

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KADAR  
KAFEIN PADA KOPI ROBUSTA (*Coffea  
canephora*) DARI PTPN XII JEMBER**

**SKRIPSI**



**Oleh:  
Rizka Handayani  
NIM. 19040114**

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

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KADAR  
KAFEIN PADA KOPI ROBUSTA (*Coffea  
canephora*) DARI PTPN XII JEMBER**

**SKRIPSI**

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



Oleh:  
**Rizka Handayani**  
**NIM 19040114**

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

## LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil proposal 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, 20 juli 2023

Pembimbing Utama



**apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm**  
NIDN. 0509088601

Pembimbing Anggota



**apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes**  
NIDN. 07290984401

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dari PTPN XII Jember” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Selasa  
Tanggal : 8 Agustus 2023  
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas dr. Soebandi Jember

Tim Penguji

Ketua Penguji



Mohammad Rofik Usman, M.Si  
NIDN. 0705019003

Penguji II



apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm  
NIDN. 0509088601

Penguji III



apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes  
NIDN. 07290984401

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas dr. Soebandi Jember



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm  
NIDN. 0703068903

#### PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Rizka Handayani

Nim : 19040114

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi berjudul “ Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dari PTPN XII Jember ” 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, 8 Agustus 2023

Yang menyatakan,

  
METERAI TEMPEL  
07725AJX843315473 Rizka Handayani  
19040114

## **SKRIPSI**

# **PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KADAR KAFEIN PADA KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DARI PTPN XII JEMBER**

Oleh:  
Rizka Handayani  
NIM. 19404114

Pembimbing

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

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

## **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 alm. Ayah Arief dan ibu saya ibu Dasri Yuliani 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 bapak Mohammad Rofik Usman, M.Si 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**

*“You don’t have to be great to start, but you have to start to be great”*

*- Zig Ziglar*

## ABSTRAK

Handayani, Rizka\* Hidayati, Sholihatil\*\* Ayu Susanti, Dhina\*\*\*.2023. **Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Kafein Pada Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dari PTPN XII Jember.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.

**Latar Belakang:** Indonesia merupakan salah satu negara penghasil dan pengeskor kopi terbesar di dunia. Kabupaten Jember adalah salah satu daerah yang mengembangkan kopi robusta terutama PT. Perkebunan Nusantara XII yang berada di Kota Jember memiliki luas perkebunan kopi 10.715 Ha. Di dalam kopi memiliki kandungan senyawa kafein. Kafein adalah senyawa alkaloid xantin dimana sebagian besar orang mempercayai bahwa kafein yang terdapat dalam kopi berfungsi melawan rasa kantuk dan rasa lelah. 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. BAL merupakan bakteri yang mampu menurunkan kadar kafein di dalam kopi.

**Metode:** Desain penelitian ini adalah *true experimental* dengan metode Spektrofotometri UV-Vis untuk melakukan penetapan kadar kafein. Sampel yang digunakan adalah biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dari PTPN XII Jember. Kopi robusta difermentasi dengan lama waktu 8, 18, 24 jam. Dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 273 nm.

**Hasil Penelitian:** Kadar kafein pada kopi robusta yang mengalami proses fermentasi BAL (*Lactobacillus plantarum*) terjadi penurunan yang diakibatkan karena terjadinya aktivitas bakteri asam proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi hingga menyebabkan kadar kafein pada kopi semakin menurun. Hasil kadar kafein dapat dilihat pada non fermentasi sebesar 0,5212 mg/g, dan lama waktu fermentasi 8 jam sebesar 0,4437 mg/g, 18 jam sebesar 0,3340 mg/g, dan 24 jam sebesar 0,1183 mg/g.

**Kesimpulan:** Semakin lama waktu fermentasi maka kadar kafein akan semakin menurun.

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

\* Peneliti

\*\* Pembimbing 1

\*\*\* Pembimbing 2

## ABSTRAK

Handayani, Rizka\* Hidayati, Sholihatil\*\* Ayu Susanti, Dhina\*\*\*.2023. **Effect of Fermentation Duration on Caffeine Levels in Robusta Coffee (*Coffea canephora*) from PTPN XII Jember**. Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program Faculty of Health Sciences, Dr. University of dr, Soebandi.

**Introduction:** Indonesia is one of the largest coffee producing and exporting countries in the world. Jember Regency is one of the areas that develop robusta coffee, especially PT. Perkebunan Nusantara XII in the city of Jember has a coffee plantation area of 10,715 Ha. Coffee contains caffeine compounds. Caffeine is a xanthine alkaloid compound where most people believe that caffeine contained in coffee functions against drowsiness and fatigue. The fermentation process of coffee beans is a process in which the decomposition of complex compounds present in coffee beans, into simple compounds by adding some microorganisms to help release the mucus layer that still covers the coffee beans. BAL is a bacteria that can reduce the caffeine content in coffee.

**Methods:** This research design is true experimental with UV-Vis Spectrophotometry method to determine the caffeine content. The sample used was robusta coffee beans (*Coffea canephora*) from PTPN XII Jember. Robusta coffee was fermented for 8, 18, 24 hours. Absorbance measurement was performed at a wavelength of 273 nm.

**Results and Analysis:** Caffeine levels in Robusta coffee that underwent LAB (*Lactobacillus plantarum*) fermentation process decreased due to the activity of proteolytic acid bacteria that produce protease enzymes high enough to cause caffeine levels in coffee to decrease. The results of caffeine levels can be seen in non-fermentation of 0,5212 mg/g, and 8 hours of fermentation time of 0,4437 mg/g, 18 hours of 0,3340 mg/g, and 24 hours of 0,1183 mg/g.

**Conclusion:** The longer the fermentation time, the lower the caffeine content.

**Keywords:** BAL (*Lactobacillus plantarum*), robusta coffee, determination of levels, fermentation process, UV-Vis spectrophotometry.

\* Peneliti

\*\* Pembimbing 1

\*\*\* Pembimbing 2

## 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 Lama Fermentasi Terhadap Kadar Kafein pada Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dari PTPN XII Jember”**

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. Lindasetyaningrum, 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 proposal 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, Agustus 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                             |                                     |
|---------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>SKRIPSI.....</b>                         | <b>ii</b>                           |
| <b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>             | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>              | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| <b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....</b> | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| <b>SKRIPSI.....</b>                         | <b>vi</b>                           |
| <b>PERSEMBAHAN.....</b>                     | <b>vii</b>                          |
| <b>MOTTO .....</b>                          | <b>ix</b>                           |
| <b>ABSTRAK .....</b>                        | <b>x</b>                            |
| <b>ABSTRAK .....</b>                        | <b>xi</b>                           |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                  | <b>xii</b>                          |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                      | <b>xiii</b>                         |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                   | <b>xvi</b>                          |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                   | <b>xvii</b>                         |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                | <b>xviii</b>                        |
| <b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>                | <b>xix</b>                          |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>              | <b>1</b>                            |
| 1.1. Latar Belakang.....                    | 1                                   |
| 1.2. Rumusan Masalah.....                   | 3                                   |
| 1.3. Tujuan Penelitian .....                | 4                                   |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....                    | 4                                   |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....                  | 4                                   |
| 1.4. Manfaat Penelitian .....               | 4                                   |
| 1.4.1. Manfaat bagi Peneliti .....          | 4                                   |
| 1.4.2. Manfaat bagi Institusi .....         | 4                                   |
| 1.4.3. Manfaat bagi Masyarakat.....         | 4                                   |
| 1.4.4. Manfaat bagi Pendidikan .....        | 5                                   |
| 1.5. Keaslian Penelitian .....              | 6                                   |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>          | <b>7</b>                            |
| 2.1. Kopi .....                             | 7                                   |
| 2.1.1. Sejarah Kopi .....                   | 7                                   |
| 2.2. Morfologi Tanaman Kopi .....           | 8                                   |

|              |                                               |           |
|--------------|-----------------------------------------------|-----------|
| 2.3.         | Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> )..... | 13        |
| 2.3.1.       | Klasifikasi Kopi .....                        | 14        |
| 2.4.         | Manfaat Kopi .....                            | 15        |
| 2.5.         | Kandungan Kopi .....                          | 15        |
| 2.6.         | Senyawa Kafein .....                          | 16        |
| 2.6.1.       | Struktur Kafein .....                         | 17        |
| 2.6.2.       | Sifat Fisika Kimia Kafein .....               | 18        |
| 2.6.3.       | Aktivitas Farmakologi Kafein .....            | 18        |
| 2.7.         | Fermentasi.....                               | 19        |
| 2.7.1.       | Manfaat Fermentasi .....                      | 20        |
| 2.8.         | Bakteri Asam Laktat .....                     | 21        |
| 2.8.1.       | Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat .....         | 21        |
| 2.8.2.       | <i>Lactobacillus</i> .....                    | 22        |
| 2.9.         | Spektrofotometri .....                        | 23        |
| 2.9.1.       | Prinsip Kerja Spektrofotometri .....          | 25        |
| <b>BAB 3</b> | <b>KERANGKA KONSEP .....</b>                  | <b>27</b> |
| 3.1.         | Kerangka Konsep.....                          | 27        |
| 3.2.         | Hipotesis .....                               | 28        |
| <b>BAB 4</b> | <b>METODE PENELITIAN.....</b>                 | <b>29</b> |
| 4.1.         | Desain Penelitian .....                       | 29        |
| 4.2.         | Populasi dan Sampel.....                      | 29        |
| 4.2.1.       | Populasi.....                                 | 29        |
| 4.2.2.       | Sampel .....                                  | 29        |
| 4.3.         | Variabel Penelitian.....                      | 30        |
| 4.3.1.       | Variabel <i>Independent</i> .....             | 30        |
| 4.3.2.       | Variabel <i>Dependent</i> .....               | 30        |
| 4.4.         | Tempat Penelitian .....                       | 30        |
| 4.5.         | Waktu Penelitian.....                         | 30        |
| 4.6.         | Definisi Operasional .....                    | 30        |
| 4.7.         | Teknik Pengumpulan Data.....                  | 32        |
| 4.7.1.       | Determinasi Tanaman .....                     | 32        |
| 4.7.2.       | Pengambilan Sampel.....                       | 32        |
| 4.7.3.       | Fermentasi Sampel.....                        | 32        |
| 4.7.4.       | Proses Pembuatan Ekstraksi .....              | 33        |
| 4.7.5.       | Optimasi Spektrofotometri UV-Vis.....         | 33        |

|                                                     |           |
|-----------------------------------------------------|-----------|
| <b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>                 | <b>36</b> |
| 5.1. Data Umum Penelitian.....                      | 36        |
| 5.1.1. Determinasi Tanaman .....                    | 36        |
| 5.2. Data Penelitian .....                          | 36        |
| 5.2.1. Fermentasi Sampel.....                       | 36        |
| 5.2.2. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum .....    | 37        |
| 5.2.3. Penetapan Kadar Kafein .....                 | 37        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>                       | <b>41</b> |
| 6.1. Fermentasi Kopi.....                           | 41        |
| 6.1.1. Fermentasi Kopi Menggunakan BAL .....        | 41        |
| 6.2. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum .....      | 43        |
| 6.3. Ekstraksi.....                                 | 44        |
| 6.4. Pembuatan Kurva Baku .....                     | 45        |
| 6.5. Penetapan Kadar Kafein Biji Kopi Robusta ..... | 45        |
| 6.6. Analisis Data .....                            | 47        |
| <b>BAB 7 KESIMPULAN .....</b>                       | <b>51</b> |
| 7.1 Kesimpulan .....                                | 51        |
| 7.2 Saran .....                                     | 51        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                         | <b>51</b> |

## **DAFTAR TABEL**

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 1.1 Keaslian Penelitian .....                       | 6  |
| 4.1. Definisi Operasional .....                     | 31 |
| 5.1. Fermentasi Sampel .....                        | 36 |
| 5.2 Perhitungan Kadar Kafein Pada Kopi Robusta..... | 39 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1. Tanaman Kopi .....                  | 9  |
| Gambar 2.2. Batang Pohon Kopi .....             | 9  |
| Gambar 2.3. Bentuk Daun Kopi.....               | 10 |
| Gambar 2.4. Bentuk Bunga Kopi.....              | 11 |
| Gambar 2.5. Buah Kopi .....                     | 12 |
| Gambar 2.6. Biji Kopi.....                      | 12 |
| Gambar 2.7. Struktur Kimia Senyawa Kafein ..... | 17 |
| Gambar 3.1. Kerangka Konsep .....               | 27 |
| Gambar 5.1. Panjang Gelombang .....             | 37 |
| Gambar 5.2. Grafik Linieritas .....             | 38 |
| Gambar 5.3. Diagram Hasil Fermentasi.....       | 40 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1. Hasil Dari Determinasi Tanaman .....           | 55 |
| Lampiran 2. Fermentasi Kopi .....                          | 56 |
| Lampiran 3. Perhitungan Penentuan Konsentrasi Optimum..... | 58 |
| Lampiran 4. Perhitungan Penetapan Kadar Kafein.....        | 60 |
| Lampiran 5. Analisis Data.....                             | 62 |
| Lampiran 6. Proses Ekstraksi Cair-Cair .....               | 64 |
| Lampiran 7. <i>Test Post Hoc</i> .....                     | 65 |

## DAFTAR SINGKATAN

|               |                             |
|---------------|-----------------------------|
| BAL           | : Bakteri Asam Laktat       |
| PPM           | : <i>Parts per million</i>  |
| MG            | : <i>Miligram</i>           |
| G             | : <i>Gram</i>               |
| SD            | : <i>Standar Deviasi</i>    |
| RSD           | : Rata-Rata Standar Deviasi |
| $\mu\text{L}$ | : <i>Mikroliter</i>         |

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Indonesia adalah salah satu produsen dan pengeksportir utama kopi dunia. Setelah kelapa sawit, karet dan kakao, kopi merupakan ekspor terbesar keempat Indonesia dalam hal perolehan devisa. Kopi Indonesia memiliki keunikan aroma dan cita rasa yang khas dan sebagai salah satu negara penghasil dan pengeksportir (Parnadi and Loisa, 2018). Kopi merupakan salah satu produksi primer perkebunan yang penting bagi Indonesia. Pada tahun 2017, Indonesia menempati peringkat keempat dunia untuk produksi kopi, dan karena kopi Indonesia sangat kompetitif, maka dapat bersaing dengan eksportir kopi besar lainnya, seperti Brasil, Kolombia, dan Vietnam. (Alexander and Nadapdap, 2019).

Dari 2018 hingga 2019, kapasitas produksi kopi Indonesia tumbuh. Ekspor kopi dari Indonesia mencapai kapasitas 279.961 ton pada 2018 dan nilai US\$ 816 juta pada 2019. Pada 2019, kapasitas ini meningkat menjadi 359.052 ton dan nilai US\$ 883 juta. (Ditjenbun, 2021). Kabupaten Jember adalah salah satu daerah yang mengembangkan kopi robusta terutama PT. Perkebunan Nusantara XII yang berada di Kota Jember memiliki luas perkebunan kopi 10.715 Ha. Produksi kopi robusta di Jember pada tahun 2019 memproduksi sebanyak 3.125 ton dengan luas area perkebunan sebesar 3.967 Ha (Ditjenbun, 2021).

Kopi merupakan salah satu hasil perkebunan yang digunakan sebagai minuman penyegar dengan cita rasa yang sangat khas. Kopi kini menjadi minuman paling populer di dunia setelah air putih dan teh (Afriliana, 2018). Di dalam kopi memiliki kandungan senyawa kafein. Kafein adalah senyawa alkaloid xantin dimana sebagian besar orang mempercayai bahwa kafein yang terdapat dalam kopi berfungsi melawan rasa kantuk dan rasa lelah (Zarwinda and Sartika, 2019). Berbagai tumbuhan atau buah-buahan, minuman berenergi, coklat, kopi dan teh semuanya ini mengandung bahan kimia. Kandungan kafein yang terdapat dalam kopi bermacam-macam tergantung dengan jenis kopinya, kopi arabika memiliki kandungan kafein 1g/100 gram, kopi robusta 2g/100 gram (Maria Ulfa, 2018). Menurut Aryadi *et al.*, (2020) kadar kafein tertinggi terdapat pada jenis kopi robusta yaitu, sebesar 2,15%.

SNI 01-7152-2006 dan Peraturan Kepala BPOM No. HK. 00.05.23.3644 keduanya menyatakan ini. Kandungan kafein dalam makanan dan minuman dibatasi hingga 150 mg per hari dan 50 mg per porsi. Menurut FI edisi ketiga, batas maksimal kafein adalah 500 mg per hari atau 1,5 gram.

Penurunan kadar kafein dapat dilakukan dengan proses fermentasi biji kopi (Wiraputra damar, 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, menambahkan beberapa mikroorganisme untuk membantu menghilangkan lapisan lendir yang masih menutupi biji kopi. Berdasarkan hasil penelitian bahwa perlakuan fermentasi biji kopi mampu menurunkan kadar kafein dari 1,6% menjadi 0,047% (Poerwanty, 2021). Proses fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan Bakteri Asam Laktat (BAL).

Bakteri yang disebut BAL dapat mengurangi jumlah kafein dalam kopi. Konsentrasi kafein 1,11% dalam kopi Robusta dapat dikurangi menjadi 0,28%. BAL bertanggung jawab atas penurunan kadar kafein ini. Jumlah kafein dalam biji kopi berkurang semakin lama dimasak karena meningkatnya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease. (Wiraputra damar, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada kopi robusta terutama di daerah Jember dengan pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Menurut hasil uraian di atas penelitian ini merumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah lama fermentasi dapat mempengaruhi kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea canephora*)?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea canephora*).

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- 1) Menetapkan kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea canephora*) yang mengalami fermentasi dan yang tidak mengalami fermentasi.
- 2) Menganalisa perbedaan kadar kafein dengan dan tanpa fermentasi.
- 3) Menganalisis pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Manfaat bagi Peneliti**

Peneliti dapat mengetahui cara dan berapa lamanya fermentasi terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea canephora*) dari PTPN XII Jember.

#### **1.4.2. Manfaat bagi Institusi**

Penelitian ini dapat dijadikan referensi bagi penelitian selanjutnya.

#### **1.4.3. Manfaat bagi Masyarakat**

Manfaat dari penelitian ini ialah memberitahukan kepada masyarakat bahwa penurunan kadar kafein dapat dilakukan dengan fermentasi.

#### **1.4.4. Manfaat bagi Pendidikan**

Manfaat dari penelitian ini ialah memberikan informasi bagi dunia pendidikan bahwa penurunan kadar kafein dapat dilakukan dengan fermentasi.

### 1.5. Keaslian Penelitian

**Tabel 1.1 Keaslian Penelitian**

| Peneliti          | Judul                                                                                                                                                                               | Persamaan                                                                                                                 | Perbedaan                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (Poerwanty, 2021) | Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Kopi Terhadap Kadar Kafein                                                                                                                        | 1. Mengamati Pengaruh Lama Fermentasi<br>2. Kadar Kafein                                                                  | 1. Kopi yang digunakan tanpa dijelaskan jenis kopinya sedangkan pada penelitian ini menggunakan kopi jenis robusta di PTPN XII Jember.<br>2. Metode yang digunakan Titrasi Bailey-Andrew sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.                                    |
| (Sholehah, 2019)  | Analisis Kadar Kafein Pada Jenis Kopi Robusta Dengan Menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet                                                                                       | 1. Menggunakan kopi Robusta<br>2. Menggunakan Metode Spektrofotometri<br>3. Kadar Kafein                                  | 1. Parameter validasi yang digunakan yaitu presisi, linieritas, LOD LOQ, sedangkan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi hasil penetapan kadar                                                                                                                                                  |
| (Adrianto, 2020)  | Penurunan Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Fermentasi dengan Bakteri Asam Laktat <i>Leuconostoc Mesenteriodes</i> (B-155) dan <i>Lactobacillus Plantarum</i> (B-76). | 1. Menurunkan Kadar Kafein pada Kopi Robusta.<br>2. Menggunakan proses Fermentasi.<br>3. Menggunakan Bakteri Asam Laktat. | 1. Menggunakan jenis kopi Robusta yang berada di daerah Lampung sedangkan pada penelitian ini menggunakan kopi jenis robusta di PTPN XII Jember.<br>2. Metode yang digunakan HPLC ( <i>High Performance Liquid Chromatografi</i> ) sedangkan pada penelitian ini menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. |

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Kopi**

#### **2.1.1. Sejarah Kopi**

Kopi tersebut berasal dari Ayssinia, sebuah wilayah di Afrika yang mencakup wilayah di Ethiopia dan Eritrea. Pada abad ke-17, kopi mulai dibudidayakan di negara-negara Eropa dan menyebar di seluruh dunia. Salah satunya di Indonesia, yaitu di Pulau Jawa yang dikembangkan oleh Belanda. Sampel kopi yang ditanam di Jawa dikirim ke Belanda pada tahun 1706 untuk dipelajari di Kebun Raya Amsterdam.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, kopi yang ditanam di Pulau Jawa mempunyai kualitas yang baik sehingga memiliki julukan populer, yaitu "*Cup of Java*". Pada saat itu tanaman kopi yang ditanam di Pulau Jawa dijadikan bibit untuk disebar luas ke seluruh Indonesia (Afriliana, 2018). Setelah Brasil, Vietnam, dan Kolombia, Indonesia merupakan produsen kopi terbesar keempat di dunia.

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. Robusta, Liberia, dan Arabika adalah tiga varietas yang lebih terkenal dan menyumbang 70% dari produksi global. Di seluruh dunia, kopi adalah minuman yang terkenal dan dihargai. Biasanya, kopi disajikan panas. Setelah bensin, salah satu komoditas yang paling banyak diperdagangkan adalah kopi (Fenni, 2012).



Gambar 2.1 Tanaman Kopi Sumber (Uniska, 2018)

## 2.2. Morfologi Tanaman Kopi

Menurut Hafidz (2021), tanaman kopi adalah salah satu tanaman yang hidup di wilayah tropis seperti Indonesia. Kopi memiliki berbagai macam jenis, seperti kopi Robusta, kopi Arabika, kopi Liberika, kopi Luwak, kopi Tubruk, kopi Latte, dan masih banyak lagi macam jenis kopi.

### 1) Batang Kopi (*caulis*)



Gambar 2.2 Batang Pohon Kopi Sumber (Wijaya, 2014)

Batang pohon pada tumbuhan kopi adalah salah satu bagian utama pada penyusun tanaman. Batang kopi muda beruas-ruas, dan pada setiap ruas muncul dua daun yang berseberangan. Jika batangnya dibelah, dicacah, dan dimiringkan baik secara vertikal maupun melengkung, setiap kantong besar akan menghasilkan dua jenis cabang berbeda yang dapat digunakan untuk memotong cabang. Pohon kopi jika dilihat secara kasat mata memiliki variasi bentuk yang berbeda, yaitu variasi semak, kerucut, dan piramida. Tinggi tanaman kopi berbeda-beda tiap wilayah, tergantung kepada lingkungan sekitar tanaman kopi tumbuh serta umur pohon. Tanpa adanya proses pemangkasan dahan dan ranting, tinggi tanaman kopi mencapai 18 meter. Bagian pada tumbuhan kopi tumbuh beberapa jenis cabang yaitu: cabang primer (tumbuh pada batang utama), cabang reproduktif (tumbuh pada ketiak daun pada batang utama), cabang mati (terletak di ujung tanaman dan tidak aktif), cabang balik (cabang tumbuh tidak normal searah pertumbuhan ke arah tajuk), cabang kipas (cabang reproduktif yang tumbuh kuat pada cabang primer), dan cabang air (yang cepat muncul dan memiliki ruas daun yang relatif panjang dan lunak) merupakan jenis cabang yang berbeda.

## 2) Daun Kopi (*folium*)



**Gambar 2.3 Bentuk Daun Kopi Sumber (Windiawan, 2021)**

Tangkai, urat daun, dan helaian daun sebenarnya membentuk beberapa komponen yang membentuk daun tanaman kopi.

- (1) Tangkai daun berfungsi sebagai penghubung antara helaian daun dengan batang, cabang, dan ranting tanaman kopi.
- (2) Asimilasi daun di seluruh tanaman menghasilkan pembentukan kerangka daun, tulang, dan tempat terjadinya transpirasi.
- (3) Daun kopi berwarna hijau cerah, berbentuk lonjong, dengan tepi agak membulat hingga meruncing, urat daun menyirip halus, dan tumbuh berlawanan arah secara berpasangan. Pinggir daun disebut bergelombang karena memiliki sinus dan sudut tumpul, dan karena permukaan daun halus, tampak mengkilap.

Adanya tangkai daun dan helaian daun menyebabkan daun kopi dikategorikan sebagai daun bertangkai. Daunnya berbentuk lonjong (ovalis atau eliptikus), dengan perbandingan panjang dan lebar 1 1/2 banding 1. Tumbuh di ujung cabang batang dan letaknya berdampingan di ketiak. Daun kopi umumnya berwarna hijau dengan

ujung daun berbentuk meruncing. Ujung tangkai daun yang tumpul atau pangkal pelepah mencegah tepi daun saling mengikat di pangkal. Karena daun tanaman kopi mirip dengan tanaman kakao yaitu lebar dan tipis, hal itu mempengaruhi keteduhan tanaman selama penanaman.

### 3) Bunga Kopi (*flos*)



**Gambar 2.4 Bentuk Bunga Kopi Sumber (Hafidz, 2021)**

Tanaman kopi sering disebut sebagai tanaman berbunga banyak (*plata multiflora*) karena menghasilkan banyak bunga. Bunga kopi terletak pada ketiak daun. Bunga kopi juga disebut sebagai bunga majemuk dikarenakan bunganya yang memiliki susunan bergerombol. Bunga kopi juga memiliki aroma yang sangat harum. *Andreocium* (alat kelamin jantan) dan *gynaecium* (alat kelamin betina), keduanya ada di bunga kopi. *Andreocium* adalah transformasi daun yang menghasilkan serbuk sari dan terbuat dari beberapa benang sari (*stamen*). Sedangkan *gynaecium* adalah bagian yang dikenal sebagai putik, yang merupakan transformasi daun buah (*carpella*). Dan maka dari itu bunga kopi dijuluki sebagai bunga banci yang memiliki kelamin 2.

#### 4) Buah (*Furtus*) dan Biji Kopi (*Semen*)



**Gambar 2.5 Buah Kopi Sumber (Hafidz, 2021)**



**Gambar 2.6 Biji Kopi Sumber (Hafidz, 2021)**

Hijau muda menggambarkan warna buah kopi mentah. Setelah itu berubah warna hijau tua lalu menjadi kuning. Ceri kopi menghasilkan buah merah tua atau merah tua saat siap dipetik. Pada umumnya biji kopi memiliki dua biji yang masing-masing memiliki bidang datar (perut) dan bidang cembung (punggung). Namun, kadang-kadang, biji elips tunggal, juga dikenal sebagai kopi buncis atau lanang, akan hadir. Kopi merupakan tumbuhan berbiji yang memiliki 2 bagian yang terdiri dari lapisan luar, yaitu lapisan yang mempunyai lapisan keras seperti kayu, dan berfungsi sebagai pelindung biji kopi di dalamnya. Kulit bagian dalam, atau lapisan kedua, adalah lapisan tipis seperti membran yang biasanya

merupakan epidermis.

Lembaga embrionik dan lembaga albumen adalah dua komponen inti biji yang terdapat pada biji kopi. Karena bentuk biji kopi berbeda untuk setiap jenis kopi, seperti Robusta dan Arabica, biasanya jenis kopi dapat diidentifikasi dengan melihat bentuk biji kopi.

### **2.3. Kopi Robusta (*Coffea canephora*)**

Pada tahun 1900, kopi Robusta (*Coffea Canephora*) diperkenalkan ke Indonesia. Karena Robusta merupakan salah satu varietas kopi yang tahan terhadap penyakit karat daun dan cepat tumbuh karena minim perawatan dan kapasitas produksi yang tinggi. Saat ini kopi Robusta ditanam di 90% perkebunan kopi Indonesia (Rahardjo, 2012).

Kopi robusta merupakan jenis kopi yang mudah perawatannya dibanding kopi lainnya, karena itu penduduk lebih banyak menanam kopi robusta. Kopi robusta biasanya tumbuh di ketinggian 400-700 mdpl. Keunggulan dari kopi robusta sendiri ialah memiliki kekebalan terhadap hama penyakit. Kopi robusta dapat tumbuh pada suhu udara 24-30°C dengan pH tanah 5,5-6,5 dengan curah hujan 1.500-3.000 mm/th. Kopi robusta memiliki karakter yang khas, yaitu tajuk yang lebar, dan memiliki ukuran daun yang lebar dibandingkan dengan daun kopi arabika, memiliki pangkal yang tumpul. Bertentangan dengan batang, cabang dan dahan, daun juga tumbuh. Selain itu, biji

kopi Robusta berbeda dari biji kopi lainnya dalam beberapa hal. Dibandingkan dengan kopi lainnya, kopi Robusta memiliki hasil yang lebih tinggi. Ciri-ciri yang lebih terlihat pada kopi Robusta adalah biji agak bulat, lekukan lebih tebal dibandingkan kopi arabika, dan diameter relatif datar (Rahardjo, 2012).

### 2.3.1. Klasifikasi Kopi

Klasifikasi kopi berdasarkan tingkat taksonomi tanaman kopi jenis robusta, yaitu (Chamidah, 2012).

|            |                           |
|------------|---------------------------|
| Kingdom    | : <i>Phylom</i>           |
| Divisi     | : <i>Spermathophyta</i>   |
| Sub Divisi | : <i>Angiospermae</i>     |
| Kelas      | : <i>Dicotyledoneae</i>   |
| Ordo       | : <i>Rubiales</i>         |
| Genus      | : <i>Coffea</i>           |
| Psesies    | : <i>Coffea canephora</i> |
| Spesies    | : <i>Coffea canephora</i> |

Buah kopi robusta berbentuk lonjong dan sering berukuran panjang 12 mm. Ceri untuk kopi Robusta dapat dikumpulkan saat berumur 10 hingga 11 bulan. Memiliki ukuran yang kira-kira 20-40% dari buah. Biji kopi kelas dua dikenal sebagai robusta, dan terkadang tidak memiliki rasa asam yang khas (Riastuti, Komarayanti and Utomo, 2021).

#### **2.4. Manfaat Kopi**

Kopi adalah salah satu minuman yang banyak dikonsumsi masyarakat, kopi memiliki sejumlah manfaat bagi kesehatan, di antaranya mampu meningkatkan stamina. Kopi juga mengandung sejumlah besar kafein yang membuat orang merasa mengantuk. Selain itu, kafein dalam kopi berdampak pada fungsi sel, memperlambat gerakan, dan memberi perasaan lebih segar. Dalam hal pencegahan kanker, antioksidan kopi dapat mengurangi kemungkinan tubuh mengembangkan tanda-tanda kanker dan dapat mengurangi risiko kanker usus besar hingga 25%. Kopi dapat dijadikan antibakteri untuk menyembuhkan kerusakan gigi, plak, radang gusi, dan mengurangi risiko kanker mulut (Mezza, 2021). Asupan gula dapat dicegah dengan meminum kopi. Kehadiran senyawa yang mengandung asam klorogenat meningkatkan produksi insulin karena manfaat kopi. Penelitian menunjukkan bahwa risiko seseorang terkena diabetes dapat diturunkan hingga 50% (Taringan, Herawati and Puspo Edi Giriwono, 2020). Kopi memiliki efek antijamur, antivirus, antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Assa et al., 2021).

#### **2.5. Kandungan Kopi**

Adanya bahan kimia aktif yang terdapat pada kopi tidak lepas dari manfaat kopi, sesuai dengan uraian sebelumnya tentang banyaknya manfaat kopi.

Kafein, asam klorogenat, trigonellin, karbohidrat, lipid, asam amino, asam organik, bau yang mudah menguap, dan mineral hanyalah beberapa dari banyak komponen kimia dalam kopi yang baik dan buruk bagi kesehatan seseorang (Farhaty, 2012). Senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol merupakan contoh metabolit sekunder yang terdapat pada kopi selain komponen kimianya (Wigati, Pratiwi, Nissa, 2018).

## **2.6. Senyawa Kafein**

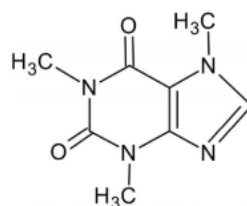
Kafein merupakan senyawa alkaloid xantin yang mempunyai bentuk kristal dan memiliki rasa pahit yang bekerja untuk obat diuretik ringan dan perangsang psikoaktif (Maramis, Citraningtyas and Wehantouw, 2013). Kafein juga sebagai stimulasi sistem saraf pusat metabolik. Selain memiliki efek antagonis pada reseptor adenosin sentral, kafein dapat menghambat fosfodiesterase. Berdampak pada sistem saraf pusat, terutama pusat-pusat tinggi, yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas mental dan kesulitan tidur (Nugroho, 2019).

Salah satu golongan alkaloid heterosiklik yang termasuk golongan methylxanthin, suatu senyawa kimia yang mengandung nitrogen dengan struktur dua cincin atau dua siklik, adalah senyawa kafein. Sebagai metabolit sekunder, bahan kimia ini secara alami berdampak pada tanaman. Ini berfungsi sebagai insektisida alami untuk tanaman, melumpuhkan dan membunuh serangga dan hewan

kecil yang memakan tanaman. Lebih dari 60 tanaman, termasuk daun teh biasa (*Camelia sinensis*), biji kakao (*Cola acuminata*), kopi (*Coffea arabika*), dan biji kakao, menghasilkan bahan kimia ini di daun, kacang, dan buahnya. Kafein mensimulasikan sistem saraf pusat, melemaskan otot, terutama otot polos bronkial, dan menstimulasi otot jantung, yang semuanya memiliki efek farmakologis yang penting secara klinis (Maramis, Citraningtyas and Wehantouw, 2013).

### 2.6.1. Struktur Kafein

Struktur kimia kafein atau 1,3,7-trimethylxanthine. Kafein anhidrat, dengan berat molekul 194,19, dan kafein hidrat, dengan berat molekul 212,21, masing-masing mengandung satu molekul air. Bentuk kafein yang terhidrasi mengembang dalam air, sedangkan bentuk yang tidak terhidrasi adalah bubuk putih, jarum mengkilap, tidak berbau dan memiliki rasa pahit. Larutannya juga netral terhadap kertas lakmus. Kafein sedikit larut dalam air, etanol atau eter, tetapi sangat larut dalam kloroform dan tidak terlalu larut dalam eter. Kandungan kafein yang diukur untuk bahan anhidrat harus antara 98,5% dan 101,1% (Depkes RI, 2014).



Gambar 2.7 Struktur Kimia Sumber (Novita, 2019)

### 2.6.2. Sifat Fisika Kimia Kafein

Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) termasuk golongan methyxanthine, berbentuk serbuk berwarna putih tidak berbau dengan berat molekul 194,19 g/mol, densitas 1,23 g/cm<sup>3</sup>, padat, titik leleh 227- 228°C (anhidrat) 234-235°C (monohidrat), titik didih 178°C, kelarutan dalam air 2,17 g/100 ml (25°C) 18,0 g/100 ml (80°C) 67,0 g/100 ml (100°C), rumus molekul C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>. Kafein memiliki sifat yang sedikit larut dalam air, etanol dan eter, tetapi juga memiliki sifat yang mudah larut dalam kloroform dan kafein termasuk senyawa polar (Maimuna, Monado and Royani, 2020).

### 2.6.3. Aktivitas Farmakologi Kafein

Kafein adalah kandungan yang terdapat di dalam kopi. Kafein dalam jumlah rendah hingga sedang (50–300 mg) dapat meningkatkan kewaspadaan, energi, dan fokus. Namun, jumlah kafein yang lebih besar dapat menyebabkan takikardia, kecemasan, kegelisahan, dan insomnia.

Kopi yang mengandung kafein terbukti dapat meningkatkan tekanan darah. Mekanisme utama kafein bekerja adalah sebagai antagonis kompetitif pada reseptor adenosin. Adenosine adalah vasodilator di pembuluh darah dan juga memiliki efek inotropik dan konotropik yang bermanfaat di jantung, yang dapat meningkatkan konduktivitas jantung dan detak jantung. Kafein memiliki efek sebaliknya dan merupakan antagonis kompetitif adenosin. Selain

memiliki efek inotropik dan kronotropik yang menguntungkan, kafein dapat menyebabkan vasokonstriksi pada pembuluh darah. Selain itu, kafein memiliki kemampuan untuk menghambat pengambilan kembali kalsium dan menyebabkan kalsium meninggalkan retikulum sarkoplasma. Selain itu, dapat memperkuat dan mengintensifkan kontraksi otot jantung dan rangka. Selain itu, kafein dapat meningkatkan pelepasan norepinefrin, yang dapat menyempitkan pembuluh darah, meningkatkan detak jantung, dan memperkuat jantung (Lestari, Wirandoko and Sanif, 2020).

## **2.7. Fermentasi**

Proses fermentasi melibatkan transformasi kimia substrat organik melalui aksi enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Rochani, Yuniningsih, 2015). Nutrisi tambahan diperlukan untuk proses fermentasi dan pertumbuhan bakteri. Selain karbohidrat, proses penggorengan membutuhkan nitrogen dan mineral yang cukup untuk tumbuh dan menghasilkan yang terbaik (Hidayanto, 2017). Dengan memasukkan beberapa organisme yang bertujuan untuk membantu pelepasan lapisan lendir yang mengeraskan biji kopi, proses penguraian biji kopi memerlukan penguraian bahan kimia rumit dalam biji kopi sehingga menjadi senyawa yang lebih sederhana (Usman, Supriyadi, 2015). Pengaruh fermentasi basah atau semi basah yang belum dikeringkan dapat meningkatkan cita rasa kopi. Tidak hanya itu pengaruh fermentasi juga dapat membuat nilai

ekonomis kopi semakin meningkat. Sehingga bisa membuat pendapatan para petani kopi meningkat dari pada kopi yang belum melakukan perlakuan fermentasi (Abdullah, 2018).

#### **2.7.1. Manfaat Fermentasi**

Manfaatnya adalah dapat membuat protein, memecah zat organik kompleks seperti protein, karbohidrat, dan lemak menjadi molekul yang lebih kecil agar lebih mudah dicerna. Itu juga bisa mengubah rasa dan aroma yang menyenangkan menjadi lebih enak. Manfaat lain ialah dapat mengawetkan produk pangan agar bisa disimpan lebih lama, dapat memberikan cita rasa yang baru, mengubah tekstur dari bahan pangan, proses fermentasi dilakukan dengan mikroba agar dapat meningkatkan nilai gizi pada produk fermentasi (Trinanda, 2015).

Pada proses fermentasi dengan campuran mikroba dapat berpengaruh untuk perubahan biokimia yang terpenting dalam biosintesis senyawa-senyawa kimia sebagai prekursor cita rasa kopi (Rubiyo, 2013). Proses fermentasi kopi yang berlebih dapat menghasilkan biji kopi hitam 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 (Poerwenty, 2021).

## **2.8. Bakteri Asam Laktat**

Proses pemanggangan dapat memanfaatkan komunitas bakteri BAL. Bakteri yang paling sering digunakan adalah *Lactobacillus*, yang memiliki fungsi penting dalam sistem pencernaan dan memiliki kemampuan kompetitif untuk membasmi bakteri berbahaya yang menyebabkan penyakit atau yang berpotensi memberikan dampak menguntungkan bagi fisiologi dan kesehatan manusia (Detha, 2019).

1. BAL merupakan bakteri yang sering digunakan sebagai probiotik yang bersifat nonpatogenik dan nonoksigenik. BAL dapat memproduksi bakteriosin yang merupakan peptida dengan mempunyai sifat antibakteri. BAL dibagi menjadi empat jenis, yaitu *Streptococcus*, *Leuconstoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* dan *bifidobacterium*. (Marnila, 2016).

*Lactobacillus* adalah kelompok bakteri yang dapat berfungsi sebagai ikatalisator untuk menghasilkan asam laktat selama proses glikolisis (Yang, Da, 2018).

### **2.8.1. Pemanfaatan Bakteri Asam Lektat**

Bakteri asam laktat mampu memfermentasi gula dan karbohidrat lain untuk menghasilkan volume asam laktat yang signifikan, yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan. Dimana kadar enzim protease cukup tinggi menyebabkan penurunan kadar kafein pada biji

kopi, asam laktat dapat digunakan untuk menurunkan kadar kafein pada kopi (Wiraputra damar, 2020).

Okticah (2021) mengatakan manfaat dari probiotik dapat mencegah terjadinya kanker. Selain itu, probiotik BAL mengandung asam amino yang membantu menurunkan tekanan darah, meningkatkan kekebalan tubuh, dan mencegah aksi enzim penghasil kolesterol, menurunkan kolesterol tubuh.

### **2.8.2. *Lactobacillus***

Salah satu organisme probiotik yang paling banyak dipelajari adalah *Lactobacillus*, yang menunjukkan karakteristik paling luas, termasuk kepositifan gram, non-sporulasi, negatif katalase dan oksidase, tidak adanya sitokrom, dan sifat non-aerobik dengan toleransi sedang terhadap oksigen.

Bakteri ini banyak digunakan sebagai pengawet makanan dan minuman karena bersifat nonpatogen, aman dikonsumsi manusia, dan berpotensi sebagai produk probiotik. Probiotik yang terbuat dari bakteri *Lactobacillus* memiliki kualitas yang menguntungkan dan dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan. Karena kelebihanannya dibanding bakteri asam laktat lainnya, *Lactobacillus* memiliki banyak potensi sebagai produk probiotik (Fauzi, 2015).

#### **a) *Lactobacillus Plantarum***

*Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu spesies dari bakteri asam laktat (BAL) dan memiliki sifat sebagai gram positif.

Bakteri ini biasanya digunakan untuk fermentasi dan memiliki sifat amilolitik. Pati segera diubah menjadi asam laktat oleh *L. Plantarum*. Saat digunakan sebagai starter dalam proses pembakaran, *L. Plantarum* berkontribusi pada peningkatan pembentukan asam laktat (Zulafa dan Muhammad, 2017).

## 2.9. Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah perangkat atau alat yang digunakan secara luas dalam analisis kimia. Biasanya, perangkat ini digunakan untuk memeriksa sampel tertentu yang berkonsentrasi pada pengukuran kualitatif dan kuantitatif. Konsekuensinya, baik digunakan di sektor pendidikan, penelitian, maupun industri, instrumen ini sangat krusial (Sölvason and Foley, 2015). Berperan dalam penilaian analisis kuantitatif dan kualitatif zat pada sampel di bidang pendidikan. Alat ini digunakan di tempat kerja untuk mengukur jumlah bahan kimia yang digunakan dalam usaha pewarna makanan dan menganalisis jumlah senyawa dalam limbah yang dihasilkan (Turak and Ozgur, 2013).

REM (radiasi elektromagnetik) dekat ultraviolet (190-380 nm) dan cahaya tampak (380-780 nm) digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis, suatu metode penyelidikan spektroskopi. Spektrofotometri UV-Vis sering digunakan untuk analisis kuantitatif dari pada analisis kualitatif karena mencakup energi elektronik yang tinggi dalam molekul yang dipelajari (Putri, 2017).

Meskipun sinar ultraviolet tidak dapat dilihat oleh mata manusia, namun dapat dilihat oleh beberapa hewan, termasuk burung dan reptil. Rentang panjang gelombang UV dekat adalah 10-200 nm sedangkan pada rentang panjang gelombang UV adalah 200-400 nm (Suhartati, 2017).

Struktur molekul-molekul organik dapat dipastikan dengan mengamati bagaimana mereka bereaksi dengan sinar UV dan sinar tampak. Elektron dengan ikatan dan elektron dengan non-ikatan atau elektron bebas adalah komponen molekul yang paling cepat terdeteksi oleh cahaya. Energi dalam cahaya tampak dan ultraviolet berinteraksi dengan elektron ketika mengenainya. Keadaan dasar elektron akan distimulasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Semakin banyak elektron yang tereksitasi, semakin tinggi absorbansinya. Eksitasi elektron ini ditangkap dalam bentuk spektrum, yang dinyatakan sebagai panjang gelombang yang diserap (Suhartati, 2017).

Manfaat menggunakan spektrofotometri UV-Vis termasuk kemampuannya untuk mengevaluasi bahan kimia organik dan anorganik, akurasi yang tinggi dengan kesalahan 1-3%, dan kemampuannya untuk membedakan konsentrasi zat yang sangat kecil (Rohmah, Muadifah and Martha, 2021). Dengan segala kelebihanannya, spektrofotometri UV-Vis juga memiliki beberapa kekurangan, antara lain syarat bahwa zat yang diteliti memiliki gugus

kromofor dengan ikatan rangkap konjugasi yang panjang gelombangnya melalui daerah sinar ultraviolet atau tampak, serta pH larutan, suhu, dan adanya pengotor, yang kesemuanya dapat mempengaruhi hasil penyerapan (Tetha, 2016).

### **2.9.1. Prinsip Kerja Spektrofotometri**

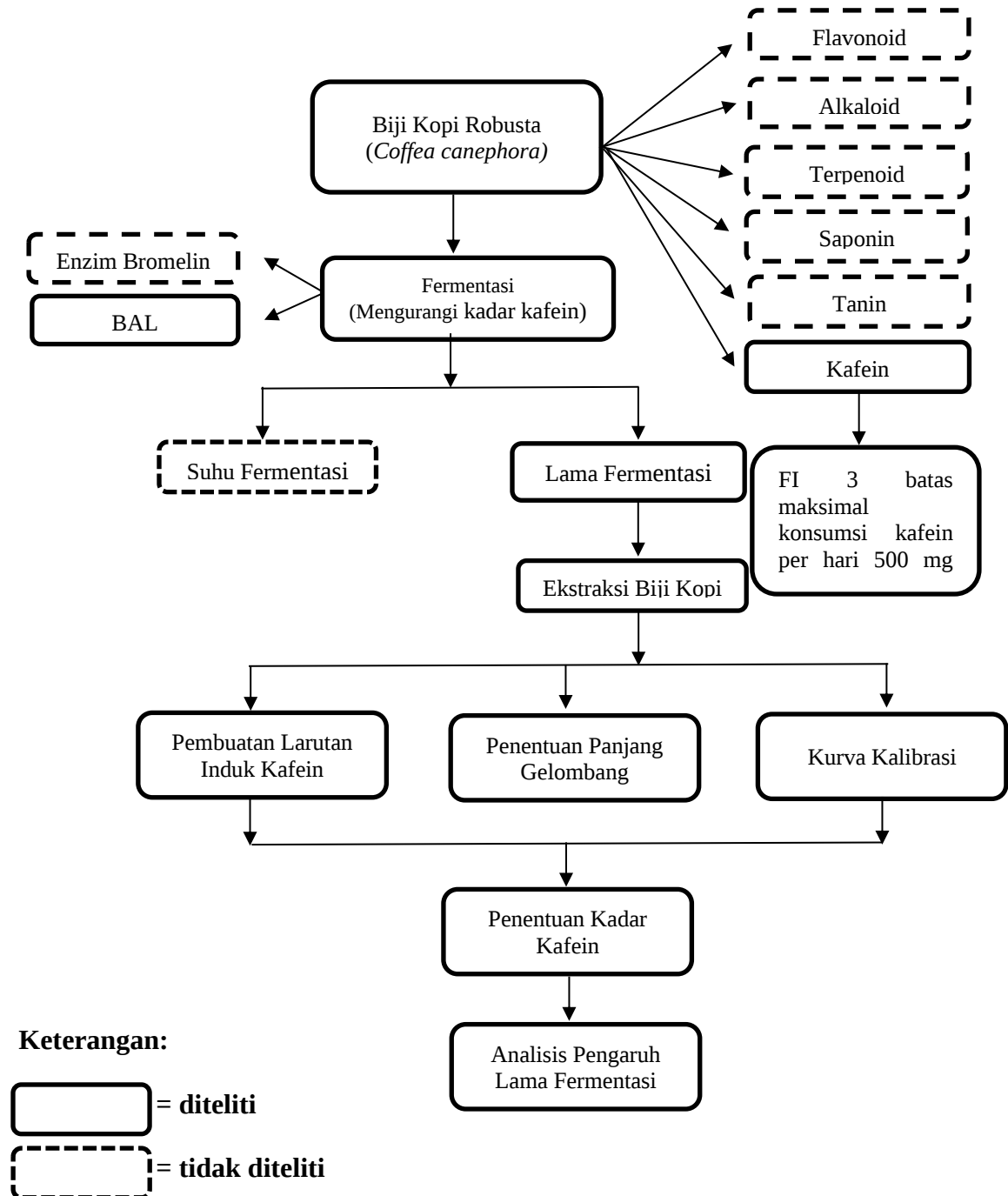
Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis yaitu bila cahaya monokromatik melintasi suatu media (larutan), maka sebagian cahaya itu di serap ( $I$ ), dan sebagian dipantulkan ( $I_r$ ), sebagiannya lagi dipancarkan ( $I_t$ ). Rumus ini diterapkan pada pengukuran kuantitatif dengan menggunakan metode komparatif berdasarkan kurva kalibrasi dari hubungan antara konsentrasi rangkaian larutan untuk analisis unsur kandungan rendah baik secara kuantitatif maupun kualitatif, pada plot kualitatif puncak yang dihasilkan oleh spektrum. Suatu unsur dan panjang gelombang tertentu, sedangkan bersifat kuantitatif terhadap nilai absorbansi yang diperoleh dari spektrum dengan adanya unsur tersebut. Hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa intensitas cahaya monokromatik yang ditransmisikan sebanding dengan ketebalan media transparan dan sensitivitas media larutan yang digunakan, juga menjadi dasar pengukuran spektrofotometer ini (Yanlinastuti and Fatimah, 2016).

Sumber cahaya UV dan sumber cahaya tampak adalah dua jenis sumber cahaya yang digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis. Kesederhanaan metode ini memungkinkan untuk diterapkan pada

sampel berwarna dan tidak berwarna. Spektrofotometer adalah nama perangkat yang digunakan dalam spektrofotometri. Alat ini adalah fotometer, yaitu alat untuk mengukur intensitas cahaya (30,32,33).

## BAB 3 KERANGKA KONSEP

### 3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

### 3.2. Hipotesis

Hipotesis, sebagaimana didefinisikan oleh Sugiyono (2016), adalah tanggapan sementara terhadap rumusan topik penelitian ketika rumusan masalah penelitian dinyatakan dalam bentuk pertanyaan. Untuk sementara karena tanggapan hanya didukung oleh teori yang gigih dan bukan oleh temuan empiris berbasis data. Oleh karena itu, daripada disajikan sebagai tanggapan empiris dulu, hipotesis juga dapat disajikan sebagai tanggapan teoretis terhadap spesifikasi masalah studi.

- 1) Hipotesis NOL ( $H_0$ ) : Tidak ada pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada kopi robusta (*Coffea canhepora*).
- 2) Hipotesis kerja ( $H_1$ ) : Ada pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi Robusta (*Coffea canephora*).

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1. Desain Penelitian**

Metode ilmiah untuk memperoleh data dengan kegunaan dan tujuan tertentu adalah desain penelitian (Sugiyono, 2016). Metode yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada kopi Robusta (*Coffea canephora*) dari PTPN XII Jember.

### **4.2. Populasi dan Sampel**

#### **4.2.1. Populasi**

Wilayah generalisasi yang disebut "populasi" terdiri dari hal-hal atau orang dengan atribut dan karakteristik yang telah ditentukan sebelumnya yang dapat dipelajari oleh peneliti dan diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2016). Populasi pada penelitian ini adalah tanaman kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari PT Perkebunan Nusantara XII yang ada di Kabupaten Jember.

#### **4.2.2. Sampel**

Sampel adalah bagian yang mewakili representasi dari ukuran dan susunan populasi (Sugiyono, 2016). Sampel pada penelitian ini adalah biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari PT. Perkebunan Nusantara XII yang ada di Kabupaten Jember.

### **4.3. Variabel Penelitian**

#### **4.3.1. Variabel *Independent***

Variabel yang mempengaruhi, mengendapkan, atau berkontribusi pada perkembangan variabel dependen dikenal sebagai variabel independen (Sugiyono, 2016). Variabel *independent* pada penelitian ini ialah lama fermentasi pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

#### **4.3.2. Variabel *Dependent***

Variabel dependen adalah salah satu variabel independen yang memiliki dampak atau yang mereka sebabkan (Sugiyono, 2016). Variabel pada penelitian ini adalah kadar kafein pada biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*).

### **4.4. Tempat Penelitian**

Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dikeringkan dan untuk penentuan kadar kafein dalam penelitian ini, yang dilakukan di Laboratorium Biologi & Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas dr. Soebandi Jember

### **4.5. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret – Juni 2023.

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

**Tabel 4.1 Definisi Operasional**

| Variabel Penelitian                                                | Definisi Operasional                                                                                                                           | Alat Ukur                                                                                                                                       | Cara ukur                                                                                                         | Skala | Hasil Ukur                                     |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------------------------------------|
| Lama Fermentasi pada biji kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) | Hasil dari lama waktu fermentasi dengan menggunakan BAL                                                                                        | Stopwach                                                                                                                                        | Tingkat kesempurnaan fermentasi diukur dari aroma kenampakan atau kelengketan lapisan lendir pada permukaan kulit | Rasio | Hasil ukurnya dinyatakan lama waktu fermentasi |
| Kadar kafein pada biji Kopi Robusta ( <i>Coffea Canephora</i> )    | Kadar kafein pada kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) merupakan suatu tindakan penetapan kadar kafein menggunakan Spektrofotometri UV-Vis | Perhitungan kadar kafein (mg/g)<br>$\frac{\text{konsentrasi } (\frac{Mg}{L}) \times V \text{ Pengenceran } (L) \times FP}{\text{Berat sampel}}$ | Dengan menggunakan persamaan regresi linier dan di masukan ke dalam rumus                                         | Rasio | Hasil ukurnya dinyatakan $\mu\text{m/ml}$      |

#### **4.7. Teknik Pengumpulan Data**

##### **4.7.1. Determinasi Tanaman**

Di UPT. Politeknik Pembangunan Pertanian Terpadu Negeri Jember, akan diidentifikasi biji kopi Robusta (*Coffea canephora*). Penetapan tersebut bertujuan untuk memastikan dengan pasti identifikasi tanaman yang diuji dan untuk mencegah kesalahan dalam mengumpulkan bahan penelitian utama (Dianitik, 2015).

##### **4.7.2. Pengambilan Sampel**

Sampel kopi Robusta (*Coffea canephora*) diperoleh dari PT Perkebunan Nusantara XII di Kabupaten Jember. Sampel yang digunakan yaitu bagian biji dari kopi Robusta.

##### **4.7.3. Fermentasi Sampel**

Biji kopi Robusta yang sudah tidak ada kulitnya ditimbang 1 kg, dipisahkan 100 gram tidak difermentasi dan 300 gram untuk difermentasi, BAL (*Lactobacillus plantarum*) sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam wadah fermentasi (toples kaca) yang berisi biji kopi dan ditambahkan aquades sebanyak 500 ml, kemudian dilakukan pengecekan pH dan tutup toples dan lapisi dengan plastik wrap kemudian dimasukkan ke dalam inkubator (37°C). Proses fermentasi disesuaikan dengan lama perlakuan 8, 16, dan 24 jam, setelah proses fermentasi selesai dilakukan pengecekan pH akhir kemudian biji kopi dikeringkan (Adrianto, 2020).

#### 4.7.4. Proses Pembuatan Ekstraksi

Biji yang menjadi bubuk kemudian diekstraksi; 2 gram bubuk kopi dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dicampur dengan 100 ml aquades panas; campuran tersebut kemudian disaring; filtrat kemudian dicampur dengan 2 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; kemudian ditempatkan di corong pemisah; dan terakhir, berturut-turut diekstraksi dengan kloroform 25 ml dilakukan tiga kali, filtrat ditampung di *beaker glass*. Untuk mendapatkan ekstrak kafein, fase kloroform diuapkan menggunakan penangas air atau *waterbath*.

#### 4.7.5. Optimasi Spektrofotometri UV-Vis

##### 1) Pembuatan Larutan Induk Baku Kafein

Larutan dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg kafein, memasukkannya ke dalam labu ukur 50 ml, melarutkannya dengan aquades panas, menambahkannya dengan aquades hingga tanda batas, dan mengocoknya hingga homogen.

##### 2) Optimasi Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan cara melakukan pengecekan larutan induk kafein 50 mg dengan konsentrasi 1000 ppm. Ditentukan panjang gelombang serapan maksimum dengan rentang panjang gelombang 200-400 nm (Fatoni, 2015).

### 3) Pembuatan Kurva Baku Kafein

Dipipet larutan baku standar kafein 10  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{L}$ , 40  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$  ke dalam kuvet 1 ml sehingga memperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, kemudian tambahkan aquades hingga tanda batas dihomogenkan. Setelah itu, serapan diukur pada panjang gelombang maksimum yang dicapai, dihitung persamaan regresi. dan  $Y = bx + a$ .

### 4) Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak kafein yang didapat dari ekstraksi sebelumnya, dilarutkan dengan aquades panas sebanyak 50 ml. Kemudian dilakukan pengenceran dengan cara dipipet 600  $\mu\text{L}$  untuk non fermentasi, 800  $\mu\text{L}$  untuk fermentasi 8 dan 18 jam, dan 500  $\mu\text{L}$  untuk fermentasi 24 jam larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet 1 ml dilakukan replikasi 3x. Kemudian ditentukan kadarnya dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Tjahjani, 2021).

### 5) Perhitungan Kadar Kafein

Penyerapan larutan sampel akan diukur pada panjang gelombang maksimum, dan penyerapan tertinggi akan dicatat. Persamaan regresi kurva kalibrasi standar akan digunakan untuk menghitung konsentrasi kafein.

Rumus berikut dapat digunakan untuk menentukan kandungan

kafein sampel:

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

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 didapatkan dari volume labu takar sampel.

Analisis dilakukan dengan memanfaatkan *statistic* hasil penambahan kadar tersebut untuk mengetahui variasi konsentrasi kafein antara kopi yang tidak difermentasi dan yang difermentasi dengan lama durasi 8, 16, dan 24 jam.

#### 6) Analisis Data

Data hasil penelitian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel setelah pendataan kandungan kafein kopi Robusta fermentasi dan nonfermentasi. Untuk mengetahui kadar kafein yang terendah dan tertinggi. Semua menggunakan analisis *IBM SPSS Statistic 26* untuk mengetahui uji normalitas data maka dilakukan dengan uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk*, dilanjutkan dengan uji homogenitas, kemudian yang terakhir menggunakan Uji *One Way Anova*.

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1. Data Umum Penelitian

#### 5.1.1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman yang digunakan memang merupakan bagian dari tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*), sesuai hasil penetapan tanaman yang dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu Politeknik Negeri Jember. Hasil penetapan tertera pada Lampiran 1 dengan nomor sertifikat No: 55/PL7.8/PG/2023.

### 5.2. Data Penelitian

#### 5.2.1. Fermentasi sampel

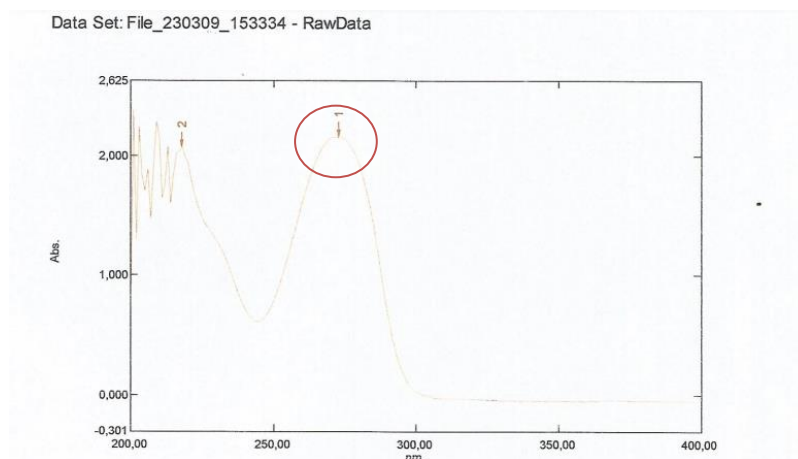
Hasil penelitian dari fermentasi dimana sampel yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam toples dan diberi aquades 500 ml kemudian dicek pH awal dan ditambahkan BAL *Lactobacillus plantarum* sebanyak 10 ml kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan plastik *wrap* dan dimasukkan ke dalam inkubator, dan setelah melakukan fermentasi sesuai jam dilakukan pengecekan pH akhir sampel menampilkan pekerjaan yang telah diselesaikan pada Tabel 5.1 :

**Tabel 5.1 Fermentasi Sampel**

| Bobot sampel | Lama fermentasi | Suhu  | pH Awal | pH Akhir |
|--------------|-----------------|-------|---------|----------|
| 100 gram     | 0 jam           | 37 °C | 6,1     | 6,1      |
| 100 gram     | 8 jam           | 37 °C | 6,1     | 5,5      |
| 100 gram     | 18 jam          | 37 °C | 6,1     | 5,3      |
| 100 gram     | 24 jam          | 37°C  | 6,1     | 4,8      |

### 5.2.2. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Hasil dari penelitian optimasi panjang gelombang maksimum yang dilakukan dengan standar kafein murni, prosedurnya adalah dengan menimbang 0,05 gram kafein dalam labu ukur 50 ml, melarutkannya dalam aquades panas, kemudian mengukur temuan menggunakan spektrofotometri UV-Vis seperti ditunjukkan pada Gambar 5.1.



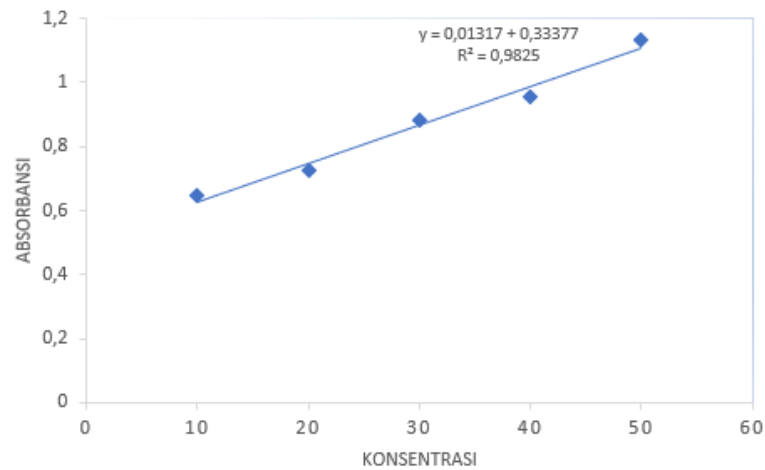
**Gambar 5.1 Panjang Gelombang**

Hasil panjang gelombang maksimum yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang 200-400 nm, adalah 273 nm.

### 5.2.3. Penetapan Kadar Kafein

Hasil dari penelitian penetapan kadar kafein dapat dihitung dengan cara memasukan persamaan regresi  $y = 0,01317 x + 0,33377$

yang didapat dari nilai absorbansi standar kafein yang telah dicek melalui spektrofotometri UV-Vis terdapat pada Gambar 5.2



**Gambar 5.2 Grafik Linieritas**

Setelah didapatkan nilai konsentrasi kemudian dilakukan perhitungan kadar kafein yang dapat dilihat pada Tabel 5.2

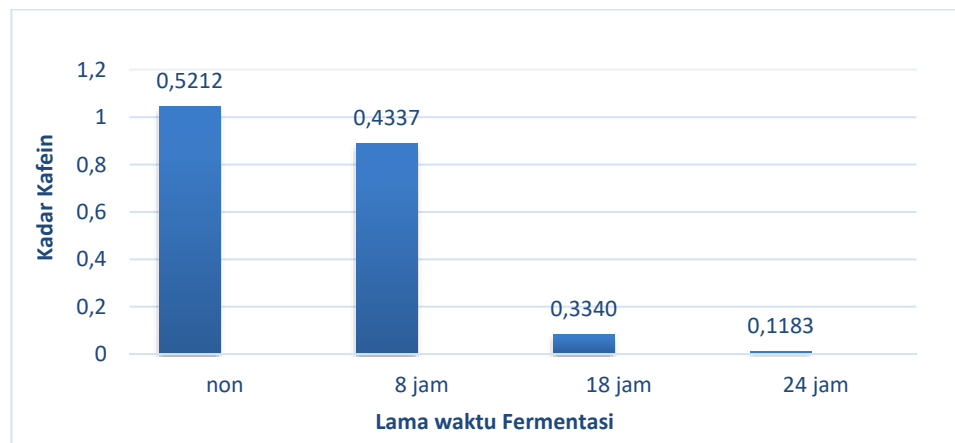
Tabel. 5.2 Perhitungan Kadar Kafein Pada Kopi Robusta

| Waktu fermentasi | Replikasi sampel | Y Absorbansi | X konsentrasi (ppm) | Kadar kafein (mg/g) | Rata-rata Kadar kafein | Sd     | Rsd    |
|------------------|------------------|--------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------|--------|
| Non fermentasi   | 1                | 0,878        | 41,2970             | 0,6195              |                        |        |        |
|                  | 2                | 0,751        | 31,6601             | 0,4679              | 0,5212                 | 0,0696 | 0,1335 |
|                  | 3                | 0,748        | 31,4324             | 0,4746              |                        |        |        |
| 8 (jam)          | 1                | 0,603        | 20,4295             | 0,4106              |                        |        |        |
|                  | 2                | 0,623        | 21,9472             | 0,4246              | 0,4437                 | 0,0314 | 0,0708 |
|                  | 3                | 0,654        | 24,2995             | 0,4860              |                        |        |        |
| 18 (jam)         | 1                | 0,541        | 15,7248             | 0,3616              |                        |        |        |
|                  | 2                | 0,530        | 14,8901             | 0,2978              | 0,3340*                | 0,0389 | 0,1166 |
|                  | 3                | 0,592        | 19,5948             | 0,3880              |                        |        |        |
| 24 (jam)         | 1                | 0,403        | 5,2532              | 0,0647              |                        |        |        |
|                  | 2                | 0,499        | 12,5378             | 0,1575              | 0,1183*                | 0,0392 | 0,3317 |
|                  | 3                | 0,475        | 10,7167             | 0,1326              |                        |        |        |

---

\*) berbeda signifikan dengan kelompok Nonfermentasi

Berdasarkan hasil data di atas kadar kafein pada kopi robusta memiliki perbedaan yang signifikan antara non fermentasi dan lama waktu fermentasi 18, 24 jam, sedangkan untuk non fermentasi dan fermentasi lama waktu 8 jam tidak memiliki perbedaan yang signifikan.



**Gambar 5.3 Gambar Diagram Hasil Fermentasi**

Berdasarkan Gambar Diagram 5.3 menunjukkan bahwasanya, ketika kopi tidak difermentasi maka kadar kafeinnya tinggi yaitu 0,5212 mg/g, ketika kopi tersebut difermentasi dengan lama waktu 8 jam yaitu 0,4437 mg/g, lama waktu 18 jam 0,3340 mg/g, dan lama waktu 24 jam 0,1183 mg/g. Dari hasil yang telah didapatkan kadar kafein pada kopi robusta yang paling rendah didapatkan pada hasil fermentasi 24 jam. Maka dapat disimpulkan dari data-data tersebut semakin lama fermentasi dapat menyebabkan kadar kafein semakin menurun.

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

Penelitian ini menggunakan sampel biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diambil dari PT. Perkebunan Nusantara XII di Kabupaten Jember yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi menggunakan BAL *Lactobacillus plantarum* terhadap kadar kafein.

### **6.1. Fermentasi Kopi**

#### **6.1.1. Fermentasi Kopi Menggunakan BAL**

Proses fermentasi kopi robusta pada penelitian ini menggunakan BAL, yaitu *Lactobacillus plantarum* dilakukan untuk menurunkan kadar kafein pada kopi robusta. Aktivitas bakteri proteolitik yang menimbulkan kadar enzim proteolitik yang cukup tinggi, yang menyebabkan kandungan kafein pada biji kopi berkurang dengan proses fermentasi yang lama, inilah yang menyebabkan penurunan kadar kafein pada kopi Robusta yang disuplementasi dengan BAL (Ristanti, 2013). Pada penelitian ini biji kopi difermentasi menggunakan BAL *Lactobacillus plantarum*, dimana kopi tersebut dibagi menjadi 3 bagian, setiap bagian berisi 100 gram biji kopi yang ditambahkan cairan BAL *Lactobacillus plantarum* sebanyak 10 ml, semua bagian yang sudah terisi BAL dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C dan dibedakan dengan perlakuan lama fermentasi 8 jam, 18 jam, 24 jam. Hasil penelitian kopi robusta menggunakan lama waktu 8 jam menunjukkan kadar kafein sebesar 0,4437 dengan pH 5,5, pada 18 jam memiliki kadar kafein 0,3340 dengan pH 5,3,

dan 24 jam dengan kadar kafein 0,1183 dengan pH 4,8. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin lama proses fermentasi dapat menurunkan kadar kafein.

Proses fermentasi tidak hanya dapat menurunkan kadar kafein, juga dapat menurunkan kadar pH. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Adrianto (2020), kadar kafein biji kopi Robusta semakin berkurang dengan bertambahnya durasi dari waktu fermentasi, hal ini terlihat dari semakin lama waktu fermentasi biji kopi Robusta maka kualitas kopi semakin baik. Penelitian yang dilakukan Abdullah (2018), aktivitas mikroba yang tidak hanya menurunkan kadar kafein tetapi juga dapat menurunkan pH berdampak pada saat proses fermentasi. Penumpukan asam organik dan peningkatan proton  $H^+$  akibat metabolisme bakteri akibat pemecahan asam amino inilah yang menyebabkan penurunan kadar pH (Adrianto, 2020).

Fermentasi juga termasuk salah satu faktor yang dapat mengubah citarasa kopi dari yang pahit menjadi tidak terlalu pahit, dikarenakan terjadinya pengurangan kadar kafein didalamnya, kafein yang dimana berperan sebagai penyumbang rasa pahit pada kopi mengalami pengurangan sehingga membuat kopi menjadi tidak terlalu pahit sehingga cocok untuk dikonsumsi sehari-hari. Hal ini disebabkan terjadinya hidrolisis protein menjadi asam amino bebas, sedangkan kafein memiliki sifat yang mirip dengan protein yaitu memiliki gugus amida. Pada saat proses fermentasi, enzim proteaseae

akan mendegradasi lapisan mucilage pada permukaan kopi hingga sitoplasma yang mengandung kafein dalam keadaan bebas (Budiman *et al.*, 2021).

## 6.2. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum melakukan perhitungan kadar sampel pada spektrofotometri UV-Vis, terlebih dahulu harus ditentukan panjang gelombang maksimum dengan tujuan agar bisa memberikan kepekaan sampel. Bentuk kurva absorbansi linier dan hasil yang cukup konstan jika dilakukan pengukuran berulang. Aquades panas adalah pelarut yang digunakan dalam penelitian ini untuk menghitung panjang gelombang maksimum. Penggunaan pelarut tersebut dikarenakan kafein sendiri mudah larut dengan aquades panas (Chairunnisa, 2021).

Selain digunakan sebagai pelarut, aquades juga digunakan sebagai blanko untuk mengkalibrasi peralatan spektrofotometri UV-Vis, mengurangi kesalahan pengguna alat dan diperoleh absorbansi dan panjang gelombang maksimum sampel dengan teliti. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mendapatkan panjang gelombang 273 nm pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Isnindar (2016) sesuai hasil pengukuran yang diperoleh panjang gelombang maksimum kafein adalah 273 nm. Secara teoritis, panjang gelombang maksimum kafein dalam larutan air adalah 273 nm. Maka dari itu, pengujian dengan dengan panjang gelombang maksimum ini dapat diaplikasikan. Hukum Lambert-Beer

terpenuhi jika panjang gelombang maksimum berbentuk kurva lurus dengan penyerapan linier (Gandjar dan Rohman, 2012).

### **6.3. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi adalah salah satu cara untuk memperoleh sediaan yang mengandung senyawa aktif dari suatu bahan alam menggunakan pelarut sesuai. Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa dari tumbuh-tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu (Mukhtarini, 2014). Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi cair-cair, umumnya dikenal sebagai ekstraksi solvent, adalah proses pemisahan fase cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asli dan pelarut pengestraksi. Ekstraksi sendiri dilakukan dengan menimbang serbuk kopi sebanyak 2 gram kemudian ditambahkan dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bertujuan untuk membuat kafein bekerja dengan baik dan terpisah dari senyawa lainnya, karena dapat menarik tanin dan zat lain selain kafein di dalam kopi. Larutkan dengan menambahkan aquades panas, tujuan pemberian pelarut dengan aquades ialah dikarenakan kafein sendiri mudah larut dengan aquades panas. Pelarut kloroform 25 ml dilakukan sebanyak tiga kali dalam corong pemisah untuk melanjutkan ekstraksi. Penggunaan pelarut kloroform dikarenakan kafein termasuk molekul alkaloid yang mudah larut dalam kloroform tetapi sulit larut dalam air,

etanol atau eter (Ansel, 2013). Sedangkan metode corong pisah ekstraksi cair-cair ialah memisahkan suatu zat dengan senyawa tertentu (Chairunnisa, 2021).

Setelah didapatkan filtrat yang diinginkan kemudian dilakukan pemanasan menggunakan kompor, hasil yang didapatkan nantinya akan berupa kerak. Kerak kemudian dilarutkan dengan aquades panas hingga tanda batas dalam labu ukur 50 ml.

#### **6.4. Pembuatan Kurva Baku**

Pembuatan kurva baku standar digunakan untuk mencari persamaan regresi linier sehingga dapat digunakan dalam pencarian suatu kadar yang absorbansinya telah diukur. Kurva baku dikatakan baik apabila nilai koefisien korelasi atau nilai ( $r$ ) mendekati 1. Kurva baku dibuat melalui pengukuran deret konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm kemudian diplot dengan absorbansi masing-masing sebagai sumbu  $y$  dan sumbu  $x$ .

Berdasarkan hasil pembentukan kurva terlihat bahwa nilai absorbansi yang dihasilkan meningkat sejalan dengan konsentrasi, dengan koefisien korelasi sebesar 0,9825 dan persamaan  $y = 0,01317x + 0,33377$  diturunkan dari kurva. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang mendekati 1 ini menunjukkan kurva kalibrasi memenuhi syarat.

#### **6.5. Penetapan Kadar Kafein Biji Kopi Robusta**

Data diperoleh dari absorbansi larutan sampel, dan dibuat kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier. Pengukuran absorbansi sampel

dimasukkan sebagai alternatif ke dalam persamaan regresi linier  $y=bx+a$ . Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menetapkan kadar kafein dari biji kopi robusta yang belum terfermentasi dan sudah terfermentasi. Penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis dapat dianalisis dengan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Senyawa dengan gugus aukokrom dan gugus kromofor dapat ditemukan dengan menggunakan teknik spektrofotometri UV-Vis (Ruslin, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kafein dengan lama waktu fermentasi 8 jam 0,4437%, lama waktu fermentasi 18 jam 0,3340%, dan lama waktu fermentasi 24 jam 0,1183%. Penelitian ini sejalan dengan penelitian milik Adrianto (2020), dengan hasil penelitian kadar kafein lama waktu fermentasi 8 jam 0,35%, lama waktu fermentasi 16 jam 0,34%, dan lama waktu fermentasi 24 jam 0,28%. Dimana lama proses fermentasi yang dilakukan dapat menyebabkan kadar kafein pada kopi semakin menurun. Penurunan kadar kafein pada kopi diakibatkan karena adanya aktivitas bakteri asam proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi sehingga menyebabkan kadar kafein pada kopi semakin menurun dengan proses lama fermentasi (Ristanti, 2013).

Santoso (2023) menegaskan 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 lama waktu 8, 18, 24 jam dan non fermentasi yaitu dengan mensubstitusikan absorbansi sampel kedalam persamaan  $y=0,01318x + 0,33371$  sehingga mendapatkan konsentrasi. Setelah mendapatkan konsentrasi dilakukan perhitungan selanjutnya menggunakan rumus penetapan kadar.

Setelah dilakukan perhitungan menggunakan rumus didapat hasil dari kadar kafein yaitu non fermentasi 0,5212 mg/g, 18 jam 0,4437 mg/g, 18 jam 0,3340 mg/g, 24 jam 0,1183 mg/g hasil perhitungan terdapat dalam lampiran.

Temuan penelitian ini konsisten dengan temuan penelitian dari Adrianto, (2020). Kadar kafein dapat menurun dikarenakan telah melakukan proses fermentasi dengan menggunakan BAL *Lactobacillus* dengan lama waktu 24 jam (Adrianto, 2020).

Berdasarkan kadar kafein yang telah didapatkan, jika kopi dalam penelitian ini dikonsumsi untuk sehari-hari masih dalam batas aman dikarenakan kopi dalam penelitian ini memiliki kandungan kafein yang rendah maka dari itu mengkonsumsi kopi tiga kali sehari masih aman.

## 6.6. Analisis Data

Setelah biji kopi robusta diberikan perlakuan dengan fermentasi menggunakan BAL (*Lactobacillus plantarum*), kemudian dilakukan pengujian hipotesis yang diajukan. Data yang diambil adalah hasil dari

kadar kafein pada biji kopi robutsa (*Coffea canephora*) yang non fermentasi dan fermentasi dengan lama waktu 8 jam, 18 jam, dan 24 jam. Sebelum dilakukan pengujian hipotesis, dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas terlebih dahulu.

Uji normalitas digunakan untuk menentukan apakah 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 (Jayantika, 2018).

Dengan menggunakan pengujian *Saphiro-Wilk* untuk menentukan uji normalitas, diperoleh data kadar kafein dalam kopi Robusta ialah non fermentasi dan fermentasi lama waktu 8, 18, 24 jam. Dengan nilai sig untuk non fermentasi  $0,0594 > 0,05$ , fermentasi 8, 18, 24 jam dengan nilai sig  $0,334 > 0,05$ ,  $0,297 > 0,05$  dan  $0,142 > 0,05$ , dari data diatas dapat dikatakan bahwa semua data dari non fermentasi dan lama waktu fermentasi 8, 18, 24 jam 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 lama waktu 8, 18, 24 jam 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 didapatkan dengan 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 lama waktu 8, 18, 24 jam dikatakan memiliki perbedaan.

Berdasarkan hasil uji analisis yang menggunakan uji *One Way Anova* dapat dikatakan  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Sehingga terdapat pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*). Jadi, dapat disimpulkan bahwasannya semakin lama kopi difermentasi akan mempengaruhi kadar kafein yang terdapat pada kopi tersebut.

Menurut uji *Post Hoc Tests* dari semua hasil kadar kafein pada kopi robusta menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok non fermentasi dan kelompok fermentasi dengan lama waktu 18, 24 jam, sedangkan pada kelompok non fermentasi dan fermentasi dengan lama waktu 8 jam tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

## BAB 7 KESIMPULAN

### 7.1 Kesimpulan

1. Kadar kafein pada kopi robusta yang mengalami non fermentasi sebesar 0,5212 mg/g dan mengalami proses fermentasi dengan lama waktu 8 jam sebesar 0,4437 mg/g, 18 jam sebesar 0,3340 mg/g, dan 24 jam sebesar 0,1183 mg/g.
2. Hasil analisis *statistic* menunjukkan bahwa kadar kafein pada proses non fermentasi dan fermentasi dengan lama waktu, 18 jam, dan 24 jam menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.
3. Semakin lama waktu fermentasi kopi robusta menggunakan BAL (*Lactobacillus plantarum*) maka kadar kafeinnya semakin menurun.

### 7.2 Saran

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta menggunakan metode analisis yang lain, seperti HPLC.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang fermentasi dengan menggunakan penambahan mikroorganisme yang lain.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait skrining fitokimia terhadap senyawa dalam kopi yang telah mengalami proses fermentasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, T. dan 2018 ‘Pengaruh Fermentasi Menggunakan Bakteri Asam Laktat Yoghurt Terhadap Citarasa Kopi Robusta (*Coffea Robusta*)’, *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, pp. 96–97.
- 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), pp. 163–169.
- Afriliana, 2018 ‘*Teknologi Pengolahan Kopi Terkini*’, Yogyakarta: CV Budi Utama.
- Alexander, I. and Nadapdap, H.J. 2019 ‘Analisis Daya Saing Ekspor Biji Kopi Indonesia Di Pasar Global Tahun 2002-2017’, *JSEP (Journal of Social and Agricultural Economics)*, 12(2), p. 1.
- Ansel, 2013 ‘*Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*’, Jakarta.
- Aryadi, M.I., Arfi, F. and Harahap, M.R. 2020 ‘Perbandingan Kadar Kafein dalam Kopi Robusta (*Coffea canephora*), Kopi Arabika (*Coffes arabica*) dan Kopi Liberika (*Coffea liberica*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis’, *Amina*, 2(2), p. 68.
- Assa, A. et al. 2021 ‘Potensi Senyawa Aktif Biji Kopi Sebagai Imunodulator (Ulasan)’, *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 15(2), pp. 279–290.
- Budiman, I. et al. 2021 ‘Studi Fermentasi Biji Kopi Menggunakan Enzim Proteolitik’, *Jurnal Serambi Engineering*, 6(4), pp. 2228–2235.
- Chairunnisa, T. dan 2021 ‘Analisis Perbedaan Kadar Kafein Pada Kopi Bubuk Hitam dan Kopi Bubuk Putih Instan Secara Spektrofotometri UV-Vis’, *Cendikia Journal Pharmacy*, 5(1), pp. 52–62.
- Chamidah, S. 2012 ‘*Daya Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Terhadap Pertumbuhan Porphyromonas gingivalis*’, Universitas Jember.
- Detha, N. 2019 ‘Karakteristik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Susu Kuda Sumba’, *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), pp. 85–92.
- Ditjenbun, 2021 ‘*Statistik Perkebunan Unggulan Nasional 2019-2021, Direktorat Jendral Perkebunan Kementerian Pertanian Republik Indonesia*’, Available at: <https://ditjenbun.pertanian.go.id/template/uploads/2021/04/BUKU-STATISTIK-PERKEBUNAN-2019-2021-OK.pdf>.
- Farhaty, M. 2012 ‘Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi: Review’, *Farmaka*, 14(1), p. 215.

- Fauzi, L.C. 2015 'Penentuan Kadar Parasetamol dan Kafein dalam Campuran Tablet Parasetamol Kafein Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis Derivatif Determination Level of Paracetamol and Caffeine in Tablet Contain Paracetamol-Caffeine Using Spectrophotometry Derivative', *Universitas Padjajaran*
- Fenni, 2012 '*Khasiat Bombastis Kopi*', Jakarta: Gramedia.
- Hafidz, 2021 '*Kopi Indonesia*', Jakarta: Yayasan Kita Menulis.
- Hidayanto, P. 2017 '*Modul Mata Kuliah Teknologi Fermentasi*', Jakarta: Program Studi Bioteknologi, Universitas Esa Unggul.
- Isnindar, 2016 'Analisis Kandungan Kafein Pada Ekstrak Buah Kopi Mentah Dari Perkebunan Merapi Daerah Istimewa Yogyakarta Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis', *Pharmakon*, 5(2), pp. 838–841.
- Jayantika, P. dan 2018 '*Panduan Penelitian Eksperimen Beserta Analisis Statistik dengan SPSS*', Yogyakarta: CV. Budi Utama.
- Lestari, F., Wirandoko, I.H. and Sanif, M.E. 2020 'Pengaruh Kebiasaan Minum Kopi Terhadap Grade Hipertensi pada Laki-laki Usia Produktif di Wilayah Kerja Puskesmas Larangan Kota Cirebon', *Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan*, 6(1), pp. 33–34.
- Maimuna, Monado, F. and Royani, I. 2020 'Studi awal pengaruh kloroform sebagai pelarut pada proses ekstraksi molecularly imprinted polymer (MIP) nano kafein', *Jurnal Fisika*, 10(1), p. 1.
- Maramis, R.K., Citraningtyas, G. and Wehantouw, F. 2013 'Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(4), p. 123.
- Maria Ulfa, A. 2018 'Perbandingan Kadar Kafein Dalam Seduhan Kopi Bubuk Dan Teh Bubuk Dengan Metode Spektrofotometri Uv Comparison of the Levels of Caffeine in the Cup of Coffee Powder and Tea Powder With Uv Spectrophotometric Method', *Jurnal Analis Farmasi*, 3(3), pp. 215–222.
- Marnila, 2016 '*Skripsi Isolasi dan Karakteristik Mikroba Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Saluran Pencernaan Doc Broiler*', UIN Alauddin Makassar.
- Mezza, A. 2021 'Kopi dan Diabetes Melitus Tipe 2', *Jurnal Medika Hutama*, 02(04), pp. 1152–1156.
- Mukhtarini, 2014 'Mukhtarini, "Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif", *J. Kesehat.*, VII(2), p. 361.
- Mumin, Akhter, Abedin, H. 2006 'Determination and Characterization of Caffeine in Tea , Coffee and Soft Drinks by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE–HPLC)', *Malaysian Journal of Chemistry*, 8(1), pp. 045–046.

- Nugroho, 2019 '*Skripsi Hubungan Jenis Kopi Terhadap Kualitas Tidur Pada Mahasiswa*', Universitas Muhammadiyah Ponorogo.
- Okticah, 2021 '*Pengaruh Variasi Jenis Rebung Dan Ikan Terhadap Kandungan Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Makanan Fermentasi Rebung*', Program Studi Gizi dan Dietika, Poltekes Kemenkes Bengkulu.
- Parnadi, F. and Loisa, R. 2018 '*Analisis Daya Saing Ekspor Kopi Indonesia Di Pasar Internasional*', *Jurnal Manajemen Bisnis Dan Kewirausahaan*, 02(4), pp. 52–61.
- Poerwanty, N. 2021 '*Pengaruh Suhu Dan Lama Fermentasi Kopi Terhadap Kadar Kafein*', *J. Agrolantae*, 10(2), pp. 124–130.
- Putri, 2017 '*Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna KMnO<sub>4</sub> Dengan Metoda Spektroskopi UV Visible*', *Natural Science Journal*, 3(1), p. 391.
- Rahardjo, 2012 '*Kopi Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*', Jakarta: Penebar Swadaya.
- Depkes RI, 2014 '*Farmakope Indonesia v*', Jakarta.
- Riastuti, A.D., Komarayanti, S. and Utomo, A.P. 2021 '*Karakteristik Morfologi Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Pascapanen di Kawasan Lereng Meru Betiri Sebagai Sumber Belajar Smk Dalam Bentuk E-Modul*', *Jurnal Ilmu Pendidikan*, 5(2), p. 3.
- Ristanti, F. dan 2013 '*Penurunana Kadar Kafein Dan Asam Total Pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Teknologi Fermentasi Anaerob Fakultatif Dengan Mikroba MZ-15*', *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(3), pp. 70–75.
- Rochani, Yuniningsih, M. 2015 '*Pengaruh Konsentrasi Gula Larutan Molases Terhadap Kadar Etanol pada Proses Fermentasi*', *Jurnal Reka Buana*, 1(1), p. 45.
- Rohmah, S.A.A., Muadifah, A. and Martha, R.D. 2021 '*Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis*', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2), pp. 120–127.
- Rubiyo, T. 2013 '*Pengaruh Fermentasi Terhadap Citarasa Kopi Luwak Probiotik*', *Buletin Ristri*, 4(2), pp. 175–182.
- Santoso, P. 2023 '*Pengaruh Konsumsi Kopi Terhadap Hipertensi*', *Jurnal Kesehatan*, 12(1), pp. 74–81.
- Sholehah, C.W.M. 2019 '*Analisa Kadar Kafein pada Kopi Jenis Robusta dengan Menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet*', Institut Kesehatan Helvetia. Medan.
- Sölvason, G.Ó. and Foley, J.T. (2015) '*Low-cost Spectrometer for Icelandic Chemistry Education*', *Procedia CIRP*, 34, pp. 156–161.

- Suhartati, 2017 '*Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*', Lmapung: CV. Anugrah Utama Raharja.
- Sunarharum. 2019 '*Sains Kopi Indonesia*', Malang: UB Press.
- Taringan, E.B., Herawati, D. and Puspo Edi Giriwono 2020 'Komponen Bioaktif Kopi Berpotensi sebagai Antidiabetes', *Perspektif*, 19(1), pp. 41–52.
- Tetha, S. 2016 'Pebandingan Metode Analisa Kadar Besi antara Serimetri dan Spektrofotometer UV-Vis dengan Pengompleks 1,10- Fenantrolin', *Akta Kimia Indonesia*, 1(1), p. 8.
- Trinanda, 2015 '*Skripsi Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (L. Plantarum dan L. Fermentum) Terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai Pada Bubur Instan Terfermentasi*', Program Studi Kimia Jurusan Pendidikan Kimia. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Turak, F. and Ozgur, M.U. 2013 'Simultaneous determination of Allura Red and Ponceau 4R in drinks with the use of four derivative spectrophotometric methods and comparison with high-performance liquid chromatography', *Journal of AOAC International*, 96(6), pp. 1377–1386.
- Usman, Supriyadi, K. 2015 'Fermentasi Kopi Robusta ( *Coffea canephora* ) Menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Feces Luwak Dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi', *Jurnal Biologi*, 4(3), pp. 31–40.
- Wigati, Pratiwi, Nissa, U. 2018 'Uji Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) dari Bogor Bandung dan Garut Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(2), p. 60.
- Wiraputra damar, 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', *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 31(2), pp. 163–169.
- Yang, Da, Z. 2018 'Role of *Lactobacillus* in cervical cancer', *Cancer Management and Research*, 10, pp. 1219–1229.
- Yanlinastuti and Fatimah, S. 2016 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis', *Pusat Teknologi Bahan Nuklir*, 9(17), pp. 22–33.
- Zarwinda, I. and Sartika, D. 2019 'Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kafein Dalam Kopi', *Lantanida Journal*, 6(2), pp. 103–202.
- Zulafa dan Muhammad, R. 2017 'Skrining *Lactobacillus plantarum* Penghasil Asam Laktat untuk Fermentasi Mocaf', *Agritech*, 37(4), p. 437.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Dari Determinasi Tanaman

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](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**  
 No: 55/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1033/FIKES.UDS/U/II/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Rizka Handayani  
 NIM : 19040114  
 Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

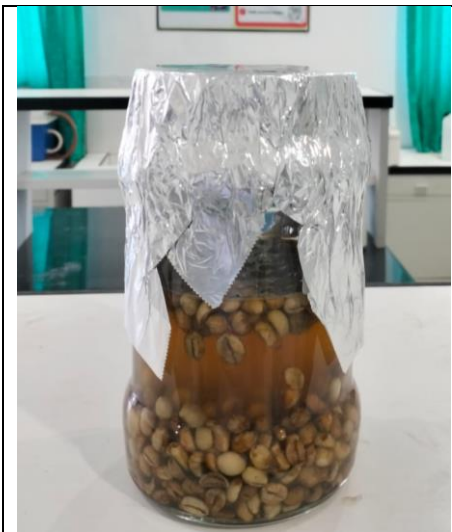
maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora, Pierre.*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

  
 Jember, 20 Maret 2023  
 Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
 Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
 NIP. 197106212001121001

**Lampiran 2. Fermentasi Kopi**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
|  A photograph showing the preparation of coffee fermentation materials and tools. On a dark surface, there is a white plastic bottle of 'Purifikasi' (sterilization) solution, a clear plastic bottle of water, a small metal pot, a red digital scale, and a clear plastic container filled with coffee beans. | <p><b>Proses persiapan bahan dan alat fermentasi</b></p>         |
|  Two photographs. The top one shows two clear glass jars filled with coffee beans. The bottom one shows a gloved hand pouring a white liquid from a bottle into a test tube, which is then being added to a jar of coffee beans.                                                                               | <p><b>Proses masuknya bakteri dalam toples berisi kopi</b></p>   |
|  A photograph showing coffee fermentation in an incubator. Several glass jars containing coffee beans are placed inside the incubator, which is set to 37°C. The jars are covered with aluminum foil.                                                                                                         | <p><b>Proses fermentasi dalam inkubator dengan suhu 37°C</b></p> |

|                                                                                     |                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|    | <p><b>Perbandingan kopi yang telah terfermentasi dan belum terfermentasi</b></p> |
|   |                                                                                  |
|  | <p><b>Pengecekan pH setelah proses fermentasi</b></p>                            |

### Lampiran 3. Perhitungan Penentuan Konsentrasi Optimum

#### A. Pembuatan Larutan Standar Kafein

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 1000$$

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

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

- $10 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 10 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 10$
- $20 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 20 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 20$
- $30 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 30 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 30$
- $40 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 40 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 40$
- $50 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 50 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 50$
- $60 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 60 \text{ ppm}$   
 $\mu\text{L} = 60$

#### B. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Fermentasi Kopi

- Non Fermentasi  
 $60 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 60 \text{ ppm}$   
 $= 600 \mu\text{L}$
- Fermentasi 8 jam  
 $80 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 80 \text{ ppm}$   
 $= 800 \mu\text{L}$
- Fermentasi 18 jam  
 $80 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 100 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{L} \times 80 \text{ ppm}$

$$= 800 \mu\text{L}$$

- Fermentasi 24 jam

$$\begin{aligned} 50 \text{ ppm} \rightarrow \mu\text{L} \times 100 \text{ ppm} &= 1000 \mu\text{L} \times 50 \text{ ppm} \\ &= 500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

#### Lampiran 4. Perhitungan Penetapan Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta

Penimbangan yang diperoleh :

- Non Fermentasi
  - Replikasi 1 = 2000 mg
  - Replikasi 2 = 2030 mg
  - Replikasi 3 = 1980 mg
- Fermentasi 8 jam
  - Replikasi 1 = 1990mg
  - Replikasi 2 = 2020 mg
  - Replikasi 3 = 2000 mg
- Fermentasi 18 jam
  - Replikasi 1 = 1990 mg
  - Replikasi 2 = 2000 mg
  - Replikasi 3 = 2020 mg
- Fermentasi 24 jam
  - Replikasi 1 = 2030 mg
  - Replikasi 2 = 1990 mg
  - Replikasi 3 = 2020 mg

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

- Non Fermentasi

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 1 Kadar Kafein } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) &= \frac{41,2970 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,6}{2(\text{g})} \\ &= 0,6195 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 2 Kadar Kafein } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) &= \frac{31,6601 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,6}{2,03(\text{g})} \\ &= 0,4679 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\text{Replikasi 3 Kadar Kafein } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \frac{31,4324 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,6}{1,98(\text{g})}$$

$$= 0,4762 \text{ mg/g}$$

- Fermentasi 8 jam

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 1 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{20,4269 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{1,99(\text{g})} \\ &= 0,4106 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 2 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{21,9472 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{2,02(\text{g})} \\ &= 0,4346 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 3 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{24,2995 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{2(\text{g})} \\ &= 0,4860 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

- Fermentasi 18 jam

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 1 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{15,7249 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{1,99(\text{g})} \\ &= 0,3161 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 2 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{14,8902 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{2(\text{g})} \\ &= 0,2978 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 3 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{19,5949 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,8}{2,02(\text{g})} \\ &= 0,3880 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

- Fermentasi 24 jam

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 1 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{5,2532 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,5}{2,03(\text{g})} \\ &= 0,0647 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 2 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{12,5379 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,5}{1,99(\text{g})} \\ &= 0,1575 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replikasi 3 Kadar Kafein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) &= \frac{10,7167 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 0,05(\text{L}) \times 0,5}{2,02(\text{g})} \\ &= 0,1326 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

## Lampiran 5. Analisis Data

### A. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

|              |                 | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------|-----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|              | Lama_fermentasi | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| Kadar_kafein | 0 jam           | ,263                            | 3  | .    | ,956         | 3  | ,594 |
|              | 8 jam           | ,320                            | 3  | .    | ,883         | 3  | ,334 |
|              | 18 jam          | ,328                            | 3  | .    | ,871         | 3  | ,297 |
|              | 24 jam          | ,359                            | 3  | .    | ,811         | 3  | ,142 |

a. Lilliefors Significance Correction

### B. Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

|              |                                      | Levene Statistic | df1 | df2   | Sig. |
|--------------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Kadar_kafein | Based on Mean                        | 3,891            | 3   | 8     | ,055 |
|              | Based on Median                      | ,355             | 3   | 8     | ,787 |
|              | Based on Median and with adjusted df | ,355             | 3   | 3,690 | ,790 |
|              | Based on trimmed mean                | 3,249            | 3   | 8     | ,081 |

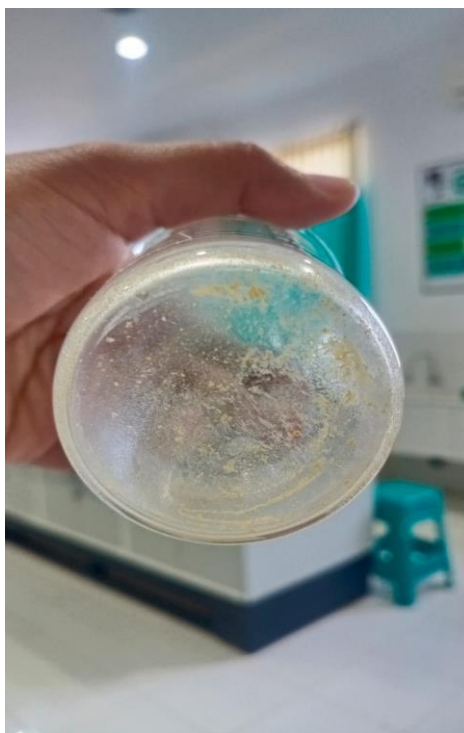
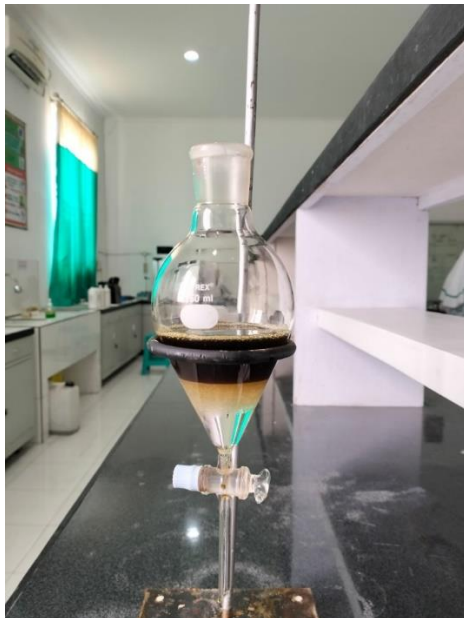
### C. Uji One Way Anova

#### ANOVA

Kadar\_kafein

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 2,575          | 3  | ,858        | 98,688 | ,000 |
| Within Groups  | ,070           | 8  | ,009        |        |      |
| Total          | 2,645          | 11 |             |        |      |

## Lampiran 6. Proses Ekstraksi Cair-Cair



## Lampiran 7. Uji *Post Hoc*

### Multiple Comparisons

LSD

| (I) lama waktu fermentasi | (J) lama waktu fermentasi | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|---------------------------|---------------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                           |                           |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| 0 jam                     | 8 jam                     | ,1551667              | ,0769295   | ,078 | -,022233                | ,332567     |
|                           | 18 jam                    | ,8768667*             | ,0769295   | ,000 | ,699467                 | 1,054267    |
|                           | 24 jam                    | 1,0204667*            | ,0769295   | ,000 | ,843067                 | 1,197867    |
| 8 jam                     | 0 jam                     | -,1551667             | ,0769295   | ,078 | -,332567                | ,022233     |
|                           | 18 jam                    | ,7217000*             | ,0769295   | ,000 | ,544300                 | ,899100     |
|                           | 24 jam                    | ,8653000*             | ,0769295   | ,000 | ,687900                 | 1,042700    |
| 18 jam                    | 0 jam                     | -,8768667*            | ,0769295   | ,000 | -1,054267               | -,699467    |
|                           | 8 jam                     | -,7217000*            | ,0769295   | ,000 | -,899100                | -,544300    |
|                           | 24 jam                    | ,1436000              | ,0769295   | ,099 | -,033800                | ,321000     |
| 24 jam                    | 0 jam                     | -1,0204667*           | ,0769295   | ,000 | -1,197867               | -,843067    |
|                           | 8 jam                     | -,8653000*            | ,0769295   | ,000 | -1,042700               | -,687900    |
|                           | 18 jam                    | -,1436000             | ,0769295   | ,099 | -,321000                | ,033800     |

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

