

Penggunaan UV-Vis Spektroskopi dan Kemometrika untuk Uji Keaslian Kopi Codot Lampung

(The Use of UV-Vis Spectroscopy and Chemometrics for Authentication of Lampung Codot Coffee)

Meinilwita Yulia¹, Kurnia Rimadhanti Ningtyas², Diding Suhandy^{3*}

(Diterima Januari 2021/Disetujui Mei 2021)

ABSTRAK

Kopi Codot dari Tanggamus, Lampung merupakan salah satu kopi spesialti Indonesia dengan produksi yang sangat terbatas. Dalam penelitian ini, studi keaslian kopi bubuk Codot dilakukan dengan menggunakan UV-vis spektroskopi dan kemometrika. Sebanyak 330 sampel kopi Codot murni dan campuran disiapkan sebagai sampel. Sampel kopi Codot campuran dibuat dengan sengaja menambahkan kopi biasa (kopi bukan Codot) pada tiga level pencampuran, yaitu level rendah (10–20%), level sedang (30–40%), dan level tinggi (50–60%). Semua sampel kopi bubuk berukuran 0,29 mm. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan air distilasi panas (98°C). Data spektra setiap sampel kopi diperoleh dengan menggunakan UV-vis spektrometer tipe *benchtop* dalam rentang panjang gelombang 190–1100 nm menggunakan mode transmitansi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel kopi Codot murni dan campuran dapat dibedakan sepanjang sumbu PC1 dan PC2. Model klasifikasi dikembangkan menggunakan metode LDA dengan akurasi 90,91%. Model LDA digunakan untuk mengklasifikasikan sampel baru dan menghasilkan sensitivitas (SEN) 100%, spesifisitas (SPEC) 76,67%, presisi (PREC) 78,13%, dan akurasi (ACC) 87,27%. Dengan menggunakan regresi PLS, model PLS dibangun untuk menghitung persentase pencampuran kopi Codot dan menghasilkan koefisien determinasi yang tinggi, baik untuk kalibrasi maupun validasi ($R^2_{kal} = 0,99$ dan $R^2_{val} = 0,98$). Hasil ini menunjukkan UV-vis spektroskopi dan kemometrika sesuai untuk uji keaslian kopi spesialti Codot dengan RMSEP = 2,68% dan RPD prediksi sebesar 6,49.

Kata kunci: LDA, PCA, regresi PLS, uji keaslian, UV-vis spektroskopi

ABSTRACT

Codot coffee from Tanggamus, Lampung is one of Indonesian specialty coffee with a very limited production. In this research, an authentication study for the Codot ground roasted coffee was conducted using UV-vis spectroscopy and chemometrics. A total of 330 samples of pure and adulterated Codot coffee was prepared. The adulterated Codot coffee samples were intentionally created by adding a regular coffee (non-Codot coffee) into pure Codot coffee samples with three levels of adulterations: low (10–20%), medium (30–40%), and high level (50–60%). All samples were 0,29 mm in particle size. The extraction procedure was performed with hot distilled water (98°C). The spectral data of coffee samples were acquired using a benchtop UV-visible spectrometer in the range of 190–1100 nm using a transmittance mode. The result showed that the pure and adulterated samples could be discriminated along PC1 and PC2 axis. The classification model was developed using LDA with 90,91% of accuracy could be obtained. The LDA model was used to classify the new samples and resulted in a sensitivity (SEN) of 100%, specificity (SPEC) of 76,67%, precision (PREC) of 78,13%, and accuracy (ACC) of 87,27% could be obtained. Using PLS regression, a PLS model was developed to quantify the percentages of Codot coffee adulteration and resulted in high of coefficient of determination both in calibration and validation ($R^2_{kal} = 0,99$ and $R^2_{val} = 0,98$). These results showed that UV-vis spectroscopy and chemometrics are suitable for authentication of Codot specialty coffee with RMSEP = 2,68% and RPD in prediction of 6,49.

Keywords: authentication, LDA, PCA, PLS regression, UV-vis spectroscopy

¹ Program Studi Mekanisasi Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Lampung Jl. Soekarno Hatta No.10, Rajabasa, Bandar Lampung, 35144

² Program Studi Pengembangan Produk Agroindustri, Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Lampung Jl. Soekarno Hatta No.10, Rajabasa, Bandar Lampung, 35144

³ Jurusan Teknik Pertanian Universitas Lampung Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, 35145

* Penulis Korespondensi:

E-mail: diding.suhandy@fp.unila.ac.id

PENDAHULUAN

Menurut ICO (2020), Indonesia tercatat sebagai produsen kopi ke-4 terbesar dunia setelah Brazil, Vietnam, dan Kolombia. Di Indonesia, kopi merupakan salah satu produk penting dan bernilai ekonomi tinggi di sektor perkebunan dan menyumbang devisa sebesar USD 469.4 juta di tahun 2017 (Kemenperin 2018). Perkebunan kopi tersebar dari Aceh hingga Papua dengan Lampung sebagai penyumbang

terbesar kedua dengan kontribusi sebesar 14,80% produksi nasional dengan produksi mencapai 0,12 juta ton/tahun (Direktorat Jenderal Perkebunan 2018). Tiga daerah utama penghasil kopi di Lampung meliputi Kabupaten Lampung Barat, Tanggamus, dan Way Kanan dengan produksi utama kopi varietas Robusta.

Lampung, tepatnya di daerah Tanggamus, juga menjadi salah satu sentra penghasil kopi Codot, yaitu kopi yang dihasilkan dari biji kopi yang telah dimakan oleh hewan Codot (*Cynopterus brachyotis*). Kopi ini merupakan salah satu jenis kopi yang produksinya sangat terbatas. Secara umum, proses produksi kopi Codot dimulai dengan pemilihan buah kopi yang masak sempurna oleh hewan Codot yang memiliki indra penciuman yang sangat sensitif. Hewan Codot kemudian memakan bagian kulit kopi yang masak tersebut dan memuntahkan bijinya. Biji kopi inilah yang kemudian dikumpulkan secara hati-hati oleh petani untuk diproses lebih lanjut menjadi kopi bubuk Codot yang memiliki cita rasa spesial dan pada saat ini menjadi salah satu produk unggulan Kabupaten Tanggamus dengan harga jual yang lebih tinggi dibandingkan kopi biasa. Sebagian besar kopi Codot diproses melalui pengolahan biji *semi-dry* atau disebut juga proses *honey*.

Secara umum pada bentuk kopi bubuk, kopi Codot murni dan campuran terlihat sulit dibedakan sehingga terjadi potensi pemalsuan dan pengoplosan kopi Codot. Beberapa metode analisis berbasis instrumen pada saat ini telah banyak digunakan untuk uji keaslian kopi bubuk, seperti menggunakan metode HPLC (*high performance of liquid chromatography*) (Domingues *et al.* 2014), NIR spectroscopy (Moser *et al.* 2015), Raman spectroscopy (Wermelinger *et al.* 2011), NMR (*nuclear magnetic resonance*) spectroscopy (Defernez *et al.* 2017), metabolomik (Putri *et al.* 2019; Ongo *et al.* 2020), *e-nose* dan *e-tongue* (Dong *et al.* 2017), dan *fluorescence spectroscopy* (Botelho *et al.* 2017; Suhandy & Yulia 2018). Secara umum, metode analisis berbasis instrumen tersebut memiliki kelebihan dibandingkan metode konvensional, yaitu menghasilkan pengukuran yang lebih cepat, akurat, dan konsisten. Meskipun akurat, sebagian besar metode tersebut membutuhkan instrumentasi yang cukup mahal (seperti HPLC, *fluorescence*, NIR, NMR, dan Raman spectroscopy), membutuhkan keahlian khusus untuk menjalankannya (seperti HPLC, Raman, dan NMR spectroscopy), melibatkan proses persiapan sampel yang melelahkan (seperti HPLC) serta melibatkan bahan kimia untuk proses ekstraksinya (seperti HPLC dan *fluorescence spectroscopy*).

UV-vis spektroskopi merupakan salah satu metode spektroskopi di daerah panjang gelombang 190–700 nm. Interaksi antara radiasi gelombang elektromagnetik UV-vis (ultraviolet dan sinar tampak) dengan materi dapat menyebabkan terjadinya transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari keadaan dasar ke keadaan energi tinggi. UV-vis spektroskopi memiliki beberapa keunggulan sebagai berikut: harga spektrometer terjangkau, tersedia di banyak laboratorium

standar, mudah dalam pengoperasian alat, dan proses ekstraksi sampel bisa menggunakan air distilasi (bebas bahan kimia). Teknologi UV-vis spektroskopi sesuai dikembangkan di Indonesia untuk uji keaslian produk pertanian Indonesia. Hal ini didukung dengan harga alat instrumen UV-vis spektrometer yang relatif terjangkau dan pada saat ini menjadi salah satu instrumen yang sudah banyak tersedia di laboratorium standar di Indonesia. Pada saat ini, UV-vis spektroskopi telah digunakan untuk uji keaslian kopi luwak (Suhandy & Yulia 2017a), kopi lanang (Suhandy & Yulia 2017b), dan beberapa kopi spesialti Indonesia (Suhandy & Yulia 2019). Dari penelusuran pustaka, belum dilaporkan penggunaan UV-vis spektroskopi dan kemometrika untuk uji keaslian kopi Codot asal Lampung. Lebih khusus, aspek kebaruan penelitian ini adalah penggunaan UV-vis spektroskopi untuk uji keaslian kopi Codot asal Lampung, yaitu membedakan kopi Codot murni dari kopi Codot campuran, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Uji keaslian dilakukan secara kualitatif, yaitu membedakan kopi Codot murni dari kopi campuran menggunakan metode PCA (*principal component analysis*) dan LDA (*linear discriminant analysis*). Secara kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung persentase campuran kopi Codot menggunakan metode regresi PLS (*partial least squares*). Aspek kebaruan juga terlihat dari persentase pencampuran yang digunakan pada penelitian ini. Dari penelusuran pustaka, persentase campuran yang digunakan pada publikasi sebelumnya adalah bervariasi. Misalnya pada riset penggunaan metode *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan kemometrika untuk kuantifikasi pencampuran kopi dengan ampas kopi digunakan persentase campuran sebesar 5–60% (Cheah & Fang 2020). FT-MIR spectroscopy dan kemometrika digunakan untuk mengidentifikasi dan kuantifikasi pencampuran kopi. Riset ini menggunakan beberapa bahan bukan kopi sebagai bahan pencampur, seperti jagung, kacang kedelai, dan beras dengan persentase campuran sebesar 1–30% (Flores-Valdez *et al.* 2020). Sementara itu, Nunez *et al.* (2021) menggunakan persentase campuran 0–100% pada studi kuantifikasi pencampuran kopi menggunakan metode *high-performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detection* (HPLC-UV-FLD) dan kemometrika. Sementara itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi penggunaan UV-vis spektroskopi dan kemometrika untuk uji keaslian kopi Codot murni dan kopi Codot campuran yang dicampur dengan kopi biasa dengan variasi persentase campuran sebesar 10–60%.

METODE PENELITIAN

Sampel kopi Codot dan kopi biasa

Sampel kopi Codot dan kopi biasa dengan varietas Robusta diperoleh dari Kelompok Tani Wanita Hutan (KTWH) Himawari di Desa Margoyoso, Kecamatan Sumberejo, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung

dan secara geografis berada pada kordinat 5°22' 47.2" LS 104°41' 8" BT. Semua sampel kopi, baik kopi Codot maupun kopi biasa, disangrai pada kondisi yang sama (200°C selama 20 menit menggunakan alat sangrai portabel). Proses pengecilan ukuran sampel kopi dilakukan dengan cara menggiling biji kopi sangrai menggunakan mesin *coffee grinder* (Sayota tipe SCG 178). Untuk mendapatkan sampel kopi bubuk yang seragam, kopi bubuk diayak dengan menggunakan ayakan *Tyler Meinzer II* dengan ukuran *mesh* 50 (ukuran partikel 0,29 mm). Sebanyak 330 sampel kopi Codot murni (KM) dan kopi Codot campuran (KC) (kopi Codot yang dicampur kopi biasa) disiapkan dalam penelitian ini yang secara lengkap dideskripsikan di Tabel 1. Secara visual seperti terlihat di Gambar 1, cukup sulit untuk membedakan kopi Codot murni (0%) dari kopi Codot campuran (10–60%) di mana secara visual warna kopi Codot murni dan campuran sangat identik.

Metode Ekstraksi Kopi

Sampel kopi bubuk Codot murni dan campuran (masing-masing sampel dengan bobot 1 g, seperti dapat dilihat di Tabel 1 kemudian diekstraksi dengan mengacu ke metode Suhandy dan Yulia (2018) menggunakan 50 mL air distilasi dengan suhu 98°C dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 10 menit. Setelah itu, larutan kopi disaring menggunakan kertas saring (Whatman No. 40) dan hasil saringan diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 5 menit. Hasil saringan kemudian diencerkan meng-

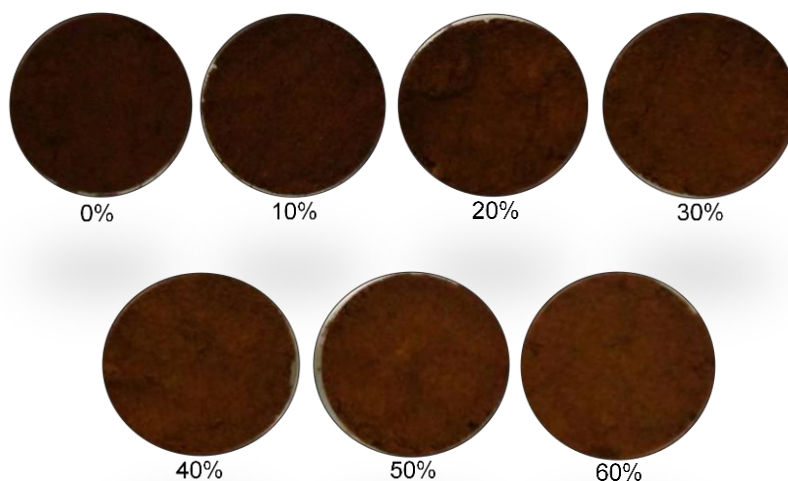
gunakan air distilasi dengan perbandingan 1:20 (mL:mL).

Metode Pengambilan Data Spektra UV-Vis

Sampel yang diencerkan kemudian diambil sebanyak 3 mL dan diteteskan ke dalam kuvet standar 10 mm berbahan kuarsa dan diambil spektranya menggunakan UV-vis spektrometer (Genesys™ 10S UV-Vis, Thermo Scientific, USA) pada panjang gelombang 190–1100 nm dengan interval 1 nm. Spektrometer ini merupakan spektrometer *dual beam* dan memiliki beberapa komponen penting, di antaranya sumber cahaya (*light source*) berbahan lampu xenon, monokromator, pembagi berkas cahaya (*beam splitter*), detektor berbahan *dual silicon photodiodes*, dan tempat sampel (*sample holder*) sebanyak 6 buah (5 untuk larutan sampel dan 1 untuk larutan standar atau referensi). Prinsip kerja spektrometer ini secara umum adalah sebagai berikut: berkas cahaya poli-kromatik dari lampu xenon masuk ke dalam monokromator dan diubah menjadi cahaya monokromatik. Cahaya monokromatik kemudian dibagi menjadi dua berkas cahaya, satu bagian menuju ke larutan sampel dan satu bagian lagi menuju larutan standar atau referensi. Berkas cahaya yang telah melewati sampel dan referensi kemudian diteruskan ke detektor. Data transmitan (T) diperoleh dengan membandingkan nilai intensitas cahaya yang diteruskan di sampel dan di referensi, kemudian ditransformasi menjadi nilai absorbans (A). Nilai absorbans ini yang kemudian dianalisis lebih lanjut. Untuk data spektra referensi digunakan air distilasi.

Tabel 1 Deskripsi sampel kopi Codot murni dan kopi Codot campuran yang digunakan dalam penelitian

Kode sampel	Kopi Codot (g)	Kopi biasa (g)	Jumlah sampel
KM1–150	1,0	0,0	150
KC151–180	0,9	0,1	30
KC181–210	0,8	0,2	30
KC211–240	0,7	0,3	30
KC241–270	0,6	0,4	30
KC271–300	0,5	0,5	30
KC301–330	0,4	0,6	30



Gambar 1 Tampilan kopi Codot murni (0%) dan kopi Codot campuran (10–60%)

Metode Kemometrika untuk Uji Keaslian Kopi Codot Lampung

Spektra original adalah spektra yang langsung diperoleh dari hasil pengambilan spektra yang dimodifikasi menggunakan 3 algoritma secara sekaligus, yaitu: *Savitzky-Golay smoothing* dengan 5 segmen (SGS), *standard normal variate* (SNV), dan *Savitzky-Golay first derivative* dengan 5 segmen dan ordo 2 (SG 1d). *SG smoothing* secara umum dapat digunakan untuk menghilangkan *noise* frekuensi tinggi (*high-frequency noise*) dari data spektra sekaligus memperbaiki nilai rasio *noise* dan sinyal (SNR atau *signal to noise ratio*) (Savitzky & Golay 1964; Suhandy & Yulia 2020). Metode SNV efektif untuk memperbaiki spektra dengan cara mengeliminasi deviasi spektra akibat perbedaan ukuran partikel sampel dan efek hamburan atau *scatter* pada spektra (Barnes *et al.* 1989; Suhandy & Yulia 2020). Sementara itu, metode *SG first derivative* atau turunan pertama SG secara efektif menghilangkan pengaruh perbedaan *baseline* yang muncul akibat perbedaan densitas dan ukuran sampel (Savitzky & Golay 1964; Suhandy & Yulia 2020).

Analisis kemometrika pertama yang digunakan adalah analisis PCA (*principal component analysis*). PCA merupakan salah satu metode proyeksi yang digunakan untuk mencari variabel baru bernama *principal components* (PCs) yang jauh lebih sederhana (biasanya di bawah 10 variabel) yang merupakan kombinasi linear dari variabel asli yang kompleks (biasanya ratusan hingga ribuan variabel yang saling berkorelasi). PCs ini dipilih sedemikian rupa sehingga PC pertama (PC1) memiliki nilai varian terbesar, sedangkan PC berikutnya (PC2) tegak lurus terhadap PC1 (menjamin tidak terjadinya korelasi antara PC1 dan PC2), dan memiliki varian terbesar berikutnya (PC1 > PC2). Kemudian PC2 > PC3, PC3 > PC4, dan seterusnya (Granato *et al.* 2017). Luaran pertama dinyatakan dalam bentuk plot skor sampel nilai PC1 dan PC2 untuk melihat potensi pengelompokan sampel ke dalam kelas kopi Codot murni dan kopi Codot campuran. Luaran kedua adalah plot nilai *x-loadings* versus panjang gelombang. Identifikasi panjang gelombang dengan nilai *x-loadings* tinggi dilakukan dan hasilnya digunakan sebagai dasar penentuan variabel input untuk analisis kemometrika berikutnya, yaitu klasifikasi kopi Codot murni dan kopi Codot campuran menggunakan metode klasifikasi LDA (*linear discriminant analysis*).

Hasil klasifikasi kopi Codot murni dan campuran dinyatakan dalam bentuk matriks konfusi, seperti yang disajikan di Tabel 2 (Cheah & Fang 2020). TP atau *true positive* adalah sampel kopi Codot murni yang diklasifikasikan sebagai kopi Codot murni. TN atau *true negative* adalah sampel kopi Codot campuran yang diklasifikasikan sebagai kopi Codot campuran. FP atau *false positive* adalah sampel kopi Codot campuran yang diklasifikasikan sebagai kopi Codot murni. FN atau *false negative* adalah sampel kopi Codot murni yang diklasifikasikan sebagai kopi Codot campuran.

Berdasarkan matriks konfusi tersebut dapat dihitung empat parameter berikut, yaitu sensitivitas (SEN), spesifisitas (SPEC), presisi (PREC), dan akurasi (ACC) dengan rentang nilai antara 0–100% yang dihitung dengan persamaan 1 sampai 4 sebagai berikut (Luna *et al.* 2016):

$$SEN(\%) = \frac{TP}{TP+FN} \times 100\% \quad (1)$$

$$SPEC(\%) = \frac{TN}{TN+FP} \times 100\% \quad (2)$$

$$PREC(\%) = \frac{TP}{TP+FP} \times 100\% \quad (3)$$

$$ACC(\%) = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \times 100\% \quad (4)$$

Analisis kemometrika berikutnya adalah penentuan persentase campuran kopi Codot yang dilakukan menggunakan metode regresi PLS (*partial least square*). Evaluasi model regresi PLS dilakukan dengan mengacu kepada Suhandy *et al.* (2013) menggunakan parameter koefisien determinasi (R^2) baik untuk kalibrasi (R^2_{kal}), validasi (R^2_{val}), dan prediksi (R^2_{pred}). Kemudian nilai *standard error* baik untuk kalibrasi (*root mean squared error of calibration* atau *RMSEC*), validasi (*root mean squared error of validation* atau *RMSEV*), dan prediksi (*root mean squared error of prediction* atau *RMSEP*). Nilai RPD atau *ratio prediction to deviation* untuk kalibrasi (RPD_{kal}) dan prediksi (RPD_{pred}) dihitung menggunakan persamaan 5 dan 6 (Araújo *et al.* 2020). Di mana SD_{val} merupakan standar deviasi sampel validasi dan SD_{pred} merupakan standar deviasi sampel prediksi. Nilai RPD antara 1,5 dan 2,0 menunjukkan model regresi mampu membedakan antara persentase campuran level rendah dan tinggi, RPD antara 2,0 dan 2,5 menunjukkan model regresi yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi persentase campuran, dan nilai RPD antara 2,5 dan 3,0 menunjukkan model regresi yang dibangun dapat digunakan untuk memprediksi persentase campuran dengan sangat baik sekali (*excellent*) (Mariani *et al.* 2015).

$$RPD_{kal} = \frac{SD_{val}}{RMSEV} \quad (5)$$

$$RPD_{pred} = \frac{SD_{pred}}{RMSEP} \quad (6)$$

Semua perhitungan analisis kemometrika termasuk modifikasi spektra, PCA, LDA, dan regresi PLS dilakukan menggunakan perangkat lunak pengolah data spektra The Unscrambler versi 9,8 dan versi 10,4 (CAMO AS, Norwegia).

Tabel 2 Matriks konfusi untuk klasifikasi kopi Codot murni dan campuran

Sampel prediksi	Sampel aktual	
	Campuran	Murni
Campuran	TN	FN
Murni	FP	TP

HASIL DAN PEMBAHASAN

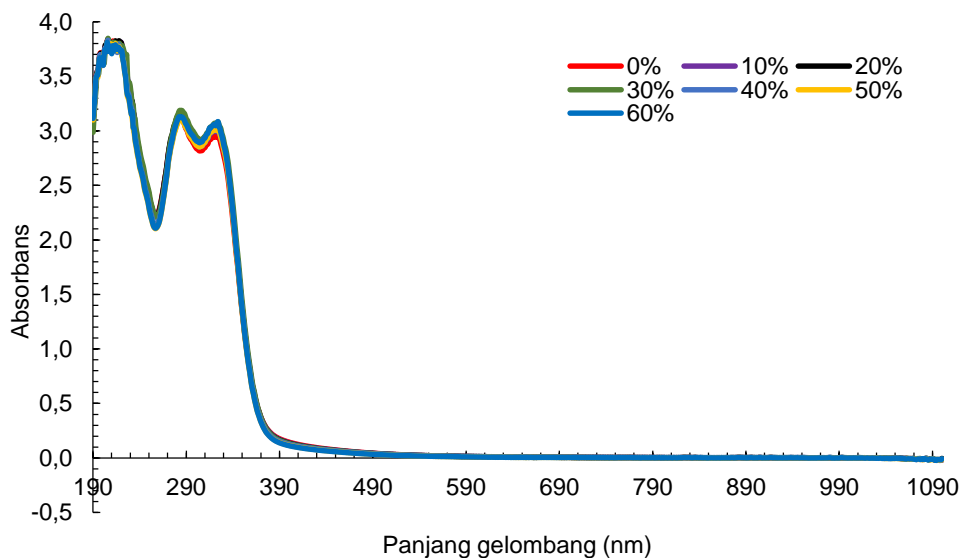
Spektra Kopi Codot Murni dan Campuran

Gambar 2 menunjukkan plot spektra original rata-rata kopi Codot murni dan campuran pada panjang gelombang 190–1100 nm. Intensitas absorbans di panjang gelombang 450–1100 nm sangat kecil atau mendekati 0 sehingga tidak memberikan informasi terkait perbedaan kopi Codot murni dan campuran. Pada panjang gelombang sekitar 190–250 nm, nilai intensitas absorbans sekitar 2,50–3,80 yang setara dengan nilai transmitans sebesar 0,02%–0,32%. Artinya persentase cahaya yang diteruskan ke detektor sangat kecil sekali karena sebagian besar cahaya diblok atau diserap oleh sampel sehingga menghasilkan nilai absorbans yang sangat tinggi dan berpotensi *noisy* sehingga panjang gelombang 190–250 nm tidak dilibatkan lagi dalam perhitungan. Analisis selanjutnya fokus pada panjang gelombang 250–450 nm.

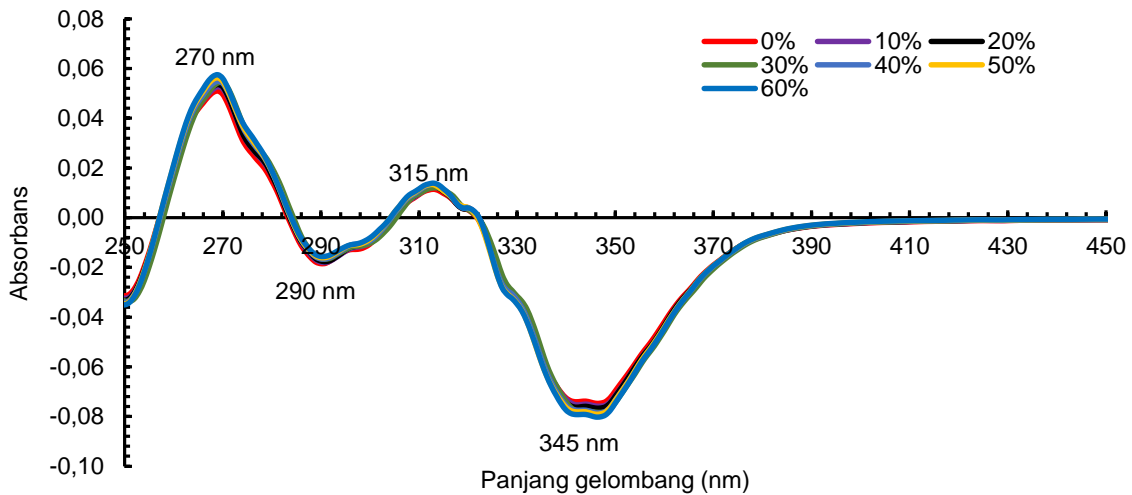
Gambar 3 menunjukkan plot spektra modifikasi rata-rata di panjang gelombang 250–450 nm. Spektra modifikasi diperoleh dengan mentransformasi spektra original menggunakan tiga algoritma pengolahan data spektra secara sekaligus, yaitu: *Savitzky-Golay smoothing* dengan 5 segmen (SGS), *standard normal variate* (SNV), dan *Savitzky-Golay first derivative* dengan 5 segmen dan 2 ordo (SG 1d). Salah satu kelemahan UV-vis spektroskopopi adalah nilai SNR atau *signal noise to ratio* yang rendah dan hal ini dapat diperbaiki salah satunya dengan menggunakan algoritma SNV. Kemudian, algoritma SG 1d dapat digunakan untuk melakukan koreksi atas adanya perbedaan *baseline* pada spektra kopi Codot murni dan campuran. Selain itu, perbedaan antara spektra kopi Codot murni dan campuran sangatlah kecil, terutama untuk persentase campuran level rendah (10–20%). Algoritma SG 1d efektif digunakan untuk memperjelas perbedaan antara spektra kopi Codot murni dan campuran. Hanya saja, sebagai konse-

kuensi dari penggunaan algoritma SG 1d adalah munculnya *noise*. Hal ini dapat dihindari jika data spektra diperhalus (*smoothed*) terlebih dahulu dengan algoritma SGS sebelum dilakukan proses derivasi. Dengan demikian, di dalam penelitian ini tiga buah algoritma yang digunakan untuk memperbaiki spektra secara berurutan adalah sebagai berikut: SGS, SNV, dan SG 1d. Beberapa panjang gelombang memiliki nilai absorbans yang tinggi, yaitu di panjang gelombang 270 nm, 290 nm, 315 nm, dan 345 nm. Keempat panjang gelombang tersebut berkorelasi dengan absorbans beberapa senyawa penting dalam kopi. Menurut Souto *et al.* (2015), secara umum panjang gelombang di interval 239–405 nm berkorelasi dengan transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ dari kromofor C=O yang terdapat pada senyawa *trigonelline*, kafein, asam kafeik (*caffeic acid*), dan *melanoidins*.

Secara umum, kopi hijau (*green bean*) kaya dengan beberapa senyawa bioaktif dari kelompok alkaloid dan fenolik (Yisak *et al.* 2018; Jamali *et al.* 2021). Dua senyawa alkaloid penting dengan kandungan paling tinggi pada kopi hijau adalah kafein dan *trigonelline*. Sementara itu, asam kafeik (3,4-dihydroxy cinnamic acid) merupakan salah satu senyawa fenolik penting kopi yang memiliki fitur manfaat medis seperti bahan anti-virus dan anti-karsinogenik (Jamali *et al.* 2021). Pada saat proses penyangraian berlangsung, senyawa *trigonelline* sebagian besar berkurang dan diubah menjadi senyawa *nicotinic acid* melalui proses pirolisis (Jeszka-Skowron *et al.* 2020), sedangkan kafein jumlahnya menyusut drastis seiring dengan peningkatan level sangrai melalui proses reaksi *Maillard* (Hecimovic *et al.* 2011). Semakin intensif proses sangrai (seperti *dark roasting*) maka kandungan kafein semakin berkurang. Selama proses sangrai kopi, proses pirolisis juga menghasilkan senyawa penting lain, yaitu *melanoidins* yang merupakan senyawa utama pembentuk warna dan aroma kopi sangrai (Ripper *et al.* 2020). Proses sangrai pada penelitian ini berlangsung pada suhu 200°C selama 20 menit yang



Gambar 2 Spektra original rata-rata kopi Codot murni dan campuran pada panjang gelombang 190–100 nm



Gambar 3 Spektra modifikasi rataan kopi Codot murni dan campuran pada panjang gelombang 250–450 nm

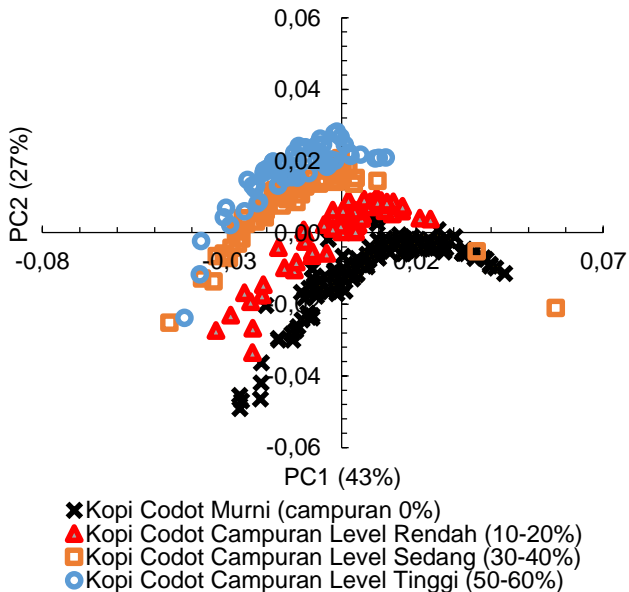
merupakan proses sangrai medium yang masih mempertahankan sejumlah besar kandungan kafein, *trigonelline*, dan asam kafeik. Secara khusus, panjang gelombang 272–275 nm berkorelasi dengan puncak absorbans senyawa *trigonelline* kemudian panjang gelombang 276–280 nm berkorelasi dengan senyawa kafein, dan panjang gelombang 320–325 nm berkorelasi dengan senyawa asam kafeik (*caffeic acid*). Penelitian sebelumnya menunjukkan daerah panjang gelombang 250–450 nm memiliki kontribusi yang signifikan dalam uji keaslian beberapa kopi spesialti asal Indonesia (Suhandy & Yulia 2017a; Suhandy & Yulia 2017b).

Hasil Perhitungan PCA

Gambar 4 merupakan plot skor 2 PCs pertama (PC1 dan PC2) hasil analisis PCA untuk 150 sampel kopi Codot murni (0%) dan 180 sampel kopi Codot campuran dengan tiga level campuran, yaitu level

rendah (10–20%), level sedang (30–40%), dan level tinggi (50–60%). Visualisasi hasil perhitungan PCA salah satunya adalah plot nilai skor dari setiap PCs (*principal component*). Secara umum, visualisasi ini biasanya melibatkan dua nilai PCs pertama (PC1 dan PC2). Visualisasi dikatakan cukup baik jika kedua PCs tersebut secara kumulatif mampu menjelaskan 70% atau lebih varian data spektra (Nurchayo 2015). PC1 dan PC2 secara total dapat menjelaskan 70% varian data spektra. Secara kumulatif 10 PCs pertama mampu menjelaskan 93% varian data spektra seperti ditunjukkan di Tabel 3.

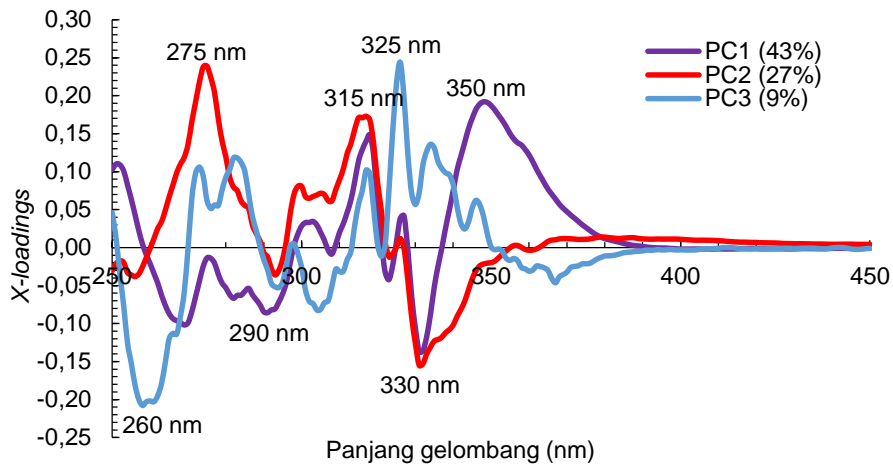
Dari Gambar 4 dapat dilihat bahwa kopi Codot murni dan campuran dapat dibedakan di sepanjang PC1 dan PC2 di mana sampel kopi Codot semakin tidak murni (semakin besar persentase campurannya) maka skor PC semakin ke arah kiri atas (PC1 semakin negatif atau PC1 < 0 dan PC2 semakin positif atau PC2 > 0). Plot nilai *x-loadings* hasil analisis PCA ditunjukkan di Gambar 5 yang memperlihatkan kontribusi setiap panjang gelombang dalam proses pemisahan sampel kopi Codot murni dan kopi Codot campuran untuk PC1, PC2, dan PC3 yang menjelaskan total 79% varian data spektra. Sebuah panjang gelombang dengan nilai absolut *x-loadings* tinggi memiliki kontribusi penting pada proses pemisahan sampel kopi Codot murni dari kopi Codot campuran. Dari Gambar 5 dapat



Gambar 4 Plot skor PC1 dan PC2 untuk analisis PCA menggunakan spektra modifikasi di panjang gelombang 250–450 nm

Tabel 3 Nilai kumulatif 10 PCs pertama hasil analisis PCA spektra modifikasi di panjang gelombang 250–450 nm

PCs	Kumulatif total varian (%)
PC1	43
PC2	70
PC3	79
PC4	83
PC5	86
PC6	88
PC7	90
PC8	91
PC9	92
PC10	93



Gambar 5 Plot panjang gelombang dan nilai *x-loadings* analisis PCA menggunakan spektra modifikasi di panjang gelombang 250–450 nm

diidentifikasi beberapa panjang gelombang dengan nilai *x-loadings* tinggi (baik positif maupun negatif). Panjang gelombang dengan nilai *x-loadings* positif teridentifikasi di empat panjang gelombang, yaitu 275 nm, 315 nm, 325 nm, dan 350 nm dan semuanya memiliki korelasi yang positif antara nilai PC (*principal component*) dan variabel panjang gelombang. Panjang gelombang dengan nilai *x-loadings* negatif teridentifikasi di tiga panjang gelombang, yaitu 260 nm, 290 nm, dan 330 nm dan berkorelasi negatif dengan nilai PC. Tujuh panjang gelombang tersebut berkorelasi dengan absorbans beberapa senyawa penting kopi, seperti *trigonelline*, kafein, asam kafeik (*caffeic acid*), dan *melanoidins* (Souto *et al.* 2015; Suhandy & Yulia 2017a). Panjang gelombang 260 nm, 275 nm, 290 nm, 315 nm, 325 nm, 330 nm, dan 350 nm kemudian digunakan sebagai variabel input pada perhitungan LDA untuk klasifikasi kopi Codot murni dan kopi Codot campuran.

Klasifikasi Kopi Codot Murni dan Campuran Menggunakan Metode LDA

Klasifikasi secara terbimbing (*supervised classification*) kopi Codot murni dan campuran dilakukan dengan menggunakan metode LDA. Sampel kopi Codot murni dan campuran dibagi secara acak ke dalam tiga kelompok, yaitu kalibrasi, validasi, dan prediksi seperti terlihat di Tabel 4.

Pengembangan model klasifikasi LDA dilakukan dengan menggunakan sampel kalibrasi dan validasi (total 275 sampel) dengan menggunakan 7 variabel panjang gelombang sebagai input. Tujuh variabel tersebut adalah data spektra modifikasi di panjang gelombang hasil dari analisis *x-loadings*: 260 nm, 275 nm, 290 nm, 315 nm, 325 nm, 330 nm, dan 350 nm. Gambar 6 menunjukkan hasil pengembangan model LDA dengan metode linear dan diperoleh nilai akurasi sebesar 90,91%. Dari 125 sampel kopi Codot murni, terdapat 4 sampel yang diklasifikasikan salah sebagai kopi Codot campuran. Sementara itu, dari 150 sampel kopi Codot campuran, terdapat 21 sampel yang diklasifikasikan salah sebagai kopi Codot murni.

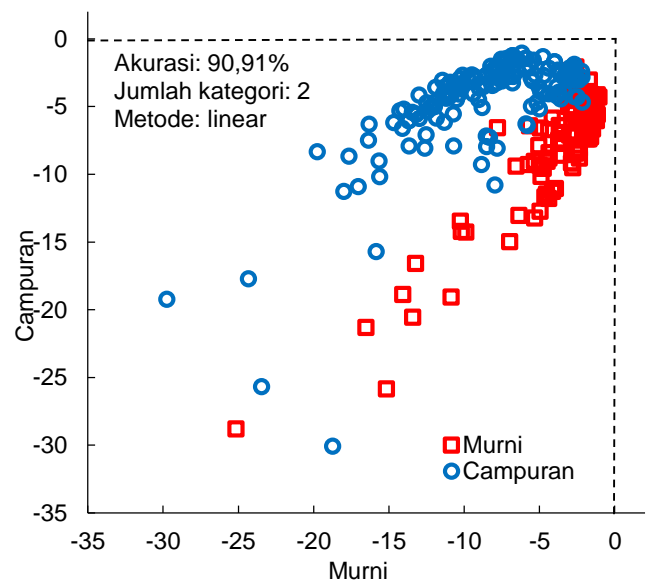
Untuk mengevaluasi kemampuan model klasifikasi LDA yang diperoleh maka dilakukan klasifikasi atas sampel prediksi (total 55 sampel) dan hasilnya ditunjukkan dalam bentuk matriks konfusi, seperti

Tabel 4 Pembagian sampel kopi Codot murni dan campuran untuk klasifikasi menggunakan metode LDA

Sampel	Kalibrasi	Validasi	Prediksi
Murni	75	50	25
Campuran	90	60	30
Total	165	110	55

Tabel 5 Matriks konfusi hasil klasifikasi kopi Codot murni dan campuran menggunakan model LDA untuk sampel prediksi

Sampel prediksi	Sampel aktual	
	Campuran	Murni
Campuran	TN = 23	FN = 0
Murni	FP = 7	TP = 25



Gambar 6 Model LDA yang dibangun menggunakan spektra modifikasi dengan variabel input tujuh panjang gelombang

disajikan di Tabel 5. Semua sampel murni (25 sampel) berhasil diklasifikasikan secara benar sebagai kopi Codot murni. Dari 30 sampel kopi Codot campuran, terdapat 7 sampel kopi Codot campuran yang salah diklasifikasikan sebagai kopi Codot murni. Dengan demikian, berdasarkan matriks konfusi yang diperoleh di Tabel 5 dan dengan menggunakan persamaan 2 sampai 5 maka diperoleh sensitivitas (SEN) sebesar 100%, spesifisitas (SPEC) sebesar 76,67%, presisi (PREC) sebesar 78,13%, dan akurasi (ACC) sebesar 87,27%. Pada penelitian sebelumnya, Souto *et al.* (2015) menggunakan metode LDA untuk membedakan kopi murni dari kopi campuran (yang dicampur sekam kopi) dengan sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi sebesar 100%. Charlton *et al.* (2002) menggunakan metode NMR dan LDA untuk membedakan kopi instan dari tiga produsen yang berbeda dan diperoleh nilai akurasi sebesar 99%. Studi terbaru menunjukkan penggunaan *Raman spectroscopy* dan metode LDA mampu mengklasifikasikan kopi berdasarkan kultivar-nya dengan nilai akurasi sebesar 100% (Luna *et al.* 2019).

Penentuan Persentase Campuran Kopi Codot Menggunakan Metode Regresi PLS

Sampel yang digunakan hanya sampel kopi Codot campuran (10–60%) sebanyak total 180 sampel yang dibagi ke dalam sampel kalibrasi, validasi, dan prediksi secara acak seperti yang ditunjukkan di Tabel 6. Nilai standar deviasi (SD) untuk sampel kalibrasi, validasi, dan prediksi secara berurutan adalah $SD_{kal} = 17,2\%$, $SD_{val} = 17,2\%$, dan $SD_{pred} = 17,4\%$. Penentuan persentase campuran dilakukan dengan membangun model regresi PLS menggunakan sampel kalibrasi dan validasi.

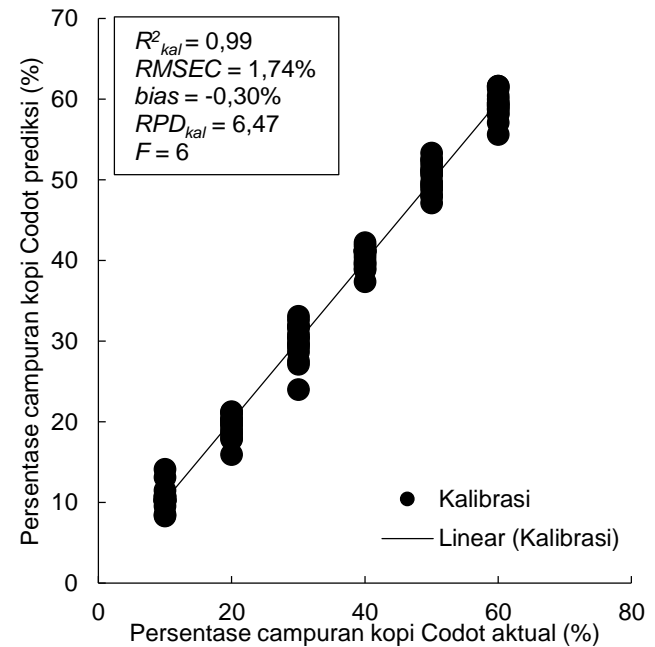
Gambar 7 dan 8 menunjukkan plot persentase kopi Codot campuran aktual dan prediksi untuk model regresi yang dibangun pada panjang gelombang 250–450 nm menggunakan data spektra modifikasi. Nilai koefisien determinasi untuk kalibrasi dan validasi sangat tinggi, yaitu $R^2_{kal} = 0,99$ dan $R^2_{val} = 0,98$. Nilai RPD_{kal} yang diperoleh lebih dari 2,5 ($RPD_{kal} = 6,47$) menunjukkan model regresi yang dibangun dapat digunakan untuk proses uji keaslian kopi Codot, yaitu dalam penentuan persentase kopi Codot campuran (Assis *et al.* 2017). Model regresi PLS yang dibangun kemudian digunakan untuk memprediksi persentase kopi Codot campuran untuk sampel prediksi dan hasilnya ditunjukkan di Gambar 9. Koefisien determinasi yang diperoleh sangat tinggi ($R^2_{pred} = 0,98$). Prediksi juga menghasilkan nilai $RPD_{pred} = 6,49$ yang menunjukkan hasil prediksi yang sangat baik (*excellent*).

KESIMPULAN

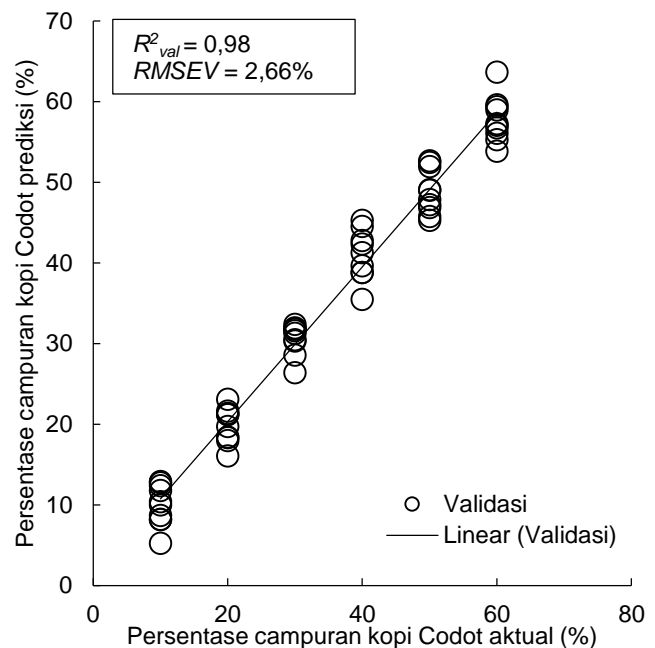
Penelitian ini telah berhasil memperlihatkan potensi penggunaan metode UV-vis spektroskopi dan kemo-metrika untuk uji keaslian kopi Codot Lampung. Secara kualitatif, hasil analisis PCA dan LDA menunjukkan

Tabel 6 Pembagian sampel kopi Codot campuran ke dalam sampel kalibrasi, validasi, dan prediksi

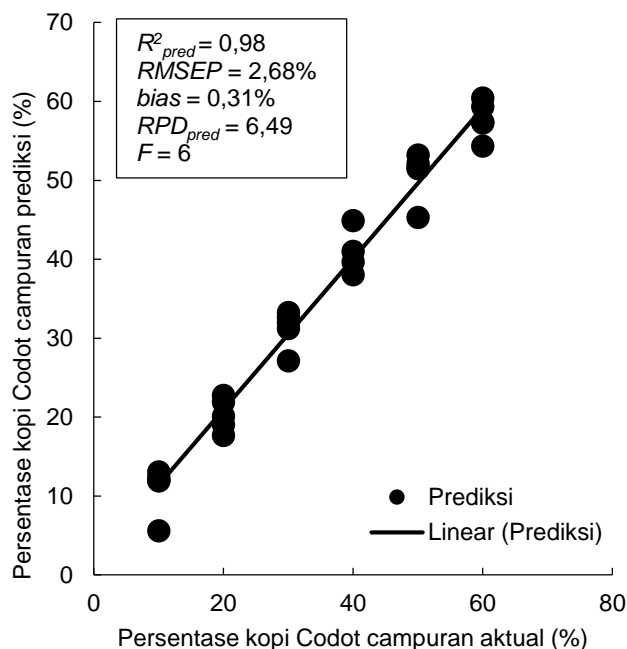
Item	Kalibrasi	Validasi	Prediksi
Jumlah	90	60	30
Maksimum	60%	60%	60%
Minimum	10%	10%	10%
Rataan	35%	35%	35%
SD	17,2%	17,2%	17,4%



Gambar 7 Plot persentase campuran kopi Codot aktual dan prediksi pada model kalibrasi yang dibangun menggunakan spektra modifikasi pada panjang gelombang 250–450 nm



Gambar 8 Plot persentase campuran kopi Codot aktual dan prediksi pada tahap validasi yang dibangun menggunakan spektra modifikasi pada panjang gelombang 250–450 nm



Gambar 9 Plot persentase campuran kopi Codot aktual dan prediksi hasil prediksi menggunakan model regresi PLS

sampel kopi Codot murni dan kopi Codot campuran dapat dibedakan dan klasifikasi LDA menghasilkan nilai akurasi klasifikasi sebesar 87,27%. Secara kuantitatif, model regresi PLS yang dibangun mampu memprediksi persentase kopi Codot campuran dengan nilai RPD yang sangat baik (di atas 3) baik untuk kalibrasi maupun prediksi. Dengan demikian, dapat disimpulkan, UV-vis spektroskopi dan kemometrika tepat digunakan untuk studi uji keaslian kopi bubuk Codot Lampung dan ke depan dapat diajukan sebagai salah satu metode analisis untuk membangun sistem sertifikasi kopi Codot Lampung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemendikbudristek/BRIN atas dukungan pendanaan penelitian ini melalui hibah skema Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi (PKPT) tahun 2020–2022 (No. 92/E4.1/AK.04.PT/2021 dan No. 378.1/PL15.8/PT/2021). Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Araújo CS, Macedo LL, Vimercati WC, Ferreira A, Prezotti LC, Saraiva SH. 2020. Determination of pH and acidity in green coffee by near infrared spectroscopy and multivariate regression. *Journal*

of the Science of Food and Agriculture. 100(6): 2488–2493. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10270>

Assis C, Oliveira LS, Sena MM. 2017. Variable selection applied to the development of a robust method for the quantification of coffee blends using mid infrared spectroscopy. *Food Analytical Methods*. 11: 578–588. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1027-7>

Barnes RJ, Dhanoa MS, Lister SJ. 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*. 43(5): 772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>

Botelho BG, Oliveira LS, Franca AS. 2017. Fluorescence spectroscopy as tool for the geographical discrimination of coffees produced in different regions of Minas Gerais State in Brazil. *Food Control*. 77: 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.020>

Charlton AJ, Farrington WHH, Breerton P. 2002. Application of ^1H NMR and multivariate statistics for screening complex mixtures: quality control and authenticity of instant coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(11): 3098–3103. <https://doi.org/10.1021/jf011539z>

Cheah WL, Fang M. 2020. HPLC-based chemometric analysis for coffee adulteration. *Foods*. 9(7): 880–891. <https://doi.org/10.3390/foods9070880>

Defernez M, Wren E, Watson AD, Gunning Y, Colquhoun IJ, Le Gall G, Williamson D, Kemsley EK. 2017. Low-field ^1H NMR spectroscopy for distinguishing between arabica and robusta ground roast coffees. *Food Chemistry*. 216: 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.028>

Direktorat Jenderal Perkebunan. 2018. *Statistik Perkebunan Indonesia 2017–2019: Kopi*. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian.

Domingues DS, Pauli ED, de Abreu JEM, Massura FW, Cristiano V, Santos MJ, Nixdorf SL. 2014. Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC by amperometric and by post-column derivatization uv–vis detection. *Food Chemistry*. 146: 353–362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.-2013.09.066>

Dong W, Zhao J, Hu R, Dong Y, Tan L. 2017. Differentiation of Chinese robusta coffees according to species, using a combined electronic nose and tongue, with the aid of chemometrics. *Food Chemistry*. 229: 743–751. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.149>

Flores-Valdez M, Meza-Márquez OG, Osorio-Revilla G, Gallardo-Velázquez T. 2020. Identification and quantification of adulterants in coffee (*Coffea*

- arabica* L.) using FT-MIR spectroscopy coupled with chemometrics. *Foods*. 9: 851. <http://dx.doi.org/10.3390/foods9070851>
- Granato D, Santos JS, Escher GB, Ferreira BL, Maggio RM. 2017. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology*. 72: 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.006>
- Hecimovic I, Belscak-Cvitanovic A, Horzic D, Komes D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*. 129(3): 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
- ICO. 2020. World Coffee Production. [Internet]. [diunduh 2021 Jan 8]. Tersedia pada: <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>.
- Jamali N, Mostafavi-Pour Z, Zal F, Kasraeian M, Poordast T, Nejabat N. 2021. Antioxidant ameliorative effect of caffeic acid on the ectopic endometrial cells separated from patients with endometriosis. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 60(2): 216–220. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2020.12.003>
- Jeszka-Skowron M, Frankowski R, Zgoła-Grześkowiak A. 2020. Comparison of methylxantines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans – Influence of steaming, decaffeination and roasting processes on coffee beans. *LWT - Food Science and Technology*. 125: 109344. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109344>
- [Kemenperin] Kementerian Perindustrian. 2018. Naik 10 persen ekspor kopi olahan nasional tembus USD 469 Juta. [Internet]. [diunduh 2021 Jan 8]. Tersedia pada: <http://www.kemenperin.go.id/artikel/19194/Naik-10-Persen,-Ekspor-Kopi-Olahan-Nasional-Tebus-USD-469-Juta>
- Luna AS, da Silva AP, da Silva CS, Lima ICA, de Gois JS. 2019. Chemometric methods for classification of clonal varieties of green coffee using raman spectroscopy and direct sample analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*. 76: 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.12.001>
- Luna AS, Pinho JSA, Machado LC. 2016. Discrimination of adulterants in UHT milk samples by NIRS coupled with supervision discrimination techniques. *Analytical Methods*. 8(39): 7204–7208. <https://doi.org/10.1039/C6AY01351A>
- Mariani NCT, Teixeira GHA, de Lima KMG, Morgenstern TB, Nardini V, Júnior LCC. 2015. NIRS and iSPA-PLS for predicting total anthocyanin content in jaboticaba fruit. *Food Chemistry*. 174: 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.008>
- Moser JK, Singh M, Rennick KA, Bakota EL, Jham GN, Liu SX, Vaughn SF. 2015. Detection of corn adulteration in brazilian coffee (*coffea arabica*) by tocopherol profiling and NIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(49): 10662–10668. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04777>
- Nunez N, Saurina J, Nunez O. 2021. Authenticity assessment and fraud quantitation of coffee adulterated with chicory, barley, and flours by untargeted HPLC-UV-FLD fingerprinting and chemometrics. *Foods*. 10: 840. <https://doi.org/10.3390/foods10040840>
- Nurchahyo B. 2015. Identifikasi dan autentikasi meniran (*Phyllanthus niruri*) menggunakan kombinasi spektrum ultraviolet-tampak dan kemometrika. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ongo EA, Montevecchi G, Antonelli A, Sberveglieri V, Sevilla III F. 2020. Metabolomics fingerprint of Philippine coffee by SPME-GC-MS for geographical and varietal classification. *Food Research International*. 134: 109227. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109227>
- Putri SP, Irifune T, Yusianto, Fukusaki E. 2019. GC/MS based metabolite profiling of Indonesian specialty coffee from different species and geographical origin. *Metabolomics*. 15: 126. <https://doi.org/10.1007/s11306-019-1591-5>
- Ripper B, Kaiser CR, Perrone D. 2020. Use of NMR techniques to investigate the changes on the chemical composition of coffee melanoidins. *Journal of Food Composition and Analysis*. 87:103399. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103399>
- Savitzky A, Golay MJE. 1964. Smoothing and differentiation of data by simplified least-squares procedures. *Analytical Chemistry*. 36(8): 1627–1639. <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>
- Souto UTCP, Barbosa MF, Dantas HV, de Pontes AS, Lyra WS, Diniz PHGD, de Araújo MCU, da Silva EC. 2015. Identification of adulteration in ground roasted coffees using uv–vis spectroscopy and SPA-LDA. *LWT - Food Science and Technology*. 63(2): 1037–1041. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.003>
- Suhandy D, Yulia M, Ogawa Y, Kondo N. 2013. Prediction of l-ascorbic acid using ftir-atr terahertz spectroscopy combined with interval partial least squares (iPLS) regression. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*. 6(3): 111–117. <https://doi.org/10.11165/eaef.6.111>
- Suhandy D, Yulia M. 2017a. The use of partial least square regression and spectral data in uv-visible

- region for quantification of adulteration in Indonesian palm civet coffee. *International Journal of Food Science*. 2017: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2017/6274178>
- Suhandy D, Yulia M. 2017b. Peaberry coffee discrimination using UV-Vis spectroscopy combined with SIMCA and PLS-DA. *International Journal of Food Properties*. 20(sup1): S331–S339. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1296861>
- Suhandy D, Yulia M. 2018. Discrimination of several Indonesian specialty coffees using fluorescence spectroscopy combined with SIMCA method. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 334: 012059. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/334/1/012059>
- Suhandy D, Yulia M. 2019. Klasifikasi kopi bubuk spesialti kalosi dan toraja menggunakan *uv-visible spectroscopy* dan metode PLS-DA. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 24(1): 73–81. <https://doi.org/10.18343/jipi.24.1.73>
- Suhandy D, Yulia M. 2020. *Teknologi near infrared spectroscopy portabel untuk kuantifikasi atribut mutu buah-buahan*. Yogyakarta (ID): Graha Ilmu.
- Wermelinger T, D'Ambrosio L, Klopprogge B, Yeretzyan C. 2011. Quantification of the robusta fraction in a coffee blend via raman spectroscopy: proof of principle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(17): 9074–9079. <https://doi.org/10.1021/jf201918a>
- Yisak H, Redi-Abshiro M, Chandravanshi BS. 2018. Selective determination of caffeine and trigonelline in aqueous extract of green coffee beans by FT-MIR-ATR spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. 97: 33–38. <https://doi:10.1016/j.vibspec.2018.05.003>