

**PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK KULIT BUAH NANAS DAN
BUAH PEPAYA TERHADAP DEKAFEINASI GREEN BEAN KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

SKRIPSI

**Oleh:
EVA NUR WIDYA
NIM.18630072**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK KULIT BUAH NANAS DAN
BUAH PEPAYA TERHADAP DEKAFEINASI GREEN BEAN KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

SKRIPSI

**Oleh:
EVA NUR WIDYA
NIM.18630072**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK KULIT BUAH NANAS DAN
BUAH PEPAYA TERHADAP DEKAFEINASI GREEN BEAN KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

SKRIPSI

Oleh:
EVA NUR WIDYA
NIM.18630072

Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal: 14 Desember 2023

Pembimbing I



Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II



Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIP. 19900906 202321 2 033

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia



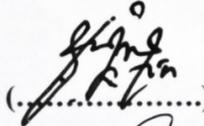
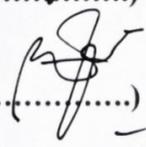
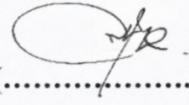
Rachmawati Wingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK KULIT BUAH NANAS DAN
BUAH PEPAYA TERHADAP DEKAFEINASI GREEN BEAN KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

SKRIPSI

Oleh:
EVA NUR WIDYA
NIM.18630072

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 20 Desember 2023**

Penguji Utama	: Dr. Anik Maunatin, M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248	 (.....)
Ketua Penguji	: Rif'atul Mahmudah, M.Si NIP. 19830125 202321 2 020	 (.....)
Sekretaris Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P NIP. 19750410 200501 2 009	 (.....)
Anggota Penguji	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc NIP. 19900906 202321 2 033	 (.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Eva Nur Widya
NIM : 18630072
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya Terhadap Dekafeinasi Green Bean Kopi Robusta (*Coffea canephora*).

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 Desember 2023
Yang membuat pernyataan,



Eva Nur Widya
NIM. 18630072

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Puji syukur kepada Allah Swt. yang telah memberikan kesehatan dan menggariskan takdir terbaik dari untaian harapan yang terselimut dalam do'a yang selalu saya panjatkan sehingga tugas akhir saya yang masih jauh dari kata sempurna ini dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa, sholawat serta salam yang selalu terpanjatkan kepada Baginda Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua yang sangat saya cintai, Bapak Bahrudin dan Ibu Maghfiroh serta adik yang sangat saya sayangi Nadia yang senantiasa memanjatkan doa-doa yang indah untuk saya, senantiasa sabar, memberikan motivasi, dukungan, serta kepercayaan yang tak terhingga untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.

Seluruh dosen kimia UIN Malang khususnya Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P; Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc; Ibu Eny Yulianti, M.Si; Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc; Ibu Dr. Anik Ma'unatin, S.T., M.P; Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si, serta seluruh laboran jurusan Kimia yang selalu memberikan motivasi, bimbingan, serta ilmunya.

Teman-teman kimia 2018, khususnya kimia C 2018, teman-teman yang telah membantu proses di laboratorium, teman-teman MAN 2 Lamongan (Wan Aini, Vanya, Iddah, Eva), teman dari maba hingga sekarang (Odelia, Dita, Kanty, Sela, Anwar, Zaid, Anam), teman pondok (Mbak Alfiah, Mbak Aning, Mbak Alvy Raisa) yang selalu menemani, membantu dan mendengarkan segala keluh kesah saya hingga saat ini.

MOTTO

"...but ready or not, life goes on."

~ *Sidney Sheldon*

"You can't skip chapters, that's not how life works. You have to read every line, meet every character. You won't enjoy all of it. Hell, some chapters will make you cry for weeks. You will read things you don't want to read, you will have moments when you don't want the pages to end. But you have to keep going.

Stories keep the world revolving. Live yours, don't miss out. "

~ *Pillow Thoughts II by Courtney Peppernell*

Every situation in life is temporary. So, when life is good, make sure you enjoy and receive it fully. When life is not too good, remember that it will not last forever and better days are on the way.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya Terhadap Dekafeinasi Green Bean Kopi Robusta (*Coffea canephora*)”**. Semoga semua yang penulis upayakan dapat memberikan manfaat kepada pembaca. Selawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada *Habibanaa wa Nabiyanaa* Muhammad saw. Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, khususnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan memotivasi penulis selama penyusunan dan penyelesaian skripsi.
5. Ibu Lulu’atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing dan memotivasi penulis selama penyusunan dan penyelesaian skripsi.
6. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen wali yang telah memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.
7. Seluruh dosen program studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu dan wawasan kepada penulis.
8. Orang tua serta keluarga penulis yang selalu mendo’akan dan memberikan dukungan baik moril maupun materil.
9. Teman-teman Kimia angkatan 2018 yang telah memberikan dukungan selama penulis menempuh studi di Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Seluruh pihak yang berkontribusi dalam penulisan skripsi ini.

Semoga amal perbuatan Bapak/Ibu dan seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam penyelesaian skripsi ini diridhoi dan dibalas oleh Allah Swt. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, semua kritik dan saran akan penulis terima dengan lapang hati. Penulis juga memohon maaf kepada semua pihak apabila terdapat kesalahan selama penyusunan. Demikian skripsi ini penulis susun, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, 20 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR PERSAMAAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
ملخص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Tumbuhan Kopi	8
2.2. Kopi Robusta	10
2.3. Enzim Bromelin dari Tumbuhan Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr.)	11
2.4. Enzim Papain dari Tumbuhan Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	14
2.5. Fermentasi Kopi.....	16
2.6. Mutu Kopi.....	17
2.7. Dekafeinasi	18
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1. Waktu dan Tempat.....	24
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.2.1. Bahan.....	24
3.2.2 Alat.....	24
3.3. Rancangan Penelitian.....	25
3.4. Tahapan Penelitian	26
3.5. Cara Kerja	27
3.5.1. Preparasi Sampel.....	27

3.5.2. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya	27
3.5.3. Fermentasi Kopi Menggunakan Ekstrak Enzim Bromelin dan Enzim Papain.....	28
3.5.4. Pengeringan dengan Oven.....	28
3.5.5. Pembuatan Bubuk Kopi	28
3.5.6. Pengujian.....	29
3.5.6.1. Kadar Kafein	29
3.5.6.2. Kadar Air	31
3.5.6.3. Kadar Protein.....	31
3.5.6.4. pH	32
3.5.7. Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1. Preparasi Sampel.....	34
4.2. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas Papain dari Kulit Buah Pepaya	34
4.3. Fermentasi Biji Kopi dengan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dan Papain	35
4.4. Analisis Kadar Kafein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	37
4.5. Kadar Air.....	44
4.6. Nilai pH.....	47
4.7. Kadar Protein	50
4.8. Hikmah Penelitian.....	52
BAB V PENUTUP	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	65
Lampiran 2. Diagram Alir.....	66
Lampiran 3. Perhitungan.....	71
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	74
Lampiran 5. Data Hasil Spektrofotometer Uv-Vis Kopi Bubuk.....	87
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Kadar Protein.....	94
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	95

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Biji Kopi	10
Gambar 2.2 Mekanisme Hidrolisis Protein oleh Protease	20
Gambar 2.3 Mekanisme Degradasi Kafein	22
Gambar 4.1 Reaksi Pembasaan Kafein	38
Gambar 4.2 Ekstraksi Cair-Cair dan Kristal Kafein Sampel	39
Gambar 4.3 Kurva Standar Kafein.....	40
Gambar 4.4 Rata-Rata Kadar Kafein Sampel	41
Gambar 4.5 Rata-Rata Kadar Air Sampel	45
Gambar 4.6 Rata-Rata pH Sampel Kopi Seduhan	48

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Kimia Kopi Robusta	11
Tabel 2.2 Kandungan Enzim Bromelin pada Tanaman Nanas.....	12
Tabel 2.3 Syarat dan Mutu Kopi Instan	18
Tabel 3.1 Rancangan Acak Lengkap	26
Tabel 4.1 Hasil Uji BNJ Taraf 5% Kadar Kafein.....	43
Tabel 4.2 Hasil Uji BNJ Taraf 5% Kadar Air.....	46
Tabel 4.3 Hasil Uji BNJ Taraf 5% Nilai pH.....	49
Tabel 4.4 Hasil Uji Kadar Protein menggunakan Metode Kjeldahl.....	51

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Penentuan Kadar Kafein	30
Persamaan 3.2 Penentuan % Penurunan Kadar Kafein	30
Persamaan 3.3 Penentuan Kadar Air	31
Persamaan 3.4 Penentuan Kadar Nitrogen dalam Protein	32
Persamaan 3.5 Penentuan Kadar Protein	32
Persamaan 4.1 Reaksi CaCO_3	38
Persamaan 4.2 Reaksi $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O}$	38

ABSTRAK

Widya, Eva Nur. 2023. **Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya Terhadap Dekafeinasi Green Bean Kopi Robusta (*Coffea canephora*)**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Kata Kunci: *Dekafeinasi, Kopi Robusta, Enzim Bromelin, Enzim Papain*

Dekafeinasi merupakan proses penghilangan senyawa kafein dalam berbagai bahan pangan seperti kopi, coklat, teh, serta bahan pangan lainnya yang juga mengandung senyawa kafein. Umumnya proses dekafeinasi dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut kimia, ekstraksi menggunakan air (*Swiss Water Process*), serta ekstraksi CO₂ superkritis. Fermentasi kopi secara enzimatik merupakan salah satu metode yang dapat mengurangi kadar kafein. Metode secara enzimatik dinilai lebih ramah lingkungan, aman, membutuhkan biaya yang relatif rendah, serta kopi yang dihasilkan akan memiliki rasa dan aroma yang khas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan enzim dengan konsentrasi yang optimal dalam menurunkan kadar kafein kopi Robusta.

Metode pada penelitian ini dilakukan dengan memfermentasi biji kopi Robusta menggunakan enzim bromelin dari kulit buah nanas dan papain dari kulit buah pepaya dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%. Proses fermentasi dilakukan selama 36 jam pada suhu 37°C. Analisa kadar kafein diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, analisa kadar air menggunakan metode gravimetri, dan analisa nilai pH menggunakan pH meter.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan kadar kafein tertinggi terdapat pada sampel dengan konsentrasi penambahan enzim bromelin sebanyak 80% yaitu sebesar 1,21% serta pada sampel dengan penambahan enzim papain 80% memiliki kadar kafein sebesar 1,30%. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi penurunan kadar kafein. Selain itu, penambahan enzim bromelin dan papain mampu meningkatkan kadar air serta menurunkan pH kopi.

ABSTRACT

Widya, Eva Nur. 2023. **Effect of Pineapple Peel and Papaya Peel Extract Concentrations on the Decaffeination of Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Green Beans**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Supervisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Keywords: *Decaffeination, Robusta Coffee, Bromelin Enzyme, Papain Enzyme*

Decaffeination is the process of removing caffeine compounds from various food ingredients such as coffee, chocolate, tea, and other food ingredients that also contain caffeine compounds. Generally, the decaffeination process is carried out using an extraction method using chemical solvents, extraction using water (*Swiss Water Process*), as well as CO₂ extraction² supercritical. Enzymatic coffee fermentation is one method that can reduce caffeine levels. The enzymatic method is considered more environmentally friendly and safe, requires relatively low costs, and the resulting coffee will have a distinctive taste and aroma. This research aims to determine the ratio of enzymes with optimal concentrations in reducing the caffeine content of Robusta coffee.

The method in this research was carried out by fermenting Robusta coffee beans using the enzyme bromelain from pineapple rind and papain from papaya rind at concentrations of 20%, 40%, 60%, and 80%. The fermentation process was carried out for 36 hours at a temperature of 37°C. Caffeine content analysis was measured using a UV-Vis spectrophotometer, water content analysis using the gravimetric method, and pH value analysis using a pH meter.

The results of this study showed that the highest reduction in caffeine levels was found in samples with a concentration of 80% added bromelain enzyme, namely 1.21%, and samples with 80% added papain enzyme had a caffeine content of 1.30%. The higher the enzyme concentration, the higher the decrease in caffeine levels. Apart from that, the addition of bromelain and papain enzymes can increase the water content and lower the pH of coffee.

ملخص البحث

ويديا، إيفا نور. ٢٣.٢. تأثير تركيز مستخلص قشر فاكهة الأناناس وفاكهة البابايا على فكتل حبوب القهوة الخضراء روبوستا (*Coffea canephora*). قسم الكيمياء، كلية العلوم و التكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة ١: الدكتور أكبون الجئة الماجستير ، المشرفة ٢: لؤلؤة الحميدة العليا الماجستير

الكلمات المفتاحية : إزال الكافيين، قهوة روبوستا، إنزيم البروميلين، إنزيم الباباين

نزع الكافيين هو عملية إزالة مركبات الكافيين في الأطعمة المختلفة مثل القهوة والشوكولاته والشاي وغيرها من الأطعمة التي تحتوي أيضا على مركبات الكافيين. بشكل عام، تتم عملية إزالة الكافيين عن طريق طرق الاستخراج باستخدام المذيبات الكيميائية، والاستخراج باستخدام الماء (عملية المياه السويسرية)، واستخراج CO₂ فوق الحرج. التخمر الأنزيمي للقهوة هو إحدى الطرق التي يمكن أن تقلل من مستويات الكافيين. تعتبر هذه الطريقة إنزيميا أكثر ملاءمة للبيئة وأمنة وتتطلب تكاليف منخفضة نسبيا، وسيكون للقهوة الناتجة طعم ورائحة مميزة. يهدف هذا البحث إلى تحديد نسبة الإنزيمات ذات التركيزات المثلى في خفض مستويات الكافيين في قهوة روبوستا .

تم تنفيذ الطريقة في هذا البحث عن طريق تخمير حبوب البن روبوستا باستخدام إنزيمات البروميلين من جلد الأناناس وغراء من جلد البابايا بتركيزات ٢٠%، ٤٠%، ٦٠%، ٨٠% وتمت عملية التخمر لمدة ٣٦ ساعة عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. بعد ذلك، سيتم إجراء تحليل لنسبة الكافيين باستخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية المرئي UV-Vis ، وتحليل نسبة الماء باستخدام طريقة الوزن الجاذبي، وتحليل نسبة الحموضة باستخدام جهاز قياس الحموضة pH meter

أظهرت نتائج هذا البحث أن أعلى انخفاض في مستويات الكافيين تم العثور عليه في العينات التي تحتوي على تركيز ٨٠% من إنزيم البروميلين المضاف الذي كان ١,٢١% وفي العينات التي تحتوي على ٨٠% من إنزيم غراء كانت مستويات الكافيين ٣٠,١%. كلما زاد تركيز الإنزيمات، زاد انخفاض مستويات الكافيين. بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن تؤدي إضافة إنزيمات البروميلين والغراء إلى زيادة محتوى الماء وخفض درجة حموضة القهوة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Konsumsi kopi oleh masyarakat pada saat ini teruslah meningkat. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Indonesia serta Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian Indonesia, konsumsi kopi di Indonesia pada 2017-2021 mengalami peningkatan. Hal tersebut dilihat dari produksi kopi domestik pada tahun 2017 mencapai 276,167 ribu ton. Sedangkan tahun 2021, produksi kopi mencapai 774,6 ribu ton (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2022). Kopi umumnya dikonsumsi setiap saat karena kopi memiliki rasa dan aroma khas yang menawarkan nilai sejarah, budaya dan ekonomi yang tinggi (Anggara dan Marini, 2011). Namun dibalik rasa kopi yang khas dan nikmat, terdapat dampak negatif jika dikonsumsi dalam jumlah berlebihan. Seperti dapat meningkatkan kolesterol, jantung berdebar, tangan gemetar, gangguan lambung, gelisah, ingatan berkurang, sukar tidur dan memiliki efek ketagihan (Tjay dan Rahardja, 2002). Menurut FDA (*Food Drug Administration*) yang termuat dalam (Liska, 2004), konsumsi harian kafein yang diperbolehkan berkisar antara 100-200 mg/hari. Sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 batas harian konsumsi kafein adalah 150 mg/hari atau 50 mg/sajian. Sebagian masyarakat memiliki masalah intoleran terhadap kafein, sehingga diperlukan adanya solusi untuk mengurangi kandungan senyawa kafein pada kopi agar tetap dapat dikonsumsi oleh para penikmat kopi.

Fermentasi kopi secara enzimatik merupakan salah satu solusi untuk mengatasi masalah tersebut. Enzim protease adalah enzim yang mampu

melakukan proteolisis atau katabolisme protein dengan cara hidrolisis ikatan peptida menjadi asam amino (Kiyat dkk., 2019). Enzim ini akan bekerja dengan memecah protein pada dinding sel biji kopi sehingga akan terjadi peristiwa penurunan kadar kafein yang disebut juga dengan dekafeinasi. Pada proses dekafeinasi yang dilakukan dengan fermentasi secara basah (*wet-process*) mempunyai prinsip, senyawa-senyawa yang terkandung dalam lapisan lendir (*mucilage*) akan diuraikan oleh mikroba alami dan dibantu Oksigen dari udara bebas (Oktadina dkk., 2013). *Mucilage* kering mengandung pektin, gula pereduksi dan non-pereduksi, selulosa serta abu (Widyotomo, 2013). Menurut (Ciptadi dan Nasution, 1985), terjadinya peristiwa penguraian lendir adalah akibat bekerjanya suatu enzim yang terjadi di dalam buah kopi. Dekafeinasi sendiri dapat dilakukan dengan berbagai metode. Beberapa metode yang telah dilakukan sebelumnya antara lain menggunakan media air, pelarut kimia, karbondioksida superkritis (Gokulakrishnan dkk., 2005). Namun pada saat ini telah dikembangkan fermentasi menggunakan mikroorganisme serta enzim. Penurunan kadar kafein secara enzimatik merupakan metode yang dinilai mudah, aman, membutuhkan biaya yang relatif murah (Budi dkk., 2020), serta kopi yang dihasilkan akan memiliki rasa dan aroma yang khas (Rosalinda dkk., 2021).

Segala sesuatu yang diciptakan Allah di bumi ini pasti memiliki hikmah yang besar, seperti penciptaan tumbuh-tumbuhan. Tumbuhan tersusun dari berbagai komponen, salah satunya adalah enzim. Enzim merupakan komponen kecil yang memegang peranan penting dalam kehidupan. Allah Swt. menciptakan keanekaragaman tumbuhan yang mempunyai hikmah dan manfaat tersendiri, karena semua ciptaan-Nya tidak ada yang sia-sia. Manusia diberikan

kesempatan untuk menggali dan mengambil manfaat dari apa yang telah Allah Swt. ciptakan. Allah berfirman dalam Q.S Shaad ayat 27 :

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۗ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ۗ ٢٧

Artinya: *“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.” (QS. Shaad:27).*

Asy-syuyuti dan Muhammad, 1505 dalam tafsir jalalain menjelaskan bahwa yang dimaksud بَاطِلًا dalam ayat tersebut, memiliki makna bahwa semua ciptaan Allah Swt. pasti memiliki hikmah termasuk enzim. Enzim merupakan produk bioteknologi yang menarik perhatian karena peranannya dalam berbagai bidang, terutama bidang industri. Salah satu enzim yang berpotensi dalam bidang industri adalah enzim protease. Protease adalah enzim yang memiliki aktivitas proteolitik (memecah protein). Papain dan bromelain merupakan golongan enzim protease. Pemanfaatan protease dalam industri pangan diantaranya adalah untuk mengurangi kekeruhan dalam industri bir, mengurangi gluten pada industri roti, dan untuk menggumpalkan susu pada industri keju (Putranto, 2006). Enzim protease dapat diperoleh dari jaringan tanaman nanas dan pepaya. Nanas mengandung enzim bromelain dan pepaya mengandung enzim papain (Herdyastuti, 2006).

Enzim bromelin merupakan golongan enzim proteolitik yang dapat diperoleh dari sebagian besar buah nanas. Kandungan bromelin ini dapat ditemukan mulai dari bonggol nanas, buah, hingga kulitnya. Kulit nanas mengandung beberapa senyawa yang bermanfaat kimia seperti vitamin C, karotenoid, serat, antosianin, flavonoid, mineral (Erukainure, dkk., 2011) serta enzim bromelin (Kumaunang dan Kamu, 2011), namun faktanya kulit nanas seringkali hanya dibiarkan

terbuang dengan percuma. Menurut Oktadina, dkk. (2013) bromelin yang terkandung pada ekstrak nanas dapat memecah senyawa protein sehingga mampu mempercepat pelepasan lendir pada biji kopi dan menurunkan kadar kafein kopi karena kafein memiliki sifat yang mirip dengan protein, yaitu memiliki gugus amida. Pada tahun 2013, Oktadina (2013) melaporkan bahwa enzim bromelin dari buah nanas mampu menurunkan kadar kafein sebanyak 49% dengan perlakuan variasi lama fermentasi selama 36 jam pada suhu ruang dengan konsentrasi enzim bromelin 40%. Ratnaningsih (2015) melaporkan bahwa kopi yang difermentasi selama 36 jam menggunakan enzim bromelin dengan konsentrasi 30% dari kulit buah nanas mampu menurunkan kadar kafein hingga 92%. Noviar, dkk. (2016) mengenai fermentasi kopi menggunakan ekstrak kulit buah nanas dengan variasi lama fermentasi dan konsentrasi enzim, menghasilkan hasil terbaik dengan lama fermentasi selama 36 jam pada suhu ruang dan menggunakan konsentrasi ekstrak kulit buah nanas sebanyak 80%. Perlakuan tersebut mampu menurunkan kadar kafein kopi sebanyak 48%.

Tumbuhan pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang bernilai ekonomis tinggi. Disamping nilai gizinya yang tinggi, getah pepaya juga dapat dimanfaatkan karena kandungan enzim di dalamnya, terutama enzim proteolitik (Mayningsih dkk., 2017). Enzim proteolitik yang paling banyak ditemukan pada getah pepaya adalah papain. Enzim papain dari buah pepaya mengandung sejumlah besar enzim proteolitik yang aktif, mirip dengan protease yang ditemukan pada buah-buahan lain seperti nanas dan buah ara. Protease adalah enzim yang bekerja dengan menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Enzim protease berperan penting dalam

berbagai reaksi biokimia, seperti pemecahan protein menjadi asam amino dan peptida untuk digunakan sebagai nutrisi (Fujiwara dkk., 1993). Penelitian yang telah dilakukan Rosalinda, dkk. (2021) menggunakan 80% konsentrasi enzim papain dari kulit pepaya yang difermentasi selama 36 jam pada suhu ruang, berhasil menurunkan kadar kafein kopi Arabika sebanyak 23%. Saloko, dkk. (2020) melaporkan bahwa fermentasi kopi Robusta dengan menggunakan enzim papain dari daun pepaya sebanyak 25% selama 36 jam pada suhu ruang mampu menurunkan kadar kafein sebesar 78%.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan kemampuan enzim bromelin yang didapatkan dari kulit buah nanas dan enzim papain dari kulit buah pepaya dalam menurunkan kadar kafein biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang diambil dari perkebunan kopi Desa Amadanom Kecamatan Dampit Kabupaten Malang pada konsentrasi yang berbeda. Pemilihan kopi jenis robusta dikarenakan kopi robusta memiliki tingkat kadar kafein yang lebih tinggi dibanding kopi jenis lain, berdasarkan penelitian (Aryadi dkk., 2020) kandungan kafein pada 1 gram kopi jenis Robusta sebesar 2,15 %, Arabika sebesar 1,77 % dan Liberika sebesar 1,32 %. Pemilihan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% didasarkan pada penelitian yang menggunakan ekstrak kulit buah pepaya dalam menurunkan kafein kopi Arabika, dimana hasil yang didapatkan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin besar penurunan kadar kafein.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dibuat rumusan masalah yaitu, Bagaimana perbandingan serta kondisi optimal enzim bromelin dan enzim papain dalam menurunkan kadar kafein biji kopi Robusta (*Coffea canephora*).

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui perbandingan serta kondisi optimal enzim bromelin dan enzim papain dalam menurunkan kadar kafein biji kopi Robusta (*Coffea canephora*).

1.4 Batasan Masalah

Batasan Masalah dari penelitian ini diantaranya:

1. Menggunakan jenis kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang berasal dari perkebunan kopi Desa Amadanom, Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang.
2. Enzim bromelin didapat dari bagian kulit buah nanas madu yang telah matang dan berasal dari perkebunan nanas di lereng Gunung Kelud, Kabupaten Kediri.
3. Enzim papain didapat dari bagian kulit buah pepaya *Callifornia* yang berumur 2,5-3 bulan dan berasal dari Desa Permanu, Kecamatan Pakisaji, Kabupaten Malang.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan mempunyai manfaat antara lain, memberikan informasi kepada masyarakat akan potensi kulit buah nanas dan kulit buah pepaya muda dalam menurunkan kadar kafein dalam biji kopi Robusta serta mengetahui perbandingan dari dua enzim yang bersumber dari bahan yang berbeda dalam menurunkan kadar kafein.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Kopi

Kopi merupakan tumbuhan yang dimanfaatkan bijinya untuk diolah menjadi makanan atau minuman. Kopi adalah salah satu jenis tanaman perkebunan yang sudah lama dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis yang lumayan tinggi. Kopi berasal dari Afrika, yaitu daerah pegunungan di Etopia. Namun, kopi baru dikenal oleh dunia setelah tanaman tersebut dikembangkan di luar daerah asalnya, yaitu Yaman di bagian selatan Arab. Kopi termasuk komoditas tanaman perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi diantara tanaman perkebunan lainnya dan berperan penting sebagai sumber devisa negara. Pohon kopi tumbuhnya tegak, bercabang, dan bila dibiarkan tumbuh dapat mencapai tinggi 12 m. Daunnya berbentuk bulat telur dengan ujung agak meruncing yang tumbuhnya berhadapan pada batang, cabang, dan ranting-rantingnya (Rahardjo, 2012).

Beberapa jenis kopi dapat tumbuh didataran rendah, namun pertumbuhan tanaman kopi umumnya akan lebih maksimal jika ditanam didaerah dataran tinggi dengan suhu yang relatif sejuk dan penyinaran matahari yang cukup dan teratur. Tumbuhan kopi akan berkembang dengan baik jika ditanam pada ketinggian 1000m di atas permukaan laut, karena jika penanaman dibawah ketinggian 1000m buah kopi akan mudah diserang penyakit karat daun (Samah, 2021). Terdapat dua jenis kopi yang umumnya dibudidayakan di Indonesia, yaitu kopi Arabika dan kopi Robusta. Kadar kafein pada kopi robusta sedikit lebih tinggi dibandingkan

dengan kopi arabika. Di Indonesia produksi kopi robusta terbilang lebih banyak dibanding dengan kopi jenis lain. Di Indonesia kopi diperdagangkan dalam bentuk kopi biji, kopi sangrai, kopi bubuk, kopi instan, dan bahan makanan lainnya yang mengandung kopi (Farhaty dan Muchtaridi, 2014). Tumbuhan kopi merupakan tumbuhan tahunan yang mempunyai nama ilmiah *Coffea Carnephora*, dengan klasifikasi sebagai berikut (Rahardjo, 2012):

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Coffea

Tingginya manfaat tumbuhan dalam segala bidang harus dirasakan secara berkelanjutan bagi makhluk hidup yang lain dan dimanfaatkan sebaik-baiknya. Allah Swt. berfirman dalam Q.S Thaha ayat 53:

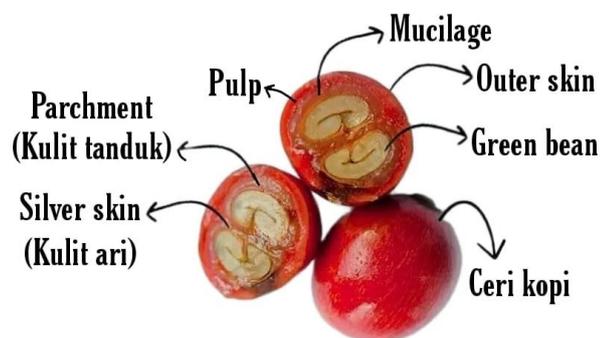
الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى
٥٣

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.” (QS. Thaha:53).

Shihab (2002), dalam tafsir Al-Mishbah menjelaskan, bahwa Allah menurunkan air dari langit, dan menumbuhkannya berbagai jenis tumbuhan sebagai bagian dari hidayah Allah Swt. kepada manusia dan binatang guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan dalam

kelangsungan hidup. Adanya tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasa merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptaan-Nya.

Berbagai manfaat yang dapat kita rasakan saat mengkonsumsi kopi diantaranya, dapat menurunkan resiko kanker payudara; stroke; mampu mencegah penyakit syaraf; mampu menjaga kesehatan kulit serta kecantikan; melindungi gigi; mampu mencegah penyakit batu empedu serta mencegah diabetes mellitus tipe 2 (Simanjuntak, 2011). Namun respon setiap manusia terhadap kopi atau kafein juga dapat bervariasi secara substansial antar individu. Kafein dosis rendah hingga sedang (50-300 mg) dapat menyebabkan peningkatan kewaspadaan, menambah energi, dan kemampuan untuk berkonsentrasi, sementara dosis yang lebih tinggi memiliki efek negatif seperti menimbulkan kecemasan, kegelisahan, insomnia, dan takikardia atau peningkatan detak jantung (Eskelinen dan Kivipelto, 2010).



Gambar 2. 1 Anatomi Biji Kopi

2.2. Kopi Robusta

Kopi robusta memiliki nama latin *Coffea canephora*. Mayoritas lahan perkebunan kopi di Indonesia adalah jenis robusta, karena dapat tumbuh diketinggian 400-1200 mdpl. Selain itu, tingkat adaptasi kopi jenis robusta lebih

baik dibanding kopi jenis lain sehingga perawatan kopi robusta lebih mudah dari pada arabika dan lebih kuat dari serangan hama penyakit. Kopi robusta memiliki rasa yang lebih pahit daripada kopi arabika karena kandungan kafein robusta lebih tinggi dari arabika. Kandungan kafein yang tinggi ini, selain memiliki kelebihan juga memiliki dampak negatif dalam tubuh. Efek positif yang didapatkan dari mengkonsumsi kafein yaitu dapat menstimulasi otak dan sistem syaraf sehingga mampu meningkatkan daya ingat dan kemampuan kognitif dan dapat mempercepat kerja denyut jantung. Sedangkan efek yang ditimbulkan akibat kelebihan dalam mengonsumsi kafein antara lain, menyebabkan jantung berdebar, tekanan darah meningkat, pusing, serta menyebabkan insomnia. Senyawa kafein mampu meningkatkan sekresi asam lambung, memperbanyak produksi urine, memperlebar pembuluh darah, dan meningkatkan kerja otot (F. G. Winarno, 1992).

Berikut merupakan kandungan kimia yang terdapat pada kopi Robusta (Najiyati dan Sertaarti, 2010):

Tabel 2. 1 Kandungan Kimia Kopi Robusta

Komponen	Jumlah
Kafein	2,4 – 3,5
Trigonellin	0,7
Asam-asam karboksilat	0,7 – 3,5
Asam amino bebas	0,8
Total asam amino	10,3
Asam klorogenat	10,3
Total lemak	7 – 15
Mineral	4,4
Karbohidrat	60,8

2.3. Enzim Bromelin dari Tumbuhan Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.)

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) merupakan tanaman herbal yang memiliki warna kuning keemasan. Tumbuhan nanas sendiri dapat tumbuh subur di daerah beriklim tropis seperti di Indonesia dengan masa panen relatif singkat, yaitu antara 2 sampai 3 kali setahun. Tumbuhan ini termasuk dalam familia nanas-nanasan (*Famili Bromeliaceae*) yang mempunyai sifat terrestrial (pertumbuhan menggunakan akarnya) (Ardiansyah, 2010). Tumbuhan nanas banyak mengandung air dan kaya akan kalium, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, natrium, iodium, sulfur, dan khlor. Selain itu, tumbuhan ini juga kaya asam, biotin, vitamin A, vitamin B12, vitamin C, vitamin E, dekstrosa, sukrosa, serta enzim bromelin yang merupakan enzim protease yang dapat menghidrolisis protein, protease, atau peptide sehingga dapat digunakan untuk melunakkan daging. Gula yang terkandung dalam nanas yaitu glukosa, fruktosa dan sukrosa (Lubis, 2020). Asam-asam yang terkandung dalam buah nanas adalah asam sitrat, asam malat, dan asam oksalat. Jenis asam yang paling dominan yakni asam sitrat 78% dari total asam (Baruwa, 2013). Kulit nanas mengandung beberapa senyawa yang bermanfaat kimia seperti vitamin C, karotenoid, serat, antosianin, flavonoid, mineral (Erukainure dkk., 2011), serta enzim bromelin (Kumaunang dan Kamu, 2011). Nanas memiliki manfaat yang baik untuk kesehatan tubuh karena adanya enzim bromelin yang dapat menghidrolisis protein sehingga dapat melunakkan daging, memiliki khasiat untuk penyembuhan (Wiyati dan Tjitraresmi, 2018). Kandungan enzim bromelin pada tiap-tiap bagian nanas dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2. 2 Kandungan Enzim Bromelin pada Tanaman Nanas

Bagian Tanaman	Persentase (%)
----------------	----------------

Buah utuh matang	0,060 – 0,080
Daging buah matang	0,080 – 0,125
Kulit buah	0,050 – 0,075
Tangkai	0,040 – 0,060
Batang	0,100 – 0,600
Buah utuh mentah	0,040 – 0,060
Daging buah mentah	0,050 – 0,070

Sumber: (Najib dkk., 2013)

Enzim merupakan suatu senyawa organik yang memiliki fungsi sebagai katalisator biologi (biokatalisator). Bromelin adalah salah satu enzim proteolitik atau protease, yaitu enzim yang mampu mengkatalisasi penguraian protein menjadi asam amino dengan membangun blok melalui reaksi hidrolisis. Pada dasarnya enzim ini diperoleh dari jaringan-jaringan tanaman nanas (Supartono, 2004). Bromelin dapat diperoleh dari tanaman nanas baik dari tangkai, kulit, daun, buah, maupun batang dalam jumlah yang berbeda. Kandungan enzim lebih banyak didapati pada bagian daging buahnya, hal ini ditunjukkan dengan aktivitasnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas pada bagian batangnya (Supartono, 2004). Pada bagian kulit buah nanas, terdapat kandungan enzim bromelin sebesar 0,050-0,075% (Murniati, 2006). Bromelin termasuk ke dalam golongan enzim protease sulfhidril yang mampu menguraikan struktur molekul protein menjadi asam-asam amino (Kumaunang dan Kamu, 2011).

Enzim bromelin dari jaringan-jaringan tanaman nanas memiliki potensi yang sama dengan papain yang ditemukan pada pepaya yang dapat mencerna protein sebesar 1000 kali beratnya. Dari beberapa penelitian, selain dapat melunakkan daging, enzim bromelin juga dapat digunakan sebagai senyawa yang dapat menurunkan kandungan kafein dalam biji kopi. Cara kerja enzim bromelin dalam menurunkan kadar kafein di dalam biji kopi yaitu dengan memecah protein yang merupakan komponen terbesar pada membran kopi. Protein akan dihidrolisis oleh

enzim bromelin yang merupakan enzim proteolitik. Dimana enzim proteolitik ini dapat membantu melunakkan dan memecah komponen protein dalam membran sehingga akan memudahkan proses pelarutan kafein. Membran biji kopi mengandung 40% lemak, 52% protein, dan 8% karbohidrat (Yatim, 2003).

Marcone (2004) menjelaskan bahwa dengan adanya penguraian protein, maka kadar kafein pada kopi akan berkurang dan kandungan asam amino bebas akan meningkat. Penurunan kadar kafein secara enzimatis juga dapat dilakukan menggunakan enzim papain dari buah pepaya (Rosalinda dkk., 2021).

2.4. Enzim Papain dari Tumbuhan Pepaya (*Carica papaya* L.)

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang bernilai ekonomi tinggi. Buah pepaya tidak hanya dapat dikonsumsi dan memiliki nilai gizi yang tinggi namun getahnya juga dapat dimanfaatkan. Pepaya menghasilkan cairan putih seperti susu yang biasa disebut getah yang terdiri dari beberapa kompleks senyawa kimia. Menurut El Moussaoui dkk. (2001), getah pepaya mengandung air dan beberapa komponen terlarut yang terdiri dari karbohidrat, garam, lemak, dan beberapa biomolekul seperti glutathion, sistein protease, serta beberapa protein lain. Getah pepaya mengandung beberapa macam enzim, yaitu papain, kimopapain dan lisosim. Secara umum yang dimaksud dengan papain adalah papain yang dimurnikan maupun papain yang masih kasar. Getah pepaya mengandung banyak enzim terutama enzim proteolitik (Lynd dkk., 2013). Enzim proteolitik yang paling banyak ditemukan dalam getah pepaya adalah papain. Semua bagian pepaya seperti buah, daun, tangkai daun, dan batang mengandung

enzim papain dalam getahnya, namun bagian yang paling banyak mengandung enzim papain adalah buahnya (Yuniwati dkk., 2008).

Papain tersusun dari 212 residu asam amino dengan membentuk sebuah polipeptida rantai tunggal. Papain termasuk enzim protease sulfhidril yang aktivitasnya dipengaruhi oleh gugus S-H pada sisi aktifnya. Aktivitas enzim papain dalam memecah protein dengan cara menghidrolisis protein dimulai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Mula-mula terjadi ikatan kovalen antara substrat dengan enzim yaitu gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif dengan substrat pada sisi aktif papain berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan digantikan kedudukannya oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga enzim bisa kembali ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula. Aktivitas enzim papain cukup spesifik karena papain dipengaruhi oleh kondisi pH dan suhu tertentu ketika mengkatalisis proses hidrolisis. Menurut (Mayningsih dkk., 2017) enzim papain merupakan salah satu jenis enzim hidrolase yang bersifat proteolitik dan mampu menghidrolisis protein pada biji kopi sehingga mengakibatkan kafein keluar. Kopi dengan kandungan kafein yang lebih rendah akan dapat lebih diterima oleh masyarakat khususnya bagi yang memiliki masalah dengan kopi.

2.5. Fermentasi Kopi

Istilah fermentasi berasal dari bahasa latin "*fermentare*" yang artinya meragi dan "*fervere*" yang berarti mendidih. Pendidihan tersebut dapat muncul akibat adanya CO₂ yang ditandai dengan munculnya gelembung udara karena proses katabolisme secara anaerobik dari gula senyawa tersebut. Sedangkan dari sudut pandang biokimia fermentasi diartikan sebagai sebuah proses metabolisme dari senyawa-senyawa organik secara katabolisme untuk menghasilkan suatu energi dengan memecah molekul-molekul besar menjadi molekul yang lebih kecil, baik secara aerobik ataupun anaerobik.

Buah kopi yang telah dipanen harus segera dilakukan pengolahan agar mengurangi reaksi kimia berlebihan yang dapat menurunkan kualitas biji kopi tersebut. Fermentasi merupakan salah satu proses penting dalam pengolahan biji kopi karena akan sangat menentukan kualitas akhir biji kopi terutama citarasanya. Tujuan utama fermentasi yaitu menghilangkan lapisan lendir (*mucilage*) yang melekat pada kulit tanduk biji kopi. Lapisan lendir tersebut mengandung senyawa gula sederhana dan pektin yang diubah menjadi alkohol dan asam-asam organik oleh mikroorganisme selama fermentasi berlangsung sehingga dapat menurunkan pH biji serta merubah tekstur lapisan lendir menjadi mudah untuk dicuci dan dihilangkan (Correa dkk., 2014).

Fermentasi merupakan salah satu upaya dalam menurunkan kadar kafein yang terdapat di dalam biji kopi (Brand dkk., 2000). Proses fermentasi pula merupakan salah satu langkah dalam menghasilkan kopi rendah kafein yang mempunyai cita rasa yang tinggi serta unik (Tika dkk., 2017). Biji kopi yang mengalami proses fermentasi, di dalamnya akan terjadi pertumbuhan mikroba, pengaktifan enzim-

enzim, serta terjadi reaksi pencoklatan secara enzimatik sehingga berwarna lebih coklat dan memperbaiki profil cita rasanya.

Fermentasi kopi dapat dilakukan secara aerobik maupun anaerobik. Pada proses anaerobik, biji kopi yang masih dalam bentuk ceri dipilih dan kemudian dicuci. Selanjutnya biji kopi pilihan dimasukkan ke dalam sebuah wadah dan ditutup rapat. Hal tersebut dikarenakan fermentasi ini tidak memerlukan oksigen, namun memerlukan air dan mikroorganisme alami maupun mikroorganisme tambahan. Proses anaerobik ini dilakukan pada metode pengolahan biji kopi secara semi basah (*semi-washed*) dan basah (*full-washed*). Sementara dalam proses aerobik, fermentasi yang dilakukan tidak memerlukan keberadaan oksigen untuk memecah suatu senyawa. Proses aerobik ini dilakukan pada pengolahan biji kopi secara kering (*dry-process*).

2.6. Mutu Kopi

Produk kopi menurut SNI (Standar Nasional Indonesia) 2983:2014 merupakan kopi yang telah diolah hingga membentuk serbuk atau *granula* atau *flake* yang diperoleh dari proses pemisahan biji kopi tanpa adanya pencampuran dengan bahan lain, kemudian dilakukan penyangraian, penggilingan, diekstrak menggunakan air, lalu dikeringkan hingga menjadi produk yang mudah larut dalam air. Terdapat beberapa SNI yang mengatur kualitas serta kuantitas kopi, diantaranya SNI 01-3542-2004 mengenai kopi bubuk, SNI 2907:2008 mengenai biji kopi, SNI 7708:2011 mengatur kualitas serta kuantitas kopi gula krimer dalam kemasan, SNI 2983:2014 membahas kopi instan, SNI 4312:2018 mengatur minuman kopi dalam kemasan, dan SNI

8773:2019 mengenai kopi premiks. Pada penelitian ini, acuan SNI yang digunakan adalah SNI 01-3542-2004 mengenai kopi bubuk.

Tabel 2. 3 Syarat dan Mutu Kopi Instan

No.	Kriteria Uji	Satuan	Nilai maksimal
1.	Keadaan:		
	Bau	-	Normal
	Rasa	-	Normal
	Warna	-	Normal
2.	Air	% b/b	7
3.	Abu	% b/b	5
4.	Kealkalian Abu	$mlxN.NaOH$ $100\ g$	57-64
5.	Sari Kopi	% b/b	20-36
6.	Kafein (anhidrat)	% b/b	0,9-2
7.	Bahan-bahan lain	-	Tidak boleh ada
8.	Cemaran logam:		
	Timbal (Pb)	mg/kg	2,0
	Tembaga (Cu)	mg/kg	30,0
	Seng (Zn)	mg/kg	40,0
	Timah (Sn)	mg/kg	40,0
	Merkuri (Hg)	mg/kg	0,03
	Arsen (As)	mg/kg	1,0
9.	Cemaran mikroba:		
	Angka lempeng total	koloni/g	10^6
	Kapang	koloni/g	10^4

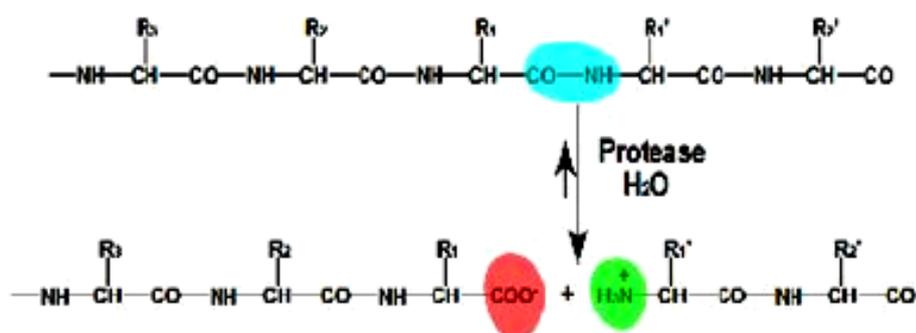
2.7. Dekafeinasi

Dekafeinasi merupakan istilah proses untuk mengurangi kadar kafein dalam kopi, coklat, teh, serta bahan-bahan lainnya yang juga mengandung kafein. Terdapat berbagai metode dalam mengupayakan penurunan kadar kafein, yaitu metode ekstraksi pelarut organik, dekafeinasi dengan air (*Swiss Water Process (SWP)*), ekstraksi fluida superkritis atau ekstraksi karbon dioksida superkritis (Franca, 2016), serta metode enzimatik. Pada metode ekstraksi pelarut organik, prosesnya diawali dengan biji kopi di *steam* terlebih dahulu selama 30 menit

kemudian diekstraksi selama 10 jam menggunakan pelarut. Setelah dipisahkan dari pelarut, biji kopi di-*steam* kembali untuk menghilangkan sisa pelarut. Pelarut yang dapat digunakan adalah benzena, diklorometana, trikloroetana, dan kloroform. Pada proses dekafeinasi menggunakan metode *Swiss Water Process (SWP)*, kopi hijau direndam dalam air dengan suhu tinggi untuk melarutkan kandungan kafein dalam kopi. Kemudian, air tersebut dialirkan melalui filter karbon aktif untuk memisahkan molekul kafein dengan molekul lainnya. Proses ini diulang hingga dapat berlangsung dalam kurun waktu 8-10 jam atau hingga didapatkan biji kopi dengan kafein yang diinginkan. Kelebihan metode ini yaitu ramah lingkungan (tidak menggunakan pelarut kimia), dan mempunyai nilai reduksi kafein yang signifikan. Namun kelemahan dari metode *Swiss Water Process (SWP)* yaitu biaya produksi yang relatif mahal, prosesnya menimbulkan jejak karbon karena pada prosesnya membutuhkan energi untuk memanipulasi suhu air dan menjalankan proses filtrasi. Sedangkan, proses ekstraksi fluida superkritis dilakukan menggunakan karbon dioksida superkritis pada tekanan 73-300 atm selama 10 jam. Setelah itu, tekanan diturunkan untuk menguapkan CO₂, atau CO₂ superkritis tersebut dialirkan ke air atau filter arang untuk menghilangkan kafein. Proses ini memiliki keunggulan yaitu dapat menghindari penggunaan pelarut yang berbahaya, namun metode dekafeinasi ini memerlukan biaya yang relatif mahal (Widagdyo dkk., 2013) dan hanya dapat dilakukan dalam lingkup perusahaan karena prosesnya yang kompleks sehingga diperlukan tenaga dengan keahlian khusus dan membutuhkan peralatan yang canggih.

Pada metode secara enzimatik, peluruhan kafein terjadi akibat bantuan dari enzim yang ditambahkan pada proses fermentasi. Enzim protease atau biasa

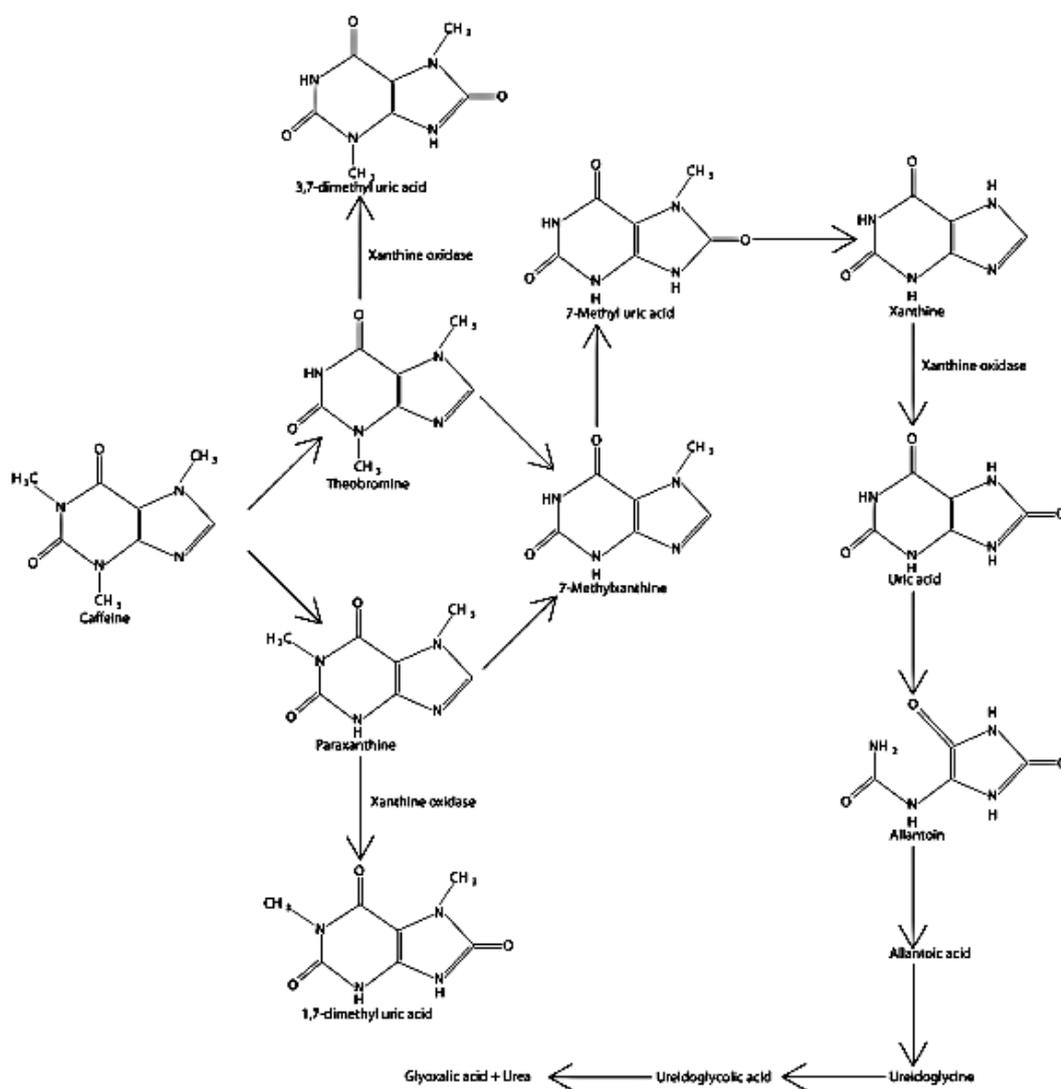
dikenal dengan sebutan lain proteinase, peptidase, enzim proteolitik, hidrolase protein merupakan enzim yang dapat melakukan proteolisis atau katabolisme protein dengan cara menghidrolisis ikatan peptida menjadi asam amino yang lebih sederhana (Kiyat dkk., 2019). Berikut ini merupakan mekanisme hidrolisis protein oleh protease:



Gambar 2. 2 Mekanisme Hidrolisis Protein oleh Protease (James dan Baker, 2013)

Enzim bromelin dan papain termasuk ke dalam golongan protease sufrhidil yang mengandung enzim proteolitik. Selain itu juga mengandung peroksida, asam fosfat, beberapa protease inhibitor, dan organik yang mengikat kalsium (Budiman dkk., 2021). Kedua enzim tersebut akan menghidrolisis protein yang mengandung ikatan peptida menjadi asam amino yang lebih sederhana. Pada proses dekafeinasi dengan metode pengolahan secara *fullwash* mempunyai prinsip fermentasi, yaitu penguraian senyawa-senyawa dalam lapisan lendir oleh mikroba alami dan dengan bantuan oksigen dari udara (Rosalinda dkk., 2021). Penambahan enzim pada proses fermentasi dapat memecah protein dan senyawa gel (Oktadina dkk., 2013), mempercepat proses pelepasan lendir sehingga mempermudah enzim proteolitik masuk ke dalam bagian biji kopi sehingga kandungan kafein akan menurun ke tingkat yang lebih rendah (Saripah dkk., 2021).

Kafein pada biji kopi terletak pada dinding sel (Clifford, 1985); (Macrae, 1985) dan sebagian terdapat dalam vakuola (Daisa dkk., 2017). Beberapa molekul kafein yang berada pada dinding sel berikatan dengan asam klorogenat (Clifford, 1985); (Macrae, 1985). Kafein yang berikatan dengan asam klorogenat dapat terurai melalui reaksi esterifikasi menjadi senyawa ester berupa asam klorogenat. Reaksi esterifikasi menyebabkan terjadinya penguraian senyawa kompleks kafein menjadi asam klorogenat (Tawali dkk., 2018), sehingga senyawa kafein menjadi senyawa bebas yang mempunyai ukuran dan berat molekul yang lebih rendah, akibatnya kafein menjadi mudah bergerak dan berdifusi melalui dinding sel (Mubarok dkk., 2014). Terlepasnya kafein dari asam klorogenat diikuti dengan dekomposisi asam klorogenat menjadi asam kuintat yang dapat larut dalam air (Tawali dkk., 2018). Selain itu, enzim juga memfasilitasi reaksi kimia yang diperlukan mikroba alami dalam mengubah struktur kafein. Mekanisme degradasi kafein dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Mekanisme Degradasi Kafein (Gummadi dkk., 2012)

Hasil dari degradasi kafein (*1,3,7-trimethylxanthine*) yang merupakan kelompok methylxanthine yang merupakan alkaloid purin alami, akan membentuk senyawa *xantine* yang selanjutnya akan terdegradasi melalui jalur katabolisme purin konvensional sehingga menghasilkan produk berupa NH_3 dan CO_2 melalui pembentukan asam urat, allantoin dan allantoate. NH_3 hasil degradasi akan ikut terbuang bersama air setelah proses pencucian. Hal tersebut terjadi karena sifat NH_3 yang mudah larut dalam air. Penurunan kadar kafein ini terjadi setelah biji

kopi dicuci setelah proses fermentasi sehingga sebagian kafein dalam kopi hilang selama proses pencucian. Hal ini sesuai dengan (Oktadina dkk., 2013) yang menyatakan bahwa kafein dalam biji kopi dapat dihilangkan dengan menambahkan senyawa yang bersifat proteolitik pada tahap fermentasi dan selanjutnya dilakukan pencucian.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Mei-Oktober 2023.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain biji kopi Robusta (*Coffea canephora*), kulit buah nanas matang jenis nanas madu, buah pepaya muda jenis pepaya lokal, aquades, CaCO₃ (Kalsium Karbonat), CHCl₃ (Kloroform), standar kafein, selenium, H₂SO₄ pekat, NaOH 30 %, indikator PP, bromocresol hijau 0,1%, metil merah 0,1%, HCl, Na₂CO₃, dan asam borat (H₃BO₃).

3.2.2 Alat

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya yaitu Mesin *Pulping*, Mesin *Hulling*, pisau stainless steel, timbangan analitik, blender, baskom, gelas fermentor, inkubator, loyang, oven, mesin sangrai, ayakan 60 mesh, beaker glass 250 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 250 mL, gelas ukur 50 mL, kertas saring, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 10 mL, seperangkat

alat spektrofotometer UV-Vis, cawan porselen, spatula, desikator, labu Kjeldahl, hotplate, alat penyuling, buret, statif, seperangkat alat destilator, dan pH meter.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar kafein kopi robusta dengan penambahan dua enzim yang berbeda (enzim bromelin dan enzim papain). Pada percobaan ini dilakukan pengambilan sampel kopi robusta (*Coffea canephora*) dari Perkebunan Kopi Desa Amadanom, Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang. Biji kopi yang diambil adalah buah kopi yang telah berwarna merah dan langsung dilakukan *pulping* (pengupasan kulit luar) menggunakan mesin, sehingga didapat *green bean* yang kemudian akan dilakukan pengujian di Laboratorium Biokimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian ini menggunakan metode analisis Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor penelitian dan 3 kali ulangan sehingga terdapat 24 unit percobaan. Faktor pertama adalah variasi dua enzim proteolitik yaitu enzim bromelin dan enzim papain. Faktor kedua adalah variasi penambahan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% (v/b). Selanjutnya dilakukan pembuatan ekstrak enzim bromelin dari kulit buah nanas madu dan enzim papain yang didapat dari buah pepaya muda jenis *Callifornia*. Ekstrak tersebut kemudian diaplikasikan sesuai dengan faktor penelitian ke dalam 150 gr biji kopi, dan dilanjutkan dengan fermentasi selama 36 jam dalam suhu 37⁰C.

Tabel 3. 1 Rancangan Acak Lengkap

Konsentrasi	Jenis Enzim	
	E ₁	E ₂
K ₁	K ₁ E ₁	K ₁ E ₂
K ₂	K ₂ E ₁	K ₂ E ₂
K ₃	K ₃ E ₁	K ₃ E ₂
K ₄	K ₄ E ₁	K ₄ E ₂

Keterangan:

E₁ = Enzim bromelin

E₂ = Enzim papain

K₁ = Konsentrasi 20% (v/b)

K₂ = Konsentrasi 40% (v/b)

K₃ = Konsentrasi 60% (v/b)

K₄ = Konsentrasi 80% (v/b)

Setelah fermentasi berakhir, biji kopi dicuci menggunakan air bersih dan selanjutnya dikeringkan menggunakan oven elektrik hingga kadar air mencapai 12%. Dilanjutkan dengan pengolahan biji kopi menjadi serbuk kopi. Parameter penelitian yang diamati adalah kadar kafein yang dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, analisis kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri, analisis kadar protein dilakukan dengan metode kjeldahl, analisis derajat keasaman pada kopi dilakukan menggunakan pH meter.

3.4. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, diantaranya:

1. Preparasi Sampel
2. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya
3. Fermentasi Kopi Menggunakan Ekstrak Enzim Bromelin dan Enzim Papain
4. Pengeringan dengan Oven

5. Pembuatan Bubuk Kopi

6. Pengujian

a. Kadar Kafein

b. Kadar Air

c. Kadar Protein

d. Kadar pH

7. Analisis Data

3.5. Cara Kerja

3.5.1. Preparasi Sampel

Buah kopi robusta (*Coffea canephora*) didapatkan dari perkebunan kopi Desa Amadanom, Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang. Buah kopi yang diambil telah berbentuk *green been* (kopi hijau) sebanyak 4 kg.

3.5.2. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya

Ekstrak Bromelin. Disiapkan buah nanas madu yang telah matang yang ditandai dengan warna kuning kehijauan. Dikupas buah dan disisihkan kulit buah nanas. Kemudian kulit buah nanas dipotong kecil-kecil menggunakan pisau *stainless steel*, dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan. Kemudian dihancurkan menggunakan blender dengan kecepatan tinggi selama 2 menit tanpa penambahan air dan disaring untuk mengambil filtratnya (Wahyuni, 2018).

Ekstrak Papain. Disiapkan buah pepaya *California* yang masih berumur 2,5-3 bulan. Dicuci kemudian dikupas buah pepaya muda hingga terpisah dari kulitnya. Diambil bagian kulitnya, kemudian dihancurkan menggunakan blender dengan kecepatan tinggi selama 2 menit tanpa penambahan air dan disaring untuk mengambil filtatnya (Wahyuni, 2018).

3.5.3. Fermentasi Kopi Menggunakan Ekstrak Enzim Bromelin dan Enzim Papain

Ditimbang biji kopi sebanyak 150 gram, kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambahkan 250 mL aquades pada konsentrasi 0%, 50 mL ekstrak enzim pada konsentrasi 20%, 100 mL ekstrak enzim pada konsentrasi 40%, 150 mL ekstrak enzim pada konsentrasi 60%, dan 200 mL ekstrak enzim pada konsentrasi 80%, kemudian semua variasi konsentrasi enzim ditambahkan dengan akuades hingga mencapai total volume 250 mL. Fermentasi dilakukan pada inkubator suhu 37°C selama 36 jam. Biji kopi hasil fermentasi selanjutnya dicuci, disaring.

3.5.4. Pengeringan dengan Oven (Astuty dkk., 2020)

Biji kopi diratakan di atas loyang yang kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 19 jam. Atau hingga kadar air mencapai 12%.

3.5.5. Pembuatan Bubuk Kopi

Kopi robusta terdekafeinasi yang telah dikeringkan disangrai menggunakan wajan sangrai selama 8 menit hingga terjadi *first crack*. Selanjutnya dilakukan

pendinginan pada suhu kamar selama ± 10 menit. Selanjutnya dilakukan penggilingan menggunakan blender hingga halus kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

3.5.6. Pengujian

3.5.6.1. Kadar Kafein (Arwangga dkk., 2016)

Preparasi sampel. Sebanyak 5 gram sampel dilarutkan ke dalam 100 mL aquades panas di dalam gelas beaker dan diaduk. Larutan kopi kemudian disaring menggunakan kertas saring halus dan diambil filtratnya. Filtrat yang didapatkan dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 1,5 g CaCO_3 . Dilakukan ekstraksi dengan menambahkan kloroform 25 mL ke dalam corong pisah dengan 3 kali penambahan. Diambil fasa bawah (kloroform) dan diuapkan dalam lemari asam hingga kloroform menguap seluruhnya (Yulifah, 2022). Ditimbang kafein hasil ekstraksi.

Pembuatan larutan baku kafein 100 ppm. Membuat larutan induk dengan menimbang 10 mg standar kafein dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan menggunakan aquades dan dihomogenkan.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Dibuat larutan 10 ppm dengan cara mengambil larutan baku kafein 100 ppm sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditandabatkan menggunakan aquades. Diukur serapannya pada panjang gelombang 200-800 nm.

Pembuatan kurva standar. Dipipet 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 mL larutan standar kafein 100 ppm ke dalam labu ukur 10 mL. Dilakukan pengenceran dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar secara berturut-turut 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 mg/L.

Selanjutnya dilakukan pengukuran blanko (akuades) dan larutan standar pada serapan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penetapan Kadar Kafein. Dilarutkan kafein hasil ekstraksi ke dalam 100 mL akuades di dalam labu takar 100 mL. Larutan dilakukan pengenceran 40 kali dengan mengambil 0,25 mL larutan sampel menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditandabatkan menggunakan akuades selanjutnya dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengukuran larutan sampel, standar, dan blanko pada serapan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pembacaan absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear kurva standar kafein. Nilai kadar kafein dihitung dengan persamaan 3.1

$$\% \text{ Kafein} = \frac{c}{w} \times v \times fp \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

Keterangan:

C = Konsentrasi kafein dari kurva kalibrasi (microgram/mililiter)

W = Berat sampel (gram)

Fp = Faktor pengenceran

V = Volume larutan akhir (mL)

Penurunan kadar kafein (%) dapat dihitung menggunakan persamaan 3.2

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{Kontrol Kopi} - \text{Kopi Setelah Perlakuan}}{\text{Kontrol Kopi}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.6.2. Kadar Air

Pengukuran kadar air sampel menggunakan metode gravimetri yaitu dengan menimbang berat sampel sebelum dikeringkan dan sesudah dikeringkan. Disiapkan cawan porselen, kemudian dipanaskan di dalam oven selama 30 menit dengan suhu 105⁰C. Disimpan cawan porselen dalam desikator selama 30 menit lalu dilakukan penimbangan hingga diperoleh berat konstan. Ditimbang sebanyak 2 gram sampel di atas cawan porselen lalu dimasukkan ke dalam oven selama 3 jam pada suhu 105⁰C. Selanjutnya, sampel didiamkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang, diulangi perlakuan hingga didapat berat konstan. Selanjutnya kadar air bahan dapat ditentukan menggunakan persamaan 3.3

$$\% \text{ Air} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan:

W1 = Berat cawan kosong

W2 = Berat cawan dan sampel

W3 = Berat cawan dan sampel kering

3.5.6.3. Kadar Protein (AOAC, 2005)

Pengujian Kadar Protein menggunakan metode kjeldahl. Sampel kopi ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL. Ditambahkan 2 gram selenium dan H₂SO₄ pekat ke dalam labu. Kemudian, dilakukan destruksi di atas *hotplate* hingga mendidih hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi kehijau-hijauan (\pm selama 2 jam). Setelah itu, larutan didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan hingga tanda batas. Dipipet larutan sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam alat penyuling. Kemudian ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa tetes indikator

PP. Larutan didestilasi dengan suhu desilator 100°C selama 10 menit. Destilat ditampung ke dalam erlenmeyer 250 mL. Ditambahkan 10 mL larutan asam borat (H₃BO₃) 2% dan indikator yang terbuat dari campuran brocresol hijau 0,1% dan metil merah 0,1% dengan perbandingan 5:1. Sebelumnya HCl dilakukan standarisasi dengan Na₂CO₃, lalu didestilasi larutan hingga terjadi perubahan warna menjadi hijau kebiruan. Diambil destilat dan dititrasi dengan HCl 0,01 N hingga larutan berubah warna menjadi merah muda. Dilakukan 3x pengulangan. Kadar protein dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0,014 \times FP}{W \times \left(1 - \left(\frac{\text{Kadar air}}{100}\right)\right)} \times 100\% \dots \dots \dots (3.4)$$

$$\text{Protein (\%)} = \text{Nitrogen (\%)} \times \text{faktor konversi} \dots \dots \dots (3.5)$$

Keterangan:

- V₁ = volume HCl saat titrasi sampel (mL)
- V₂ = volume HCl saat titrasi blanko (mL)
- w = berat sampel kering (mg)
- N = normalitas HCl standar yang digunakan
- FP = faktor pengenceran
- Faktor konversi= 6,25

3.5.6.4. pH (Soraya dkk., 2013)

Bubuk kopi sebanyak 8 gram dilarutkan dalam 150 ml air panas yang mendidih dimasukkan gelas kaca. Kemudian diaduk larutan hingga homogen. Dipisahkan ampas kopi dengan larutan kopi menggunakan kertas saring dan diambil bagian filtratnya. Selanjutnya dilakukan pengukuran derajat keasaman menggunakan pH meter.

3.5.7. Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya akan dilakukan analisis data secara statistik dengan menggunakan *Analisis of Variance* (ANOVA) two way menggunakan IBM SPSS Statistic versi 29.0.0.10. Apabila menunjukkan pengaruh yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) pada taraf kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Preparasi Sampel

Sampel kopi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dalam bentuk *green bean* yang didapatkan dari petani kopi Desa Amadanom Kecamatan Dampit Kabupaten Malang. Proses preparasi sampel dilakukan dengan memilah *green bean* yang cacat dan yang bagus. Kemudian dilakukan penimbangan *green bean* kopi sebanyak 150 gram yang kemudian dimasukkan ke dalam jar-jar kaca yang telah disiapkan dan dilabeli.

4.2. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Papain dari Kulit Buah Pepaya

Enzim merupakan biomolekul berupa protein yang memiliki fungsi sebagai biokatalisator pada reaksi kimia, yang terdapat dalam sel atau organisme. Enzim akan mempercepat laju reaksi tanpa ikut serta terlibat pada reaksi itu sendiri dengan cara menurunkan energi aktivasi. Enzim bekerja mempercepat reaksi dengan meningkatkan laju reaksi tetapi tidak mengubah kesetimbangan reaksi (ΔG).

Nanas dan pepaya merupakan buah-buahan tropis yang banyak ditemukan di Indonesia. Kedua buah ini kaya akan vitamin C dan memiliki rasa manis yang segar. Selain itu, keduanya juga mengandung enzim proteolitik yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai kegunaan, seperti dalam pengempukan daging, pembuatan obat-obatan seperti suplemen pencernaan, serta untuk produksi bir.

Namun pada penelitian ini, enzim proteolitik akan diaplikasikan pada biji kopi dengan tujuan untuk mengurangi kadar kafein pada biji kopi. Seringkali, buah nanas dan pepaya hanya dimanfaatkan buahnya saja hingga meninggalkan limbah kulit buahnya. Kumaunang dan Kamu (2011) melaporkan bahwa kulit buah nanas juga mengandung enzim proteolitik, yaitu sebesar 0,050 – 0,075% (Najib, 2014). Sedangkan pepaya muda yang masih mengandung getah termasuk juga pada bagian kulitnya mengandung enzim papain (Lynd dkk., 2013).

Pembuatan ekstrak kasar enzim papain dan bromelin dilakukan dengan mencuci terlebih dahulu kulit pepaya dan nanas yang telah disiapkan. Kemudian kedua bahan tersebut dipotong menjadi bagian yang lebih kecil agar memudahkan proses penghalusan. Kulit buah pepaya dan nanas yang telah dipotong kemudian dihaluskan menggunakan blender dengan kecepatan tinggi selama 2 menit tanpa penambahan air. Hal tersebut dikarenakan enzim papain dan bromelin merupakan golongan enzim ekstraseluler dimana enzim ini dapat ditemukan pada dinding sel dan juga dapat berfungsi di luar sel, meskipun semua enzim pada mulanya dihasilkan di dalam sel. Sehingga untuk mendapatkannya, perlu dilakukan proses untuk memperkecil ukuran sumber enzim ekstraseluler yang terdapat pada jaringan tumbuhan atau organisme.

4.3. Fermentasi Biji Kopi dengan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dan Papain

Fermentasi kopi dengan penambahan enzim merupakan salah satu metode pengolahan yang dapat mempengaruhi karakteristik kimia dan fisik pada kopi. Bromelin dan papain adalah enzim protease alami yang dapat membantu memecah protein-protein kompleks dalam biji kopi selama proses fermentasi.

Hasil akhir karakteristik kopi dari fermentasi ini akan berbeda dikarenakan perbedaan jenis enzim yang digunakan, proporsi campuran, waktu fermentasi, suhu fermentasi dan faktor-faktor lainnya.

Pada penelitian ini, kulit nanas diambil dari pedagang nanas madu potong, yang mana merupakan distributor nanas dari perkebunan nanas yang terletak di lereng Gunung Kelud, Kediri. Sedangkan pepaya didapatkan dari perkebunan pepaya warga di Desa Permanu Kecamatan Pakisaji Kabupaten Malang. Setelah bahan didapatkan, selanjutnya dibersihkan dari kotoran yang masih menempel lalu diambil bagian kulitnya dan dipotong menjadi bagian yang lebih kecil. Dilakukan penghalusan tanpa penambahan air untuk mendapat enzim bromelin dan papain dalam bentuk cairan yang nantinya akan digunakan untuk merendam biji kopi. Enzim yang telah dalam cairan kemudian diaplikasikan ke dalam sampel kopi yang telah disiapkan dengan komposisi sesuai dengan faktor penelitian yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80% kemudian ditandabatkan dengan akuades agar kopi terendam sempurna. Penambahan air juga dilakukan karena sifat enzim proteolitik pada saat mendegradasi substrat memerlukan air atau biasa disebut dengan hidrolase (Ratnaningsih, 2015). Selanjutnya, sampel diinkubasi dalam inkubator selama 36 jam dan pada suhu terkontrol yaitu 37°C. Setelah proses fermentasi selesai, sampel dicuci untuk menghentikan proses degradasi. Kemudian dikeringkan di dalam oven selama 10 jam dengan suhu 60°C. Kopi yang telah kering disangrai lalu dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh dengan tujuan memperkecil ukuran partikel. Pengecilan ukuran partikel dalam analisis memiliki beberapa fungsi, diantaranya yaitu meningkatkan laju

absorpsi (Halim dkk., 2012), meningkatkan luas kontak muka (Bestari dkk., 2017), meningkatkan keakuratan analisis (Desiati dkk., 2018).

4.4. Analisis Kadar Kafein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

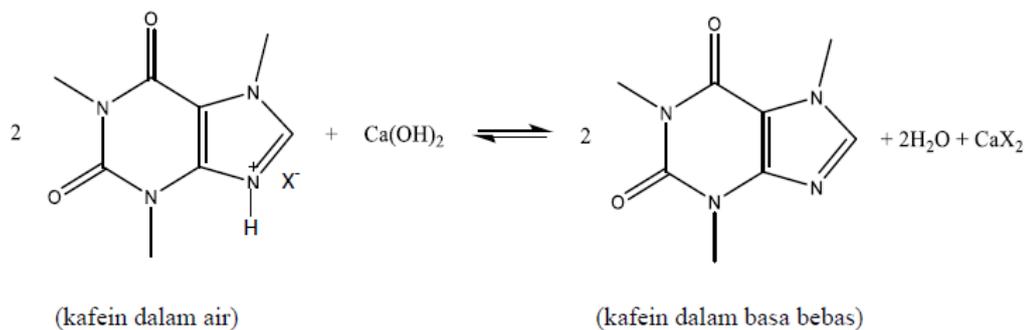
Penentuan kadar kafein dilakukan dengan pemisahan atau ekstraksi cair-cair dan dilanjutkan analisis dengan spektrofotometer Uv-Vis. Penyeduhan kopi dilakukan dengan metode tubruk. Sampel kopi yang telah berbentuk serbuk, ditimbang 5 gram dan dilarutkan dengan akuades panas sebanyak 100 mL. Dibiarkan seduhan selama 30 detik lalu diaduk kopi hingga rata dan dibiarkan kembali selama 4 menit. Pada proses ini, serbuk kopi akan kontak langsung dengan akuades panas sehingga terbentuk suspensi yang terdiri dari senyawa yang larut dan tidak larut dalam air. Senyawa kimia yang sebelumnya terikat dengan partikel kopi akan berpindah ke dalam pelarut air panas. Larutan kopi hasil penyeduhan kemudian disaring menggunakan kertas saring halus dan diambil filtratnya.

Pemisahan antara kafein dan partikel lain, dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair. Metode ini merupakan metode pemisahan komponen kimia antara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Prinsip dari ekstraksi cair-cair ini adalah *like dissolve like*, artinya senyawa polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non-polar akan larut ke dalam pelarut non-polar. Untuk memisahkan kafein yang bersifat non-polar maka diperlukan pelarut non-polar pula. Pemilihan solven yang tepat juga akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Kloroform merupakan pelarut non-polar yang dapat digunakan untuk ekstraksi kafein dalam kopi (Abriyani dkk., 2022). Penambahan CaCO_3 dilakukan saat filtrat kopi masih

dalam keadaan hangat. Hal tersebut dikarenakan CaCO_3 terdekomposisi sempurna jika larutan masih hangat. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Fungsi CaCO_3 yaitu untuk memutus ikatan kafein dengan senyawa lain di dalam larutan kopi. Kafein yang telah terputus ikatannya akan berada dalam keadaan basa bebas (Fajriana dkk., 2018), dimana kondisi ini merupakan bentuk kafein yang paling non-polar sehingga akan lebih mudah larut saat ditambahkan kloroform. Berikut merupakan reaksi pembasaan kafein:



Gambar 4. 1 Reaksi Pembasaan Kafein

Penggojokan corong pisah saat ekstraksi dilakukan hingga terjadi kesetimbangan zat yang diekstraksi hingga terbentuk dua lapisan yang memiliki beda titik kepolaran. Ekstraksi ini dilakukan sebanyak 3x pengulangan agar dapat meningkatkan randemen dan kualitas yang dihasilkan. Lapisan atas merupakan fase air yang memiliki berat molekul (18,01528 g/mol) dan lapisan bawah merupakan fase organik (Kloroform) dengan berat molekul (119,38 g/mol), lapisan bawah diambil dan diuapkan pada lemari asam hingga tersisa kristal kafein. Kristal kafein memiliki bentuk kristal panjang seperti jarum dengan warna

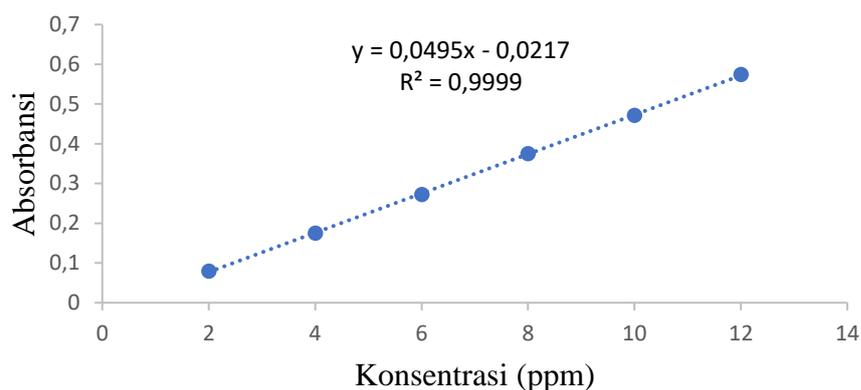
putih atau bening. Hal tersebut sesuai dengan (Abriyani dkk., 2022) yang menyatakan bahwa kristal kafein paling sering ditemukan dalam bentuk jarum-jarum memanjang berwarna putih atau bening.



Gambar 4. 2 Ekstraksi Cair-Cair dan Kristal Kafein Sampel

Pengukuran kadar kafein dilakukan dengan spektrofotometer uv-vis, dimana konsentrasi kafein dalam larutan dapat dihitung berdasarkan intensitas penyerapan cahaya yang diserap oleh kafein pada panjang gelombang tertentu. Berdasarkan penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer uv-vis, panjang gelombang kafein didapatkan rentang 273 nm. Hal ini sesuai dengan jurnal yang dilaporkan Egan (1981), dalam (Fajriana dkk., 2018) yang menyebutkan, bahwa panjang gelombang absorpsi maksimum kafein berada pada rentang panjang gelombang 272-276 nm.

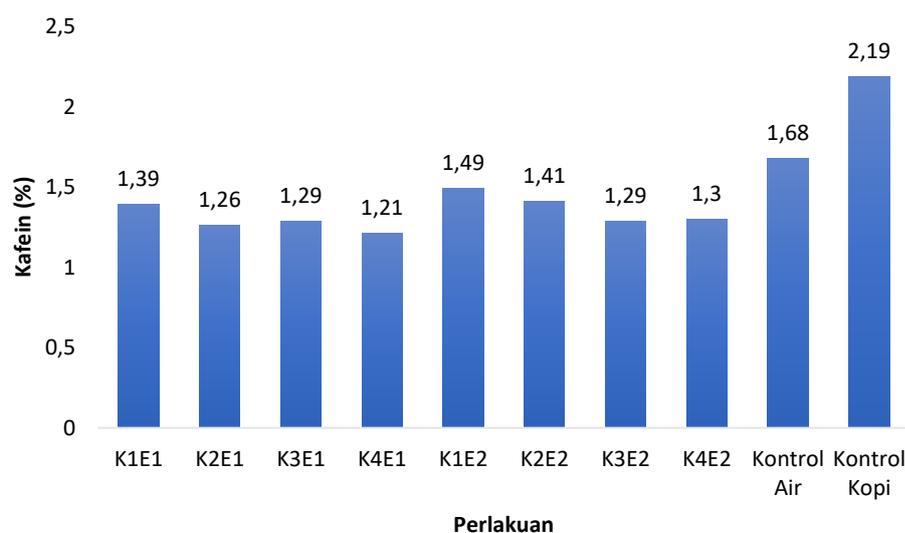
Dibuat larutan standar dan hasil absorpsi dibuat kurva standar. Kurva standar merupakan plot hubungan antara konsentrasi (ppm) dengan absorpsi dari larutan standar kafein murni. Hasil pengukuran serapan larutan standar diperoleh kurva kalibrasi dengan 6 variasi konsentrasi yaitu 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm; dan 12 ppm. Didapatkan hasil persamaan garis regresi dari kafein adalah $y = 0,0495x - 0,0217$ dengan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9999.



Gambar 4. 3 Kurva Standar Kafein

Kristal kafein sampel yang telah didapatkan kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL untuk dilakukan pengukuran serapan absorbansi. Dipipet larutan sebanyak 0,25 mL lalu diencerkan dengan akuades di dalam labu ukur 10 mL, sehingga faktor pengenceran sebesar 40x. Sampel yang telah diencerkan kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 273nm.

Enzim merupakan molekul protein kompleks yang bertindak sebagai biokatalisator dalam reaksi kimia. Prinsip enzim adalah mempercepat laju reaksi biokimia tanpa harus ikut terlibat dalam reaksi tersebut. Pepaya mengandung enzim papain. Papain terdapat pada sebagian besar bagian pepaya, kecuali akar dan bijinya. Batang, daun, kulit serta buah nya mengandung getah berwarna putih yang mengandung enzim proteolitik yaitu enzim papain (Nuryati dkk., 2018). Sedangkan nanas mengandung enzim bromelin yang terdapat pada semua bagian buah nanas, termasuk batang dan kulitnya (Dzulqaidah dkk., 2021). Keduanya masuk ke dalam golongan enzim proteolitik yaitu enzim pemecah protein. Enzim proteolitik dapat menghilangkan sebagian kafein di dalam *green bean* kopi.



Gambar 4. 4 Rata-Rata Kadar Kafein Sampel

Keterangan:

E₁ = Enzim bromelin

E₂ = Enzim papain

K₁ = Konsentrasi 20% (v/b)

K₂ = Konsentrasi 40% (v/b)

K₃ = Konsentrasi 60% (v/b)

K₄ = Konsentrasi 80% (v/b)

Hasil analisis kadar kafein kopi robusta, didapatkan kadar kafein tertinggi pada kopi tanpa fermentasi yaitu sebesar 2,19%, sedangkan kandungan kafein terendah pada sampel dengan penambahan 80% enzim bromelin, yaitu sebesar 1,21%. Serta terdapat perbedaan signifikan pada sampel yang diberikan penambahan enzim dengan sampel yang hanya difermentasi menggunakan air. Hal tersebut membuktikan jika penambahan enzim proteolitik berpengaruh pada penurunan kadar kafein dalam kopi. Kopi yang hanya difermentasi dengan air, terjadi penurunan kadar kafein walaupun dalam nilai yang rendah. Hal tersebut terjadi karena di dalam biji kopi terdapat beberapa jenis bakteri lokal (*indigenous*) yang menyebabkan adanya fermentasi spontan. Bakteri *indigenous* merupakan mikroorganisme yang secara alami dapat ditemukan dalam lingkungan tertentu,

seperti tanah, air maupun pada tumbuhan. Beberapa mikroorganisme seperti fungi dan bakteri mampu mendegradasi kafein dengan cara memanfaatkan kafein yang mengandung sumber karbon dan nitrogen (Farida dkk., 2013). Penambahan enzim proteolitik pada penelitian ini dimaksudkan untuk mempercepat laju reaksi degradasi kafein. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan hasil perbandingan perlakuan fermentasi kopi menggunakan air dengan perlakuan fermentasi kopi yang ditambahkan enzim bromelin serta papain. Dimana, kandungan kafein pada kopi yang difermentasi dengan air didapatkan % penurunan sebesar 23,28%. Sedangkan kopi yang terfermentasi enzim bromelin, mampu mendegradasi kafein hingga 44,74% pada perlakuan K₄E₁. Hasil penelitian yang dilakukan Kiyat, dkk. (2019) menjelaskan bahwa enzim proteolitik yang ditemukan pada kopi hasil feses luwak, mampu membantu menguraikan protein, karena terdapat aktivitas proteolitik yang tinggi yang dihasilkan bakteri proteolitik dalam saluran pencernaan luwak, menyebabkan berkurangnya kadar kafein pada kopi serta akan meningkatkan asam amino bebas. Cara kerja enzim proteolitik dalam menurunkan kadar kafein di dalam biji kopi yaitu dengan memecah protein yang merupakan komponen terbesar pada membran kopi. Protein akan dihidrolisis oleh enzim bromelin yang merupakan enzim proteolitik. Dimana enzim proteolitik ini dapat membantu melunakkan dan memecah komponen protein dalam membran sehingga akan memudahkan proses pelarutan kafein. Membran biji kopi mengandung 40% lemak, 52% protein, dan 8% karbohidrat (Yatim, 2003). Protein yang telah terurai menyebabkan air lebih mudah masuk ke dalam biji kopi melalui pori-pori pada kulit tanduk, sehingga kafein akan larut dalam air dan terbuang

pada proses pencucian. Hal ini karena sifat kafein yang mudah larut dalam air dengan mengikat suatu molekul air (Usman dkk., 2015).

Hasil analisa ANOVA *two way* yang dapat dilihat pada Lampiran 4.1, tidak ada perbedaan signifikan yang terjadi antara jenis enzim terhadap penurunan kadar kafein. Namun, ada perbedaan signifikan yang terjadi antara variasi konsentrasi terhadap penurunan kadar kafein, sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNJ (Beda Nyata Jujur).

Tabel 4. 1 Hasil Uji BNJ Taraf 5%

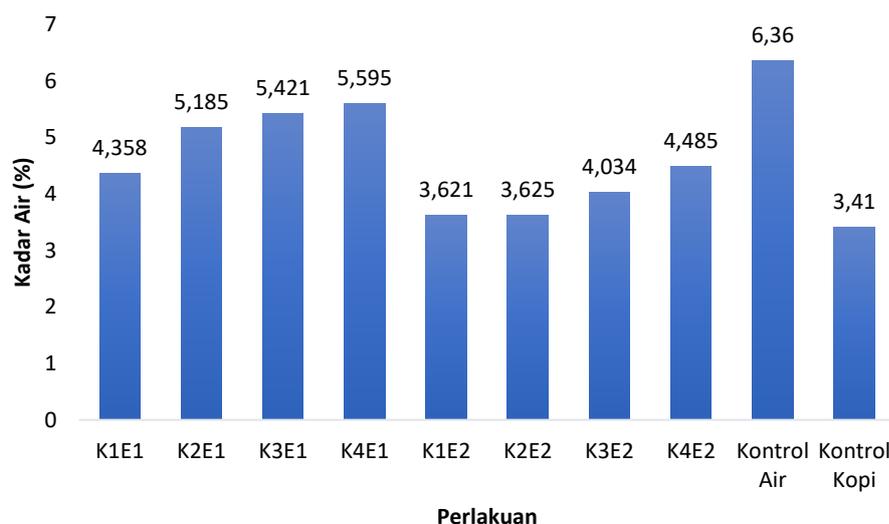
Sampel	Kadar Kafein (%)	% Penurunan
K1E1	1,39 ^b	36,52
K2E1	1,26 ^{ab}	42,46
K3E1	1,29 ^{ab}	41,09
K4E1	1,21 ^a	44,74
K1E2	1,49 ^b	31,96
K2E2	1,41 ^{ab}	35,61
K3E2	1,29 ^{ab}	41,09
K4E2	1,3 ^a	40,63
Kontrol Air	1,68	23,28
Kontrol Kopi	2,19	

Berdasarkan hasil uji BNJ, dapat dilihat bahwa pada perbedaan kedua enzim tidak memiliki pengaruh yang nyata. Namun antara konsentrasi penambahan enzim sebanyak 20% dengan 80% terlihat perbedaan yang sangat nyata, dimana hal tersebut ditandai dengan notasi huruf kecil yang berbeda. Dapat dilihat pada Gambar 4.4, semakin banyak enzim yang ditambahkan maka semakin banyak penurunan kadar kafeinnya. Hal tersebut sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi enzim proteolitik, maka kecepatan reaksi akan semakin meningkat, sehingga kinerja enzim dalam menghidrolisis protein pada kafein akan semakin tinggi pula (Juwita dkk., 2022). Namun pada

penelitian ini, selisih penurunan kadar kafein berdasarkan konsentrasi penambahan enzim mempunyai nilai selisih yang kecil. Hal tersebut dapat terjadi karena pada penelitian ini menggunakan ekstrak kasar, sehingga kemurnian enzim perlu diperhatikan agar dihasilkan nilai penurunan kadar kafein yang berbeda nyata.

4.5. Kadar Air

Kadar air merupakan persentase atau jumlah air yang terkandung dalam suatu bahan. Kadar air dapat ditentukan melalui beberapa metode, salah satunya yaitu metode gravimetri. Kadar air penting dilakukan analisis, karena kadar air yang tepat dapat mempengaruhi kualitas dan sifat fisik dari berbagai bahan. Buah kopi pada saat pemanenan mengandung air di atas 60% (R. A. Winarno dkk., 2021), sedangkan biji kopi yang disimpan dalam jangka panjang kadar air menurut SNI 01-2907-2008 harus diturunkan hingga 12,5%. Sementara kopi yang telah dihaluskan mempunyai ketentuan kadar air yang diatur dalam SNI 01-3542-2004 yaitu berkisar 7%.



Gambar 4. 5 Rata-Rata Kadar Air Sampel

Hasil uji kadar air bubuk kopi robusta pada berbagai jenis konsentrasi enzim bromelin dan papain dapat dilihat pada Gambar 4.5 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar air antara dua jenis enzim yang berbeda, serta dapat diketahui bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi enzim maka semakin tinggi kadar air sampel. Hal tersebut didukung oleh hasil pengujian menggunakan menggunakan ANOVA *two way* yang dapat dilihat pada Lampiran L.4.2, terdapat perbedaan nyata antar variabel penelitian, hal ini membuktikan bahwa kedua faktor penelitian yaitu variansi enzim dan konsentrasi yang ditambahkan memiliki interaksi yang saling mempengaruhi atau didapatkan hasil yang berbeda nyata, dimana data yang dihasilkan memiliki nilai $\alpha < 0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji BNJ.

Tabel 4. 2 Hasil Uji BNJ Taraf 5%

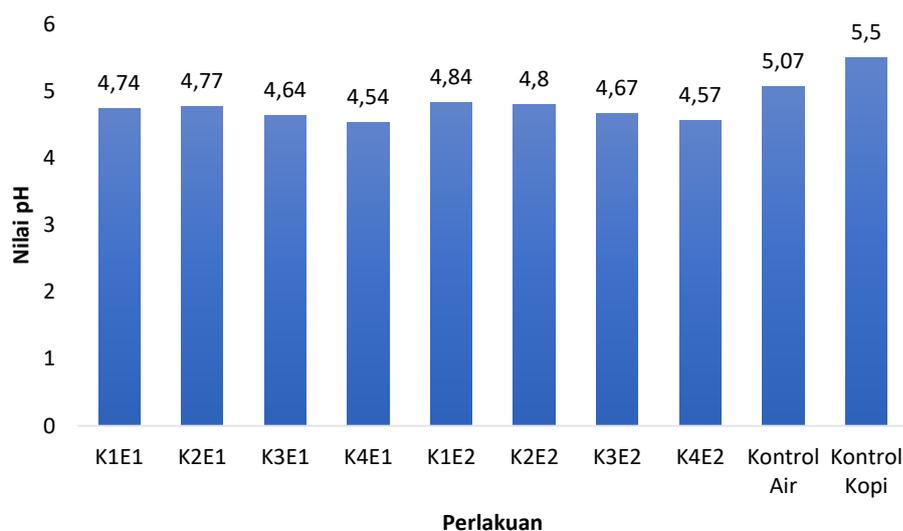
Sampel	Kadar Air (%)
K1E1	4.358 ^a
K2E1	5.185 ^b
K3E1	5.421 ^c
K4E1	5.595 ^d
K1E2	3.621 ^a
K2E2	3.625 ^b
K3E2	4.034 ^c
K4E2	4.485 ^d
Kontrol Air	6.36
Kontrol Kopi	3.41

Hasil uji lanjut BNJ menunjukkan bahwa biji kopi robusta yang difermentasi menggunakan enzim dan konsentrasi yang berbeda mempunyai nilai yang sangat berbeda nyata, hal tersebut ditandai dengan notasi huruf yang berbeda pada setiap perlakuan. Kadar air tertinggi terkandung pada kontrol air sebesar 6,36% dan sampel K₄E₁ dengan kadar air sebanyak 5,595% dan kadar air terendah pada sampel tanpa fermentasi yaitu sebanyak 3,41%. Hal tersebut terjadi karena pada proses fermentasi dengan penambahan enzim papain dan bromelin, maka terjadi pemecahan protein sehingga pori-pori kopi menjadi terbuka dan dimanfaatkan molekul air untuk masuk ke dalamnya (Rosalinda dkk., 2021). Faktor lain yang menyebabkan tinggi nya kadar air sampel dengan perlakuan fermentasi dibandingkan dengan sampel tanpa perlakuan fermentasi adalah kandungan air pada bahan yang digunakan saat fermentasi. Kulit buah nanas mengandung air sebanyak 81,72% (Prasetya Kusuma dkk., 2019), sedangkan kulit buah pepaya muda juga mengandung air namun tidak sebanyak kulit nanas. Hal tersebut mengindikasikan pengaruh banyaknya kadar air yang terkandung pada kulit buah nanas dan kulit buah pepaya mampu memberikan perubahan pada hasil perlakuan kandungan kadar air dalam proses fermentasi. Namun, enzim proteolitik juga

memerlukan bantuan air karena enzim ini termasuk dalam golongan hidrolase, karena enzim proteolitik bekerja memecah ikatan peptide dalam peptida, polipeptida dan protein menjadi ikatan yang lebih sederhana yaitu rantai pendek peptida dan asam amino dengan reaksi hidrolisis (Baehaki dkk., 2019). Hal tersebut dapat menjelaskan hasil nilai kadar air sampel yang terfermentasi air lebih besar daripada nilai kadar air sampel yang terfermentasi enzim proteolitik. Hasil kadar air merupakan proses terikatnya dan masuknya air terkandung dalam masing-masing komponen, sehingga air berdifusi dan diserap oleh pori-pori kopi ketika berlangsungnya proses fermentasi (Oktadina dkk., 2013). Dari semua hasil analisis sampel, nilai kadar air masih memenuhi standar yang ditetapkan SNI yaitu kurang dari 7%.

4.6. Nilai pH

Derajat keasaman merupakan ukuran dari kandungan asam atau basa dalam suatu zat atau larutan. Derajat keasaman diukur menggunakan skala pH, dimana pH yang rendah menunjukkan tingkat keasaman yang tinggi, sedangkan pH yang tinggi menunjukkan tingkat kebasaan yang tinggi. Analisis kadar pH pada kopi dekafeinasi merupakan proses pengukuran tingkat keasaman atau kebasaan dalam kopi yang telah mengalami proses dekafeinasi. Pengukuran pH dapat memberikan informasi penting mengenai sifat kimia dan kualitas kopi tersebut. Keasaman pada biji kopi akan menentukan karakter, serta cita rasa tersendiri pada produk kopi. Biji kopi yang baik memiliki tingkat keasaman yang rendah. Keasaman yang terlalu tinggi akan membuat cita rasa kopi menjadi tidak nikmat.



Gambar 4. 6 Rata-Rata pH Sampel Kopi Seduhan

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi enzim bromelin dan papain, tingkat keasaman seduhan kopi semakin menurun yang artinya semakin asam kopi tersebut. Hasil analisis dengan ANOVA *two way* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai kadar pH yang dipengaruhi oleh jenis enzim dan konsentrasi, hal tersebut terbukti dari nilai signifikan jenis enzim lebih kecil dari α (0,05) yang artinya H_0 ditolak, sehingga hasil tersebut dilanjutkan dengan uji BNJ yang dapat dilihat pada tabel 4.3. Namun, kedua variabel tidak terdapat interaksi yang saling mempengaruhi tingkat pH pada seduhan kopi. Hasil analisis kadar pH seduhan kopi dapat dilihat pada Lampiran L.4.3.

Tabel 4. 3 Hasil Uji BNJ Taraf 5%

Sampel	Nilai pH
K1E1	4.74 ^c
K2E1	4.77 ^c
K3E1	4.64 ^b
K4E1	4.54 ^a
K1E2	4.84 ^c
K2E2	4.8 ^c
K3E2	4.67 ^b
K4E2	4.57 ^a
Kontrol Air	5.07
Kontrol Kopi	5.5

Berdasarkan uji lanjut BNJ, dapat dilihat bahwa biji kopi robusta yang difermentasi menggunakan enzim dan konsentrasi yang berbeda mempunyai nilai yang berbeda nyata, hal tersebut ditandai dengan notasi huruf yang berbeda pada setiap perlakuan. Kopi robusta memiliki nilai keasaman berkisar antara 5,4-5,5 (Abubakar dkk., 2020), karena dalam biji kopi terdapat beberapa jenis asam yaitu asam format, asam asetat, asam oksalat, asam sitrat, asam laktat, asam malat dan asam quinat (Budi dkk., 2020). Pada perlakuan ini, didapat bahwa semakin banyak penambahan konsentrasi enzim bromelin dan papain, maka semakin tinggi penurunan derajat keasamannya, yang artinya semakin asam kopi tersebut. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyaktakan bahwa, semakin banyak penambahan proteolitik pada saat fermentasi, maka aktivitas enzim akan semakin banyak pula, sehingga semakin banyak komponen dalam biji kopi yang diuraikan menjadi asam amino. Menurunnya nilai pH dikarenakan adanya akumulasi asam organik yang meningkat akibat pemecahan asam amino yang disebabkan oleh metabolisme bakteri lokal yang terdapat dalam biji kopi (Pratiwi dkk., 2023). Asam amino ini terdiri dari leusin, iso leusin, valine, alanin, threonin, glisin dan

asam aspartat (Daisa dkk., 2017). Selain itu, selama proses fermentasi gula pereduksi dan pektin yang terkandung dalam mucilage kopi akan didegradasi oleh enzim proteolitik dari nanas dan pepaya melalui serangkaian reaksi enzimatik menjadi etanol dan asam organik yang mempunyai sifat asam, sehingga semakin banyak enzim yang ditambahkan, maka tingkat keasaman juga akan menurun. Lapisan lendir pada biji kopi mengandung senyawa gula sederhana dan pektin yang diubah menjadi alkohol dan asam-asam organik oleh mikroorganisme selama fermentasi berlangsung sehingga dapat menurunkan pH biji serta merubah tekstur lapisan lendir menjadi mudah untuk dicuci dan dihilangkan (Correa dkk., 2014).

4.7. Kadar Protein

Kadar protein merupakan jumlah protein yang terdapat dalam suatu bahan pangan. Sumber protein banyak ditemukan di dalam bahan pangan nabati seperti biji-bijian, kacang-kacangan dan produk kedelai, selain itu sumber protein juga dapat ditemukan dalam bahan pangan hewani seperti daging, susu dan telur. Kadar protein dapat ditentukan jumlahnya menggunakan analisis metode Kjeldahl, yaitu dengan mengukur jumlah Nitrogen total dan mengalikannya dengan faktor konversi protein. Meskipun metode kjeldahl didesain untuk mengukur kadar Nitrogen, tetapi sering digunakan sebagai cara memperkirakan kadar protein dalam suatu sampel, karena protein mengandung sekitar 16% Nitrogen. Protein merupakan gabungan antara asam-asam amino dengan ikatan peptida, yaitu ikatan antara gugus asam amino. Proses sintesis protein melibatkan asam amino, yang selanjutnya akan terjadi rangkaian aktivitas yang menyebabkan

asam-asam amino saling berkaitan membentuk peptida (Rosmawati, 2013). Hasil pengukuran kadar protein tersaji pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 4 Hasil Uji Kadar Protein menggunakan Metode Kjeldahl

Sampel	Kadar Protein Kasar (%)
Tanpa Fermentasi	12,97
K ₄ E ₂	11,69

Dari hasil analisa di atas, diketahui bahwa serbuk kopi tanpa fermentasi menghasilkan kadar protein kasar yang lebih tinggi yakni 12,97% dibandingkan dengan serbuk kopi yang diberikan perlakuan menggunakan enzim proteolitik yakni sebesar 11,69%. Hal tersebut membuktikan bahwa terjadi aktivitas proteolitik dalam sampel yang ditambahkan enzim protease saat proses fermentasi, dimana enzim protease dapat memecah komponen protein dan mengubahnya menjadi bagian yang lebih kecil atau asam amino. Sehingga pada saat proses pencucian dengan air, protein yang dapat larut dalam air akan ikut terlarut dan ikut terbawa oleh air pencucian (Mayningsih dkk., 2017). Enzim protease yang terkandung dalam pepaya mempunyai aktivitas katalitik yang mampu menurunkan kadar protein dan kafein dalam kopi (Utama dkk., 2022). Hal tersebut juga sejalan dengan penelitian Rusmanto (2004), bahwa kadar protein akan menurun seiring dengan menurunnya kadar kafein dalam kopi, karena kafein merupakan hasil samping dari pemecahan protein dalam kopi.

Dari semua hasil analisis, dapat disimpulkan bahwa ketika konsentrasi enzim bertambah, maka kadar kafein akan semakin menurun. Hal tersebut dapat terjadi karena enzim proteolitik akan mempercepat laju reaksi degradasi kafein oleh bakteri *indigenous* yang secara alami terdapat dalam biji kopi. Kafein dalam biji kopi terletak pada vakuola, sementara protein banyak ditemukan pada membran

sel kopi, sehingga diperlukan perlakuan untuk mengurai protein tersebut. Enzim proteolitik merupakan enzim pemutus ikatan protein menjadi asam amino. Saat enzim memutus ikatan protein menjadi asam-asam amino, air akan masuk ke dalam vakuola kopi melalui membran sel, kemudian kafein yang sifatnya mudah larut dalam air akan ikut terbawa air yang kemudian terbuang saat proses pencucian biji kopi. Pada saat proses fermentasi sejumlah air yang telah masuk ke dalam vakuola sebagian akan terjebak di dalam biji kopi, hal tersebut menyebabkan semakin banyak konsentrasi enzim proteolitik yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula kadar airnya karena enzim proteolitik memerlukan air pada saat bekerja memutus ikatan peptida. Ikatan protein yang telah terurai menjadi asam amino, menyebabkan kadar protein semakin menurun seiring banyaknya protein yang terurai. Banyaknya asam amino yang terbentuk dari pemecahan komponen protein oleh metabolisme bakteri *indigenous* menyebabkan adanya akumulasi asam-asam organik, sehingga kopi mempunyai tingkat keasaman yang rendah. Selain itu, selama proses fermentasi gula pereduksi dan pektin akan didegradasi oleh enzim melalui serangkaian reaksi enzimatik menjadi etanol dan asam organik yang mempunyai sifat asam, sehingga semakin banyak enzim yang ditambahkan, maka tingkat keasaman juga akan menurun.

4.8. Hikmah Penelitian

Allah menganugerahi manusia dengan akal dan pikiran agar manusia dapat memahami semua petunjuk akan ciptaannya. Melalui sarana akal dan pikiran, manusia dapat dengan mudah mencari, menggali dan mengembangkan ilmu pengetahuan. Karena akal pikiran, manusia dapat berpikir logis dan kritis

sehingga menghasilkan ilmu pengetahuan yang bermanfaat untuk orang lain sebagai bentuk hasil dari *rahmatan lil 'alamin*. Melalui ilmu pengetahuan, manusia mampu memahami berbagai masalah yang berkaitan dengan kehidupan dan mencari solusinya. Umat Islam dibekali Al-Qur'an sebagai pedoman dan pegangan dalam menjalankan kehidupan. Melalui Al-Qur'an, umat Islam dapat menggunakan akal pikirannya dengan sebaik-baiknya untuk mengkaji, memperoleh petunjuk dengan berkreaitivitas dalam mengungkap dan menganalisis berbagai peristiwa alam semesta. Sebagaimana firman Allah dalam QS. An-Nahl ayat 10-13:

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ۱۰ يُنبِثُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّجِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ۱۱ وَسَخَّرَ لَكُمْ الَّيْلَ وَالنَّهَارَ وَالشَّمْسَ وَالْقَمَرَ وَالنُّجُومَ مُسَخَّرَاتٌ بِأَمْرِ اللَّهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ۱۲ وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ۱۳

Artinya: *“Dialah yang telah menurunkan air (hujan) dari langit untuk kamu. Sebagiannya menjadi minuman dan sebagiannya (menyuburkan) tumbuhan yang dengannya kamu menggembalakan ternakmu (10). Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untukmu tumbuh-tumbuhan, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir (11). Dia menundukkan malam dan siang, matahari dan bulan untukmu, dan bintang-bintang dikendalikan dengan perintah-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang mengerti (12). (Dia juga mengendalikan) apa yang Dia ciptakan untukmu di bumi ini dengan berbagai jenis dan macam warnanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran (13).” (QS.An-Nahl:10-13).*

Dalam ayat ke 10-13 QS. An-Nahl, Allah Swt. menunjukan bukti keberadaan-Nya, kesempurnaan-Nya serta ciptaan-Nya, kemudian Allah Swt. juga menunjukkan pembuktian akan ciptaan-Nya yang menakjubkan serta penuh keajaiban. Dalam tafsir *Fathul Qadir* dijelaskan, pada QS. An-Nahl ayat 10-11 Allah Swt. menurunkan dari arah langit berupa air hujan agar makhluk ciptaan-

Nya dapat meminumnya serta untuk menyuburkan tumbuh-tumbuhan (zaitun, kurma, anggur, juga tumbuhan lainnya seperti nanas, pepaya) dan menjaga kelestarian binatang. Dari tanam-tanaman tersebut manusia dapat mengambil dan memakan-Nya untuk bertahan hidup. Dari peristiwa alam ini (penurunan air hujan dan penumbuhan tumbuh-tumbuhan), Allah Swt. mengisyaratkan bahwa hal tersebut benar-benar terdapat tanda kekuasaan Allah yang besar, yang menunjukkan kesempurnaan ciptaan-Nya bagi kaum yang memikirkan (Asy-Syaukani, 2011). Kemudian Allah menambahkan bukti lainnya dengan menjelaskan adanya siang dan malam pada QS. An-Nahl 12. Bersumber dari tafsir *Fathul Qadir* dijelaskan bahwa Allah Swt. menjadikan siang dan malam sesuai dengan kebutuhan dan untuk kemaslahatan manusia. Demikian pula dengan penciptaan matahari, bulan dan bintang-bintang yang bergerak pada rotasi yang berpola, sehingga manusia bisa menetapkan ukuran-ukuran waktu dan mengetahui bagian masa (tahun). Semua itu diciptakan tidak lain agar manusia merenungi bahwa kekuasaan Allah itu nyata, yakni bagi umat manusia yang menggunakan akal pikirannya sehingga mengetahui tanda-tanda keberadaan penciptanya, keagungan serta keesaan-Nya. Sementara pada ayat 13, dijelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan makhluk (jin dan manusia) berbeda-beda bentuk dan ragamnya, ciptaan tersebut merupakan tanda kekuasaan Allah yang sangat jelas (Asy-Syaukani, 2011). Sehingga manusia yang menggunakan akal pikirannya akan mengambil pelajaran, mengkaji nya dan akan menemukan bukti yang dicari. Enzim merupakan molekul protein yang berperan sebagai katalisator dalam reaksi biokimia, mempercepat laju reaksi kimia tanpa ikut bereaksi. Banyak penelitian yang telah mengkaji mengenai berbagai jenis enzim, salah satunya yaitu enzim

protease yang mampu mendegradasi protein. Allah menciptakan segala sesuatu di dunia ini tak luput dari berbagai manfaat yang disajikan di dalamnya, termasuk pula enzim yang merupakan molekul kecil yang bahkan tidak terlihat langsung oleh mata manusia namun memiliki manfaat. Allah Swt. berfirman dalam QS. Al-Jatsiyah ayat 13:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ۙ ۱۳

Artinya: *“Dia telah menundukkan (pula) untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir.” (QS.Al-Jatsiyah:13).*

Ayat di atas mengungkapkan bahwa manusia dapat memanfaatkan segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah Swt. Dalam tafsir jalalain, dijelaskan bahwa semua yang ada di langit berupa matahari, bulan, bintang-bintang, air hujan dan lainnya, serta semua yang terdapat di bumi berupa binatang-binatang, tumbuh-tumbuhan, sungai dan lainnya, semuanya diciptakan tidak lain untuk dimanfaatkan oleh manusia. اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ pada penggalan ayat tersebut memiliki arti “Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir” sehingga manusia akan beriman (Asy-syuyuti dan Muhammad, 1505). Menurut tafsir Kemenag, kata menundukkan pada kalimat berarti menundukkan segala isi alam semesta untuk kepentingan yang bermanfaat bagi manusia dalam melaksanakan tugas sebagai khalifah Allah di bumi, sehingga manusia wajib berusaha mencari manfaat dan kegunaan ciptaan Allah (Kementrian Agama RI, 2011). Segala sesuatu yang terdapat di alam semesta ini tidak ada yang sukar untuk digunakan oleh manusia, asal menggunakan akal dan pikiran serta ilmu pengetahuan sehingga dapat

mengembangkan kebaikan-kebaikan yang berasal dari ciptaan Allah tersebut. Seperti enzim bromelin dari kulit nanas dan enzim papain dari kulit pepaya yang merupakan bagian dari enzim protease, yaitu enzim yang mampu mendegradasi protein. Biji kopi mengandung berbagai jenis senyawa di antaranya adalah protein, lipid, asam klorogenat dan kafein. Kafein yang terkandung dalam kopi mempunyai kemiripan dengan struktur protein, yaitu adanya gugus amida. Selama proses dekafeinasi menggunakan enzim protease, enzim akan bekerja memecah gugus ikatan amida yang memungkinkan kafein yang sebagian besar terikat dengan protein akan ikut meluruh, sehingga biji kopi yang telah diberikan perlakuan dengan enzim protease memiliki nilai kadar kafein yang lebih rendah. Dengan begitu, manusia yang mempunyai intoleran akan kafein yang tinggi dapat ikut serta menikmati kopi. Hasil penelitian, membuktikan bahwa biji kopi yang telah difermentasi menggunakan enzim bromelin dan papain memiliki perbedaan kandungan kafein dengan biji kopi tanpa penambahan enzim. Kadar kafein biji kopi robusta tanpa fermentasi mencapai 2,19%, sedangkan biji kopi yang terfermentasi enzim bromelin memiliki kadar kafein sebanyak 1,21% serta kopi yang terfermentasi enzim papain memiliki kadar kafein sebanyak 1,30%

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi 80% merupakan konsentrasi terbaik enzim papain dan bromelin dalam penurunan kadar kafein kopi. Penurunan tertinggi terdapat pada sampel kopi dengan penambahan enzim bromelin dari kulit buah nenas sebanyak 80% dengan rata-rata sebesar 1,21%, serta pada enzim papain 80% dengan rata-rata sebesar 1,30%. Sementara kontrol tanpa fermentasi didapatkan kadar kafein sebesar 2,19%. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi penurunan kadar kafein. Selain itu, penambahan enzim papain dan bromelin mampu menurunkan kadar protein, meningkatkan kadar air serta menurunkan pH seduhan kopi.

5.2 Saran

Saran yang ditujukan untuk peneliti selanjutnya diantaranya:

1. Degradasi kafein dapat dioptimasi dengan pemurnian enzim proteolitik ataupun menambahkan konsentrasi enzim dengan perbandingan jumlah enzim proteolitik yang lebih tinggi sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim dalam menurunkan kadar kafein dalam kopi.
2. Adanya pengujian lebih lanjut mengenai cita rasa yang dihasilkan.
3. Apabila saat dilakukan penguapan pada rotary evaporator selama 3 jam tidak maksimal (kloroform tidak menguap dengan sempurna), penguapan bisa dilakukan dalam lemari asam dalam kurun waktu 3 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Yanti, D., Yuliani, Azzahra, S. S., & Firdaus, M. A. (2022). Analisis Kafein Dalam Kopi Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Comprehensive Science*, 1(5), 1398–1409.
- Abubakar, Y., Gemasih, T., Muzaifa, M., Hasni, D., & Sulaiman, M. I. (2020). Effect Of Blend Percentage and Roasting Degree On Sensory Quality Of Arabica-Robusta Coffee Blend. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 425(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/425/1/012081>
- Anggara, A., & Marini, S. (2011). *Kopi: Si Hitam Menguntungkan Budi Daya dan Pemasaran*. Cahaya Atma Pustaka.
- Ardiansyah, R. (2010). *Budidaya Nanas* (Nova (ed.)). JPBOOKS.
- Arwangga, A. F., Asih, I. A. R. A., & Sudiarta, I. W. (2016). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Kimia*, 10(1), 110–114. <https://doi.org/10.24843/jchem.2016.v10.i01.p15>
- Aryadi, M. I., Arfi, F., & 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), 64–70.
- Astuty, D. W., Maulani, R., & Hidayat, A. (2020). Pengaruh Fermentasi dengan Ekstrak Bonggol Nanas dan Metode Pengerigan yang Berbeda Terhadap Karakteristik Biji Kopi Arabika (*Coffea arabika*.L). *Repository Tugas Akhir SITH-ITB*.
- Asy-Syaukani, A. I. M. bin A. bin M. (2011). *Terjemahan Tafsir Fathul Qadir* (B. Hidayat & F. Inayati (ed.)). Pustaka Azzam.
- Asy-syuyuti, J., & Muhammad, J. I. A. A.-M. (1505). *Tafsir Jalalain*.
- Badan Pusat Statistik Indonesia. (2022). *Catalog : 1101001*.
- Baehaki, A., Nopianti, R., Saputra, E., & Gofar, N. (2019). Eksplorasi Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Air Rawa Tanjung Senai Indralaya Sumatera Selatan. *Smart Farming yang Berwawasan Lingkungan untuk Kesejahteraan Petani*, September, 121–131.
- Baruwa, O. I. (2013). Profitability and constraints of pineapple production in Osun State, Nigeria. *Journal of Horticultural Research*, 21(2), 59–64. <https://doi.org/10.2478/johr-2013-0022>
- Bestari, A. N., Sulaiman, T. . S., & Purnamasari, D. A. (2017). Pengaruh Pengecilan Ukuran Partikel pada Kasus Pembuatan Pulveres dari Tablet Terhadap Kecepatan dan Profil Disolusi Serta Stabilitasnya. *Majalah Farmaseutik*, 13(1), 45–55.

- Brand, D., Pandey, A., Roussos, S., & Soccol, C. R. (2000). Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(1–2), 127–133. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00186-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00186-1)
- Budi, D., Mushollaeni, W., Yusianto, Y., & Rahmawati, A. (2020). Karakterisasi Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Tulungrejo Terfermentasi Dengan Ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Agroindustri*, 10(2), 129–138. <https://doi.org/10.31186/j.agroindustri.10.2.129-138>
- Budiman, I., Wahyudi, F., Yunardi, Y., & Meilina, H. (2021). Studi Fermentasi Biji Kopi Menggunakan Enzim Proteolitik. *Jurnal Serambi Engineering*, 6(4), 2228–2235. <https://doi.org/10.32672/jse.v6i4.3466>
- Ciptadi, W., & Nasution, M. Z. (1985). *Pengolahan Kopi*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Clifford, M. N. (1985). Chlorogenic Acids. *Coffee*, 6, 153–202. https://doi.org/10.1007/978-94-009-4948-5_5
- Correa, E. C., Jiménez-Ariza, T., Díaz-Barcos, V., Barreiro, P., Diezma, B., Oteros, R., Echeverri, C., Arranz, F. J., & Ruiz-Altisent, M. (2014). Advanced Characterisation of a Coffee Fermenting Tank by Multi-distributed Wireless Sensors: Spatial Interpolation and Phase Space Graphs. *Food and Bioprocess Technology*, 7(11), 3166–3174. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1328-4>
- Daisa, J., Rossi, E., & Dini, I. R. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Kasar Enzim Papain Pada Proses Dekafeinasi Kopi Robusta. *Jom Faperta*, 4(1).
- Desiati, R. D., Sugiarti, E., & Ramandhany, S. (2018). *Analisa Ukuran Partikel Serbuk Komposit NiCrAl dengan Penambahan Reaktif Elemen Untuk Aplikasi Lapisan Tahan Panas*. 27–34.
- Dzulqaidah, I., Zanuba, R. B., Alwi, A. S. F., Salsabila, A. R. P., Mursidi, S., & Muliastari, H. (2021). Ekstraksi dan Uji Aktivitas Enzim Bromelin Kasar dari Buah Nanas. *Journal of Agritechnology and Food Processing*, 1(2), 80. <https://doi.org/10.31764/jafp.v1i2.6974>
- El Moussaoui, A., Nijs, M., Paul, C., Wintjens, R., Vincentelli, J., Azarkan, M., & Looze, Y. (2001). Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(4), 556–570. <https://doi.org/10.1007/PL00000881>
- Erukainure, O. L., Ajiboye, J. A., Adejobi, R. O., Okafor, O. Y., & Adenekan, S. O. (2011). Protective effect of pineapple (*Ananas cosmosus*) peel extract on alcohol-induced oxidative stress in brain tissues of male albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 1(1), 5–9. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(11\)60002-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(11)60002-9)
- Eskelinen, M. H., & Kivipelto, M. (2010). Caffeine as a protective factor in

- dementia and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(SUPPL.1). <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1404>
- Fajriana, N. H., Fajriati, I., Kimia, J., Sains, F., Teknologi, D., Islam, U., Sunan, N., & Yogyakarta, K. (2018). Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Pada Variasi Temperatur Sangrai Secara Spektrofotometri Ultra Violet. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 3(02), 148–162.
- Farhaty, N., & Muchtaridi. (2014). Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi : Review. *Farmaka, Volume 14*.
- Farida, A., Ristanti, E., & Kumoro, A. C. (2013). Penurunan Kadar Kafein dan Asam Total Pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Teknologi Fermentasi Anaerob Fakultatif dengan Mikroba Nopkor MZ-15. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(3), 70–75.
- Franca, A. S. (2016). Coffee: Decaffeination. In *Encyclopedia of Food and Health* (hal. 232–236). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00183-5>
- Fujiwara, N., Masui, A., & Imanaka, T. (1993). Purification and properties of the highly thermostable alkaline protease from an alkaliphilic and thermophilic *Bacillus* sp. *Journal of Biotechnology*, 30(2), 245–256. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90117-6](https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90117-6)
- Gokulakrishnan, S., Chandraraj, K., & Gummadi, S. N. (2005). *Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine*. 37(July 2004), 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.03.004>
- Gummadi, S. N., Bhavya, B., & Ashok, N. (2012). Physiology, Biochemistry and Possible Applications of Microbial Caffeine Degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 545–554. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3737-x>
- Halim, A., Octavia, M. D., & Indriyani, R. (2012). Pengaruh besar ukuran partikel terhadap sifat – sifat tablet metronidazol. *Jurnal Farmasi Higea*, 4(2), 74–92.
- Herdyastuti, N. (2006). Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas (*Ananas comosus* L.merr). *Berk. Penel. Hayati*, 12, 75–77.
- James, P., & Baker, K. N. (2013). *Polymerization of Peptide Polymers for Biomaterial Applications*.
- Juwita, R., Tyas, E., Anggita, D., Sejati, P., Valerie, A., & Simanjuntak, S. (2022). Inovasi Ekstrak Pepaya sebagai Enzim Papain. *Jurnal MIPA dan Pembelajarannya*, 2(4), 300–306. <https://doi.org/10.17977/um067v2i4p300-306>
- Kementrian Agama, R. (2011). *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.

- Kiyat, W. El, Mentari, D., & Santoso, N. (2019). Review: Potential of Microbial cellulase, xylanase, and protease on in vitro fermentation of civet (*Paradoxurus hermaphroditus*) coffee. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(2), 58–66.
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). Aktivitas Enzim Bromelin Dari Ekstrak Kulit Nenas (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 15(1), 198. <https://doi.org/10.35799/jis.11.2.2011.207>
- Liska, K. (2004). *Drugs and The Body with Implication for Society* (Edisi 7th).
- Lubis, E. R. (2020). *Hujan Rezeki Budi Daya Nanas*. Bhuana Ilmu Populer.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Zyl, W. H. Van, & Isak, S. (2013). Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 506. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.506>
- Macrae, R. (1985). Nitrogenous Components. *Coffee*, 115–152. https://doi.org/10.1007/978-94-009-4948-5_4
- Marcone, M. F. (2004). Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International*, 37(9), 901–912. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.05.008>
- Mayningsih, J., Putri, A., Nocianitri, K. A., & Putra, N. K. (2017). Pengaruh Penggunaan Getah Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Proses Dekafeinasi Terhadap Penurunan Kadar Kafein Kopi Robusta Influence of the Use of Papaya (*Carica papaya* L.) in Decaffeination to the Kafein Reduction of Robusta Coffee. *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology)*, 4(2), 138–147.
- Mubarok, F., Suwasono, S., & Palupi, N. W. (2014). Perubahan Kadar Kafein Biji Kopi Arabika Hasil Pengolahan Semi Basah Dengan Perlakuan Variasi Jenis Wadah Dan Lama Fermentasi. *Berkala Ilmiah Pertanian*, x(1), 1–7.
- Murniati, E. (2006). *Sang Nanas Bersisik Manis di Lidah*. SIC.
- Najib, M. . (2014). Potensi Enzim Bromelin pada Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) Sebagai Bahan Anti Plak dalam Pasta Gigi. *BIMKGI*, 2(1), 8–17.
- Noviar, D., Ardiningsih, P., & Alimuddin, A. H. (2016). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Terhadap Karakteristik Fisiko Kimia Dan Cita Rasa Kopi (*Coffea* sp). *JKK*, 5(4), 40–46.
- Nuryati, N., Budiantoro, T., & Inayati, A. S. (2018). Pembuatan Enzim Papain Kasar dari Biji, Daun dan Kulit Pepaya dan Aplikasinya untuk Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO). *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, 5(2), 77–89. <https://doi.org/10.34128/jtai.v5i2.73>
- Oktadina, F. D., Argo, B. D., & Hermanto, M. B. (2013). *Pemanfaatan Nanas (Ananas Comosus L . Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (Coffea Sp) dalam Pembuatan Kopi Bubuk The Use of*

Pineapple (Ananas comosus L . Merr) for Reducing the Caffeine Content and Improving the Coffee (C. 1(3), 265–273.

- Prasetya Kusuma, A., Chuzaemi, S., & Mashudi. (2019). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Limbah Buah Nanas (*Ananas comosus L. Merr*) Terhadap Kualitas Fisik dan Kandungan Nutrien Menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis Maret*, 2(1), 1–1.
- Pratiwi, P., Yanto, S., & Sukainah, A. (2023). Pengaruh Lama Fermentasi Alami Terhadap Mutu Kopi Robusta Asal Bantaeng. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 9, 263–272.
- Putranto, W. (2006). Purifikasi dan Karakterisasi Protease Yang Dihasilkan *Lactobacillus acidophilus* dalam Fermentasi Susu Sapi Perah. *Seminar Nasional Bioteknologi “ Capturing Opportunities through Biotechnology” Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI.*
- Rahardjo, P. (2012). *Kopi Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Penebar Swadaya.
- Ratnaningsih, D. (2015). *Dekafeinasi Kopi Robusta (Coffea canephora L.) Dengan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Dari Kulit Nanas (Ananas comosus) (Kajian Konsentrasi Ekstrak Kasar Enzim Dan Lama Waktu Inkubasi)*. Universitas Brawijaya.
- Rosalinda, S., Febriananda, T., & Nurjanah, S. (2021). Penggunaan Berbagai Konsentrasi Kulit Buah Pepaya dalam Penurunan Kadar Kafein pada Kopi. *Jurnal Teknotan*, 15(1), 27. <https://doi.org/10.24198/jt.vol15n1.5>
- Saloko, S., Handito, D., Murad, & Apriani, N. (2020). The Effect of Addition Papaya Leaf Extract (*Carica papaya L.*) on Reducing Caffeine Levels in Robusta Coffee. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 515(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/515/1/012062>
- Samah, E. (2021). *Simbiosis Cendawan Mikoriza Arbuskula dengan Tumbuhan Budidaya* (J. Simarmata & A. Karim (ed.)). Yayasan Kita Menulis.
- Saripah, Aini, A. F., Manfaati, R., & Hariyadi, T. (2021). Pengaruh Suhu Lingkungan dan Waktu Fermentasi Biji Kopi Arabika Terhadap Kadar Kafein, Etanol, dan pH. *Prosiding The 12th Industrial Research Workshop and National Seminar*, 12, 124–128.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al Misbah : Pesan, kesan dan keserasian Al Qur'an*. Lentera Hati.
- Simanjuntak, R. E. V. (2011). *K o p i*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Soraya, C., Sunnati, & Munawar, S. (2013). Pengaruh Kopi Robusta dan Kopi Arabika Terhadap Perubahan pH Saliva (In Vitro). *Cakradonya Dent J*, 5(1), 475–541.
- Supartono. (2004). Karakterisasi Enzim Protease Netral dari Buah Nenas Segar.

Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang, 2(27), 134–142.

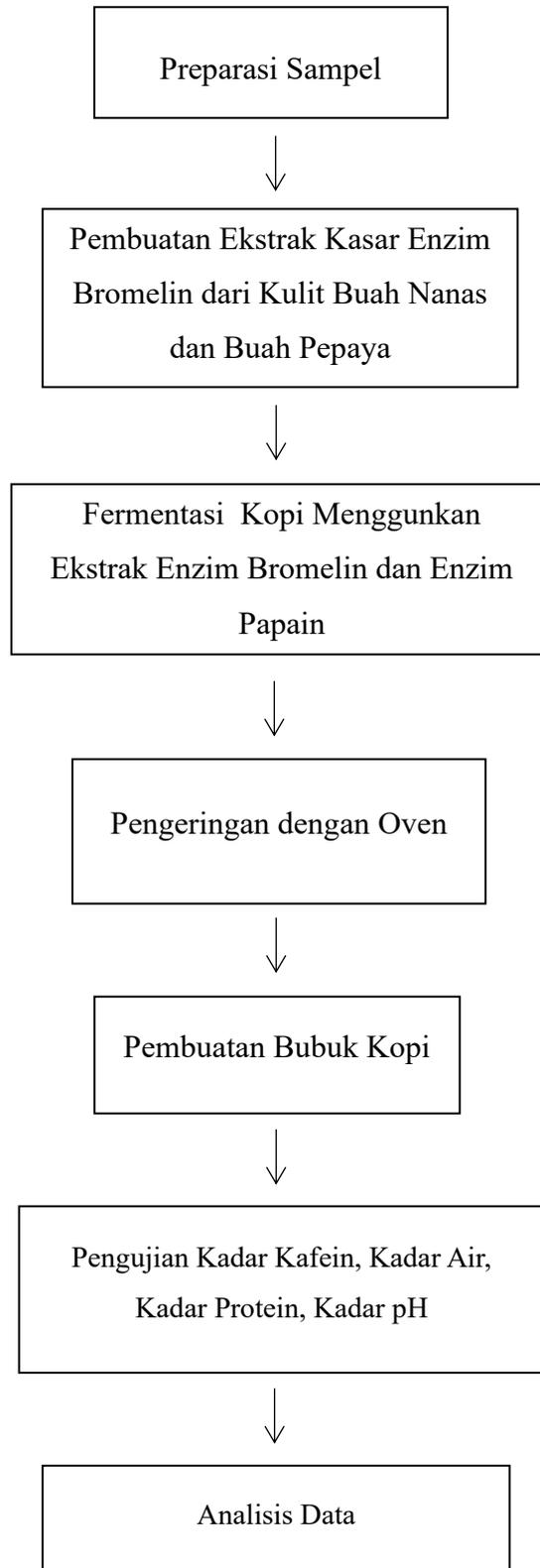
- Tawali, A. B., Abdullah, N., & Wiranata, B. S. (2018). Pengaruh Fermentasi Menggunakan Bakteri Asam Laktat Yoghurt Terhadap Citarasa Kopi Robusta (*Coffea Robusta*). *Canrea Journal: Food Technology, Nutrition, and Culinary Journal*, 90–97. <https://doi.org/10.20956/canrea.v1i1.26>
- Tika, I. N., Pujani, N. M., Agustiana, I. G. A. T., & Agustriana, T. (2017). Kafein Pada Kopi Dengan Fermentasi Menggunakan Mikroba Yang Diisolasi Dari Kopi Kotoran Luwak Kebun Kopi Di Kabupaten Buleleng. *Seminar Nasional Riset Inovatif 2017, 2015*, 893-846,.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2002). *Obat-Obat Penting*. PT. Elex Media Koputindo.
- Usman, D., Supriyadi, A., & Kusdiyantini, E. (2015). Fermentasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Feces Luwak Dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan unggulan Indonesia yang memiliki nilai ekspor tinggi dan memberikan de. *Jurnal Biologi*, 4(3), 31–40.
- Utama, Q. D., Zainuri, Paramartha, D. N. A., Widyasari, R., & Aini, N. (2022). Dekafeinasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lombok Menggunakan Sari Labu Siam (*Sechium edule*). *Pro Food (Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan)*, 8(8.5.2017).
- Wahyuni, D. (2018). Perbandingan Efektivitas Teh Hitam, Nanas dan Pepaya Sebagai Bahan Marinasi terhadap Kualitas Daging Sapi. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 7(1), 1–5. <https://doi.org/10.33230/jps.7.1.2018.6997>
- Widagdyo, D. R., Budiman, V. A., Aylilianawati, A., & Indraswati, N. (2013). Ekstraksi Kafeina dari Serbuk Kopi Java Robusta dengan Pelarut Minyak Jagung. *Widya Teknik*, 12(1), 1–10. <https://www.neliti.com/publications/231927/>
- Widyotomo, S. (2013). Perkembangan Teknologi Diversifikasi Limbah Kopi Menjadi Produk Bernilai Tambah. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*, 1(1), 62–79.
- Winarno, F. G. (1992). *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, R. A., Angin, M. I. B. P., & Sembiring, N. V. (2021). Karakteristik Sifat Kimia Biji Kopi Arabika Dengan Beberapa Metoda Pengolahan di Kabupaten Simalungun Provinsi Sumatera Utara. *Agrivet : Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian dan Peternakan (Journal of Agricultural Sciences and Veteriner)*, 9(2), 237–243. <https://doi.org/10.31949/agrivet.v9i2.1701>
- Wiyati, P. I., & Tjitraesmi, A. (2018). Karakterisasi, Aktivasi, dan Isolasi Enzim Bromelin dari Tumbuhan Nanas (*Ananas sp.*). *Farmaka*, 16(2), 179–185.
- Yatim, W. (2003). *Biologi Modern : Biologi Sel*. Tarsito.
- Yulifah, F. (2022). Pengaruh Teknik Penyeduhan Terhadap Kadar Kafein dalam

Bubuk Kopi Robusta (*Coffea Cenephora*) Dampit dengan Variasi Pelarut Secara Spektrofotometri UV-Vis. In *Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.

Yuniwati, M., Yusran, & Rahmadany. (2008). Pemanfaatan Enzim Papain Sebagai Penggumpal Dalam Pembuatan. *Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi 2008*, 127–133.

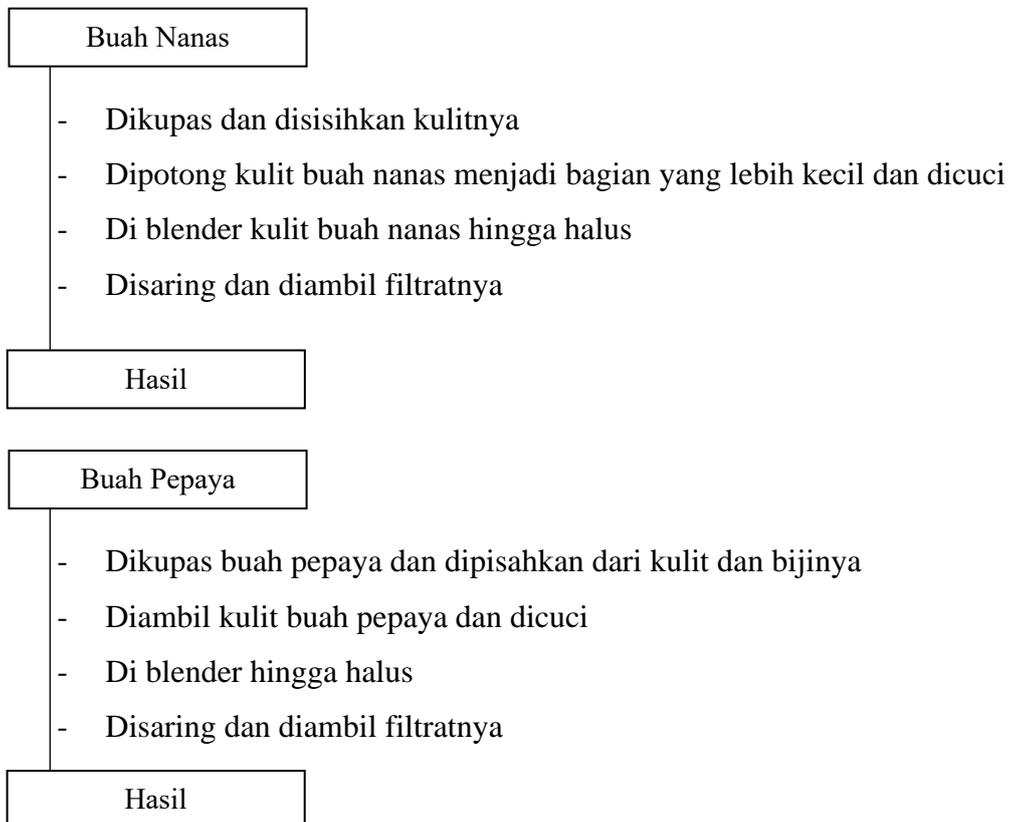
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

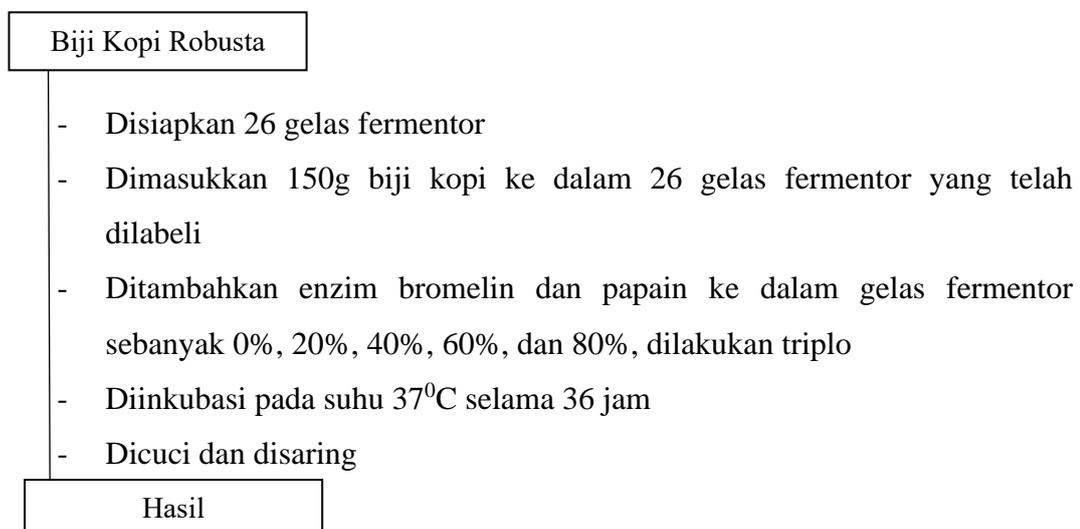


Lampiran 2. Diagram Alir

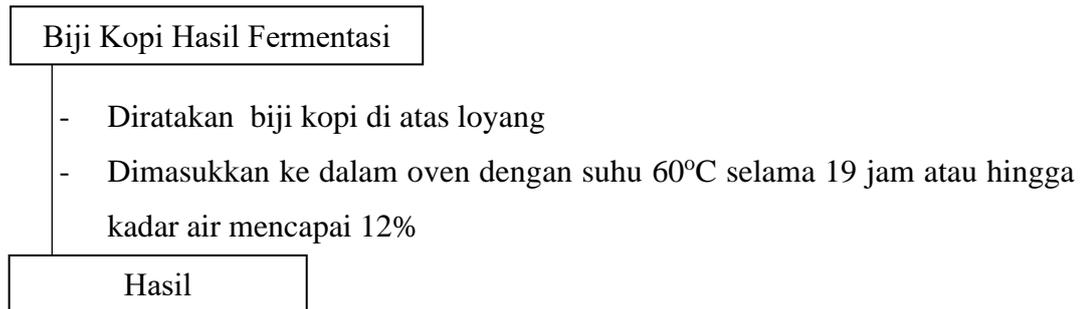
L.2.1. Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Buah Pepaya



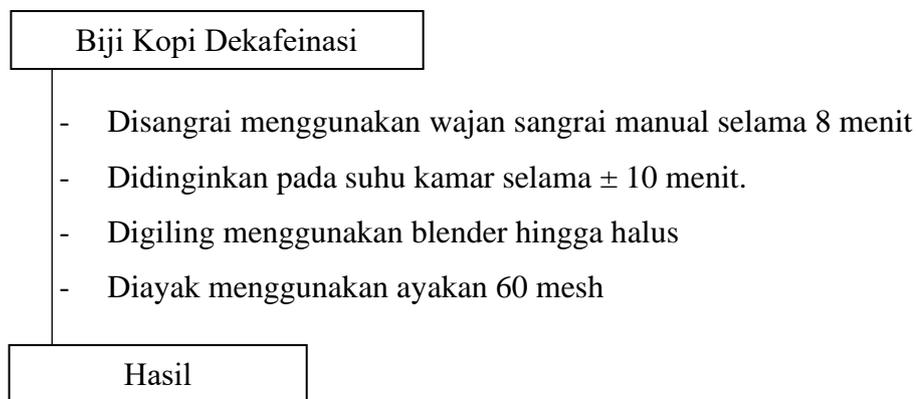
L.2.2. Fermentasi Kopi Menggunakan Ekstrak Enzim Bromelin dan Enzim Papain



L.2.3. Pengeringan dengan Oven



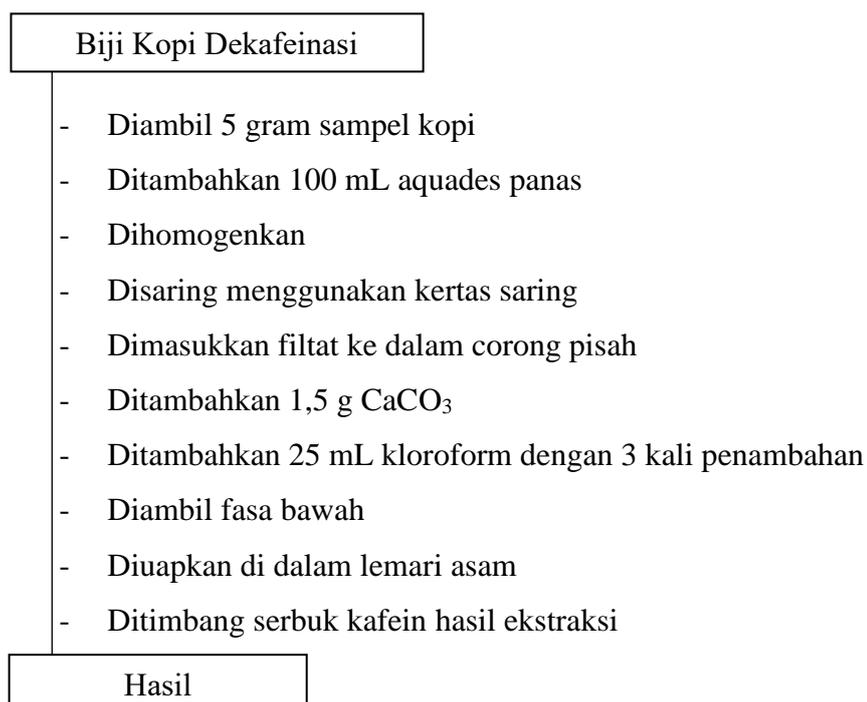
L.2.4. Pembuatan Kopi Bubuk

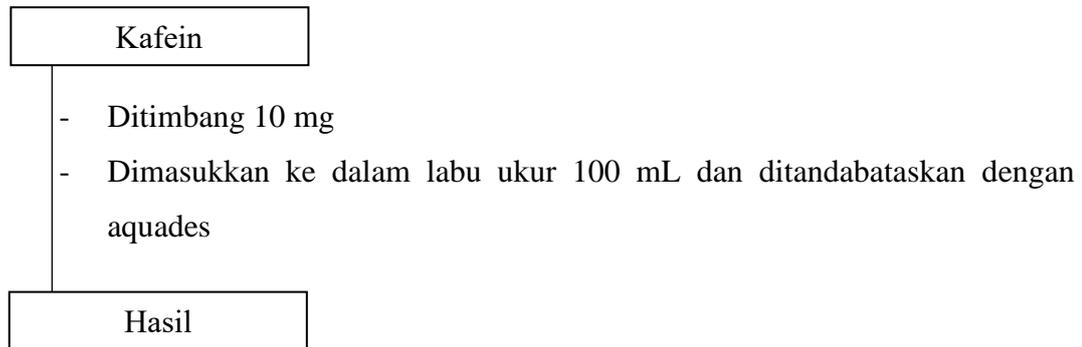
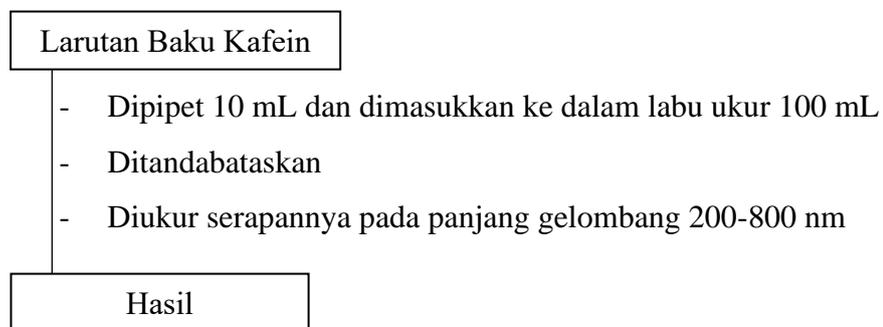
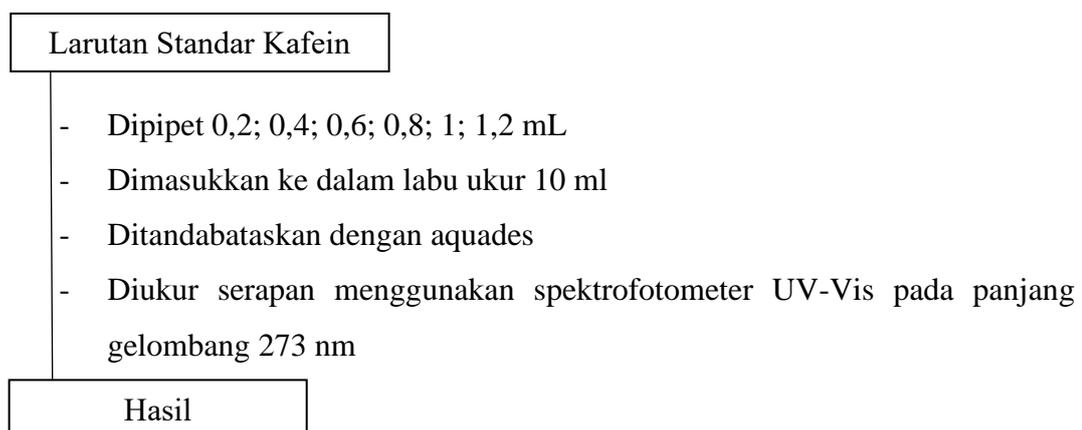


L.2.5. Pengujian

L.2.5.1. Kadar Kafein

Preparasi Sampel



Pembuatan Larutan Baku Kafein 100 ppm**Penentuan Panjang Gelombang Maksimum****Pembuatan Kurva Standar**

Penetapan Kadar Kafein

Sampel
<ul style="list-style-type: none">- Dilarutkan kafein sampel dengan 100 mL aquades dalam labu ukur 100 mL- Dipipet 0,25 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (pengenceran 40x)- Ditandabatkan menggunakan aquades- Diukur serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 273 nm.
Hasil

L.2.5.2. Kadar Air

Sampel Kopi
<ul style="list-style-type: none">- Disiapkan cawan porselen dan dipanaskan dalam oven selama 30 menit suhu 105°C- Disimpan cawan dalam desikator selama 30 menit- Ditimbang hingga konstan- Ditimbang 2 gram sampel di atas cawan.- Dimasukkan cawan yang berisi sampel ke dalam oven selama 3 jam suhu 105°C- Disimpan cawan dalam desikator selama 30 menit- Ditimbang hingga konstan
Hasil

L.2.5.3. Kadar Protein**Sampel Kopi**

- Ditimbang sebanyak 1 gram
- Dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL
- Ditambahkan 2 gram selenium ke dalam labu Kjeldahl
- Ditambahkan 25 mL H₂SO₄ pekat
- Di destruksi di atas hotplate selama ±2 jam

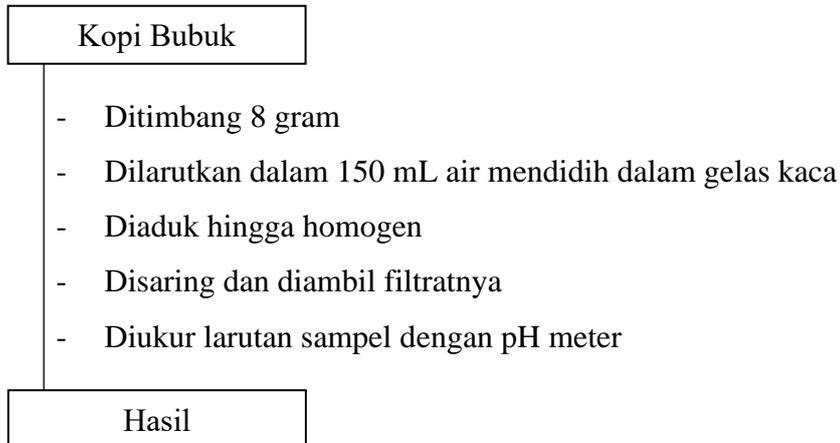
Larutan Hasil

- Didinginkan larutan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL
- Ditandabatkan
- Dipipet larutan sebanyak 5 mL
- Dimasukkan ke dalam labu destilasi
- Ditambahkan 5 mL NaOH 30%
- Ditambahkan beberapa tetes indikator PP
- Didestilasi selama 10 menit pada suhu 100°C
- Ditampung destilat dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 10 mL larutan asam borat 2% dan indikator yang terbuat dari campuran brocresol hijau 0,1% dan metil merah 0,1% dengan perbandingan 5:1

Destilat

- Dititrasi dengan larutan HCl 0,01 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda
- Dibuat triplo

Hasil

L.2.5.4. pH**Lampiran 3. Perhitungan****L.3.1. Pembuatan Enzim Bromelin dan Papain**

Enzim bromelin dibuat dengan menghaluskan kulit buah nanas, sedangkan enzim papain dibuat dengan cara menghaluskan kulit buah pepaya. Konsentrasi enzim 20%, 40%, 60%, 80% dibuat dengan menggunakan rumus:

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot M_2}{M_1}$$

Keterangan:

V_1 = Volume labu ukur/ volume hasil akhir pengenceran (mL)

M_1 = Konsentrasi yang diinginkan (mL)

V_2 = Volume enzim yang dibutuhkan (mL)

M_2 = Konsentrasi enzim (mL)

- $V_1 = \frac{250 \text{ mL} \cdot 20\%}{100\%} = \frac{5000}{100} = 50 \text{ mL}$
- $V_1 = \frac{250 \text{ mL} \cdot 40\%}{100\%} = \frac{10.000}{100} = 100 \text{ mL}$
- $V_1 = \frac{250 \text{ mL} \cdot 60\%}{100\%} = \frac{15.000}{100} = 150 \text{ mL}$
- $V_1 = \frac{250 \text{ mL} \cdot 80\%}{100\%} = \frac{20.000}{100} = 200 \text{ mL}$

L.3.2. Fermentasi Kopi

Disiapkan labu ukur 250 mL lalu enzim pada masing-masing konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% yaitu 50 mL, 100 mL, 150 mL, 200mL dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dituangkan ke dalam masing-masing botol fermentor untuk dilakukan fermentasi pada biji kopi yang telah disiapkan.

L.3.3. Pembuatan Larutan Standar Kafein 100 mg/L

Diketahui: Konsentrasi larutan induk kafein = 100 ppm

Volume larutan = 100 mL

Ditanya: Massa serbuk standar kafein?

Jawab:

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= 100 \text{ ppm} \times \text{volume} \\ &= 100 \text{ ppm} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 10 \text{ mg} \end{aligned}$$

L.3.4. Pembuatan Larutan Standar Kafein 10 ppm

Diketahui: $V_2 = 100 \text{ mL}$

$M_1 = 100 \text{ ppm}$

$M_2 = 10 \text{ ppm}$

Ditanya: V_1 ?

Jawab:

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

L.3.5. Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi

a. Larutan standar 2 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

b. Larutan standar 4 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

c. Larutan standar 6 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

d. Larutan standar 8 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

e. Larutan standar 10 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

f. Larutan standar 12 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 12 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,2 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L.4.1. Kadar Kafein

Sampel	Abs	a	b	Konsentrasi Kafein/ 5 gr kopi (mg/L)	mg	Kadar Kafein (%)	Rata-rata (%)
K1E1	0,802	0,0495	0,0217	16,6404	66,561	1,331	1,39
	0,8207	0,0495	0,0217	17,0181	68,072	1,361	
	0,8978	0,0495	0,0217	18,5757	74,303	1,486	
K2E1	0,7835	0,0495	0,0217	16,2667	65,067	1,301	1,26
	0,766	0,0495	0,0217	15,9131	63,652	1,273	
	0,7286	0,0495	0,0217	15,1575	60,630	1,212	
K3E1	0,7808	0,0495	0,0217	16,2122	64,848	1,296	1,29
	0,8094	0,0495	0,0217	16,7899	67,159	1,343	
	0,7446	0,0495	0,0217	15,4808	61,923	1,238	
K4E1	0,7625	0,0495	0,0217	15,8424	63,369	1,267	1,21
	0,7428	0,0495	0,0217	15,4445	61,778	1,236	
	0,6939	0,0495	0,0217	14,4565	57,826	1,156	
K1E2	0,9505	0,0495	0,0217	19,6404	78,561	1,571	1,49
	0,9153	0,0495	0,0217	18,9292	75,717	1,514	
	0,8522	0,0495	0,0217	17,6545	70,618	1,412	
K2E2	0,8854	0,0495	0,0217	18,3252	73,301	1,466	1,41
	0,8607	0,0495	0,0217	17,8262	71,305	1,426	
	0,8089	0,0495	0,0217	16,7798	67,119	1,342	
K3E2	0,8169	0,0495	0,0217	16,9414	67,765	1,355	1,29
	0,7442	0,0495	0,0217	15,4727	61,890	1,237	
	0,7787	0,0495	0,0217	16,1697	64,678	1,293	
K4E2	0,7327	0,0495	0,0217	15,2404	60,961	1,219	1,30
	0,9531	0,0495	0,0217	19,6929	78,771	1,575	
	0,6683	0,0495	0,0217	13,9394	55,757	1,115	
Kontrol Air	1,0189	0,0495	0,0217	21,0223	84,088	1,681	1,68
Kontrol Kopi	1,3339	0,0495	0,0217	27,3858	109,543	2,190	2,19

Perhitungan Kadar Kafein dalam 5 gram sampel

$$\text{Persamaan regresi } Y = 0,0495x - 0,0217$$

Dimana: Y = nilai absorbansi, dan X = konsentrasi

K₁E₁

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,8020$$

$$\begin{aligned} \text{Maka} &= \frac{0,8020+0,0217}{0,0495} \\ &= 16,6404 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{16,6404 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{66,5616}{5000} \times 100\% \\ &= 1,331\% \end{aligned}$$

K₂E₁

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,7286$$

$$\begin{aligned} \text{Maka} &= \frac{0,7286+0,0217}{0,0495} \\ &= 15,1576 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{15,1576 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{60,6304}{5000} \times 100\% \\ &= 1,2126\% \end{aligned}$$

K₃E₁

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,7446$$

$$\begin{aligned} \text{Maka} &= \frac{0,7446+0,0217}{0,0495} \\ &= 15,4808 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{15,4808 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{61,9232}{5000} \times 100\% \\ &= 1,238\% \end{aligned}$$

K4E1

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,6939$$

$$\begin{aligned} \text{Maka} &= \frac{0,6939+0,0217}{0,0495} \\ &= 14,4566 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{14,4566 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{57,8264}{5000} \times 100\% \\ &= 1,156\% \end{aligned}$$

K1E2

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,8522$$

$$\begin{aligned} \text{Maka} &= \frac{0,8522+0,0217}{0,0495} \\ &= 17,6545 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{17,6545 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{70,618}{5000} \times 100\% \\ &= 1,412\% \end{aligned}$$

K2E2

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,8089$$

$$\text{Maka} = \frac{0,8089+0,0217}{0,0495}$$

$$= 16,7798 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{16,7798 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{67,1192}{5000} \times 100\% \\ &= 1,342\% \end{aligned}$$

K3E2

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,7442$$

$$\text{Maka} = \frac{0,7442+0,0217}{0,0495}$$

$$= 15,4727 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{15,4727 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{61,8908}{5000} \times 100\% \\ &= 1,237\% \end{aligned}$$

K4E2

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 0,6683$$

$$\text{Maka} = \frac{0,6683 + 0,0217}{0,0495}$$

$$= 13,9394 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\ &= \frac{13,9394 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L} \times 40}{5000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{55,7576}{5000} \times 100\% \\ &= 1,1151\% \end{aligned}$$

Kontrol Air

Diketahui: $V_{\text{akhir}} = 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$

$$FP = \frac{10}{0,25} = 40$$

$$Y = 1,0189$$

$$\text{Maka} = \frac{1,0189 + 0,0217}{0,0495}$$

$$= 21,0223 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\
 &= \frac{21,0223 \frac{mg}{L} \times 0,1 L \times 40}{5000 mg} \times 100\% \\
 &= \frac{84,0889}{5000} \times 100\% \\
 &= 1,68178\%
 \end{aligned}$$

Tanpa Fermentasi

$$\begin{aligned}
 \text{Diketahui: } V_{\text{akhir}} &= 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L} \\
 FP &= \frac{10}{0,25} = 40 \\
 Y &= 1,3339 \\
 \text{Maka } &= \frac{1,3339 + 0,0217}{0,0495} \\
 &= 27,3859 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ kafein} &= \frac{C \times V \times FP}{W} \times 100\% \\
 &= \frac{27,3859 \frac{mg}{L} \times 0,1 L \times 40}{5000 mg} \times 100\% \\
 &= \frac{109,5436}{5000} \times 100\% \\
 &= 2,1908\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan Penurunan % Kafein

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{Kontrol Kopi} - \text{Kopi Setelah Perlakuan}}{\text{Kontrol Kopi}} \times 100\%$$

$$\text{Diketahui: } \% \text{ Kafein Kontrol Kopi} = 2,19\%$$

K₁E₁

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,39\%}{2,19\%} \times 100\% \\
 &= \frac{0,8\%}{2,19\%} \times 100\% \\
 &= 36,52 \%
 \end{aligned}$$

K₂E₁

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,26\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,93\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= 42,46 \% \end{aligned}$$

K₃E₁

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,29\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,9\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= 41,09 \% \end{aligned}$$

K₄E₁

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,21\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,98\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= 44,74 \% \end{aligned}$$

K₁E₂

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,49\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,7\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= 31,96 \% \end{aligned}$$

K₂E₂

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,41\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,78\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= 35,61 \% \end{aligned}$$

K₃E₂

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{2,19\% - 1,29\%}{2,19\%} \times 100\% \\ &= \frac{0,9\%}{2,19\%} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= 41,09 \%$$

K4E2

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{2,19\% - 1,3\%}{2,19\%} \times 100\%$$

$$= \frac{0,89\%}{2,19\%} \times 100\%$$

$$= 40,63 \%$$

Kontrol Air

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{2,19\% - 1,68\%}{2,19\%} \times 100\%$$

$$= \frac{0,51\%}{2,19\%} \times 100\%$$

$$= 23,28 \%$$

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Kadar_Kafein	.120	24	.200*	.910	24	.036

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Univariate Analysis of Variance

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar Kafein	Based on Mean	3.899	7	16	.011
	Based on Median	.829	7	16	.578
	Based on Median and with adjusted df	.829	7	3.665	.616
	Based on trimmed mean	3.547	7	16	.017

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: Kadar Kafein

b. Design: Intercept + Jenis_Enzim + Konsentrasi + Jenis_Enzim * Konsentrasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar Kafein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.181 ^a	7	.026	2.377	.072
Intercept	42.454	1	42.454	3900.790	<.001
Jenis_Enzim	.043	1	.043	3.983	.063
Konsentrasi	.121	3	.040	3.715	.033
Jenis_Enzim * Konsentrasi	.016	3	.005	.503	.686
Error	.174	16	.011		
Total	42.809	24			
Corrected Total	.355	23			

a. R Squared = .510 (Adjusted R Squared = .295)

Kadar Kafein

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
80%	6	1,2550	
60%	6	1,2883	1,2883
40%	6	1,3333	1,3333
20%	6		1,4433
Sig.		,576	,086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,011.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0.05.

L.4.2. Penentuan Kadar Air Kopi Bubuk

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum oven}) - (\text{berat cawan} + \text{sampel setelah oven})}{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum oven}) - (\text{berat cawan kosong})} \times 100\%$$

Sampel	Cawan Konstan	Cawan+ Sampel	Cawan+ sampel setelah oven	Berat sampel	%	Rata-rata (%)
K1E1	53.8495	55.8495	55.7623	2	4.36	4.358333
	65.4604	67.4604	67.3728	2	4.38	
	50.0886	52.0886	52.0019	2	4.335	
K2E1	59.8168	61.8168	61.7131	2	5.185	5.185
	57.1052	59.1052	59.0018	2	5.17	
	76.699	78.699	78.595	2	5.2	
K3E1	39.6264	41.6264	41.5181	2	5.415	5.421667
	35.1555	37.1555	37.0457	2	5.49	
	55.2077	57.2077	57.1005	2	5.36	
K4E1	76.6943	78.6943	78.5825	2	5.59	5.595
	49.9912	51.9912	51.8791	2	5.605	
	65.4627	67.4627	67.3509	2	5.59	
K1E2	59.812	61.812	61.7385	2	3.675	3.621667
	53.8736	55.8736	55.8031	2	3.525	
	35.1642	37.1642	37.0909	2	3.665	
K2E2	39.6248	41.6248	41.5544	2	3.52	3.625
	57.1098	59.1098	59.0364	2	3.67	
	55.2019	57.2019	57.1282	2	3.685	
K3E2	53.8768	55.8768	55.7954	2	4.07	4.033333
	55.2004	57.2004	57.1187	2	4.085	
	35.1634	37.1634	37.0845	2	3.945	
K4E2	65.4685	67.4685	67.3779	2	4.53	4.485
	59.8116	61.8116	61.7211	2	4.525	
	76.6955	78.6955	78.6075	2	4.4	
Kontrol Air	49.9659	51.9659	51.8387	2	6.36	6.36
Kontrol Kopi	39.6325	41.6325	41.5643	2	3.41	3.41

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Kadar_Air	.158	24	.126	.897	24	.019

a. Lilliefors Significance Correction

Univariate Analysis of Variance

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar Air	Based on Mean	3.656	7	16	.015
	Based on Median	.394	7	16	.892
	Based on Median and with adjusted df	.394	7	8.978	.883
	Based on trimmed mean	3.123	7	16	.028

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: Kadar Air

b. Design: Intercept + Jenis_Enzim + Konsentrasi + Jenis_Enzim * Konsentrasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar Air

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12.839 ^a	7	1.834	462.027	<.001
Intercept	494.815	1	494.815	124644.982	<.001
Jenis_Enzim	8.622	1	8.622	2171.905	<.001
Konsentrasi	3.635	3	1.212	305.245	<.001
Jenis_Enzim * Konsentrasi	.582	3	.194	48.849	<.001
Error	.064	16	.004		
Total	507.717	24			
Corrected Total	12.903	23			

a. R Squared = .995 (Adjusted R Squared = .993)

Kadar Air

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset			
		1	2	3	4
20%	6	3,9875			
40%	6		4,4042		
60%	6			4,7250	
80%	6				5,0383
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .004.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = 0.05.

L.4.3. Penentuan pH Kopi Bubuk

Sampel	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
K ₁ E ₁	4,8	4,7	4,7	4,74
K ₂ E ₁	4,8	4,7	4,8	4,77
K ₃ E ₁	4,6	4,6	4,7	4,64
K ₄ E ₁	4,5	4,5	4,6	4,54
K ₁ E ₂	4,9	4,8	4,8	4,84
K ₂ E ₂	4,8	4,8	4,8	4,8
K ₃ E ₂	4,7	4,6	4,7	4,67
K ₄ E ₂	4,6	4,6	4,5	5,57
Kontrol Air	5,1	5,0	5,1	5,07
Kontrol Kopi	5,5	5,5	5,5	5,5

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for pH	.229	24	.002	.889	24	.013

a. Lilliefors Significance Correction

Univariate Analysis of Variance

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
pH	Based on Mean	2.286	7	16	.081
	Based on Median	.143	7	16	.993
	Based on Median and with adjusted df	.143	7	14.000	.992
	Based on trimmed mean	1.800	7	16	.156

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: pH

b. Design: Intercept + Jenis_Enzim + Konsentasi + Jenis_Enzim * Konsentasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.252 ^a	7	.036	12.327	<.001
Intercept	528.282	1	528.282	181125.143	<.001
Jenis_Enzim	.015	1	.015	5.143	.038
Konsentrasi	.232	3	.077	26.476	<.001
Jenis_Enzim * Konsentrasi	.005	3	.002	.571	.642
Error	.047	16	.003		
Total	528.580	24			
Corrected Total	.298	23			

a. R Squared = .844 (Adjusted R Squared = .775)

pH

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
80%	6	4,550		
60%	6		4,650	
20%	6			4,783
40%	6			4,783
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,003.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

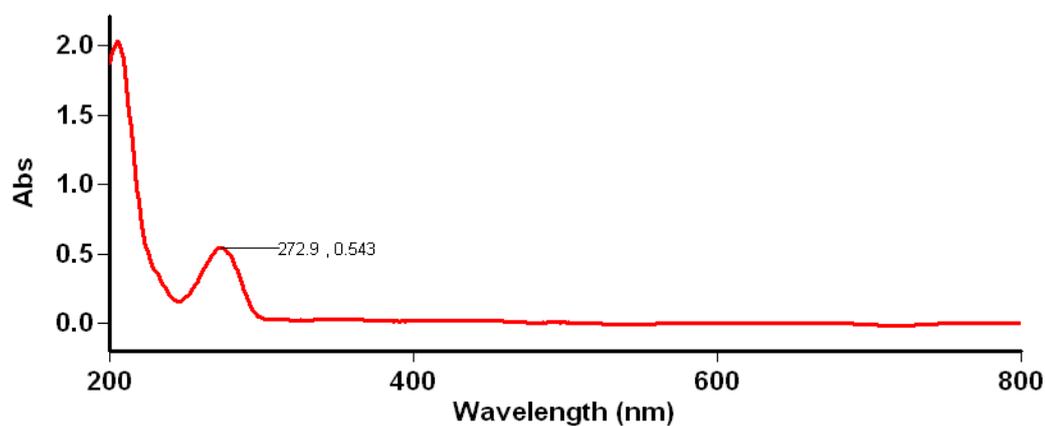
b. Alpha = 0.05.

Lampiran 5. Data Hasil Spektrofotometer Uv-Vis Kopi Bubuk

L.5.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Lamdha Maks Kafein

Tanggal Analisa : 13 Oktober 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 13 Oct 02:18:11 PM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Eva\Lamdha Maks Kafein (13-10-2023).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Kafein

Collection Time

10/13/2023 2:18:24 PM

Peak Table

Peak Style

Peaks

Peak Threshold

0.0100

Range

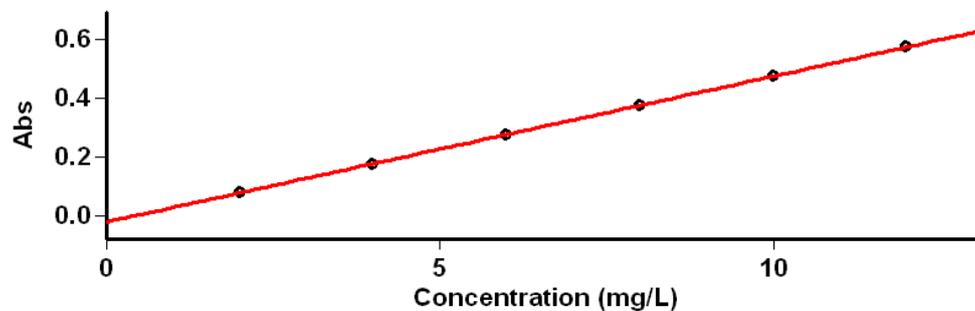
800.1nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
614.0	0.003
272.9	0.543
205.0	2.029

L.5.2. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Kafein

Kurva Standar Kafein

Tanggal Analisa : 13 Oktober 2023



Concentration Analysis Report

Report time 10/13/2023 2:21:26 PM
 Method
 Batch name D:\Mahasiswa On Going\Eva\Kurva Standar Kafein (13-10-2023).BCN
 Application Concentration 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 272.9
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Standard/Sample averaging OFF
 Weight and volume corrections OFF
 Fit type Linear
 Min R² 0.95000
 Concentration units mg/L

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1456)	272.9

Calibration

Collection time 10/13/2023 2:21:45 PM

Standard	Concentration mg/L	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Std 1						0.0798 0.0797 0.0796
	2.0		0.0797	0.0001	0.11	
Std 2						0.1751 0.1751 0.1752
	4.0		0.1751	0.0001	0.03	
Std 3						0.2721 0.2721 0.2721
	6.0		0.2721	0.0000	0.01	
Std 4						0.3753 0.3753 0.3753
	8.0		0.3753	0.0000	0.01	
Std 5						0.4713 0.4712 0.4713
	10.0		0.4713	0.0001	0.01	
Std 6						0.5736 0.5740 0.5742
	12.0		0.5739	0.0003	0.05	

Calibration eqn Abs = 0.04947*Conc -0.02170
 Correlation Coefficient 0.99986
 Calibration time 10/13/2023 2:23:13 PM

Results Flags Legend

U = Uncalibrated O = Overrange
 N = Not used in calibration R = Repeat reading

L.5.3. Pengukuran Absorbansi Sampel**Pengukuran Sampel A****Absorbansi Kafein**

Tanggal Analisa : 17 Oktober 2023

Advanced Reads Report

Report time 10/17/2023 1:43:38 PM
 Method
 Batch name D:\Mahasiswa On Going\Eva\Absorbansi Kafein 2
 (17-10-2023).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 273.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000

Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1081)	273.0

Analysis

Collection time 10/17/2023 1:43:38 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
K1E1					0.8016 0.8021 0.8022
		0.8020	0.0003	0.04	
K2E1					0.7834 0.7834 0.7837
		0.7835	0.0002	0.03	
K3E1					0.7810 0.7806 0.7809
		0.7808	0.0002	0.03	
K4E1					0.7625 0.7623 0.7626
		0.7625	0.0001	0.02	
K1E2					0.9508 0.9501 0.9505
		0.9505	0.0003	0.04	
K2E2					0.8852 0.8855 0.8854
		0.8854	0.0001	0.01	
K3E2					0.8167 0.8169 0.8169
		0.8169	0.0001	0.01	
K4E2					0.7326 0.7327 0.7328
		0.7327	0.0001	0.01	
Kontrol					1.0191 1.0189 1.0187
		1.0189	0.0002	0.02	
Tanpa Fermentasi					1.3338 1.3332 1.3347
		1.3339	0.0008	0.06	

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Pengukuran Sampel B

Absorbansi Kafein

Tanggal Analisa : 27 Oktober 2023

Advanced Reads Report

Report time 10/27/2023 2:00:14 PM
 Method
 Batch name D:\Mahasiswa On Going\Eva\Absorbansi Kafein
 (27-10-2023).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 273.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF
 Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1141)	273.0

Analysis

Collection time 10/27/2023 2:00:14 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
K1E1					0.8211 0.8206 0.8204
		0.8207	0.0004	0.05	
K2E1					0.7659 0.7661 0.7660
		0.7660	0.0001	0.01	
K3E1					0.8094 0.8091 0.8097
		0.8094	0.0003	0.03	
K4E1					0.7428 0.7431 0.7426
		0.7428	0.0002	0.03	
K1E2					0.8605 0.8609 0.8607
		0.8607	0.0002	0.02	
K2E2					0.9153 0.9154 0.9152
		0.9153	0.0001	0.01	
K3E2					0.7443 0.7442 0.7443
		0.7442	0.0001	0.01	
K4E2					0.9531 0.9531 0.9530
		0.9531	0.0001	0.01	

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Pengukuran Sampel C

Absorbansi Kafein 2

Tanggal Analisa : 27 Oktober 2023

Advanced Reads Report

Report time 10/27/2023 2:52:14 PM
 Method
 Batch name D:\Mahasiswa On Going\Eva\Absorbansi Kafein 2
 (27-10-2023).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 273.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF
 Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1222)	273.0

Analysis

Collection time 10/27/2023 2:52:14 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
K1E1					0.8980 0.8976 0.8978
		0.8978	0.0002	0.02	
K2E1					0.7284 0.7287 0.7286
		0.7286	0.0001	0.02	
K3E1					0.7444 0.7446 0.7447
		0.7446	0.0002	0.02	
K4E1					0.6939 0.6939 0.6939
		0.6939	0.0000	0.00	

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi Kafein 3

Tanggal Analisa : 27 Oktober 2023

Advanced Reads Report

Report time 10/27/2023 3:18:50 PM
 Method
 Batch name D:\Mahasiswa On Going\Eva\Absorbansi Kafein 3
 (27-10-2023).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 273.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1250)	273.0

Analysis

Collection time 10/27/2023 3:18:50 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
K1E2					0.8522
					0.8523
		0.8522	0.0001	0.02	0.8520
K2E2					0.8087
					0.8091
		0.8089	0.0002	0.03	0.8091
K3E2					0.7788
					0.7788
		0.7787	0.0002	0.02	0.7786
K4E2					0.6682
					0.6682
		0.6683	0.0000	0.01	0.6683

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Lampiran 6. Hasil Pengukuran Kadar Protein




LABORATORIUM SENTRAL
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG



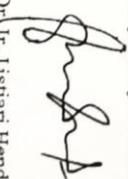
Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Penguji
9296C/1102/2017
D-1942-08

Lampiran : E.7.b/5.242/Lab.Sentral-UMM/X/2023

F. PM 5.10.1.6-b.2
Hal 2/2

NO	Kode sampel	Kadar Air			DM TOTAL	DM (Dry Matter) LAB	ABU		PROTEIN		LEMAK KASAR		SERAT KASAR		NDF	GROSS ENERGI
		I (60°C)	II (105°C)	TOTAL			Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*		
1.	K ₁ E ₂	-	-	-	-	-	-	-	11.69	-	-	-	-	-	-	-
2.	Tanpa fermentasi	-	-	-	-	-	-	-	12.97	-	-	-	-	-	-	-
Metode Uji		SNI - 2891 - 1992 Butir 5.1					AOAC 2016, Bab 4 Butir 4.1.10 Metode 942.05		IK PM 5.4.1.3.e		SNI - 2891 - 1992 Butir 8.1		SNI - 2891 - 1992 Butir 11		Van Soest	IKAC 2000

Keterangan : Lab Nutrisi tidak bertanggung jawab atas hasil pengujian di luar sampel uji
 *Atas dasar bahan kering
 - Tidak Diuji/Dianalisa

Malang, 03 November 2023
 Penyelia Uji Proksimat

 Dr. Ir. Istiari Hendraningsih, M

- Sertifikat ini hanya berlaku pada sampel yang diuji dan tidak boleh digunakan
- Sisa sampel akan kami simpan selama satu bulan dari tanggal terbit sertifikat

LABORATORIUM SENTRAL UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
 Jl Raya Tlogomas No. 246 Kota Malang 65144 Telp (0341) 464318 Ext. 406

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

L.7.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Kulit Buah Nanas dan Pepaya

	
Pengupasan Kulit Nanas dan Pepaya	Pencucian Kulit Nanas dan Pepaya
	
Proses penghancuran Kulit Buah	Penyaringan

L.7.2 Fermentasi Kopi selama 36 jam pada suhu 37°C

	
Pelabelan 26 gelas fermentor	Penimbangan sampel

	
<p>Penambahan ekstrak enzim sesuai konsentrasi penelitian</p>	<p>Inkubasi selama 36 jam pada suhu 37°C</p>
	
<p>Pencucian sampel setelah fermentasi</p>	<p>Pengeringan sampel</p>

L.7.3 Pembuatan Kopi Bubuk

	
<p>Penyangraian kopi</p>	<p>Pendinginan suhu ruang selama 10 menit</p>
	
<p>Penghalusan</p>	<p>Pengayakan</p>

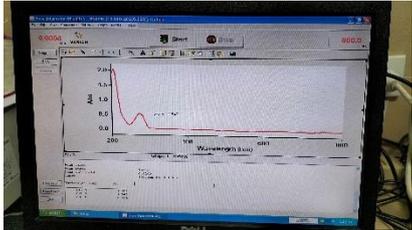
L.7.4 Pengujian Kadar Air

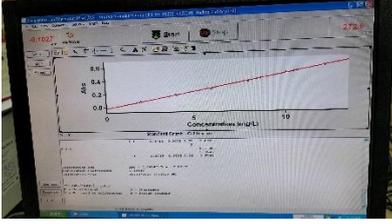
	
<p>Penimbangan cawan kosong</p>	<p>Pengovenan cawan</p>
	
<p>Pendinginan cawan dalam desikator</p>	<p>Penimbangan cawan konstan + sampel</p>
	
<p>Pengovenan cawan + sampel</p>	<p>Pendinginan cawan + sampel dalam desikator</p>
	
<p>Penimbangan cawan + sampel setelah oven</p>	

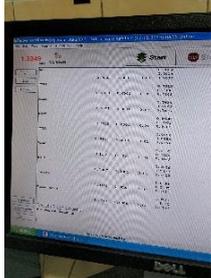
L.7.5 Pengujian pH

	
<p>Penimbangan sampel</p>	<p>Pelarutan sampel</p>
	
<p>Pemisahan filtrate</p>	<p>Pengukuran pH</p>

L.7.6 Pengujian Kafein

	
<p>Penimbangan kafein murni</p>	<p>Larutan baku kafein 100 ppm</p>
	
<p>Pengenceran larutan baku menjadi 10 ppm</p>	<p>Pengukuran panjang gelombang maksimal</p>

	
<p>Pembuatan larutan standar 2, 4, 6, 8, 10, 12 ppm</p>	<p>Pengukuran absorbansi larutan standard</p>
	
<p>Penimbangan sampel kopi</p>	<p>Penyeduhan dengan akuades panas</p>
	
<p>Pemisahan filtrat dan residu</p>	<p>Penambahan CaCO_3 ke dalam filtrate</p>
	
<p>Ekstraksi 3x dengan kloroform</p>	<p>Ditampung lapisan bawah</p>

	
<p>Penguapan</p>	<p>Penimbangan botol+kristal kafein</p>
	
<p>Pelarutan sampel dengan 100ml akuades</p>	<p>Pengenceran 10x</p>
	
<p>Pengukuran absorbansi</p>	