

## PENGARUH LAMA FERMENTASI KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*) DENGAN BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus plantarum* B1765 TERHADAP MUTU PRODUK

### THE EFFECT OF FERMENTATION TIME OF ARABICA COFFEE (*Coffea arabica*) WITH *Lactobacillus plantarum* B1765 LACTIC ACID BACTERIA TO THE PRODUCT QUALITIES

Acik Ari Tri Wilujeng\* dan Prima Retno Wikandari

Jurusan Kimia FMIPA, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

e-mail: acikaritri@gmail.com

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi kopi arabika (*coffea arabica*) dengan bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus plantarum* B1765 terhadap mutu produk meliputi mutu mikrobiologi (jumlah BAL), mutu kimia (kadar glukosa, pH, degradasi proteolitik) dan mutu organoleptik (warna, rasa, aroma). Lama fermentasi dilakukan selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Pengujian mutu mikrobiologi dilakukan pada produk kopi fermentasi sebelum disangrai, uji mutu kimia dilakukan pada produk kopi fermentasi sebelum dan sesudah disangrai dan uji mutu organoleptik hanya dilakukan pada produk kopi fermentasi setelah disangrai. Data dianalisis dengan ANOVA satu arah dengan menggunakan SPSS 20. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap mutu mikrobiologi, mutu kimia dan mutu organoleptik dengan  $p < 0,05$ . Waktu fermentasi untuk menghasilkan mutu produk terbaik dari segi mutu mikrobiologi, mutu kimia dan mutu organoleptik dicapai pada waktu fermentasi 96 jam, dengan jumlah BAL mencapai  $4,6 \times 10^8$  CFU/g, kadar glukosa sebelum disangrai 0,471 % dan sesudah disangrai menurun menjadi 0,073 %, pH sebelum disangrai 4,50 dan sesudah disangrai meningkat menjadi 6,52. Gugus amina primer sebagai hasil degradasi proteolitik mencapai 15,9 % sebelum disangrai dan menurun menjadi 6,5 % setelah disangrai. Tingkat kesukaan panelis pada produk kopi fermentasi terhadap warna, rasa dan aroma adalah suka (skor 4) yang masih rendah dibandingkan kopi luwak yang menunjukkan tingkat kesukaannya adalah sangat suka (skor 5).

**Kata kunci :** Kopi arabika, lama fermentasi, *Lactobacillus plantarum* B1765, mutu mikrobiologi, mutu kimia, mutu organoleptik.

**Abstract.** The aim of this research is to determine the effect of fermentation time of arabica coffee (*coffea arabica*) using lactic acid bacteria (LAB) *lactobacillus plantarum* B1765 to quality product included of microbiological quality (the number of LAB), chemical quality (glucose, pH, proteolytic degradation) and organoleptic quality (colour, taste and aroma). Fermentation time was 24, 48, 72 and 96 hours. Microbiological quality test was done before roasting, chemical quality test was done on product before and after roasting and organoleptic test was done after roasting. Data were analyzed by one way ANOVA with SPSS 20. The result showed that fermentation time had effect to microbiological, chemical and organoleptic quality with  $p < 0,05$ . The best quality product was given at 96 hour of fermentation with the highest number of LAB  $4,6 \times 10^8$  CFU/g, the high concentration of glucose before roasting was 0,47 % and reduced to 0,073 % after roasting. The lowest pH before roasting was 4,50 and increased to 6,52 after roasting. Primary amines as product of proteolytic degradation was 15,9 % before roasting and reduced to 6,5 % after roasting. The liking level of colour, aroma and taste was on like category and showed lower score than "Luwak" coffee that showed of very like category.

**Keywords:** Arabica coffee, time fermentation, *Lactobacillus plantarum* B1765, microbiological, chemical and organoleptic qualities

#### PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu minuman yang paling banyak digemari orang karena kenikmatan rasa dan aroma, yang tidak lain dipengaruhi oleh mutu biji kopi itu sendiri yaitu memiliki kadar air maksimal 12%, tidak berbau busuk dan tidak ditumbuhi kapang. Selain itu, cita rasa kopi juga dipengaruhi oleh tingkat keasaman kopi,

aroma kopi yang sedap, dan rasa yang nikmat [1]. Salah satu upaya untuk meningkatkan nilai tambah komoditas kopi yaitu membuat suatu produk kopi dengan teknologi fermentasi di dalam pencernaan luwak dan hasilnya berupa biji kopi yang keluar bersama dengan feses luwak atau biasa disebut dengan kopi luwak. Kopi luwak merupakan kopi yang memiliki cita rasa yang terbaik dan terkenal di dunia karena keunikan rasa dan

kenikmatannya. Luwak lebih menyukai buah kopi arabika yang telah matang daripada buah kopi robusta, liberika dan congenis karena buah kopi arabika memiliki cita rasa yang terbaik daripada buah kopi jenis yang lain diantaranya yaitu beraroma wangi yang sedap menyerupai aroma perpaduan bunga dan buah, mempunyai cita rasa asam yang tidak terdapat pada kopi jenis robusta dan cita rasanya jauh lebih halus dari kopi robusta. Hal ini mengakibatkan cita rasa kopi luwak semakin nikmat [2].

Kenikmatan kopi luwak mengakibatkan permintaan kopi luwak semakin meningkat sedangkan produksinya terbatas karena hanya mengandalkan pencernaan di dalam luwak. Untuk mengatasi keterbatasan produksi kopi luwak maka telah melakukan penelitian mengenai proses fermentasi kopi di luar pencernaan luwak dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL) dari genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* yang diisolasi dari feses luwak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai akhir mutu kopi luwak sebesar 84,50, sedangkan kopi fermentasi multikultur BAL sebesar 80,50 dan kopi nonfermentasi sebesar 54,75. Nilai ini menunjukkan bahwa mutu kopi fermentasi BAL relatif sama dengan kopi luwak [3]. Pada penelitian ini, belum dilakukan penelitian mengenai mutu produk (mutu kimia dan jumlah BAL) terhadap cita rasa yang dihasilkan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mutu produk kopi fermentasi BAL.

Pada penelitian ini, digunakan BAL dari jenis *Lactobacillus plantarum* B1765 untuk memfermentasi kopi arabika. *L. plantarum* B1765 adalah isolat BAL yang diperoleh dari bekasam yang mempunyai kemampuan untuk digunakan sebagai kultur stater yaitu mampu beradaptasi dalam berbagai kondisi proses, menghasilkan asam dalam waktu singkat selama proses fermentasi, pertumbuhan yang cepat, menghasilkan flavor yang khas, tekstur dan bentuk yang bagus, tahan terhadap bakteriofage [4]. Disamping itu *L. plantarum* B1765 juga diketahui mempunyai aktivitas proteolitik yang dapat mendegradasi protein ikan menjadi oligopeptida, dipeptida dan asam-asam amino, dan mempunyai aktivitas amilolitik yang dapat mendegradasi pati menjadi glukosa[5].

Berdasarkan uraian di atas muncul pemikiran untuk memanfaatkan *L. plantarum* B1765 dalam proses fermentasi kopi karena *L. plantarum* B1765 mempunyai aktivitas proteolitik dan aktivitas amilolitik. Asam amino dan glukosa menjadi komponen penting dalam proses pencoklatan yang terjadi saat penyangraian yang akan berpengaruh terhadap cita rasa kopi yang dihasilkan.

Pada penelitian ini, bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi kopi arabika (*coffea arabica*) dengan *L. plantarum* B1765 terhadap mutu produk.

## METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Populasi penelitian adalah buah kopi arabika yang ada dipasaran dan sampel penelitian adalah sebagian buah kopi arabika yang ada dipasaran. Rancangan penelitian ini adalah *one shot case study*.

### Prosedur Penelitian

#### Persiapan inokulum BAL *L. plantarum* B1765

5,2 g MRS borth dilarutkan ke dalam 100 mL aquadest, 10 mL larutan MRS borth masing-masing dimasukkan ke dalam 10 tabung sentrifus, kemudian diambil 100  $\mu$ L *L. plantarum* B1765 yang berada didalam ependorf dan dimasukkan ke dalam media MRS pada tabung sentrifus lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, 0,1 mL *L. plantarum* B1765 diinokulasi dalam 10 mL MRS, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan disentrifuse selama 15 menit pada 3500 rpm. Supernatan dibuang, sedangkan residunya diresuspensi dalam 10 mL larutan NaCl steril 0,85% dan disentrifuse selama 15 menit pada 3500 rpm kemudian disimpan dalam refrigerator 4°C dan didapatkan kultur starter yang siap diinokulasi pada kopi [6].

#### Perhitungan jumlah kultur stater yang akan di inokulasi pada kopi

0,1 mL kultur starter *L. plantarum* B1765 di encerkan pada  $10^{-1}$  dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl steril 0,85%. Kemudian mengambil 1 mL pada pengenceran  $10^{-1}$  dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl steril 0,85% pada pengenceran  $10^{-2}$  dan begitu selanjutnya sampai pengenceran  $10^{-8}$ . Kemudian *plating*  $10^{-1} - 10^{-8}$  pada media MRS agar ditambah  $\text{CaCO}_3$ . Di inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C lalu dienumerisasi dan kultur dapat digunakan jika hitungan koloni BAL pada cawan petri dapat mencapai  $10^7$  CFU/g [6].

#### Inokulasi BAL *L. plantarum* B1765 dengan biji kopi arabika

$\pm 100$  g biji kopi arabika di inokulasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765  $10^7$  CFU/g dan difermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dalam wadah toples tertutup.

#### Pembuatan ekstrak kopi fermentasi *L. plantarum* B1765

$\pm 5$  g bubuk kasar kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 disuspensi dengan 25 mL aquadest, lalu disentrifuse pada 3500 rpm selama 15 menit. 10 mL Supernatan ditambah dengan 1 mL TCA 10%, disentrifuse pada 3500 rpm selama 15 menit kemudian disaring dengan kertas saring whatman [7] dan didapatkan ekstrak kopi fermentasi *L. plantarum* B1765.

### Enumerisasi jumlah *L. plantarum* B1765

Enumerasi dilakukan dengan metoda pengenceran dan *plating* dengan cara sebanyak  $\pm 10$  gram sampel dicampur dengan 90 mL larutan NaCl 0,85%. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai dengan  $10^{-7}$  dan dilakukan *plating* pada media agar MRS yang ditambah dengan 0,5%  $\text{CaCO}_3$ , selanjutnya inkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam dan dilakukan enumerasi [6].

### Pengujian pH

Sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter [8].

### Pembuatan larutan standart glukosa

1000 mg glukosa anhidrat diencerkan sampai 1 L aquadest, kemudian diencerkan sebanyak 6 kali maka di dapatkan larutan standart 100, 200, 400, 600, 800 mg/L. Disiapkan 7 tabung reaksi kemudian masing-masing tabung diisi 1 mL larutan glukosa standart dan satu tabung reaksi diisi aquadest sebagai blanko. pada masing-masing tabung ditambah 1 mL reagen Nelson, kemudian dipanaskan selama 20 menit lalu didinginkan. pada masing-masing tabung ditambah 1 mL reagen arsenomolibdat sampai endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  larut kemudian masing-masing larutan glukosa dihitung nilai absorbansi pada panjang gelombang 540 nm, maka di dapatkan kurva dan regresi linear standart glukosa [8].

### Pengujian kadar glukosa (metode Nelson Semogy)

0,1 mL ekstrak kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang berisi 1,9 mL aquadest, ditambahkan 1,5 mL  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  0,3 N, ditambah 1,5 mL  $\text{ZnSO}_4$  5%, didiamkan selama 5 menit, disentrifuse selama 30 menit lalu didekantasi dan didapatkan filtrat ekstrak kopi bebas protein. filtrat ekstrak kopi bebas protein dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambah 1 mL pereaksi Cu alkalis, dimasukkan dalam air mendidih selama 20 menit, didinginkan, ditambah 1 mL pereaksi arsenomolibdat dan dibaca absorbansi pada panjang gelombang 540 nm, dihitung kadar glukosa dengan kurva regresi linear standart glukosa [8].

### Pengujian degradasi proteolitik BAL

10 mL ekstrak kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 diencerkan dengan aquades sampai 50 mL dalam labu ukur, ditambah dengan 3 tetes indikator pp kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah, kemudian ditambah 2 mL formalin 37 % lalu dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah [8].

### Pengujian mutu organoleptik

Teknik pengumpulan data yang digunakan untuk pengujian organoleptik menggunakan angket dengan uji hedonik skala 1-5 untuk menyatakan rasa, warna dan aroma pada kopi fermentasi BAL *L. plantarum* B1765. Panelis merupakan orang yang ahli dalam merasakan kopi.

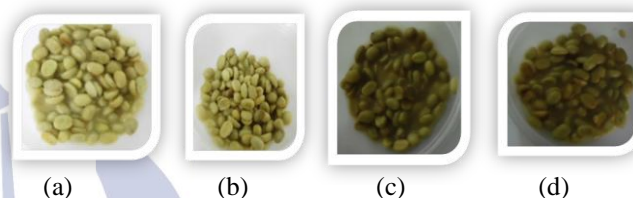
### Teknik Analisis Data

Data hasil uji jumlah BAL, mutu kimia meliputi perubahan kadar glukosa, pH, degradasi proteolitik BAL pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 menggunakan analisis statistik anova satu arah. Data hasil uji mutu organoleptik dianalisis dengan statistik non parametrik *Kruskall Wallis*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Kondisi Fisik Kopi Fermentasi *L. plantarum* B1765

Biji kopi arabika  $\pm 100$  gr difermentasi dengan *L. plantarum* B1765  $10^7$  CFU/gr selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam, hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1 .



Gambar 1. Biji kopi arabika yang telah difermentasi dengan *L. plantarum* B1765. (a) 24 jam (b) 48 jam (c) 72 jam (d) 96 jam

Tabel 1. Hasil pengamatan mutu produk kopi fermentasi sebelum disangrai

Lama fermentasi	Kondisi fisik dan aroma		
	Warna	Tekstur	Aroma
24 jam	Putih	Agak lunak	Agak asam
48 jam	Kekuningan	Agak lunak	Agak asam +
72 jam	Agak coklat	Agak lunak	Asam +
96 jam	Agak coklat	Agak lunak	Asam ++
	+++	+++	

Dari Gambar 1 dan Tabel 1 dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi oleh *L. plantarum* B1765 pada biji kopi arabika maka warna biji kopi akan semakin berwarna agak kecoklatan. Hal ini diduga bahwa telah terjadi reaksi pencoklatan secara enzimatis yang bukan karena aktivitas enzimatis fermentasi. Biji kopi yang telah terpisahkan dari pulp, maka kulit ari akan berwarna coklat. Demikian pula jaringan daging biji akan berwarna sedikit kecoklatan yang semula berwarna abu-abu atau abu-abu kebiruan. Proses pencoklatan ini terjadi akibat oksidasi polifenol [9]. Reaksi pencoklatan enzimatis adalah proses kimia yang terjadi pada sayuran dan buah-buahan oleh enzim polifenol oksidase yang menghasilkan pigmen warna coklat. Proses pencoklatan enzimatis memerlukan enzim polifenol oksidase dan oksigen untuk berhubungan dengan substrat senyawa fenolik [10].

Semakin lama fermentasi oleh *L. plantarum* B1765 pada biji kopi arabika maka tekstur biji kopi akan semakin agak lunak. Perubahan yang dapat terjadi disebabkan pemecahan komponen lendir oleh enzim protopektinase dan poligalakturonase yang terdapat pada kopi. Bagian terpenting dari lapisan lendir ini adalah protopektin yaitu "*insoluble complex*" tempat terjadinya *meta cellular lactice* (proses pembentukan asam laktat di dalam sel). Enzim protopektinase berfungsi memecah

protopektin pada kopi menjadi pektin yang larut dalam air. Melunaknya jaringan buah matang disebabkan protopektinase mengubah protopektin menjadi pektin yang larut. Selain itu, poligalakturonase berfungsi menghidrolisa ikatan glikosidik antara asam poligalakturonat sehingga jaringan buah menjadi lunak. Enzim protopektinase yang sangat sensitif terhadap perubahan pH. Pada pH fermentasi 5,5 – 6,0 pemecahan protopektin oleh enzim protopektinase akan berjalan cukup cepat. Apabila pH diturun menjadi 4 maka kecepatan pemecahan protopektin oleh enzim protopektinase menjadi 2 kali lipat lebih cepat. pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim, karena jika pH terlalu asam atau basa maka mengakibatkan enzim terdenaturasi sehingga aktivitas enzim akan menurun [9]. Oleh karena itu dengan penambahan kultur starter *L. plantarum* B1765 pada proses fermentasi kopi maka akan semakin menurunkan nilai pH. Hasil proses fermentasi kopi oleh *L. plantarum* B1765 didapatkan nilai pH 4 yang mana nilai pH ini sesuai dengan nilai pH pada aktivitas enzim protopektinase sehingga pemecahan protopektin pada kopi oleh enzim protopektinase akan berjalan cukup cepat dan mengakibatkan tekstur kopi akan menjadi agak lunak seiring dengan bertambahnya lama fermentasi pada kopi.

Semakin lama fermentasi oleh *L. plantarum* B1765 pada biji kopi arabika maka aroma biji kopi akan semakin semakin asam. Di dalam kopi ada kandungan glukosa yang dapat didegradasi menjadi asam laktat oleh *L. plantarum* B1765 pada proses 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 proses pemecahan glukosa pada kopi akan menghasilkan asam laktat yang semakin banyak sehingga aroma pada kopi fermentasi akan semakin berbau asam seiring dengan lamanya proses fermentasi.

## B. Hasil pengujian mutu produk pada kopi fermentasi sebelum disangrai

### 1. Uji jumlah BAL

Hasil pengujian jumlah BAL dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765, tercantum pada Tabel 2.

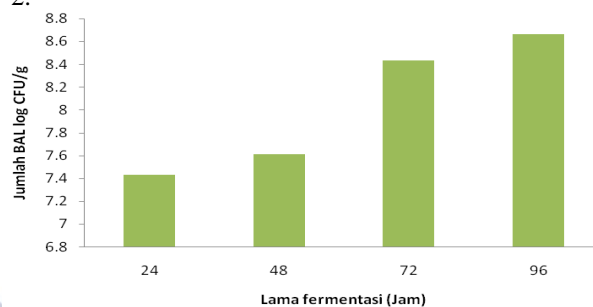
Tabel 2. Data jumlah BAL dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B176

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata jumlah BAL (CFU/g)	Nilai signifikan *	
			Uji anova	LSD 2.
1.	24 jam	$2,7 \times 10^7$	0.000	0.000
2.	48 jam	$4,2 \times 10^7$		0.000
3.	72 jam	$2,7 \times 10^8$		0.000
4.	96 jam	$4,6 \times 10^8$		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada jumlah BAL, data jumlah BAL berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan pertumbuhan BAL. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada

setiap perlakuan lama fermentasi dengan pertumbuhan BAL pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Jumlah BAL pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765, disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan jumlah BAL pada kopi selama fermentasi

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa jumlah BAL pada kopi semakin meningkat seiring dengan bertambahnya lama fermentasi. Jumlah BAL pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 1 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari berturut-turut sebagai berikut  $2,7 \times 10^7$  CFU/g (7,431 log CFU/g),  $4,3 \times 10^7$  CFU/g (7,633 log CFU/g),  $2,6 \times 10^8$  CFU/g (8,414 log CFU/g),  $4,1 \times 10^8$  CFU/g (8,613 log CFU/g). Kopi mempunyai nutrisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri karena mempunyai sumber N dan sumber C. Kandungan N pada kopi adalah 11-13 % dan kandungan C pada kopi sebesar 50-55 % [6]. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kopi mempunyai nutrisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri diantaranya yaitu *L. plantarum* B1765, oleh adanya sumber nutrisi tersebut, *L. plantarum* B1765 dapat tumbuh dengan baik seiring dengan bertambahnya lama fermentasi.

Data penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yaitu fermentasi kopi dengan BAL [*Leuconostoc/Weissella* (BFE 6997,6989), homofermentatif *Lactobacillus* spp. (BFE 6853, 6823), *Lactobacillus* spp heterofermentatif (BFE 6812) dan *Enterococcus* (BFE 6803)] yang difermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam. Hasilnya adalah jumlah BAL semakin meningkat dengan bertambahnya lama fermentasi. Jumlah BAL pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 1 hari, 2 hari, dan 3 hari berturut-turut sebagai berikut  $3,8 \times 10^8$  CFU/g,  $4,0 \times 10^8$  CFU/g,  $5,7 \times 10^8$  CFU/g [11].

### Uji mutu kimia

#### a. Kadar glukosa

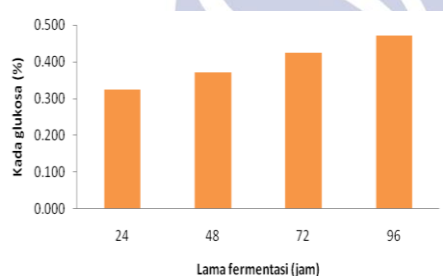
Hasil pengujian kadar glukosa dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765, tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Data kadar glukosa dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sebelum disangrai

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata kadar glukosa (%)	Nilai signifikan *	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	0,325	0.000	0.000
2.	48 jam	0,371		0.000
3.	72 jam	0,424		0.000
4.	96 jam	0,471		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada kadar glukosa, data kadar glukosa berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan kadar glukosa. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan kadar glukosa pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Kadar glukosa pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765 sebelum disangrai, disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kadar glukosa pada kopi arabika selama fermentasi sebelum disangrai

Pada Gambar 3 di atas dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi maka kadar glukosa akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena aktivitas amilolitik mikroorganisme pada kopi termasuk diantaranya adalah *L. plantarum* B1765 yang tumbuh dominan pada fermentasi kopi dalam penelitian ini. Aktivitas amilolitik dari *L. plantarum* telah dilaporkan oleh beberapa peneliti ([12], [13], [14], [15], [16], [17], [18]).

#### b. Nilai pH

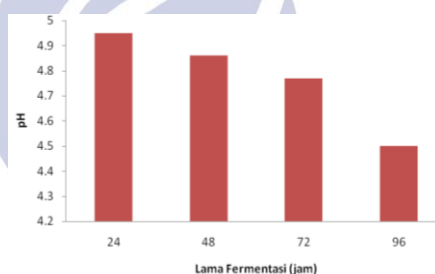
Hasil pengujian nilai pH dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765 tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Data nilai pH dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sebelum disangrai

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata degradasi proteolitik (N %)	Nilai signifikan*	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	11.6	0.000	0.000
2.	48 jam	13.2		0.000
3.	72 jam	14.5		0.000
4.	96 jam	15.9		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada nilai pH, data nilai pH berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan nilai pH. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan nilai pH pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Nilai pH pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765, disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Perubahan nilai pH kopi selama fermentasi sebelum disangrai

Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa perubahan nilai pH menurun pada kopi arabika yang telah difermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765. Hal ini disebabkan karena *L. plantarum* B1765 mempunyai aktivitas amilolitik yang dapat mendegradasi pati menjadi glukosa yang selanjutnya menjadi asam laktat sehingga dapat menurunkan nilai pH. Telah dilakukan penelitian mengenai fermentasi kopi dengan BAL [*Leuconostoc/Weissella* (BFE 6997,6989), homofermentatif *Lactobacillus* spp. (BFE 6853, 6823), *Lactobacillus* spp. heterofermentatif (BFE 6812) dan *Enterococcus* (BFE 6803)] yang difermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam. Hasilnya adalah semakin lama fermentasi maka nilai pH akan semakin menurun. Nilai pH pada kopi fermentasi BAL selama 24 jam (4,79), 48 jam (4,31), 72 jam (4,25) [11].

### c. Hasil degradasi proteolitik BAL

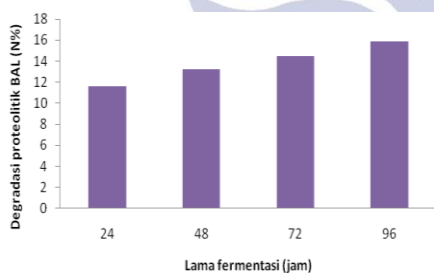
Hasil pengujian hasil degradasi proteolitik BAL dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765 tercantum pada Tabel 5.

Tabel 5. Data hasil degradasi proteolitik BAL dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata nilai pH	Nilai signifikan *	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	4.95	0.000	0.000
2.	48 jam	4.86		0.000
3.	72 jam	4.77		0.000
4.	96 jam	4.50		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada degradasi proteolitik BAL, data degradasi proteolitik BAL berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan degradasi proteolitik BAL. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan degradasi proteolitik BAL pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Hasil degradasi proteolitik BAL pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765, disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Degradasi proteolitik BAL pada kopi arabika selama fermentasi sebelum disangrai

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa degradasi proteolitik BAL meningkat selama proses fermentasi. Hal ini diduga karena adanya aktivitas proteolitik *L. plantarum* B1765. Terjadinya peningkatan degradasi proteolitik BAL diduga dapat terjadi karena adanya degradasi protein kopi oleh *L. plantarum* B1765. Dugaan ini diperkuat oleh adanya beberapa penelitian berikut. *L. plantarum* B1765 mampu mendegradasi protein ikan [5]. *L. plantarum* 1B1 mampu mendegradasi protein daging sapi [19]. *L. plantarum* NCIM 2083 mampu mendegradasi protein casein susu [20]. Semakin lama fermentasi maka *L. plantarum* B1765 akan semakin lama mendegradasi protein pada kopi sehingga hasil degradasi proteolitik BAL akan semakin meningkat.

### B. Hasil pengujian mutu produk pada kopi fermentasi sesudah disangrai

#### 1. Uji mutu kimia

##### a. Kadar glukosa

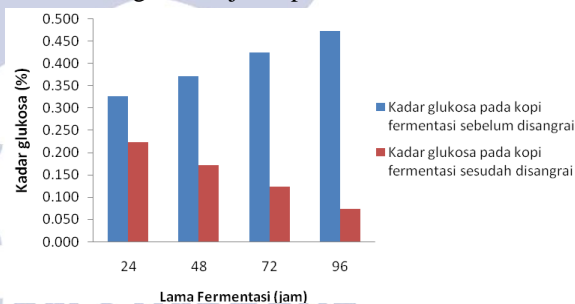
Hasil pengujian kadar glukosa dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, tercantum pada Tabel 6.

Tabel 6. Data kadar glukosa dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata kadar glukosa (%)	Nilai signifikan *	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	0,222	0.000	0.000
2.	48 jam	0,171		0.000
3.	72 jam	0,123		0.000
4.	96 jam	0,073		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada kadar glukosa kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, data kadar glukosa berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan kadar glukosa. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan kadar glukosa pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Kadar glukosa pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765 sebelum dan sesudah disangrai, disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Perubahan kadar glukosa kopi fermentasi sebelum dan sesudah disangrai

Pada Gambar 6 dapat dilihat bahwa perubahan kadar glukosa sebelum disangrai adalah semakin meningkat dengan semakin lama proses fermentasi, hal ini disebabkan oleh aktivitas amilolitik *L. plantarum* B1765 yang mendegradasi pati menjadi glukosa sehingga kadar glukosa semakin meningkat seiring dengan lamanya proses fermentasi. Sedangkan kadar glukosa pada kopi fermentasi sesudah disangrai adalah semakin menurun dan lebih rendah dari kadar glukosa sebelum disangrai. Hal ini disebabkan karena glukosa yang terbentuk selama proses fermentasi mengalami reaksi maillard yang terjadi pada saat penyangraian. Reaksi maillard adalah reaksi antara gugus amino primer pada

asam amino, peptida atau protein dengan gugus aldehid pada glukosa membentuk melanoidin [21].

Semakin lama fermentasi pada kopi fermentasi sesudah disangrai maka kadar glukosa akan semakin menurun karena semakin banyak gugus aldehid pada glukosa bereaksi dengan gugus amina pada asam amino membentuk melanoidin sehingga kadar glukosa semakin menurun sejalan dengan semakin lamanya fermentasi.

Kandungan glukosa pada kopi sebelum disangrai adalah 0,3 % sedangkan sesudah disangrai adalah 0,1 %, hal ini sesuai dengan data pengamatan yang telah diperoleh yaitu kandungan glukosa sebelum disangrai rata-rata 0,39% dan sesudah disangrai adalah 0,145 %.

### b. pH

Hasil pengujian nilai pH dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, tercantum pada Tabel 7.

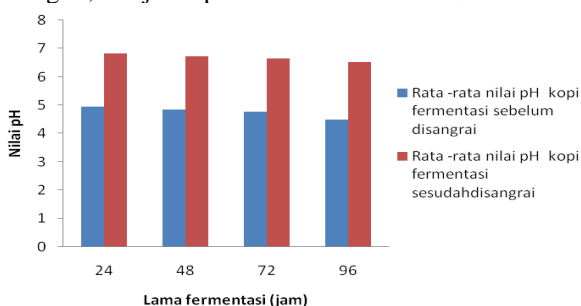
Tabel 7. Data nilai pH dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sangrai

Berdasarkan analisis statistik pada nilai pH kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, data nilai pH berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan nilai pH. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata degradasi proteolitik (N %)	Nilai signifikan*	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	10.5		0.000
2.	48 jam	9.1	0.000	0.000
3.	72 jam	7.6		0.000
4.	96 jam	6.5		0.000

perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan nilai pH pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Nilai pH pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765 sebelum dan sesudah disangrai, disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Perubahan nilai pH kopi fermentasi sebelum dan sesudah disangrai

difermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765 sebelum disangrai adalah semakin menurun, hal ini disebabkan oleh aktivitas amilolitik *L. plantarum* B1765 yang mendegradasi pati menjadi glukosa dan selanjutnya menjadi asam laktat

sehingga menurunkan nilai pH seiring dengan lamanya proses fermentasi. Sedangkan nilai pH pada kopi fermentasi sesudah disangrai adalah semakin meningkat. Peningkatan nilai pH ini disebabkan karena menguapnya beberapa zat asam pada saat kopi disangrai. Perubahan nilai pH pada kopi cenderung naik menuju ke nilai pH yang netral. Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa volatile seperti aldehid, furfural, keton, alkohol, ester, asam format dan asam asetat yang mudah menguap. Senyawa yang menyebabkan rasa asam seperti tannin dan asam asetat akan hilang dan sebagian lainnya akan bereaksi dengan asam amino membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna coklat. Proses penyangraian adalah merupakan proses swelling, penguapan air, terbentuknya senyawa volatile, karamelisasi karbohidrat, denaturasi protein. Penyangraian menyebabkan terjadinya pirolisis sehingga senyawa volatile menguap. Standart rasa kopi berdasarkan SNI adalah pH yang terkandung pada kopi harus netral yaitu pada pH 7. Perubahan nilai pH pada biji kopi yang telah disangrai menunjukkan peningkatan nilai pH yang dimana nilainya semakin naik dan menuju ke nilai pH netral. Oleh karena itu nilai pH pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai mendekati pH netral yang sesuai dengan SNI [22].

### c. Hasil degradasi proteolitik BAL

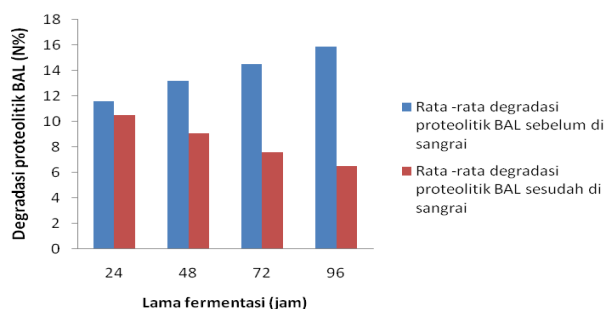
Hasil pengujian degradasi proteolitik BAL dan analisis statistika pada kopi yang difermentasi dengan kultur starter *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, tercantum pada Tabel 8.

Tabel 8. Data hasil degradasi proteolitik BAL (N%) dan data hasil statistik pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai

No.	Lama Fermentasi	Rata-rata nilai pH	Nilai signifikan *	
			Uji anova	LSD
1.	24 jam	6.84		0.000
2.	48 jam	6.74	0.000	0.000
3.	72 jam	6.65		0.000
4.	96 jam	6.52		0.000

Berdasarkan analisis statistik pada degradasi proteolitik BAL pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai, data degradasi proteolitik BAL berdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk analisis anova satu arah. Hasil uji anova satu arah menunjukkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti terdapat pengaruh antara perlakuan lama fermentasi dengan degradasi proteolitik BAL. Uji lanjut LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan lama fermentasi dengan degradasi proteolitik BAL pada masing-masing sampel yang ditunjukkan nilai  $p < 0.05$ .

Hasil degradasi proteolitik BAL pada kopi arabika setelah mengalami proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan *L. plantarum* B1765 sebelum dan sesudah disangrai, disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Degradasi proteolitik BAL pada kopi fermentasi sebelum dan sesudah disangrai

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil degradasi proteolitik BAL pada kopi fermentasi sebelum disangrai adalah semakin meningkat karena adanya aktivitas proteolitik *L. plantarum* B1765 yang dapat mendegradasi protein menjadi peptida-peptida dan selanjutnya menjadi asam amino sehingga amina primer yang dihasilkan oleh hasil degradasi enzim proteolitik *L. plantarum* B1765 adalah semakin meningkat dengan bertambahnya lama fermentasi. Sedangkan hasil degradasi proteolitik BAL pada kopi fermentasi sesudah disangrai menurun selama proses fermentasi. Hal ini karena adanya reaksi pencoklatan (reaksi maillard) yang terjadi pada saat penyangraian, yang mana gugus aldehid pada glukosa bereaksi dengan gugus amina pada asam amino membentuk melanoidin sehingga gugus amina primer pada asam amino bebas lebih sedikit karena gugus amina primer telah berikatan dengan gugus aldehid pada glukosa dengan membentuk melanoidin, sehingga amina primer bebas hasil sedikit maka amina primer semakin menurun seiring dengan semakin lamanya fermentasi.

## 2. Uji mutu organoleptik

### a. Uji warna pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai

Warna dapat dinilai dengan melihat warna penyangraian pada air kopi, seperti warna coklat, agak hitam, sangat hitam dan panelis mempunyai tugas untuk memberikan skor penilaian warna pada masing-masing sampel kopi fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam sesudah disangrai dan kopi luwak pada angket penilaian. Hasil angket penilaian warna kopi fermentasi sesudah disangrai dan analisis statistik, tercantum pada Tabel 9.

Tabel 9. Data hasil uji warna dan data hasil statistik pada kopi fermentasi sesudah disangrai

No.	Jenis kopi	Rata-rata uji organoleptik	Tingkat Kesukaan (skor)	Kruskal wallis
1.	Kopi fermentasi 24 jam	58	1	
2.	Kopi fermentasi 48 jam	66	2	
3.	Kopi fermentasi 72 jam	76	3	0,000
4.	Kopi fermentasi 96 jam	84	4	
5.	Kopi Luwak	95	5	

Hasil analisis uji Kruskal wallis pada uji warna pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan kopi luwak di dapatkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti  $H_0$  ditolak, artinya ada pengaruh antara perlakuan lama fermentasi terhadap warna dari kopi fermentasi *L. plantarum* B1765. Pada kolom *Mean Rank* dapat diketahui bahwa tingkat kesukaan warna pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang paling disukai oleh panelis adalah kopi fermentasi 96 jam dengan tingkat kesukaan panelis pada skor 4 yang masih rendah dibandingkan dengan kopi luwak dengan skor 5.

Panelis lebih menyukai warna pada kopi luwak dan kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 96 jam karena warna kopi terlihat lebih hitam pekat daripada warna kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang lain. Hal ini disebabkan karena adanya reaksi pencoklatan secara enzimatis seiring dengan lamanya fermentasi. Semakin lama fermentasi maka warna kopi akan semakin coklat sehingga berpengaruh terhadap warna setelah penyangraian yang lebih cepat berwarna hitam pada saat proses penyangraian berlangsung, yang mana pada reaksi pencoklatan (reaksi maillard) yang terjadi pada saat proses penyangraian terjadi reaksi antara gugus aldehid pada glukosa dengan gugus amina pada asam amino membentuk melanoidin sehingga berpengaruh terhadap warna kopi.

### b. Uji rasa pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai

Rasa dinilai dengan merasakan air kopi yang telah diseduh, lalu ditahan air kopi di dalam rongga mulut sekitar 3 detik, dengan tujuan untuk memenuhi air kopi seduhan di seluruh permukaan lidah, sehingga lidah mampu mengenali rasa dasar seduhan, seperti rasa pahit, manis dan asam. Panelis mempunyai tugas untuk memberikan skor penilaian rasa pada masing-masing sampel kopi fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam sesudah disangrai dan kopi luwak pada angket penilaian. Hasil angket penilaian rasa kopi fermentasi sesudah disangrai dan analisis statistik, tercantum pada Tabel 10.



Tabel 10. Data hasil uji rasa dan data hasil statistik pada kopi fermentasi sesudah disangrai

No.	Jenis kopi	Rata-rata uji organoleptik	Tingkat kesukaan (skor)	Kruskal wallis
1.	Kopi fermentasi 24 jam	60	1	0,000
2.	Kopi fermentasi 48 jam	65	2	
3.	Kopi fermentasi 72 jam	74	3	
4.	Kopi fermentasi 96 jam	81	4	
5.	Kopi Luwak	97	5	

Hasil analisis uji Kruskal wallis pada uji rasa pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan kopi luwak di dapatkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti  $H_0$  ditolak, artinya ada pengaruh antara perlakuan lama fermentasi terhadap rasa dari kopi fermentasi *L. plantarum* B1765. Pada kolom *Mean Rank* dapat diketahui bahwa tingkat kesukaan rasa pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang paling disukai oleh panelis adalah kopi fermentasi 96 jam dengan tingkat kesukaan panelis pada skor 4 yang masih rendah dibandingkan dengan kopi luwak dengan skor 5.

Panelis lebih menyukai rasa pada kopi luwak dan kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 96 jam karena rasa kopi lebih nikmat daripada rasa kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang lain. Hal ini disebabkan oleh semakin lamanya proses fermentasi maka semakin lama aktivitas proteolitik *L. plantarum* B1765 untuk mendegradasi protein kopi menjadi oligopeptida, dipeptida dan selanjutnya menjadi asam-asam amino sehingga menghasilkan amina primer semakin banyak seiring dengan lamanya fermentasi dan semakin lama aktivitas amilolitik *L. plantarum* B1765 dapat mendegradasi pati menjadi glukosa sehingga menghasilkan glukosa semakin banyak seiring dengan lamanya fermentasi, maka semakin banyak glukosa bereaksi dengan asam amino membentuk melanoidin yang menjadi komponen utama dalam proses pencoklatan yang terjadi saat penyangraian dan berpengaruh terhadap cita rasa kopi yang dihasilkan, sehingga semakin lama fermentasi maka semakin nikmat rasa kopi yang dihasilkan.

### c. Uji aroma pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 sesudah disangrai

Aroma dapat dinilai dengan cara mencium aroma kopi panas yang baru diseduh. Panelis mempunyai tugas untuk memberikan skor penilaian aroma pada masing-masing sampel kopi fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam sesudah disangrai dan kopi luwak pada angket penilaian. Hasil angket penilaian aroma kopi fermentasi sesudah disangrai dan analisis statistik, tercantum pada Tabel 11.

Tabel 11. Data hasil uji aroma dan data hasil statistik pada kopi fermentasi sesudah disangrai

No.	Jenis kopi	Rata-rata uji organoleptik	Tingkat kesukaan (skor)	Kruskal wallis
1.	Kopi fermentasi 24 jam	62	1	0,000
2.	Kopi fermentasi 48 jam	68	2	
3.	Kopi fermentasi 72 jam	75	3	
4.	Kopi fermentasi 96 jam	82	4	
5.	Kopi Luwak	98	5	

Hasil analisis uji Kruskal wallis pada uji aroma pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan kopi luwak di dapatkan nilai  $p < 0.05$  yang berarti  $H_0$  ditolak, artinya ada pengaruh antara perlakuan lama fermentasi terhadap aroma dari kopi fermentasi *L. plantarum* B1765. Pada kolom *Mean Rank* dapat diketahui bahwa tingkat kesukaan aroma pada kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang paling disukai oleh panelis adalah kopi fermentasi 96 jam dengan tingkat kesukaan panelis pada skor 4 yang masih rendah dibandingkan dengan kopi luwak dengan skor 5.

Panelis lebih menyukai aroma pada kopi luwak dan kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 selama 96 jam karena aroma kopi lebih sedap daripada aroma kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 yang lain. Hal ini disebabkan oleh terjadinya pirolisis sehingga senyawa volatil menguap yang menyebabkan terciumnya aroma kopi. Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa volatil seperti aldehid, furfural, keton, alkohol, ester, asam format dan asam asetat yang mudah menguap. Senyawa yang menyebabkan rasa asam seperti tannin dan asam asetat akan hilang dan sebagian lainnya akan bereaksi dengan asam amino membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna coklat. Penyangraian menyebabkan terjadinya pirolisis sehingga senyawa volatil menguap yang menyebabkan adanya aroma pada kopi. Pada senyawa volatil furan dapat menyebabkan beraroma karamel, oxazole beraroma *sweet hazelbut*, fenol beraroma *bitter*, pyrazine beraroma *sweet bitter* [22].

## PENUTUP

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat disimpulkan bahwa semakin lama fermentasi *L. plantarum* B1765 pada kopi arabika sebelum disangrai maka jumlah BAL, kadar glukosa, hasil degradasi proteolitik BAL semakin meningkat sedangkan nilai pH semakin menurun dan semakin lama fermentasi *L. plantarum* B1765 pada kopi arabika sesudah disangrai maka kadar glukosa, hasil degradasi proteolitik semakin menurun sedangkan nilai pH semakin meningkat. Kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 96 jam sesudah disangrai yang paling disukai oleh panelis dari segi warna, rasa dan aroma

**Saran**

Perlu dilakukan proses optimasi pembuatan kopi fermentasi *L. plantarum* B1765 untuk mendapatkan cita rasa yang disukai konsumen.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Simanjuntak, R. 2011. *Artikel Ilmu Bahan Makanann Bahan Penyegar*. Semarang: UNDIP
2. Yusianto Dan Mulato. 2002. *Pengolahan dan Komposisi Kimia Biji Kopi Pengaruhnya Terhadap Organoleptik Seduhan. Materi Pelatihan Uji Organoleptik Kopi*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
3. Lailatul, A., Syafril, M., Erfan, M., Dan Rosmalia, H., 2010. *Kopi Luwak Tanpa Dimakan Luwak*. Koran Tempo [on-line]. Diakses pada tanggal 28 Juli 2010. [http://epaper.korantempo.com/KT/KT/2010/07/29/ArticleHtmls/29\\_07\\_2010\\_013\\_011.shtml?Mode=1](http://epaper.korantempo.com/KT/KT/2010/07/29/ArticleHtmls/29_07_2010_013_011.shtml?Mode=1)
4. Surono, IS. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.
5. Wikandari, P.R. 2011. Potensi Bakteri Asam Laktat Indigenous Sebagai Penghasil Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Pada Fermentasi Bekasam. *Disertasi*. Yogyakarta: UGM.
6. Rahayu, E.S., dan Margino, S., 1997. *Bakteri Asam Laktat : Isolasi dan Identifikasi*. Materi Workshop. Diselenggarakan PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, 13 dan 14 Juni 1997.
7. Kuba, M., Tanaka, K., Tawata, S., Takeda, Y. 2003. Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides Isolated from Tofuyo Fermented Soybean Food. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 67(6) : 1278-1283.
8. Sudarmaji, S., Haryono, B., Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pangan*. Yogyakarta: Liberty.
9. Clarke, R. J. and Macrae, R. 1987. *Coffe Technology* (Volume 2). Elsevier Applied Science, London and New York.
10. Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
11. Massawe., G.A And Lifa, S.J. 2010. Yeasts and Lactic Acid Bacteria Coffee Fermentation Starter Cultures. *Int. J. Postharvest Technology and Innovation*. 2: 1.
12. Florencio, J.A., Eiras, S.D.R., Soccol, C.R., Raimbault, M., Guyot, J.P., Fontana, J.D. 2000. *Lactobacillus plantarum* Amylase Acting on Crude Starch Granules Native Isoforms and Activity Changes After Limited Proteolysis. *Appl Biochem Biotechnol*. 84-86: 721-30.
13. Rao, M.S., and Stevens, W.F. 2006. Fermentation of Shrimp Biowaste Under Different Salt Concentrations With Amylolytic and Non-Amylolytic *Lactobacillus* Strains For Chitin Production. *Food Technol Biotechnol*. 44 (1): 83–87.
14. Sanoja, R.R., Ruiz, B., Guyot, J.P., Sanchez, S. 2005. Starch-Binding Domain Affects Catalysis in Two *Lactobacillus*  $\alpha$ -Amylases. *Appl Environ Microbiol*. 71 (1): 297–302.
15. Kim, J.H., Sunako, M., Ono, H., Murooka, Y., Fukusaki, E., Yamashita, M. 2008. Characterization of Gene Encoding Amylopullulanase From Plant-Originated Lactic Acid Bacterium, *Lactobacillus Plantarum* L137. *J Biosci Bioeng*. 106 (5): 449-59.
16. Petrova, P., Emanuilova, M., Petrov, K. 2010. Amylolytic *Lactobacillus* Strains From Bulgarian Fermented Beverage Boza. *Z Naturforsch C*. 65 (3-4): 218-24
17. Putri, W.D. 2011. Karakteristik Bakteri Asam Laktat Amilolitik Lokal dan Peranannya Dalam Baking Behaviour Pati Kasava Asam. *Disertasi*. Yogyakarta: UGM.
18. Putri, W.D.R., Haryadi., Marseno, D.W., Cahyanto, M.N. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik Selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 13 (1): 52-60.
19. Kurniawati. 2007. Aktivitas Proteolitik dan Mutu Protein Dendeng Sapi yang Difermentasi *Lactobacillus plantarum* Hasil Isolasi Dari Daging Sapi. Skripsi. Bogor: IPB.
20. Marathe, M.Y., Ghosh, J.S. 2009. Study of Proteinase Activity of *Lactobacillus plantarum* NCIM 2083. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*. 1(1): 001-005.
21. DeMan, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB
22. Mulato, Sri. 2002. Simposium Kopi 2002 dengan Tema Mewujudkan perkopian Nasional Yang Tangguh melalui Diversifikasi Usaha Berwawasan Lingkungan dalam Pengembangan Industri Kopi Bubuk Skala Kecil Untuk Meningkatkan Nilai Tambah Usaha Tani Kopi Rakyat. Denpasar : 16 – 17 Oktober 2002. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.