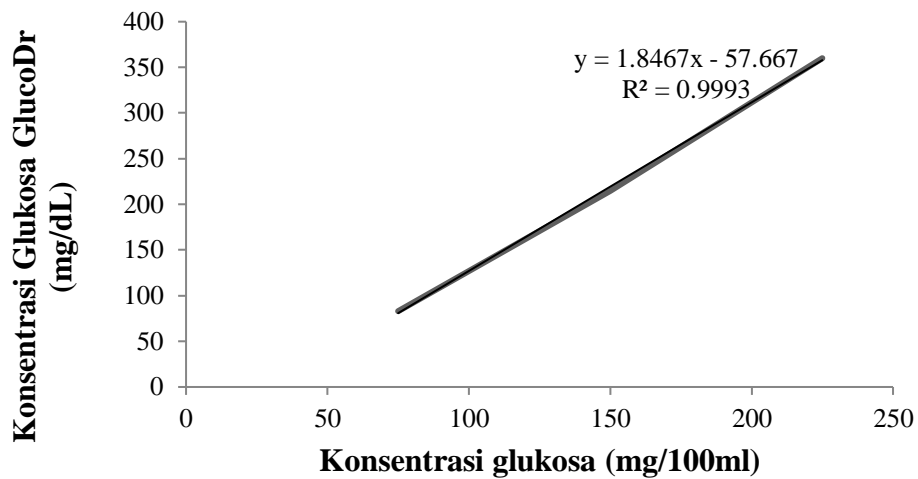
B. Kadar Glukosa (%)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	8,8085	8,7002	10,2706	9,2598	0,8771
A2B0	9,1876	8,9168	9,0793	9,0612	0,1363
A3B0	8,3753	8,8085	9,9457	9,0432	0,8111
A4B0	8,2941	9,4583	9,0071	8,9198	0,5870
A1B1	9,6479	9,4764	8,8085	9,3109	0,4435
A2B1	8,9710	9,6208	9,2688	9,2869	0,3253
A3B1	9,0793	9,2147	9,0251	9,1064	0,0976
A4B1	9,3500	8,9529	8,7905	9,0311	0,2879
Kopi luwak (kontrol 1)				9,2147	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				9,8915	

Kalibrasi Gluco Dr

konsentrasi glukosa (mg/100 ml)	glukosa strip	
	(mg/dL)	rata –rata (mg/dL)
75	82	83
	83	
	84	
150	218	215
	214	
	213	
225	360	360
	348	
	372	

Kurva standard glukosa anhidrat



Contoh perhitungan kadar glukosa dengan persamaan linearisasi

Persamaan linearisasi yang didapatkan: $y = 1,846x - 57,667$

Kadar glukosa yang terukur oleh glucoDr = 122 mg/dL (dimisalkan), maka

$$C \text{ (mg/dL)} = \frac{122 \frac{\text{mg}}{\text{dL}} + 57,667}{1,8467}$$

Uji ANOVA kadar glukosa Between-Subjects Factors

		Value Label	N
fermentasi	1,00	8 jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	5
	4,00	32 jam	7
enzim	0,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: glukosa

fermentasi	enzim	Mean	Std. Deviation	N
8 jam	tanpa enzim	9,2598	0,87708	3
	dengan enzim	9,3109	0,44349	3
	Total	9,2854	0,62223	6
16 jam	tanpa enzim	9,0612	0,13630	3
	dengan enzim	9,2869	0,32528	3
	Total	9,1741	0,25500	6
24 jam	tanpa enzim	9,0432	0,81107	3
	dengan enzim	9,1199	0,13407	2
	Total	9,0739	0,57895	5
32 jam	tanpa enzim	8,9198	0,58699	3
	dengan enzim	9,0432	0,23625	4
	Total	8,9903	0,38354	7
Total	tanpa enzim	9,0710	0,58454	12
	dengan enzim	9,1838	0,29511	12
	Total	9,1274	0,45650	24

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: glukosa

F	df1	df2	Sig.
3,067	7	16	,030

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: glukosa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0,422(a)	7	0,060	0,221	0,975
Intercept	1940,201	1	1940,201	7102,297	0,000
fermentasi *	0,026	3	0,009	0,032	0,992
enzim	0,319	3	0,106	0,389	0,762
enzim	0,083	1	0,083	0,303	0,590
Error	4,371	16	0,273		
Total	2004,225	24			
Corrected Total	4,793	23			

a R Squared = 0,088 (Adjusted R Squared = -0,311)

C. pH (derajat keasaman)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	6,1567	6,1067	6,2033	6,1556	0,0483
A2B0	6,1550	6,1050	6,1800	6,1467	0,0382
A3B0	6,0133	6,0933	6,1150	6,0739	0,0535
A4B0	5,9100	6,0433	6,0067	5,9867	0,0689
A1B1	6,1800	6,2367	6,1767	6,1978	0,0337
A2B1	6,0533	6,1067	6,1333	6,0978	0,0407
A3B1	5,9933	5,9867	6,0067	5,9956	0,0102
A4B1	5,9200	5,8933	5,8800	5,8978	0,0204
Kopi luwak (kontrol 1)				5,5750	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				6,2567	

Uji ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Parameter pH Between-Subjects Factors

		Value Label	N
fermentasi	1,00	8 jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	5
	4,00	32 jam	7
enzim	0,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: pH

fermentasi	enzim	Mean	Std. Deviation	N
8 jam	tanpa enzim	6,1556	0,04831	3
	dengan enzim	6,1978	0,03373	3
	Total	6,1767	0,04386	6
16 jam	tanpa enzim	6,1467	0,03819	3
	dengan enzim	6,0978	0,04074	3

24 jam	Total	6,1222	0,04432	6
	tanpa enzim	6,0739	0,05356	3
	dengan enzim	5,9967	0,01414	2
32 jam	Total	6,0430	0,05719	5
	tanpa enzim	5,9867	0,06887	3
	dengan enzim	5,9217	0,05058	4
Total	Total	5,9495	0,06378	7
	tanpa enzim	6,0907	0,08429	12
	dengan enzim	6,0472	0,11960	12
	Total	6,0690	0,10359	24

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: ph

F	df1	df2	Sig.
0,709	7	16	0,665

- Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.
- a Design: Intercept+fermentasi * enzim+fermentasi+enzim

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ph

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0,211(a)	7	0,030	13,265	0,000
Intercept	858,071	1	858,071	378436,004	0,000
fermentasi * enzim	0,013	3	0,004	1,897	0,171
fermentasi	0,182	3	0,061	26,822	0,000
enzim	0,008	1	0,008	3,553	0,078
Error	0,036	16	0,002		
Total	884,221	24			
Corrected Total	0,247	23			

a R Squared = 0,853 (Adjusted R Squared = 0,789)

Multiple Comparisons
Dependent Variable: pH
Tukey HSD

(I) fermentasi	(J) fermentasi	Mean	Std.	Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J) Lower Bound	Error Upper Bound		Lower Bound	Upper Bound
8 jam 0	16 jam 0	0,0089	0,03502	1,000	-0,1124	0,1302
	24 jam 0	0,0817	0,03502	0,335	-0,0396	0,2030
	32 jam 0	0,1689(*)	0,03502	0,004	0,0476	0,2902
	8 jam 1	-0,0422	0,03502	0,919	-0,1635	0,0790
	16 jam 1	0,0578	0,03502	0,716	-0,0635	0,1791
	24 jam 1	0,1600(*)	0,03502	0,006	0,0387	0,2813
	32 jam 1	0,2578(*)	0,03502	0,000	0,1365	0,3791
16 jam 0	8 jam 0	-0,0089	0,03502	1,000	-0,1302	0,1124
	24 jam 0	0,0728	0,03502	0,466	-0,0485	0,1941
	32 jam 0	0,1600(*)	0,03502	0,006	0,0387	0,2813
	8 jam 1	-0,0511	0,03502	0,817	-0,1724	0,0701
	16 jam 1	0,0489	0,03502	0,846	-0,0724	0,1702
	24 jam 1	0,1511(*)	0,03502	0,010	0,0298	0,2724
	32 jam 1	0,2489(*)	0,03502	0,000	0,1276	0,3702
24 jam 0	8 jam 0	-0,0817	0,03502	0,335	-0,2030	0,0396
	16 jam 0	-0,0728	0,03502	0,466	-0,1941	0,0485
	32 jam 0	0,0872	0,03502	0,266	-0,0341	0,2085
	8 jam 1	-0,1239(*)	0,03502	0,043	-0,2452	-0,0027
	16 jam 1	-0,0239	0,03502	0,996	-0,1452	0,0974
	24 jam 1	0,0783	0,03502	0,382	-0,0430	0,1996
	32 jam 1	0,1761(*)	0,03502	0,002	0,0548	0,2974
32 jam 0	8 jam 0	-0,1689(*)	0,03502	0,004	-0,2902	-0,0476
	16 jam 0	-0,1600(*)	0,03502	0,006	-0,2813	-0,0387
	24 jam 0	-0,0872	0,03502	0,266	-0,2085	0,0341
	8 jam 1	-0,2111(*)	0,03502	0,000	-0,3324	-0,0899
	16 jam 1	-0,1111	0,03502	0,085	-0,2324	0,0102
	24 jam 1	-0,0089	0,03502	1,000	-0,1302	0,1124
	32 jam 1	0,0889	0,03502	0,248	-0,0324	0,2102
8 jam 1	8 jam 0	0,0422	0,03502	0,919	-0,0790	0,1635
	16 jam 0	0,0511	0,03502	0,817	-0,0701	0,1724
	24 jam 0	0,1239(*)	0,03502	0,043	0,0027	0,2452
	32 jam 0	0,2111(*)	0,03502	0,000	0,0899	0,3324
	16 jam 1	0,1000	0,03502	0,148	-0,0212	0,2213
	24 jam 1	0,2022(*)	0,03502	0,001	0,0810	0,3235
	32 jam 1	0,3000(*)	0,03502	0,000	0,1788	0,4213
16 jam 1	8 jam 0	-0,0578	0,03502	0,716	-0,1791	0,0635
	16 jam 0	-0,0489	0,03502	0,846	-0,1702	0,0724

	24 jam 0	0,0239	0,03502	0,996	-0,0974	0,1452
	32 jam 0	0,1111	0,03502	0,085	-0,0102	0,2324
	8 jam 1	-0,1000	0,03502	0,148	-0,2213	0,0212
	24 jam 1	0,1022	0,03502	0,133	-0,0191	0,2235
	32 jam 1	0,2000(*)	0,03502	0,001	0,0787	0,3213
24 jam 1	8 jam 0	-0,1600(*)	0,03502	0,006	-0,2813	-0,0387
	16 jam 0	-0,1511(*)	0,03502	0,010	-0,2724	-0,0298
	24 jam 0	-0,0783	0,03502	0,382	-0,1996	0,0430
	32 jam 0	0,0089	0,03502	1,000	-0,1124	0,1302
	8 jam 1	-0,2022(*)	0,03502	0,001	-0,3235	-0,0810
	16 jam 1	-0,1022	0,03502	0,133	-0,2235	0,0191
	32 jam 1	0,0978	0,03502	0,165	-0,0235	0,2191
32 jam 1	8 jam 0	-0,2578(*)	0,03502	0,000	-0,3791	-0,1365
	16 jam 0	-0,2489(*)	0,03502	0,000	-0,3702	-0,1276
	24 jam 0	-0,1761(*)	0,03502	0,002	-0,2974	-0,0548
	32 jam 0	-0,0889	0,03502	0,248	-0,2102	0,0324
	8 jam 1	-0,3000(*)	0,03502	0,000	-0,4213	-0,1788
	16 jam 1	-0,2000(*)	0,03502	0,001	-0,3213	-0,0787
	24 jam 1	-0,0978	0,03502	0,165	-0,2191	0,0235

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the 0,05 level.

Tukey HSD pH

fermentasi	N	Subset			
		a	b	c	d
32 jam 1	3	5,8978			
32 jam 0	3	5,9867	5,9867		
24 jam 1	3	5,9956	5,9956		
24 jam 0	3		6,0739	6,0739	
16 jam 1	3		6,0978	6,0978	6,0978
16 jam 0	3			6,1467	6,1467
8 jam 0	3			6,1556	6,1556
8 jam 1	3				6,1978
Sig.		0,165	0,085	0,335	0,148

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 0,002.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b Alpha = 0,05.

D. Kadar Air (% wb)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	10,0221	9,7035	11,1541	10,2933	0,7623
A2B0	10,7467	10,2522	9,5586	10,1858	0,5968
A3B0	10,1573	10,0086	10,2301	10,1320	0,1129
A4B0	10,3856	7,8478	10,4028	9,5454	1,4702
A1B1	11,4844	10,9569	10,0112	10,8175	0,7464
A2B1	10,3524	10,5574	10,5894	10,4997	0,1286
A3B1	10,0175	10,0930	11,0650	10,3918	0,5842
A4B1	9,9995	10,1454	10,6029	10,2493	0,3148
Kopi luwak (kontrol 1)				9,4491	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				10,8370	

Uji ANOVA Kadar Air
Between-Subjects Factors

		Value Label	N
fermentasi	1,00	8 jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	6
	4,00	32 jam	6
enzim	0,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: KA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,758(a)	7	0,394	0,764	0,625
Intercept	2528,565	1	2528,565	4903,06 1	0,000
fermentasi enzim	1,353	3	0,451	0,875	0,475
fermentasi * enzim	1,218	1	1,218	2,361	0,144
fermentasi * enzim	0,187	3	0,062	0,121	0,946
Error	8,251	16	0,516		
Total	2539,574	24			
Corrected Total	11,009	23			

a R Squared = 0,250 (Adjusted R Squared = -0,077)

E. Total Asam Tertitrasi (TAT %)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	1,3440	1,3384	1,3660	1,3495	0,0146
A2B0	1,4100	1,3825	1,4321	1,4082	0,0248
A3B0	1,4486	1,4761	1,4982	1,4743	0,0248
A4B0	1,5037	1,5312	1,5092	1,5147	0,0146
A1B1	1,5973	1,5257	1,6359	1,5863	0,0559
A2B1	1,6965	1,6854	1,7130	1,6983	0,0139
A3B1	1,7130	1,7240	1,7681	1,7350	0,0291
A4B1	1,8562	1,7626	1,8727	1,8305	0,0594
Kopi luwak (kontrol 1)				2,0490	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				1,2558	

Uji ANOVA dan uji lanjut Tukey parameter TAT (%)
Between-Subjects Factors

		Value Label	N
fermentasi	1,00	8 jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	6
	4,00	32 jam	6
enzim	0,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: tat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0,596(a)	7	0,085	72,814	0,000
Intercept	59,505	1	59,505	50884,070	0,000
fermentasi * enzim	0,005	3	0,002	1,518	0,248
fermentasi	0,134	3	0,045	38,228	0,000
enzim	0,457	1	0,457	390,463	0,000
Error	0,019	16	0,001		
Total	60,120	24			
Corrected Total	0,615	23			

a R Squared =0 ,970 (Adjusted R Squared =0 ,956)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TAT

Tukey HSD

(I) fermentasi	(J) fermentasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound		Lower Bound	Upper Bound
8 jam 0	16 jam 0	-0,0587	0,02792	0,452	-0,1554	0,0379
	24 jam 0	-0,1248(*)	0,02792	0,007	-0,2215	-0,0282
	32 jam 0	-0,1652(*)	0,02792	0,000	-0,2619	-0,0686
	8 jam 1	-0,2368(*)	0,02792	0,000	-0,3335	-0,1402
	16 jam 1	-0,3488(*)	0,02792	0,000	-0,4455	-0,2522
	24 jam 1	-0,3856(*)	0,02792	0,000	-0,4822	-0,2889

16 jam 0	32 jam 1	-0,4810(*)	0,02792	0,000	-0,5777	-0,3844
	8 jam 0	0,0587	0,02792	0,452	-0,0379	0,1554
	24 jam 0	-0,0661	0,02792	0,319	-0,1628	0,0306
	32 jam 0	-0,1065(*)	0,02792	0,026	-0,2032	-0,0098
	8 jam 1	-0,1781(*)	0,02792	0,000	-0,2748	-0,0814
	16 jam 1	-0,2901(*)	0,02792	0,000	-0,3868	-0,1934
	24 jam 1	-0,3268(*)	0,02792	0,000	-0,4235	-0,2302
24 jam 0	32 jam 1	-0,4223(*)	0,02792	0,000	-0,5190	-0,3256
	8 jam 0	0,1248(*)	0,02792	0,007	0,0282	0,2215
	16 jam 0	0,0661	0,02792	0,319	-0,0306	0,1628
	32 jam 0	-0,0404	0,02792	0,823	-0,1371	0,0563
	8 jam 1	-0,1120(*)	0,02792	0,017	-0,2087	-0,0153
	16 jam 1	-0,2240(*)	0,02792	0,000	-0,3207	-0,1273
	24 jam 1	-0,2607(*)	0,02792	0,000	-0,3574	-0,1641
32 jam 0	32 jam 1	-0,3562(*)	0,02792	0,000	-0,4529	-0,2595
	8 jam 0	0,1652(*)	0,02792	0,000	0,0686	0,2619
	16 jam 0	0,1065(*)	0,02792	0,026	0,0098	0,2032
	24 jam 0	0,0404	0,02792	0,823	-0,0563	0,1371
	8 jam 1	-0,0716	0,02792	0,238	-0,1683	0,0251
	16 jam 1	-0,1836(*)	0,02792	0,000	-0,2803	-0,0869
	24 jam 1	-0,2203(*)	0,02792	0,000	-0,3170	-0,1237
8 jam 1	32 jam 1	-0,3158(*)	0,02792	0,000	-0,4125	-0,2191
	8 jam 0	0,2368(*)	0,02792	0,000	0,1402	0,3335
	16 jam 0	0,1781(*)	0,02792	0,000	0,0814	0,2748
	24 jam 0	0,1120(*)	0,02792	0,017	0,0153	0,2087
	32 jam 0	0,0716	0,02792	0,238	-0,0251	0,1683
	16 jam 1	-0,1120(*)	0,02792	0,017	-0,2087	-0,0153
	24 jam 1	-0,1487(*)	0,02792	0,001	-0,2454	-0,0521
16 jam 1	32 jam 1	-0,2442(*)	0,02792	0,000	-0,3409	-0,1475
	8 jam 0	0,3488(*)	0,02792	0,000	0,2522	0,4455
	16 jam 0	0,2901(*)	0,02792	0,000	0,1934	0,3868
	24 jam 0	0,2240(*)	0,02792	0,000	0,1273	0,3207
	32 jam 0	0,1836(*)	0,02792	0,000	0,0869	0,2803
	8 jam 1	0,1120(*)	0,02792	0,017	0,0153	0,2087
	24 jam 1	-0,0367	0,02792	0,880	-0,1334	0,0599
24 jam 1	32 jam 1	-0,1322(*)	0,02792	0,004	-0,2289	-0,0355
	8 jam 0	0,3856(*)	0,02792	0,000	0,2889	0,4822
	16 jam 0	0,3268(*)	0,02792	0,000	0,2302	0,4235
	24 jam 0	0,2607(*)	0,02792	0,000	0,1641	0,3574
	32 jam 0	0,2203(*)	0,02792	0,000	0,1237	0,3170
	8 jam 1	0,1487(*)	0,02792	0,001	0,0521	0,2454
	16 jam 1	0,0367	0,02792	0,880	-0,0599	0,1334
32 jam 1	32 jam 1	-0,0955	0,02792	0,054	-0,1921	0,0012
	8 jam 0	0,4810(*)	0,02792	0,000	0,3844	0,5777
	16 jam 0	0,4223(*)	0,02792	0,000	0,3256	0,5190
	24 jam 0	0,3562(*)	0,02792	0,000	0,2595	0,4529

32 jam 0	0,3158(*)	0,02792	0,000	0,2191	0,4125
8 jam 1	0,2442(*)	0,02792	0,000	0,1475	0,3409
16 jam 1	0,1322(*)	0,02792	0,004	0,0355	0,2289
24 jam 1	0,0955	0,02792	0,054	-0,0012	0,1921

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the 0,05 level.

Tukey HSD TAT

fermentasi	N	Subset						
		1	a	b	c	d	e	f
8 jam 0	3	1,3495						
16 jam 0	3	1,4082	1,4082					
24 jam 0	3		1,4743	1,4743				
32 jam 0	3			1,5147	1,5147			
8 jam 1	3				1,5863			
16 jam 1	3					1,6983		
24 jam 1	3					1,7350	1,7350	
32 jam 1	3						1,8305	1,8305
Sig.		0,452	0,319	0,823	0,238	0,880	0,054	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

The error term is Mean Square(Error) = 0,001.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b Alpha = 0,05.

F. Degradasi Protein (%)

Perlakuan	Ulangan			Rata-Rata	Stdev
	1	2	3		
A1B0	0,0863	0,0794	0,1002	0,0886	0,01061
A2B0	0,1171	0,1101	0,1141	0,1138	0,00348
A3B0	0,1359	0,1340	0,1459	0,1386	0,00638
A4B0	0,1823	0,1667	0,2133	0,1874	0,02374
A1B1	0,1121	0,1121	0,1201	0,1148	0,00458
A2B1	0,1250	0,1300	0,1300	0,1283	0,00286
A3B1	0,1806	0,1607	0,1806	0,1740	0,01146
A4B1	0,1865	0,1984	0,2074	0,1975	0,01045
Kopi luwak (kontrol 1)				0,2282	
Robusta tanpa fermentasi (kontrol 2)				0,1250	

**Uji ANOVA Dan Uji Lanjut Tukey Parameter Degradasi Protein (%)
Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
perlakuan	1,00	8 jam	6
	2,00	16 jam	6
	3,00	24 jam	6
	4,00	32 jam	6
enzim	,00	tanpa enzim	12
	1,00	dengan enzim	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: formol

perlakuan	enzim	Mean	Std. Deviation	N
8 jam	tanpa enzim	0,0886	0,01059	3
	dengan enzim	0,1148	0,00462	3
	Total	0,1017	0,01607	6
16 jam	tanpa enzim	0,1138	0,00351	3
	dengan enzim	0,1283	0,00289	3
	Total	0,1211	0,00848	6
24 jam	tanpa enzim	0,1386	0,00639	3
	dengan enzim	0,1740	0,01149	3
	Total	0,1563	0,02108	6
32 jam	tanpa enzim	0,1874	0,02372	3
	dengan enzim	0,1974	0,01048	3
	Total	0,1924	0,01729	6
Total	tanpa enzim	0,1321	0,03982	12
	dengan enzim	0,1536	0,03566	12
	Total	0,1429	0,03857	24

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: formol

F	df1	df2	Sig.
2,940	7	16	0,035

- Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+perlakuan+enzim+perlakuan * enzim

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: formol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0,032(a)	7	0,005	36,828	0,000
Intercept	0,490	1	0,490	3920,170	0,000
perlakuan enzim	0,029	3	0,010	76,945	0,000
perlakuan * enzim	0,003	1	0,003	22,230	0,000
Error	0,001	3	0,000	1,577	0,234
Total	0,002	16	0,000		
Corrected Total	0,524	24			
	0,034	23			

a R Squared = 0,942 (Adjusted R Squared = 0,916)

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: formol

Tukey HSD

(I) fermentasi	(J) fermentasi	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
		Differenc e (I-J) Lower Bound			Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound
8 jam 0	16 jam 0	-0,0251	0,00913	0,176	-0,0567	0,0065	
	24 jam 0	-0,0500(*)	0,00913	0,001	-0,0816	-0,0184	
	32 jam 0	-0,0988(*)	0,00913	0,000	-0,1304	-0,0672	
	8 jam 1	-0,0261	0,00913	0,146	-0,0577	0,0055	
	16 jam 1	-0,0397(*)	0,00913	0,009	-0,0713	-0,0081	
	24 jam 1	-0,0853(*)	0,00913	0,000	-0,1169	-0,0537	
	32 jam 1	-0,1088(*)	0,00913	0,000	-0,1404	-0,0772	
	16 jam 0	8 jam 0	0,0251	0,00913	0,176	-0,0065	0,0567
16 jam 0	24 jam 0	-0,0248	0,00913	0,185	-0,0564	0,0068	
	32 jam 0	-0,0737(*)	0,00913	0,000	-0,1053	-0,0421	
	8 jam 1	-0,0010	0,00913	1,000	-0,0326	0,0306	
	16 jam 1	-0,0146	0,00913	0,746	-0,0462	0,0170	
	24 jam 1	-0,0602(*)	0,00913	0,000	-0,0918	-0,0286	
	32 jam 1	-0,0837(*)	0,00913	0,000	-0,1153	-0,0521	
	8 jam 0	24 jam 0	0,0500(*)	0,00913	0,001	0,0184	0,0816
	24 jam 0	16 jam 0	0,0248	0,00913	0,185	-0,0068	0,0564
32 jam 0		-0,0488(*)	0,00913	0,001	-0,0804	-0,0172	

	8 jam 1	0,0238	0,00913	0,221	-0,0078	0,0554
	16 jam 1	0,0103	0,00913	0,942	-0,0213	0,0419
	24 jam 1	-0,0354(*)	0,00913	0,023	-0,0670	-0,0038
	32 jam 1	-0,0588(*)	0,00913	0,000	-0,0904	-0,0272
32 jam 0	8 jam 0	0,0988(*)	0,00913	0,000	0,0672	0,1304
	16 jam 0	0,0737(*)	0,00913	0,000	0,0421	0,1053
	24 jam 0	0,0488(*)	0,00913	0,001	0,0172	0,0804
	8 jam 1	0,0727(*)	0,00913	0,000	0,0411	0,1043
	16 jam 1	0,0591(*)	0,00913	0,000	0,0275	0,0907
	24 jam 1	0,0135	0,00913	0,809	-0,0181	0,0451
	32 jam 1	-0,0100	0,00913	0,949	-0,0416	0,0216
8 jam 1	8 jam 0	0,0261	0,00913	0,146	-0,0055	0,0577
	16 jam 0	0,0010	0,00913	1,000	-0,0306	0,0326
	24 jam 0	-0,0238	0,00913	0,221	-0,0554	0,0078
	32 jam 0	-0,0727(*)	0,00913	0,000	-0,1043	-0,0411
	16 jam 1	-0,0136	0,00913	0,804	-0,0452	0,0180
	24 jam 1	-0,0592(*)	0,00913	0,000	-0,0908	-0,0276
	32 jam 1	-0,0827(*)	0,00913	0,000	-0,1143	-0,0511
16 jam 1	8 jam 0	0,0397(*)	0,00913	0,009	0,0081	0,0713
	16 jam 0	0,0146	0,00913	0,746	-0,0170	0,0462
	24 jam 0	-0,0103	0,00913	0,942	-0,0419	0,0213
	32 jam 0	-0,0591(*)	0,00913	0,000	-0,0907	-0,0275
	8 jam 1	0,0136	0,00913	0,804	-0,0180	0,0452
	24 jam 1	-0,0456(*)	0,00913	0,003	-0,0772	-0,0140
	32 jam 1	-0,0691(*)	0,00913	0,000	-0,1007	-0,0375
24 jam 1	8 jam 0	0,0853(*)	0,00913	0,000	0,0537	0,1169
	16 jam 0	0,0602(*)	0,00913	0,000	0,0286	0,0918
	24 jam 0	0,0354(*)	0,00913	0,023	0,0038	0,0670
	32 jam 0	-0,0135	0,00913	0,809	-0,0451	0,0181
	8 jam 1	0,0592(*)	0,00913	0,000	0,0276	0,0908
	16 jam 1	0,0456(*)	0,00913	0,003	0,0140	0,0772
	32 jam 1	-0,0235	0,00913	0,235	-0,0551	0,0081
32 jam 1	8 jam 0	0,1088(*)	0,00913	0,000	0,0772	0,1404
	16 jam 0	0,0837(*)	0,00913	0,000	0,0521	0,1153
	24 jam 0	0,0588(*)	0,00913	0,000	0,0272	0,0904
	32 jam 0	0,0100	0,00913	0,949	-0,0216	0,0416
	8 jam 1	0,0827(*)	0,00913	0,000	0,0511	0,1143
	16 jam 1	0,0691(*)	0,00913	0,000	0,0375	0,1007
	24 jam 1	0,0235	0,00913	0,235	-0,0081	0,0551

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Tukey HSD % N Amino

perlakuan	N	Subset		
		a	b	c
8 jam 0	3	0,0886		
16 jam 0	3	0,1138	0,1138	
8 jam 1	3	0,1148	0,1148	
16 jam 1	3		0,1283	
24 jam 0	3		0,1386	
24 jam 1	3			0,1740
32 jam 0	3			0,1874
32 jam 1	3			0,1974
Sig.		0,146	0,185	0,235

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 0,000.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b Alpha = 0,05.