

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Balai Riset dan Standarisasi Industri Palembang, Sumatera Selatan. Penelitian ini dimulai pada bulan September 2019 sampai dengan Oktober 2019.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : 1) *Aluminium foil*, 2) *agtron* (alat pembaca warna), 3) *Beaker glass* 25 mL, 100 mL, 4) cawan porselin, 5) corong, 6) desikator, 7) *Erlenmeyer* 100 mL, 8) formulir *cupping*, 9) gelas *cupping*, 10) HPLC, 11) kertas saring Whatman 540, 12) labu ukur 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 13) *membrane filter*, 14) mesin *grinder* kopi konvensional merk *Krupps Burr*, 15) mesin sangrai tipe W600, 16) Neraca analitik, 17) oven, 18) penangas air, 19) *roaster* (alat sangrai), 20) sendok *cupping*, 21) tabung reaksi, 22) spatula, 23) *syringe* 50  $\mu$ l, 24) *syringe* dengan *membrane filter* ( *pore size* : 0,4  $\mu$ m, diameter 13 mm), dan 25) *vacum filter* ( *pore size* : 0,45  $\mu$ m, diameter 13 mm).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : 1) alkohol, 2) amilum, 3) *aquadest*, 4) *aquadest filter*, 5) biji kopi yang telah disortir, dikupas, difermentasi, dicuci dan dikeringkan selama 1 minggu yang berasal dari Desa Segamit, Kabupaten Muaraenim, 6) *Buffered Peptone Water* (BPW), 7) Indikator *Phenolftaelin* , 8) etanol absolute, 9)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 10)  $\text{HClO}_4$ , 11)  $\text{HNO}_3$ , 12) NaOH, 13) methanol (*gradien grade for liquid chromatography*), 14) MLC, 15)  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$ , 16) Pb asetat, 17) PbO, dan 18) standar kafein (merk).

#### **3.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor perlakuan, yaitu (A) komposisi jenis kopi dan (B) lama penyangraian pada 3 taraf perlakuan sehingga didapat 12 perlakuan. Pada percobaan ini dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Masing - masing faktor perlakuan tersebut adalah, sebagai berikut :

1. Komposisi arabika : robusta : peaberry (%) (A) :

$$A_1 = 45\% : 45\% : 10\%$$

$$A_2 = 40\% : 40\% : 20\%$$

$$A_3 = 35\% : 35\% : 30\%$$

$$A_4 = 30\% : 30\% : 40\%$$

2. Lama Penyangraian (B) :

$$B_1 = 8 \text{ menit (200 } ^\circ\text{C)}$$

$$B_2 = 10 \text{ menit (200 } ^\circ\text{C)}$$

$$B_3 = 12 \text{ menit (200 } ^\circ\text{C)}$$

### 3.4. Prosedur Kerja

Cara kerja yang dilakukan pada penelitian ini yaitu cara pengambilan sampel biji kopi, cara pembuatan kopi bubuk, cara pembuatan seduhan kopi bubuk dan cara uji *cupping*.

#### 3.4.1. Proses Pengambilan Sampel Biji Kopi arabika (*Coffea arabica* L.), robusta (*Coffea canephora*) dan peaberry.

1. Biji kopi diambil menggunakan sekop bergagang pendek yang sudah bersih dan kering agar tidak mempengaruhi sifat kimia pada sampel.
2. Sampel biji kopi dimasukkan ke dalam wadah bersih dan kering, tidak menyebabkan perubahan pada sampel.
3. Sampel biji kopi diberi label sesuai tanggal dan pengambilan sampel.

#### 3.4.2. Proses Pembuatan Kopi Bubuk.

1. Sampel biji kopi mentah (*green bean*) dibagi sesuai perlakuan perbandingan komposisi jenis kopi, tiap perlakuan diambil sampel sebanyak 420 gram.
2. Dilakukan pencampuran perbandingan komposisi jenis kopi (*blending*) untuk menghasilkan karakteristik yang berbeda dari kopi dari segi citarasa dan kandungan senyawanya.
2. Masing-masing perlakuan perbandingan komposisi jenis kopi terdiri dari :
  - $A_1 = \text{arabika } 45\% : \text{robusta } 45\% : \text{peaberry } 10\%$ ,
  - $A_2 = \text{arabika } 40\% : \text{robusta } 40\% : \text{peaberry } 20\%$ ,

$A_3 = \text{arabika } 35\% : \text{robusta } 35\% : \text{peaberry } 30\%$ ,

$A_4 = \text{arabika } 30\% : \text{robusta } 30\% : \text{peaberry } 40\%$ .

3. Sebanyak 420 gram sampel biji kopi ditimbang menggunakan timbangan kopi
4. Persentase berat dihitung sesuai perlakuan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Sampel kopi \%} = \frac{W_1}{100} \times W_2$$

Keterangan :

$W_1$  = komposisi kopi, dalam persen.

$W_2$  = berat sampel, dalam gram.

5. Proses penyangraian menggunakan mesin sangrai W600 berkapasitas 1 kg.
6. Alat sangrai dihidupkan.
7. Alat sangrai dipanaskan selama 30 menit.
8. Sebanyak 420 gram sampel kopi diambil untuk disangrai sesuai perlakuan, kemudian diambil lagi 420 gram, lakukan hal yang sama pada perlakuan  $A_1B_1$ ,  $A_1B_2$ ,  $A_1B_3$ ,  $A_2B_1$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_2B_3$ ,  $A_3B_1$ ,  $A_3B_2$ ,  $A_3B_3$ ,  $A_4B_1$ ,  $A_4B_2$ ,  $A_4B_3$ .
9. Sampel dimasukkan ke dalam mesin sangrai.
10. Biji kopi disangrai sesuai perlakuan  $B_1$  (8 menit 200°C),  $B_2$  (10 menit 200°C),  $B_3$  (12 menit 200°C).
11. Biji kopi dikeluarkan dari tempat penyangraian (*heating bin*).
12. Biji kopi didinginkan dengan angin di tempat terbuka selama 5 menit.
13. Biji kopi sangrai selanjutnya digiling menjadi kopi bubuk.

### 3.4.3. Proses Pembuatan Seduhan Kopi Bubuk

1. Dilakukan pengekstrakan bubuk kopi dengan metode penyeduhan manual.
2. Ditambahkan air sebanyak 150 mL untuk sampel dengan suhu 90°C. Air yang digunakan harus bersih, tidak berbau dan tidak air destilasi. Menurut SCAA, suhu penyeduhan untuk *cupping* yang paling optimal adalah pada suhu 90 °C.

### 3.5. Parameter

Parameter yang diamati untuk menentukan perlakuan terbaik pada sampel dilakukan dengan metode *cupping test* atau uji *cupping* pada sampel kopi yang sudah diseduh. Setelah didapat perlakuan terbaik, dilanjutkan dengan pengukuran parameter uji kimia berdasarkan SNI.

1. Pelaksanaan uji *cupping* dilakukan oleh 3 orang panelis terlatih dari Kantor Badan Standarisasi Nasional, Palembang yang akan menilai 12 sampel kopi bubuk (*blend*).
2. Dilakukan *cupping test* untuk mendapatkan perlakuan terbaik yang akan dianalisa atau diuji berdasarkan (SNI) sesuai dengan takaran kopi bubuk yang telah disangrai.
3. Dilakukan penilaian *cupping* sesuai dengan standar SCAA menggunakan form *cupping scoresheet* dari *Specialty Coffee Association of America*.
4. Kualitas terbaik dinilai menggunakan “*off grade*” .
5. Dikatakan kopi *specialty* adalah kopi dengan rasa yang konsisten dengan nilai di atas 80 poin. Nilai ini adalah hasil kumulatif dari hal-hal penilaian yang tertera pada *scoresheet* yaitu *Quality scale* 6,00-6,75 (*Good*), 7,00-7,75 (*Very Good*), 8,00-8,75 (*Excellent*), 9,00-9,75 (*Outstanding*).
6. Skor akhir dinilai dari total nilai semua atribut *cupping test* meliputi *fragrance/aroma*, *flavor/rasa*, *aftertaste*, *acidity/rasa asam*, *body* atau kekentalan, *balance* atau keseimbangan rasa dan aroma, *sweetness* atau rasa manis, *cleanliness*, *uniformity* dan *overall* (*aspek keseluruhan*).

### **3.6. Cupping Test**

Standard *cupping* kopi yang direkomendasikan oleh Komite Statistik dan Standar SCAA meliputi perlengkapan yang diperlukan mulai dari persiapan sangrai, lingkungan dan persiapan *cupping test*.

#### **3.6.1. Perlengkapan Cupping Test**

Tahapan dalam persiapan perlengkapan *cupping test* adalah, sebagai berikut:

1. Mesin sangrai (*roaster*) dan mesin penggiling (*grinder*) dihidupkan.
2. Meja *cupping* dipersiapkan dengan ruangan yang tenang dan nyaman.
3. *Cupping test* dilakukan dalam ruangan yang cukup terang dan bebas dari aroma lain yang dapat mengganggu.
4. Timbangan kopi, sendok, air seduh, gelas dan lembar kuisisioner *cupping test*, dipersiapkan.
5. Wadah *cupping* disiapkan terbuat dari *tempered glass* yang memiliki volume, dengan daya tampung 200 mL sampai 270 mL, berdiameter 75 mm - 90 mm.

### 3.6.2. Persiapan Sampel

Tahapan dalam mempersiapkan sampel *cupping test*, yaitu :

1. *Green bean* sangrai sesuai dengan perlakuan kemudian didiamkan selama 8 - 24 jam sebelum dilakukan *cupping test* sesuai standard berdasarkan SCAA (2018).
2. Tingkat penyangraian dilihat menggunakan skala warna dalam waktu 30 menit - 4 jam. Penyangraian dilakukan sesuai standar pengilangan uji *cupping* menurut SCAA (2018).
3. Biji kopi sangrai didinginkan atau diangin - anginkan, sampai suhu kamar mencapai 20°C, kemudian sampel disimpan dalam toples atau tempat tertutup pada udara sejuk untuk mencegah kontaminasi dan oksidasi.
4. Perbandingan optimal tiap secangkir kopi 8,25 gram kopi ( $\pm 0,25$  gram) per 150 mL air.
5. Biji kopi sangrai digiling selama 15 menit dengan ukuran partikel bubuk kopi 70% dengan ukuran standar 20 mesh.
6. Dimasukkan air 30 menit setelah digiling.
7. Disiapkan dari tiap sampel sebanyak 5 gelas untuk penilaian keseragaman sampel kopi.
8. Air yang digunakan untuk uji *cupping* harus bersih dan bebas bau, bukan air suling atau diencerkan. Total padatan terlarut tepat antara 125 - 175 ppm, tidak kurang dari 100 ppm atau lebih dari 250 ppm. Suhu air 93 °C ketika diseduh selama 5 menit sebelum dilakukan pengisian lembar kuisisioner *cupping test*.

### 3.6.3. Penilaian Sampel

Tahapan dalam penilaian sampel *cupping test*, adalah sebagai berikut:

1. Uji sensoris dilakukan hingga tiga penilaian, penentuan perbedaan sensoris yang sesungguhnya antara sampel dan penggambaran rasa sampel.
2. Lembar kuisisioner *cupping test* digunakan untuk menilai atribut rasa kopi yaitu *fragrance, flavor, aftertaste, acidity, body, balance, cleanliness, sweetness, uniformity dan overall*. Perlengkapan rasa khusus merupakan skor nilai kualitas positif oleh *cupper*. Kualitas dinilai dari skala 0 poin hingga 10 poin.
3. Prosedur dimulai dari penilaian warna sangrai sampel kopi secara visual. Urutan peringkat disetiap atribut berdasarkan pada perubahan persepsi rasa saat terjadi penurunan suhu kopi saat dingin.

#### **3.6.4. *Fragrance***

Tahapan dalam penilaian *fragrance* dalam *cupping test* adalah, sebagai berikut:

1. Nilai *fragrance* atau aroma ditandai berdasarkan penilaian keadaan biji kopi kering dan basah.
2. Sampel yang sudah digiling diangkat tutup wadahnya, kemudian aroma penggilingan kopi bubuk kering dinilai setelah 15 menit sampel digiling.
3. Dilakukan penyeduhan sampel. Air dan kerak dibiarkan tidak putus sampai selama tidak lebih dari 5 menit.
4. Dilakukan pemecahan kerak dengan mengaduk sebanyak 3 kali.
5. Kemudian busa yang muncul dibiarkan mengalir ke bagian belakang sendok sambil mengendus perlahan.

#### **3.6.5. *Flavor, Aftertaste, Acidity, Body dan Balance***

Tahapan dalam penilaian *cupping test* adalah, sebagai berikut:

1. Didinginkan sampel pada suhu 71 °C, selama 8 - 10 menit.
2. Dilakukan pemberian nilai terhadap seduhan.
3. Kopi seduh diseruput hingga menutupi area lidah dan langit-langit atas sebanyak mungkin, karena uap hidung retro berada pada intensitas maksimum pada temperatur tinggi ini.
4. Atribut *aftertaste, acidity, body* dan *balance* dinilai pada titik ini.
5. Ketika kopi perlahan dingin pada suhu (70 °C - 60 °C), kemudian dinilai *acidity, body* dan *balance*.
6. *Balance* atau keseimbangan merupakan penilaian tentang seberapa baik kombinasi *flavor atau rasa, aftertaste, acidity* atau rasa asam dan *body* oleh *cupper*.

#### **3.6.6. *Sweetness, Uniformity dan Cleanliness***

Tahapan dalam penilaian skor *sweetness, uniformity* dan *cleanliness* dalam *cupping test* adalah, seagai berikut :

1. Dilakukan penilaian skor *sweetness, uniformity* dan *cleanliness* ketika suhu air seduhan mendekati suhu kamar (di bawah 37 °C).
2. *Cupper* membuat penilaian per cangkir individu, memberikan 2 poin per atribut dengan skor maksimum 10 poin.

3. Penilaian pada seduhan kopi dihentikan saat sampel terus dingin pada suhu 21°C dan nilai keseluruhan ditentukan oleh *panelis* sebagai “*Cupper’s Points*” berdasarkan keseluruhan semua kombinasi atribut.
4. Seluruh skor ditambahkan lalu skor akhir ditulis dalam lembar kuisioner uji *cupping*.
5. Total Skor atribut dicatat, uji *cupping* sesuai lembar penilaian pada beberapa atribut positif, terdapat dua skala tanda centang.

### 3.6.7. Penilaian Akhir

Cara kerja penilaian akhir sampel dalam *cupping test* adalah, sebagai berikut:

1. Skor akhir dihitung dengan penjumlahan masing - masing skor yang diberikan untuk setiap atribut utama sebagai total skor.
2. Skor dicatat kemudian dikurangi dari skor total untuk sampai pada skor akhir.

### 3.7. Parameter Kimia Berdasarkan SNI

Parameter kimia meliputi pengukuran kadar air, kadar abu, kealkalian abu, kadar sari, kadar kafein dan kadar cemaran logam berat timbal (pb). tembaga (Cu), seng (Zn), raksa (Hg) dan arsen (As) yang diukur mengikuti acuan Standar Nasional Indonesia.

#### 3.7.1. Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan sebelum dan setelah proses dekafeinisasi dengan cara pengeringan di dalam oven berdasarkan (SNI 01- 2891- 1992) adalah, sebagai berikut:

1. Sebanyak 1 - 2 gram sampel kopi bubuk ditimbang.
2. Sampel yang telah ditimbang diletakkan pada sebuah botol bertutup yang sudah diketahui beratnya, untuk sampel cair, botol timbang dilengkapi dengan pengaduk dan kertas saring.
3. Sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C.
4. Sampel didinginkan di dalam desikator.
5. Sampel ditimbang, diulangi hingga diperoleh bobot tetap.
6. Pesen kadar air dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Air} = \% \frac{w}{w_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W = berat sampel sebelum dikeringkan, dalam gram.

W<sub>1</sub> = kehilangan berat setelah dikeringkan, dalam gram.

### 3.7.2. Kadar Abu

Proses pengabuan berupa zat-zat organik diuraikan menjadi air dan CO<sub>2</sub>. Cara kerja pada analisa kadar abu berdasarkan SNI 01- 2891- 1992 adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 2 gram sampel kopi ditimbang.
2. Dimasukkan sampel yang telah ditimbang ke dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya, untuk sampel cairan diupkan di atas penangas air hingga keadaan sampel sudah kering.
3. Sampel kopi diabukan ke dalam tanur listrik pada temperatur suhu 550 °C hingga proses pengabuan sempurna.
4. Sampel didinginkan di dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang hingga bobot tetap.
5. Persen kadar abu dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Abu \% b/b} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = berat sampel sebelum diabukan, dalam gram.

W<sub>1</sub> = kehilangan berat setelah diabukan, dalam gram.

W<sub>2</sub> = berat cawan kosong, dalam gram.

### 3.7.3. Kealkalian Abu

Penetapan kealkalian abu dilakukan dengan titrasi asam basa. Prosedur kerja dalam analisa kealkalian abu berdasarkan SNI (SNI 01- 2891-1992) adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 20 mL larutan HCL 0,5 N dimasukkan ke dalam cawan berisi abu.
2. Dipanaskan larutan di atas penangas air selama kurang lebih 10 menit.
3. Sebanyak 1 - 2 tetes Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% ditambahkan ke dalam abu (dari sisa penetapan abu).
4. Disaring larutan abu dan dicuci hingga bebas asam.



5. Hasil saringan dititirasi. Kemudian,  $\text{NaOH}$  05N, PP digunakan sebagai indikator.
6. Pembuatan blanko setelah dilakukan titrasi.
7. Nilai kealkalian abu dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kealkalian Abu} = \% \frac{V_1 - V_2}{W_1} \text{ mL NaOH}/100$$

Keterangan:

$W$  = berat sampel sebelum diabukan, dalam gram.

$V_1$  = volume yang diperlukan pada penitaran sampel, dalam gram.

$V_2$  = volume  $\text{NaOH}$  yang diperlukan pada penitaran blanko.

$N$  = normalitas  $\text{NaOH}$ .

### 3.7.4. Kadar Sari Kopi

Proses ekstraksi kopi dalam air, cara kerja dalam analisa kadar sari kopi berdasarkan SNI 01-3542-2004 adalah, sebagai berikut:

1. Sebanyak 2 gram sampel ditimbang.
2. Sampel yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas ukur 500 mL.
3. Ditambahkan sebanyak 200 mL air mendidih, kemudian selama 1 jam didiamkan.
4. Sebanyak 500 mL larutan sampel disaring ke dalam labu ukur.
5. Larutan yang telah disaring dibilas dengan air panas sampai larutan berwarna jernih.
6. Larutan didinginkan pada suhu kamar, kemudian ditambahkan air dan ditepatkan hingga batas tanda tera.

$$\% \text{ Sari Kopi} = \frac{W_1 \times 500}{W_2 \times 50} \times 100\%$$

Keterangan:

$W_1$  = Berat ekstrak, dalam gram.

$W_2$  = Berat sampel, dalam gram.

### 3.7.5. Kadar Kafein

Pengukuran kadar kafein dilakukan dengan menggunakan HPLC. berdasarkan acuan Standar Nasional Indonesia nomor (01- 3542- 2004). Pengukuran

dilakukan dengan pembuatan larutan standar, pembuatan larutan Pb-asetat, larutan uji, dan persiapan fase gerak. Pengukuran kadar kafein pada sampel mengikuti acuan AOAC (*Official Methods of Analysis*), 2006.

#### **3.7.5.1. Pembuatan Larutan Induk**

Cara kerja pembuatan larutan induk kafein adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 0,125 gram standar kafein ditimbang.
2. Dilarutkan standar kafein menggunakan etanol absolut dan aquades filter dengan perbandingan (1: 4) ke dalam labu ukur berukuran 250 mL.

#### **3.7.5.2. Persiapan Larutan Standar**

1. Sebanyak 3 sampel yaitu 2 mL, 5 mL, dan 10 mL larutan standar dipipet pada labu ukur 50 mL.
2. Aquades filter ditambahkan sampai batas tanda tera.

#### **3.7.5.3. Persiapan Larutan Pb-asetat**

1. Sebanyak 2 sampel yaitu 115 gram Pb asetat ditimbang dan 60 gram PbO ditimbang.
2. Sampel yang telah ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquades pada labu ukur berukuran 500 mL hingga larutan berubah menjadi warna putih keruh dan ditepatkan dengan aquades sampai batas tanda tera.

#### **3.7.5.4. Persiapan Larutan Uji Kafein**

1. Ditimbang sampel bubuk kopi sebanyak 1 gram pada Erlenmeyer berukuran 100 mL.
2. Sebanyak 40 mL dilarutkan sampel dengan aquades, dan 1 mL Pb asetat ditambahkan.
3. Dipanaskan larutan pada penangas air (100 °C) selama 15 menit.
4. Didinginkan larutan pada suhu kamar. Kemudian larutan dipindahkan pada labu ukur 100 mL menggunakan corong pemisah lalu ditepatkan dengan aquades sampai batas tanda tera.
5. Larutan disaring dengan kertas saring *Whatman* No. 1 pada *Beaker glass* berukuran 100 mL.
6. Filtrat sebanyak 10 mL dimasukkan pada labu ukur berukuran 50 mL lalu ditambahkan dengan aquades sampai batas tanda tera.
7. Disaring filtrat menggunakan alat *syringe* dengan *membrane filter* (*pore size*: 0,45  $\mu\text{m}$ , diameter 13 mm) pada tabung reaksi.

### 3.7.5.5. Persiapan fase gerak

1. Pemeriksaan kadar kafein digunakan solvent sebagai fase gerak (*mobile phase*) menggunakan alat HPLC yaitu aquades filter 70% dan methanol (*gradient grade for liquid chromatography*) 30%.
2. Disaring solvent terlebih dahulu menggunakan alat vakum *filter* dengan *membrane filter* (*pore size* : 0,45 mm, diameter 47 mm) .
3. Sebanyak 10 µl larutan standar dan larutan uji diinjeksikan masing-masing menggunakan alat *syringe* 50 µl pada HPLC, saat kondisi HPLC pada saat pengukuran :

Kolom (*Column*) : *Hypersil* ODS C 18,5 UM, 100 x 4,6 mm.

Fase gerak (*Mobil phase*) : aquades filter : methanal ( 70% : 30% )

Kecepatan aliran ( *Flow* ) : 0,75 mL /menit.

Suhu : 35 °C.

Detektor : VWD degan UV 272 nm.

### 3.7.6. Kadar Timbal, Tembaga, dan Seng

Cara kerja analisa kadar cemaran logam, Tembaga (Cu), Timbal (Pb), dan Seng (Zn) pada makanan menggunakan cara pengabuan kering, lalu dilanjutkan dengan pembacaan nilai absorbansi menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* (SSA) berdasarkan SNI (01- 2896- 1998) adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 5 gram sampel ditimbang.
2. Sampel yang telah ditimbang dimasukkan pada cawan porselen berukuran 100 mL dan ditambahkan sebanyak 100 mL larutan magnesium nitrat dalam etanol. Kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk.
3. Diuapkan etanol di atas penangas air, lalu dipanaskan menggunakan penangas listrik (cawan porselen ditutup dengan kaca alroji).
4. Dipindahkan gelas piala pada tanur (200 ° C) dan perlahan suhu dinaikkan hingga 500 ° C secara bertahap selama 2 jam. Sampel diabukan semalam pada suhu 500 ° C.
5. Cawan porselen dikeluarkan dari tanur dan dibiarkan didinginkan di atas asbes, apabila setelah didinginkan terlihat sisa karbon, ditambahkan 1 mL air dn 2 mL HNO<sub>3</sub>.
6. Abu dikeringkan di atas penangas air (500<sup>0</sup> C) selama 1 jam.

7. Perlakuan diulang sampai didapat hasil sampel berwarna putih berupa abu.
8. Ditambahkan 5 mL larutan campuran HCL dan HNO<sub>3</sub> pada sampel abu pada dinding cawan porselen lalu dipanaskan pada penangas air hingga abu terlarut.
9. Sebanyak 100 mL sampel tersebut dipindahkan pada labu ukur, lalu diimpitkan air suling pada labu ukur dan disaring menggunakan kertas saring tipe *Whatman* nomor 540.
10. Dibuat blanko menggunakan pereaksi yang sama.
11. Nilai absorbansi larutan standar, blanko, dan sampel dibaca dengan menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* (SSA) pada panjang gelombang 213,9 nm pada logam seng (Zn), 283,3 nm untuk logam tembaga dan 248,3 nm untuk logam timbal.
12. Dibuat kurva kalibrasi dengan sumbu Y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi (dalam ppm).
13. Kadar cemaran logam pada sampel dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar cemaran logam } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Kg logam dari kurva kalibrasi } xv}{m}$$

Keterangan :

v = volume pelarutan, dalam mL.

m = volume berat sampel, dalam gram.

### 3.7.7. Kadar Raksa

Cara kerja pengukuran kadar raksa (Hg) berdasarkan SNI (01-2896-1998) dilakukan dengan mereaksikan senyawa raksa dengan NaBH<sub>4</sub> atau SnCl<sub>2</sub> dalam keadaan asam dengan tujuan untuk membentuk gas atomik Hg sehingga dapat dilakukan pembacaan nilai absorbansi menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* dengan panjang gelombang 253,7 nm.

#### 3.7.7.1. Cara Pengabuan Basah

Cara analisa kadar raksa dalam makanan dapat dilakukan menggunakan cara pengabuan basah kemudian diikuti dengan pembacaan nilai absorbansi menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* (SSA) berdasarkan SNI (01-2896-1998) adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 5 gram sampel ditimbang.

2. Sampel dimasukkan pada labu destruksi dan ditambahkan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 18N, 20 mL HNO<sub>3</sub> 7N, 1 mL larutan natrium molibdat 2% dan 6 butir batu didih.
3. Labu destruksi dihubungkan dengan alat pendingin, kemudian dipanaskan selama 1 jam.
4. Dilakukan pemanasan selama 15 menit.
5. Sebanyak 20 mL ditambahkan larutan HNO<sub>3</sub> - HClO<sub>4</sub> dengan perbandingan (1:1) melalui alat pendingin.
6. Air yang mengalir pada pendingin dihentikan.
7. Pemanasan dilanjutkan selama 10 menit dengan suhu tinggi hingga logam timbal uap berubah berwarna putih, kemudian didinginkan.
8. Sebanyak 10 mL air ditambahkan melalui pendingin bersamaan labu destruksi digoyang-goyangkan.
9. Dilakukan pendidihan sampel kembali selama 10 menit.
10. Alat pemanas dimatikan dan alat pendingin dicuci sebanyak 3 kali dengan air suling, didinginkan pada suhu kamar.
11. Sampel larutan destruksi dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan diencerkan dengan air suling.
12. Blanko dibuat dengan pereaksi 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 18N, 20 mL HNO<sub>3</sub> 7N, 1 mL larutan natrium molibdat sebanyak 2%, lalu disiapkan deret standar.
13. Sebanyak 20 mL ditambahkan larutan pereduksi pada larutan deret standar, larutan destruksi, dan larutan blanko.
14. Nilai absorbansi larutan deret standar, larutan destruksi dan larutan blanko dibaca menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* tanpa nyala dengan panjang gelombang 253,7 nm.
15. Dibuat kurva kalibrasi dengan sumbu *Y* sebagai absorbansi dan sumbu *X* sebagai konsentrasi (dalam ppm).
16. Kadar Hg dalam sampel dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar raksa } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Kg } \frac{\text{logam}}{\text{ml}} \text{ dari kurva kalibrasi } \times v}{m}$$

Keterangan :

v = volume pelarutan, dalam mL.

m = volume berat sampel, dalam gram.

### 3.7.8. Kadar Arsen

Cara kerja analisa kadar arsen (As) dalam makanan berdasarkan Standar Nasional Indonesia (01-4866-1998) adalah, sebagai berikut :

1. Sebanyak 10 gram sampel ditimbang.
2. Sampel yang telah ditimbang ditambahkan reagen-reagen sesuai dalam (SNI 01-4866- 1998), kemudian diabukan.
3. Dimasukkan abu pada labu ukur berukuran 50 mL dan diimpitkan dengan aquades sampai batas tanda tera, untuk didapatkan larutan destruksi.
4. Sebanyak 20 mL larutan destruksi diambil lalu ditambahkan reagen-reagen sesuai cara kerja pada SNI 01- 4866- 1998.
5. Dimasukkan larutan destruksi ada labu ukur berukuran 25 mL, kemudian diimpitkan dengan aquades sampai batas tanda tera.
6. Larutan sampel dibaca menggunakan alat *Spektrofotometer Serapan Atom* (SSA) dengan panjang gelombang  $\gamma = 845$  nm.
7. Kadar raksa dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar raksa } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Kg } \frac{\text{logam}}{\text{ml}} \text{ dari kurva kalibrasi } xv}{m}$$

Keterangan :

v = volume pelarutan, dalam mL.

m = volume berat sampel, dalam gram.

### 3.8. Parameter Fisik

Parameter fisik yang diamati meliputi pengukuran densitas kamba pada bubuk kopi.

#### 3.8.1. Densitas Kamba

Analisa densitas kamba dihitung dengan menggacu kepada Singh *et al.*, (2005) yang dimodifikasi, adalah :

1. Sebanyak 3 gram sampel ditimbang.
2. Sampel yang sudah ditimbang dimasukkan dalam gelas ukur berukuran 10 mL.
3. Sampel dipadatkan lalu diketuk-ketuk pada gelas ukur sampai tidak terdapat rongga.
4. Densitas kamba dihitung dengan persamaan :

$$\text{Densitas } n = \frac{M}{V}$$

Keterangan : M = Berat sampel yang dianalisa, dalam gram.

V = Volume sampel yang diamati (mL).