

KARAKTERISTIK KIMIA KOPI LUWAK ROBUSTA ARTIFISIAL TERFERMENTASI OLEH RAGI LUWAK DAN α -AMILASE

Mukhammad Fauzi, Miftahul Choiron, Yuli Dewi Puji Astutik

*Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Jember 68121
Email: fauziafah@yahoo.com*

(Diterima 14-07-17, Disetujui 17-11-2018)

ABSTRAK

Kopi luwak artifisial mulai dikembangkan dengan beragam metode fermentasi. Fermentasi kopi menggunakan ragi feses luwak selama 24 jam sudah dilakukan sebelumnya. Namun, karakteristik kimia yang dihasilkan belum bisa menyamai kopi luwak asli. Tujuan dari penelitian ini adalah menghasilkan kopi luwak artifisial dengan karakteristik kimia yang serupa dengan kopi luwak asli. Pembuatan kopi luwak robusta artifisial melalui tahapan pembuatan ragi kering dan fermentasi kopi robusta. Waktu fermentasi yang digunakan yaitu 8 jam (A1), 16 jam (A2), 24 jam (A3) dan 32 jam (A4) yang dikombinasikan dengan faktor penambahan α -amilase (B1) dan tanpa penambahan α -amilase (B0). Dari kedua faktor didapatkan delapan kombinasi perlakuan. Kadar kafein kopi tanpa α -amilase 0,54-0,80%, sedangkan dengan α -amilase 0,45-0,65%. Kadar glukosa tanpa α -amilase 8,92-9,26%, sedangkan dengan α -amilase 9,03-9,31%. pH dengan α -amilase 5,90-6,20, sedangkan tanpa α -amilase 5,99-6,16. Kadar air dengan α -amilase 10,25-10,82%, sedangkan tanpa α -amilase 9,55-10,29%. Total asam tertitrasi dengan α -amilase 1,59-1,83%, sedangkan tanpa α -amilase yaitu 1,41-1,51%. Persen N-amino dengan α -amilase 0,11-0,2%, sedangkan tanpa α -amilase 0,09-0,19%. Berdasarkan hasil analisis, perlakuan A4B1 (fermentasi 32 jam dengan penambahan α -amilase) memiliki karakteristik kimia paling mendekati kopi luwak asli.

Kata Kunci: robusta, kopi luwak, fermentasi artifisial, α -amilase

ABSTRACT

Mukhammad Fauzi, Miftahul Choiron, Yuli Dewi Puji Astutik. 2017. Chemical Characteristic Coffee Luwak Artifisial Fermented by Luwak dan α -amilase.

Artificial robusta luwak coffee began developed with various of fermentation methods. Coffee fermentation using luwak starter culture for 24 hours has been done before. However, the chemical characteristics of the product have not been able similar to original luwak coffee. The aim of the study was produced artificial luwak coffee able to the characteristic of the original luwak coffee. Produced artificial robusta luwak coffee through stages of preparing starter culture and fermentation robusta coffee. Fermentation time used 8 hours (A1), 16 hours (A2), 24 hours (A3) and 32 hours (A4) combined with by addition of α -amylase (B1) without α -amilase (B0). There were eight treatment combinations obtained. Caffeine content of coffee without α -amylase was 0.54-0.80%, while using α -amylase was 0.45-0.65%. Glucose levels without α -amylase was 8.92-9.26%, while using α -amylase was 9.03-9.31%. pH with α -amylase 5.90-6.20, while without α -amylase 5.99-6.16. The water content with α -amylase was 10.25-10.82%, while the water content without α -amylase was 9.55-10.29%. Total titratable acid with α -amylase was 1.59-1.83%, while without α -amylase was 1.41-1.51%. The N-amino percent with α -amylase was 0.11-0.2%, while without α -amylase was 0.09-0.19%. Based on the research, A4B1 treatment (32 hour fermentation using α -amylase) has chemical characteristics most closely related to the original luwak coffee.

Keywords: robusta, luwak coffee, artificial fermentation, α -amylase

PENDAHULUAN

Kopi luwak menjadi salah satu kopi termahal didunia dengan harga jual mencapai US\$ 100 per 450 gram biji kopi¹. Kopi luwak diolah dari biji kopi yang tidak dapat dicerna oleh luwak dan keluar bersama feses. Selama

dalam pencernaan luwak, biji kopi mengalami fermentasi oleh mikroflora pada saluran pencernaan luwak². Proses tersebut memberikan perubahan komposisi kimia biji kopi yang dapat meningkatkan kualitas aroma dan citarasa kopi luwak³. Dalam sistem pencernaan hewan luwak terdapat enzim amilolitik. Enzim ini dapat

menghidrolisis komponen karbohidrat terutama pati menjadi glukosa dan gula-gula sederhana⁴. Karbohidrat dari biji kopi akan mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan gula-gula sederhana lain menghasilkan rasa manis setelah fermentasi⁵. Perubahan kimia biji kopi dalam sistem pencernaan luwak menghasilkan kopi dengan flavor dan citarasa yang khas.

Disisi lain produktivitas dari kopi luwak masih terbatas. Alternatif cara untuk produksi kopi luwak 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 terdahulu, 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 pereduksi⁶. 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.

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 ton⁷. Oleh karena itu perlu upaya perbaikan pengolahan kopi robusta yaitu dengan penambahan enzim α -amilase selama fermentasi dengan menggunakan ragi dari feses luwak. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menghasilkan kopi luwak robusta artifisial yang memiliki karakteristik kimia serupa dengan kopi luwak robusta asli.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kopi robusta segar warna merah yang berasal dari perkebunan kopi Sidomulyo Kecamatan Silo Kabupaten Jember, kopi luwak robusta asli bukan tangkaran dari Garahan Kecamatan Silo Kabupaten Jember Jawa Timur dan diperoleh dari pengepul di daerah tersebut, Garahan dan Sidomulyo adalah desa bersebelahan. Kopi luwak asli yang diperoleh berupa kopi gabah kering yang diperoleh hasil pungutan petani diperkebunan kopi dua desa tersebut. 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, fenolflatein, NaOH 0,01N, H₂SO₄(1:9), formaldehid, dan asam oksalat.

Metode

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 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 α -amilase
B0	: tanpa α -amilase
B1	: dengan α -amilase

Pembuatan Starter Ragi Kopi Luwak

Sebanyak satu biji kopi luwak yang masih mengandung feses diinokulasikan kedalam 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 kedalam 90 ml media steril dan diinkubasi pada suhu 37-39 °C selama 48 jam. Kultur kerja yang dihasilkan diinokulasikan kedalam 900 ml media steril lalu dilakukan inkubasi 37-39 °C selama 48 jam. Kultur yang dihasilkan dijadikan sebagai inokulan pada pembuatan ragi kering.

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. Setelah dingin tepung beras dipindahkan kedalam kantong plastik steril. 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.

Pembuatan Kopi Luwak Artifisial

Pembuatan kopi luwak artifisial diawali dengan menyiapkan buah kopi robusta segar. Buah kopi robusta disortasi dan dilakukan pulping menggunakan mesin pulper untuk memisahkan antara biji kopi dengan kulit buahnya. 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. Pada perlakuan penambahan enzim, setelah ditambahkan ragi feses luwak 1% juga ditambahkan 0,093 gram enzim α -amilase per 14 kg biji kopi tanpa kulit yang sudah dilarutkan dalam air steril (400 ml). 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 sampai kadar air 10-12%. Biji kopi kering dikupas untuk memisahkan biji kopi dengan kulit tanduknya sehingga menghasilkan biji kopi luwak robusta artifisial dan dikemas dalam kantong plastik.

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.

Kadar Kafein Metode Bailey-Andrew⁸

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 *beaker glass* 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, dan 10 ml. Ke dalam corong

pemisah ditambahkan 5 ml KOH 1% lalu digojog dan dibiarkan agar terjadi pemisahan antara ekstrak dan rafinat.

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

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

Kadar Glukosa Metode Elektrokimia⁹

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 an-hidrat dengan perbedaan konsentrasi larutan.

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

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

pH 10

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.

Kadar Air Metode Thermogravimetri⁸

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

Analisis Total Asam Tertitrasi Metode Acidi-Alkalimetri¹¹

Analisis total asam tertitrasi 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 aquadest. 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 tertitrasi diasumsikan sebagai total asam laktat yang terukur dari sampel. Untuk perhitungan total asam dapat digunakan rumus dibawah ini:

$$x = \frac{\text{mlNaOH} \times \text{NNaOH} \times \text{BMas} \times \text{laktat} \times \text{FP}}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Analisis Degradasi Protein Metode Formol Nitrogen⁸

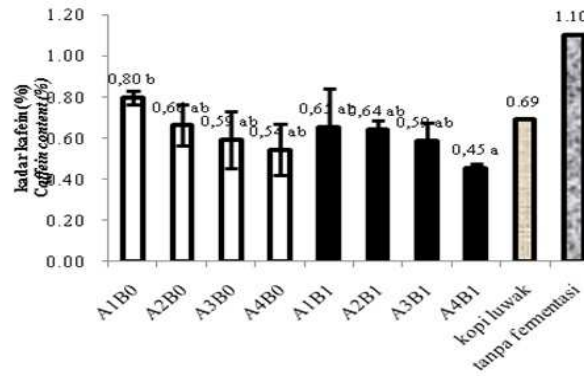
Sebanyak 2 gram biji kopi dihaluskan menggunakan mortar dan alu hingga berukuran 60 mesh. Sampel biji kopi yang telah halus dilarutkan dalam aquades sebanyak 20 ml dan dihomogenkan. Larutan disaring menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung pada labu ukur 100 ml. Ampas yang diperoleh diekstrak 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 0,01N hingga berubah warna menjadi merah muda. Kedalam 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 terdiri dari 20 ml aquades dan ditambahkan dengan 1 ml indikator fenolftalein 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

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

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. Untuk memudahkan interpretasi, data yang dihasilkan selanjutnya diploting dalam bentuk grafik disertai dengan standard deviasi. Metode analisis dapat dipersingkat bila sudah umum dikenal dan dirujuk pada sitasi yang lengkap.



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam),
A3 (24 jam); A4 (32 jam);
B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

Gambar 1. Kadar kafein kopi luwak robusta artifisial (%)
Figure 1. Caffeine content of artificial robusta luwak coffee (%)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Kafein

Kadar kafein adalah jumlah molekul kafein yang ada pada bahan yang dinyatakan dalam satuan persen (% b/b).

Berdasarkan Gambar 1. maka dapat diketahui bahwa kadar kafein dari kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi tanpa menggunakan enzim berkisar 0,54-0,80% dengan standard deviasi 0,0357-0,1389, sedangkan kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi dengan penambahan enzim α -amilase memiliki kadar kafein 0,45-0,65% dengan standard deviasi 0,0231-0,1890. Kadar kafein dari kopi luwak asli (kontrol 1) sebesar 0,69%. Kadar kafein yang terukur mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa hampir semua perlakuan kecuali A1B0 memiliki kadar kafein yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kopi luwak robusta komersial (kontrol 1). Namun penggunaan amilase dalam penelitian ini secara ekonomi kurang menguntungkan mengingat harga enzim yang cukup mahal.

Kadar kafein yang rendah pada kopi luwak diharapkan, mengingat kopi luwak asli kadar kafein lebih rendah dari pada kopi robusta, sehingga semakin rendah kadar kafeinnya maka kopi semakin baik mutunya. Berdasarkan hasil uji beda dengan taraf 5% dan uji lanjut Tukey, lama fermentasi memberikan pengaruh berbeda nyata pada penurunan kadar kafein, sedangkan ada atau tidaknya enzim α -amilase dan interaksi kedua faktor memberikan pengaruh berbeda tidak nyata.

Fermentasi menggunakan ragi dari feses luwak dapat berpengaruh pada penurunan kadar kafein kopi. Kafein merupakan senyawa alkaloid yang akan

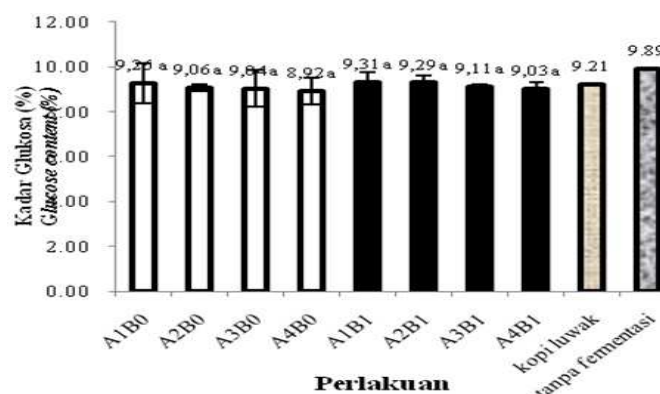
mengalami esterifikasi dengan alkohol selama fermentasi sehingga jumlahnya akan berkurang seiring dengan lama fermentasi¹². Semakin lama fermentasi maka aktivitas mikrobial dari ragi feses luwak akan semakin meningkat untuk menurunkan kadar kafein dengan menghasilkan metabolit-metabolit berupa enzim. Kafein akan digunakan untuk demetilasi dan oksidasi, selanjutnya enzim kafeinase akan mengubah kafein menjadi kafein demetilasi atau kafein oksidasi¹³.

Kadar Glukosa

Kadar glukosa menunjukkan aktivitas amilolitik dari mikroba dan enzim α -amilase selama fermentasi.

Berdasarkan Gambar 2, dapat diketahui kadar glukosa kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi tanpa penambahan enzim α -amilase berkisar 8,92-9,26% dengan standard deviasi 0,1363-0,8771 dan cenderung mengalami penurunan selama fermentasi. Begitu pula dengan kadar glukosa kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi dengan penambahan enzim α -amilase berkisar 9,03-9,31% dengan standard deviasi 0,0976-0,4435. Kadar glukosa dari kopi luwak asli (kontrol 1) sebesar 9,21%. Berdasarkan uji beda dengan taraf 5%, lama waktu fermentasi dan ada atau tidaknya penambahan enzim α -amilase serta interaksi antara kedua faktor tidak memberikan hasil yang berbeda nyata pada parameter kadar glukosa. Meskipun faktor lama fermentasi dan adanya enzim α -amilase memberikan pengaruh yang tidak signifikan pada kadar glukosa, namun perbedaan kandungan glukosa dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh aktivitas amilolitik dari mikroba ragi serta enzim α -amilase yang ditambahkan.

Adanya penambahan enzim α -amilase menyebabkan komponen pati pada pulp kopi mengalami



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam),
A3 (24 jam); A4 (32 jam);
B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

Gambar 2. Kadar glukosa kopi luwak robusta artifisial (%)
Figure 2. Glucose content of artificial robusta luwak coffee (%)

hidrolisis menjadi gula-gula sederhana salah satunya yaitu glukosa. Enzim α -amilase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis ikatan 1,4- α -glikosida secara acak terutama rantai panjang¹⁴. Glukosa hasil hidrolisis selanjutnya dimanfaatkan oleh mikroba sebagai substrat selama fermentasi. Penambahan enzim α -amilase menyebabkan jumlah glukosa yang terukur semakin banyak akibat terjadinya hidrolisis pati. Namun, fermentasi yang melibatkan mikroba dapat menurunkan kadar glukosa karena terjadi perubahan glukosa menjadi asam-asam organik. Selama fermentasi mikroba akan menghasilkan metabolit yang dapat memecah komponen pulp. Bakteri pemecah gula ini bekerja 5 sampai 24 jam selama fermentasi, sebagai hasil pemecahan gula adalah asam laktat dan asam asetat dengan kadar asam laktat yang lebih besar¹⁵. Semakin lama waktu hidrolisis, maka semakin banyak pati yang dipecah menjadi glukosa. Namun, semakin lama dan bertambahnya konsentrasi enzim hingga melampaui kondisi optimum, menyebabkan yield glukosa yang dihasilkan menurun dikarenakan kemampuan enzim untuk mengubah pati menjadi glukosa semakin menurun¹⁶.

pH (Derajat Keasaman)

pH atau derajat keasaman adalah indikator tingkat keasaman kopi luwak robusta artifisial. Keasaman produk dipengaruhi oleh degradasi gula menjadi asam-asam organik selama fermentasi.

Berdasarkan Gambar 3. dapat diketahui bahwa pH kopi luwak robusta artifisial dengan penambahan enzim α -amilase berkisar 5,90-6,20 dengan standard deviasi 0,0102-0,0407, sedangkan kopi luwak robusta yang difermentasi tanpa penambahan enzim α -amilase memiliki pH berkisar 5,99-6,16 dengan standard deviasi

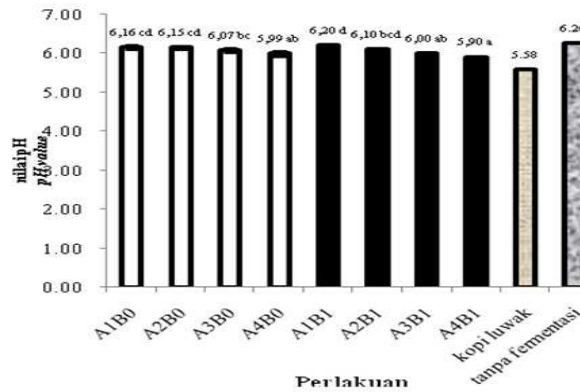
0,0382-0,0689. Nilai pH untuk kopi luwak asli (kontrol 1) sebesar 5,58. Nilai pH untuk semua perlakuan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kopi luwak asli (kontrol 1) dan memiliki kecenderungan semakin menurun nilainya dengan semakin lama fermentasi. Berdasarkan uji beda dengan taraf 5% dan uji lanjut Tukey menunjukkan hasil bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh beda nyata pada parameter pH, sedangkan ada atau tidaknya penambahan enzim α -amilase serta interaksi kedua faktor memberikan pengaruh berbeda tidak nyata.

Turunnya pH selama fermentasi dipengaruhi oleh aktivitas mikroba dari ragi yang ditambahkan. Ragi feses luwak yang mengandung bakteri asam laktat akan membantu pembentukan asam-asam organik yang berakibat pada penurunan pH. Bakteri asam laktat yang dominan selama fermentasi biji kopi diantaranya yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* dan *E. casseliflavus*⁴. Asam-asam organik yang terbentuk selama fermentasi kopi merupakan produk katabolisme bakteri yang menyebabkan penurunan nilai pH diantaranya adalah asam malat, asam asetat, asam khlorogenat dan asam quinat¹⁷. Peran enzim α -amilase yang ditambahkan selama fermentasi adalah untuk hidrolisis komponen pati dari pulp kopi sehingga mengoptimalkan kerja mikroba selama fermentasi. pH kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi selama 32 jam dengan penambahan enzim α -amilase memiliki nilai yang paling mendekati pH kopi luwak robusta asli.

Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam satuan persen.

Berdasarkan Gambar 4, dapat diketahui bahwa kadar air (%) kopi luwak robusta artifisial dengan



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam),
A3 (24 jam); A4 (32 jam);
B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

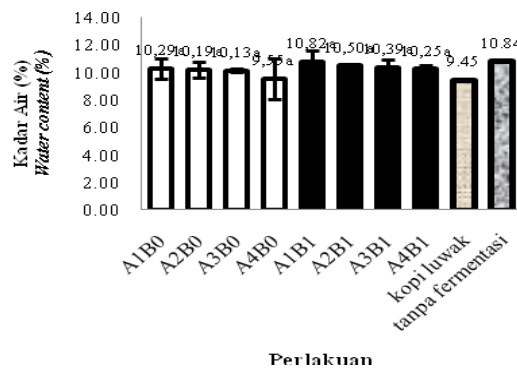
Gambar 3. pH kopi luwak robusta artifisial

Figure 3. pH of artificial robusta luwakcoffee

penambahan enzim α -amilase memiliki kadar air berkisar antara 10,25%-10,82% dan standard deviasi 0,1286-0,7464, sedangkan kadar air kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi tanpa penambahan enzim α -amilase memiliki nilai berkisar antar 9,55%-10,29% dan standard deviasi 0,1129-1,4702. Kopi luwak asli (kontrol 1) memiliki kadar air 9,45%. Kadar air kopi pada semua perlakuan memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar air kopi luwak asli (kontrol 1), dengan kecenderungan semakin menurun nilainya dengan semakin lama fermentasi. Rendahnya kadar air pada kopi luwak asli (kontrol 1) diduga karena biji-biji kopi pada saat berada dalam pencernaan luwak terjadi penyerapan air dari massa biji kopi selain komponen terlarut lainnya oleh sistem pencernaan luwak, sehingga kopi luwak yang telah keluar dari tubuh luwak dalam keadaan kadar air yang lebih rendah bila dibandingkan kopi luwak artifisial yang juga dicuci sebelum pengeringan dengan sinar matahari.

Berdasarkan hasil uji beda dengan taraf 5% diketahui bahwa lama waktu fermentasi dan ada atau tidaknya enzim serta interaksi kedua faktor memberikan pengaruh berbeda tidak nyata pada parameter kadar air. Meskipun demikian dari hasil yang didapatkan diketahui adanya penurunan kadar air kopi selama terjadinya fermentasi, namun tidak signifikan. Penurunan kadar air akibat semakin lamanya fermentasi dikarenakan kenaikan suhu dan aktivitas mikroba akan meningkat yang menyebabkan aktivitas enzim akan semakin aktif dan pulp menjadi lebih encer. Panas akan mempengaruhi hancurnya pulp dan pori-pori biji akan terbuka sehingga kandungan airnya lebih cepat menguap saat pengeringan¹⁸.

Kadar air dari kopi luwak robusta artifisial yang diteliti masih sesuai dengan ketentuan SNI 01-2907-2008 yaitu tidak melebihi 12,5%¹⁹. Kadar air menentukan kualitas biji kopi yang berhubungan dengan daya



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam),
A3 (24 jam); A4 (32 jam);
B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

Gambar 4. Kadar air kopi luwak robusta artifisial (%)

Figure 4. Water content of artificial robusta luwakcoffee (%)

simpannya. Kadar air biji kopi yang melebihi 12,5% akan memudahkan kapang untuk tumbuh dan merusak kualitas dari biji kopi. literatur lain menyatakan kadar air kopi yang ideal adalah sebesar 10-12%²⁰.

Total Asam Titrasi

Nilai asam titrasi adalah persentase asam dalam bahan yang ditentukan secara titrasi dan dinyatakan dalam persen asam laktat.

Berdasarkan Gambar 5. dapat diketahui bahwa total asam titrasi kopi luwak robusta artifisial dengan penambahan α -amilase berkisar antara 1,59%-1,83% dengan standard deviasi 0,0139-0,0559, sedangkan kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi tanpa penambahan α -amilase memiliki nilai berkisar 1,41-1,51% dengan standard deviasi 0,0146-0,0248. Kopi luwak asli (kontrol 1) memiliki total asam titrasi 2,05%. Total asam titrasi pada semua perlakuan lebih rendah dibandingkan total asam titrasi kopi luwak asli (kontrol 1) dengan kecenderungan semakin meningkat nilainya dengan semakin lama fermentasi. Waktu fermentasi 32 jam dengan penambahan enzim α -amilase (A4B1) memiliki nilai Asam titrasi yang paling tinggi yaitu 1,83 % dan paling mendekati nilai Asam titrasi kopi luwak asli. Berdasarkan hasil uji beda dengan taraf 5% dan uji lanjut Tukey diketahui bahwa lama fermentasi dan ada atau tidaknya α -amilase memberikan pengaruh berbeda nyata, sedangkan interaksi kedua faktor memberikan pengaruh tidak berbeda nyata.

Total asam titrasi memiliki korelasi dengan pH. Peningkatan total asam selama fermentasi sangat berkaitan dengan meningkatnya aktivitas bakteri asam laktat. Selama pertumbuhannya, bakteri tersebut menggunakan sumber karbohidrat (gula) dan mengubahnya menjadi

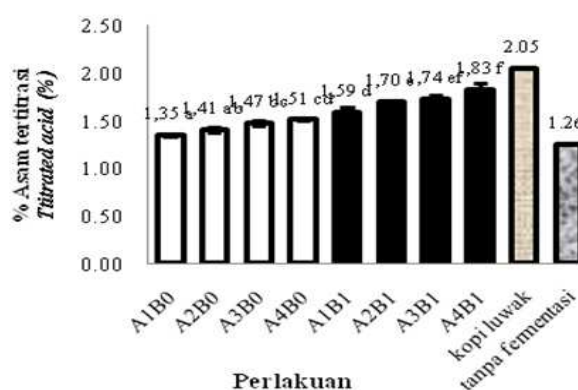
asam-asam organik. Akumulasi asam yang dihasilkan selama fermentasi menyebabkan penurunan pH. Asam organik akan mulai terbentuk pada waktu fermentasi 10-15 jam. Kelompok BAL yang menggunakan gula sebagai sumber energi dengan hasil utama berupa asam laktat dan asam asetat²¹. Penurunan nilai pH diikuti oleh kenaikan nilai total asam titrasi dan sebaliknya jika nilai pH naik maka total asam titrasi menjadi turun²². Perlakuan penambahan α -amilase cenderung memiliki persentase total asam titrasi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa α -amilase dikarenakan mikroba selama fermentasi lebih mudah melakukan metabolisme glukosa yang dihasilkan dari pemecahan komponen pati pulp kopi dan menghasilkan metabolit-metabolit berupa enzim dengan lebih optimal.

Semakin banyak gula-gula yang dimetabolisme maka asam laktat yang dihasilkan akan semakin banyak sehingga dapat menurunkan pH. Semakin banyak glukosa yang dimetabolisme maka produksi asam laktat lebih tinggi. Jumlah asam laktat yang tinggi dapat meningkatkan keasaman dan menurunkan pH substrat²³.

Degradasi Protein

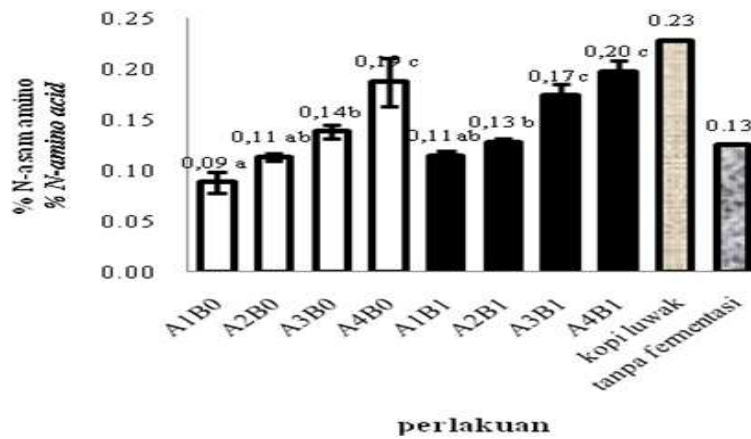
Analisis degradasi protein metode formol nitrogen (%N-amino) menunjukkan terjadinya aktivitas proteolitik selama fermentasi. Protein terlarut akan semakin menurun karena terhidrolisa menjadi asam amino bebas dan semakin meningkatkan kadar N-amino²⁴.

Berdasarkan Gambar 6. dapat diketahui bahwa nilai % N-amino kopi luwak robusta artifisial dengan penambahan α -amilase memiliki kecenderungan meningkat dengan semakin lamanya fermentasi yaitu 0,11%-0,2% dan standard deviasi 0,0029-0,0115, sedangkan kopi luwak robusta artifisial yang difermentasi



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam), A3 (24 jam); A4 (32 jam); B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

Gambar 5. Total asam titrasi kopi luwak robusta artifisial (%)
Figure 5. Total titrable acid of artificial robusta luwakcoffee (%)



Keterangan: lama fermentasi: A1(8 jam); A2 (16 jam),
A3 (24 jam); A4 (32 jam);
B0 (tanpa enzim); B1 (dengan enzim)

Gambar 6. Degradasi protein kopi luwak robusta artifisial
Figure 6. Protein degradation of artificial robusta luwak coffee

tanpa penambahan α -amilase memiliki % N-amino 0,09%-0,19% dengan standard deviasi 0,0035-0,0237. Persen N-Amino dari kopi luwak robusta asli (kontrol 1) adalah 0,23%. Degradasi protein (% N-amino) dari keseluruhan perlakuan memiliki nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan degradasi protein kopi luwak asli (kontrol 1). Berdasarkan uji beda dengan taraf 5% dan uji lanjut Tukey didapatkan hasil berbeda nyata untuk parameter % N-amino baik akibat lama fermentasi maupun ada atau tidaknya penambahan α -amilase. Namun memberikan pengaruh berbeda tidak nyata pada interaksi antara kedua faktor.

Semakin lama waktu fermentasi maka akan didapatkan % N-amino yang semakin meningkat. Waktu fermentasi 32 jam dengan penambahan enzim α -amilase (A4B1) memiliki nilai % N-amino yang paling tinggi yaitu 0,2% dan paling mendekati nilai % N-amino kopi luwak asli. Peningkatan bilangan formol ini menandakan adanya aktivitas proteolitik mikroba ragi dalam mendegradasi protein menjadi asam-asam amino, peptida dan amonia²⁵. Enzim α -amilase yang ditambahkan dapat mempengaruhi aktivitas proteolitik secara tidak langsung karena membantu menghidrolisis komponen pati pulp sehingga menjadi gula-gula sederhana yang mudah dimanfaatkan sebagai substrat untuk pertumbuhan mikroba ragi selama fermentasi. Mikroba yang tumbuh optimal selama fermentasi dapat menghasilkan metabolit berupa enzim-enzim termasuk enzim proteolitik. Enzim proteolitik hasil fermentasi membantu memecah komponen protein menjadi asam-asam amino, peptida dan amonia. Sebagian dari senyawa-senyawa ini diduga terserap ke dalam sel biji kopi selama fermentasi, sehingga menaikkan kadar N-amino yang terukur. Adanya enzim

proteolitik menyebabkan protein terhidrolisis menjadi asam amino sehingga jumlah nitrogen terlarut mengalami peningkatan²⁶. Selain itu, semakin lama inkubasi yang diberikan akan menyebabkan daya kerja enzim untuk melakukan hidrolisis semakin panjang. Semakin lama inkubasi akan memberikan kesempatan enzim melakukan hidrolisis protein semakin lama sehingga akan semakin banyak protein yang terhidrolisis menjadi asam amino²⁷.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan

- Lama fermentasi kopi robusta berpengaruh pada penurunan pH dan kadar kafein, dan juga berpengaruh pada peningkatan total asam tertitiasi dan persen N-amino kopi luwak robusta artifisial.
- Penambahan enzim α -amilase pada fermentasi kopi robusta berpengaruh pada peningkatan total asam tertitiasi, dan persen N-amino kopi luwak robusta artifisial.
- Kopi luwak artifisial perlakuan A4B1 (lama fermentasi 32 jam dengan penambahan α -amilase) memiliki karakteristik pH, Asam tertitiasi dan persen N-amino yang mirip karakteristik kopi luwak robusta asli (kontrol 1).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini tidak dapat terlaksana dengan baik tanpa bantuan seluruh pihak dan instansi terkait

diantaranya Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

DAFTAR PUSTAKA

1. Indonesian Trade Promotion Center Osaka. Market brief HS 0901 Kopi. Jepang: Indonesian Trade Promotion Center Osaka; 2012.
2. Hadipernata, M., dan Sigit. Identifikasi Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Biji Kopi Luwak sebagai Dasar Acuan Teknologi Proses Kopi Luwak Artificial. Prosiding Insinas; 2012.
3. Marcone, N.F. Composition and properties of Indonesia palm civet coffee (kopi luwak) and Ethipian civet coffee. *Food Res. Int.* 2004; 37(9): 901–912.
4. Wilujeng, A. dan P.R. Wikandari. Pengaruh lama fermentasi kopi arabika (*Coffea arabica*) dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* B1765 terhadap mutu produk. *Unesa J of Chem.* 2013; Vol.2 (3):1-10
5. Redgwell, R. and M. Fischer. *Coffee carbohydrates.* Switzerland: Nestle Research Centre Lausanne; 2006.
6. Afandi, I. L. 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; 2011.
7. Direktorat Jenderal Perkebunan. Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kopi 2013-2015. Jakarta: Kementerian Pertanian; 2015.
8. Sudarmadji, S., B. Hariyono., dan Suhardi. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian.* Yogyakarta: Liberty; 1997.
9. Glucodr Strip. *Medical Instruments.* Korea: All medicus Co., Ltd; 2013.
10. AOAC. *Official Methods of Analysis.* Arlington: AOAC International; 1984.
11. Fardiaz, S. *Mikrobiologi Pangan.* Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama; 1988.
12. Kristiyanto, D., B.D.H. Pranoto, dan Abdullah. Penurunan kadar kafein kopi arabika dengan proses fermentasi menggunakan nopkor mz-15. *J. Teknologi Kimia Dan Industri.* 2013; 2(4).
13. Siddharth, S., J.R. Elizabeth, A.A. Anja, N. Rounaq S., G. Vrindha, M. Bishwambhar, dan V. Suneetha. A preliminary study and first report on caffeine degrading bacteria isolated from the soils of chittoor and vellore. *Int res j of pharm.* 2012; 3(3): 305-309.
14. Mayasari. 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; 2016.
15. Oktadina, F.D., B.D. Argo, M.B. Hermanto, Pemanfaatan Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea sp*) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *J. Keteknikan Pertan Tropis Dan Biosistem.* 2013; 1(3): 265-273.
16. Rahmayanti, D. *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. 2010.
17. Butt, M.S., A.M.T. Sultan, A. Imran, M. Yasin dan M. Imran. Evaluating the effect of decaffeination on nutritional and antioxidant status of different coffee brands. *Internet J Food Saf.* 2011. 13: 198-207.
18. Tobing, I.M.L., *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; 2009.
19. Badan Standardisasi Nasional. SNI 01-2907-2008 Syarat Mutu Biji Kopi. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 2008.
20. Koskei, K.R., M. Patrick, dan M. Simon. Effect of coffee processing technologies on physicochemical properties an sensory qualities of coffee. *Afr j food sci.* 2015; 9(4): 230-236.
21. Jackels S.C dan C.F. Jackels., *Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: a field study in nicaragua.* *J. Food Sci.* 2005; 70: C321-C325.
22. Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A. dan Mubarik N.R. Senyawa Antimikrobia yang Dihasilkan dari Mikroorganisme Bekasam. *J Akuatik.* 2012; 3(2): 135-145.
23. Usmiati, S. dan T. Utami. Pengaruh bakteri probiotik terhadap mutu sari kacang tanah fermentasi. *J. Penelit Pascapanen Pertan.* 2008. Vol.5 (2): 27-36.
24. Anggraini, A. dan Yunianta. Pengaruh Suhu Dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik Dan Organoleptik Sari Edamame. *J. Pangan dan Agroindustri.* 2015; 3 (3):1015-1025.
25. Astuti, B.C., Pengaruh Perbedaan Suhu Fermentasi Moromi terhadap Sifat Kimia dan Mikroflora Moromi Kecap Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.). *J. Teknol Pertan.* 2014; 9(1): 8-15.
26. Deliani. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Protein, Lemak, Komposisi Asam Lemak dan Asam Fitat pada Pembuatan Tempe. Tesis. Medan: Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara; 2008.
27. Wijaya, J.C. dan Yunianta. Pengaruh penambahan enzim bromelin terhadap sifat kimia dan organoleptik tempe gembus (kajian konsentrasi dan lama inkubasi dengan enzim). *J. pangan dan agrindustri.* 2015; 3(1): 96-106.