

BAB VI Hasil Dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adulteran pada bahan baku sediaan kopi instan secara analisis sidik jari FT-IR. Penelitian ini diawali dengan melakukan pengumpulan bahan baku, preparasi sampel, pengukuran spektrum infra merah, pembuatan model sidik jari secara kemometrik, validasi metode *Principal Component Analysis* (PCA), analisis atau deteksi adulteran pada sampel. Analisis sidik jari kopi instan menggunakan FT-IR (Agilent Cary 630 FT-IR, USA), dan interpretasi hasil menggunakan metode kemometrik yaitu *Principal Component Analysis* (PCA).

VI.1 Pengumpulan bahan baku

Bahan baku kopi robusta dan beras ketan hitam diambil dari tiga daerah yang berbeda yaitu dari daerah Lampung, Bandung dan Nusa Tenggara Timur dengan sampel kopi instan dari tiga produk yang berbeda yang ada di pasaran. Pengambilan bahan baku dan sampel dengan teknik sampling secara acak.

VI.2 Preparasi sampel

Kopi robusta yang berasal dari petani kopi langsung masih dalam berbentuk biji kopi hijau (*green bean*), kemudian dilakukan proses penyangraian biji kopi yang tergantung pada waktu dan suhu yang ditandai dengan perubahan kimiawi yang signifikan. Suhu yang digunakan 196-205 °C (*dark roast*). Tahap awal *roasting* adalah membuang uap air pada suhu penyangraian 100 °C. Pada tahap pirolisis terjadi perubahan – perubahan komposisi kimia, yaitu pada suhu sekitar 180-200 °C. Proses *roasting* berlangsung 5-30 menit.

Kemudian dilakukan proses penggilingan menggunakan blender sehingga mengalami perubahan bentuk dari biji menjadi serbuk kopi.

Proses persiapan beras ketan hitam yaitu beras ketan hitam ditampi dan dibersihkan dari kotoran seperti batu dan juga kotoran lain, lalu dilakukan proses penyangraian dengan waktu yang lebih singkat dan suhu yang lebih rendah dari proses penyangraian pada biji kopi robusta sebelumnya. Setelah itu, dilakukan penggilingan untuk menghaluskan biji beras ketan hitam sehingga diperoleh bubuk beras ketan hitam yang halus. Beras ketan hitam yang telah halus diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Metode maserasi dipilih karena metode ini lebih sederhana, mudah dan tidak perlu menggunakan pemanasan sehingga senyawa dalam simplisia yang tidak tahan panas tidak rusak karena kenaikan suhu. Pelarut etanol dipilih karena memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar sampai senyawa nonpolar. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan menimbang sebanyak 300 g sampel dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditambahkan 750 mL etanol 96 % dan direndam selama 24 jam dengan sesekali pengadukan tiap 6 jam. Maserat dipisahkan dan dipindahkan ke Erlenmeyer lain, sedangkan ampas diperlakukan sama sebanyak 2 kali maserasi. Setelah melalui tahap ekstraksi, maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung persentase rendemen ekstrakanya. Persentase rendemen menunjukkan kemaksimalan dari pelarut dalam menyari simplisia. Rendemen simplisia kopi dan beras ketan hitam dari Lampung, Bandung dan Nusa Tenggara Timur

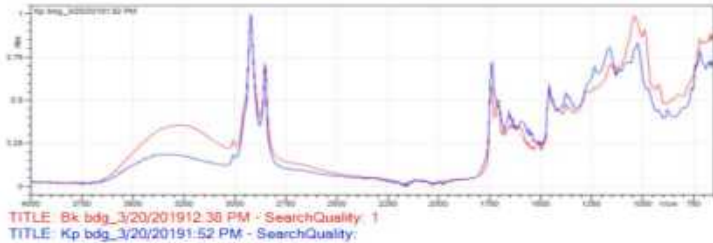
berturut-turut sebesar 9,84 ; 7,27 dan 11,39 % untuk kopi sedangkan beras ketan hitam sebesar 2,5 ; 1,94 dan 0,53 %.

Ekstrak kental yang didapat dikeringkan dengan menguapkannya di cawan penguap menggunakan *water bath* dan kompor listrik. Setelah mulai kering disimpan di dalam toples yang kedap udara berisi silika gel untuk menarik sisa air/pelarut yang ada pada ekstrak dan didiamkan selama tiga minggu sebelum dianalisis.

VI.3 Pengukuran spektrum infra merah

Ekstrak kering yang sudah disiapkan diukur spektrum inframerahnya menggunakan alat Spektrofotometri FT-IR ATR (*Agilent Cary 630* FT-IR, USA) dan aplikasi *Microlab Expert*. Spektrum FT-IR dibaca pada Frekuensi $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ dan resolusi 4 cm^{-1} , dengan teknik pengukuran *reflectan* dengan mengukur absorpsi radiasi yang menghasilkan suatu daerah gugus fungsional dan daerah sidik jari inframerah yang khas dalam spectrum. Pola spektrum sidik jari dapat memberikan informasi yang lebih akurat dan realistis sehingga dapat mendeteksi suatu senyawa yang diinginkan. Spektrum FT-IR akan menampilkan keseluruhan informasi ikatan dalam suatu molekul yang terdiri atas gerak vibrasi dan rotasi. Hal tersebut membuat spektroskopi FT-IR sangat berguna untuk analisis kualitatif seperti membedakan antar sampel. Akan tetapi, interpretasinya dapat menjadi sulit dilakukan akibat adanya kemiripan dari setiap respon ikatan pada molekul yang ada dalam suatu sampel. Metode pengukuran FT-IR yang digunakan pada penelitian ini menggunakan sistem ATR yang bekerja dengan cara mengukur perubahan yang terjadi dalam proses pemantulan sinar inframerah ketika sinar datang

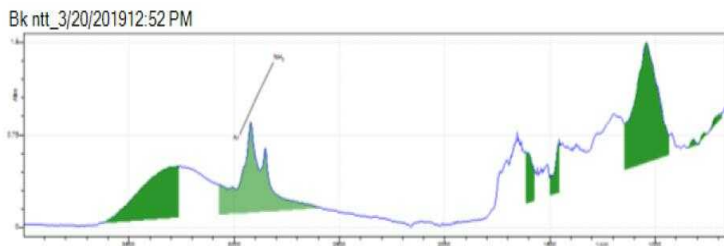
menuju sampel. Kelebihan metode ATR ialah pengukuran bersifat nondestruktif dan tidak dibutuhkan persiapan sampel yang rumit sehingga proses analisisnya lebih cepat.



Gambar VI.1 Spektrum FT-IR overlay ekstrak kopi dengan ekstrak beras ketan hitam.

VI.3.1 Analisis gugus fungsional ekstrak kopi dan ekstrak beras ketan hitam.

Pada gambar VI.1 Spektrum FT-IR ekstrak kopi dengan ekstrak beras ketan hitam menunjukkan perbedaan spektrum disekitar area gugus fungsional yaitu pada bilangan gelombang $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ dan sidik jari yaitu pada bilangan gelombang $1400\text{--}400\text{ cm}^{-1}$.



Corresponding Chemical Classification Rules

Functional Group: 'Aliphatic Amine or Amino, Aryl Subs. General', Chemical Class: 'Aromatic Amine', Chemical Sub Class: 'Aryl Substituted Aliphatic Amine'

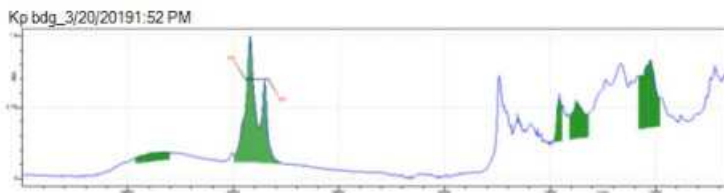
Vibration	Start WN	End WN	Threshold	Priority
C-H Bend, OOP	850	680	Strong	Mandatory
N-H Deformation	805	705	Strong	Mandatory
C-N Stretch	1145	1040	Variable	Mandatory
C-H Bend, CH ₂ /CH ₃	1475	1450	Variable	Mandatory
C-C Stretch, Ring	1505	1475	Variable	Mandatory
C-C Stretch, Ring	1610	1575	Variable	Mandatory
C-H Stretch, CH ₂	2970	2845	Variable	Medium
C-H Stretch, Aryl	3095	2995	Variable	Medium
N-H Stretch	3400	3270	Variable	Mandatory

Missing Chemical Classification Rules

Functional Group: 'Aliphatic Amine or Amino, Aryl Subs. General', Chemical Class: 'Aromatic Amine', Chemical Sub Class: 'Aryl Substituted Aliphatic Amine'

Vibration	Start WN	End WN	Threshold	Priority
-----------	----------	--------	-----------	----------

Gambar VI.2 Analisis gugus fungsi dari spektrum FT-IR ekstrak beras ketan hitam.



Corresponding Chemical Classification Rules

Functional Group: 'Hydroxy, Possibly 1,2-Diol', Chemical Class: 'Aliphatic Alcohol'

Vibration	Start WN	End WN	Threshold	Priority
C-O Stretch	1070	1020	Variable	Mandatory
O-H Def.	1400	1300	Variable	Mandatory
C-H Bend, CH ₂ /CH ₃	1475	1445	Variable	Very High
C-H Stretch, CH ₂	2975	2840	Variable	High
O-H Stretch	3450	3300	Variable	Mandatory

Missing Chemical Classification Rules

Functional Group: 'Hydroxy, Possibly 1,2-Diol', Chemical Class: 'Aliphatic Alcohol'

Vibration	Start WN	End WN	Threshold	Priority
-----------	----------	--------	-----------	----------

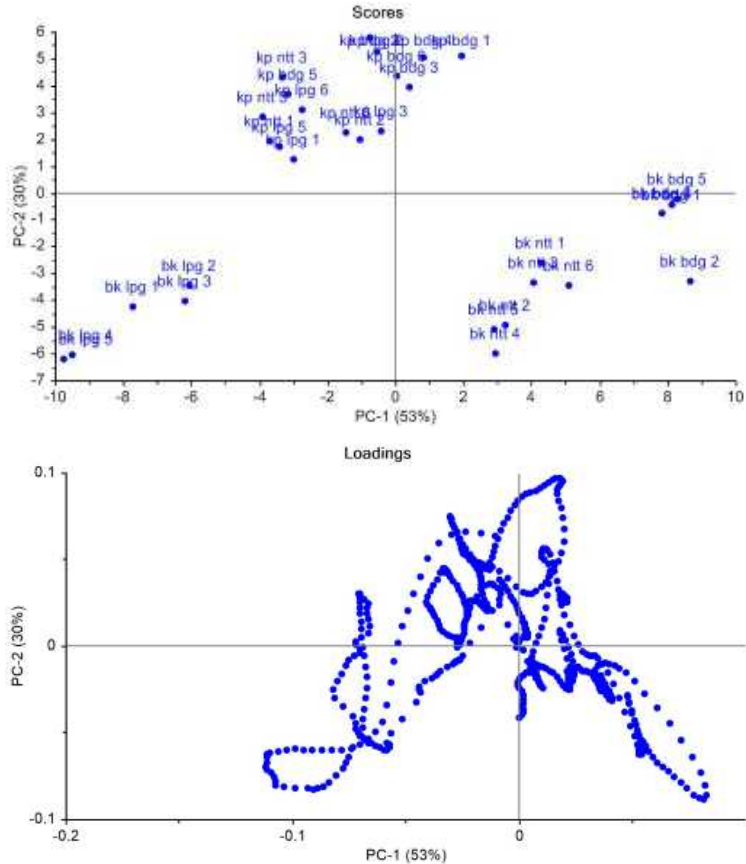
Gambar VI.3 Analisis gugus fungsi dari spektrum FT-IR ekstrak kopi.

VI.4 Pembuatan model sidik jari secara kemometrik

Spektrum FTIR mengandung informasi kuantitatif yang dapat menggambarkan ciri khas suatu sampel. Informasi tersebut tidak dapat diamati dengan hanya melihat pola serapan spektrum, tetapi membutuhkan alat bantu berupa metode ekstraksi data atau pola yang disebut sebagai kemometrika agar dapat menunjukkan interpretasi yang lebih berarti. Metode kemometrika yang dapat digunakan seperti analisis komponen utama (PCA).

Kemometrik adalah penggunaan ilmu statistika dan matematika untuk pengolahan data kimia. Metode ini dilakukan dengan *software* Unscrambler 10.4, kemometrik yang digunakan pada *anlysis* ini adalah PCA (*Principal Componen Analysis*). PCA merupakan interpretasi data yang dilakukan dengan mereduksi data, dimana jumlah *variable* dalam satu matriks dikurangi untuk menghasilkan *variable* baru dengan tetap mempertahankan informasi yang dimiliki oleh data. Variable baru yang dihasilkan berupa skor atau komponen utama. Hasil dari analisis PCA berupa *scores* dan *loading*.

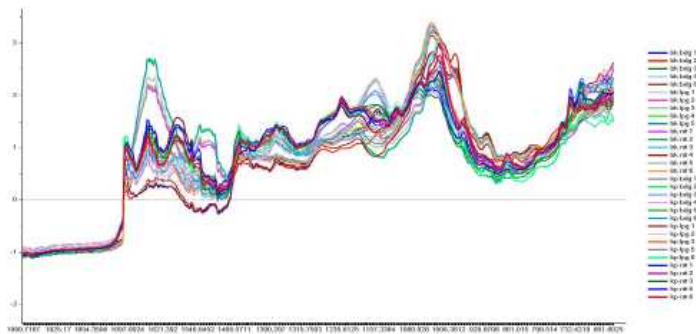
Dengan menggunakan data yang telah diperoleh didapat 3 PC, dari 3 PC tersebut didapat beberapa data *scores* dan *loading*. Dari data-data *scores* dan *loading* dengan beberapa PC tersebut yang dipakai hanya PC 2 terhadap PC 1, karena pada PC tersebut didapat pengelompokan data yang bagus.



Gambar VI.4 *Scores* dan *loading* PCA ekstrak kopi dan beras ketan hitam dari tiga daerah (PC 2 terhadap PC 1).

Dari gambar VI.4 terbukti bahwa pada spektrogram ekstrak kopi dari ketiga daerah memiliki karakteristik yang sama, karena ketiganya berada pada kuadran yang sama. Spektrogram ekstrak beras ketan hitam dan kopi dari ketiga daerah menunjukkan tidak adanya kemiripan peak dan memiliki karakteristik yang berbeda, dibuktikan

dengan nilai scores ekstrak kopi dari ketiga daerah berada pada kuadran yang berbeda dengan ekstrak beras ketan hitam. Dari hasil analisis PCA tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kopi dari Lampung, Bandung dan Nusa Tenggara Timur memiliki karakteristik yang sama. Jika dibandingkan ketiga ekstrak kopi tersebut sangat berbeda karakteristiknya dengan ekstrak beras ketan hitam.



Gambar VI.5 Gabungan line plot ekstrak kopi dari tiga daerah LPG, BDG, NTT dan ekstrak beras ketan hitam dari tiga daerah LPG, BDG, NTT.

VI.5 Validasi Metode PCA

Validasi metode yang digunakan dalam analisis kemometrik ini adalah *Principal Component Analysis* (PCA) sebuah teknik statistik yang digunakan untuk melihat keterkaitan antara seperangkat variabel secara berurutan untuk mengidentifikasi struktur dasar dari variabel-variabel tersebut juga disebut analisis faktor. Pada PCA ada dua komponen yaitu statistik dan matriks algebra (eigen value, matriks dasar dari PCA), yang mana syarat eigen value ≥ 1 dan validasi yang digunakan adalah cross validation.

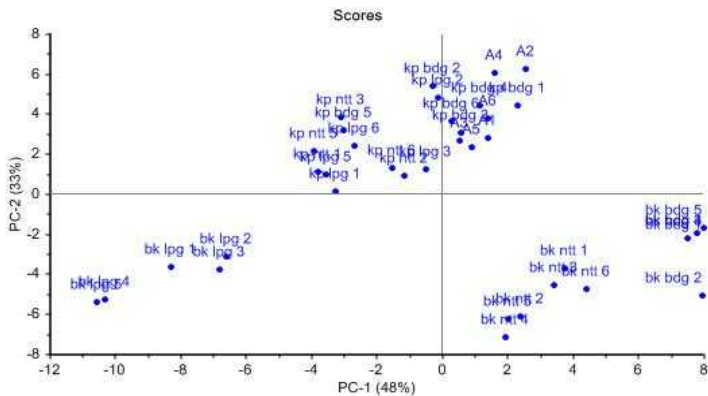
Tabel VI.1 Eigen Value

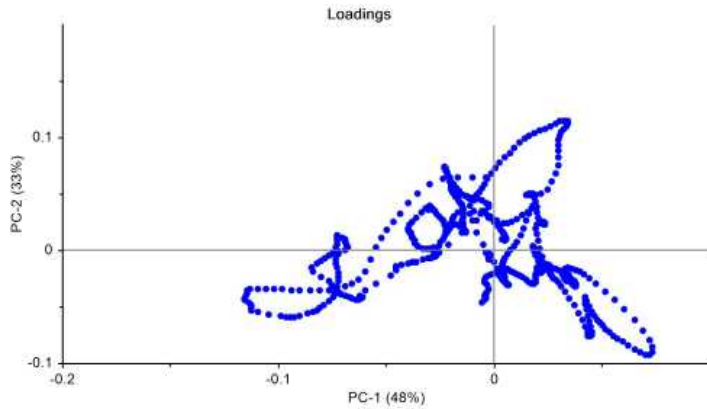
Komponen Utama	Eigenvalue
PC 1	26,7076
PC 2	15,1292
PC 3	4,7195
Syarat	≥ 1

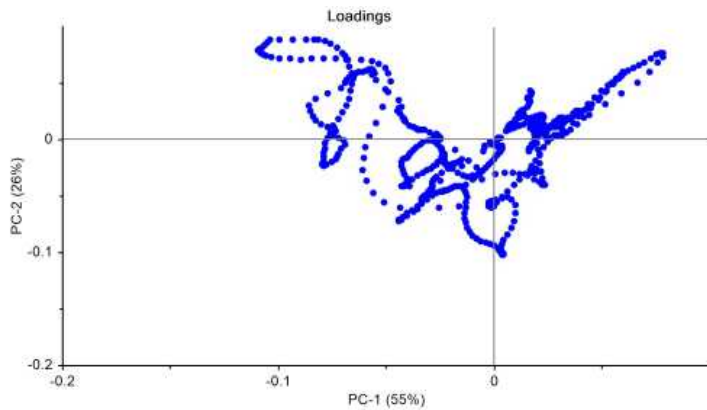
VI.6 Analisis deteksi adulteran pada sampel

Dengan menggunakan data yang telah diperoleh didapat 3 PC, dari 3 PC tersebut didapat beberapa data scores dan loading. Dari data-data *scores* dan *loading* dengan beberapa PC tersebut yang dipakai hanya PC 2 terhadap PC 1, karena pada PC tersebut didapat pengelompokan data yang bagus.

Sampel kopi instan A

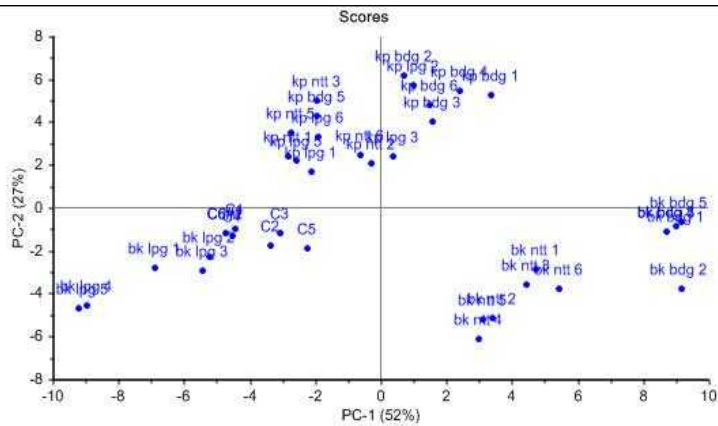


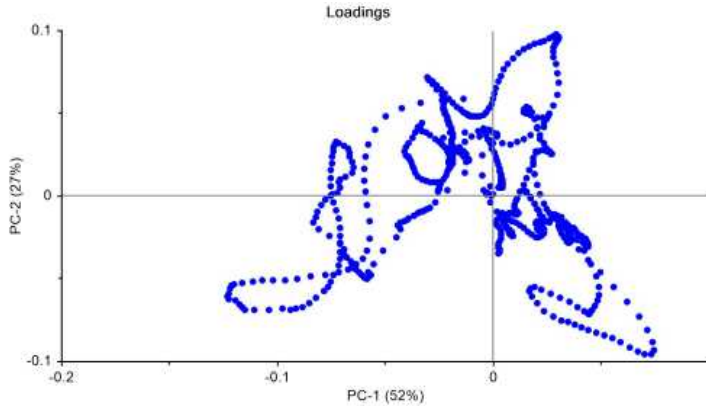




Gambar VI.7 Scores dan loadings PCA sampel B (PC 2 terhadap PC 1).

Sampel kopi instan C





Gambar VI.8 *Scores* dan *loadings* PCA sampel C (PC 2 terhadap PC 1).

Dari gambar VI.6, VI.7, VI.8 terbukti bahwa pada spektrogram sampel kopi instan dari tiga produk A, B, dan C memiliki karakteristik yang berbeda, karena ketiganya berada pada kuadran yang berbeda sehingga diyakini dengan hasil sebagai berikut :

1. Sampel A diyakini murni karena terdapat pada kuadran kopi murni dan jauh dari kuadran beras ketan hitam.
2. Sampel B diyakini mengandung adulteran lain karena tidak terdapat pada kuadran beras ketan dan jauh dari kuadran kopi murni.
3. Sampel C diyakini mengandung adulteran beras ketan karena terdapat di kuadran beras ketan.