

PENGEMBANGAN METODE DETEKSI MINYAK KEDELAI DALAM CAMPURAN MINYAK KELAPA MURNI DENGAN SPEKTROSKOPI INFRA MERAH DAN KEMOMETRIKA

Analytical Method Development for Analysis of Soybean Oil in the Mixture with Virgin Coconut Oil Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics

Abdul Rohman^{1,2}, Yaakob B. Che Man³

¹Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55221, Indonesia

²Kelompok Penelitian Halal, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM), Yogyakarta 55221, Indonesia

³Institut Penyelidikan Produk Halal, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM, Serdang, Selangor, Malaysia
Email: abdulkimfar@gmail.com

ABSTRAK

Spektroskopi Fourier Transform Infra Merah (FTIR) yang digabung dengan kemometrika analisis diskriminan serta analisis multivariat *Partial Least Square* (PLS) dan *Principal Component Regression* (PCR) telah digunakan untuk analisis adanya minyak kedelai dalam minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*, VCO). Spektra infra merah yang berhubungan dengan VCO, minyak kedelai, serta campuran keduanya direkam, diinterpretasi, dan diidentifikasi. Kombinasi daerah bilangan gelombang 1200 – 1000 dan 3025 – 2995 cm^{-1} digunakan untuk tujuan ini. Analisis diskriminan menunjukkan bahwa VCO murni dapat dibedakan dengan VCO yang telah ditambah dengan minyak kedelai dengan tingkat akurasi 100 %. Sementara itu, model kalibrasi PLS menggunakan spektra normal lebih terpilih untuk kuantifikasi minyak kedelai dalam VCO dibandingkan dengan PCR dan spektra turunannya. Nilai koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh > 0,99 dengan tingkat kesalahan (baik kesalahan kalibrasi atau prediksi) yang dapat diterima.

Kata kunci: Minyak kelapa murni, minyak kedelai, kalibrasi multivariat, analisis diskriminan

ABSTRACT

Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy combined with the chemometrics techniques of Discriminant Analysis (DA) as well as multivariate analysis of Partial Least Square (PLS) and Principal Component Regression (PCR) has been developed for analysis of soybean oil (SO) in virgin coconut oil (VCO). The spectral bands correlated with VCO, soybean oil (SO), and their blends were scanned, interpreted, and identified. The combined wavenumber regions of 1200 – 1000 and 3025 – 2995 cm^{-1} were used during analysis either in classification using DA or in quantification using PLS and PCR. DA can be successfully used for the classification of VCO and that added with SO with the accuracy level of 100 %. Furthermore, PLS using FTIR normal spectra was preferred to be used for the quantification of SO in VCO over PCR and the spectral derivatives. The coefficient of determination (R^2) value obtained for the relationship between actual and FTIR predicted value of SO is higher than 0.99 with acceptable errors, either in calibration or in validation models.

Keywords: Virgin coconut oil, soybean oil, multivariate calibrations, discriminant analysis

PENDAHULUAN

Minyak kelapa murni (*Virgin coconut oil*, VCO) merupakan minyak makan fungsional karena mempunyai efek yang menguntungkan bagi kesehatan manusia (Nevin dan Rajamohan, 2008). VCO telah dilaporkan mampu menurunkan trigliserida, fosfolipida, dan kolesterol total (Nevin dan Rajamohan 2004). Selain itu, senyawa fenolik dalam VCO berkontribusi terhadap efek antioksidan secara *in vitro* melalui pembentukan gugus karbonil yang tereduksi (Marina dkk., 2009). Penentuan keaslian (autentikasi) makanan termasuk minyak dan lemak serta deteksi pemalsuan makanan merupakan isu besar dalam bidang makanan, tidak hanya bagi para produsen, akan tetapi juga bagi konsumen dan pemerintah (Lai dkk., 1995). Deteksi pemalsuan makanan merupakan hal yang penting untuk perlindungan kesehatan konsumen (Pouli dkk., 2007), karena beberapa konsumen alergi terhadap bahan pemalsu yang ditambahkan ke dalam makanan sebagaimana yang terjadi di Spanyol, yang mana beberapa orang meninggal karena kasus pemalsuan minyak zaitun (Asensio dkk., 2008).

Pemalsuan makanan biasanya didorong oleh alasan ekonomi dengan tujuan untuk memperoleh keuntungan yang besar dengan cara mencampur minyak berharga tinggi dengan minyak yang bernilai rendah (Gallardo-Velázquez dkk., 2009). Di pasaran, harga VCO 10 – 15 kali lebih tinggi dibandingkan dengan minyak nabati lainnya seperti minyak sawit, jagung, dan minyak kedelai (Rohman dan Che Man 2009^a). Kenyataan ini mendorong para penjual VCO untuk mencampur atau mengencerkan VCO dengan minyak lainnya. Karena alasan inilah, maka diperlukan teknik analisis yang mampu mendeteksi secara cepat dan akurat adanya pemalsuan minyak nabati lain dalam VCO. Salah satu metode yang dikembangkan untuk tujuan ini adalah spektroskopi Fourier Transform Inframerah (FTIR).

Spektroskopi FTIR merupakan teknik analisis kimia yang cepat, akurat, dan tidak banyak melibatkan penyiapan sampel (Rohman dan Che Man, 2008). Dalam bidang autentikasi minyak, kelompok kami telah menggunakan spektroskopi FTIR yang digabungkan dengan kemometrika tertentu untuk autentikasi minyak zaitun dari minyak sawit (Rohman dan Che Man, 2010), minyak hati ikan cod (Rohman dan Che Man, 2009^b; Rohman dan Che Man, 2011); serta untuk autentikasi VCO dari minyak biji sawit (Manaf dkk., 2007), minyak babi (Mansor dkk., 2010), dan minyak sawit (Rohman dan Che Man, 2009^a). Meskipun demikian, belum ada laporan tentang penggunaan teknik ini untuk analisis kuantitatif adanya minyak kedelai dalam VCO. Oleh sebab itu, studi ini bertujuan untuk melakukan kuantifikasi minyak kedelai dalam VCO serta untuk membedakan VCO murni

dengan VCO yang telah dicampur dengan minyak kedelai dengan kemometrika analisis diskriminan.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Sampel

Sampel minyak kelapa murni (VCO) dan minyak kedelai dibeli di daerah Yogyakarta. Pelarut dan bahan kimia lain yang digunakan dibeli dari E. Merck (Damstat, Jerman). Untuk memastikan bahwa minyak yang digunakan tidak tercampur dengan minyak lain, maka dilakukan analisis komposisi asam lemaknya dengan kromatografi gas sebagaimana dilaporkan dalam Rohman dan Che Man (2009^a). Komposisi asam lemak dalam minyak yang digunakan berada dalam kisaran asam lemak yang terdapat di Codex Alimentarius (2003).

Analisis Diskriminan

Minyak kedelai dicampur dengan VCO untuk memperoleh serangkaian standar atau serangkaian spektrum terlatih yang terdiri atas VCO murni dan VCO yang tercampur dengan minyak kedelai dengan konsentrasi 1 – 50 % v/v. VCO yang mengandung minyak kedelai ditandai sebagai “VCO tercampur”, sementara VCO murni ditandai sebagai “VCO murni”.

Analisis Kuantitatif Minyak Kedelai

Analisis kuantitatif minyak kedelai dalam VCO dilakukan dengan analisis multivariat menggunakan dua model kalibrasi, yaitu: *partial least square* (PLS) dan *principal component regression* (PCR). Kalibrasi PLS dan PCR dilakukan dengan mempersiapkan sejumlah standar yang mengandung minyak kedelai dalam VCO dalam kisaran 0 – 50 % v/v. Untuk validasi atau prediksi, sejumlah sampel independen disiapkan. Semua sampel dianalisis dengan spektrometer FTIR.

Analisis Instrumental

Spektra FTIR standar dan sampel dibaca dengan perangkat lunak Nicolet Omnic (version 7.0, Thermo Nicolet). Instrumen FTIR yang digunakan adalah Thermo Nicolet 6700 (Thermo Nicolet Corp., Madison, WI), yang dilengkapi dengan lempeng Kristal ZnSe, dengan teknik penanganan sampel *attenuated total reflectance* (ATR) menggunakan detektor *deuterated triglycine sulfate* (DTGS). Tetesan minyak ditempatkan pada Kristal ATR pada suhu terkontrol. Pengukuran dilakukan pada 32 *scan*, dan pada daya pisah (resolusi) 4 cm^{-1} . Setelah selesai dilakukan *scanning*, lempeng Kristal ATR dibersihkan dengan heksan dua kali dan aseton sekali serta dikeringkan dengan tisu

halus. Untuk menghindari adanya variasi spektra antar hari, maka spektrum dasar diukur setiap kali sebelum pengukuran sampel. Instrumen dijaga pada kelembapan yang konstan untuk meminimalkan gangguan uap udara. Semua spektra direkam dari 4000 sampai 650 cm^{-1} dan dilakukan replikasi 3 kali.

Analisis Statistik

Analisis multivariat termasuk analisis diskriminan dan kalibrasi multivariat (PLS dan PCR) dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak TQ Analyst versi 6.0 (Thermo Nicolet, Madison, WI). PLS dan PCR dilakukan untuk membuat model kalibrasi. Daerah spektra yang menunjukkan perbedaan spektrum VCO dan minyak kedelai dipilih untuk membuat model kalibrasi dan analisis diskriminan. Kertas kerja Excel 2007 digunakan untuk menghubungkan antara konsentrasi minyak kedelai sebenarnya (*actual value*) dengan konsentrasi minyak kedelai yang ditemukan/ terprediksi (*predicted value*). Nilai *root mean square error of calibration* (RMSEC) dan koefisien determinasi (R^2) digunakan sebagai kriteria untuk model kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

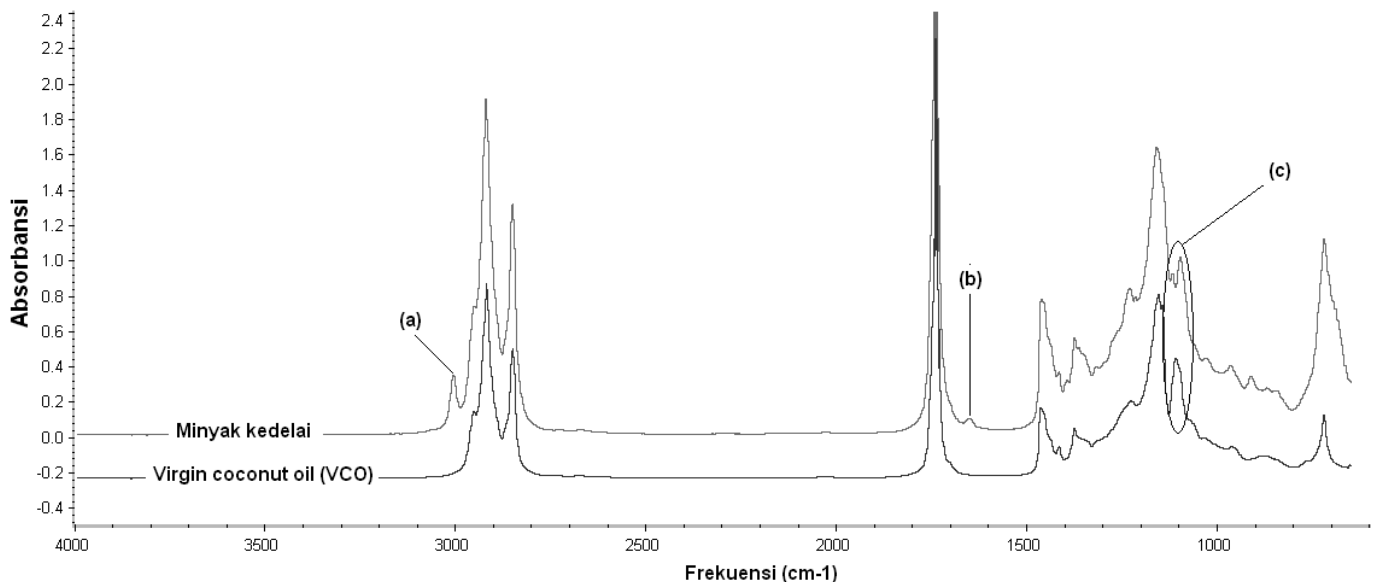
Analisis Spektra

Komponen utama dalam minyak dan lemak adalah triasilgliserol (TAG), yang secara kimiawi merupakan gliserol yang teresterkan dengan asam lemak. Selain itu

minyak juga mengandung diasilgliserol (DAG), asam lemak bebas, fosfolipid, dan komponen-komponen minor lainnya. Karenanya, spektrum TAG mendominasi spektrum minyak. Gambar 1 merupakan FTIR spektra minyak kedelai dan VCO pada bilangan gelombang 4.000 – 650 cm^{-1} sebagaimana digambarkan oleh Guillen dan Cabo (1997). Minyak-minyak ini menunjukkan spektra yang hampir sama dan menunjukkan karakteristik spektra TAG, karena TAG merupakan komponen utama dalam minyak (Safar dkk., 1994).

Spektroskopi infra merah merupakan teknik sidik jari yang mana tidak ada dua buah senyawa yang mempunyai jumlah dan atau intensitas puncak yang sama pada spektrum infra merahnya, karenanya spektrum infra merah dapat digunakan untuk membedakan minyak-minyak ini (Pavia dkk., 2001). Interpretasi puncak yang terkait dengan gugus-gugus fungsional yang bertanggung jawab pada serapan infra merah minyak kedelai dan VCO telah dilaporkan sebelumnya (Rohman dan Che Man, 2010^c; Lerma-Garcia dkk., 2010).

Pengamatan visual menunjukkan bahwa spektra minyak-minyak ini sangat mirip satu sama lain, meskipun demikian, pengamatan secara teliti menunjukkan adanya perbedaan puncak di 3007 cm^{-1} (a) dan 1654 cm^{-1} (b) yang disebabkan oleh perbedaan tingkat kejenuhan antara minyak kedelai dan VCO (Guillen dan Cabo, 1997). Selain itu, di daerah 1200 – 1000 cm^{-1} , VCO menunjukkan satu puncak sementara minyak kedelai mempunyai dua puncak (c). Perbedaan-perbedaan ini selanjutnya dioptimasi untuk memilih kisaran bilangan gelombang yang tepat untuk analisis diskriminan dan kalibrasi multivariat.



Gambar 1. Spektra infra merah minyak kedelai dan virgin coconut oil (VCO) pada bilangan gelombang 4.000 – 650 cm^{-1}

Analisis Diskriminan

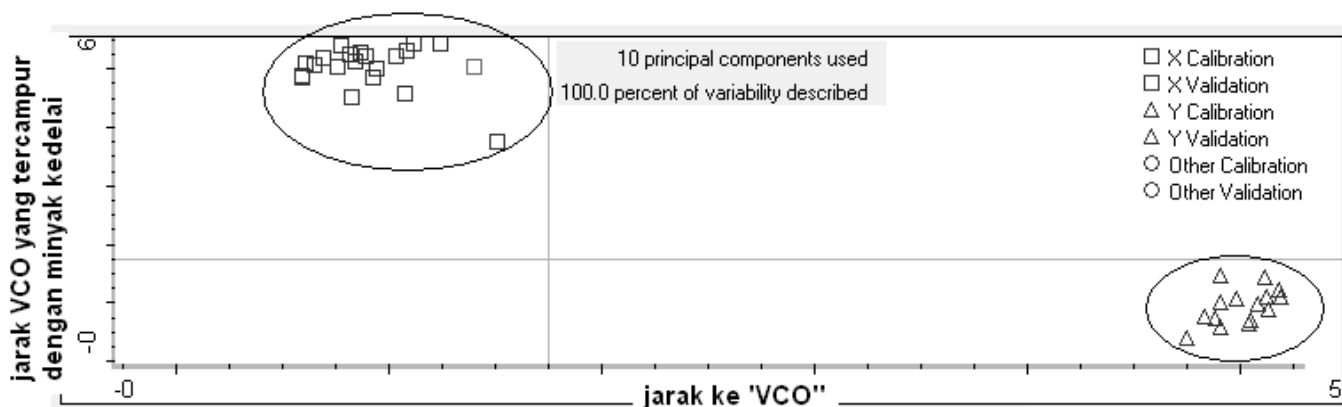
Analisis diskriminan (AD) dapat digunakan untuk menentukan VCO dan VCO yang mengandung minyak kedelai dengan menghitung satuan jarak Mahalanobis. Sekali model pengelompokan diperoleh, maka keanggotaan sampel yang tidak diketahui dapat diperkirakan (Ballabio dan Todeschini, 2009). Bilangan gelombang yang digunakan untuk AD adalah kombinasi kisaran bilangan gelombang 3025 – 2995 dan 1200 – 1000 cm⁻¹. Pemilihan kisaran bilangan gelombang ini didasarkan pada suatu optimasi yang menghasilkan kemampuan diskriminasi antara VCO dengan VCO yang mengandung minyak kedelai.

Gambar 2 menunjukkan plot *Coomans* untuk pengelompokan VCO murni dan VCO yang telah dicampur dengan dengan minyak kedelai. Sumbu *-x* menunjukkan jarak Mahalanobis terhadap “VCO”, sementara sumbu *-y* menunjukkan jarak Mahalanobis terhadap “VCO yang tercampur dengan minyak kedelai”. Jarak Mahalanobis

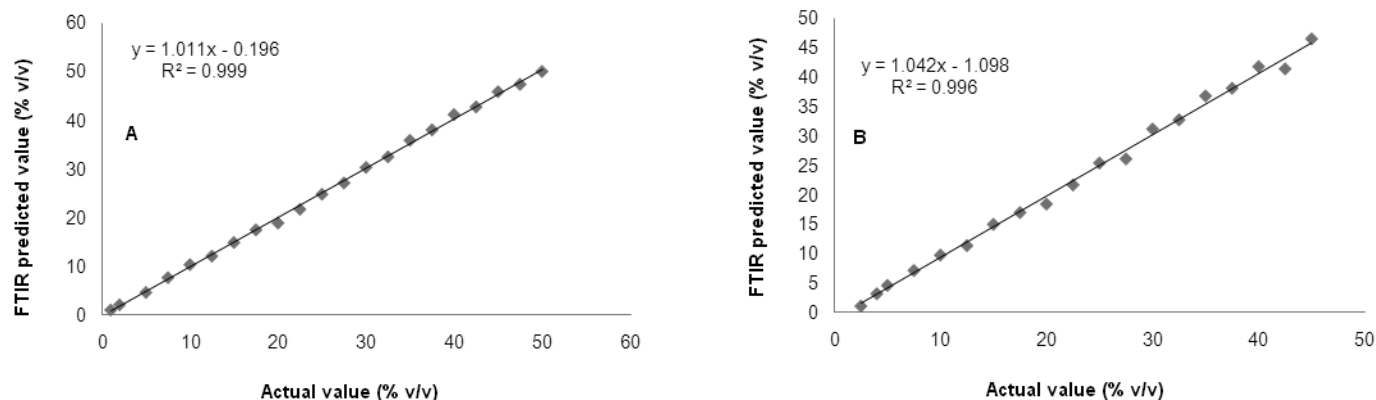
berguna dalam penentuan keserupaan atau ketidakserupaan serangkaian sampel yang tidak diketahui terhadap serangkaian sampel yang telah diketahui (Tay dkk., 2002). Plot *Coomans* dalam Gambar 2 secara jelas menunjukkan bahwa “VCO murni” terpisah dengan “VCO yang tercampur”, dengan tingkat akurasi 100 % yang berarti bahwa tidak ada satu sampel minyak yang terkelompokkan secara salah.

Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif minyak kedelai dalam VCO dilakukan dengan menggunakan kalibrasi multivariat menggunakan teknik PLS dan PCR. Kedua teknik ini sering digunakan untuk analisis campuran yang kompleks karena keduanya mampu menentukan tiap-tiap komponen dalam campuran secara cepat dan bersama-sama dalam waktu yang singkat (Maggio dkk., 2009). Kisaran bilangan gelombang yang digunakan untuk analisis diskriminan digunakan juga untuk analisis kuantitatif (Kombinasi bilangan gelombang



Gambar 2. Plot *Coomans* untuk pengelompokan VCO murni dan VCO yang telah dicampur dengan dengan minyak kedelai. (□) VCO murni; (△) VCO yang mengandung minyak kedelai



Gambar 3. Model kalibrasi PLS untuk hubungan antara nilai sbenarnya (*actual value*) dan nilai terprediksi dengan FTIR spektroskopi (*FTIR predicted value*) pada kombinas bilangan gelombang 1200-1000 and 3025- 2995 cm⁻¹. A = kalibrasi; B = prediksi

3025 – 2995 dan 1200 – 1000 cm⁻¹). Tabel 1 meringkas kinerja PLS dan PCR untuk analisis minyak kedelai dalam VCO baik dengan spektra normal atau spektra turunannya.

Secara umum, dari tabel 1 dapat ditunjukkan bahwa kalibrasi dengan PLS menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan PCR. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai R² serta rendahnya nilai kesalahan, baik kesalahan di kalibrasi yang dinyatakan dengan RMSEC (*root mean square error of calibration*) maupun kesalahan di prediksi yang dinyatakan sebagai RMSEP (*root mean square error of prediction*). Disamping itu, spektra normal juga menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan spektra turunannya (baik turunan pertama ataupun turunan kedua).

Gambar 3 menunjukkan plot sebaran hubungan antara kandungan minyak kedelai sebenarnya (*sumbu-x*) dan nilai kandungan minyak kedelai terprediksi dengan FTIR (*sumbu-y*) menggunakan spektra normal dan kalibrasi multivariat PLS. Sebanyak 5 faktor (komponen utama) cukup untuk melakukan model kalibrasi ini. Berdasarkan hasil analisis diskriminan dan PLS dapat dikatakan bahwa spektroskopi FTIR merupakan teknik yang reliabel dan akurat untuk deteksi adanya minyak kedelai sebagai minyak pemalsu dalam VCO.

Tabel 1. Kalibrasi multivariat untuk menentukan kandungan minyak kedelai dalam VCO pada bilangan gelombang 3025- 2995 dan 1.200 – 1000 cm⁻¹ dengan menggunakan teknik PLS dan PCR

Kalibrasi multivariat	Spektra	Faktor	R ²		RMSEC (% v/v)	RMSEP (% v/v)
			Kalibrasi	Prediksi		
PLS	Normal	5	0,999	0,996	0,268	1,04
	1 st der	5	0,999	0,989	0,334	1,70
	2 nd der	6	0,998	0,877	0,532	5,53
PCR	Normal	10	0,999	0,995	0,208	1,05
	1 st der	10	0,999	0,990	0,337	1,64
	2 nd der	10	0,992	0,915	1,22	4,81

PLS = partial least square; PCR = principal component regression; RMSEC = *root mean square error of calibration*; RMSEP = *root mean square error of prediction*. 1st der = spectra turunan pertama; 2nd der = spectra turunan kedua

KESIMPULAN

Spektroskopi FTIR yang digabung dengan kemometrika analisis diskriminan dan model kalibrasi PLS dapat digunakan untuk klasifikasi dan kuantifikasi adanya minyak kedelai dalam VCO. Metode ini cepat, hanya memerlukan waktu 3 menit/tiap pengukuran, serta tidak melibatkan penggunaan reagen dan pelarut yang membahayakan bagi kesehatan manusia dan lingkungan sekitar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Ketenagaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional (Kemendiknas) atas beasiswa yang diberikan selama mengikuti pendidikan S-3 di Institut penyelidikan Produk Halal, Universiti Putra Malaysia.

DAFTAR PUSTAKA

- Asensio, L., Gonzalez, I., Garcia, T. dan Martin, R. (2008). Review: determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Control* **19**: 1-8.
- Ballabio, D. dan Todeschini, R. (2009). *Multivariate Classification for Qualitative Analysis in Infrared Spectroscopy for Food Quality: Analysis and Control*, Elsevier, USA. p. 83 – 104.
- Codex Alimentarius Commission (2001). *Fats, Oils and Related Products*, 2nd Edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Zuñiga-de Loa, M. dan Rivera-Espinoza, Y. (2009). Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys. *Food Research International* **42**: 313–318.
- Guillen, M.D. dan Cabo, N. (1997). Characterization of edible oils and lard by fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **74**: 1281 – 1286.
- Lai, Y.W., kesley, E.K. dan Wilson, R.H. (1995). Quantitative analysis of potential adulterants of extra virgin olive oil using infrared spectroscopy. *Food Chemistry* **53**: 95-98.
- Lerma-García, M.J., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martínez, J.M. dan Simó-Alfonso, E.F. (2010). Authentication of extra virgin olive oils by fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* **118**: 78–83.
- Maggio, R.M., Kaufman T.S., De Carlo M., Cerretani, L., Bendini, A., Cichelli, A. dan Compagnone, D. (2009). Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by fourier transformed infra red (FTIR) spectroscopy. *Food Chemistry* **114**: 1549 – 1554.
- Manaf, M.A., Che Man, Y.B., Hamid, N.S.A., Ismail, A. dan Syahariza, Z.A. (2007). Analysis of adulteration of virgin coconut oil by palm kernel olein using fourier

- transform infrared spectroscopy. *Journal of Food Lipids* **14**: 111 – 121.
- Mansor, T.S.T., Che Man, Y.B. dan Rohman, A. (2011). Application of fast chromatography and fourier transform infrared spectroscopy for analysis of lard adulteration in virgin coconut oil. *Food Analytical Methods*. DOI: 10.1007/s12161-010-9176-y.
- Marina, A.M. Che Man, Y.B. dan Amin, I. (2009). Virgin coconut oil: emerging functional food oil. *Trends in Food Science and Technology* **20**: 481 - 487.
- Nevin, K.G. dan Rajamohan, T. (2004). Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and *in vitro* LDL oxidation. *Clinical Biochemistry* **37**: 830 – 835.
- Nevin, K.G. dan Rajamohan, T. (2008). Influence of virgin coconut oil on blood coagulation factors, lipid levels and LDL oxidation in cholesterol fed Sprague-Dawley rats. *The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* **3**: 1 – 8.
- Pavia L.D., Lampman G.M. dan Kriz G.S. (2001). Infrared spectroscopy. In *Introduction to Spectroscopy*, 3rd Ed., Thomson Learning, Victoria, Australia pp. 13 – 101
- Poulli, K.I., Mousdis, G.A. dan Georgiou, C.A. (2007). Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry* **105**: 369-375.
- Rohman, A. dan Che Man, Y.B. (2008). Review article: analysis of lard in food products for halal authentication study. *Agritech* **28**: 192 – 201.
- Rohman, A. dan Y.B. Che Man. (2009^a). Monitoring of virgin coconut oil (VCO) adulteration with palm oil using fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Journal of Food Lipids* **16**: 618–628.
- Rohman A. dan Che Man, Y.B. (2009^b). Analysis of cod-liver oil adulteration using fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**: 1149-1153.
- Rohman A. dan Che Man, Y.B. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International* **43**: 886 – 892.
- Rohman, A. dan Che Man. Y.B. (2011). FTIR spectroscopy combined with chemometrics for authentication of cod liver oil. *Vibrational Spectroscopy* **55** (2): 141- 145.
- Safar, M., Bertrand, D., Rober, P., Devaux, M.F. dan Genot, C. (1994). Characterization of edible oils, butter and margarines by fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **71**: 371–377.
- Tay, A., Singh, R. K., Krishnan S. S. dan Gore, J. P. (2002). Authentication of olive oil adulterated with vegetable oils using fourier transform infrared spectroscopy. *LWT-Food Science and Technology* **35**: 99 – 103.