

# **FERMENTASI IN VITRO DENGAN MENGGUNAKAN ISOLAT BAL (BAKTERI ASAM LAKTAT) DARI KOTORAN LUWAK PADA KOPI LOKAL JEMBER**

## ***IN VITRO FERMENTATION USING LAB ISOLATE (LACTIC ACID BACTERIA) FROM LUWAK STOOLS IN JEMBER LOCAL COFFEE***

**Dina Afriyanti**

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,  
Universitas Muhammadiyah Jember  
Jl. Karimata No. 49 Jember 68124, Gumuk Kerang, Karangrejo, Kec. Sumpalsari,  
Kabupaten Jember, Jawa Timur  
[Dinaafriyanti34@gmail.com](mailto:Dinaafriyanti34@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Kopi merupakan salah satu minuman yang populer di Indonesia. Varietas kopi yang sangat di minati di kalangan masyarakat adalah kopi Arabika. Kopi Arabika mempunyai flavor terbaik karena mempunyai cita rasa yang beragam. Salah satu jenis kopi yang mempunyai nilai jual tinggi yaitu kopi luwak. Kopi luwak merupakan biji kopi hasil fermentasi secara in vivo yang mempunyai aroma dan rasa yang khas. Semakin tinggi permintaan produk dari kopi luwak, menyebabkan produksi kopi luwak tidak bisa hanya mengharapakan hewan luwak liar maupun luwak budidaya. Salah satu alternatif peneliti yaitu dengan menggunakan mikroba BAL (Bakteri Asam Laktat) yang hidup pada tubuh luwak untuk membantu fermentasi kopi mirip dengan kopi Luwak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan BAL dari kotoran Luwak dalam memfermentasi in vitro kopi lokal Jember. Fermentasi dilakukan dengan 4 tahap : (1) Isolasi feses Luwak, (2) Identifikasi dan karakteristik Bakteri Asam Laktat, (3) Fermentasi kopi Luwak Arabika dilakukan selama 6 hari, dan (4) Uji rasa kualitas kopi Luwak. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa biji kopi luwak arabika pada P0 dengan final skor 6,63, P1 dengan final skor 6,64, P2 dengan final skor 6,48, P3 dengan final skor 6,70, P4 dengan final skor 6,54, P5 dengan final skor 6,28, dan P6 dengan final skor 6,31. Hasil uji tersebut dapat diketahui bahwa isolate yang memiliki rasa terbaik dan mirip dengan kopi luwak yaitu pada perlakuan P1 dan P3, yang di duga dari spesies *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc paramenteroides*.

**Kata kunci :** Kopi, Arabika, Luwak, Fermentasi, BAL (Bakteri Asam Laktat)

## ABSTRACK

Coffee is one of the most popular drinks in Indonesia. Coffee varieties that are very interested in the community is Arabica coffee. Arabica coffee has the best flavor because it has a variety of flavors. One type of coffee that has a high selling value is civet coffee. Civet coffee is a coffee bean fermented in vivo which has a distinctive aroma and taste. The higher demand for products from civet coffee, causing civet coffee production can not only expect wild mongoose or mongoose aquaculture. One alternative researcher is to use microbial BAL (Lactic Acid Bacteria) that live on the body of Luwak to help coffee ferment similar to Luwak coffee. The purpose of this study was to determine the ability of BAL from Luwak dung to ferment in vitro Jember local coffee. Fermentation is carried out in 4 stages: (1) Isolation of Luwak feces, (2) Identification and characteristics of Lactic Acid Bacteria, (3) Fermentation of Arabica Luwak coffee is carried out for 6 days, and (4) Taste testing of quality of Luwak coffee. The results of the research showed that arabica civet coffee beans in P0 with a final score of 6.63, P1 with a final score of 6.64, P2 with a final score of 6.48, P3 with a final score of 6.70, P4 with a final score of 6.54 , P5 with a final score of 6.28, and P6 with a final score of 6.31. The test results can be seen that the isolate that has the best taste and is similar to civet coffee is in the treatment of P1 and P3, which is suspected from species of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc paramenteroides*.

**Keyword :** Coffee, Arabica, Civet, Fermented, LAB (Lactic Acid Bacteria)

## PENDAHULUAN

Kabupaten Jember menjadi daerah potensi penghasil kopi terbesar kedua di Jawa Timur. Area perkebunan kopi terluas di Kabupaten Jember adalah Kecamatan Silo sebesar 2.173,73 Ha. Nilai produksi pada tahun 2019 sebesar 78.882 Ton dan sebagian besar adalah perkebunan rakyat (PR). Hasil produksi kopi terbesar kedua yaitu berada di Kecamatan Panti. Kecamatan Panti merupakan kecamatan yang

berada di Kabupaten Jember dengan luas wilayah 160.71 Km<sup>2</sup> atau 4,88% dari luas wilayah keseluruhan Kabupaten Jember. Kopi Arabika dapat tumbuh pada ketinggian optimum sekitar 1000-1200 meter di atas permukaan laut, memiliki cita rasa terbaik diantara jenis kopi yang lainnya. Semakin tinggi lokasi penanamannya maka cita rasa biji kopi yang dihasilkan semakin baik. Suhu tumbuh optimal yang dikehendaki untuk pertumbuhan kopi ini berkisar 16-21<sup>0</sup>C. Keunggulan lain dari kopi ini adalah memiliki biji yang berukuran besar, beraroma harum dan memiliki cita rasa lembut (*mild*), asam dan pahit (Tika, dkk. 2017).

Kopi luwak merupakan kopi yang diperoleh dari biji kopi yang telah dimakan dan mengalami fermentasi *in vivo* di dalam perut luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*), yang nantinya keluar bersama feses. Di saluran pencernaan luwak terdapat daerah kelenjar fundus, salah satu penyusunnya adalah sel parietal yang mendistribusikan HCl. HCl berfungsi sebagai aktifator enzim-enzim proteolitik dan probiotik. Enzim proteolitik dapat memecah protein pada biji kopi selama proses pencernaan. Proses pencernaan kopi pada luwak dibantu mikroba secara intensif berlangsung pada organ intestinum tenue (usus halus) dan caecum (usus buntu). Mikroba yang berperan dalam hidrolisa protein dan karbohidrat pada saluran pencernaan hewan luwak (Fauzi dan Hidayati, 2016).

Prinsip fermentasi pada pengolahan biji kopi adalah peruraian senyawa-senyawa yang terkandung di dalam lapisan lendir oleh mikroba alami dan dibantu dengan oksigen dari udara. Akhir fermentasi ditandai dengan mengelupasnya lapisan lendir yang menyelimuti kulit tanduk. Perbedaan fermentasi kopi secara *in vitro* dan *in vivo* yaitu, proses fermentasi *in vitro* (diluar pencernaan hewan luwak) menggunakan ragi/kultur kering, sedangkan secara *in vivo* yaitu buah kopi yang dimakan diproses melalui sistem pencernaan dan mengalami proses fermentasi secara alami selama kurang lebih 12 jam dalam perut luwak yang mengandung berbagai macam mikroba dan enzim (Usman, dkk. 2015)

Pada penelitian sebelumnya hasil isolasi mikroba dari kotoran luwak diperoleh 25 isolat bakteri dan seluruh isolat bakteri yang diidentifikasi merupakan bakteri gram positif. Pada uji katalase, terdapat 23 isolat yang menunjukkan katalase

negatif dan merupakan bakteri asam laktat (BAL). Pada umumnya mampu tumbuh dengan baik pada suhu 37<sup>0</sup>C, dan mampu menghasilkan asam dan juga pH berkisar 4,5 – 5,4. Diperoleh 6 isolat BAL yang mampu memproduksi dekstran, sehingga diduga sebagai genus *Leuconostoc*, dan tiga isolat mampu memproduksi amonia sehingga diduga *Streptococcus faecium*. Namun ada pula genus *Leuconostoc* yang tidak mampu memproduksi dekstran sehingga diduga dari *Leuconostoc paramesenteroides*. Dari 6 isolat yang diduga *Leuconostoc*, selanjutnya dilakukan uji ketahanan terhadap konsentrasi garam yang tinggi dan diperoleh empat isolat yang diduga berasal dari *Leuconostoc mesenteroides* (Fauzi, dkk. 2016).

## **METODE**

### **Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian Eksperimen murni.

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan 21 Desember 2019 – 30 Juni 2020 di Laboratorium Biologi Dasar Universitas Muhammadiyah Jember, di rumah Banyuwangi, dan Café Hore Perumahan Bukit Villa Cemara Semeru.

### **Target/Subjek Penelitian**

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh varietas kopi yang ada di Jember. Sampel dari penelitian ini adalah biji kopi Arabika.

## **Prosedur**

### 1) Isolasi Bakteri

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran yang dilanjutkan dengan plating. Pengambilan sample dilakukan dengan mengambil kotoran luwak berupa biji kopi luwak dan bersama fesesnya. Suspensi kultur bakteri dibuat dengan cara 5 gr kotoran luwak dimasukkan dalam sebuah erlenmeyer berisi 45 ml aquadest steril, lalu di mixer sampai homogen.



Selanjutnya 1 ml suspensi kultur tersebut diencerkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril, di mixer hingga homogen dan dibuat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-8}$ . Isolasi bakteri dilakukan dengan inokulasi 1 ml suspensi kultur ke dalam cawan petri steril yang sudah ada media steril. Salah satu alternatif media yang dapat digunakan adalah MRS-A (De Man Rogosa Sharpe-Agar).

Setelah agar memadat, media diinkubasi secara anaerobik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam. Pada media MRS-A, koloni yang berasal dari BAL akan memberikan zona atau area yang jernih di sekitarnya. Koloni mikroba yang tumbuh selanjutnya digoreskan kembali ke medium MRS-A dengan goresan kuadran dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam sampai diperoleh kultur murni.

## 2) Identifikasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL)

### a. Pewarnaan Gram

Metode yang digunakan yaitu dengan cara satu ose BAL digoreskan pada objek glass, lalu difiksasi (ditambah 1 tetes aquadest, lalu dikering anginkan/dilewatkan di atas api kecil), sehingga terbentuk noda. Di atas noda tersebut kemudian diteteskan berturut-turut: pewarna Kristal violet, larutan lugol, etanol 95%, dan safranin. Sebelum meneteskan larutan selanjutnya, suspensi dibiarkan 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Terakhir, objek glass ditutup dengan cover glass dan diamati di bawah mikroskop.

### b. Uji $\text{CO}_2$

BAL sebanyak 1 ml diinokulasikan pada media MRS-Broth steril dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Inkubasi dilakukan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Setelah 48 jam, diamati gelembung udara dalam tabung durham tersebut.

### c. Uji Katalase

Satu ose BAL dioleskan pada objek glass, kemudian ditetesi dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% dan diamkan selama 1 menit. Jika terdapat gelembung, berarti BAL tersebut bisa dikategorikan sebagai katalase positif. Sebaliknya, jika tidak timbul gelembung, berarti BAL tersebut bisa dikategorikan sebagai katalase negatif.

d. Pertumbuhan pada Suhu yang Berbeda

Mengisi tabung endrofor masing-masing 1-1,5 ml MRS-Broth sebagai media pertumbuhan BAL. Kemudian diinokulasikan 1 ose BAL dalam masing-masing endrofor tersebut. Inkubasi selama 48 jam pada suhu yang berbeda, yaitu 15<sup>0</sup>C (lemari es), 37<sup>0</sup>C dan 45<sup>0</sup>C. Setelah 48 jam, diamati pertumbuhannya yang ditandai dengan adanya endapan/gas.

e. Reaksi pada Medium Litmus Milk

Satu ose BAL diinokulasikan ke dalam endrofor steril yang berisi 1-1,5 ml ke dalam medium litmus milk, lalu diinkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 2-5 hari. Warna litmus milk akan berubah menjadi merah atau tetap berwarna biru. Apabila litmus berubah menjadi merah (muda) menunjukkan telah terjadi pembentukan asam oleh BAL, sedangkan jika tidak terbentuk asam, warna litmus akan tetap berwarna biru.

f. Produksi Dekstran dari Sukrosa

BAL ditumbuhkan dalam endrofor yang berisi 1-1,5 ml MRS-Broth kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Dari setiap endrofor tersebut diambil 0,1 ml BAL dan dituang ke dalam cawan petri steril, lalu kedalamnya dituang sukrosa agar sebanyak 10 ml. Setelah memadat, inkubasi dengan posisi cawan terbalik pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 5 hari.

g. Produksi Amonia dari Arginin

Media Arginin broth, yang dibuat dengan melarutkan 5.0 g tripton, 2.5 g yeast ekstrak, 0.5 g D glukosa, 2.0 g K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan 3.0 g L-arginin monoklorida dalam 1 liter air (pH 7), dan disterilisasi pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Satu ose penuh isolat kultur diinokulasikan ke dalam media MRS-B Arginin/Arginin-Broth dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 2-5 hari. Setelah itu, 1 ml kultur yang tumbuh, ditambah reagen nessler dengan volume yang sama. Pembentukan amonia ditandai dengan pembentukan warna orange kecoklatan setelah penambahan reagen nessler.

h. Pertumbuhan pada Konsentrasi Garam yang Berbeda

Ketahanan BAL terhadap garam dapat diketahui dengan menumbuhkan BAL pada media MRS-Broth yang didalamnya telah dimasukkan garam dengan konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi garam (NaCl) yang digunakan terdiri dari: control (tanpa penambahan garam), NaCl 4%, dan NaCl 6,5%. Kemudian BAL diinokulasikan dalam 1 ml MRS-Broth + garam, lalu diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam.

i. Kemampuan Memfermentasi Berbagai Jenis Karbohidrat

Sebanyak 0,1 ml kultur diinokulasikan kedalam 1 ml media PGY-Broth yang dimodifikasi, glukosa yang digunakan dalam PGY-Broth diganti dengan karbohidrat yang diujikan, seperti: arabinosa, fruktosa, glukosa, maltosa, manitol, dan sukrosa. Kemudian diinkubasi selama 2 hari.

j. Kemampuan Memproduksi Asam

Kultur BAL berumur 24 jam, diinokulasikan sebanyak 10% ke dalam medium sintetik. Medium sintetik yang digunakan terbuat dari 50 g/l glukosa, 0.4% urea, 0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>, 0.001% FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, dan 0.05% ekstrak khamir. Inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 5 hari.

Analisa dilakukan dengan mengambil sejumlah media sintetik yang telah ditumbuhi oleh BAL, kemudian disentrifus selama ± 10 menit. Hal ini bertujuan untuk memisahkan sel BAL dari hasil metabolit (padatan tidak terlarut). Setelah itu 1 ml supernatan hasil sentrifus diencerkan dalam 9 ml aquadest, kemudian ditambah 2-3 tetes indikator fenolftalin 1% dan kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,01N sampai titik akhir titrasi tercapai, yang ditandai dengan terbentuknya warna merah muda. Jumlah ml NaOH yang digunakan, setara dengan jumlah total asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri. Total asam dihitung sebagai persen asam laktat dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 0.09 \times \text{pengenceran} \times 100\%}{\text{ml sample}}$$

### 3) Fermentasi Biji Kopi Arabika

#### a. Persiapan/Pembuatan medium fermentasi

Fermentasi biji kopi menggunakan fermentasi basah. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kopi hasil pengupasan sebanyak 3 kg ditambahkan aquades steril 1000 ml, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Jumlah substrat yang digunakan tiap wadah fermentasi yaitu sebanyak 45 ml dan kemudian diinokulasikan 5 ml inoculum, substrat sebelum digunakan di sterilisasi terlebih dahulu di autoclave, dan dapat digunakan setelah 24 jam. Jumlah kopi yang digunakan sebanyak 30 buah (60 biji)/sampel.

#### b. Kondisi Fermentasi

Fermentasi *in vitro* ini menggunakan pH 5,4 sebagai pH awal dan diakhir proses fermentasi akan diukur kembali tingkat keasamannya. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 4,0 dan pH 7,0. Inkubasi dengan suhu 35<sup>0</sup>C dan digojok dengan kecepatan 100 rpm. Waktu fermentasi dengan mikroba probiotik yang optimal untuk mendapatkan citarasa terbaik kopi luwak probiotik Robusta adalah difermentasi selama 6 hari (Robiyo dan Towaha, 2013).

Dikarenakan selama proses fermentasi berlangsung ditengah-tengah pandemic wabah corona ini, jadi peneliti melakukan dirumah, meskipun dilakukan dirumah tetapi peneliti tetap menjaga sterilisasi alat dan bahan agar steril dan kerja dalam kondisi aseptis.

#### c. Proses setelah fermentasi

Proses setelah fermentasi yaitu pemisahan cairan hasil fermentasi dan biji kopi. Cairan hasil fermentasi diukur kadar keasamannya untuk mengetahui pH akhir cairan hasil fermentasi. Biji kopi hasil fermentasi selanjutnya dicuci sampai bersih dan dikeringkan dengan di jemur selama 6 hari agar kadar air dalam biji kopi hanya 12%. Biji kopi yang sudah kering kemudian dikupas kulit tanduk dan kulit arinya, kemudian biji kopi ditimbang dan beratnya sekitar 15 g .



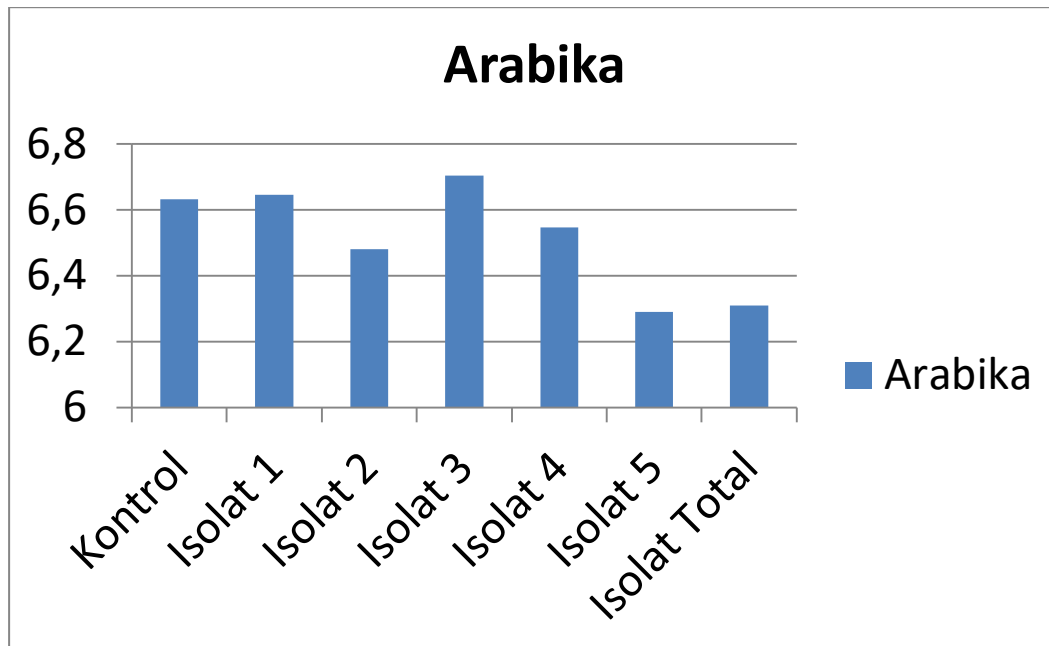
#### 4) Uji Cita Rasa Kopi Luwak Arabika

Pada uji cita rasa dilakukan dengan 5 responden/panelis yang akan menguji cita rasa kopi tersebut. Biji kopi Luwak yang sudah kering dan kadar air mencapai 12% siap untuk di sangrai (roasting), dikarenakan standart berat dan banyak kopi yang harus disangrai dalam alat adalah  $\pm 100$  g, maka kopi untuk 60 biji terlalu sedikit untuk dilakukan penyangraian, jadi jika ada 4 pengulangan hanya akan dilakukan 2 pengulangan saja, dikarenakan kondisi yang terpaksa dan tidak memungkinkan, penyangraian dilakukan selama 15 menit dengan suhu  $200^{\circ}\text{C}$  -  $215^{\circ}\text{C}$ . Setelah biji kopi dingin, dan penggilingan dilakukan 3 hari setelah roasting. Setelah 3 hari, dilakukan penggilingan kopi (grinder), dan kemudian langsung di uji cita rasa dengan 5 responden dengan mereka yang benar-benar tahu tentang cita rasa kopi, kopi luwak arabika ini dengan karakternya yang asam (acid), pahit, dan sedikit manis. indikator yang diujikan dalam tabel specialty coffe association arabika cupping form yaitu ada 10, aroma, flavor, aftertaste, acidity, body, uniformity, balance, clean cup, sweetness, overall.

#### **Instrumen, Teknik Pengumpulan Data, dan Analisis Data**

Instrumen yang digunakan untuk mengumpulkan data yaitu indikator lembar organoleptic SNI Kopi Luwak atau Specialty Coffe Association Arabika Cupping Form. Parameter yang dinilai meliputi: aroma (bau aroma saat diseduh), flavour (rasa dilidah), body (kekentalan), acidity (keasaman), aftertaste (rasa yang tertinggal dimulut), sweetness (rasa manis), balance (aspek keseimbangan rasa), clean cup (kesan rasa umum), uniformity (adanya keseragaman rasa dari tiap cangkir), dan overall (aspek rasa keseluruhan). Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan Uji prasyarat Non parametric yaitu Man Whitney menggunakan SPSS versi 22. Apabila hasil yang didapatkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey.

## HASIL DAN PEMBAHASAN



**Gambar 1.** Hasil Perbandingan Cita Rasa Kopi Luwak Arabika

Hasil analisis data uji cita rasa kopi luwak Arabika sebagai control diperoleh rata-rata antara 6,633 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat 1 sebagai *Lactobacillus plantarum* diperoleh rata-rata antara 6,646 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat 2 sebagai *Lactobacillus brevis* diperoleh rata-rata antara 6,4815 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat 3 sebagai *Leuconostoc paramesenteroides* diperoleh rata-rata antara 6,704 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat 4 sebagai *Leuconostoc mesenteroides* diperoleh rata-rata antara 6,547 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat 5 sebagai *Streptococcus faecium* diperoleh rata-rata antara

6,2894 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75. Hasil analisis data uji cita rasa kopi Arabika pada Isolat total sebagai jumlah keseluruhan isolate dari 1 - 5 yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecium* diperoleh rata-rata antara 6,31 yang termasuk dalam quality scale “good” karena terletak pada interval 6,00 – 6,75.

**Tabel 1.** Hasil Uji Non Parametrik Mann-Whitney U

P	Asymp. Sig. (2-tailed)	Mann-Whitney U
P0	0,266	35,500
P1	0,644	44,000
P2	0,444	40,000
P3	0,039	23,000
P4	0,819	47,000
P5	0,002	11,000
P6	0,123	30,000

**Keterangan :** P = Perlakuan  
 Asymp. Sig. (2-tailed) = Nilai Signifikan 2 arah  
 Mann-Whitney U = Hasil Uji

Dari tabel 1 diketahui bahwa untuk sig 2 tailed Kontrol 0,26 yaitu 35,5, Perlakuan pertama 0,64 yaitu 44,0, Perlakuan kedua 0,44 yaitu 40,0, Perlakuan ketiga 0,03 yaitu 35,0, Perlakuan keempat 0,81 yaitu 47,0, Perlakuan Kelima 0,002 yaitu 11,0, Perlakuan keenam 0,123 yaitu 30,0. Maka adanya pengaruh dari setiap perlakuan. Jadi H0 ditolak dan H1 diterima.

Berdasarkan dari hasil analisis Uji Mann-Whitney tentang pengaruh cita rasa kopi luwak hasil fermentasi terhadap setiap kualitas kopi menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji Tukey untuk pengaruh beda nyata terhadap setiap perlakuan. Untuk mengetahui adanya pengaruh beda nyata tiap isolate dari cita rasa kopi luwak pada table 2.

**Tabel 2.** Perbandingan Uji Beda Nyata (Tukey)  $\alpha = 0,05$

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0	0,999	a
P1	0,993	a
P2	0,003	ab
P3	0,000	abc
P4	0,125	a
P5	0,000	abc
P6	0,000	ab

**Keterangan :** P = Perlakuan  
Rata-rata = Hasil Uji Tukey  
Notasi = Hasil uji beda nyata/beda tidak nyata

Maka dari Uji Tukey dapat diketahui bahwa perlakuan P0, P1, dan P4 menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata, sedangkan pada perlakuan P2, P3, P5, dan P6 yaitu menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Sehingga dapat disimpulkan untuk menjawab dari hipotesis bahwa isolat 1 dan isolat 4 yang mirip dengan kopi luwak, sedangkan untuk isolat 2, 3, dan 5 ada perbedaan rasa dengan kopi luwak.

Berdasarkan identifikasi BAL (Bakteri Asam Laktat) saya juga menemukan 5 isolat yang berhasil di isolasi, menurut hasil identifikasi yang telah dilakukan, menunjukkan ada beberapa karakteristik dari seluruh isolat. Berdasarkan hasil pengujian morfologi dan fisiologi, dan tipe fermentasi yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa isolat 1 diduga sebagai *Lactobacillus plantarum* karena mampu memproduksi semua karbohidrat. Isolat 2 diduga sebagai *Lactobacillus brevis* karena mampu hidup di suhu 45<sup>0</sup>C bahkan lebih. Isolat 3 diduga sebagai *Leuconostoc paramesenteroides* karena mampu memproduksi dekstran. Isolat 4 diduga sebagai



*Leuconostoc mesenteroides* mempunyai sifat tahan garam, dan isolat 5 diduga sebagai *Streptococcus faecium* mempunyai sifat mampu hidup di suhu 15<sup>0</sup>C dan 45<sup>0</sup>C.

Setelah tahap fermentasi selesai, penjemuran biji kopi yang sudah bersih di jemur selama 6 hari agar kadar air dalam kopi tersisa sekitar 12%, namun yang saya lakukan waktu fermentasi dikarenakan lampu yang digunakan terlalu panas, sehingga suhunya melebihi 37<sup>0</sup>C, jadi kadar air pada kopi sedikit, dan kopi terlalu kering, tahap terakhir dengan pengelupasan kulit tanduk dan kulit ari.

Pada tahap roasting atau penyangraian, kopi harus kering dan kadar air tinggal 12%. Roasting dilakukan menggunakan suhu 200<sup>0</sup>C – 215<sup>0</sup>C, dan durasi waktu selama 15 menit, dikarenakan kopi terlalu kering sehingga kopi tidak dapat mengembang, dan dapat mengurangi cita rasa karena biji kopi terlalu hitam, dikarenakan ciri khas dari kopi Arabika ini adalah rasa masam dan pahit.

Pengujian cita rasa dilakukan di Café Hore Perumahan Bukit Villa Cemara Semeru pada tanggal 30 Juni 2020. Uji ini dilakukan atau di uji cobakan responden ahli kopi sebanyak 5 orang, responden ini bernama Dimas (pemilik Café Hore), Farhan (dosen Politeknik Negeri Jember) yang telah tersertifikasi uji kopi arabika tingkat kabupaten Jember pada tahun 2019, Irma (istri pemilik Café Hore), Auladi Ihsan, dan Deta. Kriteria orang yang harus dipenuhi sebelum uji cita rasa dilakukan yaitu sehat jasmani dan rohani, benar-benar mengetahui dan dapat merasakan perbedaan rasa kopi dari segi pahit, asam, dan manis, dan sebelum uji dilakukan mereka tidak boleh mengkonsumsi kopi selama 1 × 24 jam, dan 1 jam sebelumnya mereka harus menetralkan lidah dari segala macam makanan.

Hasil pengujian citarasa pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kopi P1 memiliki skor rata-rata citarasa yang paling tinggi, namun masih lebih tinggi dibandingkan kopi luwak asli yaitu 0,999. Hal ini menunjukkan bahwa waktu fermentasi dengan isolate yang optimal untuk mendapatkan citarasa terbaik kopi luwak Arabika adalah selama 6 hari (dengan isolate 1 yang diisolasi dari feses luwak). Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi kopi diantaranya adalah jumlah inokulum bakteri, lama fermentasi, substrat (medium), suhu, oksigen, air dan tingkat keasaman (pH).

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa identifikasi BAL (Bakteri Asam Laktat), saya juga menemukan 5 isolat yang berhasil di isolasi, menurut hasil identifikasi yang telah dilakukan, dapat diketahui beberapa karakteristik dari seluruh isolat. Dari hasil penelitian diketahui bahwa biji kopi Arabika hasil fermentasi menggunakan starter mikroba asal feses luwak memiliki karakteristik yang berbeda sebagai berikut : kopi control yaitu kopi P1 memiliki skor rata-rata citarasa yang paling tinggi, namun masih lebih tinggi dibandingkan kopi luwak asli yaitu 0,999. Perlakuan P1 merupakan perlakuan fermentasi in vitro terbaik untuk membentuk senyawa prekursor yang optimum, yang ditandai dengan nilai skor citarasa tertinggi dan mendekati cita rasa kopi luwak Arabika asli. Pada perlakuan P3, P5, P6 memiliki skor citarasa yang terendah, hal ini dikarenakan fermentasi berlangsung dengan suhu yang terlalu panas dan secara berlebihan yang mengakibatkan rasa kopi menjadi terlalu ringan dan bercitarasa buruk.

### **Saran**

Perlu di lakukan uji fermentasi lanjut dengan menggunakan kopi Robusta atau kopi Liberika. Mikroba yang digunakan bias divariasikan dengan Yeast, dan menggunakan BAL yang lebih random. Lebih memperhatikan proses fermentasi kopi yang sesuai dengan standart. Penelitian ini sedikit terhalang dikarenakan wabah atau pandemic corona yang masih berlangsung lama.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Azizah, S. N., Novita, E., dan Purbasari, D. (2019). *Potensi Penerapan Produksi Bersih Pada Proses Pengolahan Kopi Arabika Di Agroindustri Maju Mapan Desa Kemiri Kecamatan Panti Kabupaten Jember*. Prossiding Implementasi

IPTEKS Sub Sektor Perkebunan Pendukung Devisa Negara dan Ketahanan Energi Indonesia, Jember, 18-19 September.

- Fauzi, M dan Hidayati, N. W. (2016). *Perubahan Karakteristik Kimia Kopi Luwak Robusta In Vitro dengan Variasi Lama Fermentasi dan Dosis Ragi*. Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat : Universitas Jember
- Fauzi, M., Giyarto., Jumiyanti. (2016). *Karakterisasi Ragi Kopi Luwak Bermedia Tepung Beras dan Tepung Kulit Buah Kopi Robusta*. Prosiding Seminar Nasional APTA, Jember : Universitas Jember
- Fauzi, M., Setiadji., dan Megawati. (2012). *Produksi Ragi Kopi Kultur Tunggal : *Leuconostoc mesenteroides* dan *L. paramesenteroides* dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Kopi Luwak*. *AGROTEK*, 6(1) : 59-69
- Giyarto., Fauzi, M, dan Bakri, A. (2010). *Rekayasa teknologi fermentasi biji kopi robusta: Aplikasi ragi kopi berbasis isolat bakteri asam laktat kopi luwak dan roti*. Jember : Universitas Jember
- Tika, I. N., Pujani, N. M., Agustiana, I. G. A. T. (2017). *Kandungan Kafein Pada Kopi Dengan Fermentasi Menggunakan Mikroba Yang Diisolasi Dari Kopi Kotoran Luwak Kebun Kopi Di Kabupaten Buleleng*. Seminar Nasional Riset Inovatif. Bali : Universitas Pendidikan Ganesha
- 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*. *Jurnal Biologi*, 4(3) : 31-40