

## Fermentasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Feces Luwak Dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi

Doni Usman, Agung Suprihadi, Endang Kusdiyantini

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro.  
Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Jawa Tengah, Indonesia.  
email: [doniusman44@gmail.com](mailto:doniusman44@gmail.com).

### ABSTRAK

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan unggulan Indonesia. Kopi robusta memiliki kadar kafein sebesar 1,6-2,4%, lebih tinggi dibanding kopi arabika yang mengandung kafein sebesar 0,9-1,2%. Fermentasi kopi merupakan salah satu upaya menurunkan kadar kafein kopi. Kopi luwak merupakan kopi yang dihasilkan dari proses pencernaan didalam tubuh luwak dan dikeluarkan sebagai feces luwak. Eksplorasi bakteri asam laktat (BAL) dari feces luwak yang diberi makan kopi robusta merupakan salah satu cara untuk mendapatkan bakteri asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari feces luwak dan menentukan waktu inkubasi terbaik untuk fermentasi kopi robusta. Isolasi bakteri dari feces luwak menghasilkan 27 isolat. Uji biokimia dilakukan melalui Uji Pengecatan gram, Uji Katalase, Uji Motilitas dan Uji Produksi Asam yang menghasilkan 13 isolat BAL. Uji Karakterisasi dilakukan terhadap seluruh isolat BAL dan diperoleh 3 isolat unggul. Isolat M6 adalah isolat berpotensi xilanolitik, M8 berpotensi proteolitik dan isolat M16 berpotensi Selulolitik. Fermentasi kopi robusta dilakukan dengan menggunakan inokulum campuran M8, M6 dan M16. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan waktu fermentasi 8 jam (D1), 16 jam (D2), 24 jam (D3), setiap perlakuan diberi 3 kali ulangan. Kontrol untuk fermentasi ini adalah kopi robusta tanpa perlakuan fermentasi (kontrol 1) dan kopi luwak robusta (kontrol 2). Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 95%. Hasil penelitian menunjukkan, lama waktu fermentasi menurunkan kadar kafein, berat biji kopi serta pH cairan hasil fermentasi. Kadar kafein tertinggi terjadi pada D1 sebesar 0.95% dan terendah terjadi pada D3 sebesar 0.72%.

*Kata kunci : Feces luwak, Bakteri Asam Laktat, Pengecatan Gram, Fermentasi, Eksplorasi*

### ABSTRACT

Coffee is one of Indonesian main corps commodity. Caffeine content of robusta coffee is 1.6%-2.4% higher than arabica coffee that was 0.9-1.2%. Coffee fermentation was one of method to decrease caffeine content. Luwak coffee is coffee that produces by luwak use their digest system in luwak body and defecates as faeces. Lactic acid bacteria (LAB) exploration from luwak faeces that fed by robusta coffee is one of method to get lactic acid bacteria. This research aimed was lactic acid bacteria isolation from luwak faeces and determine best incubation time on robusta coffee fermentation. Bacteria isolation was resulted 27 isolate. Biochemical test done by Gram Staining Test, Catalase Test, Motility Test, and Acid Producing Test and resulted 13 LAB isolate. Characterization test done to all of LAB isolate and resulted best 3 isolate. Isolate M6 was xylanolytic potency, M8 was Proteolytic potency and m16 was cellulolytic potency. Robusta coffee fermentation done used mixed of M8, M6 and M16 as inoculum. This research use Complete Random Design (RAL), the treatment was fermentation time 8 hour (D1), 16 hour (D2) and 24 hour (D3), each treatment replays 3 times. Kontrol of this fermentation is robusta coffee without fermentation treatment (control 1) and luwak robusta coffee (control 2). Data analysed by *Analysis of Variance* (ANOVA) continuing by Duncan Test with significance rate was 95%. This research result shown that fermentation time duration was cause decrease of caffein content, coffee beans weight and fermentation fluid pH. Highest caffeine content on D1 was 0.95%, and D3 was 0.72 %.

*Keyword: Luwak faeces, lactic acid bacteria, gram staining, fermentation, exploration*

## 1. PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan unggulan Indonesia yang memiliki nilai ekspor tinggi dan memberikan devisa cukup besar bagi negara. Sekitar 60% dari jumlah produksi kopi nasional diekspor dengan negara tujuan utama yaitu Amerika Serikat, Jerman, dan Jepang (Rahardjo, 2013). Keunggulan ini menjadi salah satu faktor perlunya pengolahan kopi menjadi produk yang memiliki nilai tambah tinggi. Di Indonesia terdapat dua jenis kopi yang berkembang, yaitu kopi robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica*). Selain kedua jenis kopi tersebut, di Indonesia juga berkembang jenis kopi lain yaitu kopi luwak. Kopi luwak merupakan jenis kopi yang telah diproses melalui fermentasi singkat di dalam pencernaan hewan luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*). Enzim-enzim pada saluran pencernaan mampu menghasilkan kopi dengan citarasa dan aroma khas (Panggabean, 2011).

Kebutuhan kopi luwak 100% masih tergantung secara alami. Selain itu, masalah dalam penggunaan hewan luwak adalah populasinya di alam bebas yang sudah sangat menurun. Hal ini menjadi kendala untuk produksi skala besar. Guna mengatasi makin besarnya permintaan akan kopi luwak, maka produsen tidak bisa hanya mengharapkan produksi dari hewan luwak. Pemanfaatan hewan luwak sebagai agen fermentasi dianggap dapat menyiksa luwak, mengancam kelangsungan hidup hewan tersebut, serta kelestariannya di alam. Salah satu cara untuk menghasilkan kopi luwak adalah melakukan fermentasi menggunakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari feses luwak.

Isolasi bakteri merupakan salah satu cara untuk memperoleh isolat murni dari suatu sampel untuk dipelajari dan dimanfaatkan. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikrobial alami yang ada di dalam bahan dasar pangan dan memiliki peran penting dalam proses fermentasi (Tanasupawat & Komagata, 1999). Bakteri asam laktat banyak terdapat pada organ dalam makhluk hidup, utamanya organ pencernaan, saluran pembuangan, jalur genital, jalur intestin, maupun jalur respiratori pada hewan (Stamer, 1979).

Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi kopi diantaranya adalah jumlah inokulum bakteri, lama fermentasi, substrat (medium), suhu, oksigen, air dan tingkat keasaman (pH). Jumlah inokulum bakteri dan lamanya masa inkubasi fermentasi yang paling menentukan kualitas kopi. Penelitian ini melakukan pembuatan kopi luwak melalui fermentasi kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan isolat bakteri asam laktat dari feses luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) yang diberi pakan kopi robusta dengan perlakuan lama waktu inkubasi yang berbeda.

## 2. METODE

### Isolasi Bakteri

Sampel feces hewan luwak diambil dari petani kopi luwak dari Desa Bedono, Kec. Jambu Kab. Semarang. Sampel diambil secara acak dalam keadaan utuh setelah feses keluar dari tubuh hewan luwak pada pagi hari. Kemudian disimpan dalam tempat steril untuk selanjutnya diisolasi bakterinya di Laboratorium. Feces sebanyak 10 g diencerkan dengan 90 ml pepton dan diencerkan sampai tingkat  $10^{-10}$ . Isolasi dilakukan dengan cara *spread plate* ke permukaan medium MRS agar, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Isolat yang diperoleh dimurnikan dengan mengkultur setiap koloni yang berbeda pada medium MRS agar secara *strike plate*, kemudian diinkubasikan selama 24 jam. Sampel yang sudah murni disimpan pada medium agar miring. Isolat hasil pemurnian ini selanjutnya digunakan untuk *stock culture* untuk proses lebih lanjut.

## Identifikasi Isolat

Isolat yang diperoleh diidentifikasi untuk menghasilkan isolat Bakteri Asam Laktat (BAL). Identifikasi isolate meliputi Pewarnaan Gram, Uji katalase, Uji motilitas, Uji produksi asam. Bakteri Asam Laktat yang dihasilkan dilakukan uji potensi enzim selulase, protease, dan xilanase berdasarkan kemampuan dalam membentuk zona bening pada medium uji. Uji potensi proteolitik menggunakan medium *Skim Milk Agar*, xilanolitik menggunakan medium xilan, selulolitik menggunakan medium *Carboxyl methyl Cellulose* (CMC).

## Fermentasi Biji Kopi Robusta Menggunakan Isolat Hasil Isolasi

### a. Persiapan/Pembuatan medium fermentasi

Fermentasi biji kopi ini menggunakan fermentasi cair. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kopi hasil pengupasan sebanyak 186,49 g ditambahkan aquades steril 1000 ml, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Jumlah substrat yang digunakan tiap wadah fermentasi yaitu sebanyak 45 ml dan diinokulasikan 5 ml inokulum (1,66 ml isolat proteolitik, 1,66 ml isolat selulolitik dan 1,66 ml isolat xilanolitik). Jumlah kopi yang digunakan sebanyak 30 buah (60 biji) kopi dan sebelumnya telah diukur beratnya sebagai berat awal biji kopi.

### b. Kondisi Fermentasi

Fermentasi invitro ini menggunakan pH 5,4 sebagai pH awal dan diakhir proses fermentasi akan diukur kembali tingkat keasamannya. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 4,0 dan pH 7,0. Inkubasi dilakukan dalam oven dengan suhu 35°C dan dikocok dengan kecepatan 100 rpm. Perlakuan waktu inkubasi pada fermentasi biji kopi menggunakan waktu fermentasi yang berbeda yaitu 8 jam (D1), 16 jam (D2), 24 jam (D3), setiap perlakuan diberi 3 kali ulangan.

### c. Proses setelah fermentasi

Proses awal setelah fermentasi yaitu pemisahan cairan hasil fermentasi dan biji kopi. Cairan hasil fermentasi diukur kadar keasamannya untuk mengetahui pH akhir cairan hasil fermentasi. Biji kopi hasil fermentasi selanjutnya dicuci sampai bersih dan dikeringkan dengan oven 50°C. Biji kopi yang sudah kering kemudian ditimbang dan dilakukan penghitungan kadar kafein. Parameter kualitas kopi ditandai dengan penurunan kadar kafein, pembanding yang digunakan adalah kopi robusta tanpa fermentasi (kontrol 1) dan kopi Luwak Robusta (kontrol 2).

## Analisis Data

Analisis data hasil pengujian kadar kafein dilakukan dengan menggunakan ANOVA. apabila menunjukkan pengaruh yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Isolasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari feces luwak yang diberi pakan kopi robusta menghasilkan 30 isolat bakteri yang diinokulasikan dalam medium De Man Rogosa Sharpe (MRS) agar. Isolat dihasilkan dari pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  kemudian diberi kode M1 sampai dengan M30. Setiap isolat yang berbeda di tumbuhkan pada medium NA miring selama 24 jam, setelah 24 jam isolat M14, M15 dan M23 tidak ada pertumbuhan, sehingga hasil akhir diperoleh sebanyak 27 isolat murni. Isolat yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi secara morfologi dan biokimia untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh adalah isolat bakteri asam laktat. Semua isolat dilakukan identifikasi berdasarkan : bentuk sel, pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas dan dilakukan uji pembentukan asam. Menurut Axelsson (1998) Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif, non motil, katalase negatif, tidak membentuk spora, berbentuk kokus atau batang serta menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utamanya dalam fermentasi karbohidrat.

Tabel 1. Karakterisasi isolat bakteri dari feces luwak pada medium MRS agar

No Isolat	Pewarnaan Gram	Uji Motilitas	Uji Katalase	Uji Produksi Asam	Bentuk Sel
M1	+	-	-	+	C
M2	+	+	-	+	C
M3	+	-	-	+	C
M4	+	-	-	+	C
M5	+	-	-	+	C
M6	+	-	-	+	C
M7	-	-	-	+	C
M8	+	-	-	+	C
M9	-	+	-	+	C
M10	-	+	-	+	C
M11	+	-	-	+	C
M12	-	+	-	+	C
M13	+	+	-	+	C
M16	+	-	-	+	C
M17	+	-	-	+	C
M18	+	+	-	+	C
M19	-	-	-	+	C
M20	-	-	-	+	C
M21	-	+	-	+	C
M22	+	-	-	+	C
M24	+	+	-	+	C
M25	+	-	-	+	C
M26	+	+	-	+	C
M27	+	-	-	+	C

M28	+	-	-	+	C
M29	-	+	-	+	C
M30	-	+	-	+	C

---

+ = Positif   - = Negatif   C = Coccus

Hasil pewarnaan gram menunjukkan 18 isolat bergram positif yaitu diantaranya : M1, M2, M3, M4, M5, M6, M8, M11, M13, M16, M17, M18, M22, M24, M25, M26, M27 dan M28, sedangkan 9 isolat merupakan gram negatif yang terdiri dari isolat M7, M9, M10, M12, M19, M20, M21, M29 dan M30. Menurut Hogg (2005) pewarnaan gram memunculkan dua karakteristik bakteri yang berbeda. Langkah yang paling kritis adalah pada langkah ketiga karena beberapa sel akan tahan terhadap perlakuan alkohol (Gram C) dan mempertahankan warna dari kristal violet (gram A), sementara pada jenis sel lainnya akan mengalami pelunturan warna. Perlakuan cat penutup (safranin atau Gram D) yang lebih lemah dari pada Kristal violet hanya akan menempel pada sel yang sudah mengalami pelunturan warna. Bakteri gram positif mampu mempertahankan warna dari kristal violet dibanding gram negatif karena adanya perbedaan susunan dinding sel. Bakteri gram positif akan berwarna kristal violet atau ungu dan bakteri gram negatif akan berwarna merah saat dilakukan pengamatan dibawah mikroskop.

Uji motilitas digunakan untuk mengetahui pergerakan dari sel bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan medium NB dengan tambahan agar. Medium ini merupakan medium semi solid sehingga bakteri yang motil dapat bergerak. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, ada 16 isolat dari 27 isolat yang bersifat non motil dan ada 11 isolat yang bersifat motil atau bergerak yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut berflagel. Uji katalase dilakukan dengan mengambil satu ose biakan bakteri di letakkan di atas gelas benda, kemudian ditetesi dengan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Katalase positif ditunjukkan dengan munculnya gelembung udara pada biakan bakteri, sedangkan katalase negatif tidak muncul gelembung udara. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan semua isolat memiliki katalase negatif karena tidak ada satu pun isolat yang menghasilkan gelembung udara ketika ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil ini menunjukkan bahwa, semua isolat tidak menghasilkan enzim katalase. Apabila bakteri dapat menghasilkan enzim katalase maka ketika ditetesi dengan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) maka akan muncul gelembung udara. Gelembung – gelembung udara tersebut terjadi karena diuraikannya hidrogen peroksida menjadi air (H<sub>2</sub>O) dan Oksigen (O<sub>2</sub>) sehingga akan muncul gelembung udara. Uji pembentukan asam dilakukan dengan menggunakan medium DTBPA (Dextrose Trypton Bromocresol Purple Agar). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, semua isolat bakteri positif dapat menghasilkan asam, karena setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam warna medium berubah dari hijau toska menjadi kuning. Hasil dari uji-uji yang dilakukan menunjukan bahwa ada 13 isolat adalah bakteri asam laktat. Berdasarkan uji yang dilakukan 13 isolat bakteri berbentuk kokus, non motil, katalase negative, DTBPA positif dan merupakan bakteri gram positif. Ketiga belas bakteri tersebut yaitu : M1, M3, M4, M5, M6, M8, M11, M16, M17, M22, M25, M27 dan M28.

Seleksi terhadap 13 isolat yang berpotensi menghasilkan enzim yang besar dilakukan melalui pengujian 3 potensi enzim yaitu enzim xylanase, protease dan selulase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang menghasilkan enzim xilanase paling besar adalah M6 dengan diameter zona bening sebesar 13,5 mm dan yang menghasilkan enzim xilanase paling kecil adalah M11 dengan diameter zona bening hanya 8 mm. Isolat M8 adalah isolat yang menghasilkan enzim protease paling besar dengan diameter zona bening sebesar 13 mm, sedangkan yang menghasilkan enzim protease paling kecil adalah M4, M17, M22, dan

M25 dengan diameter zona bening hanya 10 mm. Isolat M16 merupakan isolat yang menghasilkan enzim selulase paling besar dengan diameter zona bening sebesar 12 mm, sedangkan yang menghasilkan enzim selulase paling kecil adalah M11 yang memiliki diameter zona bening hanya 10mm.

Tabel 2. Uji Kualitatif potensi enzim isolat bakteri asam laktat (BAL)

Isolat	Diameter Zona Bening (mm)		
	Xylanase	Selulase	Protease
M1	12	11	12
M3	11,5	11,5	11
M4	13	10,5	10
M5	12,5	10,5	13
M6	13,5	11,5	12
M8	12,5	11	13
M11	8	10	11
M16	10	12	11
M17	9	11	10
M22	9	11	10
M25	9	10,5	10
M27	10	11	13
M28	9	10,5	11

Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat yang memiliki potensi enzim yang paling besar adalah isolat M6 untuk enzim xilanase, isolat M8 untuk enzim protease dan isolat M16 untuk enzim selulase. Ketiga isolat terpilih inilah yang digunakan sebagai inokulum untuk proses fermentasi biji kopi robusta.

### **Pertumbuhan Isolat Bakteri M6, M8 dan M16**

Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba adalah tersedianya nutrisi, air, suhu, pH, oksigen, potensial oksidasi reduksi, adanya zat-zat penghambat, dan adanya mikroorganisme lain (Waluyo 2007). Pertumbuhan dilakukan pada isolat M6, M8, dan M16. Isolat M6 berpotensi sebagai bakteri xilanase, Isolat M8 berpotensi sebagai bakteri protease dan isolate M16 berpotensi sebagai bakteri selulase. Kurva pertumbuhan dibuat untuk mengetahui waktu pertumbuhan maksimal dari 3 isolat unggulan yang diperoleh. Waktu stasioner menjadi penentu pembuatan starter dan inokulum dalam fermentasi bakteri. Pertumbuhan dilakukan dengan mengkultur masing-masing isolat dalam medium NB selama 72 jam. Sampel sebanyak 5 ml diambil setiap 12 jam sekali, kemudian di Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Kurva pertumbuhan pada bakteri M6, M8 dan M16 sama-sama menunjukkan terjadi pertumbuhan bakteri yang terbagi menjadi 3 fase yaitu fase log atau eksponensial, fase stasionary dan fase kematian. bahwa Fase eksponensial merupakan fase di mana bakteri mengalami pertumbuhan yang optimal atau suatu periode pertumbuhan bakteri yang cepat. Fase stasioner pada bakteri M6 dan M8 terjadi pada jam ke-36. Sementara itu fase stasioner pada bakteri M16 lebih cepat yaitu terjadi pada jam ke-24. Pada jam ke-36 inilah bakteri M6 memiliki jumlah sebanyak  $2,3 \times 10^8$  CFU/ml dan bakteri M8 memiliki jumlah sebanyak  $2,6 \times 10^8$  CFU/ml. Sedangkan pada bakteri M8 memiliki jumlah sebanyak  $2,8 \times 10^8$  CFU/ml pada

jam ke-24. Perbedaan pertumbuhan pada bakteri ini disebabkan oleh keanekaragaman fisiologis dan respon yang berbeda terhadap kondisi fisik dan lingkungannya (Pelezar dan Chan 2007).

### Fermentasi Biji Kopi Robusta

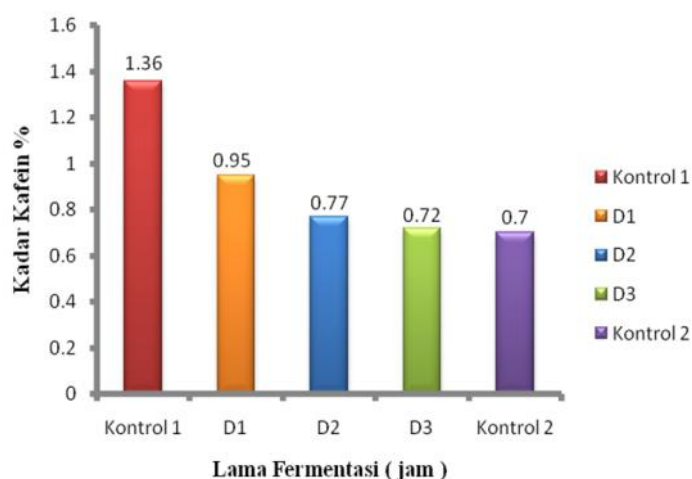
Proses fermentasi biji kopi merupakan suatu proses penguraian senyawa-senyawa kompleks dalam biji kopi, menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan melibatkan beberapa mikroorganisme yang bertujuan untuk membantu melepaskan lapisan lendir yang masih menyelimuti biji kopi. Pengujian kafein dilakukan untuk mengetahui tingkat penurunan kafein akibat dari proses fermentasi biji kopi robusta. Menurut Coffeag (2001), Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid yang terkandung secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman, terutama kopi.

Hasil ANOVA menunjukkan lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar kafein kopi robusta ( $p < 0,05$ ). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan adanya penurunan kadar kafein setelah diberi perlakuan fermentasi yang berbeda ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata kadar kafein dan persentase penurunan kafein setelah fermentasi

Perlakuan	Kadar Kafein %	Persentase Penurunan (%)
D1	0,95 <sup>a</sup>	30,15
D2	0,77 <sup>b</sup>	43,39
D3	0,72 <sup>b</sup>	47,06

\*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

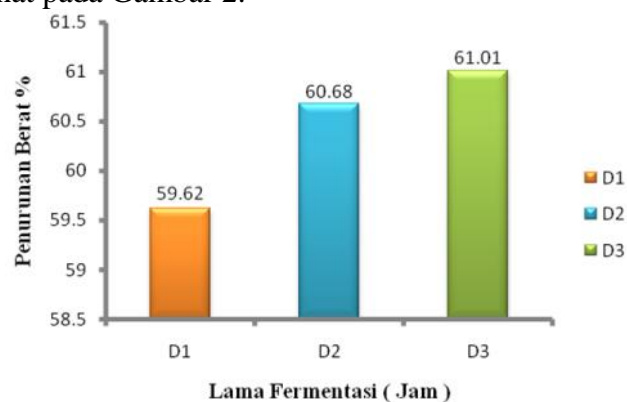


Gambar 1. Rerata kadar kafein biji kopi robusta setelah difermentasi

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa kopi luwak robusta (Kontrol 2) memiliki kadar kafein yang cukup rendah yaitu sebesar 0,70% sedangkan kopi robusta tanpa perlakuan

inokulum bakteri (Kontrol 1) memiliki kadar kafein sebesar 1,36%. Kadar kafein pada perlakuan yang tertinggi yaitu perlakuan D1 yaitu fermentasi kopi selama 8 jam dengan rata-rata kadar kafein mencapai 0.95%. Perlakuan D2 yaitu perlakuan fermentasi kopi selama 16 jam mempunyai rata-rata kadar kafein 0.77%. Kadar kafein terendah pada perlakuan fermentasi adalah perlakuan D3 yaitu perlakuan fermentasi kopi selama 24 jam dengan rata-rata kadar kafein 0.72%. Farida dkk (2013) menyatakan bahwa semakin lama proses fermentasi maka kadar kafein dalam biji kopi akan semakin menurun. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi. Macrone (2004) menjelaskan bahwa penguraian protein menyebabkan berkurangnya kadar kafein pada kopi serta akan meningkatkan asam amino bebas. Selain itu, kemampuan inokulum bakteri selulolitik dan bakteri xilanolitik dalam mendegradasi selulosa dan hemiselulosa yang terkandung di dalam kopi, mengakibatkan pemecahan kandungan gula yang nantinya dapat mempengaruhi kandungan asam organik dalam biji kopi. Menurut Hadipernata dan Nugraha (2012) hasil dari proses pemecahan gula adalah asam laktat dan asam-asam lain yaitu etanol, asam butirat, dan propionat. Muchtadi (2010) menyatakan bahwa bagian luar biji kopi yang sifatnya seperti gel atau lender terdiri dari 80% pektin dan 20% gula. Lapisan lendir biji kopi yang mengandung gula, digunakan inokulum sebagai substrat. Lapisan lendir yang berkurang menyebabkan air lebih mudah masuk ke dalam biji kopi melalui pori-pori pada kulit tanduk. Masuknya air ke dalam biji kopi menyebabkan kafein terlarut. Hali ini disebabkan oleh sifat kafein yang mudah larut dalam air, Sesuai dengan pernyataan Ridwansyah (2003) bahwa kafein bersifat larut dalam air. Kafein larut dalam air karena dapat mengikat satu molekul air.

Proses fermentasi juga dapat menurunkan berat dari biji kopi robusta. Berat kopi akan mengalami penurunan baik setelah pengupasan dan setelah proses fermentasi. Penurunan berat biji kopi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rerata Penurunan berat biji kopi robusta setelah fermentasi

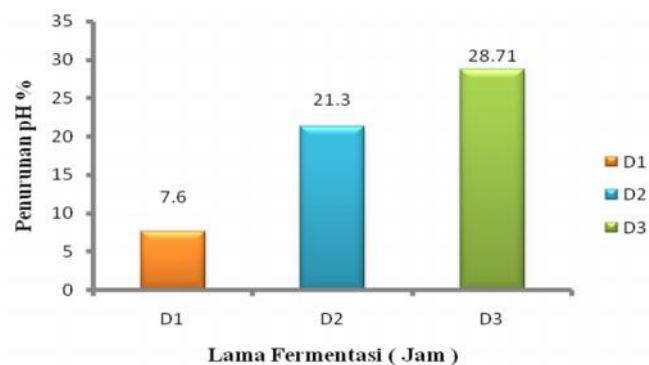
Gambar 2 menunjukkan bahwa berat biji kopi mengalami penurunan sebesar 59,62% setelah 8 jam dilakukan proses fermentasi. Setelah dilakukan proses fermentasi selama 16 jam biji kopi juga mengalami penurunan sebesar 60,86%. Sedangkan penurunan biji kopi terbesar yaitu 61,01% dengan waktu fermentasi selama 24 jam. Penurunan biji kopi salah satunya disebabkan oleh kehilangan air dan penguraian senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam kopi akibat proses fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi maka bakteri akan semakin lama menguraikan senyawa yang terkandung didalamnya seperti gula, protein, selulosa (Oktadina *et al*, 2012), sehingga dapat menyebabkan penurunan biji kopi semakin besar.

Menurut Sanchez (2009) tingginya penyusutan bobot disebabkan adanya perombakan selulosa, hemiselulosa, dan protein oleh enzim yang dihasilkan bakteri. Dewi (2012) menjelaskan, semakin besar penurunan berat biji kopi, maka semakin besar juga hasil kerja



enzim yang mampu mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat memberikan tambahan kualitas pada biji kopi hasil fermentasi. Proses fermentasi juga menyebabkan terjadinya pemecahan komponen lapisan lendir yaitu protopektin dan gula. Proses pemecahan komponen lapisan lendir tersebut, menyebabkan biji kopi akan terlepas dari permukaan kulit tanduk biji. Pengelupasan kulit tanduk ini juga akan mengurangi berat biji kopi hasil fermentasi. Penurunan berat kopi hasil fermentasi juga dipengaruhi karena sel-sel di dalam biji kopi kehilangan air yang disebabkan oleh proses pengovenan. Panas pada proses pengovenan akan menguapkan kandungan air di dalam biji kopi. Hilangnya kadar air di dalam biji kopi akan meningkatkan performa dan kualitas dari biji kopi. Karena syarat kopi yang baik adalah dengan kadar air maksimal 12.5 %.

Proses fermentasi juga menyebabkan terjadinya perubahan warna medium menjadi lebih keruh dibanding sebelum perlakuan, diikuti dengan perubahan pH cairan hasil fermentasi. Derajat keasam (pH) awal yang digunakan dalam penelitian adalah pH 5,4 yang merupakan pH alami dari substrat kulit kopi yang ditambahkan aquades steril. Namun setelah 8 jam proses fermentasi pH mengalami penurunan sebesar 7.6% dan pHnya menjadi pH 4.99. Setelah 16 jam proses fermentasi keasaman semakin menurun menjadi pH 4,25 yang mengalami penurunan sebesar 21.3 %. Penurunan pH yang paling besar terjadi setelah 24 jam proses fermentasi. Penurunan yang terjadi sebesar 28,7% dan pH akhirnya menjadi 3.85.



Gambar 3. Rerata penurunan pH cairan hasil fermentasi

Menurut Hadipernata dan Nugraha (2012) hasil dari proses pemecahan gula adalah asam laktat dan asam-asam lain yaitu etanol, asam butirat, dan propionat. Semakin lama proses fermentasi, maka keasaman kopi dan cairan fermentasinya akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya asam-asam alifatik selama proses fermentasi. Asam-asam yang terbentuk akan lepas ke lingkungannya sehingga menyebabkan perubahan tingkat keasaman (Sulistyowati dan Sumartono 2002).

## KESIMPULAN

Isolasi bakteri dari feces luwak menghasilkan 27 isolat yang berbentuk kokus. Terdapat 13 isolat yang berpotensi sebagai bakteri asam laktat. Isolat M6, M8 dan M16 merupakan isolat yang mempunyai kemampuan terbesar dalam memproduksi enzim xilanase, protease dan selulase. Hasil fermentasi biji kopi robusta yang dilakukan oleh tiga isolat terpilih (M6, M8, dan M16) membuktikan bahwa lama waktu fermentasi menyebabkan terjadinya penurunan kadar kafein, berat biji kopi serta pH cairan hasil fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar kafein, berat biji kopi dan pH cairan fermentasi juga akan semakin menurun.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Axelsson, L. T. 1998. *Lactic Acid Bacteria Classification and Physicy*. Dalam: *Lactic Acid Bacteria*. Seppo Salminen and Atte Vin Wright. 2<sup>nd</sup> Ed. Marcel Dekker Inc. New York.
- [2]. Coffefag. 2001. *Frequently Asked Question About Caffein*. www. Coffefag.com
- [3]. Dewi S.L. 2012. *Isolasi Bakteri Xilanolitik Dan Selulolitik Dari Feses Luwak*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [4]. Farida Ana, Ristanti Evi, Kumoro AC. 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 No.3 :70-75
- [5]. Hadipernata M, Nugraha S. 2012. *Identifikasi fisik, kimia dan mikrobiologi biji kopi luwak sebagai dasar acuan teknologi proses kopi luwak artificial*. *J Kementer Pertan*. 372:117-121.
- [6]. Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. John Willey & Sons. West Sussex.
- [7]. Macrone MF. 2004. *Composition and Properties of Indonesian Palm Civet Coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian Civet Coffee*. Department of Food Science, Ontario Agricultural College, Guelph, Ont., Canada N1G 2W1 19 May 2004.
- [8]. Muchtadi D. 2010. *Evaluasi Nilai Gizi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.
- [9]. Oktadina, F. D, Bambang D. A, M. Bagus Hermanto. 2013. *Pemanfaatan Nanas (Anannas Comosus L. Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Cita Rasa Kopi dalam Pembuatan Kopi Bubuk*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* 3(1):265-273.
- [10]. Panggabean E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta(ID): Agromedia Pustaka.
- [11]. Pelezar MJ, Chan ECS.2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press
- [12]. Rahardjo P. 2013. *Kopi*. Jakarta(ID): Penebar Swadaya.
- [13]. Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi* [skripsi]. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Lampung.
- [14]. Tanasupawat, S. dan K. Komagata. 1999. *Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods in Southeast Asia*. Dalam Nga, B.H., M.H. Tan, dan K.I Suzuki, *Microbial Diversity in Asia: Technology and Prospects*. World Scientific.
- [15]. Sanchez C. 2009. *Lignocellulosic residues: biodegration and bioconversion by fungi*. *Biotechnol. Advan*. 27:185-194.
- [16]. Sulistyowati dan Sumartona. 2002. *Metode Uji Citarasa Kopi*. Materi Pelatihan Uji Citarasa Kopi 19-21 Februari 2002. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- [17]. Stamer, J.R. 1979. *The Lactic Acid Bacteria. Microbes of Diversity*. *J. Food Technol*. 1: 60 – 65.
- [18]. Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.