

**PENGARUH SUHU FERMENTASI DENGAN BAKTERI ASAM
LAKTAT (*Lactobacillus plantarum*.) TERHADAP KADAR
KAFEIN PADA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)**

SKRIPSI



**Oleh:
Susi Weli Nur Hartini NIM. 19040133**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2023**

**PENGARUH SUHU FERMENTASI DENGAN BAKTERI ASAM
LAKTAT (*Lactobacillus plantarum*.) TERHADAP KADAR
KAFEIN PADA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh
Gelar Sarjana (S.Farm)



Oleh:
Susi Weli Nur Hartini NIM.
19040133

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN

Hasil skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Jember, 18 agustus 2023

Pembimbing Utama



apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm
NIDN. 0509088601

Pembimbing Anggota



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes
NIDN. 0729098401

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Suhu Fermentasi dengan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus p*) Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

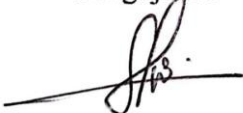
Hari: Rabu

Tanggal : 30 Agustus 2023

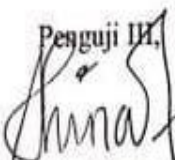
Tim Penguji
Ketua Penguji


I Gusti Ayu Kamasih M.Kep., Sp.Mat
NIDN. 4005116802

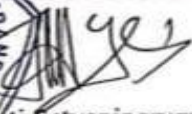
Penguji II


apt. Sholihatil Hidayati, M. F
NIDN. 0509088601

Penguji III,


apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes.
NIDN. 0729098401

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi

apt. Brhadawati Setyaningrum, M. Farm
NIDN. 0703068903

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Susi weli nur hartin

Nim 19040133

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi berjudul “Pengaruh Suhu Fermentasi dengan Bakteri AsanLaktat (*Lactobacillus plantarum*) Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)” sesungguhnya adalah hasil karya saya sendiri. Data sumber yang dikutip telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan yang saya buat dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati tanpa adanya suatu paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi apabila kemudian hari terdapat penyimpangan terkait dengan ketidak benaran dalam pernyataan ini.

Jember, 18 Agustus 2023

Yang menyatakan,

A handwritten signature in black ink is placed over a yellow and white postage stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPEL' and '4D5AJX007120688'. The signature is written in a cursive style.

Susi Weli Nur H

19040133

SKRIPSI

**PENGARUH SUHU FERMENTASI DENGAN BAKTERI ASAM
LAKTAT (*Lactobacillus p.*) TERHADAP KADAR KAFEIN
PADA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)**

Oleh:

Susi Weli Nur Hartini

NIM. 19404133

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama: apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

- 1) Allah SWT yang selalu memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini.
- 2) Skripsi ini saya persembahkan kepada orang tua saya yang sangat berjasa dalam hidup saya, serta keluarga besar terima kasih yang telah selalu memberikan doa, kasih sayang, nasihat, pengorbanan waktu dan material yang senantiasa memberikan dukungan sehingga membuat segala sesuatu mengenai skripsi dapat selesai dengan baik.
- 3) Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku dosen pembimbing utama dan selaku DPA yang sangat sabar membimbing dalam proses perkuliahan, ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes selaku dosen pembimbing anggota, dan ibuk I Gusti Ayu Karnasih, M.Kep., Sp.Mat selaku dosen penguji saya yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 4) Pada segenap Ibu dan Bapak Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama perkuliahan, terutama ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku wali kelas.
- 5) Terima kasih kepada teman-teman terdekat saya dan teman-teman himpunan, KKN yang telah banyak membantu, menemani dan mensupport saya selama mengerjakan skripsi ini.
- 6) Teman kuliah satu angkatan terutama 19C farmasi terima kasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses buat kita semua.

- 7) Kepada rekan-rekan dan staf di Laboratorium Farmasi yang menerima dengan sepenuh hati sehingga membantu kelancaran dalam proses penyelesaian skripsi ini.
- 8) Terima kasih untuk diri saya sendiri yang telah berjuang dan berusaha untuk menyelesaikan semua tahap pada perkuliahan hingga selesai.

MOTTO

*“kamu tidak harus menjadi hebat untuk memulai , kamu harus mulai
untuk menjadi hebat”*

-Zig Ziglar

ABSTRAK

Nurhartini, Susi Weli* Hidayati, Sholihatil** Susanti, Dhina Ayu***.2023. **Pengaruh Suhu Fermentasi dengan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus p*) Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)**” Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Latar belakang : Indonesia adalah salah satu negara produsen kopi dan pengeksport kopi terbesar di dunia. Kopi robusta memiliki kelebihan dari segi produksi yang lebih tinggi dibandingkan jenis kopi arabika dan liberika. Kopi robusta dapat dikatakan sebagai kopi kelas dua setelah kopi arabika berdasarkan rasa dan kandungan kafein yang ada didalamnya. Batas aman konsumsi kafein yang masuk ke dalam tubuh perharinya adalah 100- 150 mg. Fermentasi adalah salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menurunkan kadar kafein dan cita rasa yang tinggi. Penambahan mikroorganisme, salah satunya bakteri asam laktat (BAL), dapat meningkatkan mutu kopi yang dihasilkan memiliki karakteristik yang khas.

Metode : Metode yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental dalam menganalisis pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus p.*) terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*). Suhu fermentasi yang digunakan dalam penelitian adalah 25°C, 37°C dan 45°C.

Hasil Penelitian : Hasil Kadar kafein pada kopi robusta yang mengalami non fermentasi sebesar 0,8515 mg/g dan mengalami proses fermentasi dengan suhu 25°C sebesar 0,3908 mg/g, 37°C sebesar 0,2603 mg/g, dan 45°C sebesar 0,6083 mg/g.

Kesimpulan : Hasil yang diperoleh dari analisis *statistic* menunjukkan bahwa kadar kafein pada proses non fermentasi dan fermentasi dengan suhu fermentasi 25°C, 37°C dan 45°C menunjukkan nilai signifikansi yang artinya ada perbedaan.

Kata Kunci: BAL (*lactobacillus plantarum*), Kopi Robusta, penetapan kadar, proses fermentasi, spektrofotometri UV-Vis

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Nurhatini, Susi Weli* Hidayati, Sholihatil** Susanti, Dhina Ayu***.2023. ***Effect of Fermentation Temperature with Lactic Acid Bacteria (Lactobacillus p) on Caffeine Levels in Robusta Coffee Beans (Coffea robusta)***. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, Dr. Soebandi University

Background: Indonesia is one of the largest coffee producing and exporting countries in the world. Robusta coffee has advantages in terms of higher production compared to arabica and liberica coffee types. Robusta coffee can be said to be second-class coffee after Arabica coffee based on its taste and caffeine content. The safe limit of caffeine consumption that enters the body per day is 100-150 mg. Fermentation is one way that can be done to reduce caffeine levels and high flavor. The addition of microorganisms, one of which is lactic acid bacteria (LAB), can improve the quality of coffee produced to have distinctive characteristics.

Methods: The method used was an experimental research method in analyzing the effect of fermentation temperature with Lactic Acid bacteria (*Lactobacillus p.*) on caffeine levels in robusta coffee beans (*Coffea robusta*). The fermentation temperatures used in the study were 25°C, 37°C and 45°C.

Research Results: The results of caffeine levels in robusta coffee that experienced non-fermentation amounted to 0.8515 mg / g and experienced the fermentation process with a temperature of 25 °C of 0.3908 mg / g, 37 °C of 0.2603 mg / g, and 45 °C amounted to 0.6083 mg / g.

Conclusion: The results obtained from statistical analysis show that caffeine levels in the non-fermentation and fermentation processes with fermentation temperatures of 25 °C, 37 °C and 45 °C show a significance value of 0.123, which means there is no significant difference.

Keywords: LAB (*Lactobacillus plantarum*), Robusta coffee, determination, fermentation process, UV-Vis spectrophotometry.

*Researcher

**Supervisor I

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul **“Pengaruh Suhu Fermentasi dengan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus p*) Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)”**

Selama proses penyusunan penulisan dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) Bapak Andi Eka Pranata, S.ST., S.Kep., Ners., M.Kes Selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember.
- 2) Ibu apt. Linda Setyaningrum, M.Farm Selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember
- 3) Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes. Selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember dan sebagai pembimbing anggota
- 4) Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku pembimbing Utama

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan proposal skripsi. Semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih

Jember, 18 Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Sampul.....	i
Halaman Judul	ii
Halaman Persetujuan	iii
Halaman Pengesahan	iv
Halaman Pernyataan Orisinalitas Skripsi	v
Halaman Pembimbing Skripsi	vi
Halaman Persembahan	vii
Motto	ix
Abstrak	x
Abstract	xi
Kata Pengantar	xiii
Daftar Isi	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi peneliti	5
1.4.2 Manfaat bagi instansi	6
1.4.3 Manfaat bagi masyarakat	6
1.4.4 Manfaat bagi Pendidikan	6
1.5 Keaslian Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sejarah Kopi	7
2.1.1 Sejarah Kopi	7
2.2 Klasifikasi Kopi Robusta	8
2.3 Morfologi tanaman.....	9
2.3.1 Akar	9
2.3.2 Batang dan cabang	9
2.3.3 Daun	10
2.3.4 Buah dan Biji kopi	11
2.4 Kandungan Kopi	12
2.5 Manfaat kopi	15
2.6 Efek Farmakologi kopi	15
2.7 Kafein	16
2.7.1 Senyawa Kafein	16
2.7.2 Struktur kafein	18
2.7.3 Sifat Fisik Kimia Kafein	18

2.8 Fermentasi	19
2.8.1 Jenis Fermentasi	20
2.8.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi	20
2.9 Bakteri Asam Laktat	23
2.9.1 Manfaat Bakteri Asam Lektat	24
2.9.2 Peran Bakteri Asam Laktat Pada Produk Fermentasi	24
2.10 Spektrofotometri UV – Vis	26
2.10.1 Prinsip spektrofotometri	26
2.10.2 Syarat pengukuran	28
BAB 3 KERANGKA KONSEP	31
3.1 Kerangka Konsep	31
3.2 Hipotesis	32
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Desain Penelitian	33
4.2 Populasi dan Sampel	33
4.2.1 Populasi	33
4.2.2 Sampel	33
4.3 Variabel Penelitian	34
4.3.1 Variabel independent (bebas)	34
4.3.2 Variabel dependent (terikat)	34
4.4 Tempat Penelitian	34
4.5 Waktu	34
4.6 Definisi Operasional	34
4.7 Teknik Pengumpulan Data	35
4.7.1 Determinasi.....	35
4.7.2 Pengambilan Sampel	35
4.7.3 Fermentasi sampel	36
4.7.4 Proses Pembuatan Ekstraksi	36
4.7.5 Optimasi Spektrofotometri UV-Vis	36
BAB 5 HASIL PENELITIAN	40
5.1 Data Umum Penelitian	40
5.1.1 Determinasi Tanaman	40
5.2 Data Penelitian	40
5.2.1 Hasil Fermentasi Pada Suhu	40
5.2.2 Optimasi Standar Kafein	41
5.2.3 Penetapan Persamaan Regresi	41
BAB 6 PEMBAHASAN	44
6.1 Fermentasi kopi	44
6.1.1 Fermentasi Kopi Menggunakan BAL	44
6.2 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	47
6.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	50
6.4 Penetapan Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta	51
6.5 Analisis Data.....	53
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	56
7.1 Kesimpulan	56
7.2 Saran.....	56

DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara produsen kopi dan pengeksport kopi terbesar di dunia. Produksi kopi mengalami peningkatan yang sangat besar dari 15,99% pada tahun 2013 dengan jumlah devisa sebesar 116,179 ribu. Kesediaan lahan yang sangat produktif sehingga mencapai 955 ribu hektar, terdiri dari beberapa lahan perkebunan kopi diantaranya kopi robusta dan kopi arabika dengan luas wilayah 197 hektar (Martauli, 2018). Posisi ini sangat strategis di dunia perkopian internasional karena pada Indonesia merupakan salah satu negara pengeksport kopi terbesar ketiga setelah Brazil dan Vietnam (FAO, 2013). Produktivitas kopi Indonesia dari tahun 1980–2017 sebesar 637.539 ton per tahun. Jika pada tahun 1980 volume ekspor kopi Indonesia sebesar 238.6ton dengan nilai ekspor sebesar US\$ 656 juta, maka tahun 2015 volume ekspor meningkat menjadi 502.02 ton atau senilai US\$ 1.198 juta (Dirjen Perkebunan, 2016).

Kopi termasuk tanaman perkebunan yang memiliki nilai daya tarik atau daya jual yang tinggi. Kopi bukan hanya berperan sebagai sumber devisa negara saja melainkan sumber penghasilan bagi para petani yang berada di dataran tinggi. Keberhasilan agribisnis kopi ini didukung dari beberapa pihak yang terkait dalam beberapa produksi seperti, pengolahan dan pemasaran komoditas kopi (Budiman, 2012).

Kopi merupakan biji-bijian dari pohon jenis *coffea*. Kopi termasuk ke dalam famili Rubiaceae, subfamili Ixoroideae, dan suku Coffeae (Panggabean 2011 dalam

Wahyuni, 2013). Sebanyak lebih dari 25 jenis kopi dengan 4 jenis kopi yang cukup terkenal yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*), kopi liberika (*Coffea liberica*), kopi robusta (*Coffea canephora*) dan kopi excelsa (*Coffea dewevrei*) yang mewakili 70% dari total produksi kopi. Berdasarkan hasil penelitian Hoffman, 2014 kopi robusta memiliki kelebihan dari segi produksi yang lebih tinggi dibandingkan jenis kopi arabika dan liberika. Kopi robusta dapat dikatakan sebagai kopi kelas dua setelah kopi arabika berdasarkan rasa dan kandungan kafein yang ada didalamnya.

Kopi robusta mengandung kafein yang tinggi diduga mempunyai efek yang kurang baik bagi Kesehatan contohnya berbahaya bagi janin dan bayi, mengurangi tingkat kesuburan wanita, gelisah, gangguan kardiovaskuler, gangguan pencernaan, dan insomnia (Dokter Sehat, 2018). Terutama bagi penikmat kopi yang rentan terhadap kafein, sehingga kopi rendah kafein saat ini sangat marak diproduksi dalam negeri yang menyebabkan nilai ekonomi kopi rendah kafein lebih baik dari pada kopi yang memiliki kandungan kafein tinggi. Kandungan kafein yang terdapat pada kopi robusta sedikit lebih tinggi dibandingkan kopi arabika, sebaliknya jenis arabika lebih banyak zat gula dan minyak atsiri (Oktadina & Bambang, 2013).

Batas aman konsumsi kafein yang masuk ke dalam tubuh perharinya adalah 100-150 mg. Dengan jumlah ini, tubuh sudah mengalami peningkatan aktivitas yang cukup untuk membuatnya tetap terjaga. Dalam secangkir kopi biasanya mengandung 50 mg kafein, sehingga dianjurkan minum kopi tidak lebih dari 3 cangkir kopi sehari (Tjay dan Rahardja, 2015).

Penurunan kadar kafein dapat dilakukan dengan proses fermentasi biji kopi (Adrianto, 2020). Fermentasi adalah salah satu cara yang dapat dilakukan untuk

menurunkan kadar kafein dan cita rasa yang tinggi. Proses fermentasi biji kopi adalah proses di mana penguraian senyawa kompleks yang ada di dalam biji kopi menjadi senyawa yang sederhana dengan menambahkan beberapa mikroorganisme untuk membantu melepaskan lapisan lendir yang masih menutupi biji kopi. Berdasarkan hasil penelitian Poerwanty dkk, 2021. Bahwa perlakuan fermentasi biji kopi mampu menurunkan kadar kafein dari 1,6% menjadi 0,047% . Pada proses fermentasi dilakukan untuk melepaskan lapisan lendir yang terdapat pada biji kopi. Disamping itu, pengolahan biji kopi melalui proses fermentasi dapat meningkatkan cita rasa. Hal ini menjadikan fermentasi sebagai tahapan yang penting pada pengolahan biji. (Towaha dan Rubiyo, 2016).

Pengolahan biji kopi robusta dilakukan dengan cara proses fermentasi. Menurut Siregar *et al.* 2020), proses fermentasi biji kopi dapat melibatkan aktivitas mikroorganisme. Penambahan mikroorganisme, salah satunya bakteri asam laktat (BAL), dapat meningkatkan mutu kopi yang dihasilkan memiliki karakteristik yang khas, yaitu berukuran sedikit lebih besar dibandingkan bakteri-bakteri lain pada umumnya dengan bentuk mikroskopis lonjong, batang, bulat maupun koma. Seluruh BAL termasuk bakteri Gram positif, artinya memiliki dinding peptidoglikan yang tersusun dari peptida (asam-asam amino) dan glikan (karbohidrat) (Zoumpopoulou *et al.*, 2018).

Karakteristik lain yang khas dari BAL adalah tidak berspora dan pada umumnya tidak ber-flagella (Cousin *et al.*, 2015). BAL pada umumnya ditemukan bergerombol dalam bentuk-bentuk tertentu (Ni *et al.*, 2015). BAL memiliki beberapa keunggulan seperti dapat menghasilkan senyawa yang memberikan rasa

dan aroma spesifik pada makanan fermentasi (Dongmo *et al.*, 2017). BAL juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti bakteri pembusuk dan bakteri patogen pada produk pangan serta produk fermentasi lainnya (Emmawati *et al.*, 2015)

Bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp*) merupakan jenis inokulan yang aman ditambahkan pada proses fermentasi karena memiliki kemampuan adaptasi pada kondisi proses pengolahan kopi, sehingga menghasilkan rasa yang khas. Menurut Usman *et al.* (2015), jumlah inokulum bakteri, waktu, substrat (medium) dan nilai pH merupakan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses fermentasi (Budiman, 2012.). Proses fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan BAL (Bakteri Asam Laktat). BAL (Bakteri Asam Laktat) merupakan bakteri yang mampu menurunkan kadar kafein di dalam kopi. Kadar kafein kopi robusta sebesar 1,11% dapat diturunkan menjadi 0,28%. Penurunan kadar kafein ini disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat. Aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi menyebabkan kadar kafein dalam biji kopi semakin menurun dengan semakin lamanya proses fermentasi (Adrianto, 2022).

Kopi bubuk robusta merupakan salah satu kopi yang banyak menjadi pilihan masyarakat, baik yang lanjut usia maupun yang berusia muda lebih memilih kopi bubuk karena rasanya yang khas. Apabila ada kopi yang mengandung kadar kafein yang tinggi perlu dilakukan dekafeinisasi untuk menekan aktivitas kafein di dalam tubuh. Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi kopi robusta hasil fermentasi dengan penambahan bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp*) (Fatoni, 2015).

Proses fermentasi yang dilakukan dalam penelitian menggunakan biji kopi robusta (*Coffea robusta*). Berdasarkan uraian diatas maka perlu diadakan penelitian mengenai proses fermentasi dengan spektrofotometri UV- VIS untuk mengetahui suhu terbaik dari fermentasi serta pengaruhnya terhadap kadar kafein kopi

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.*) terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea robusta*).?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri asam laktat

(*Lactobacillus sp.*) terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea robusta*).

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Mengidentifikasi kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang di fermentasi dengan bakteri (*lactobacillus p*) pada suhu 25°C, 37°C dan 45°C.
- 2) Menganalisa pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri (*lactobacillus plantarum*) biji kopi robusta (*coffea robusta*) dengan bakteri (*lactobacillus p*) terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Peneliti dapat mengetahui cara dan berapa suhu optimal fermentas terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea robusta*)

1.4.2 Manfaat bagi instansi

Penelitian ini bisa di jadikan referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Manfaat dari penelitian ini memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh kadar kafein terhadap kopi Robusta (*Coffea robusta*).

1.4.4 Manfaat bagi Pendidikan

Menjadikan sumber informasi dan menambah wawasan mengenai pengaruh suhu fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta(*Coffea robusta*).

1.5 Keaslian Penelitian

Peneliti	Judul	Persamaan	Perbedaan
Henny, <i>et al.</i> , 2021	Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Kopi Terhadap Kadar Kafein	1. Sampel kopi robusta 2. Meneliti pengaruh suhu fermentasi terhadap kadar kafein	1. Peneliti yang diamati adalah lama dan suhu fermentasi terhadap kadar kafein
Doni Usman, Agung Supihadi, Endang Kusdiyantini, 2015	Fermentasi Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Feces Luwak Dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi	1. Menggunakan mikroba asam laktat 2. Sampel di gunakan kopi robusta	1. pada penelitian ini yang diamati adalah lama waktu inkubasi. parameter
Citra Wahyu Maratus 2019	Analisis Kadar Kafein Pada Jenis Kopi Robusta Dengan Menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet	1. Menggunakan kopi robusta 2. menggunakan metode spektrofotometri 3. Kadar kafein	1. validasi yang digunakan yaitu presisi, linieritas, LOD LOQ, sedangkan pada penelitian meneliti konsentrasi hasil penetapan kadar

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sejarah Kopi

2.1.1 Sejarah Kopi

Kopi tersebut berasal dari Ayssinia, sebuah wilayah di Afrika yang mencangkup wilayah di Ethiopoa dan Eritrea. Pada abad ke-17, kopi mulai dibudidayakan di negara-negara Eropa dan menyebar di seluruh dunia. Salah satunya terdapat di Indonesia yaitu di Pulau Jawayang dikembangkan oleh Belanda. Pada tahun 1706, sampel kopi yang di tanam di Pulau Jawa di kirim ke Belanda untuk diteliti di kebun Raya Amsterdam. Berdasarkan hasil yang diperoleh kopi yang di tanam di Pulau Jawa mempunyai kualitas yang baik. Sehingga memiliki julukan populer yaitu “*Cup of java*”. Pada saat itu tanaman kopi yang di tanam di Pulau Jawa dijadikan bibit untuk disebar luas keseluruhan Indonesia (Afriliana, 2018).

Indonesia merupakan penghasil kopi terbesar nomer empat di dunia setelah Brazil, Vietnam dan Kolombia. Kopi mudah ditemukan di Indonesia karena produksi kopi yang sangat melimpah. Mulai dari kualitas kopi yang biasa hingga dengan kualitas yang terbaik. Indonesia mampu memproduksi kopi luwak yang harga jualnya sangat mahal di dunia (Sunarharum., 2019).

Kopi adalah salah satu biji-bijian dari jenis coffea. Satu pohon kopi bisa memproduksi satu kilogram kopi di setiap tahunnya. Kopi memiliki lebih dari 25 jenis, 3 jenis diantaranya yang lebih terkenal adalah Robusta, Liberia, dan Arabika, yang mewakili 70 persen total produksi. Kopi menjadi minuman yang

terkenal dan disukai di dunia. Kopi biasanya dihidangkan dengan keadaan panas. Kopi sebagai salah satu komoditas nomor dua yang diperjual belikan setelah minyak bumi (Fenni, 2012).

2.2 Klasifikasi Kopi Robusta



Gambar 2.1 Tanaman Kopi Sumber (Uniska, 2018)

Klasifikasi tanaman kopi (*Coffea robusta L.*) menurut Rahardjo (2012) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan pembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua)

Sub Kelas : Asteridae

Ordo : Rubiales

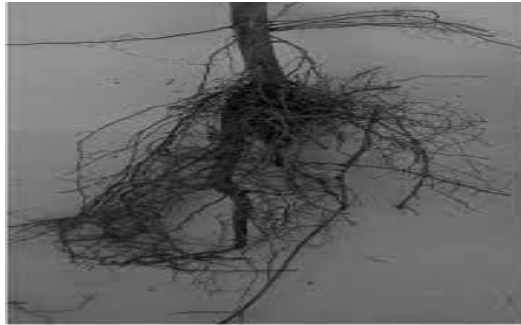
Famili : Rubiaceae

Genus : Coffea

Spesies : *Coffea sp.* (*Coffea arabica L.*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, *Coffea excels*).

2.3 Morfologi tanaman

2.3.1 Akar



Gambar 2.1 Akar Pohon Kopi (Wijaya, 2014)

Tanaman kopi merupakan jenis tanaman berkeping dua (dikotil) dan memiliki akar tunggang. Akar kopi memiliki akar tunggal yang tumbuh tegak lurus bawahb kedalam 45 cm. Menurut Subandi (2011) akar kopi di katakan tidak dalam karena lebih dari 90% dari berat akar tersebut ada pada lapisan tanah 0-30 cm. Pada akar tunggang, ada beberapa akar kecil yang tumbuh ke samping (melebar) yang sering disebut akar lebar. Pada akar lebar ini tumbuh akar rambut, bulu-bulu akar, dan tudung akar. Tudung akar berfungsi untuk melindungi akar ketika mengisap unsur hara dari tanah (Panggabean, 2011).

2.3.2 Batang dan cabang



Gambar 2.2 Batang Pohon Kopi (Wijaya, 2014)

Batang yang tumbuh dari biji disebut batang pokok. Batang pokok memiliki ruas-ruas yang tampak jelas pada saat tanaman itu masih muda. Pada tiap ruas tumbuh sepasang daun yang berhadapan, selanjutnya tumbuh dua macam cabang, yakni cabang orthotrop (cabang yang tumbuh tegak lurus atau vertikal dan dapat menggantikan kedudukan batang bila batang dalam keadaan patah atau dipotong) dan cabang plagiotrop (cabang atau ranting yang tumbuh ke samping atau horizontal) (PTPN XII, 2013).

2.3.3 Daun



Gambar 2.3 Bentuk daun Kopi (Windiawan, 2021)

Bentuk daun kopi lonjong, ujungnya agak meruncing. Daun tersebut tumbuh pada batang, cabang, dan ranting yang tersusun berdampingan. Susunan daun berselang – berseling dan tumbuh pada ranting maupun cabang yang mendatar. Daun dewasa berwarna hijau tua, sedangkan daun yang masih muda berwarna perunggu (Rahardjo, 2012). Subandi, 2011 menyatakan daun kopi akan menjadi lebar, tipis dan lembek apabila intensitas cahaya terlalu sedikit. Dengan demikian daun bisa dipakai untuk mengontrol pengaturan naungan.

2.3.4 Buah dan Biji kopi



Gambar 2.4 Buah kopi (Hafidz, 2021)



Gambar 2.5 Biji kopi (Hafidz, 2021)

Buah tanaman kopi terdiri atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas tiga lapisan, yaitu kulit luar (eksokarp) merupakan lapisan terluar dari buah kopi. Daging buah ketika matang mengandung lender dan senyawa gula yang rasanya manis (Panggabea 2011). Lapisan daging (mesokarp) pada saat pematangan enzim pektolitik memecah rantai pektik, menghasilkan hidrogel yang tidak larut dan kaya akan gula dan pektin. Lapisan perikarp (endokarp) adalah lapisan yang terbentuk dari tiga hingga tujuh lapisan sel sclerenchyma. Biji kopi terdiri atas kulit perak (silver skin), endosperm, dan embrio. Ukuran biji kopi bervariasi dengan rata-rata panjang 10 mm dan lebar 6 mm. Kulit

perak (silver skin) disebut perisperm atau spermoderm, merupakan lapisan terluar yang membungkus biji (Panggabean 2011).

2.4 Kandungan Kopi

Senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil 10 yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, chlorogenic acid dan senyawa-senyawa nutrisi. Senyawa nutrisi pada biji kopi terdiri dari karbohidrat, protein, lemak, tanin, dan mineral (Afriliana A. 2018). kandungan senyawa kimia yang lebih terkenal pada kopi ialah kafein, selain itu kopi juga memiliki zat – zat lain yang terkandung didalam kopi (Anonim, 2019).

1) DicaFFEoylquinic Acid

Zat ini adalah suatu zat antioksidan yang mempunyai kelebihan untuk menangkal radikal bebas. Perlu diketahui bahwa kopi merupakan suatu penyuplai antioksidan di dunia bahkan kandungannya lebih tinggi dari semua jenis buah dan sayuran.

2) Ethyphenol

Kandung thypenol ada di dalam kopi, dimana ethypenol adalah zat yang menghasilkan kopi berbau khas dan kuat. Zat ini juga yang menjadikan daya tarik pada kopi dan kopi menjadi minuman yang dicintai para penikmatnya.

Tidak hanya dalam kopi zat ethyphenol juga ditemukan dalam tar. Zat

ethyphenol memiliki bau yang seperti aspal dan inilah yang menjadikan kopi memiliki bau yang khas.

3) Quinic Acid

Kandungan *quanic acid* di dalam kopi adalah kandungan zat yang dapat membuat kopi memiliki rasa asam, banyak sedikitnya kandungan quanic acid dalam kopi dapat mempengaruhi keasaman dalam kopi. Kopi yang memiliki kandungan zat *quanic acid* yang tinggi tidak disarankan untuk orang yang memiliki penyakit mag dikarenakan dapat mengganggu kesehatan lambungnya.

4) Niacin

Senyawa ini adalah senyawa yang kurang baik bagi tubuh karena senyawa ini dapat menyerap vitamin-vitamin dari dalam tubuh. Kandungan niacin bila dikonsumsi terlalu banyak dapat merusak hati, maka dari itu kita dianjurkan untuk mengonsumsi kopi dalam jumlah yang tidak berlebihan. Walaupun begitu niacin mempunyai dampak positif seperti meningkatkan dan menurunkan HDL serta Trigliserida.

5) .Dimethyl Disulfide

Zat ini dijumpai saat kopi belum melakukan proses dikeringkan dan di sangrai. Zat ini juga dapat menjadikan kotoran manusia menjadi lebih bau, menyerupai bau sulfur.

6) Acetylmethylcarbinol

Kandungan zat berada di dalam kopi yang memberikan rasa gurih pada lidah saat sedang mengonsumsi kopi. Acetylmethylcarbino juga dapat digunakan

dalam pembuatan pocorn, dimana zat ini mempunyai rasa yang seperti mentega dan pastinya kandungan zat ini terdapat di dalam mentega.

7) Trigonelline

Zat ini berfungsi untuk melindungi gigi. Meskipun banyak orang yang meminum kopi giginya berwarna hitam, namun zat inilah yang mampu melindungi gigi agar tidak mudah berlubang. Walaupun begitu kandungan Trigonelline dapat juga memberika rasa manis pada kopi. Zat ini juga dapat melawan zat streptococcus dimana zat ini yang dapat menimbulkan plak pada gigi.

Tabel 1. Kandungan Kimia yang Terdapat pada Biji Kopi Robusta

Komponen	Konsentrasi	
	Green Coffea Canephora	Roaster Coffea Canephora
Sukrosa (g)	0.9 – 4.0	1.6 – tr
Gula pereduksi (g)	0.4	0.3
Polisakarida (g)	48 – 55	37
Lignin (g)	3.0	3.0
Pektin (g)	2.0	2.0
Protein (g)	10.0 – 11.0	7.5 – 1.0
Asam Amino Bebas (g)	0.8 -	1.0 -
Kafein (% b/b)	1.5 – 2.5	2.4 – 2.5
Tringonelline (g)	0.6 – 0.7	0.7 – 0.3
Asam Nikotinic (g)	-	0.014 – 0.025
Minyak Kopi (Trigliserida, Sterol/tocopherol) (g)	7.0 – 10.0	11.0
Diterpene (g)	0.2 – 0.8	0.2
Mineral (g)	4.4 – 4.5	47
Asam Klorogenat (g)	6.1 – 11.3	3.3 – 3.8
Asam alifatik (g)	1.0	1.6
Asam Quinic (g)	0.4	1.0
Melanoidins (g)	-	25

2.5 Manfaat kopi

Kopi merupakan tanaman perkebunan yang dibudidayakan untuk

dimanfaatkan bijinya. Namun demikian, bagian tanaman lain juga dapat bermanfaat bagi manusia seperti batang yang banyak dimanfaatkan untuk kayu bakar maupun arang.

Daun dapat dimanfaatkan untuk minuman seduh (Siringoringo, 2012), maupun kulit buah kopi yang dapat dimanfaatkan pakan ternak serta kompos organik (wqidyotomo, 2012)

Biji kopi merupakan bagian tanaman kopi yang memiliki manfaat paling tinggi dibandingkan dengan bagian tanaman yang lain. Biji kopi yang telah dikeringkan dapat dibuat bubuk dan digunakan sebagai bahan dasar pembuatan berbagai olahan makanan seperti dalam industri makanan ringan dan permen serta berbagai olahan minuman (Murtafiah, 2012). Bubuk kopi juga dapat digunakan untuk menghaluskan dan melembabkan kulit (Herlina & Dwiyantri, 2013)

Dalam bidang farmasi, biji kopi dapat digunakan untuk menurunkan resiko diabetes mellitus serta menurunkan resiko kanker. Kemampuan biji kopi mengandung senyawa kafein dan asam klorogenat. senyawa – senyawa tersebut dikenal sebagai anti oksidan yang dapat melawan molekul- molekul radikal bebas penyebab berbagai penyakit (Herlina & Dwiyantri, 2013).

2.6 Efek Farmakologi kopi

Kopi mengandung sebuah unsur yang disebut terpenoid, yang diketahui dapat meningkatkan kadar kolesterol darah (Hanstuti DS.2018). Selain itu kandungan kafein pada kopi memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung. Asam klorogenat sebagai antivirus hepatitis B,

antioksidan, antihipertensi, antidiabetes, dan hepatoprotektor (Farhaty, Muchtaridi.2016).

2.7 Kafein

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat (Maramis RK. 2013). Kafein merupakan alkaloid putih dengan rumus senyawa kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, dan rumus bangun 1,3,7-trimetilxantin. Gugus metilnya berikatan dengan ketiga hidrogen dan nitrogen pada cincin xanthin. Kafein mempunyai kemiripan struktur kimia dengan 3 senyawa alkaloid yaitu xantin, teofillin, dan teobromin (Charlinia , 2012). Kafein dalam keadaan murni berbentuk kristal prisma hexagonal yang berupa serbuk berwarna putih, tidak berbau dan memiliki rasa sedikit pahit. Kafein mencair pada suhu 235-237°C (Farmakope Indonesia Edisi III & Farmakope Indonesia IV).

2.7.1 Senyawa Kafein

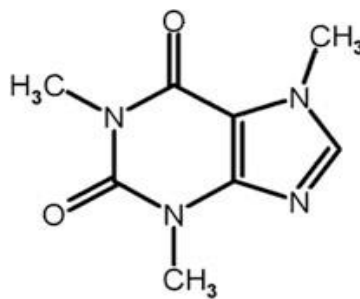
kafein merupakan senyawa alkaloid xantin yang mempunyai bentuk kristal dan memiliki rasa pahit yang bekerja untuk obat diuretik ringan dan perangsang psikoaktif (Meramis, 2013). Kafein juga sebagai stimulasi sistem saraf pusat metabolik. Kafein dapat menghambat fosfodiesterase dan mempunyai efek anatagonis pada reseptor adenosine sentral. Berpengaruh pada sistem saraf pusat terutama di pusat-pusat yang tinggi, yang mampu menghasilkan peningkatan aktivitas mental dan tetap terjaga (Novita dan Aritoring, 2017). Senyawa kafein adalah sejenis alkaloid heterosiklik termasuk golongan methylxantin, merupakan definisi senyawa organik mengandung

nitrogen dengan memiliki struktur dua cincin atau dua siklik. Molekul ini secara alamiah berakibat pada tanaman sebagai metabolit sekunder. Fungsinya didalam tumbuhan sebagai pestisida alami yang mampu melumpuhkan dan membunuh hewan-hewan kecil atau serangga yang memakan tumbuhan itu. Zat ini dihasilkan pada daun, kacang-kacangan, dan buah-buahan lebih dari 60 tanaman, termasuk daun teh biasa (*Camelia sinesis*), kacang coklat (*Cola acuminata*), kopi (*Coffea arabika*), kacang koko. Kafein mempunyai efek farmakologis bermanfaat secara klinis, menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot terutama pada otot polos bronkus dan stimulan otot jantung (Miramis, 2013).

Kandungan kafein dalam secangkir kopi mengandung 1-2% kafein, pada daun teh mengandung kafein lebih kurang dari 2% dan pada biji kakao mengandung kafein sekitar 0,7-2%. Kadar kafein tinggi dapat menyebabkan takikardia pada setiap orang yang sensitif dapat menyebabkan aritmia, misalnya kontraksi ventrikel pada bayi yang terlahir prematur, aritmia ini dapat dialami orang yang mengkonsumsi kafein secara berlebih. Kafein yang dikonsumsi sebagai zat penyegar memiliki kinerja sebagai adiktif jika terlalu berlebih atau lebih dari 20 cangkir dalam sehari (Gunawan dan wilmana, 2007). Kafein juga memiliki efek farmakologi yaitu sebagai antagonis reseptor adenosin yang bisa mempengaruhi fungsi dari sistem saraf pusat serta dapat menyebabkan gangguan kualitas tidur (Daswin, 2013).

2.7.2 Struktur kafein

Produk kopi menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 2983:2014 yaitu berbentuk serbuk atau granula atau flake yang diperoleh dari proses pemisahan biji kopi tanpa dicampur dengan bahan lain, disangrai, digiling, diekstrak dengan air, dikeringkan dengan proses *spray drying* (dengan atau tanpa aglomerasi) atau *freeze drying* atau *fluidized bed drying* menjadi produk yang mudah larut dalam air. Kafein atau kimianya 1,3,7-trimetil xantin memiliki rumus molekul $C_8H_{10}N_4O_2$ memiliki massa molar 194,19 garm/mol, mudah larut dalam air, banyak pelarut organik dan meleleh pada suhu $234^{\circ}C$ - $239^{\circ}C$ (Muhammad, 2017).



Gambar 2.6: Srtuktur kimia kafein (Muhammad, 2017)

2.7.3 Sifat Fisik Kimia Kafein

Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) adalah golongan methyxanthine, yang memiliki wujud bubuk putih tidak berbau dengan berat molekul 194,19g/mol, densitas 1,23 g/cm, solid, titik leleh 227 - $228^{\circ}C$ (anhydrous) 234 - $235^{\circ}C$ (monohydrate), titik didih $178^{\circ}C$, kelarutan dalam air 2,17 g/100 ml ($25^{\circ}C$) 18,0 g/100 ml ($80^{\circ}C$) 67,0 g/100 ml ($100^{\circ}C$), rumus molekul $C_8H_{10}N_4O_2$.

kafein memiliki sifat agak sukar larut dalam air, etanol dan eter tetapi juga mempunyai sifat yang mudah larut dalam kloroform (Muhammad, 2017)

2.8 Fermentasi

Manfaat fermentasi adalah dapat mengubah bahan organik kompleks seperti protein, karbohidrat, dan lemak agar menjadi molekul-molekul agar lebih sederhana agar mudah untuk dicerna, dan juga dapat mengubah rasa dan aroma yang tidak disukai menjadi disukai dan mensintesis protein. Tidak hanya itu manfaat lain fermentasi dapat mengubah bahan makanan lebih tahan disimpan dan dapat mengurangi senyawa racun di dalamnya (Oktadina *et al.*, 2013).

Pada proses fermentasi dengan campuran mikroba dapat berpengaruh untuk perubahan biokimia yang terpenting dalam biosintesis senyawa-senyawa kimia sebagai prekursor citarasa kopi (Lee *et al.*, 2015). Proses fermentasi kopi yang berlebih dapat menghasilkan biji kopi hitam atau stinker bermutu rendah yang memiliki karakteristik yang cenderung asam dan memiliki aroma alkohol akibat dari metabolisme mikroba. Enzim ekstraseluler dan asam-asam organik yang diperoleh dari jamur bakteri asam laktat dapat memecah karbohidrat, protein dan polifenol.

Proses tersebut dapat membentuk sebagai prekursor aroma kopi, diantaranya gula-gula reduksi asam amino dan asam klorogenat tidak hanya itu metabolit sekunder lainnya diproduksi selama fermentasi berkontribusi secara tidak langsung terhadap aroma kopi (Yeretzian *et al.* 2022; Lee *et al.* 2015). Proses fermentasi dengan menggunakan bahan tambahan enzim bromelin juga mampu mempercepat proses pelepasan lendir dan memecahkan senyawa protein gel serta mampu menurunkan kadar kafein kopi menjadi lebih rendah (Oktadina *et al.*, 2013).

2.8.1 Jenis Fermentasi

Berdasarkan sumber mikroorganisme proses fermentasi dibagi menjadi 2 yaitu :

- 1) Fermentasi tidak spontan, yaitu fermentasi bahan pangan yang proses pembuatannya ditambahkan suatu mikroorganisme seperti ragi atau starter yang akan tumbuh dan berkembang biak aktif merubah suatu produk pangan yang diinginkan contohnya tempe.
- 2) Fermentasi spontan, yaitu fermentasi bahan pangan yang proses pembuatannya tidak ada penambahan mikroorganisme apapun dalam bentuk starter atau ragi tetapi mikroorganismenya dapat berkembang biak dan aktif karena lingkungannya sesuai untuk proses pertumbuhan dapat berperan (Suprihatin, 2010)

2.8.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi

Factor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu :

- 1) Derajat Keasaman (pH)
pH optimum untuk proses fermentasi antara 4,5-5, pada pH 3 proses fermentasi akan berkurang kecepatannya. Hal tersebut dikarenakan pH mempengaruhi efektivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme dalam membentuk kompleks enzim substrat. Selain itu, perubahan pH dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi sehingga menurunkan aktivitas enzim (Poedjiadi dan Titin, 2006).
- 2) Mikroorganisme

Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium. Sebagai contoh untuk memproduksi alkohol dari pati dan gula digunakan *S.cerevisiae* dan kadang juga digunakan *S.elliopsoides*, untuk bahan – bahan yang mengandung laktosa menggunakan *Candida pseudotropicalis* sedangkan untuk bahan-bahan yang mengandung selulosa dengan menggunakan *Candida shehatei*, *Clostridium thermocellum*, *Aspergillus* sp, dan lain sebagainya. Seleksi tersebut bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi terhadap konsentrasi yang tinggi serta menghasilkan alkohol dalam jumlah yang banyak dan tahan terhadap alkohol (Budiyanto).

3) Suhu

Suhu fermentasi akan mempengaruhi aktivitas mikroorganisme. Sampai pada suatu titik, kecepatan suatu reaksi enzimatik mikroba meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu. Hal ini dikarenakan substrat akan bertumbukan dengan tempat aktif lebih sering ketika molekul itu bergerak lebih cepat (Campbell dkk, 2002).

4) Waktu

Waktu yang digunakan untuk fermentasi tergantung pada jenis substrat, suhu, pH fermentasi dan mikroorganisme yang digunakan. Penelitian yang dilakukan oleh Reddy dkk (2010) tentang pembuatan bioethanol dari daun pisang menggunakan bakteri *C. thermocellum*

menunjukkan bahwa kadar bioethanol tertinggi yaitu 22% dicapai pada lama fermentasi 5 hari

2.9 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat memiliki beberapa sifat khusus, antara lain; mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Nasution, 2012).

BAL berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, beberapa di antaranya adalah meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada usus, meningkatkan digesti (pencernaan) laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker, dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Sebagian keuntungan tersebut merupakan hasil dari pertumbuhan dan aksi bakteri selama pengolahan makanan, sedangkan sebagian lainnya hasil dari pertumbuhan beberapa BAL di dalam saluran usus saat mencerna makanan yang mengandung BAL sendiri. Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan memproduksi protein yang disebut bakteriosin (Rustan, 2013).

BAL dibagi menjadi dua berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi glukosa dalam kondisi standar, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. BAL homofermentatif akan mengubah gula menjadi asam laktat, sedangkan BAL heterofermentatif akan memproduksi tidak hanya asam laktat, namun juga asam

asetil, etanol, dan karbondioksida (Halasz, 2014). Kedua jenis bakteri tersebut dibedakan melalui uji fermentasi. Apabila bakteri asam laktat yang diuji menghasilkan gas yang tertampung dalam tabung durham, bakteri tersebut dinyatakan sebagai heterofermentatif sedangkan isolat yang tidak menghasilkan atau memproduksi gas disebut homofermentatif (Nasution, 2012).

Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan pengamatan morfologi, fisiologi dan uji biokimia. Pengamatan morfologi dilakukan dengan uji pewarnaan gram dan pengamatan dengan mikroskop. Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif yang menghasilkan warna ungu ketika dilakukan uji pewarnaan gram. Menurut Irianto, (2013), warna ungu tersebut terjadi karena dinding sel bakteri mengikat cat kristal violet (Gram A) yang diperkuat oleh iodine (Gram B), dan kristal violet tidak akan hilang pada waktu diberi cat peluntur (Gram C) sehingga tidak terpengaruh pada saat diberi cat penutup (Gram D) yang berwarna cerah. Hasil pewarnaan ini dapat digunakan untuk mengamati bentuk bakteri dengan mikroskop. Menurut Hestiningtyas (2008), bentuk morfologi sel BAL diteliti dengan mikroskop dan terdapat dalam bentuk batang ataupun bulat.

Uji fisiologi mencakup kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat, kemampuan untuk tumbuh dalam medium tertentu, reduksi unsur tertentu dan pembentukan pigmen. Uji biokimia dilakukan untuk menentukan aktivitas kimia bakteri dan identitas bakteri (Nasution, 2012). Uji yang disebutkan diatas merupakan identifikasi konvensional yang dilakukan sebagai pendahuluan sebelum identifikasi molekuler. Identifikasi molekuler digunakan untuk mengetahui

kesamaan DNA antar 8 organisme. Berbagai uji yang dilakukan merupakan faktor penentu dalam identifikasi suatu bakteri (Nasution, 2012).

BAL merupakan bakteri yang mampu memberikan efek menguntungkan bagi manusia, sehingga bisa diaplikasikan sebagai probiotik. *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, dan *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri utama yang terdapat diusus manusia (Sundari, 2014). BAL dari kelompok *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* telah digunakan sebagai probiotik dalam produk pangan. Beberapa BAL yang digunakan sebagai probiotik antara lain *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. Johnsonii*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, dan *L. rhamnosus* (Sundari, 2014).

2.9.1 Manfaat Bakteri Asam Laktat

Fermentasi anaerobik adalah fermentasi yang dapat menghasilkan asam laktat. Dalam fermentasi asam laktat memiliki keuntungan yaitu menyebabkan bahan pangan menjadi kuat terhadap pembusukan mikrobiologi dan pembentukan racun-racun pada makanan, membuat kurang idealnya sebagai media perpindahan patogen, dan dapat memodifikasi cita rasa selera makan serta memperbaiki nilai gizi. Pertumbuhan bakteri asam laktat dapat mengalami peningkatan jika dipengaruhi oleh waktu inkubasi (Aliya dkk, 2016).

2.9.2 Peran Bakteri Asam Laktat Pada Produk Fermentasi

Bakteri Asam Laktat salah satu bakteri yang tidak berspora, bakteri ini menghasilkan produk utama asam laktat pada fermentasi karbohidrat. Bakteri Asam Laktat banyak di manfaatkan pada produk fermentasi sebagai penghasil pertumbuhan mikroorganisme dan sering digunakan karena Bakteri Asam Laktat karena perannya dapat menurunkan pH sehingga dapat mencegah tumbuhnya mikroorganisme lain (Ningrumsari, 2019). Bakteri Asam Laktat berperan sebagai olahan akhir dari fermentasi, pemanfaatan Bakteri Asam Laktat sebagai starter banyak di gunakan diberbagai fermentasi produk seperti keju, susu, daging, dan tepung-tepungan. BAL digunakan sebagai starter sebagai ke efektifan dalam proses fermentasi berlangsung (Erdiandini dkk, 2015). Bakteri Asam Laktat pada proses fermentasi sering di gunakan dalam produk makanan dan minuman, karena bakteri ini mudah dicerna oleh tubuh, dan kemampuannya yang dapat beratahan hidup didalam saluran cerna serta mencegah pertumbuhan bakteri perusak dan patogen, peran utama bakteri ini yaitu sebagai pengawet makanan sehingga menghasilkan asam laktat. Sebagai sumber probiotik. Bakteri asam laktat mengandung asam amino yang berfungsi menurunkan tekanan darah, meningkatkan kekebalan tubuh serta menghambat kerja enzim sehingga menurunkan kadar kolesterol, selain dapat mencegah kolesterol BAL juga bermanfaat mencegah kanker. Dengan banyak mengkonsumsi makanan probiotik mampu meningkatkan imunitas tubuh. Pertumbuhan dan produksi asam laktat di pengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya pH, Suhu, dan garam empedu (Okfrianti dkk, 2018). Bakteri Asam

Laktat beraktivitas secara berlawanan dengan beberapa organisme, karena dapat menurunkan pH lingkungannya menjadi 3-4,5 sehingga BAL dapat membunuh bakteri lain yang hidup pada pH 6 sampai dengan 8. Sehingga bakteri ini mudah diterima sebagai bahan tambahan dalam makanan yang baik pada proses fermentasi makanan (Sumaryati, 2016). Suatu cara untuk membaca atau menganalisis jumlah mikroba yang ada pada makanan adalah dengan pengujian (TPC) selain uji TPC ada berbagai cara yang dapat digunakan dalam menghitung atau mengukur koloni salah satunya yaitu perhitungan jumlah sel dengan metode hitung cawan, dalam perhitungan cawan yaitu metode tuang (Pour Plate) (Yunita dkk, 2015)

2.10 Spektrofotometri UV – Vis

2.10.1 Prinsip spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Keuntungan pemilihan metode ini karena memberikan metode sangat sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Yunlinatuti dan Fatimah, 2016).

Pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Dalam analisis secara Spektrofotometer terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200–380 nm, sinar tampak berada pada panjang gelombang 380–700 nm dan infrared/inframerah pada panjang gelombang 700–3000nm (Yunlinatuti, Fatimah S, 2016). Panjang gelombang (λ) adalah jarak antara satu lembah dan satu puncak, sedangkan frekuensi adalah kecepatan cahaya dibagi dengan panjang gelombang (λ). Bilangan gelombang adalah (ν) merupakan satuan per panjang gelombang (Yunlinatuti, 2016 dan Rahman, 2014).

Spektrofotometri Uv-Vis menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, yaitu sumber cahaya UV dan sumber cahaya visibel. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sampel berwarna juga untuk sampel tak berwarna. Alat yang digunakan dalam Spektrofotometri disebut Spektrofotometer. Alat ini termasuk ke dalam jenis fotometer, yaitu suatu alat untuk mengukur intensitas cahaya (Danasrayaningsih, 2015).

Ada beberapa tahapan yang harus dilakukan dalam analisis dengan Spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak yaitu :

- 1) Penentuan panjang gelombang serapan maksimum. Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memilih panjang gelombang

maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

- 2) Pembuatan kurva kalibrasi. Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus.
- 3) Pembacaan absorbansi sampel. Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya terletak antara 0,2-0,6 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.
- 4) Perhitungan kadar. Perhitungan Kadar dapat dilakukan dengan metode regresi yaitu dengan menggunakan persamaan garis regresi yang didasarkan pada harga serapan dan larutan standar yang dibuat dalam beberapa konsentrasi, paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi yang meningkat yang dapat memberikan serapan linier, kemudian diplot menghasilkan suatu kurva kalibrasi, konsentrasi suatu sampel dapat dihitung berdasarkan kurva tersebut (Sastrohamidjojo, 2013).

2.10.2 Syarat pengukuran

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- 4) Kemurniannya harus tinggi.

Tabel 1. Absorpsi sinar UV pada $\lambda_{maks.}$ dari beberapa pelarut

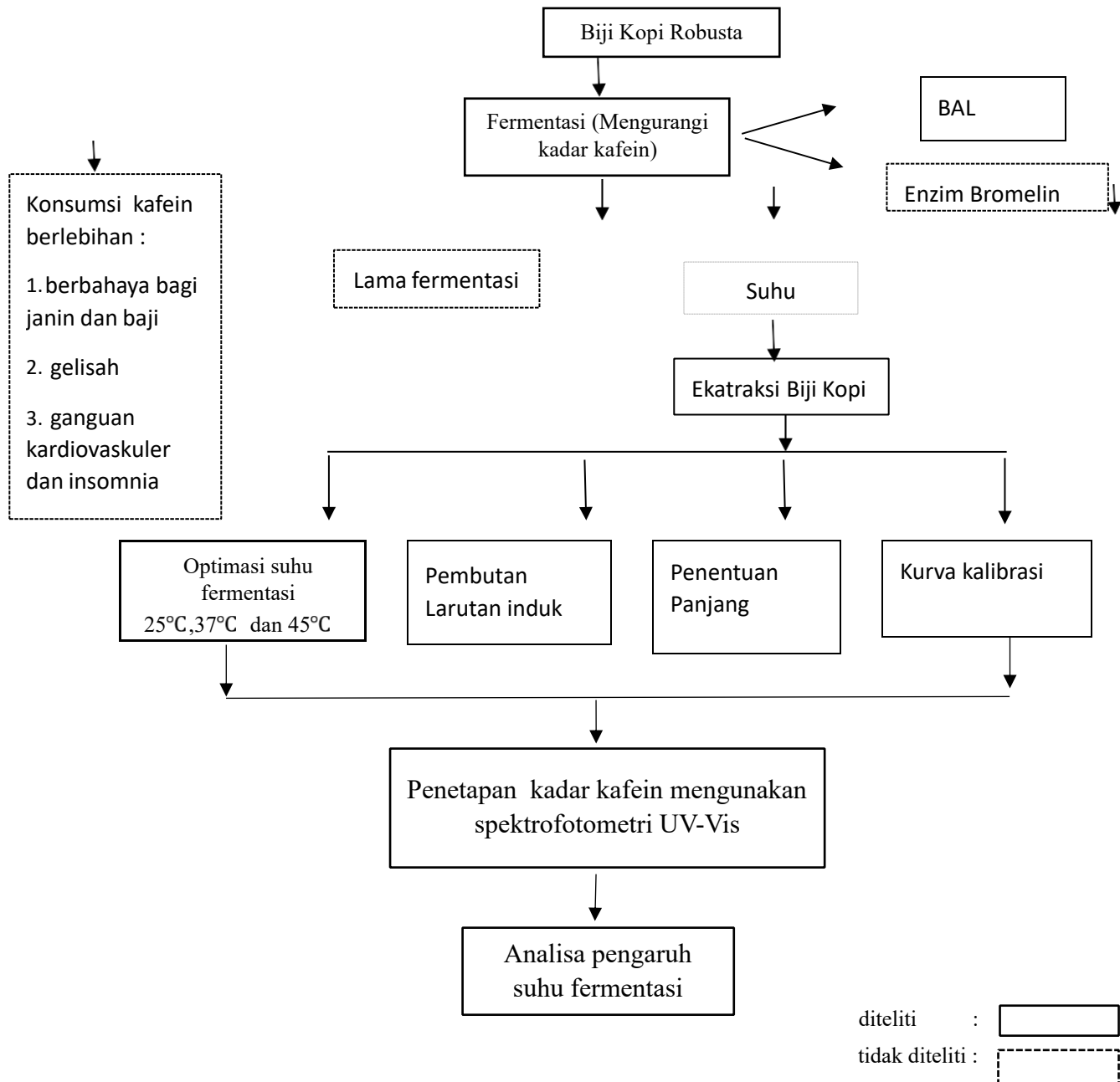
Pelarut	$\lambda_{maks.,nm}$	Pelarut	$\lambda_{maks.,nm}$
Asetronitril	190	n- heksana	201
kloroform	140	Metatol	205
Sikloheksana	195	esooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzene	285	Piridina	305

Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol dan nheksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A \approx C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A < 0,8$) atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum Lambert-Beer dengan lebar sel 1 cm, dan besarnya absorbansi ini untuk senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang mengalami eksitasi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$, dengan ϵ 8.000 – 20.000; konsentrasi larutan sekitar 4×10^{-5} mol/L; sedangkan untuk senyawa yang hanya memiliki eksitasi elektron $n \rightarrow \pi^*$, ϵ 10 – 100, maka konsentrasinya sekitar 10^{-2} mol/L .

Bila senyawa yang akan diukur tidak diketahui Mr-nya, konsentrasi larutan dengan absorbansi tersebut biasanya digunakan 10 ppm, bila absorbansi yang diperoleh masih terlalu tinggi, larutan sampel tersebut harus diencerkan; sebaliknya bila terlalu rendah, maka jumlah sampel harus ditambah.

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 kerangka konsep

3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu pengaruh suhu fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang dapat memenuhi parameter konsentrasi kadar kafein.

1. Hipotesis Nol (H_0): Tidak ada pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum*.) terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea robusta*).
2. Hipotesis kerja (H_1): Ada pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum*.) terhadap kadar kafein pada biji kopi Robusta (*Coffea robusta*).

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah cara ilmiah untuk mengukur suhu fermentasi dengan bakteri asam laktat untuk menurunkan kadar kafein. (Sari, 2016). Metode yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental dalam menganalisis pengaruh suhu fermentasi dengan bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus p.*) terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah terdiri dari obyek atau subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan pada peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2016). Populasi pada penelitian ini adalah Tanaman biji kopi Robusta (*Coffea robusta*).

4.2.2 Sampel

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Sampel yang diteliti adalah biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) yang diperoleh dari pusat penelitian yang berada di kabupaten Jember.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel independent (bebas)

Variabel independent adalah merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependent terikat (Sugiyono, 2016). Variabel independent pada penelitian ini adalah suhu fermentasi.

4.3.2 Variabel dependent (terikat)

Variabel dependent adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2016). Variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar kafein.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember untuk melakukan proses Fermentasi biji kopi Robusta (*Coffea robusta*). Kemudian dilanjutkan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember untuk melakukan penetapan kadar kafein pada biji kopi robusta(*Coffea robusta*).

4.5 Waktu

Penelitian ini dilakukan bulan 2023 Juni – selessai.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional adalah definisi yang diberikan kepada variabel dengan menentukan artinya, menentukan aktivitasnya atau menentukan operasinya. Definisi operasional digunakan untuk memberikan batasan yang jelas dan pemahaman tentang variabel untuk menghindari kesalah pahaman

tentang data yang dikumpulkan (Nazir, 1999). Adapun definisi operasional dari penelitian ini sebagai berikut :

Tabel 4.1 Devinisi Oprasional

Variabel penelitian oprasional	Devinisi	Indikator	Alat ukur	Cara ukur	Hasil ukur	Skala
Suhu fermentasi pada biji kopi robusta (<i>Coffea robusta</i>)	Suhu yang di butuhkan untuk melakukan fermentasi 25°C, 37°C dan 45°C	Suhu yang di gunkan yaitu 25°C, 37°C dan 45°C	oven	Dengan cara mengatur suhu yang terdapat pada oven sesuai yang di inginkan pada oven	Suhu 25°C, 37°C dan 45°C	Rasio
Kadar kafein pada biji kopi robusta (<i>Coffea robusta</i>)	Merupakan suatu tindakan penetapan kadar kafein menggunakan alat spektrofotomeeri UV-Vis	Hasil penetapan kadar kafein yang di tanya dalam satuan $\mu\text{m/ml}$	Spektro	Dengan menggunakan persamaan regresi linier dan di masukan kedalam rumus.	Hasil ukurnya dinyatakan $\mu\text{m/l}$	rasio

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi

Determinasi Tanaman biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) akan dilakukan di Politeknik Negeri Jember. Determinasi atau penentuan tersebut bertujuan untuk memperoleh kebenaran yang jelas mengenai identitas tanaman kopi yang akan diuji dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian utama (Dianitik, 2015).

4.7.2 Pengambilan Sampel

Sampel kopi Robusta (*Coffea robusta*) diperoleh dari pusat penelitian yang berada di daerah kabupaten Jember. Sampel yang digunakan yaitu bagian biji / kopi Robusta.

4.7.3 Fermentasi sampel

Biji kopi Robusta yang sudah tidak ada kulitnya ditimbang 1kg, di pisahkan 200 gram tidak difermentasi dan 600 gram untuk di fermentasi, Bakteri (BAL) dimasukan ke dalam toples fermentasi yang berisi biji kopi. Kemudian di masing masing toples di masukan aquades yang telah mendidih sebanyak 400ml. lalu masukkan bakteri lactobacillus sebanyak 25ml. Proses fermentasi disesuaikan dengan perlakuan suhu 25°C, 37°C dan 45°C, dengan waktu fermentasi 8 jam disetiap perlakuan. Setelah proses fermentasi selesai (Adrianto, 2020).

4.7.4 Proses Pembuatan Ekstraksi

Biji yang sudah menjadi serbuk kemudian diekstraksi, 2 gram serbuk biji kopi dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan aquades mendidih sebanyak 100 ml, kemudian disaring lalu filtrat yang diperoleh ditambahkan 2 gram Na_2CO_3 , lalu dimasukkan ke dalam corong pisah, dan diekstraksi dengan kloroform berturut-turut 25 ml sebanyak tiga kali, filtrat ditampung kedalam erlenmeyer. Fase kloroform diuapkan dengan penangas air atau *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kafein.

4.7.5 Optimasi Spektrofotometri UV-Vis

1) Pembuatan Larutan Induk Baku Kafein

Ditimbang sebanyak 250 mg kafein, dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL. dilarutkan dengan aquadest panas secukupnya. Kemudian tambahkan dengan akuades hingga garis tanda dan dihomogenkan (larutan 1000 ppm) (Fatoni, 2015).

1) Optimasi Panjang Gelombang

Dipipet larutan baku kafein 1000 ppm tadi sebanyak 2,5 mL, dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL (konsentrasi 100 ppm). Lalu tambahkan aquadest sampai garis tanda batas dan homogenkan. Diukur serapan maksimum pada rentang panjang gelombang 250-300 nm dengan menggunakan blanko aquadest (Fatoni, 2015).

2) Pembuatan Kurva Baku Kafein

Dipipet terlebih dahulu larutan baku standar kafein 200 ppm kedalam labu ukur 50 ml masing – masing sebesar 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml sehingga memperoleh konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm setelah itu ditambahkan aquades hingga tanda batas dihomogenkan, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan dihitung persamaan regresi yaitu $Y = bx + a$ (Fatoni, 2015).

3) Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak kafein yang didapat dari ekstraksi sebelumnya, selanjutnya dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas. Kemudian dilakukan pengenceran dengan cara dipipet 5,0 ml larutan tersebut ke dalam labu takar 50 ml untuk kopi yang belum difermentasi dan terfermentasi dengan waktu suhu fermentasi yaitu 25°C, 37°C dan 45°C. Kemudian ditentukan kadarnya dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal (Tjahjani et al., 2021) .

4) Perhitungan Kadar Kafein

Larutan sampel akan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum, kemudian serapan maksimum dicatat. Konsentrasi kafein akan ditentukan berdasarkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi standar. Kadar kafein dalam sampel dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Kadar Kafein (mg/g)} = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Volume total sampel (L)} \times \text{FP}}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan :

Konsentrasi (mg/L) : dari hasil regresi linier ($y = bx + a$)

FP : Faktor Pengenceran didapatkan dari hasil

pengenceran sampel.

Volume total sampel: Volume total sampel di dapatkan dari volume labu takar sampel.

Untuk mengetahui adanya perbedaan kadar kafein pada kopi yang belum terfermentasi dan sudah terfermentasi dengan suhu fermentasi 25°C, 37°C, 45°C dilakukan analisis menggunakan statistik terhadap hasil penetapan kadar tersebut.:

5) Analisis Data

Setelah data kadar kafein dari kopi Robusta yang telah terfermentasi dan belum terfermentasi terkumpul, data dari hasil penelitian diolah dan disajikan dalam bentuk grafik untuk mengetahui kadar kafein yang terendah dan tertinggi. Semua analisis statistik untuk mengetahui normalitas data maka dilakukan dengan uji normalitas menggunakan Saphiro Wilk, dan dilanjutkan dengan uji homogenitas, lalu yang terakhir menggunakan Uji One Way Anova.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Data Umum Penelitian

5.1.1 Determinasi Tanaman

Pada determinasi tanaman yang digunakan merupakan bagian dari tanaman kopi robusta (*coffea robusta*). Sesuai hasil penetapan tanaman yang dilakukan UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu Politeknik Negeri Jember. Hasil penetapan tertera pada lampiran 1 nomer sertifikat No:

075/PL17.8/PG/2023

5.2 Data Penelitian

5.2.1 Hasil Fermentasi Pada Suhu

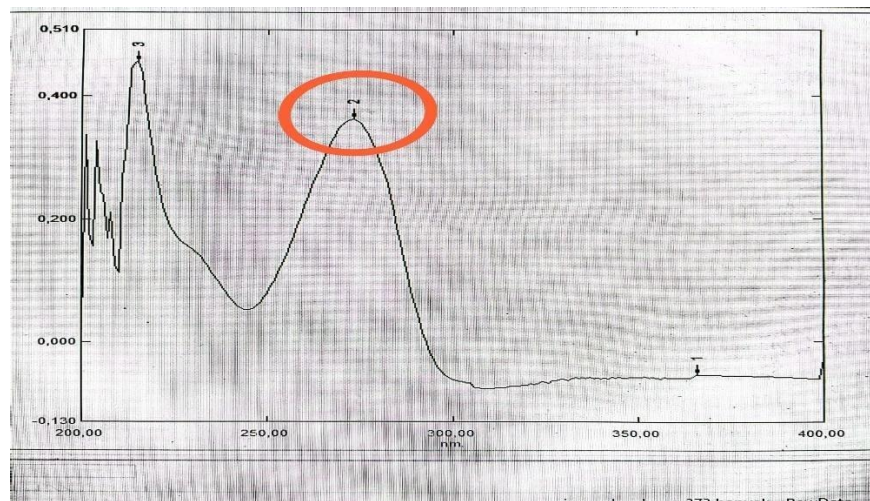
Hasil dari penelitian yang telah didapat dari fermentasi yaitu sampel yang telah ditimbang lalu dimasukkan ke dalam toples kaca yang diberikan aquades sebanyak 500ml dan dicek terlebih dahulu pH awal sebelum dimasukkan bakteri (*lactobacillus p*) kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan plastic wrap kemudian masukkan ke dalam inkubator, setelah dilakukannya fermentasi sesuai dengan suhu dilakukannya pengecekan pH akhir pada setiap suhu sampel menampilkan pekerjaan yang telah diselesaikan pada tabel 5.1:

Tabel 5.1 sampel fermentasi

Bobot sampel	Suhu	Lama fermentasi	pH awal	pH akhir
200 gram	Non fermentasi	0 jam	6,8	6,8
200 gram	25°C	8 jam	6,8	5,7
200 gram	37°C	8 jam	6,8	4,10
200 gram	45°C	8jam	6,8	4,5

5.2.2 Optimasi Standar Kafein

Pada hasil optimasi penelitian Panjang gelombang maksimum yang dilakukan dengan standar kafein murni, kemudian menimbang 0,05 gram kafein lalu larutkan kafein dengan air suling panas di dalam labu takar 50 ml. kemudian mengukur hasil menggunakan spektrofotometri UV- Vis seperti yang ada pada gambar di bawah :

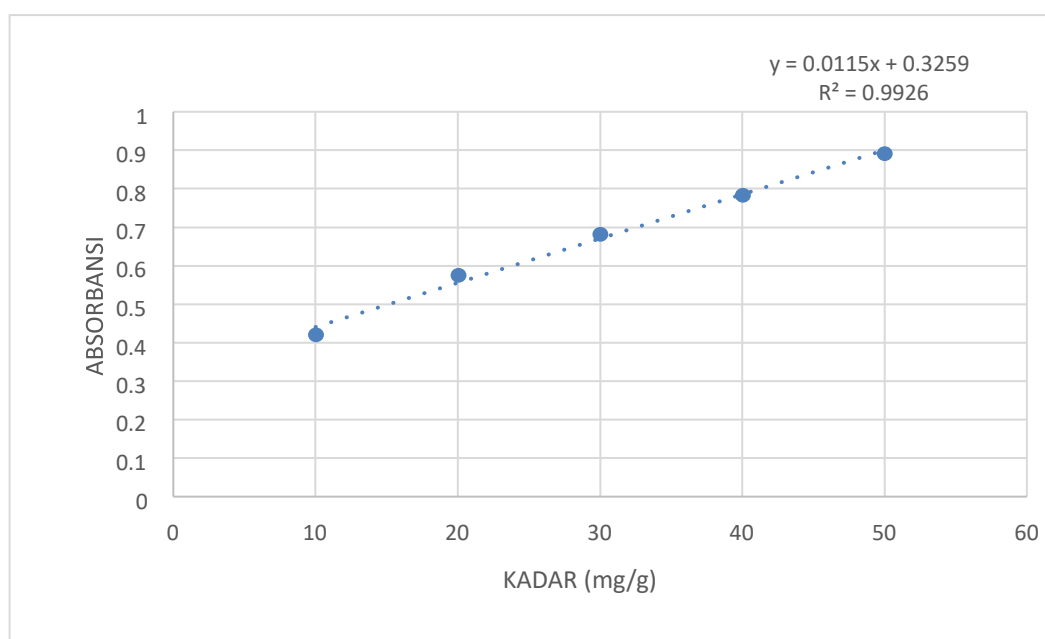


Gambar 5.2 Panjang Gelombang

Hasil dari optimasi panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang 200-400 nm adalah 273 nm.

5.2.3 Penetapan Persamaan Regresi Standar

Hasil dari penetapan kadar kafein pada kopi dapat dihitung dengan cara memasukan persamaan regresi $y = 0.0115x + 0.3259$. Yang didapat dari nilai absorbansi standar kafein yang telah diterima hasilnya dari spektrofotometri UV- Vis yang ada pada gambar 5.3



Gambar 5.2 Grafik Llinieritas

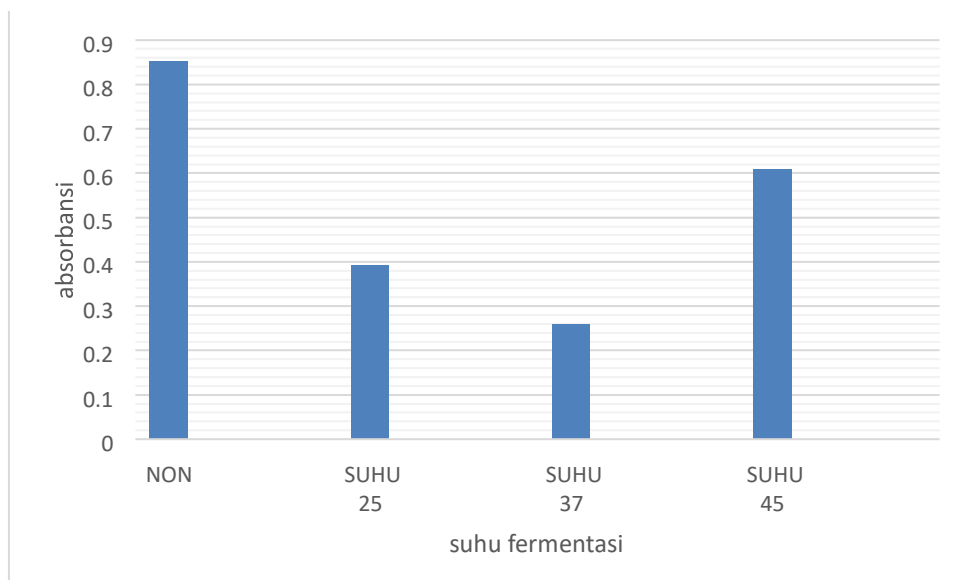
Setelah didapatkan nilai konsentrasi kemudian dilakukan perhitungan kadar kafein yang dapat di lihat pada tabel 5.2

5.2.4 Penetapan Kadar Kafein

Tabel 5.3 Penetapan Kadar Kafein

Suhu Fermentasi (°C)	Replikasi sampel	y absorban	x konsentrasi (ppm)	Kadar Kafein (mg/g)	rata-rata kadar kafein	SD	RSD
non fermentasi	1	0,893	49,3130	1,0437	0,8515	0,1385	0,1627
	2	0,897	49,6609	0,7883			
	3	0,877	47,9217	0,7224			
25°C	1	0,787	40,0957	0,1985	0,3908	0,2778	0,7110
	2	0,761	37,8348	0,1901			
	3	0,772	38,7913	0,7837			
37°C	1	0,674	30,2696	0,5994	0,2603	0,2437	0,9361
	2	0,662	29,2261	0,1440			
	3	0,673	30,1826	0,0375			
45°C	1	0,768	38,4435	0,1913	0,6083	0,2952	0,4853
	2	0,788	40,1826	0,7997			
	3	0,779	39,4000	0,8339			

Berdasarkan hasil dari data diatas kadar kafein pada kopi robusta memiliki perbedaan yang signifikan antara non fermentasi dan suhu fermentasi terhadap suhu fermentasi 25°C , 37°C dan 45°C dalam waktu 8 jam memiliki perbedaan yang signifikan.



Gambarb. 5.4 Grafik Absorbansi

Berdasarkan Gambar Diagram 5.3 menunjukan bahwasanya, ketika kopi tidak difermentasi maka kadar kafeinnya tinggi yaitu 0,8515 mg/g, ketika kopi tersebut difermentasi dengan suhu 25°C yaitu 0,3908 mg/g, suhu 37°C 0,2603 mg/g, dan suhu 45°C 0,6083 mg/g. Dari hasil yang telah didapatkan kadar kafein pada kopi robusta yang paling rendah didapatkan pada suhu fermentasi 37°C dengan waktu 8 jam. Pada suhu 37°C ini menghasilkan absorbansi yang rendah sehingga bakteri dapat hidup dengan baik. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Putra dkk (2020) bahwa pertumbuhan konstan bakteri karena suhu penyimpanan dingin (4°C) menyebabkan pertumbuhan *Lactobacillus* p merambat karna hidup di bawah suhu optimum. Suhu optimum untuk pertumbuhan probiotik antara 37°C-43°C.

BAB 6 PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan sampel biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang di dapatkan dari PT. Perkebunan Nusantara XII yang berada di Kabupataen Jember yang tujuannya untuk mengetahui pengaruh suhu fermentasi terhadap biji kopi robusta yang sudah difermentasi menggunakan bakteri *lactobacillus plantarum* terhadap kadar kafein pada kopi robusta. Hasil yang didapat pada penelitian ini ialah:

6.1 Fermentasi kopi

6.1.1 Fermentasi Kopi Menggunakan BAL

Proses fermentasi pada kopi robusta pada penelitian ini menggunakan bakteri *lactobacillus* digunakan untuk menurunkan kadar kafein pada biji kopi robusta. Penurunan kadar kafein ini disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat yang dipengaruhi oleh suhu dan lama fermentasi. Adanya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi menyebabkan kadar kafein dalam biji kopi semakin menurun dengan semakin lamanya proses fermentasi (Farida *et al.*, 2013). Pada penelitian ini menggunakan bakteri *lactobacillus* sebagai bahan fermentasi, dimana pada setiap fermentasi dibagi menjadi 3 bagian, setiap bagian berisi 200 gram kopi dan ditambahkan aquades mendidih lalu ditambahkan bakteri sebanyak 10 ml ke dalam toples kaca aduk hingga rata. semua bagian yang telah berisi bakteri dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu masing masing 25°C dengan waktu 12 jam dengan perlakuan suhu fermentasi

masing - masing 25°C, 37°C, dan 45°C. Hasil dari penelitian kopi robusta yang menggunakan suhu 25°C menunjukkan kadar kafein sebesar 0,3908 dengan pH 5,7 pada 37°C memiliki kadar kafein 0,2603 dengan pH 4,10 pada 45°C memiliki kadar kafein 0,6083 pH 4,5. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari data disetiap perlakuan menunjukkan semakin tinggi suhu yang digunakan dalam fermentasi kopi maka semakin tidak ada pengaruh didalam kafein pada kopi robusta tersebut. Proses fermentasi yang berlangsung dipengaruhi oleh aktifitas mikroba dimana tidak hanya menurunkan kadar kafein, namun menurunkan pula kadar pH (asam) pada kopi. Kadar pH yang menurun dipengaruhi akumulasi asam-asam organik dan peningkatan jumlah proton H^+ sebagai hasil dari metabolisme bakteri akibat penguraian asam-asam amino. Asam organik adalah senyawa metabolit hasil metabolisme bakteri yang membentuk asam dari bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat. Menurut Tawali *et al.*, (2018), secara umum kandungan asam suatu bahan yang semakin meningkat, maka nilai dari pH akan semakin menurun.

Pada penelitian ini digunakan metode sebagai preparasi sampel kopi yaitu penyeduhan kopi dengan proses pemanasan kopi. Proses penyeduhan ini merupakan proses ekstraksi yang terjadi penarikan kandungan kimia yaitu kafein dari kopi yang dapat larut dalam pelarut air sehingga terpisah dari sebuks kopi yang tidak larut. Ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut khusus untuk memisahkan item dari campuran. Dengan menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi merupakan salah satu cara untuk memperoleh sediaan dengan bahan kimia aktif dari bahan alam. Memanfaatkan pelarut tertentu, proses ekstraksi ini melibatkan

penghilangan bahan kimia dari tanaman, hewan, dan organisme lain (Muhkriani, 2014).

Ektarsi cair ini lebih dikenal sebagai ekstraksi pelarut ialah proses pemisahan cairan yang digunakan untuk penelitian ini yang dimanfaatkan untuk perbedaan kelarutan zat yang dipisahkan antara larutan asli dan pelarut ekstraksi. Ekstaraksi yang dilakukan dengan cara menimbang bubuk kopi sebanyak 2gram lalu ditambahkan Na_2CO_3 tujuan dari menambahkannya Na_2CO_3 untuk membuat kafein bekerja dengan baik bersamadengan zat lainnya. Karena dapat menarik zat tanin dan zat lain selain kafein pada kopi. Larutkan terlebih dahulu kemudian tambahkan aquades panas fungsinya untuk melarutkan kafein agar lebih mudah dengan aquades panas. Pelarut klorofom termasuk molekul alkaloid yang mudah larut tetapi klorofom sendiri sulit larut dalam air, eter atau etano.

Setelah diperoleh filtrat lalu dinginkan kemudian panaskan menggunakan kompor, hasil yang diperoleh nantinya dalam bentuk kerak. Kerak yang didapat kemudian diisi sampai batas dalam labu ukur 50ml setelah dilarutkan ke dalam aquades panas.

6.2 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Pada proses pengukuran spektrofotometri UV-Vis dilakukan pembuatan larutan standar terlebih dahulu, larutan standar merupakan larutan yang tidak mengandung bahan atau zat lain, pada pembuatan larutan standar ini digunakan untuk mempermudah untuk mengatur range panjang gelombang maksimum dan nilai absorpsi pada penelitian. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum ini bertujuan untuk mendapatkan panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar yang selanjutnya digunakan untuk penentuan kurva kalibrasi dan penetapan kadar kafein pada sampel. Hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum diperoleh 273 nm, hasil yang diperoleh sama

dengan literatur yaitu 273 nm Aryani (2015) dan Fatoni (2015). Pada penelitian ini digunakan metode sebagai preparasi sampel kopi yaitu penyeduhan kopi dengan proses pemanasan kopi. Proses penyeduhan ini merupakan proses ekstraksi yang terjadi penarikan kandungan kimia yaitu kafein dari kopi yang dapat larut dalam pelarut air sehingga terpisah dari sebuk kopi yang tidak larut. Ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut khusus untuk memisahkan item dari campuran. Dengan menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi merupakan salah satu cara untuk memperoleh sediaan dengan bahan kimia aktif dari bahan alam. Memanfaatkan pelarut tertentu, proses ekstraksi ini melibatkan penghilangan bahan kimia dari tanaman, hewan, dan organisme lain (Mukhtarini, 2014).

Ektarsi cir cair ini lebih dikenal sebagai ektarasi pelarut ialah proses pemisahan cairan yang digunakan untuk penelitian ini yang dimanfaatkan untuk perbedaan kelarutan zat yang dipisahkan antara larutan asli dan pelarut ekstraksi. ekstraksi yang dilakukan dengan cara menimbang sebuk kopi sebanyak 2gram lalu ditambahkan Na_2CO_3 tujuan dari menambahkannya Na_2CO_3 untuk membuat kafein bekerja dengan baik bersamadengan zat lainnya karena dapat menarik zat tanin dan zat lain selain kafein pda kopi. Larutkan terlebih dahulu kemudian tambahkan aquades panas fungsinya untuk melarutkan kafein agar lebih mudah dengan aquades panas. Pelarut klorofom termasuk molekul alkaloid yang mudah larut tetapi klorofom sendiri sulit larut dalam iar, eter atau etano.

Setelah diperoleh filtrat lalu dinginkan kemudian panaskan menggunakan kompor, hasil yang diperoleh nantinya dalam bentuk kerak. Kerak yang didapat kemudian diisi sampai batas dalam labu ukur 50ml setelah dilarutkan ke dalam aquades panas.

Pada penelitian ini digunakan metode sebagai preparasi sampel kopi yaitu penyeduhan kopi dengan proses pemanasan kopi. Proses penyeduhan ini merupakan proses ekstraksi yang terjadi penarikan kandungan kimia yaitu kafein dari kopi yang dapat larut dalam

pelarut air sehingga terpisah dari bubuk kopi yang tidak larut. Ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut khusus untuk memisahkan item dari campuran. Dengan menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi merupakan salah satu cara untuk memperoleh sediaan dengan bahan kimia aktif dari bahan alam. Memanfaatkan pelarut tertentu, proses ekstraksi ini melibatkan penghilangan bahan kimia dari tanaman, hewan, dan organisme lain. Ekstraksi cair - cair ini lebih dikenal sebagai ekstraksi pelarut ialah proses pemisahan cairan yang digunakan untuk penelitian ini yang dimanfaatkan untuk perbedaan .

Kelarutan zat yang dipisahkan antara larutan asli dan pelarut ekstraksi. Ekstraksi yang dilakukan dengan cara menimbang bubuk kopi sebanyak 2 gram lalu ditambahkan Na_2CO_3 tujuan dari menambahkannya Na_2CO_3 untuk membuat kafein bekerja dengan baik bersama dengan zat lainnya. Karen dapat menarik zat tanin dan zat lain selain kafein pada kopi. Larutkan terlebih dahulu kemudian tambahkan aquades panas fungsinya untuk melarutkan kafein agar lebih mudah dengan aquades panas. Pelarut kloroform termasuk molekul alkaloid yang mudah larut tetapi kloroform sendiri sulit larut dalam air, eter atau etano.

Setelah diperoleh filtrat lalu dinginkan kemudian panaskan menggunakan kompor, hasil yang diperoleh nantinya dalam bentuk kerak. Kerak yang didapat kemudian diisi sampai batas dalam labu ukur 50 ml setelah dilarutkan ke dalam aquades panas .

Pada penelitian ini digunakan metode sebagai preparasi sampel kopi yaitu penyeduhan kopi dengan proses pemanasan kopi. Proses penyeduhan ini merupakan proses ekstraksi yang terjadi penarikan kandungan kimia yaitu kafein dari kopi yang dapat larut dalam pelarut air sehingga terpisah dari bubuk kopi yang tidak larut. Ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut khusus untuk memisahkan item dari campuran. Dengan menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi merupakan salah satu cara untuk memperoleh sediaan dengan bahan kimia aktif dari bahan alam. Memanfaatkan pelarut tertentu, proses ekstraksi ini

melibatkan penghilangan bahan kimia dari tanaman, hewan, dan organisme lain. (Muhkriani, 2017).

Ektarsi cir cair ini lebih dikenal sebagai ektarasi pelarut ialah proses pemisahan cairan yang digunakan untuk penelitian ini yang dimanfaatkan untuk perbedaan kelarutan zat yang dipisahkan antara larutan asli dan pelarut ekstraksi. ekstraksi yang dilakukan dengan cara menimbang bubuk kopi sebanyak 2 gram lalu ditambahkan Na_2CO_3 tujuan dari menambahkannya Na_2CO_3 untuk membuat kafein bekerja dengan baik bersamadengan zat lainnya. Karena dapat menarik zat tanin dan zat lain selain kafein pada kopi. Larutkan terlebih dahulu kemudian tambahkan aquades panas fungsinya untuk melarutkan kafein agar lebih mudah dengan aquades panas. Pelarut kloroform termasuk molekul alkaloid yang mudah larut tetapi kloroform sendiri sulit larut dalam air, eter atau etano.

Setelah diperoleh filtrat lalu dinginkan kemudian panaskan menggunakan kompor, hasil yang diperoleh nantinya dalam bentuk kerak. kerak yang didapat kemudian diisi sampai batas dalam labu ukur 50ml setelah dilarutkan ke dalam aquades panas.

6.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Pada proses pengukuran spektrofotometri UV-Vis dilakukan pembuatan larutan standar terlebih dahulu, larutan standar merupakan larutan yang tidak mengandung bahan atau zat lain, pada pembuatan larutan standar ini digunakan untuk mempermudah untuk mengatur range panjang gelombang maksimum dan nilai absorpsi pada penelitian. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum ini bertujuan untuk mendapatkan panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar yang selanjutnya digunakan untuk penentuan kurva kalibrasi dan penetapan kadar kafein pada sampel. Hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum diperoleh 273 nm, hasil yang diperoleh sama dengan literatur yaitu 273 nm (Aryani, 2015; Fatoni, 2015).

Pada persamaan regresi linier yang didapat untuk menemukan nilai absorbansinya sudah diukur melibatkan pembuatan kurva baku. Kurva baku bisa dikatakan baik jika nilai koefisien korelasinya atau nilai (r) mendekati 1. Kurva baku dapat dilihat melalui pengukuran deret konsentrasi 10,20,30,40,50,60 ppm lalu diplot menggunakan absorpsi masing – masing sebagai sumbu y dan sumbu x . berdasarkan hasil yang didapat dari pembentukan kurva nilai yang terlihat memiliki absorbansi yang meningkat yang sama dengan konsentrasi, maka koefisien korelasi yang didapat ialah 0,9926 dan persamaan $y = 0,0115x + 3259$ diperoleh dari kurva, nilai koefisien korelasi (r) yang, mendekati 1 ini menunjukkan kurva kalibrasi memenuhi syarat yang ditentukan

6.4 Penetapan Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta

Data yang didapat dari absorbansi larutan sampel hasil kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier. Melakukan pengukuran absorbansi sampel lalu masukkan sebagai alternatif kedalam persamaan regresi linier $y = bx + a$. Spektrofotometri UV- Vis sebagai alat untuk menentukan kadar kafein pada kopi robusta yang sudah di fermentasi ataupun yang belum difermentasi. Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu metode instrument yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi proton (Kurnia Roossenda, 2016).

Pada metode spektrofotometri UV-Vis dapat dianalisis dengan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Senyawa dengan gugus kromokrom dan gugus kromofor dapat ditemukan dengan menggunakan teknik spektrofotometri UV-Vis (Ruslin *et al.*, 2020). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kafein dengan suhu 25°C fermentasi 8 jam 0,3908%, suhu 37°C fermentasi 8 jam 0,2603%, dan suhu 45°C fermentasi 8 jam 0,6-83%. Dimana pada suhu 37°C penurunan kadar kafein ini disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat. Penurunan kadar kafein juga dipengaruhi

oleh lamanya waktu fermentasi. Adanya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi menyebabkan kadar kafein dalam biji kopi semakin menurun dengan semakin lamanya proses fermentasi (Ana Farida *et al.*, 2013). Santoso (2003) menyatakan bahwa mengonsumsi kafein dalam jumlah besar dapat menimbulkan sejumlah efek samping, termasuk insomnia, hipertensi, jantung berdebar, dan efek samping lainnya. Cara menghitung kadar kafein pada kopi robusta yang telah terfermentasi dengan suhu 25°C, 37°C, 45°C dan non fermentasi yaitu dengan mensubstitusikan absorbansi sampel kedalam persamaan $y = 0,0115x + 3259$ sehingga mendapatkan konsentrasi. Setelah mendapatkan konsentrasi dilakukan perhitungan selanjutnya menggunakan rumus penetapan kadar

Setelah melakukan perhitungan menggunakan rumus didapat hasil dari kadar kafein yaitu non fermentasi 0,8515 mg/g, suhu 25°C 0,3908 mg/g, 37°C 0,2603 mg/g, 45 °C 0,6083 mg/g hasil perhitungan terdapat dalam lampiran.

6.5 Analisis Data

Setelah biji kopi robusta dilakukan perlakuan dengan fermentasi menggunakan BAL *Lactobacillus plantarum*, lalu dilakukan pengujian hipotesis yang diajukan. Data yang diambil ialah hasil dari kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang non fermentasi dan fermentasi dengan suhu 25°C, 37°C dan 45°C. Sebelum melakukan pengujian hipotesis, dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas terlebih dahulu.

Uji normalitas dilakukan untuk menentukan suatu kumpulan data terdistribusi secara normal atau tidak. Salah satu syarat sebelum dilakukan pengujian hipotesis adalah uji normalitas. Pada uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk* menggunakan *IBM SPSS Statistic 26*. Jika nilai signifikansi yang diperoleh lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), maka data dianggap berdistribusi normal. Namun, jika tingkat signifikansi yang ditentukan kurang

dari 0,05 ($p < 0,05$), maka data tersebut bukan berasal dari populasi yang berdistribusi normal.

Dengan menggunakan pengujian *Saphiro-Wilk* untuk menentukan uji normalitas, diperoleh data kadar kafein dalam kopi Robusta ialah non fermentasi dan fermentasi suhu 25°C, 37°C dan 45°C. Dengan nilai sig untuk non fermentasi 0,144 > 0,05, fermentasi 27°C, 37°C, 45°C dengan nilai sig 0,569 > 0,05, 0,088 > 0,05 dan 0,994 > 0,05, dari data diatas dapat dikatakan bahwa semua data dari non fermentasi dan suhu fermentasi 27°C, 37°C, 45°C dapat disimpulkan bahwa semuanya berdistribusi normal.

Setelah memastikan bahwa data berdistribusi normal, uji homogenitas varian dilakukan untuk menentukan seberapa sebanding varian di seluruh kelompok sampel. Uji F digunakan untuk uji homogenitas. *IBM SPSS Statistic 26* digunakan untuk melakukan uji homogenitas pada data yang dihitung dengan tingkat signifikansi 0,05. Data dianggap homogen jika tingkat signifikansinya lebih besar dari 0,05. Namun demikian, data tidak dianggap homogen jika tingkat signifikansinya kurang dari 0,05. (Jayantika, 2018).

Setelah melakukan analisis menggunakan uji normalitas *shapiro wilk* dilanjutkan menggunakan uji homogen hasil yang telah didapatkan dalam melakukan uji homogen ialah nilai sig 0,055 > 0,05 maka dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa data kadar kafein non fermentasi dan fermentasi dengan suhu 25°C, 37°C, 45°C dapat dikatakan homogen.

Kemudian dilakukan Uji *One Way Anova* yang memiliki tujuan untuk membandingkan empat kelompok kategori untuk menentukan apakah ada perbedaan diantara keempat kelompok tersebut. Alasan keputusan uji *One Way Anova* evaluasi Jika nilai signifikansi (sig) lebih besar dari 0,05, data dianggap tidak memiliki perbedaan. Sebaliknya, jika nilai signifikansi (sig) kurang dari 0,05, maka data dianggap memiliki perbedaan (Jayantika, 2018).

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dari uji *One Way Anova* mendapatkan hasil nilai sig $0,000 < 0,05$ dari hasil uji tersebut dapat disimpulkan bahwa dari data kadar kafein pada non fermentasi dan fermentasi dengan suhu 25°C , 37°C dan 45°C dikatakan memiliki perbedaan. Sehingga terdapat pengaruh suhu fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea robusta*). Jadi, dapat disimpulkan bahwasannya semakin rendah suhu yang digunakan maka kopi pada fermentasi akan mempengaruhi kadar kafein yang terdapat pada kopi tersebut

Menurut uji *Post Hoc Tests* dari semua hasil kadar kafein pada kopi robusta menunjukan perbedaan signifikan terhadap kelompok non fermentasi dan kelompok fermentasi dengan suhu 25°C , 37°C . Sedangkan pada kelompok non fermentasi dan fermentasi dengan suhu 45°C tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Hasil Kadar kafein pada kopi robusta yang mengalami non fermentasi sebesar 0,8515 mg/g dan mengalami proses fermentasi dengan suhu 25°C sebesar 0,3908 mg/g, 37°C sebesar 0,2603 mg/g, dan 45°C sebesar 0,6083 mg/g.
2. Hasil yang diperoleh dari analisis statistic menunjukkan kadar kafein pada proses non fermentasi dan fermentasi dengan suhu fermentasi 25°C, 37°C dan 45°C menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan
3. Semakin rendah suhu yang digunakan pada fermentasi kopi robusta menggunakan bakteri (*Lactobacillus plantarum*) maka kadar kafein semakin menurun.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh suhu fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta menggunakan metode analisis yang lain, seperti HPLC.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang fermentasi menggunakan BAL dengan jenis yang lain, seperti *Streptococcus* dan *Bifidobacterium*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait skrining fitokimia terhadap senyawa dalam kopi yang telah mengalami proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abduh, Dr. M Y. 2018. Dari ITB Untuk Indonesia Biorefinery Kopi. 4th ed. Bandung: Institut Teknologi Bandung (ITB); 1–33 p.
- Aditya Komang Ayu; Yusasrini, Ni Luh Ari IWN. 2016. Kajian Kandungan Kafein Kopi Bubuk, Nilai pH Dan Karakteristik Aroma Dan Rasa Seduhan Kopi Jantan (Pea berry coffee) Dan Betina (Flat beans coffee) Jenis Arabika Dan Robusta. *J Ilmu dan Teknol Pangan*.; (Vol 5, No 1).
- Adrianto, D. (2020). Penurunan Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Fermentasi Dengan Bakteri Asam Laktat *Leuconostoc Mesenteroides* (B-155) Dan *Lactobacillus Plantarum* (B-76) Decrease in Caffeine Levels in Robusta Coffee Beans Using Fermentation With Lactic Acid Ba. *IrawJurnal Dinamika Penelitian Industri*, 31(2), 163–169. <http://ejournal.kemenperin.go.id/dpi/article/view/6424>
- Adrianto, Rizki., Damar, Wiraputra., Fidela, Devina Agrippina., Arifia, Zulaika Andaningrum. 2020. Penurunan Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta menggunakan Fermentasi pada Bakteri Asam Laktat *Leuconostoc mesenteroides* (B-155) dan *Lactobacillus plantarium* (B-76). *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 31(2), 163-169.
- Afriliana A. 2018. Teknologi Pengolahan Kopi Terkini. Pertama. Universitas Jember: CV. Budi Utama; p.1–139.
- Alwi H .2017. Validasi Metode Analisis Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Kasumba 40 Turate (*Carthamus tinctorius L.*) Secara Spektrofotometri UV-Vis. Vol. 6, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Ana Farida, Evi Ristanti, A. C. K. (2013). Coffee is one of the most famous beverages in the world. wor d. Coffee favored because it has unique taste and flavor. However, coffee contains excess acid and caffeine which has negative impacts on health. Fermentation is one of the alternative meth. *Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri*, 2(3), 70–75.
- Anshori FM. 2018. Analisis Keragaman Morfologi Koleksi Tanaman Kopi Arabika dan Robusta Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi.); 1–54.
- Aryani, N. (2015). Efek Paparan Rhodamin B Terhadap Perubahan Makroskopis Dan Histopatologi Mukosa Kolon Mencit Jantan (*Mus musculus L.*). *Jurnal Pendidikan Kimia (Surakarta)*, 7(2), 72–77.
- Azhara, Ismi., Muhammad, Rais., Andi, Sukainah., Reski, Praja Putra. 2022. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Fermentasi Spontan Biji Kopi Robusta Asal Bantaeng. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 23(1), 49-60.

- Beny, R., Yana, N. R. A., & Leorita, M. (2020). Desain Turunan Senyawa Leonurine Sebagai Kandidat Obat Anti Inflamasi. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 181–191. <https://doi.org/10.22487/j24428744.v6.i1.15025>
- Charlinia W. Pengaruh Penambahan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Kafein Biji Kopi Robusta(*Coffea canephora*).
- Danasrayaningsih VS.2015. Penetapan Kadar Kafein Dalam Minuman Berenergi Merek “X” Dengan Metode Spektrofotometri Derivatif Aplikasi Peak-ToPeak. Universi Sanata Dharma Yogyakarta;
- Fajriana NH, Fajriati I. 2018. Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) Pada Variasi Temperatur Sangrai Secara Spektrofotometri Ultra Violet. *Anal Environ.* 3(02):148–62.
- Fajriani 2018. Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) Pada Varian Temperatur Sangrai Secara Spektrofotometri Ultra Violet. *Anal Environ.*3(02):148-62 AAK. Budidaya Tanaman Kopi. Yogyakarta: Kanisius; 1988. Hal. 1-148.
- Farhaty N, Muchtaridi.2016. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi: Review. *Farmaka*;14(1):214–27.
- Farida A, Evi RR, Dr.Andri, Cahyo Kumoro, S.T. M.2013. Penurunan Kadar Kafein Dan Asam Total Pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Teknologi Fermentasi Anaerob Fakultatif Ddengan Mikroba Nopkor Mz, Dengan Mikroba Nopkor Mz-15. *Ind J Teknol Kim dan.*;2(3):70–5.
- Fatoni, A. (2015). Analisa Secara Kualitatif dan Kuantitatif Kadar Kafein dalam Kopi Bubuk Lokal yang Beredar di Kota Palembang Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Analisa Secara Kualitatif Dan Kuantitatif Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Lokal Yang Beredar Di Kota Palembang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis*, 84, 487–492. <http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/handle/10322/3933>
- Fatoni. 2015. ‘*Analisa Secara Kualitatif dan Kuantitatif Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Lokal Yang Beredar di Kota Palembang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis*’, Laporan Penelitian Mandiri Fakultas Farmasi STIFI Bhakti Pertiwi Palembang.
- Hastuti DS.2018. Kandungan Kafein Pada Kopi dan Pengaruh Terhadap Tubuh. *Kim FIA Inst Teknol Sepuluh Nop.*;(May):1–4.
- Indonesia F. Farmakope Indonesia Edisi III. Edisi III. Indonesia: Departemen KesehatanRepublik Indonesia; 1979. 26.
- Indonesia F. Farmakope Indonesia Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995*Industri Vol.31 No. 2, 164.*
- Iswandi. 2022. Pengaruh Perendaman terhadap Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta di Kota Surakarta secara Spektrofotometri UV-VIS. *Pharmacon.* 11(2), 1512-1516.
- Jayantika, I. P. A. A. P. & I. G. A. N. T. (2018). *Panduan Penelitian Eksperimen. Berserta Analisis Statistik dengan SPSS. Yogyakarta: Deepublish.*

- Kurnia Roossenda, D. S. M. . (2016). 1 Ektivitas Pelarut Pada Ekstraksi Dan Penentuan Kafein Dalam Minuman Ringan Khas Daerh Menggunakan Spektrofotofetri.UV-VIS. *Jurnal Penelitian*, 6(August), 128.
- Lenny Novita BA.2017. Penetapan kadar kafein pada minuman berenergi sediaan sachet yang beredar di sekitar pasar petisah medan. *J Kim Saintek dan Pendidik.*;I:37–42.
- Listyati D, Sudjarmoko B, Hasibuan AM, Randriani E.2018. Analisis Usaha Tani dan Rantai Tata Niaga Kopi Robusta di Bengkulu. *J Tanam Ind dan Penyegar.* ;4(3):145.
- Liveina, Artini I G A.2013. Pola Konsumsi dan Efek Samping Minuman Mengandung Kafein pada Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Dep Farmakol Fak Kedokt Univ Udayana, Bali, Indones.;1–12.
- Maramis RK.2013. Analisis kafein dalam kopi bubuk di Kota Manado menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Pharmacon.*;2(4).
- Martauli, E. D. (2018) Analysis of Coffee Production in Indonesia Analisis Produksi Kopi Di Indonesia. *Journal of Agribisness Science*, 01(2) (2018). hal 112–120
- Muhkriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan senyawa, dan Identifikasi Senyawa aktif . *Jurnal Agripet*, 16(2), 76–82<https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Muttalib SA, Nugroho J, Bintoro N.2012. Identifikasi Aroma Campuran (Blending) Kopi Arabika Dan Robusta Dengan Electronic Nose Menggunakan Sistem Pengenalan Pola. *Juliprosiding Semin Nas Perteta*. 2012;(1995):13–4.
- Oktadina FD, Argo B dwi, Hermanto MB.2013. Pemanfaatan nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) untuk penurunan kadar kafein dan perbaikan citarasa kopi (*Coffea Sp*) dalam pembuatan kopi bubuk. *K eteknikan Pertan Trop dan Biosist*;1(3):265–73.
- Oktadina, F. D., & Bambang Dwi Argo, & M. B. H. (2013). Pemanfaatan Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea Sp*) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*.
- Poerwanty, Henny., Nildayanti. 2021. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Kopi terhadap Kadar Kafein. *J.Agroplanta*. 10(2), 124–130.
- Pradinata J.2018. Analisis Kepuasan Dan Loyalitas Konsumen Kopi Aaa Di KabupatenKerinci.Al- Infaq *J Ekon Islam*. 2018;8(2):168–82.
- Puguh Santoso, Sucipto, Betristasia Puspitasari, R. D. (2003). Pengaruh konsumsi Kopi Terhadap Hipertensi The Effect of *Coffea* consumption on hypertension. In *Optics InfoBase Conference Papers* (pp. 431–432).
- Rauf PN.2017. Analisis Natrium Siklamat Pada Produk Olahan Kelapa Di Swalayan Kota Manado Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultra Violet. *Pharmacon.*;6(4).
- Rizky TA.2015.Analisis Kafein Dalam Kopi Robusta (Toraja)Dan Kopi Arabika (Jawa) Dengan Variasi Siklus Pada Sokletasi. *J Kim Mulawarman*;13(1):41–4.

- Rohman A, Gandjar IG.2014. Kimia Farmasi Analisis. Edisi 1.Yogyakarta: Pustaka Pelajar. p. 1–48
- Sari F.2016. Metodologi Penelitian Farmasi Komunitas Dan Eksperimental. 1st ed. Yogyakarta: CV.Budi Utama;. 20–167 p.
- Sholehah, Citra Wahyu Mar'atus. 2019.Analisa Kadar Kafein pada Kopi Jenis Robusta dengan menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet. *Skripsi*. Institut Kesehatan Helvetia: Medan.
- Susilawati. 2021. Analisis Mutu Fisik Kopi Robusta (*Coffea canephora A.Froehner*) dengan Lama Pengeringan yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau: Pekanbaru.
- Tarigan EB, Pranowo D, Iflah T.2016. Tingkat Kesukaan Konsumen Terhadap Kopi Campuran Robusta Dengan Arabika. *J Teknol dan Ind Pertan Indones.*;7(1):12.
- Tarigan EB, Pranowo D, Iflah T.2016. Tingkat Kesukaan Konsumen Terhadap Kopi Campuran Robusta Dengan Arabika. *J Teknol dan Ind Pertan Indones.* 2016;7(1):12. terhadap kadar kafein. *j. Agropiantae*, p. 129.
- Tawali, A. B., Abdullah, N., & Wiranata, B. S. (2018). Pengaruh Fermentasi Menggunakan Bakteri Asam Laktat Yoghurt Terhadap Citarasa Kopi Robusta (*Coffea Robusta*). *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 90–97. <https://doi.org/10.20956/canrea.v1i1.26>
- Tjahjani, N. P., Chairunnisa, A., & Handayani, H. (2021). Analisis Perbedaan Kadar Kafein Pada Kopi Bubuk Hitam dan Kopi Bubuk Putih Instan Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Cendikia Journal Farmacy*, 5(1), 52–62.
- Tjay, T. H. & Rahardja, K. (2015). *Obat-obat Penting*. 7th edn. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Usman, Doni., Supriyadi, Agung., Endang Kusdiyantini. 2015. Fermentasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Feses Luwak dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi. *Jurnal Biologi*. 4(3), 31-40.
- Waluyo S, Handayani FN, Suhandy D, Rahmawati W, Sugianti C, Yulia M.2017. Analisis Spektrum Uv-Vis Untuk Menguji Kemurnian Kopi Uv-Vis Spectrum Analysis To Determine the Authenticity of. ;6(2):73–80.
- Wardani LA.2012. Validasi Metode Analisis dan Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Buah Kemasan Dengan Spektrofotometri UV-Visible. Universitas Indonesia.
- Wardani LA.2016. Validasi Metode Analisis dan Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Buah Kemasan Dengan Spektrofotometri UV-Visible. Universitas Indonesia; 2012. 39. Sari F. Metodologi Penelitian Farmasi Komunitas Dan Eksperimental. 1st ed. Yogyakarta: CV. Budi Utama;. 20–167 p. 40.
- Wijiyanti D, Suryadi H, Kurniadi M, Melanie Y.2017. Penentuan Ketidakpastian

Pengukuran Kadar Kafein pada Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *J Cis-Trans*;1(ISSN 2549- 39 6573):16–31.

Yanlinastuti, Fatimah S2.2016. Pengaruh konsentrasi pelarut untuk menentukan kadar zirconium dalam paduan U-Zr dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-VIS.

PIN Pengelolaan Instal Nukl.;1(17):22– 33.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA, PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 075/PL.17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1034/FIKES.UDS/U/IV/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA, Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Susi weli nur hartini
NIM : 19040133
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora, Pierre.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 April 2023
Ka. UPA, Pengembangan Pertanian Terpadu



Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Dipindai dengan CamScanner

LAMPIRAN 2 GAMBAR PENELITIAN FERMENTASI

Deskripsi	Gambar
Penyiapan bahan yang akan di fermentasi	
Proses pemasukan bakteri kedalam toples	

Proses pemasukan kedalam lemari incubator dengan suhu 37°C



Perbandingan kopi yang difermentasi dan yang tidak di fermentasi



Pengecekan suhu terhadap kopi yang di fermentasi



LAMPIRAN 3 PERHITUNGAN A. Pembuatan Larutan Standar Kafein Ppm =
 $mg \times 1000 \text{ ml}$

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= \frac{mg \times 1000}{ml} \\ &= 50 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

- $10 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm ml}$
 $= 10 \square 20 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ml} \times 20$
 $\text{ppm ml} = 20 \square 30 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000$
 $\text{ml} \times 30 \text{ ppm ml} = 30$
- $40 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ml} \times 40 \text{ ppm ml}$
 $= 40$
- $50 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm ml}$
 $= 50$
- $60 \text{ Ppm} \rightarrow M_1 \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ml} \times 60 \text{ ppm ml}$
 $= 60$

▪ B. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Fermentasi Kopi

- Non Fermentasi

$$60 \text{ ppm} \rightarrow M_{\mu} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \text{ m}\mu \times 60 \text{ ppm} = 600 \text{ m}\mu$$

- Fermentasi 25°C

$$80 \text{ Ppm} \rightarrow M_{\mu} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \text{ m}\mu \times 80 \text{ ppm} = 800 \text{ m}\mu$$

- Fermentasi 37 °C

$$80 \text{ Ppm} \rightarrow M_{\mu} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \text{ m}\mu \times 80 \text{ ppm} = 800 \text{ m}\mu$$

- Fermentasi 45°C

$$50 \text{ Ppm} \rightarrow M_{\mu} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \text{ m}\mu \times 50 \text{ ppm} = 500 \text{ m}\mu$$

$$\text{Kadar Kafein (mg/g)} = \frac{\text{konsentrasi (L)} \times \text{vol total sampel (L)} \times \text{FP}}{\text{berat sampel (g)}}$$

- Non Fermentasi □ ○ Replikasi

$$1 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{49,3130 \times 0,05 \times 0,6}{1,89} = 0,0437 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$2 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{49,6609 \times 0,05 \times 0,6}{1,89} = 0,7883 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$3 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{447,9217 \times 0,05 \times 0,6}{1,99} = 0,7224 \text{ g}$$

- Fermentasi 25°C □ ○ Replikasi

$$1 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{40,0957 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,1985 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$2 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{37,8348 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,1901 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$1 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{38,7913 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,7837 \text{ g}$$

- Fermentasi 37°C □ ○ Replikasi

$$1 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{30,2696 \times 0,05 \times 0,2}{2,01} = 0,5994 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$2 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{40,0957 \times 0,05 \times 0,2}{2,03} = 0,1440 \text{ g} \quad \circ \quad \text{Replikasi}$$

$$3 \text{ Kadar Kafein (mg)} = \frac{30,1826 \times 0,05 \times 0,2}{2,01} = 0,0373 \text{ g}$$

- Fermentasi 45°C
 - $$3\text{Kadar Kafein (mg)} = \frac{38,4435 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,1913 \text{ g}$$
 - $$3\text{Kadar Kafein (mg)} = \frac{40,1826 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,7997 \text{ g}$$
 - $$3\text{Kadar Kafein (mg)} = \frac{39,4000 \times 0,05 \times 0,2}{1,89} = 0,8339 \text{ g}$$

Replikasi

Replikasi

Replikasi

Lampiran 4. Analisis Data

A. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	suhu fermentasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
penetapan kadar	non fermentasi	.358	3	.	.812	3	.144
	suhu 25	.269	3	.	.950	3	.569
	suhu 37	.369	3	.	.789	3	.088
	suhu 45	.175	3	.	1.000	3	.994

a. Lilliefors Significance Correction

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

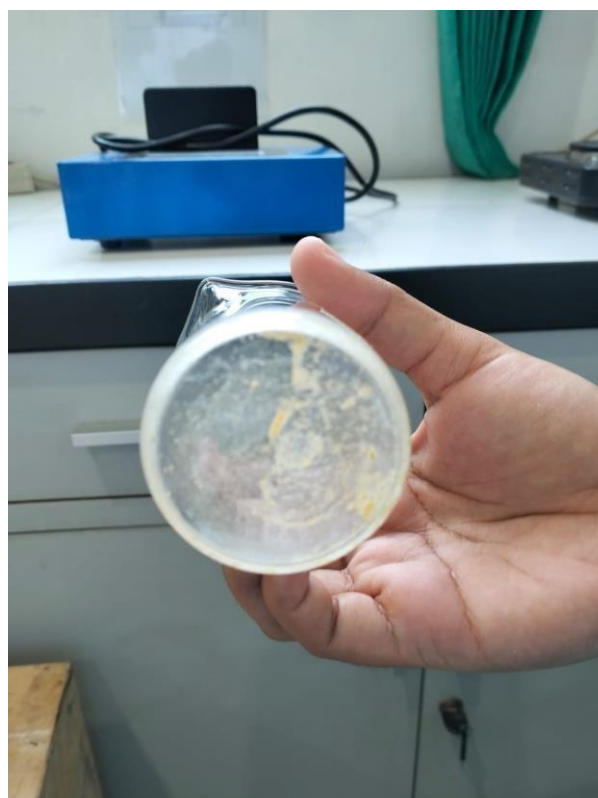
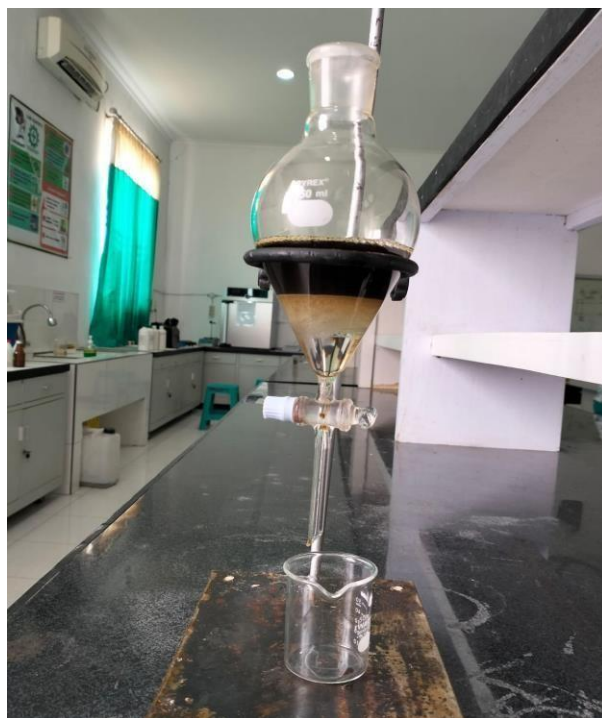
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
penetapan kadar	Based on Mean	3.171	3	8	.085
	Based on Median	.870	3	8	.495
	Based on Median and with adjusted df	.870	3	3.590	.533
	Based on trimmed mean	2.954	3	8	.098

C. Statistika

ANOVA

penetapan kadar					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.797	3	.266	406.879	.000
Within Groups	.005	8	.001		
Total	.802	11			

Lampiran 5. Proses Ekstraksi Cair-Cair



Lampiran 7. Uji *Post Hoc*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: penetapan kadar

LSD

(I) suhu fermentasi	(J) suhu fermentasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		J)			Lower Bound	Upper Bound
non fermentasi	suhu 25	.5696333*	.0208580	.000	.521535	.617732
	suhu 37	.3944667*	.0208580	.000	.346368	.442565
	suhu 45	-.0350333	.0208580	.132	-.083132	.013065
suhu 25	non fermentasi	-.5696333*	.0208580	.000	-.617732	-.521535
	suhu 37	-.1751667*	.0208580	.000	-.223265	-.127068
	suhu 45	-.6046667*	.0208580	.000	-.652765	-.556568
suhu 37	non fermentasi	-.3944667*	.0208580	.000	-.442565	-.346368
	suhu 25	.1751667*	.0208580	.000	.127068	.223265
	suhu 45	-.4295000*	.0208580	.000	-.477599	-.381401
suhu 45	non fermentasi	.0350333	.0208580	.132	-.013065	.083132
	suhu 25	.6046667*	.0208580	.000	.556568	.652765
	suhu 37	.4295000*	.0208580	.000	.381401	.477599

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.