FERMENTASI BIJI KOPI ARABIKA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI PROBIOTIK GRAM POSITIF ASAL AYAM KAMPUNG

Gallus domesticus

AIDA AMEYLIAH ANNISA AMRAN H411 16 502



DEPARTEMEN BIOLOGI FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

2020

FERMENTASI BIJI KOPI ARABIKA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI PROBIOTIK GRAM POSITIF ASAL AYAM KAMPUNG

Gallus domesticus

Skripsi ini dibuat untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains pada Departemen Biologi



Oleh:

AIDA AMEYLIAH ANNISA AMRAN

H411 16 502

DEPARTEMEN BIOLOGI FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

2020

LEMBAR PENGESAHAN

FERMENTASI BIJI KOPI ARABIKA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI PROBIOTIK GRAM POSITIF ASAL AYAM KAMPUNG

Gallus domesticus

Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama

Prof. Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA NIP, 19600525 1986012001 Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si. NIP. 19670207 1992031001

Makassar, 24 Agustus 2020

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini merupakan karya orisinil saya dan sepanjang pengetahuan saya tidak memuat bahan yang pernah dipublikasi atau telah ditulis oleh orang lain dalam rangka tugas akhir untuk suatu gelar akademik di Universitas Hasanuddin atau di lembaga pendidikan tinggi lainnya di manapun, kecuali bagian yang telah di kutip sesuai kaida ilmiah yang berlaku. Saya menyatakan bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri dalam batas tertentu dibantu oleh pihak pembimbing.

Penulis

Aida Ameyliah Annisa Amran

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya dengan hidayah dan berkah-Nya yang selalu diberikan kepada hambanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Fermentasi Biji Kopi Arabika Menggunakan Isolat Bakteri Probiotik Gram Positif Asal Ayam Kampung *Gallus domesticus*". Skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sarjana (S1) di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.

Tanpa bantuan, motivasi, dan doa dari berbagai pihak penulis tidak dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya. Terima kasih tidak terhingga kepada orang tua atas pengorbanannya dalam membimbing dan membesarkan penulis, terima kasih kepada orang tua yang tercinta Ayah Ali Amran, dan Ibu Risnawaty dan kakek H. Supardi semoga jerih payahmu dapat penulis teruskan dengan kesuksesan. Terima kasih juga kepada saudara penulis Ainun Qalbi Mutmainnah dan Muhammad Nabil Afif Ali yang tidak henti-hentinya mendukung dan menyemangati penulis, doa terbaik untuk kalian. Terkhusus kepada Almarhumah Nenek penulis yaitu Hj. Mu'min dan Hj. St. Maemunah yang memberikan motivasi, bimbingan dari kecil sehingga penulis dapat tumbuh besar sampai sekarang ini. Penulis yakin beliau telah berada di tempat terbaik di sisi Allah SWT.

Terima kasih sedalam-dalamnya kepada Prof. Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA selaku pembimbing utama atas bimbingan, arahan, waktu, dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini, terima kasih atas segala motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S-1 Biologi dengan baik dan lancar. Terima kasih kepada pembimbing pertama Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si atas segala bantuan yang bapak berikan, baik berupa saram, kritik, waktu, pikiran, maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini hingga selesai.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

- Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A. selaku Rektor Universitas Hasanuddin (Unhas) beserta Seluruh Staf.
- Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
- Ibu Dr. Nur Haedar, M,Si selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin terima kasih atas ilmu, motivasi, serta saran kepada penulis.
- 4. Tim penguji skripsi Bapak Dr. Ir. Slamet Sentosa dan Bapak Dr. Ambeng, M.Si. sekaligus merupakan pembimbing akademik penulis, terima kasih atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis dari penulis memulai studi hingga penyusunan skripsi saat ini.
- Kepada seluruh Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membimbing dan

- memberikan ilmunya dengan tulus dan sabar kepada penulis selama proses perkuliahan. Kepada staf dan Pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis baik dalam menyelesaikan administrasi maupun memberikan dukungan kepada penulis selama ini.
- 6. Kak Fuad Gani, S.Si dan Kak Nenis Sardiani, S.Si yang telah banyak memberi bantuan terhadap penelitian ini, baik ilmu, bimbingan, kritik dan saran yang sangat berharga bagi penulis.
- 7. Teman-teman Biologi Angkatan 2016, terima kasih atas kerja sama dan motivasinya selama ini, semoga kesuksesan menghampiri kita semua.
- 8. Teman-teman penelitian Alma Amalia S, Muhammad Ichsan dan Kak Iqra yang telah menemani, mendukung dan bekerja sama dalam menyelesaikan penelitian ini.
- 9. Teman-teman tim hore di Laboratorium Mikrobiologi yaitu saudara Syafrian Nur Muhammad, Shafira Chairunnisa Erfin Noor, Ifka Widya Sari, Muh. Anshari Nur, Riuh Wardhani, Muh. Syahdan Aska, dan Donny Suherman yang telah setia menemani penulis dan memberikan semangat selama penelitian ini.
- 10. Teman-teman ku dari kandungan Dian Triana, Nadya, Fadhila, Mufti Khaeriah, Friska Elvira dan Puja W, yang telah setia memberikan semangat dan menghibur penulis selama penelitian ini.
- 11. Teman hidup di posko yang sangat amat spesial Hasrul, Rismawati, Nurul, Andi Hardiyanti, Rezky Fadilah, dan Wahyu yang selalu menemani dan memberikan semangat selama penelitian ini.

Pada akhirnya saya berterima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi hingga karya tulis ini terselesaikan. Terima Kasih sebesar-besarnya. Semoga Tuhan memberi rahmat dan melindungi kita semua, Aamiin.

Makassar, Agustus 2020

Penulis

ABSTRAK

Kopi arabika adalah jenis kopi berkualitas tinggi dengan aroma dan citarasa yang kompleks dan merupakan kopi yang paling mahal di pasar dunia. Salah satu teknologi pasca panen untuk memperbaiki cita rasa kopi adalah dengan fermentasi. Fermentasi biji kopi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis asam organik yang terbentuk setelah proses fermentasi kopi Arabika menggunakan isolat bakteri probiotik gram positif dan mengetahui pengaruhnya terhadap cita rasa Kopi Arabika. Penelitian ini dilakukan dengan memfermentasikan biji kopi arabika menggunakan penambahan isolat bakteri probiotik gram positif asal usus ayam kampung. Penelitian ini dilakukan dengan metode GC-MS (Gas Chromatography – Mess Spectrometry) untuk mengetahui total asam organik yang terbentuk pada kopi setelah fermentasi dan melakukan uji organoleptik untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap cita rasa kopi arabika fermentasi dengan parameter aroma, rasa, dan warna. Hasil dari uji total asam organik dengan metode GC-MS (Gass Chromatography - Mess Spectrometry) pada kopi arabika fermentasi diperoleh senyawa asam organik yang terkandung dalam kopi yang telah difermentasi yaitu fenol, furan, asam klorogenat, kafein, pyrazina, asam asetat, vitamin E, vitamin C, dan pyrollo, asam stearat, asam linoleat, β-sitosterol, asam palmitat, dan asam propionat. Hasil dari uji cita rasa menggunakan uji organoleptik fermentasi biji kopi arabika menggunakan isolat bakteri probiotik gram positif berpengaruh terhadap cita rasa, aroma dan warna dari kopi hasil fermentasi.

Kata Kunci : Fermentasi, Kopi Arabika, Probiotik

ABSTRACT

Arabica coffee is a type of high-quality coffee with a great aroma and flavor complex and is the most expensive coffee on the world market. One of the postharvest technology to improve the taste of coffee is to fermentation. Coffee bean fermentation can be done using bacteria probiotics isolated from the digestive tract of animals. The purpose of this research to determine the type of organic acid formed after the fermentation process Arabica coffee uses gram-positive probiotic bacteria isolates and knows its influence on the taste of Arabica coffee. This research was conducted with ferment arabica coffee beans using the addition of bacterial isolates gram-positive probiotics from native chicken intestines. This research was conducted with the GC-MS (Gas Chromatography - Mess Spectrometry) method to find out total organic acids formed in coffee after fermentation and testing organoleptic to determine the level of preference for the panelists to the taste of coffee fermented arabica with parameters of aroma, taste, and color. The results of the total test organic acids by the GC-MS method (Gass Chromatography - Mess Spectrometry) in fermented arabica coffee obtained organic acid compounds contained in fermented coffee, namely phenols, furans, acids chlorogenic, caffeine, pyrazine, acetic acid, vitamin E, vitamin C, and pyrollo, stearic acid, linoleic acid, β-sitosterol, palmitic acid, and propionic acid. Result of taste test using organoleptic test fermentation of arabica coffee beans using probiotic bacteria isolates gram-positive effect on taste, aroma, and color of fermented coffee.

Keywords: Fermentation, Arabica Coffee, Probiotics.

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	X
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Kopi	5
2.2 Kopi Arabika	9
2.3 Kualitas dan Mutu Kopi	11
2.4 Bakteri Probiotik	13
2.4.1 Jenis-jenis Bakteri Probiotik	14
2.4.2 Mekanisme Kerja Bakteri Probiotik	15
2.4.3 Manfaat Bakteri Probiotik	17
2.5 Fermentasi Biji Kopi	18
2.6 Metabolisme Bakteri Asam Laktat	20

BAB III METODE PENELITIAN 3.1 Alat 22 3.2 Bahan 22 3.3 Prosedur Penelitian..... 22 3.3.1 Sterilisasi Alat 22 3.2.2 Pembuatan Media 23 3.3.3 Karakterisasi Mikroba..... 24 3.3.4 Pembuatan Starter.... 25 3.3.5 Preparasi Biji Kopi 26 3.3.6 Fermentasi Biji Kopi..... 26 3.3.7 Uji Total Asam Organik..... 26 3.3.8 Uji Cita Rasa 27 3.3.9 Analisis Data 27 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 4.1 Karakterisasi Isolat Bakteri Probiotik 28 4.1.1 Pengecatan Gram..... 28 4.1.2 Uji TSIA..... 29 4.1.3 Uji Katalase 30 4.2 Fermentasi Kopi 31 4.3 Total Asam Organik 34 4.4 Cita Rasa Biji Kopi..... 38 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 5.1 Kesimpulan 44 5.2 Saran..... 45 DAFTAR PUSTAKA..... 46 LAMPIRAN 52

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Kimia yang terdapat pada biji Kopi Robusta dan Arabika	8
Tabel 2. Komposisi Biji Kopi	12
Tabel 3. Jenis Bakteri Probiotik	15
Tabel 4. Hasil Uji GC-MS	34
Tabel 5. Rasa Seduhan Kopi Arabika Bubuk	38
Tabel 6. Aroma Seduhan Kopi Arabika Bubuk	40
Tabel 7. Warna Seduhan Kopi Arabika Bubuk	41
Tabel 8. Penerimaan Keseluruhan Kopi Arabika Bubuk	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Pengecatan Gram Isolat R1	29
Gambar 2. Hasil Uji TSIA Isolat Bakteri R1	30
Gambar 3. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri R1	31
Gambar 4. Hasil Fermentasi Kopi	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian	53
Lampiran 2. Skema Pengecatan Gram	54
Lampiran 3. Skema Uji TSIA	55
Lampiran 4. Skema Uji Katalase	56
Lampiran 5. Skema Fermentasi Kopi	57
Lampiran 6. Skema Uji GC-MS	58
Lampiran 7. Skema Uji Organoleptik	59
Lampiran 8. Penanganan Pasca Panen Kopi	60
Lampiran 9. Kultur Bakteri pada Media Kulit Kopi	61
Lampiran 10. Proses Fermentasi Kopi	62
Lampiran 11. Penanganan Setelah Fermentasi Kopi	63
Lampiran 12. Proses Maserasi	66
Lampiran 13. Hasil Uji GC-MS	67
Lampiran 14. Uji Organoleptik	71
Lampiran 15 Analisis Data Hii Cita Rasa	72

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditi hasil perkebunan yang memiliki peranan penting dalam kegiatan perekonomian di Indonesia. Kopi juga salah satu komoditas ekspor Indonesia yang cukup penting sebagai penghasil devisa negara. Selain peluang ekspor yang semakin terbuka, pasar kopi di dalam negeri masih cukup besar (BPS, 2017). Sejak dahulu masyarakat Indonesia sudah tidak asing lagi dengan tanaman kopi. Kopi bisa mencakup semua kalangan mulai dari kalangan bawah hingga kalangan atas, dan yang paling populer adalah aneka minuman kopi dengan cita rasanya yang khas (Novita, *et, al.*, 2010).

Aroma dan cita rasa yang khas dari kopi membuatnya menjadi salah satu jenis minuman yang banyak digemari disemua kalangan (Simanjuntak, 2011). Beragam cita rasa kopi terus diciptakan, untuk memenuhi selera penikmat kopi (Jennings dan Veron, 2011). Untuk meningkatkan mutu kopi khususnya aroma dan citarasa, maka salah satu proses yang perlu diperhatikan adalah pada proses pasca panen. Salah satu teknologi pasca panen untuk memperbaiki cita rasa kopi adalah dengan fermentasi (Tawali, *et*, *al.*, 2018).

Proses fermentasi merupakan salah satu tahapan pada pengolahan biji kopi. Proses tersebut bertujuan untuk mendegradasi lapisan lendir (mucilage) yang menempel pada kulit kopi sehingga mudah dibersihkan saat dicuci (Balya, *et al.*, 2013). Selain itu pada proses fermentasi juga terjadi peristiwa kimiawi yang

sangat berguna dalam pembentukan senyawa prekursor citarasa, seperti asam organik, asam amino, dan gula reduksi (Lin, 2010). Oleh karena itu, proses fermentasi merupakan tahapan yang penting dalam pengolahan kopi secara basah, mengingat pengaruhnya yang positif bagi peningkatan citarasa (Correa *et al.*, 2014).

Pengolahan biji kopi dengan metode fermentasi telah banyak dikembangkan oleh para peneliti dengan memanfaatkan bakteri probiotik. Menurut FAO (*Food and Agriculture Organization*), bakteri probiotik adalah salah satu mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inangnya (baik untuk hewan maupun manusia) (Fijan, 2014). Bakteri probiotik merupakan kultur tunggal maupun campuran dari mikroba yang hidup dalam saluran pencernaan dan berperan dalam membantu proses pencernaan makanan pada hewan maupun manusia (Guarner *et al.*, 2008).

Penggunaan bakteri probiotik pada fermentasi biji kopi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan hewan seperti luwak. Bakteri probiotik genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dapat ditemukan dengan konsentrasi cukup tinggi di sepanjang organ *intestium tenue* dan *caecum* hewan luwak (Guntoro, 2010), bakteri tersebut dipercaya dapat menghasilkan kopi yang terfermentasi dengan citarasa dan aroma yang khas (Marcone, 2004; Dewi, 2012).

Wilujeng dan Prima (2013), melaporkan pengaruh lama fermentasi kopi arabika menggunaan bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* B1765 dapat meningkatkan kualitas citarasa dan aroma pada kopi. Seiring dengan lamanya

fermentasi, maka semakin banyak glukosa bereaksi dengan asam amino membentuk melanoidin yang menjadi komponen utama dalam proses pencoklatan yang terjadi saat penyangraian dan berpengaruh terhadap cita rasa kopi yang dihasilkan, sehingga semakin lama fermentasi maka semakin nikmat rasa kopi yang dihasilkan.

Tawali *et al.*, (2018), dalam penelitiannya melaporkan pengaruh lama fermentasi kopi Robusta menggunakan bakteri asam laktat yoghurt dapat meningkatkan citarasa, aroma, dan warna pada biji kopi. Selain itu juga dapat menurunkan kadar kafein pada kopi seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Penggunaan bakteri asam laktat yang diisolasi dari feses luwak juga dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar kafein seiring dengan lamanya waktu fermentasi (Usman *et al.*,2015). Farida *et*, *al.*, (2013) menyatakan bahwa semakin lama proses fermentasi maka kadar kafein dalam biji kopi akan semakin menurun. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease cukup tinggi. Macrone (2004), menjelaskan bahwa penguraian protein menyebabkan berkurangnya kadar kafein pada kopi serta akan meningkatkan asam amino bebas.

Pereira *et al.*, (2016) berdasarkan tes sensori yang dilakukan oleh *Association of America Cupping Protocol*, memperlihatkan bahwa kopi yang diperoleh dari proses fermentasi Bakteri Asam Laktat menghasilkan rasa kopi yang kompleks dibandingkan dengan kopi yang diperoleh dari proses konvensional. Rasa kompleks yang dimaksud merupakan gabungan dari rasa

karamel, laktat, sitrat dan lain-lain yang dirasakan pada kopi hasil fermentasi Bakteri Asam Laktat.

Beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa penggunaan isolat bakteri probiotik dalam fermentasi kopi dapat memberikan peningkatan dalam kualitas kopi serta rasa dan aroma yang kompleks. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh fermentasi bakteri probiotik gram positif yang telah diisolasi dari usus ayam kampung terhadap kualitas, citarasa dan aroma kopi Arabika.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- Mengetahui jenis asam organik yang terbentuk setelah fermentasi kopi Arabika menggunakan isolat bakteri probiotik gram positif.
- 2. Mengetahui pengaruh proses fermentasi terhadap cita rasa Kopi Arabika.

1.3 Manfaat Peneltian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat menjadi sumber informasi ilmiah bagi masyarakat mengenai pengaruh proses fermentasi pada biji Kopi Arabika menggunakan isolat tunggal bakteri probiotik terhadap kualitas dan cita rasa kopi.

1.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 sampai selesai di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kopi

Kopi adalah salah satu produk pertanian paling penting di dunia, yang diproduksi di berbagai Negara. Di dunia internasional, salah satu negara yang pengekspor yang posisinya paling strategis adalah Indonesia. Indonesia merupakan negara pengekspor kopi terbesar keempat setelah Brazil, Vietnam dan Colombia (Rachmawati, 2015). Di Indonesia, kopi mulai dikenal pada tahun 1696, yang dibawa oleh VOC. Tanaman kopi mulai diproduksi di Pulau Jawa dan hanya bersifat coba-coba, tetapi karena hasilnya memuaskan dan oleh VOC dipandang cukup menguntungkan sebagai komoditi perdagangan maka VOC melakukan penyebaran tanaman kopi ke berbagai daerah agar semua penduduk menanamnya (Rahardjo, 2012).

Kopi adalah tanaman yang menjadi salah satu komoditas perkebunan yang diunggulkan sebagai penghasil devisa bagi Negara Indonesia (Sulistyaningtyas, 2017). Sejak dahulu masyarakat Indonesia sudah tidak asing lagi dengan tanaman kopi. Kopi bisa mencakup semua kalangan dari kalangan bawah hingga kalangan atas dan yang paling populer adalah aneka minuman kopi dengan cita rasanya yang khas. Kopi telah memberikan manfaat tersendiri bagi kelangsungan hidup masyarakat Indonesia. Selain karena memiliki fungsi ekonomi, kopi juga memiliki fungsi sosial (Novita, *et al.*, 2010).

Kopi adalah tanaman tropis yang tumbuh antara garis lintang 25°LU dan 25°LS tetapi membutuhkan kondisi lingkungan yang sangat spesifik untuk budidaya komersial. Suhu, curah hujan, sinar matahari, angin, dan tanah semuanya penting, tetapi persyaratan bervariasi sesuai dengan varietas ditanam. Kopi tergolong famili Rubiaceae, yang memiliki sekitar 500 genus dan lebih dari 6.000 spesies. Semuanya berasal dari tropis Afrika dan pulau-pulau tertentu di Samudera Hindia, terutama Madagaskar. Semua jenis tanaman kopi berkayu, berkisar dari semak kecil sampai pohon-pohon besar setinggi lebih dari 10 m; daunnya bisa kekuningan, atau hijau tua, kadang berwarna ungu (Hicks, 2000).

Pada umumnya tanaman kopi berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bila bunga sudah dewasa, terjadi penyerbukan dengan pembukaan kelopak dan mahkota yang akan berkembang menjadi buah. Kulit buah yang berwarna hijau akan menguning dan menjadi merah tua seiring dengan pertumbuhannya. Waktu yang diperlukan dari bunga menjadi buah matang sekitar 6-11 bulan tergantung spesies dan lingkungannya. Tanaman kopi dapat memberi hasil yang tinggi mulai umur 8 tahun dan dapat berbuah baik selama 15 -18 tahun. Pemeliharaan tanaman kopi yang baik akan menghasilkan sampai umur sekitar 30 tahun (Horta, *et al.*, 2018).

Senyawa utama yang dikandung oleh biji kopi adalah kafein yang merupakan senyawa alkaloid yang termasuk jenis metilxanthine (1,3,7-trimethylxantine) (Oestreich-Janzen, 2010; Farida *et al.*, 2013). Kafein dan asam klorogenat pada kopi sangat penting untuk pembentukan rasa serta untuk efek

kesehatan yang dapat diperoleh dari produk kopi hijau dan ekstraknya (Jeszka-Skowron *et al.* 2016).

Biji tanaman kopi mengandung polisakarida dengan jumlah sekitar 50% yang tersusun membentuk dinding sel. Polisakarida berfungsi terhadap karakteristik organoleptik pada minuman kopi seperti viskositas (*creaminess*), rasa dalam mulut (*mouth-feel*), komponen aroma, dan stabilitas busa. Tiga polisakarida utama dalam kopi yaitu arabinogalactan, mannan, dan cellulose (Fischer *et al.* 2012).

Klasifikasi tanaman kopi (*Coffea sp.*) menurut Tjitrosoepomo, 2014 adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub Kelas : Asteridae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : Coffea

Spesies : Coffea sp

Sumber : Tjitrosoepomo, 2014

Ada empat jenis varietas kopi yang dikenal, yaitu kopi arabika, kopi robusta, kopi liberika, dan kopi excelsa. Varietas kopi yang dikenal memiliki nilai ekonomis dan diperdagangkan secara komersial yaitu kopi Arabica *Coffea Arabica* dan kopi

robusta *Coffea canephora*. Sementara itu varietas kopi liberica *Coffea liberica* dan kopi excelsa *Coffea excels* kurang ekonomis dan kurang diminati. Kopi arabika dan kopi robusta memasok sebagian besar perdagangan kopi di dunia. Masing-masing varietas kopi ini memiliki keunikannya masing-masing dan pasarnya sendiri (Rachmawati, 2015). Dua jenis kopi yang paling terkenal dan banyak diminati, yaitu kopi robusta dan arabika memiliki perbedaan kandungan yang mempengaruhi perbedaan cita rasa dari kedua kopi tersebut (Farah, 2012), dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Kimia yang Terdapat pada biji Kopi Robusta dan Arabika

	Konsentrasi (g/100g)		Konsentrasi (g/100g)	
Vampanan	Green	Roasted	Green	Roasted
Komponen	Coffea	Coffea	Coffea	Coffea
	Arabica	Arabica	Robusta	Robusta
Sukrosa	6.0-9.0	4.2-tr	0.9-4.0	1.6-tr
Gula Pereduksi	0.1	0.3	0.4	0.3
Polisakarida	34-44	31-33	48-55	37
Lignin	3.0	3.0	3.0	3.0
Pectin	2.0	2.0	2.0	2.0
Protein	10.0-11.0	7.5-10	10.0-11.0	7.5-1.0
Asam Amino Bebas	0.5	Tidak	0.8-1.0	Tidak
Tisum Timmo Beeus	0.0	terdeteksi	0.0 1.0	Terdeteksi
Kafein	0.9-1.3	1.1-1.3	1.5-2.5	2.4-2.5
Trigonelline	0.6-2.0	1.2-0.2	0.6-0.7	0.7-0.3
Asam Nikotinik	-	0.016-0.026	-	0.014-0.025

Minyak Kopi (Trigleserida, Sterol/tocopherol)	15-17.0	17.0	7.0-10.0	11.0
Diterpen	0.5-1.2	0.9	0.2-0.8	0.2
Mineral	3.0-4.2	4.5	4.4-4.5	47
Asam Klorogenat	4.1-7.9	1.9-2.5	6.1-11.3	3.3-3.8
Asam Alifatik	1.0	1.6	1.0	1.6
Asam Quinic	0.4	0.8	0.4	1.0
Melanoidins	-	25	-	25

2.2 Kopi Arabika

Kopi arabika dianggap sebagai kopi berkualitas tinggi, karena aroma dan cita rasanya yang kompleks dan merupakan kopi yang paling mahal di pasar dunia. Variabilitas biji kopi ini dikaitkan dengan variasi dalam tanah, ketinggian dan iklim daerah penanaman kopi. Faktor-faktor ini diyakini mempengaruhi karakteristik kopi (kandungan kimia, rasa atau aroma) (Gebeyehu and Solomon, 2015). Biji kopi jenis ini berukuran cukup kecil, berwarna hijau hingga merah gelap dan memiliki cita rasa yang baik (Rahardjo, 2012).

Kesuburan tanaman kopi sangat ditentukan oleh lingkungannya. Suhu rata-rata ideal untuk tanaman kopi berkisar antara 15 - 24°C untuk arabika dan 24 - 30°C untuk robusta pada ketinggian sekitar 2.000 m. Secara umum, kopi membutuhkan curah hujan tahunan 1.500 hingga 3.000 mm. Untuk kopi arabika membutuhkan lebih kurang dari spesies lain. Pola musim hujan dan kemarau

penting untuk pertumbuhan, dan pembungaan. Kopi robusta dapat tumbuh sekitar 800 m diatas permukaan laut, sementara kopi arabika paling baik di ketinggian lebih dari 2.000 m. Semua kopi membutuhkan drainase yang baik, tetapi dapat tumbuh di tanah dengan kedalaman, pH, dan kandungan mineral yang berbeda (Hikes, 2000).

Klasifikasi Kopi Arabika menurut Intergrated Taxonomic Information Spesies (ITIS Spesies, 2000) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub Kelas : Asteridae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : Coffea

Spesies : Coffea arabica L.

Kopi Arabika memiliki cita rasa yang sangat baik. Sementara jenis kopi robusta memiliki cita rasa yang lebih pahit, sedikit asam dan lebih banyak mengandung kafein yang dibandingkan dengan kopi jenis arabika (Rahardjo, 2012). Kebanyakan kopi yang dipanggang dan ditumbuk secara komersial sebenarnya merupakan campuran dari kedua spesies. Biji dari kedua spesies dapat dibedakan berdasarkan warna, bentuk, dan ukuran. Namun, setelah dipanggang dan ditanam, metode analitik diperlukan untuk membedakan spesies kopi, karena

kopi robusta memiliki nilai komersial dan kualitas sensor yang lebih rendah (Dias dan Marta, 2015).

Berbagai jenis data komposisi dievaluasi dengan menggunakan beberapa teknik analitik telah diterapkan untuk mengkarakterisasi sampel atau mencapai perbedaan di antara spesies kopi. Namun, sebagian besar penelitian berfokus terutama pada biji hijau atau kopi yang dipanggang hanya pada satu derajat. Beberapa analisis telah diusulkan sebagai indikator untuk diferensiasi antara spesies kopi, seperti asam amino, logam, sukrosa, dan senyawa dari fraksi lipid, seperti cafestol, kahweol dan terutama 16-O-methylcafestol (Dias dan Marta, 2015).

2.3 Kualitas dan Mutu Kopi

Berdasarkan standar ISO dalam Leroy et al. (2006), mutu adalah kemampuan untuk menggambarkan karakteristik yang melekat dari suatu produk, sistem atau proses untuk memenuhi keinginan dari konsumen ataupun sekumpulan orang yang terkait dengan produk, sistem atau proses tersebut. Mutu kopi menurut Heuman (1994), umumnya ditentukan oleh konsumen sebagaimana produk pangan atau minuman lainnya. Adapun karakteristik yang melekat pada kopi disebut sebagai atribut.

Standar mutu sangat diperlukan sebagai petunjuk dalam pengawasan mutu dan merupakan perangkat pemasaran dalam menghadapi klaim atau ketidakpuasan dari konsumen dan untuk memberikan saran-saran ke bagian produksi dan bagian kebun. Standarisasi meliputi definisi, klasifikasi, syarat mutu,

cara pengambilan contoh, cara uji, syarat penandaan, cara pengemasan. Standar Nasional Indonesia Biji kopi menurut SNI No.01-2907-2008 seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Biji Kopi

No	Komponen	Jumlah (%)
1	Polisakarida	50-55
2	Oligosakarida	6-8
3	Lemak	12-18
4	Protein	11-13
5	Mineral	3-4
6	Kafein	0.9-1.2
7	Asam klorida	5-8
8	Abu	2-4

Kualitas kopi ditentukan terutama oleh rasa dan aroma yang terbentuk selama memanggang biji. Sekitar 300 senyawa kimia yang terkandung dalam biji hijau kopi tergantung pada kombinasi faktor genetik, lingkungan dan teknologi. Faktor lain, seperti prosedur pasca panen juga dapat mengganggu kualitas kopi, terutama pada saat proses panen dan pengeringan (Taveira, *et al*, 2015). Kriteria mutu biji yang meliputi aspek fisik, cita rasa, kebersihan, aspek keseragaman dan konsistensi sangat ditentukan oleh perlakuan pada setiap tahapan proses produksinya, sehingga tahapan proses dan spesifikasi peralatan pengolahan kopi yang menjamin mutu harus didefenisikan secara jelas. Perubahan mutu yang terjadi pada setiap tahapan proses juga perlu dimonitor secara rutin sehingga pada saat terjadi penyimpangan dapat dikoreksi secara cepat dan tepat. Langkah akhir

dari upaya perbaikan mutu yaitu mendapatkan hasil yang optimal jika disertai dengan mekanisme tataniaga kopi rakyat yang berorientasi pada mutu (Asni dan Aras, 2015).

2.4 Bakteri Probiotik

Sudah lebih dari tujuh belas tahun sejak definisi ilmiah probiotik dibuat, bersama dengan pedoman yang memastikan penggunaan istilah yang tepat. Definisi ini sekarang digunakan secara global, namun secara konsisten para ilmuwan, media dan industri salah mengartikan probiotik tentang kegunaan dan keterbatasannya. Tingkat penemuan organisme baru dengan manfaat untuk kesehatan manusia dan kesehatan lingkungan mengalami kemajuan pada tingkat yang belum pernah terjadi sebelumnya. Namun, istilah 'probiotik' adalah mengaplikasikan mikroba yang dapat memberikan efek baik pada organisme lain atau pun inangnya. Gneralisasi ke seluruh bidang probiotik berdasarkan studi satu produk, akan membantu memajukan pengembangan mikroba, dan aplikasi untuk meningkatkan kesehatan manusia (Reid dan Raja, 2018).

Probiotik merupakan mikroorganisme yang menguntungkan. Probiotik adalah bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mampu memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada manusia dan hewan. Probiotik juga dipercaya dapat mencegah konstipasi, meningkatkan metabolisme mineral terutama kalsium, mengurangi bakteri Helycobacter pylori yang menyebabkan infeksi lambung berkepanjangan (Kabir *et al.*, 1997).

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang apabila diberikan pada host, baik manusia maupun hewan, dalam jumlah cukup akan memberikan manfaat

kesehatan (FAO/WHO 2002). Probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 105 cfu/mL atau gram akan menunjukkan efek fungsional probiotik. Manfaat kesehatan probiotik pada host antara lain: menormalisasi mikrobiota saluran pencernaan, meningkatkan respon sel imun, dan memberikan efek metabolik. Komposisi mikro-biota saluran ternormalisasi yang dapat meningkatkan kolonisasi terhadap mikroba patogen. Respon sel imun dapat meningkat dengan meningkatkan sel saluran pencernaan untuk membentuk sitokin, makrofag dan antibodi (IgA). Efek metabolik probiotik pada saluran pencernaan antara lain menurunkan kadar mutagen atau karsinogen, menurunkan kadar kolesterol darah, dan memperbaiki toleransi terhadap laktosa (Fuller, 1991).

2.4.1 Jenis-jenis Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia saluran pencernaan. Bakteri asam laktat (BAL) adalah kandidat bakteri probiotik dan dapat digunakan dalam industri makanan (FAO, 2002). BAL adalah kelompok bakteri gram positif mikroaerofilik atau anaerob yang tidak dapat membentuk spora atau menghasilkan katalase dan ditandai dengan tidak adanya sistem sitokrom serta kemampuan untuk menghasilkan antimikroba untuk biopreservasi (Almeida, et al., 2015). BAL adalah jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat sebagai hasil produk akhir dari fermentasi karbohidrat (Felis and Dellagio, 2007; Kechagia et al., 2013). Makanan tertentu, termasuk produk susu, misalnya, yogurt, dianggap sebagai sumber probiotik yang baik. Sebagian besar mikroba yang tergolong bakteri asam laktat dan banyak digunakan dalam susu mentah dan produk susu fermentasi termasuk genera Lactobacillus,

Enterococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Oenococcus, Carnobacterium, dan Streptococcus (Federici, et al, 2014). Berikut Tabel jenis bakteri Probiotik:

Tabel 3. Jenis Bakteri Probiotik

Lactobacillus	Bifidobacterium
L. acidophilus	B. adolescentis
L. casei	B. animalis
L. crispatus	B. bifidium
L. gallinarum	B.breve
L. gasseri	B. infatis
L. johnsonii	B. lactis
L. paracasei	B. longum
L. plantarum	
L. ruteri	
L. rhamnosus	
Bakteri Asam Laktat yang lain	Non-Bakteri Asam Laktat
Enterococcus faecalis	Bacillus cereus var. toyoi
E. faecium	Escherichia coli strain nissle
Leuconostoc mesenteroides	Propionibacterium
Pedicoccus acidilactici	freudenrichii
Sporalactobacillus inulinus	Saccharomyces cerevisiae
Streptococcus thermophilus	S. boulardii

2.4.2 Mekanisme Kerja Bakteri Probiotik

Beberapa syarat utama mikroba yang dapat difungsikan sebagai mikroba probiotik antara lain tahan terhadap pH rendah, mampu tumbuh pada garam empedu, mampu berkoloni, dan memiliki aktivitas antimikroba (Sunaryanto *et al.*,

2014). Usus ayam mengandung beberapa mikroba, baik yang dapat memberi efek positif maupun yang merugikan (patogen).

Keseimbangan komposisi kedua jenis mikroba tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor. Apabila perkembangan bakteri yang merugikan meningkat, maka dapat memberikan dampak negatif terhadap performans ayam. Menurut Febriyossa et al. (2013) secara alami bakteri saluran pencernaan ayam terdiri dari bakteri proteolitik (52×107 cfu/g), fermentatif (57×107 cfu/g), amilolitik (118×107 cfu/g), dan selulolitik (63×107 cfu/g). Aplikasi probiotik pada ayam diterapkan dengan tujuan antara lain menggantikan antibiotik.

Probiotik bekerja dengan cara meningkatkan jumlah bakteri di dalam usus, namun hanya bakteri yang bermanfaat. Bakteri yang bermanfaat tersebut dapat mengubah suasana saluran usus terutama potensial hidrogen (pH) menjadi asam sehingga menaikkan kekebalan saluran cerna. Probiotik bekerja dengan cara menghasilkan bakteriosin dan asam organik rantai pendek (laktat, asetat, propionat). Zat-zat tersebut dapat menghambat proses pertumbuhan mikroba yang merugikan sehingga mikroba yang menguntungkan dan bermanfaat bisa bersaing untuk mendapatkan tempat di epitel usus. Probiotik dan mikroba baik endogen tersebut dengan kemampuan adhesinya pada mukosa usus dapat menjadi penghalang terhadap patogen sehingga meningkatkan imunitas dan meningkatkan penyerapan nutrien (Alloui et al., 2013; Dankowiakowska et al., 2013; Kvan et al., 2017).

2.4.3 Manfaat Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik merupakan bakteri yang dapat digunakan pada produk pangan (makanan/minuman) dimana produk tersebut mengandung sejumlah bakteri hidup yang memberi efek yang menguntungkan kesehatan. Pangan probiotik yang telah lama dikenal antara lain produk susu fermentasi oleh bakteri asam laktat (*Lactobacilli* dan *Bifidobacterium*) seperti yogurt, yakult, susu asidofilus, dan lain-lain. Selain mempunyai nilai nutrisi yang baik, produk tersebut dianggap memberi manfaat kesehatan dan terapeutik. Manfaat ini diperoleh akibat terbawanya bakteri-bakteri hidup ke dalam saluran pencernaan yang mampu memperbaiki komposisi mikroflora usus sehingga mengarah pada dominansi bakteri-bakteri yang menguntungkan kesehatan (Yuniastuti, 2014).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan pathogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi 3 asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobial lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme host, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Menurut Yuniastuti (2014), konsumsi probiotik memberikan efek bagi kesehatan melalui berbagai mekanisme, antara lain:

1. Peran probiotik terhadap sistem imun adalah melalui stimulasi sistem imun pencernaan, memodulasi respon imun dan mereduksi produksi sitokin.

- 2. Probiotik berpotensi menekan insiden kanker kolon. Bakteri hidup yang terdapat dalam probiotik dapat mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus. Berdasarkan mekanisme antikarsinogeniknya, bakteri probiotik memperlihatkan kemampuannya dalam menekan perkembangan sel tumor dan meningkatkan sistem imun di saluran pencernaan, menekan aktivitas enzim prokarsinogenik di fekal, serta mengeliminir senyawa-senyawa prokarsinogen/mutagen.
- 3. Probiotik berpotensi mencegah alergi dengan membangkitkan respons imun.
- 4. Probiotik berperan dalam menurunkan kolesterol melalui mekanisme dekonjugasi garam empedu, yaitu melalui pembentukan asam litokolat yang sangat tidak larut air dan diekskresikan lewat feses. Dan asimilasi kolesterol melalui kopresipitasi kolesterol dengan asam empedu bebas conjugated bile salt yang dihasilkan oleh aktivitas bile salt hydrolase.

2.5 Fermentasi Biji Kopi

Proses fermentasi merupakan salah satu tahapan pada pengolahan biji kopi secara basah. Proses tersebut tidak sekedar degradasi lapisan lendir yang tersisa di permukaan kulit tanduk, tetapi juga terjadi peristiwa kimiawi yang sangat berguna dalam pembentukan karakter citarasa, yaitu pembentukan senyawa prekursor citarasa, seperti asam organik, asam amino, dan gula reduksi (Redgwell & Fischer, 2006).

Fermentasi adalah salah satu proses terpenting pada pengolahan biji kopi karena sangat menentukan kualitas akhir biji kopi terutama citarasanya. Tujuan utama fermentasi adalah menghilangkan lapisan lendir (*mucilage*) yang melekat

pada kulit tanduk biji kopi. Lapisan lendir tersebut terdiri dari air 84,2%, gula 4,1%, protein 8,9%, asam pekat 0,91% dan abu 0,7% (Yusianto dkk, 2014), utamanya 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, *et al.*, 2014).

Biji kopi akan mengalami proses fermentasi, terjadi pertumbuhan mikroba, Mengaktifkan enzim-enzim, kemudian terjadi reaksi pencoklatan enzimatis sehingga berwarna lebih coklat dan memperbaiki profil citarasanya. Proses fermentasi ini ditandai dengan adanya peningkatan suhu biji kopi dalam karung (fermentasi kering) atau timbul gelembung-gelembung udara walaupun suhunya tidak meningkat (fermentasi basah/ semi basah) (Yusianto dkk, 2014).

Fermentasi biji kopi juga berpengaruh terhadap pembentukan citarasa biji kopi terutama untuk mengurangi rasa pahit dan mendorong terbentuknya kesan mild pada citarasa seduhannya. Mikroba yang berperan selama fermentasi juga mampu menghasilkan metabolit yang membentuk citarasa asam dan alkoholis pada seduhan kopi. Citarasa yang terbentuk selama fermentasi diantaranya adalah aroma, aftertaste, acidity, body, uniformity, balance, clean cup, sweetness dan lain sebagainya. Sebaliknya fermentasi yang berlebihan dapat menyebabkan cacat citarasa dalam biji kopi seperti fermented taste, sour dan stinkers. Selama fermentasi biji kopi berlangsung terdapat aktivitas mikroorganisme seperti BAL dan khamir yang merombak lapisan lendir menjadi senyawa asam-asam organik sehingga pH lapisan lendir menjadi lebih asam dari pH sebesar 6,5 menjadi pH

4,1-4,3 (Yusianto dkk, 2012). Asam-asam organik tersebut berperan dalam citarasa asam pada seduhan kopi selain juga bersifat *biopreservatif agent*. Asam-asam lain yang dihasilkan dari proses fermentasi ini adalah etanol, asam butirat dan propionat (Oktadina *et al.*, 2013).

2.6 Metabolisme Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Sifat yang terpenting dari bakteri asam laktat ialah memiliki kemampuan untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat. (Widyastuti, 1999). Terdapat 2 jalur fermentasi gula yang dapat dilakukan oleh BAL yaitu Glikolisis (Jalur Embden-Meyerhof) menghasilkan asam laktat dan berada pada kondisi standar dan metabolisme ini dikenal sebagai fermentasi homolaktat. Jalur 6-Phosphogluconate/Phosphoketolase menghasilkan sejumlah hasil akhir yanag signifikan, seperti etanol, asam cuka, dan CO₂ dikenal sebagai fermentasi heterolaktat. Kondisi pertumbuhan yang bervariasi memungkinkan terjadinya perubahan pada formasi produk BAL. Perubahan ini dapat dihubungkan untuk perubahan metabolisme piruvate atau menggunakan akseptor elektron terluar seperti oksigen atau senyawa organic (Herlina, 2014).

Berdasarkan jalur metabolisme, bakteri asam laktat dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri homofermentatif memecah gula menjadi asam laktat, sedangkan bakteri heterofermentatif mengubah gula menjadi asam laktat, asam asetat, dan etanol (Prescott *et al.*, 2002):

- Homofermentatif: Bakteri dalam kelompok ini akan mengubah heksosa menjadi asam laktat dalam jalur Embden-Meyerhof (EM), dan tidak dapat memfermentasikan pentosa atau glukonat.
- Heterofermentatif: Heksosa difermentasikan menjadi asam laktat, karbon dioksida, dan etanol (atau asam asetat sebagai akseptor elektron alternatif).
 Pentosa lalu diubah menjadi laktat dan asam asetat.

Pada kopi, bakteri asam laktat memanfaatkan gula yang pada daging buah kopi, termasuk pentosa (xylosa, ribosa, dan arabinosa), heksosa (glukosa, fruktosa, galaktosa, dan manosa), serta polisakarida (pektin dan selulosa), sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhannya. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk memanfaatkan asam sitrat yang ada pada daging buah kopi. Metabolisme asam sitrat oleh BAL terjadi dalam tiga proses: (1) transport sitrat, (2) konversi sitrat menjadi oksaloasetat, (3) konversi oksaloasetat menjadi asam piruvat dan CO₂. Proses ini menghasilkan 4-karbon, senyawa aktif, termasuk diasetil, asetoin, dan 2,3-butanadiol. *Leuconostoc* dan *Lactococcus* ditemukan pada fermentasi kopi dan diketahui memiliki kemampuan untuk melakukan metabolisme asam sitrat (Pereira *et. al.*, 2019).