**II TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Kopi, (2) Proses Pengolahan Kopi, (3) Fermentasi, (4) Koji dan (5) Mikroorganisme dalam Fermentasi Kopi.

**2. 1. Kopi**

Tanaman kopi diperkirakan berasal dari Arab dan Afrika, termasuk dalam family *Rubiaceae* dengan genus *coffea.* Kopi masuk ke Indonesia antara tahun 1696 – 1699, dibawa oleh VOC melalui sistem tanam paksa disebabkan oleh permintaan kopi yang tinggi di Eropa. Pemerintah Belanda menanam kopi di daerah Jawa (Batavia, Sukabumi, Priangan dan Bogor) hingga Jawa Timur dan Jawa Tengah lalu diperluas ke daerah Sumatra Utara dan Aceh. Ekspor pertama kali dilakukan pada tahun 1711 (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Jenis – jenis kopi diantaranya adalah sebagai berikut :

1**.** Kopi Robusta

Kopi Robusta berasal dari Kongo dan masuk Indonesia pada tahun 1900. Karena mempunyai sifat lebih unggul seperti resisten terhadap penyakit HIV dan dapat tumbuh di daerah yang mempunyai bulan kering 3 – 4 bulan berturut – turut dengan 3 – 4 kali hujan (Najiyati dan Danarti, 1997).

2. Kopi Arabika

Kopi Arabika berasal dari Ethiopia dan Albessinia. Tanaman kopi Arabika tidak tahan terhadap panas dan penyakit, namun jika dipanen nilai ekonomisnya lebih tinggi daripada kopi Robusta (Gardjito dan Rahadian, 2011).

3. Kopi Liberika

Kopi Liberika berasal dari Angola dan masuk ke Indonesia sejak tahun 1965. Meskipun sudah cukup lama penyebarannya tetapi hingga saat ini jumlahnya masih terbatas karena kualitas buah yang kurang bagus dan rendemennya rendah (Najiyati dan Danarti, 1997).

Tanaman kopi Robusta tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian sekitar 1.000 m diatas permukaan laut, daerah-daerah dengan suhu sekitar 200C. Tanaman kopi mulai dapat menghasilkan buah setelah umur 4 - 5 tahun tergantung pada pemeliharaan dan iklim setempat. Tanaman kopi dapat memberi hasil tinggi mulai umur 8 tahun dan dapat berbuah baik selama 15 - 18 tahun, jika pemeliharaan tanaman kopi baik, akan menghasilkan sampai umur sekitar 30 tahun (Ridwansyah 2003).

Untuk memperoleh hasil yang bermutu tinggi, buah kopi harus dipetik setelah betul-betul matang, kopi memerlukan waktu dari kuncup bunga 8 – 11 bulan untuk Robusta dan 6 sampai 8 bulan untuk Arabika. Beberapa jenis kopi seperti kopi Liberika dan kopi yang ditanam di daerah basah akan menghasilkan buah sepanjang tahun sehingga pemanenan bisa dilakukan sepanjang tahun. Kopi jenis Robusta dan kopi yang ditanam di daerah kering biasanya menghasilkan buah pada musim tertentu sehingga pemanenan juga dilakukan secara musiman. Musim panen ini biasanya terjadi mulai bulan Mei atau Juni dan berakhir pada bulan Agustus atau September (Ridwansyah, 2003).

Kematangan buah kopi juga dapat dilihat dari kekerasan dan komponen senyawa gula di dalam daging buah. Buah kopi yang matang mempunyai daging buah lunak dan berlendir serta mengandung senyawa gula yang relatif tinggi sehingga rasanya manis (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Buah kopi tediri atas tiga bagian, yaitu :

1. lapisan kulit luar (excocarp)

2. lapisan daging (mesocarp)

3. lapisan kulit tanduk (endoscarp)



Gambar 1. Penampang Lintang Buah Kopi

Kulit luar terdiri dari satu lapisan yang tipis, pada buah yang masih muda berwarna hijau tua yang kemudian berangsur-angsur berubah menjadi hijau kuning dan akhirnya menjadi merah sampai merah hitam kalau buah itu telah masak sekali. Dalam keadaan yang sudah masak, daging buah menjadi berlendir yang rasanya agak manis. Keadaan kulit bagian dalam, yaitu endocarpnya cukup keras dan kulit ini biasanya disebut kulit tanduk (Ridwansyah, 2003).

Komposisi kimia dari biji kopi robusta (% bobot kering) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Komposisi kimia biji kopi robusta

|  |  |
| --- | --- |
| **Komponen** | **Biji Kopi** |
| Mineral  Kafein  Trigonelline  Lipid  Total asam klorogenat  Asam alifatik  Oligosakarida  Total polisakarida  Asam amino  Protein  Asam humin | 4,0 – 4,5  1,6 – 2,4  0,6 – 0,75  9,0 – 13,0  7,0 – 10,0  1,5 – 2,0  5,0 – 7,0  3,0 – 4,7  2,0  11,0 – 13,0  - |

Sumber : Clarke dan Macrae, 1987

Biji kopi mengandung polisakarida seperti selulosa dan hemiselulosa ( sekitar 50% b/b ), mengandung karbohidrat seperti fruktosa, glukosa, galaktosa dan arabinosa, sukrosa dan rafinosa. Asam non-volatil seperti sitrat, malat dan asam quinat dan asam volatil seperti asetat, propionat, butirat, asam hexanoat dan dekanoat. Juga protein dan asam amino bebas ( 9 - 12% b/b ) dan mineral ( 3 - 5% b/b ). Kafein adalah alkaloid utama dalam biji kopi, terhitung 1 - 4% berat kering. Kafein ini berkaitan erat dengan kualitas minuman kopi, karena memberikan kontribusi untuk rasa pahit pada minuman kopi. Kafein dapat meningkatkan adrenalin melalui stimulasi dari sistem saraf pusat, meningkatkan sirkulasi darah dan pernapasan. Manfaat dari kafein meliputi peningkatan suasana hati dan mengurangi gejala yang berhubungan dengan penyakit Parkinson dan tremor. Namun, kafein juga memiliki beberapa efek negatif seperti sulit tidur dan memiliki gejala kecanduan. Hal tersebut telah mendorong pengembangan industri kopi tanpa kafein diperkirakan sekitar 10 - 15% dari jumlah total kopi yang dikonsumsi di dunia. Senyawa fenolik terutama ditemukan dalam biji kopi hijau sebagai CGA (Clorogenat acid) sampai 12% dari padatan, yang adalah ester dari asam sinamat trans dan asam quinat, juga ditemukan dalam kopi, bersama dengan asam fenolik seperti asam kafeat, ferulat dan asam dimethoxycinnamat. Selain potensi sebagai antioksidan, asam klorogenat memiliki manfaat lainnya seperti hepatoprotektif, kegiatan hipoglikemik, dan antivirus. Terdapat senyawa fenolik, seperti tanin, lignan dan antosianin ditemukan di dalam biji kopi. Fraksi lemak dari biji kopi hijau terutama terdiri dari triacylglycerols, sterol, tokoferol, dan diterpenes sampai dengan 20% dari total lipid (Esquivel dan Jimenez 2011).

Kafein (1, 3, 7 - trimethylxanthine) disintesis dalam tanaman, seperti teh *(Camellia sinensis)* dan kopi *(Coffea arabika, Coffea canephora).* Jalur biosintesis dari kafein diprakarsai oleh beberapa peneliti sebagai berikut : xanthosine → 7 - methylxanthosine → 7-methylxanthine → theobromine → kafein. Alkaloid yang paling banyak di alam adalah kafein (1, 3, 7-trimethylxanthine), diikuti oleh theobromine (3, 7-dimethylxanthine) dan sejumlah kecil teofilin (1, 3- dimethylxanthine). Titik leleh kafein, teobromin dan teofilin adalah 238, 357 dan 270ºC (Merck Index), dan titik sublimasi adalah 178, 290 dan 269ºC (Merck Indeks, 17). Kafein larut baik dalam air mendidih, tetapi pada suhu kamar, kloroform adalah lebih baik pelarut. Theobromine kurang larut dalam air dari kafein, tetapi mudah larut dalam asam encer dan basa. Asam chlorogenic membentuk kompleks 1:1 dengan kafein (Ashihara dan Suzuki, 2004).

Tabel 2. Kandungan Kafein pada Spesies dan Varietas Kopi Robusta (% berat kering)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Spesies** | **Varietas** | **Daun** | **Biji** |
| *C. canephora* | Robusta  Conillon  Laurentii | 0,46  0,95  1,17 | 4,00  2,36  2,45 |

Sumber : Jansen, 2010.

**2.2. Proses Pengolahan Kopi**

Pengolahan buah kopi bisa dilakukan melalui dua cara yaitu cara basah dan cara kering. Pengolahan secara basah biasanya memerlukan modal yang lebih besar, tetapi lebih cepat dan menghasilkan mutu yang lebih baik. Oleh karena itu pengolahan tersebut banyak dilakukan oleh PTP, perkebunan swasta yang cukup besar atau kelompok tani yang membentuk koperasi (Najiyati dan Danarti, 1997).

Pengolahan basah dimulai dengan proses pemanenan yang baik, biji kopi yang akan digunakan ini dipastikan biji kopi yang telah benar – benar matang, kemudian dibersihkan dan dibuang daging buah serta kulitnya lalu difermentasi (Clarkce dan Macrae, 1987).

Pengolahan secara kering pengeringan yang dilakukan dengan cara alami membutuhkan waktu selama 2 – 3 minggu. Kopi dikatakan kering apabila waktu diaduk terdengar bunyi gemerisik. Semakin cepat kering mutu kopi akan semakin baik (Najiyarti dan Danarti, 1997).

Proses pengeringan ini juga dapat dilakukan dengan cara pengeringan buatan. Keuntungan pengeringan buatan dapat menghemat biaya dan juga tenaga kerja hal yang perlu diperhatikan adalah pengaturan suhunya. Menurut Roelofsen, pengeringan sebaiknya pada suhu rendah yaitu 55°C akan menghasilkan buah kopi yang bewarna merah dan tidak terlalu keras. Untuk buah kopi kering dengan KA rendah dikeringkan dengan suhu tidak terlalu tinggi sehingga tidak akan terjadi perubahan rasa. Peralatan pengeringan yang biasa digunakan : mesin pengering statik dengan alat penggaruk mekanik, mesin pengering dari drum yang berputar, mesin pengering vertikal (Ridwansyah, 2003).

Secara keseluruhan maka proses pengolahan kopi dapat diterangkan sebagai berikut :

1. Sortasi

Tujuan dari sortasi adalah memisahkan buah kopi merah yang terserang hama, buah kopi hijau serta hitam dan kotoran seperti kerikil, daun dan kayu. Sortasi ini dilakukan berdasarkan berat jenis, selama proses pemisahan, buah kopi superior akan melayang, buah kopi inferior akan mengapung dan kotoran akan tenggelam (Gardjito dan Rahadian, 2011).

1. *Pulping* (Pelepasan Kulit dan Daging Buah)

*Pulping* bertujuan untuk memisahkan kopi dari kulit terluar (exocarp) dan mesocarp (bagian daging), hasilnya *pulp.* Prinsip kerjanya adalah melepaskan exocarp dan mesocarp buah kopi Biji kopi hasil *pulping* masih mengandung lendir sehingga perlu dilakukan fermentasi (Gardjito dan Rahadian, 2011).

1. Fermentasi

Fermentasi bertujuan untuk menghilangkan lendir yang menyelimuti biji kopi. Selama fermentasi pektin yang terdapat di dalam lendir didegradasi oleh enzim pektinolitik menjadi asam pektinat, asam pektat serta asam galakturonat. Kandungan gula dalam lendir juga ikut terdegradasi selama fermentasi menjadi asam laktat dan asam asetat. Asam – asam lain yang dihasilkan dari proses fermentasi ini adalah etanol, asam butirat dan propionat (Gardjito dan Rahadian, 2011).

1. Pencucian

Pencucian bertujuan untuk membersihkan biji kopi dari lapisan lendir dan kotoran – kotoran yang masih tertinggal setelah difermentasi dan *pulping.* Pencucian dengan cara sederhana dilakukan pada bak memanjang yang airnya terus mengalir. Cara yang lebih sederhana lagi bisa dilakukan dalam bak yang di bawahnya diberi lubang pengatur keluarnya air (Najiyati dan Danarti, 1997).

1. Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air biji kopi. Pada proses pengeringan diperlukan dua tahap, yaitu pengeringan pendahuluan dan pengeringan inti. Pengeringan pendahuluan biasanya dilakukan dengan sinar matahari selama 48 jam yang bertujuan untuk mengeringkan air permukaan. Pengeringan inti dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu pengeringan dengan sinar matahari dan pengeringan secara mekanik yang dapat dilakuan pada suhu 40 – 600C (Gardjito dan Rahadian, 2011).

1. Pengupasan *(Hulling)*

Pengupasan bertujuan untuk memisahkan kulit tanduk dan kulit ari dari biji kopi. Di dalam mesin *huller*, kulit yang sudah terlepas dari biji akan dihembus keluar dari mesin dalam keadaan bersih. Kopi yang keluar dari *huller* ini adalah kopi beras (Najiyati dan Danarti, 1997).

1. Penyangraian *(Roasting)*

Penyangraian bertujuan untuk mengurangi kadar air, menimbulkan perubahan warna dan membentuk aroma spesifik. Ada tiga macam cara penyangraian, yaitu : (1) Penyangraian Ringan *(Light Roast),* suhu yang digunakan adalah 193 – 1990C kopi sangrai yang dihasilkan berwarna hitam pucat dan pH seduhan lebih asam kadar air yang hilang adalah 3 – 5%. (2) Penyangraian Sedang *(Medium Roast),* suhu yang digunakan adalah 2040C hasil seduhannya mempunyai pH sekitar 5,1 kadar air yang hilang 5 – 8%. (3) Penyangraian Berat *(Dark Roast)*, suhu yang digunakan 213 – 2210C kopi yang dihasilkan berwarna hitam gelap dengan pH seduhan 5,3 kadar air yang hilang 8 – 14% (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Perubahan yang terjadi selama penyangraian antara lain perubahan karbohidrat (terjadi reaksi karamelisasi sukrosa, arabinosa terdekomposisi, mannan meningkat, serta penurunan mannosa, holoselulosa, selulosa dan araban); terjadi pengurangan serat kasar; terbentuk senyawa volatil; terjadi perubahan lemak (trigliserida menurun, ester diterpen terdekomposisi); denaturasi protein dan oksidari lemak; penurunan berat 14 – 23%; serta biji kopi menjadi rapuh. Asam – asam yang terdapat pada biji kopi mengalami dekomposisi, asam klorogenat sebesar 87%, asam isoklorogenat sebesar 100% dan asam monoklorogenat sebesar 33% (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa keberadaan beberapa asam seperti asam phosporat, quinat, laktat, sitrat, asetat, malat dan sebagainya, menghasilkan keasaman khusus untuk secangkir kopi, adanya asam tersebut menyebabkan rasa yang unik, aroma dan kilauan pada minuman kopi. Keasaman disini adalah rasa tajam yang menghasilkan efek menyenangkan, berlawanan dengan rasa masam. Senyawa – senyawa asam tersebut salah satu dari hasil fermentasi pada biji kopi sehingga setelah dilakukan proses penyangraian menghasilkan kopi sangrai yang baik (Velmourougane, 2011).

Tabel 3. Komposisi Biji Kopi Robusta Sebelum dan Sesudah Disangrai

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Komponen** | **Biji Kopi** | **Kopi Sangrai** |
| Mineral  Kaffein  Trigonellin  Lemak  Total asam klorogenat  Asam alifatik  Oligosakarida  Total polisakarida  Asam amino  Protein  Asam humid | 4,0 – 4,5  1,6 – 2,4  0,6 – 0,75  9,0 – 13,0  7,0 – 10,0  1,5 – 2,0  5,0 – 7,0  3,0 – 4,7  2,0  11,0 – 13,0  - | 4,6 – 5,0  2,0  0,3 – 0,6  11,0 – 16,0  3,9 – 4,6  1,0 – 1,5  0,0 – 3,5  -  0  13,0 – 15,0  16,0 – 17,0 |

Sumber : Clarke dan Macrae, 1987

Berikut ini adalah jenis senyawa yang dapat membentuk aroma pada kopi:

1. Golongan fenol dan asam tidak mudah menguap, seperti asam klorogenat dan asam kuinat, asam kafeat, dan riboflavin
2. Golongan senyawa karbonil netral, seperti formaldehid, aseton dan asetaldehid, vanillin
3. Golongan senyawa karbonil asam, seperti asetoasetat dan keton kaproat, oksaloasetat, hidroksi piruvat, merkaptopiruvat
4. Golongan asam amino bebas, seperti leusin, isoleusin, alanin, threonin, glysin dan asam aspartat.
5. Golongan asam mudah menguap, seperti asam asetat, asam propionate, asam butirat dan asam valerat (Hadi, 2011).

Sebagian kecil dari kafein akan menguap dan terbentuk komponen - komponen lain yaitu aseton, furfural, amonia, trimethylamine, asam formiat dan asam asetat pada saat penyangraian. Kafein di dalam kopi terdapat sebagai senyawa bebas maupun dalam bentuk kombinasi dengan klorogenat sebagai senyawa kalium klorogenat. Oleh karena itu, akan terjadi perubahan citarasa dan flavor kopi yang telah disangrai (Hadi, 2011).

Menurut Ciptadi dan Nasution (1978) penyangraian dihentikan jika kopi sudah mudah pecah dengan kedua jari atau dengan menggigit kopi tersebut (Imelda, 2010).

1. Penggilingan

Tujuan dari penggilingan adalah memperpendek jarak titik pusat partikel dengan permukaan, membuat luas permukaan menjadi lebih besar, serta meningkatkan jumlah bahan yang larut dalam air (Gardjito dan Rahadian, 2011).

1. Pengayakan

Pengayakan bertujuan untuk mendapatkan kopi bubuk dengan ukuran seragam, yaitu sekitar 30 – 40 mesh dan ukuran maksimumnya adalah 75 mesh. Ukuran bubuk kopi mempengaruhi solubilitas senyawa – senyawa di dalam bubuk kopi tersebut (Gardjito dan Rahadian, 2011).

**2.3. Fermentasi**

Fermentasi bertujuan untuk menghilangkan lendir yang masih terdapat pada biji kopi. Selama fermentasi pektin yang terdapat di dalam lendir didegradasi oleh enzim pektinolitik menjadi asam pektinat, asam pektat serta asam galakturonat. Kandungan gula dalam lendir juga ikut terdegradasi selama fermentasi menjadi asam laktat dan asam asetat. Asam – asam lain yang dihasilkan dari proses fermentasi ini adalah etanol, asam butirat dan propionat (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Kandungan *mucilage* kopi sekitar 4-15% dari berat kering buah kopi. *Mucilage* kaya akan pektin dan gula mewakili 17% massa dari biji kopi. senyawa pektin meliputi protopektin sebesar 30%, gula pereduksi yaitu glukosa dan fruktosa sebanyak 20%, gula non pereduksi yaitu sukrosa sebanyak 20%, serta sellulosa dan mineral sebanyak 17% (Murthy dan Naidu, 2011).

Fermentasi berpengaruh pada flavor kopi yang terbentuk. Fermentasi yang terlalu lama akan menyebabkan *over fermented* dan flavor yang menyimpang, sedangkan fermentasi yang terlalu pendek akan menyebabkan flavor kurang terbentuk selama fermentasi juga terjadi pengurangan berat karena metabolisme, akibat mikroba yang terdapat selama fermentasi (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Proses fermentasi biji kopi dapat dilakukan melalui dua cara yaitu cara basah dan cara kering. Fermentasi basah dilakukan di dalam bak semen yang bagian bawahnya berlubang-lubang sebagai jalan keluarya air. Biji kopi dimasukkan ke dalam bak lalu diberi air bersih hingga hampir penuh lalu dibiarkan kurang lebih 10 jam kemudian air dikeluarkan sambil kopi diaduk-aduk. Setiap 3-4 jam air rendaman diganti sambil diaduk, perendaman dihentikan setelah 36-40 jam (Najiyati dan Danarti, 1997).

Fermentasi kering dilakukan dengan cara menumpuk kopi lalu ditutup dengan karung goni agar tetap lembap sehingga proses fermentasi bisa berlangsung dengan baik. Agar fermentasi bisa lebih merata setiap 5-6 jam tumpukan tersebut perlu diaduk (Najiyati dan Danarti, 1997).

Selain itu fermentasi juga dapat dilakukan dengan menambah enzim pektinolitik. Fermentasi dengan penambahan enzim mampu memperpendek waktu fermentasi, menghambat mikroorganisme yang merugikan dan meningkatkan kualitas biji kopi. Dengan penambahan enzim sebanyak 0,25% proses fermentasi dapat berlangsung sekitar 5-10 jam, lebih cepat dibandingkan dengan fermentasi alami yang membutuhkan waktu sekitar 36 jam. Waktu fermentasi yang cepat berarti pemecahan gula berlangsung secara cepat pula. Dengan demikian, bakteri yang dapat merusak mutu biji kopi tidak sempat tumbuh dan berkembang di dalam gula tersebut (Gardjito dan Rahadian, 2011).

Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi diantanya adalah :

1. Pemecahan Komponen *mucilage*

Bagian yang tepenting dari lapisan berlendir (getah) ini adalah komponen protopektin material inilah yang terpecah dalam proses fementasi. Ada yang berpendapat bahwa tejadinya pemecahan getah itu adalah sebagai akibat bekerjanya suatu enzim yang terdapat dalam buah kopi. Enzim ini termasuk sejenis katalase yang akan memecah protopektin didalam buah kopi.

2. Pemecahan Gula

Sukrosa merupakan komponen penting dalam daging buah kopi. Kadar gula akan meningkat dengan cepat selama proses pematangan buah yang dapat dikenal

dengan adanya rasa manis. Sebagai hasil proses pemecahan gula adalah asam laktat dan asam asetat dengan kadar asam laktat yang lebih besar. Asam-asam lain yang dihasilkan dari proses fertmentasi ini adalah etanol, asam butirat dan propionat. Asam lain akan memberikan *onion flavor.*

3. Perubahan Warna Kulit

Biji kopi yang telah terpisahkan dari *pulp* dan *parchment* maka kulit ari akan berwarna coklat. Juga jaringan daging biji akan berwarna sedikit kecoklatan berwarna abu - abu atau abu - abu kebiruan. Proses *"browning"* ini terjadi akibat oksidasi polifenol. Terjadinya warna kecoklatan yang kurang menarik ini dapat dicegah dalam proses fermentasi melalui pemakaian air pencucian yang bersifat alkalis (Ridwansyah, 2003).

Tabel 4. Komposisi Kimia *Mucilage* (Lapisan Lendir) Kopi Robusta (% berat kering)

|  |  |
| --- | --- |
| **Komponen** | **Kopi *Mucilage*** |
| Air  Protein  Gula non reduksi  Gula pereduksi  Pektin  Mineral | 84,0  8,9  1,8  2,4  2,8  0,9 |

Sumber : Murthy dan Naidu, 2011

Fermentasi biji kopi tergantung pada beberapa faktor diantaranya adalah jumlah biji kopi yang akan difermentasi, air (pada proses fermentasi basah), suhu dan kelembaban. Kopi Robusta memerlukan waktu fermentasi lebih lama (lebih dari 48 jam) daripada kopi Arabika secara fermentasi alami disebabkan oleh hemisellulosa, substansi pektin dan gula pada biji kopi Robusta sulit untuk dipisahkan saat demusilasi (proses degradasi *mucilage*). Proses demusilasi pada 1 jam fermentasi terjadi 8% pektin yang terdekomposisi dan terus berlangsung sampai 48 jam terjadi 100% pektin yang terdekomposisi pada fermentasi alami kopi Robusta (Murthy dan Naidu, 2011).

Untuk menentukan bahwa fermentasi lendir selesai yaitu dengan pemeriksaan manual. Sebelum fermentasi, lapisan lendir atau *mucilage* tersebut licin dan tidak mudah lepas dari permukaan biji kopi. Tetapi setelah fermentasi, kopi tersebut tidak licin, dan lapisan lendir dapat dilepas dan bisa sepenuhnya dibersihkan (Jackels dan Jackels, 2005).

**2.4. Koji**

Koji berasal dari Cina yang berarti biji berjamur, dalam berbagai bahasa koji disebut *'shui'* di cina, *'koji'* di jepang dan *'ku'* di korea. Persiapan koji dianggap sebagai suatu langkah penting dalam fermentasi berbagai proses fermentasi pada makanan. Pada dasarnya koji adalah substrat padatan budidaya jamur untuk menghasilkan enzim hidrolisis pada biji kedelai atau pada sereal lainnya. Koji berfungsi sebagai sumber dari berbagai enzim yang mengkatalisis degradasi bahan baku solid untuk produk larut dan menyediakan substrat untuk fermentasi ragi dan bakteri dalam tahap fermentasi berikutnya (Wood, 1985).

Koji mengandung enzim alfa amilase dan amiloglukosidase. Enzim – enzim ini akan menghidrolisa pati menjadi dekstrin, glukosa dan maltosa. Koji juga mengandung enzim protease asam dan protease alkali yang akan memecah protein menjadi peptida dan asam – asam amino (Rahman, 1992).

Faktor – faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses pembuatan koji adalah kadar air beras, kelembaban ruang dan suhu aerasi. Kadar air selama fermentasi koji harus diperhatikan pada tahap awal fermentasi koji sekitar 43% dan pada tahap akhir fermentasi koji sekitar 30%. Lamanya proses fermentasi juga merupakan salah satu faktor penting dalam fermentasi koji. Bila waktu inkubasi koji terlalu cepat, akan mengakibatkan kurang sempurnanya hidrolisa protein dan polisakarida pada beras. Selain itu, enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan sedikit. Bila masa inkubasi terlalu lama akan mengakibatkan produksi amonia berlebihan, sehingga terjadi pembentukan flavor yang tidak dapat diterima (Wood, 1985).

**2.5. Mikroorganisme dalam Fermentasi Kopi**

Secara garis besar fermentasi biji kopi dapat dikelompokkan dengan menggunakan mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses fermentasi kopi adalah bakteri, ragi atau campuran ragi atau bakteri. *Hansenispore uvarum* dan dilaporkan lebih dominan populasi ragi yang dicampur dengan ragi lain seperti *Pichia kluyveri (Pichia fermentans)* dan *(Candida kefir = Candida bulgaricus).* Bakteri yang dapat digunakan dalam fermentasi merupakan sebagian besar umumnya bakteri penghasil asam laktat dari beberapa golongan *Enterobacteriaceae* dan *Bacillus*. Bakteri yang menghasilkan enzim *pectinolytic* yaitu *Pseudomonas fluorescens* dan *Erwinia* *carotovora* (Anonim, 2009).

Selama fermentasi biji kopi, mikroorganisme mengambil nutrisi dari lendir atau *mucilage*. Jenis ragi dari *Kloeckera, Hansenula* dan *Saccharomyces* menghasilkan etanol yang pada gilirannya menyebabkan produksi asam asetat oleh *Acetobacter spp.* karena kedua produk fermentasi menumpuk dan gula dalam lendir menjadi habis, bakteri genus *Lactobacillus*, contohnya *Lactobacillus plantarum* menurunkan pH sampai 5,2 (Board, 1983).

Jumlah bakteri asam laktat selama uji fermentasi biji kopi lebih besar daripada ragi dan tidak ada pertumbuhan jamur setelah fermentasi dan waktu pengeringan. Pola pertumbuhan populasi mikroba dalam proses fermentasi kopi mengungkapkan dominasi dari genus *Lactobacillus*. Dominasi bakteri asam laktat dalam fermentasi ini karena kemampuan untuk berkembang biak dalam lingkungan anaerobik serta dapat melakukan penekanan bagi mikroorganisme pembusuk dan bakteri patogen lainnya. Kemampuan bakteri asam laktat untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya dapat disebabkan oleh produksi asam organik disertai dengan penurunan pH dan produksi hidrogen peroksida (Massasawe dan Lifa, 2010).

Senyawa – senyawa pektin merupakan polimer dari asam D-galakturonat yang dihubungkan dengan ikatan β-(1,4)-glukosida, asam galakturonat merupakan turunan darai galaktosa. Pada umumnya senyawa pectin bisa diklasifikasikan menjadi tiga senyawa yaitu asam pektat, asam pektinat dan protopektin (Winarno,1984).

Klasifikasi enzim pektinolitik berdasarkan cara kerjanya pada molekul pektin, yaitu pektin metilesterase (PME), poligalakturonase (PG), pektat liase (PAL) dan pektin liase (PL). Enzim PME dan PG banyak ditemukan pada jaringan tanaman, walaupun juga dapat diproduksi oleh beberapa strain jamur, bakteri dan ragi. Sedangkan enzim PAL dan PL hanya diproduksi oleh mikroorganisme (Putra dkk., 2009).

Tiga jenis enzim yang dapat menyebabkan degradasi pektin secara lengkap antara lain pectin lyase, polygalacturase, dan methylesterase. Methylesterase tidak mengurangi panjang rantai utama (backbone) pektin, tetapi hanya memotong methyl esters. Enzim poligalakturonase (PG), yang mengkatalis hidrolisis rantai asam poligalakturonat, Enzim pektinolitik seperti poligalakturonase dapat memecah pektin dengan cara memutus ikatan glikosidik. Hidrolisis pektin akan menghasilkan asam pektat. Dalam transformasi tersebut ada beberapa hasil, antara lain asam pektinat serta unit-unit pektin dilaporkan sebagai asam pektat dengan gugus karbonil yang diesterifikasi oleh metil alkohol (Putra dkk, 2009).

Pengaruh pH pada aktifitas enzim pektinolitik telah diteliti untuk mengevaluasi aktifitas enzim tersebut pada kondisi fermentasi biji kopi. Aktifitas optimum enzim pektat liase yang dihasilkan oleh bakteri *Erwinia herbicola, Bacillus subtilis* dan *Bacillus polymyxa* berkisar pada pH 9,0; 8,2 dan 8,5. Enzim tersebut tidak bisa aktif pada kondisi fermentasi biji kopi yaitu pada pH 5,3 – 3,5. Aktifitas maksimal enzim poligalakturonase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* pada pH 4,2 sedangkan yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* aktifitas maksimumnya pada pH 4,5. Poliglakturonase merupakan enzim yang efisien pada kondisi fermentasi biji kopi (Avallone *et al.,* 2002).

Pengaruh pH berkaitan dengan aktifitas enzim yang maksimal pada pH optimum, sedangkan di atas dan di bawah pH optimum aktifitas enzim mengalami penurunan. Di sekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Enzim bersifat amfolitik yaitu enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basa ( Putra dkk., 2009).

Proses demusilasi membutuhkan waktu selama 48 jam pada proses fermentasi alami tetapi demusilasi ini tidak berbanding lurus dengan degradasi pektin pada *mucilage* tersebut. Penambahan enzim pektinolitik dari luar dapat membantu proses demusilasi sekaligus menyebabkan berbanding lurus dengan degradasi pektin. Cara kerja enzim tersebut sangat dipengaruhi oleh suhu. Hubungan aktifitas enzim pektinolitik dengan suhu juga telah diteliti yang menunjukkan bahwa aktifitas enzim pektinolitik terjadi pada suhu 30-600C, dengan aktifitas maksimumnya pada suhu 500C. Lebih dari 70% aktifitas enzim pektinolitik terjadi pada suhu 40, 45 dan 550C. Faktor yang mempengaruhi proses demusilasi yaitu suhu, ketebalan lapisan *mucilage*, konsentrasi enzim dan konsentrasi mikroorganisme (Murthy dan Naidu, 2011).

Pengaruh suhu berkaitan dengan aktifitas enzim. Semakin tinggi suhu menyebabkan meningkatnya energy kinetik molekul-molekul yang bereaksi, sehingga aktifitas enzim akan semakin meningkat. Tetapi karena enzim adalah protein semakin tinggi suhu maka proses inaktifasi enzim semakin meningkat. Selanjutnya sampai batas suhu tertentu atau suhu optimal, peningkatan suhu justru menurunkan aktifitas enzim. Lebih lanjut menurut Sofro (1990), kerusakan enzim menyebabkan kerusakan struktur enzim sehingga sisi aktif enzim tidak dapat lagi digunakan untuk mengikat sustrat ( Putra dkk, 2009).

*Lactobacillus plantarum* adalah bakteri non-patogen gram positif yang secara alami terdapat di dalam air liur manusia dan saluran pencernaan. Sebagai anggota dari bakteri asam laktat, umumnya digunakan dalam fermentasi makanan. Struktur *Lactobacillus plantarum* adalah berbentuk batang. Metabolisme  
*Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri fakultatif anaerob dapat tumbuh baik dengan ada atau tidak adanya oksigen. Dengan adanya oksigen, dapat mengkonversi oksigen ke dalam hidrogen peroksida. Di sisi lain, ketika oksigen tidak ada, bakteri tersebut memfermentasi gula menjadi asam laktat atau alkohol (heterofermentatif) (Anonim, 2009).

Secara umum BAL termasuk golongan bakteri mesofilik dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 10 – 450C. Namun ada beberapa spesies BAL tergolong bakteri termofilik yang mempunyai suhu pertumbuhan 40 – 500C (Fardiaz, 1992).

Pada penelitian ini digunakan koji *Lactobacillus plantarum* dengan menaburkannya di kopi lalu dibiarkan tumbuh sehingga dapat menghasilkan enzim yang mendegradasi *mucilage* pada biji kopi dan secara tidak langsung akan mengubah komponen dalam biji kopi tersebut. Sehingga suhu fermentasi yang dilakukan merupakan variasi dari suhu pertumbuhan bakteri tersebut.

Bakteri asam laktat ditumbuhkan pada biji kopi akan menyebabkan terbentuknya beberapa senyawa yang memberi aroma dan rasa pada kopi seperti: asam-asam *non-volatil* (laktat, piruvat, oksalat), asam-asam mudah menguap (format, asetat, propionat), senyawa karbonil (asetaldehida, aseton, asetoin) dan senyawa lain seperti asam-asam amino ( Avallone *et al.*, 2002).

[Fermentasi](http://id.wikipedia.org/wiki/Fermentasi) [asam laktat](http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_laktat) terbagi menjadi dua jenis, yaitu homofermentatif (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat) dan heterofermentatif (hasil akhir berupa [asam laktat](http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_laktat), [asam asetat](http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_asetat), [etanol](http://id.wikipedia.org/wiki/Etanol) dan CO2). Secara garis besar, keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan [asam laktat](http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_laktat), yaitu [piruvat](http://id.wikipedia.org/wiki/Piruvat) akan diubah menjadi laktat (atau asam laktat) dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD+. Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim - enzim yang berperan di dalam jalur metabolisme [glikolisis](http://id.wikipedia.org/wiki/Glikolisis). Pada heterofermentatif, tidak ada [aldolase](http://id.wikipedia.org/wiki/Aldolase) dan heksose isomerase tetapi menggunakan enzim fosfoketolase dan menghasilkan CO2. Metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa (golongan karbohidrat yang terdiri dari 6 atom karbon) akan melalui jalur heksosa monofosfat atau pentosa fosfat. Sedangkan homofermentatif melibatkan aldolase dan heksosa aldolase namun tidak memiliki fosfoketolase serta hanya sedikit atau bahkan sama sekali tidak menghasilkan CO2. Jalur metabolisme yang digunakan pada homofermentatif adalah lintasan Embden-Meyerhof-Parnas (Fardiaz, 1992).