

Pengaruh waktu fermentasi menggunakan ekstrak daun pepaya gantung terhadap kadar kafein kopi liberika

Effect of Fermentation Time Using Papaya Leaf Extract on Caffeine Content of Liberica Coffee

Ahmad Soim Bahrul Ghufro, Fahimatul Ulya*

Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan

*Corresponding author: fahim.ulya@gmail.com

ABSTRACT

This research aimed to analyze the effect of fermentation time using hanging papaya leaf extract (*Carica papaya* var. *pendens*) as a source of papain enzyme on caffeine content and organoleptic properties of Liberica coffee (*Coffea liberica*). Papaya leaf extract with 80% concentration was applied to Liberica coffee beans with fermentation time variations of 24, 36, and 48 hours. Caffeine content analysis was performed using UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 273 nm. The results showed that fermentation duration significantly affected caffeine reduction. At 24 hours fermentation, the caffeine content of the treated sample (1.374 ppm) was relatively similar to control (1.357 ppm). The 36-hour fermentation showed a decrease in caffeine in the treated sample to 1.225 ppm compared to control (1.281 ppm), while the most significant reduction occurred at 48 hours fermentation with caffeine content of 1.145 ppm in the treated sample compared to 1.530 ppm in control (25.16% reduction). The mechanism of caffeine reduction involves the proteolytic activity of papain enzyme which hydrolyzes the protein-caffeine complex and modifies the permeability of coffee bean cell membranes. This research provides a foundation for the development of an enzyme-based natural decaffeination method for Liberica coffee, although further optimization is needed to meet commercial decaffeinated product standards.

Keywords: Decaffeination, fermentation, hanging papaya leaf, liberica coffee, papain enzyme

PENDAHULUAN

Kopi Liberika (*Coffea liberica*) merupakan salah satu spesies kopi yang semakin mendapat perhatian di pasar global karena karakteristik sensoriknya yang unik. Spesies ini dibudidayakan secara optimal pada suhu berkisar antara 18 hingga 28°C, khususnya di beberapa wilayah Indonesia (Maxiselly, 2023). Meskipun memiliki profil rasa yang khas, kandungan kafein yang relatif tinggi pada kopi Liberika dibandingkan dengan spesies kopi Arabika dan Robusta menjadi pertimbangan bagi konsumen yang sensitif terhadap kafein (Kirana et al., 2018). Kondisi ini mendorong pengembangan metode dekafeinasi yang efektif untuk memenuhi kebutuhan pasar akan produk kopi rendah kafein namun tetap mempertahankan kualitas sensorik dan senyawa bioaktif bermanfaat.

Berbagai metode dekafeinasi konvensional seperti ekstraksi pelarut, pengolahan air, dan ekstraksi karbon dioksida superkritis telah diterapkan dalam industri kopi. Di antara metode tersebut, ekstraksi CO₂ superkritis diakui sebagai metode yang unggul karena kemampuannya mengekstrak kafein secara selektif tanpa mengurangi signifikansi senyawa bioaktif lainnya (Honda et al., 2022). Namun, implementasi metode ini memerlukan biaya tinggi dan teknologi

canggih yang sulit dijangkau oleh petani kopi skala kecil. Oleh karena itu, eksplorasi metode alternatif yang lebih ekonomis dan aplikatif sangat diperlukan.

Fermentasi telah menjadi fokus penelitian sebagai pendekatan alami untuk memodifikasi komposisi kimia dan karakteristik sensorik biji kopi. Beberapa studi terdahulu menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat mempengaruhi kadar kafein dalam biji kopi Liberika (Wibowo et al., 2021) (Byagsa, 2024). Pada tahap fermentasi awal, terjadi perubahan struktur kimia dan sifat sensorik biji yang berpotensi meningkatkan kualitas produk akhir jika dikelola dengan tepat. Dalam konteks ini, durasi fermentasi menjadi faktor kritis yang dapat menentukan tingkat reduksi kafein dan profil organoleptik yang dihasilkan.

Pemanfaatan enzim papain yang berasal dari ekstrak daun pepaya gantung sebagai agen fermentasi menawarkan prospek baru dalam pengembangan metode dekafeinasi. Enzim papain memiliki aktivitas proteolitik yang dapat memecah ikatan protein dan berinteraksi dengan senyawa kafein, sehingga potensial untuk menurunkan kadar kafein tanpa mengorbankan komponen bioaktif bermanfaat seperti antioksidan dan asam klorogenat (Sunarharum et al., 2023). Enzim ini memiliki fungsi krusial dalam menghidrolisis protein melalui pemecahan ikatan polipeptida, sehingga berperan efektif dalam proses pencernaan atau degradasi protein (Macalood et al., 2013) (Chandan et al., 2024). Konsentrasi papain dalam lateks buah pepaya mencapai tingkat yang membuatnya cocok untuk aplikasi industri, seperti pelunakan daging dan preparasi hidrolisat protein (Baidamshina et al., 2021) (Zusfahair et al., 2014). Aktivitas enzim papain sering diukur dalam satuan unit per gram, yang menggambarkan potensi biologisnya. Lateks pepaya dilaporkan menunjukkan aktivitas enzim yang mencapai hingga 30.534 unit per gram dalam kondisi spesifik tertentu (Rakhmani et al., 2015). Aktivitas tinggi ini menekankan efektivitas papain dan potensinya untuk aplikasi yang lebih luas dalam berbagai bidang termasuk bidang pangan, khususnya proses dekafeinasi pada kopi.

Peningkatan minat konsumen terhadap kopi khusus dan produk rendah kafein membuka peluang signifikan bagi pengembangan kopi Liberika dekafeinasi. Keberhasilan dalam mengoptimalkan proses dekafeinasi kopi Liberika dapat meningkatkan nilai ekonomisnya di pasar global dan mendukung keberlanjutan industri kopi di daerah penghasil (Davis et al., 2022) (Ismail et al., 2024). Selain itu, diversifikasi produk kopi Liberika menjadi varian rendah kafein dapat memperluas segmen pasar dan memberikan nilai tambah bagi petani kopi.

Berdasarkan pertimbangan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh durasi fermentasi menggunakan ekstrak daun pepaya gantung sebagai sumber enzim papain terhadap kadar kafein dan kualitas organoleptik kopi Liberika. Melalui optimalisasi waktu fermentasi, diharapkan dapat diperoleh formulasi proses dekafeinasi yang efektif dalam menurunkan kadar kafein sekaligus mempertahankan atau bahkan meningkatkan profil sensorik kopi Liberika. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pengembangan metode dekafeinasi alami yang dapat diaplikasikan oleh industri kopi skala kecil hingga menengah, serta mendukung strategi diversifikasi produk kopi Liberika di pasar domestik maupun global.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama periode Maret hingga Juni 2024 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Analisis Pangan, Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian meliputi biji kopi Liberika (*Coffea liberica*) dan daun pepaya gantung (*Carica papaya* var. *pendens*) yang diperoleh dari wilayah Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan mencakup aquades, buffer fosfat dengan pH 7, standar kafein, reagen Folin-Ciocalteu, larutan Na₂CO₃ 20%, kloroform, serta etanol 96%.

Pada penelitian ini faktor yang diteliti adalah waktu fermentasi yaitu 24 jam, 36 jam, dan 48 jam. Konsentrasi sari daun pepaya gantung ditetapkan konstan sebesar 80% untuk semua perlakuan. Setiap taraf perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Persiapan sampel dilakukan dengan cermat untuk memastikan bahan yang digunakan memenuhi standar kualitas yang dibutuhkan, dimulai dengan pemilihan biji kopi Liberika hasil panen dengan perhatian khusus untuk memastikan kualitasnya seragam dan bebas dari cacat fisik, kemudian dilakukan proses pembersihan secara menyeluruh untuk menghilangkan kotoran, debris, dan biji yang rusak sehingga yang digunakan hanyalah biji kopi berkualitas baik. Sebagai bagian dari persiapan, sari daun pepaya diekstraksi menggunakan blender untuk menghaluskan bahan secara maksimal, lalu larutan hasil ekstraksi disaring dengan teliti agar diperoleh larutan yang homogen dan bebas dari partikel kasar, kemudian sari daun pepaya disiapkan dalam konsentrasi 80% sebagai media fermentasi utama sementara aquades disiapkan sebagai kontrol. Biji kopi Liberika hasil panen direndam dalam larutan sari daun pepaya 80% sedangkan sampel kontrol direndam dalam aquades, dengan proses perendaman (fermentasi) dilakukan dalam variasi waktu 24 jam, 36 jam, dan 48 jam pada suhu ruang untuk mengetahui pengaruh durasi fermentasi terhadap karakteristik akhir biji kopi. Setelah masa perendaman selesai, biji kopi dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan sisa-sisa larutan fermentasi yang masih menempel, kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 17 jam pada suhu terkontrol hingga diperoleh kadar air sebesar 12%. Proses roasting dilakukan selama 13 menit dengan suhu 180-190°C untuk mengembangkan aroma dan rasa khas kopi, setelah itu biji kopi didinginkan pada suhu kamar untuk menghentikan proses pemanasan dan menstabilkan karakteristik yang telah terbentuk. Biji kopi yang telah melalui seluruh tahapan pengolahan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk kopi dengan ukuran partikel yang seragam, sehingga bubuk kopi sampel siap untuk dianalisis kadar kafeinnya guna mengetahui pengaruh fermentasi sari daun pepaya terhadap kandungan kafein dalam produk akhir.

Analisis kadar kafein dalam sampel bubuk kopi dilakukan melalui metode ekstraksi pelarut yang dilanjutkan dengan spektrofotometri UV-Vis. Sebanyak 5 gram sampel bubuk kopi dilarutkan dalam 100 mL akuades panas ($\pm 90^{\circ}\text{C}$) dan diaduk hingga homogen. Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtrat bebas ampas. Filtrat yang dihasilkan dipindahkan ke corong pisah, kemudian ditambahkan 1,5 gram CaCO_3 guna mengendapkan senyawa polifenol yang berpotensi mengganggu analisis.

Ekstraksi kafein dilakukan dengan penambahan 25 mL kloroform ke dalam corong pisah. Campuran dikocok perlahan dan didiamkan hingga terbentuk dua fase terpisah. Proses ini diulangi sebanyak tiga kali untuk menjamin efisiensi ekstraksi kafein. Fase organik (kloroform) yang mengandung kafein dikumpulkan dan diuapkan dalam lemari asam hingga pelarut menghilang sepenuhnya. Residu kafein yang tersisa ditimbang, kemudian dilarutkan kembali dalam akuades untuk analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 273 nm. Penentuan kadar kafein dilakukan dengan membandingkan absorbansi terhadap kurva kalibrasi yang diperoleh dari larutan standar kafein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Kadar Kafein Baku

Determinasi konsentrasi kafein dalam sampel kopi Liberika dilaksanakan menggunakan instrumentasi spektrofotometri UV-Vis dengan memanfaatkan kurva kalibrasi standar sebagai basis kuantifikasi. Preparasi larutan standar kafein dilakukan pada rentang konsentrasi 0,2-1,2 mg/mL dengan interval pengukuran yang seragam. Observasi absorbansi pada masing-masing konsentrasi standar menghasilkan korelasi linear yang memenuhi persyaratan Hukum Lambert-Beer.

Analisis regresi menghasilkan persamaan matematika $y = 0,5311x + 0,1895$, dengan y merepresentasikan absorbansi dan x merepresentasikan konsentrasi kafein. Nilai koefisien determinasi yang mencapai 0,9712 mengkonfirmasi bahwa 97,12% variasi nilai absorbansi

dapat diatribusikan pada perubahan konsentrasi analit, menunjukkan kehandalan model regresi yang diimplementasikan.

Kuantifikasi kafein dalam sampel kopi Liberika dilakukan dengan substitusi nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi yang telah divalidasi. Hasil perhitungan dikoreksi dengan faktor pengenceran yang diaplikasikan selama proses preparasi untuk memperoleh konsentrasi kafein aktual dalam sampel.

Pengaruh Durasi Fermentasi terhadap Kadar Kafein Kopi Liberika

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kadar kafein pada sampel kopi Liberika yang difermentasi menggunakan sari daun pepaya gantung dengan konsentrasi 80% pada berbagai durasi waktu (Tabel 1). Data absorbansi dan kadar kafein menunjukkan pola yang berbeda antara sampel kontrol dan sampel perlakuan pada ketiga interval waktu fermentasi.

Tabel 1. Kadar kafein kopi Liberika pada berbagai durasi fermentasi

Waktu Fermentasi	Jenis Sampel	Absorbansi	Kadar Kafein (ppm)
24 jam	Kontrol	0,910	1,357
	Sampel	0,919	1,374
36 jam	Kontrol	0,870	1,281
	Sampel	0,840	1,225
48 jam	Kontrol	1,002	1,530
	Sampel	0,800	1,145

Pada durasi fermentasi 24 jam, kadar kafein sampel perlakuan (1,374 ppm) sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol (1,357 ppm). Fenomena ini mengindikasikan bahwa pada tahap awal fermentasi, aktivitas enzim papain belum optimal dalam mendegradasi senyawa kafein. Hal ini sesuai dengan penelitian (Wibowo et al., 2021) yang melaporkan bahwa pada fase awal fermentasi, mikroorganisme masih berada dalam tahap adaptasi dan aktivitas enzimatik belum mencapai tingkat yang signifikan untuk mempengaruhi komponen bioaktif seperti kafein.

Setelah 36 jam fermentasi, terlihat adanya penurunan kadar kafein pada sampel perlakuan menjadi 1,225 ppm, lebih rendah dari kontrol yang memiliki kadar 1,281 ppm. Penurunan sebesar 4,37% ini menunjukkan mulai berlangsungnya aktivitas enzim papain yang berperan dalam memecah ikatan kompleks kafein dalam biji kopi. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa enzim proteolitik seperti papain dapat berinteraksi dengan kompleks protein-kafein dan memfasilitasi proses dekafeinasi secara alami melalui mekanisme hidrolisis (Sunarharum et al., 2023).

Penurunan kadar kafein paling signifikan teramati pada durasi fermentasi 48 jam, dimana sampel perlakuan memiliki kadar kafein 1,145 ppm, sementara kontrol justru mengalami peningkatan menjadi 1,530 ppm. Selisih yang mencapai 25,16% ini menunjukkan efektivitas optimal enzim papain dari sari daun pepaya gantung dalam menurunkan kadar kafein kopi Liberika.

Waktu fermentasi telah terbukti memiliki pengaruh signifikan terhadap proses dekafeinasi kopi. Penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, semakin efektif penurunan kadar kafein yang dapat dicapai. Pada fermentasi anaerobik, biji kopi Arabika dan Robusta yang difermentasi selama 72 jam mengalami penurunan kandungan kafein masing-masing sebesar 19,9% dan 57,8% (Nurhadianty et al., 2024). Sementara itu, metode Swiss Water Process (SWP) yang diterapkan dengan durasi berbeda (18, 24, dan 30 jam) mengungkapkan bahwa 24 jam adalah waktu optimal, dengan penurunan kafein

mencapai 73% (Rahmawati et al., 2023). Studi lain menggunakan metode berbasis minyak sawit sebagai pelarut juga mengkonfirmasi bahwa waktu dekafeinasi yang lebih lama menghasilkan kadar kafein yang lebih rendah (Shofinita et al., 2023). Proses fermentasi *in-vitro* dengan kultur mikroba campuran menunjukkan pengurangan kafein yang substansial dibandingkan dengan metode konvensional (Darwin et al., 2023).

Fenomena ini konsisten dengan hasil penelitian (Byagsa, 2024) yang menyatakan bahwa waktu fermentasi yang lebih panjang memberikan kesempatan bagi enzim proteolitik untuk bekerja lebih efisien dalam mengkatalisis pemecahan struktur molekul kafein. Durasi fermentasi yang optimal tampaknya bervariasi tergantung pada metode yang digunakan – berkisar antara 24 jam untuk metode SWP, 48 jam untuk metode enzimatik menggunakan papain, dan 72 jam untuk fermentasi anaerobik. Keragaman ini menunjukkan pentingnya menyesuaikan durasi fermentasi dengan metode spesifik yang digunakan untuk mendapatkan efek dekafeinasi yang optimal (Peñuela-Martínez et al., 2018).

Secara keseluruhan, data-data ini menunjukkan hubungan yang jelas antara waktu fermentasi dan efektivitas dekafeinasi, dengan setiap metode memiliki titik optimal tersendiri. Pemahaman mendalam tentang hubungan ini dapat membantu produsen kopi dalam mengembangkan protokol dekafeinasi yang lebih efisien dan alamiah, sekaligus mempertahankan atau bahkan meningkatkan profil sensorik kopi.

Dinamika Kadar Kafein pada Sampel Kontrol

Sampel kontrol menunjukkan dinamika yang menarik, dimana kadar kafein mengalami penurunan dari 1,357 ppm pada 24 jam menjadi 1,281 ppm pada 36 jam, namun kemudian meningkat signifikan menjadi 1,530 ppm pada 48 jam fermentasi. Fluktuasi ini menggambarkan kompleksitas proses biokimia yang terjadi selama fermentasi alami. Penurunan kadar kafein pada awal fermentasi kemungkinan disebabkan oleh aktivitas mikrobiota alami yang mampu mendegradasi sebagian kecil senyawa kafein, sedangkan peningkatan pada fermentasi lanjut dapat dikaitkan dengan fenomena konsentrasi senyawa akibat penguapan air atau perubahan struktur kimia biji kopi (Maxiselly, 2023).

Honda et al., (2022) dalam studinya menjelaskan bahwa tanpa adanya katalis enzimatik eksogen seperti papain, proses degradasi kafein selama fermentasi berjalan lambat dan tidak konsisten. Peningkatan kadar kafein pada sampel kontrol setelah 48 jam fermentasi juga dapat disebabkan oleh terjadinya pelepasan kafein dari struktur sel yang sebelumnya terikat, namun tidak diikuti dengan proses degradasi yang memadai.

Mekanisme Penurunan Kadar Kafein oleh Enzim Papain

Efektivitas pengurangan kafein sangat bergantung pada jenis enzim yang digunakan dan metode ekstraksinya. Proses ekstraksi akueus berbantuan enzim (Enzyme-Assisted Aqueous Extraction Processes/EAEP) telah terbukti mempengaruhi sifat biologis dan nutrisi ekstrak kopi, termasuk kandungan kafein (Almeida et al., 2024). Pemilihan enzim yang tepat dengan aktivitas proteolitik yang tinggi, seperti papain dari pepaya, dapat meningkatkan efisiensi pemecahan molekul kafein (Utami et al., 2023).

Efektivitas sari daun pepaya gantung dalam menurunkan kadar kafein dapat dijelaskan melalui mekanisme kerja enzim papain. Sebagai enzim proteolitik, papain mampu mengkatalisis hidrolisis ikatan peptida yang menstabilkan kompleks kafein-protein dalam matriks biji kopi (Kirana et al., 2018). Proses hidrolisis ini mengakibatkan pelepasan molekul kafein dari situs pengikatan proteinnya, sehingga kafein menjadi lebih mudah terdegradasi atau terlarut ke dalam media fermentasi.

Davis et al., (2022) mengemukakan bahwa enzim eksogen yang ditambahkan selama fermentasi dapat pula berperan dalam memodifikasi permeabilitas membran sel biji kopi. Peningkatan permeabilitas membran memfasilitasi perpindahan molekul kafein dari dalam sel

menuju lingkungan fermentasi, sehingga mempercepat proses dekafeinasi. Konsentrasi sari daun pepaya sebesar 80% yang digunakan dalam penelitian ini tampaknya mampu menyediakan jumlah enzim papain yang optimal untuk mengkatalisis proses tersebut tanpa mengganggu keseimbangan komponen bioaktif bermanfaat lainnya.

Penelitian terdahulu oleh Ismail et al., (2024) juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim papain dalam menurunkan kadar kafein bersifat selektif dan tidak menyebabkan degradasi berlebihan pada senyawa prekursor aroma dan rasa seperti asam klorogenat dan trigonelin. Selektivitas ini menjadi keunggulan metode dekafeinasi enzimatik dibandingkan metode konvensional seperti penggunaan pelarut organik yang seringkali menyebabkan penurunan kualitas sensorik secara signifikan.

Implikasi Teknologis

Hasil penelitian ini memiliki implikasi penting bagi pengembangan teknologi dekafeinasi kopi yang efisien, ekonomis, dan ramah lingkungan. Penurunan kadar kafein sebesar 25,16% pada durasi fermentasi 48 jam menunjukkan potensi signifikan penggunaan sari daun pepaya gantung sebagai agen dekafeinasi alami untuk kopi Liberika. Dibandingkan dengan teknologi dekafeinasi konvensional seperti ekstraksi CO₂ superkritis yang memerlukan investasi tinggi dan peralatan khusus (Honda et al., 2022), pendekatan enzimatik menggunakan sari daun pepaya gantung menawarkan alternatif yang lebih terjangkau dan aplikatif untuk industri kopi skala kecil hingga menengah.

Selain aspek teknologis, temuan ini juga sejalan dengan tren pasar global yang semakin mengutamakan produk pangan yang diproses secara alami dan berkelanjutan. Ismail et al., (2024) melaporkan bahwa konsumen kopi saat ini tidak hanya memperhatikan aspek organoleptik tetapi juga metode pengolahan yang diterapkan, dengan preferensi yang semakin tinggi terhadap produk yang diproses menggunakan bahan-bahan alami. Dengan demikian, pengembangan metode dekafeinasi berbasis enzim papain dari sari daun pepaya gantung tidak hanya relevan dari perspektif teknologi pengolahan tetapi juga dari sudut pandang penerimaan pasar.

Penting untuk dicatat bahwa meskipun penurunan kadar kafein yang dicapai dalam penelitian ini signifikan, nilai tersebut belum memenuhi standar produk dekafeinasi komersial yang mensyaratkan penurunan kadar kafein hingga 97% (Sunarharum et al., 2023). Oleh karena itu, optimasi lebih lanjut terhadap parameter fermentasi seperti konsentrasi enzim, suhu, dan pH masih diperlukan untuk meningkatkan efisiensi proses dekafeinasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa durasi fermentasi menggunakan sari daun pepaya gantung dengan konsentrasi 80% memiliki pengaruh signifikan terhadap penurunan kadar kafein kopi Liberika. Efektivitas penurunan kafein menunjukkan korelasi positif dengan perpanjangan waktu fermentasi, dengan hasil optimal diperoleh pada durasi 48 jam yang menghasilkan penurunan kadar kafein sebesar 25,16% dibandingkan dengan kontrol. Mekanisme penurunan kadar kafein melibatkan aktivitas enzim papain yang menghidrolisis kompleks protein-kafein dan memodifikasi permeabilitas membran sel biji kopi. Temuan ini memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan metode dekafeinasi alami berbasis enzim untuk kopi Liberika, meskipun optimasi lebih lanjut masih diperlukan untuk mencapai standar produk dekafeinasi komersial.

DAFTAR PUSTAKA

Almeida, F. S., Dias, F. F. G., Ford, M. W., Bogusz Junior, S., Sato, A. C. K., & de Moura Bell, J. M. L. N. (2024). Exploring the nutritional and biological properties of green coffee extracts: A comparative study of aqueous and enzymatic extraction processes. *Current Research in Food Science*, 9. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100890>

- Baidamshina, D. R., Koroleva, V., Olshannikova, S. S., Trizna, E. Y., Bogachev, M. I., Artyukhov, V. G., Holyavka, M. G., & Kayumov, A. R. (2021). Biochemical Properties and Anti-Biofilm Activity of Chitosan-Immobilized Papain. *Marine Drugs*. <https://doi.org/10.3390/md19040197>
- Byagsa, Y. (2024). Selection of Pectinolytic Yeast from Liberica Green Coffee Beans (*Coffea liberica*). *BIO Web of Conferences*, 91. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20249101024>
- Chandan, C., AGALAVE, R. S., TYAGI, T., SINGH, A. K., Ramesh, J., G., P. K., Sushma, B. V., & Jeyaprakash, M. R. (2024). Lc-MS/MS-Based Quantitative Profiling of Papain Enzyme in Carica Papaya L.: Method Development and Validation. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. <https://doi.org/10.22159/ijap.2024v16i2.49921>
- Darwin, Bulan, R., Hapirayani, Muliawati, A., Faradilla, Irnanda, A. I., & Kaban, M. B. (2023). Carbohydrate Enrichment in In-Vitro Civet Coffee Fermentation: Impact on Arabica Coffee Beans. *International Journal of Design and Nature and Ecodynamics*, 18(6), 1485 – 1492. <https://doi.org/10.18280/ijdne.180623>
- Davis, A. P., Kiwuka, C., Faruk, A., Walubiri, M. J., & Kalema, J. (2022). The Re-Emergence of Liberica Coffee as a Major Crop Plant. *Nature Plants*. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01309-5>
- Honda, M., Takezaki, D., Tanaka, M., Fukaya, M., & Goto, M. (2022). Effect of Roasting Degree on Major Coffee Compounds: A Comparative Study Between Coffee Beans With and Without Supercritical CO₂; Decaffeination Treatment. *Journal of Oleo Science*. <https://doi.org/10.5650/jos.ess22194>
- Ismail, N. S., Zaidan, U. H., Shamsi, S., Abd Gani, S. S., & Nillian, E. (2024). Proximate Composition and Phytochemical Analysis of Malaysian Liberica Sp. Coffee Bean and Its Pulp. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*. <https://doi.org/10.47836/pjtas.47.2.13>
- Kirana, C. A., Syamsurizal, S., & Utami, D. T. (2018). The Effect of Liberica Coffee on Liver Physiology and Histological Appearance of White Mice. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev9iss3pp152-159>
- Macalood, J. S., Vicente, H. J., Boniao, R. D., Gorospe, J. G., & Roa, E. C. (2013). Chemical Analysis of Carica Papaya L. Crude Latex. *American Journal of Plant Sciences*. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.410240>
- Maxiselly, Y. (2023). Morphological trait variation of the immature liberica coffee (*Coffea liberica*) from West Java, Indonesia applied difference of coffee husk compost and biofertilizer. *Biodiversitas*, 24(11), 5988–5994. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241118>
- Nehlig, A. (2018). Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacological Reviews*, 70(2), 384 – 411. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014407>
- Nurhadianty, V., Dewi, L. K., Dewi, H. E., Setiawan, A., Nirwana, W. O. C., Ashari, O. S., Adiningrum, A., Ridhollah, M. R., & Naafila, L. Y. (2024). Study of decaffeination and business risk feasibility: Arabica and Robusta Arjuno coffee beans by anaerobic fermentation using *Rhizopus oligosporus*. *Food Research*, 8(6), 28 – 39. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(6\).171](https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(6).171)
- Peñuela-Martínez, A. E., Zapata-Zapata, A. D., & Durango-Restrepo, D. L. (2018). Performance of different fermentation methods and the effect on coffee quality (*coffea arabica* l.); [Desempenho de diferentes métodos de fermentação e o efeito na qualidade do

- café (coffea arabica l.]. *Coffee Science*, 13(4), 465 – 476.
<https://doi.org/10.25186/cs.v13i4.1486>
- Rahmawati, Bastian, F., Asfar, M., Laga, A., Tawali, A. B., & Fitrianti, A. N. (2023). Effect of decaffeination time on the chemical profile of green bean arabica coffee (*Coffea arabica* L.). In M. H., R. A.R., M. null, A. A.S., H. G., R. M., R. A., H. A.S.R., R. N.D., A. M.A., H. S.H., Y. D.S., A. A.F., K. I., & K. null (Eds.), *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2596). American Institute of Physics Inc. <https://doi.org/10.1063/5.0118748>
- Rakhmani, S. I. W., Pangestu, Y., Sinurat, A. P., & Purwadaria, T. (2015). Carbohydrate and Protein Digestion on Palm Kernal Cake by Mannanase BS4 and Papain Cocktail Enzymes. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*. <https://doi.org/10.14334/jitv.v20i4.1245>
- Shofinita, D., Lestari, D., Ambarwati, S. A., Gunawan, K. C., & Achmadi, A. B. (2023). Optimization of Defective Coffee Beans Decaffeination Using Palm Oil. *ASEAN Journal of Chemical Engineering*, 23(2). <https://doi.org/10.22146/ajche.73387>
- Sunarharum, W. B., Umami, H. R., Kartika, A. A., Septiana, S., & Mahatmanto, T. (2023). *Re-fermentation of Green Liberica Coffee (Coffea Liberica) Beans: Impact on the Caffeine and Antioxidant Content of the Roasted Beans*. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2023.013.02.001>
- Utami, N. F., Elya, B., Hayun, H., Kusmardi, K., & Nur, S. (2023). Efficacy of using bacillus subtilis enzyme as a caffeine level reducer in cascara robusta coffee (*Coffea canephora* l.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 26(12), 600 – 606.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2023.600.606>
- Wibowo, N. A., Mangunwardoyo, W., Yasman, Y., & Santoso, T. J. (2021). Effect of Fermentation on Sensory Quality of Liberica Coffee Beans Inoculated With Bacteria From Saliva Arctictis Binturong Raffles, 1821. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220938>
- Zusfahair, Z., Ningsih, D. R., & Habibah, F. N. (2014). Karakterisasi Papain Dari Daun Pepaya (*Carica Papaya* L. Characterization Of Papain From *Carica Papaya* L. Leaves. *Molekul*. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2014.9.1.149>