

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Buah Alpukat merupakan salah satu buah yang telah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. Dalam buah alpukat terkandung vitamin A, B, C, dan E serta β -karoten dalam jumlah yang tinggi, bahkan kandungan potassiumnya lebih tinggi daripada pisang (Bergh, 1992; Ozdemir and Topuz, 2004). Penelitian di Brazil menyebutkan kandungan lemak daging buah alpukat tergolong cukup besar yaitu 15,39% dan dengan kandungannya ini dimungkinkan dibentuk sediaan dalam bentuk minyak buah alpukat (Bora *et al.*, 2001).

Minyak buah alpukat (MBA) mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan dalam jumlah yang besar, seperti antioksidan, vitamin, dan fitosterol (Requejo *et al.*, 2003). Studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa minyak buah alpukat bisa dipertimbangkan sebagai makanan pilihan untuk pencegahan kanker karena memiliki kandungan fitokimia yang tinggi (Ding *et al.*, 2007). Dibandingkan dengan buah lain, alpukat mengandung sterol dalam jumlah banyak yang terekstraksi bersama minyaknya (Woolf *et al.*, 2008).

Mengonsumsi minyak buah alpukat dilaporkan mampu menurunkan serum total kolesterol, LDL, dan trigliserida, serta meningkatkan kadar HDL dalam tubuh (Alvizouri-Munoz *et al.*, 1992; Lopez-Ledesma *et al.*, 1996). MBA mampu mengurangi resiko terserang aterosklerosis, dan disarankan mengonsumsi

langsung minyak buah alpukat untuk mengurangi resiko terserang penyakit kardiovasular (Ortiz-Moreno *et al.*, 2003).

Pemalsuan produk makanan merupakan isu yang menarik, baik bagi konsumen maupun produsen. Pemalsuan produk biasanya mencampur produk yang bernilai tinggi dengan produk yang bernilai rendah (Flores *et al.*, 2007; Rohman and Che Man, 2010). MBA yang memiliki harga yang mahal dicampur dengan minyak nabati lain yang harganya lebih rendah. Pemalsuan ini akan mempengaruhi kualitas minyak alpukat (Christy *et al.*, 2004; Ozen and Mauer, 2002). Sebagai bukti pada tahun 1980-an di Spanyol dilaporkan terjadi kasus *Toxic Oil Syndrome* yang disebabkan oleh pemalsuan minyak, sekitar 20.000 orang terserang penyakit ini dan 600 diantaranya terjadi kematian (Ferragut, 2007). Oleh karena itu perlu dilakukan analisis yang cepat dan murah untuk mendeteksi campuran dalam minyak buah alpukat.

Analisis kimia selalu dituntut menuju ke arah yang lebih simpel dan metode analisisnya cepat. Saat ini *Fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR) menjadi pilihan untuk menggantikan metode-metode analisis yang lama (Quiñones-Islas *et al.*, 2013). Aplikasi spektroskopi FTIR saat ini meningkat untuk analisis makanan, terutama menjadi instrumen analisis yang akurat dalam analisis minyak dan lemak (Guillen and Cabo, 2000). Kombinasi spektroskopi FTIR dengan kemometrika memungkinkan memperoleh informasi yang spesifik tentang parameter-parameter yang berbeda secara langsung, bisa dipercaya, dan cepat (Gallardo-Velázquez *et al.*, 2009).

Spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrika telah dipakai untuk analisis pemalsuan minyak zaitun dengan minyak hazelnut (Beaten *et al.*, 2005; Groselj *et al.*, 2008), dengan minyak biji bunga matahari (Tay *et al.*, 2002) dengan minyak biji bunga matahari dan minyak jagung (Özdemir and Öztürk, 2007). Spektroskopi FTIR juga digunakan untuk autentikasi minyak buah merah dalam campuran dengan minyak wijen (Rohman *et al.*, 2013) dan pada *virgin coconut oil* dalam campuran dengan minyak canola (Che Man and Rohman, 2013). Dalam penelitian ini, kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometrika akan digunakan untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran minyak jagung dan minyak wijen.

B. Rumusan Masalah

Minyak buah alpukat merupakan minyak baru di pasaran. Harganya cukup mahal dibandingkan dengan minyak nabati lainnya, sehingga banyak pihak yang akan melakukan pemalsuan dengan menambahkan minyak nabati lain sebagai campuran untuk memperoleh keuntungan yang tinggi. Dari latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana optimasi spektroskopi FTIR dan kemometrika untuk menghasilkan model yang paling sesuai untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran dengan minyak jagung dan minyak wijen baik dalam campuran biner atau terner?

2. Apakah spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrika dapat digunakan untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran dengan minyak jagung dan minyak wijen?

C. Pentingnya Penelitian Dilaksanakan

Sebagai minyak yang bernilai tinggi, minyak buah alpukat (MBA) berpotensi untuk dipalsukan dengan minyak nabati lain yang nilainya lebih rendah. Analisis campuran minyak pemalsu dengan metode-metode kromatografi seperti kromatografi gas dan KCKT dirasa membutuhkan preparasi sampel yang rumit serta boros dalam penggunaan pelarut. Oleh karena itu dibutuhkan suatu metode analisis baru yang dapat menutupi kekurangan metode-metode lama. Metode spektroskopi inframerah (FTIR) yang dikombinasikan dengan kemometrika diharapkan mampu menganalisis adanya minyak pemalsu dalam MBA secara cepat, akurat, dan terpercaya.

Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh industri maupun pemerintah untuk menganalisis keaslian suatu minyak, dan dapat sebagai bahan acuan dalam analisis yang sama oleh peneliti lain.

D. Tujuan

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis yang cepat dan akurat untuk mendeteksi adanya campuran minyak nabati dalam minyak buah alpukat. Secara khusus, penelitian ini bertujuan untuk:

1. Melakukan optimasi spektroskopi FTIR dan kemometrika untuk menghasilkan model yang paling sesuai untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran minyak jagung dan minyak wijen dalam campuran biner dan terner.
2. Mengembangkan metode kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometrika untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran minyak jagung dan minyak wijen.

E. Tinjauan Pustaka

1. Buah alpukat

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) berasal dari Amerika tengah yang beriklim tropis dan telah menyebar hampir ke seluruh negara sub-tropis dan tropis termasuk Indonesia. Hampir semua orang mengenal dan menyukai buah alpukat, karena buah ini mempunyai kandungan gizi yang tinggi (Prasetyowati dkk, 2010).



Gambar 1. Alpukat (*Persea Americana* Mill): (a) daging dan biji buah; (b) bunga dan daun (Anonim, 2008)

Alpukat berupa pohon dengan tinggi 3-10 m. Batang berkayu, bulat, bercabang, coklat, kotor (Anonim, 2001). Alpukat memiliki daun bertangkai, berjejal-jejal pada ujung ranting, berbentuk bulat telur memanjang, elips, atau bulat telur terbalik, memanjang, dan waktu muda berambut rapat. Bunga berkelamin dua, dalam malai yang bertangkai dan berbunga banyak, terdapat di dekat ujung ranting. Buah buni berbentuk bola atau peer, panjang 5-20 cm, berbiji satu, berwarna hijau atau hijau kuning, memiliki bau yang enak. Alpukat memiliki biji berbentuk bola dengan diameter 2,5-5 cm (van Steenis, 2002). Buah alpukat dapat dilihat pada Gambar 1. Berikut ini klasifikasi alpukat :

Kerajaan	: Plantae	
Divisi	: Spermatophyta	
Sub divisi	: Angiospermae	
Kelas	: Dicotyledoneae	
Bangsa	: Laurales	
Suku	: Lauraceae	
Marga	: Persea	
Jenis	: <i>Persea americana</i> Mill	(Anonim, 2008).

Buah alpukat memiliki kandungan nutrisi yang tinggi, mengandung vitamin A, B, C, dan E dalam jumlah yang besar serta nutrien lain seperti folacin, niacin, besi (Fe), magnesium (Mg), folat, asam pentotenat, dan potassium (K). Vitamin C, E, dan beta karoten (prekursor vitamin A) merupakan senyawa antioksidan alami yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Protein buah alpukat

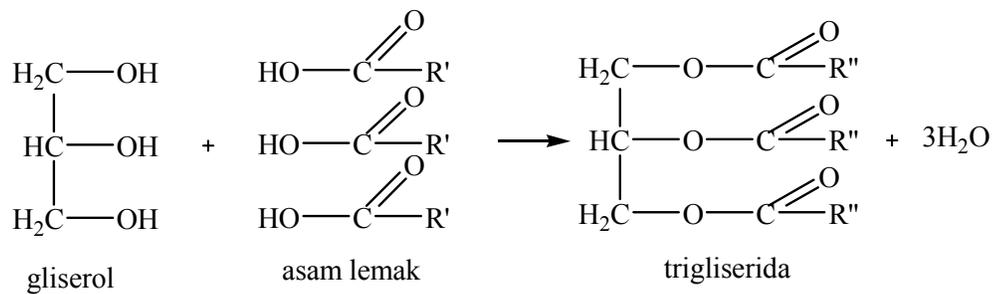
juga terbukti mengandung asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh (Bergh, 1992). Kandungan buah alpukat seperti Tabel I.

Tabel I. Kandungan buah alpukat (Prasetyowati dkk, 2010)

Kandungan	Jumlah
Vitamin A	0,13-0,51 mg
Vitamin B1	0,025-012 mg
Vitamin B2	0,13-0,23 mg
Vitamin B3	0,79-2,16 mg
Vitamin B6	0,45 mg
Vitamin C	2,3-37 mg
Vitamin D	0,01 mg
Vitamin E	3 mg
Vitamin K	0,008 mg
Besi	0,9 mg
Fosfor	20 mg
Kalium	604 mg
Natrium	4 mg
Kalsium	10 mg
Air	67,49 - 84,3 g
Protein	0,27 – 1,7 g
Lemak	6,5 – 25,18 g
Karbohidrat	5,56 – 8 g
Serat	1,6 g
Energi	85 – 233 kal

2. Lemak dan minyak

Lemak dan minyak merupakan salah satu kelompok yang termasuk golongan lipida. Lemak dan minyak atau secara kimiawi adalah trigliserida merupakan bagian terbesar dari kelompok lipida. Trigliserid merupakan suatu molekul gabungan antara satu molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak yang membentuk satu molekul trigliserida dan tiga molekul air (Sudarmadji dkk., 1989; Rohman dan Sudjadi, 2004). Proses pembentukan trigliserida terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Proses pembentukan trigliserida (Sudarmadji dkk., 1989)

Jika $R_1 = R_2 = R_3$ maka trigliserida yang terbentuk disebut trigliserida sederhana sedangkan jika ketiganya berbeda disebut trigliserida campuran. Apabila satu molekul gliserol hanya mengikat satu molekul asam lemak maka hasilnya disebut monogliserida dan jika dua asam lemak disebut digliserida (Sudarmadji dkk., 1989).

Lemak dan minyak dalam bidang biologi dikenal sebagai salah satu bahan penyusun dinding sel dan penyusun bahan-bahan biomolekul. Dalam bidang teknologi makanan, lemak dan minyak memegang peranan yang penting karena

minyak dan lemak memiliki titik didih yang tinggi (sekitar 200°C) dan bisa digunakan untuk menggoreng makanan sehingga kandungan air bahan yang digoreng bisa berkurang dan menjadi kering (Sudarmadji dkk, 1989).

Minyak pada suhu kamar biasa berada dalam wujud cair, sedangkan lemak dalam suhu kamar berwujud padat (Rohman dan Sudjadi, 2004). Sedangkan menurut Sudarmadji (1989) lemak diartikan sebagai trigliserida yang dalam kondisi suhu ruang berada dalam keadaan padat sedangkan minyak adalah trigliserida yang dalam suhu ruang berbentuk cair. Secara lebih pasti tidak ada batasan yang jelas untuk membedakan minyak dan lemak ini.

Minyak dan lemak biasanya dinamakan sesuai dengan sumbernya, misalnya minyak alpukat, minyak kedelai, minyak jagung, dan minyak zaitun. Setiap minyak memiliki rentang sifat fisika kimia dan komponen penyusun yang bermacam-macam (Gunstone, 2004).

3. Minyak buah alpukat

Minyak buah alpukat (MBA) saat ini dianggap sebagai minyak pendatang baru dalam lingkup pasar minyak dan lemak. Hanya sedikit negara yang terlibat dalam produksi MBA ini, seperti Meksiko (34%), USA (8%), Israel (4%), Afrika Selatan (<2%), dan Selandia Baru (<1%). Negara-negara ini juga berperan dalam pembudidayaan dan perdagangan buahnya (Eyres *et al.*, 2006). MBA tidak hanya disukai karena rasanya yang enak, tetapi juga karena manfaatnya dalam kesehatan (Litz *et al.*, 2007).

Banyak keuntungan dari MBA. Dari data diketahui bahwa mengkonsumsi MBA dilaporkan mampu menurunkan serum total kolesterol, LDL, dan trigliserida, dan meningkatkan kadar HDL dalam tubuh. MBA juga mampu mengurangi resiko terserang aterosklerosis, dan disarankan mengkonsumsi langsung minyak buah alpukat untuk mengurangi resiko terserang penyakit kardiovaskular (Ortiz-Moreno *et al.*, 2003; Alvizouri-Munoz *et al.*, 1992; Lopez-Ledesma *et al.*, 1996).

Tidak hanya dalam bidang kesehatan, MBA juga digunakan dalam bidang kosmetik sebagai anti bakteri dan mencegah kerutan. Kegunaan yang lain adalah sebagai emolien (pelunak kulit), agen penetrasi kulit, dan sebagai pelembab dalam sediaan kosmetik. Kemampuan penetrasinya yang tinggi pada kulit akan menentukan keberhasilan terapi, dan hal ini secara luas telah digunakan dalam berbagai bentuk sediaan krim dan minyak untuk kegunaan topikal (Human, 1987).

MBA bisa diperoleh dengan cara daging buah alpukat yang telah dikeringkan, digiling halus hingga berbentuk bubuk untuk selanjutnya dimasukkan ke dalam Soxhlet yang telah dirangkai dengan kondensor dan labu didih. Pelarut berupa n-heksana dimasukkan ke dalam labu didih. Kemudian rangkaian Soxhlet tersebut diletakkan di atas pemanas sehingga didapat hasil ekstraksi berupa campuran minyak buah alpukat dengan pelarut. Proses evaporasi merupakan lanjutan dari proses ekstraksi dengan tujuan untuk memisahkan MBA dengan pelarutnya sehingga didapatkan minyak buah alpukatnya saja (Bora *et al.*, 2001). Kandungan asam lemak minyak buah alpukat terlihat pada Tabel II.

Tabel II. Kandungan asam lemak minyak buah alpukat (Rodriguez-Carpena *et al.*, 2012)

Asam lemak	Jumlah (%)
C14:0 Miristat	0,06
C16:0 Palmitat	12,87
C16:1 Palmitoleat	3,86
C18:0 Stearat	1,45
C18:1 (ω -9) Oleat	57,44
C18:1 (ω -7) Vaksenat	3,43
C18:2 (ω -6) Linoleat	18,7
C18:3 (ω -3) α -linolenat	0,92
C20:0 Arakhidat	0,31
C20:1 (ω -9) Eikosanoat	0,31
C20:4 (ω -4) Arakhidonat	0,09
C22:0 Behenat	0,16
C24:0 Lignoserat	0,11

4. Minyak jagung

Minyak jagung merupakan minyak nabati utama dengan produksi tahunan sekitar dua juta ton. Asam lemak utama yang terkandung adalah palmitat (9-17%), oleat (20-42%), dan linoleat (39-63%). Sementara itu trigliserida utama biasanya LLL (15%), LLO (21%), LLS (17%), LOO (14%), LOS (17%), LSS (5%), OOO (6%), dan OOS (4%). Minyak jagung berwarna kuning gelap hingga kuning pucat dengan bau jagung yang sangat kuat. Minyak jagung memiliki bilangan iodium 121-128 g I₂/100 g minyak, bilangan penyabunan 189-195 mg KOH/g minyak dan indeks bias 1,470-1,474 pada 25°C (Shahidi, 2005).

Minyak jagung termasuk kedalam minyak yang memiliki kandungan asam linoleat dan oleat yang tinggi. Minyak jagung merupakan kelompok yang paling mudah bercampur dengan minyak lain. Minyak jagung mentah berwarna gelap dengan aksent merah kekuningan dibandingkan minyak nabati lainnya. Komposisi asam lemaknya, seperti kebanyakan minyak lain, tergantung dari tipe biji, perbedaan iklim, dan perbedaan musim (O'Brien, 2009). Karakteristik minyak jagung terlihat dalam Tabel III.

Tiga komponen kimia paling banyak dalam fraksi tidak tersabunkan dalam minyak jagung adalah fitosterol, tokoferol, dan tokotrienol serta squalene. Squalene adalah senyawa tidak tersabunkan dalam minyak yang dilaporkan menjadi hidrokarbon utama dalam minyak jagung (Moreau, 2002). Di samping sifat antioksidan, tokotrienol memiliki kemampuan untuk menghambat biosintesis kolesterol (Parker *et al*, 1993).

Tabel III. Karakteristik minyak jagung (O'Brien, 2009)

Karakteristik	Kisaran
Berat jenis	0,915 – 0,920 g/L
Indeks bias	1,470 – 1,474
Bilangan Iodium	118 – 128 g I ₂ /100 g minyak
Bilangan penyabunan	187 – 193 mg KOH/g minyak
Zat yang tidak tersabunan	1,3 – 2,3%
Titik lebur	(-12) – (-10)°C
Kandungan Tokoferol	
α-tokoferol	116 – 172 ppm
β-tokoferol	0 – 22 ppm
γ-tokoferol	1119 – 1401 ppm
δ-tokoferol	59 – 65 ppm
Komposisi asam lemak	
C14:0 Miristat	< 0,1%
C16:0 Palmitat	8,0 – 19,0%
C16:1 Palmitoleat	< 0,5%
C18:0 Stearat	0,5 – 4,0%
C18:1 Oleat	19,0 – 50,0%
C18:2 Linoleat	34,0 – 62,0%
C18:3 Linolenat	0,1 – 2,0%
C20:0 Arakhidat	< 1,0%
C20:1 Gadoleat	< 0,5%
C22:0 Behenat	< 0,5%

5. Minyak wijen

Minyak wijen berasal dari tanaman *Sesame indicum*. Tanaman ini tumbuh terutama di India, Cina, Myanmar, Sudan, dan Meksiko dengan total produksi minyak tahunan sekitar 800.000 ton. Bijinya menghasilkan 40-60% minyak dengan

mutu asam oleat hampir sama (kisaran 33-50%, biasanya 41%) dan asam linoleat (kisaran 33-50%, biasanya 43%), serta sejumlah asam palmitat (kisaran 7-12%, biasanya 9%) dan asam stearate (kisaran 3-6%, biasanya 6%) (Gunstone, 2004). Sifat fisika kimia minyak wijen dapat dilihat dalam Tabel IV.

Tabel IV. Karakteristik minyak wijen (Codex, 1999)

Sifat	Kisaran
Berat jenis	0,918 - 0,924 g/L
Indeks bias	1,465 – 1,469
Bilangan penyabunan	186 – 195 mg KOH/g minyak
Bilangan iodium	104 – 120 g I ₂ /100 g minyak
Zat yang tidak tersabunkan	≤ 20 g/Kg
Komposisi asam lemak	
C14:0 Miristat	Tidak terdeteksi – 0,1%
C16:0 Palmitat	7,9 – 12,0%
C16:1 Palmitoleat	Tidak terdeteksi – 0,2%
C18:0 Stearat	4,5 – 6,7%
C18:1 Oleat	34,4 – 45,5%
C18:2 Linoleat	36,9 – 47,9%
C18:3 Linolenat	0,2 – 1,0%
C20:0 Arakhidat	0,3 – 0,7%
C20:1 Gadoleat	Tidak terdeteksi – 0,3%
C22:0 Behenat	Tidak terdeteksi – 1,1%
C24:0 Lignoserat	Tidak terdeteksi – 0,3%

Manfaat minyak wijen selain secara konvensional digunakan sebagai minyak goreng juga banyak dimanfaatkan oleh industri kimia, farmasi, dan obat-

obatan (Tambun, 2006). Di China, Korea, dan Jepang, biji wijen disangrai lebih dulu sebelum diperas menjadi minyak. Hasilnya adalah minyak berwarna cokelat keemasan dan berbau harum. Minyak wijen dari India berwarna kuning keemasan. Minyak wijen berwarna bening didapat dari hasil ekstraksi biji wijen mentah dan aromanya kurang harum. Suhu sewaktu memematangkan biji wijen mempengaruhi minyak yang dihasilkan. Minyak wijen untuk masakan Cina berwarna lebih gelap karena biji wijen disangrai pada suhu di atas 200°C.

Pemanfaatan minyak wijen sebagai minyak kesehatan disebabkan di dalam minyak wijen terkandung asam lemak omega 6 dan omega 9, tokoferol, dan kandungan antioksidan lainnya. Hal ini menyebabkan perdagangan wijen dan minyak wijen di dunia terus mengalami peningkatan (Tambun, 2006). Minyak wijen mengandung sesamin (0,1 - 1,1%) dan sesamolin (0,1 – 0,6%) yang bersama-sama memberikan stabilitas oksidatif tinggi pada minyak, sehingga dapat ditambahkan ke minyak lainnya untuk meningkatkan stabilitas oksidatif, seperti dalam penyusunan minyak goreng (Gunstone, 2004).

6. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan dua zat atau lebih dengan pelarut yang tidak saling campur, bisa dari zat cair ke zat cair atau dari zat padat ke zat cair (Harborne, 1984). Ekstraksi biasanya dilakukan untuk mengisolasi suatu senyawa alam dari jaringan asli tumbuh-tumbuhan yang sudah dikeringkan (Kusnaeni, 2008).

Berdasarkan fase yang terlibat, terdapat 2 macam ekstraksi yakni ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Pemindahan komponen dari padatan ke pelarut pada ekstraksi padat-cair melalui 3 tahapan, yakni difusi pelarut ke pori-pori padatan atau dinding sel, kemudian di dalam dinding sel terjadi pelarutan padatan oleh pelarut, dan tahapan terakhir adalah pemindahan larutan dari pori-pori menjadi larutan ekstrak. Ekstraksi padat-cair dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, suhu yang digunakan, pengadukan dan banyaknya pelarut yang digunakan (Harborne, 1984). Tingkat ekstraksi suatu sampel ditentukan oleh ukuran partikel dari sampel tersebut, sebaiknya ukuran sampel yang diekstrak harus homogen agar kontak antara sampel dengan pelarut berjalan dengan mudah, dan ekstraksi berlangsung baik (Sudarmadji dkk., 1989).

Ekstraksi padat-cair merupakan proses pemisahan zat padat yang terlarut dari campurannya dengan pelarut yang tidak saling larut. Pemisahan umumnya melibatkan pemutusan yang selektif, dengan atau tanpa difusi (Perry, 1997). Ekstraksi padat-cair dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu cara Soxhlet dan perkolasi dengan atau tanpa pemanasan. Cara lain yang lebih sederhana untuk mengekstrak zat aktif dari padatan adalah dengan maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik pada temperatur ruangan. Teknik ini dilakukan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang mungkin bersifat tidak tahan panas (Harborne, 1984). Prinsip teknik pemisahan secara maserasi adalah prinsip kelarutan *like dissolve like* yang mana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar. Oleh karena itu, pemilihan pelarut sangat

berpengaruh terhadap hasil ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat menarik komponen yang diinginkan semaksimal mungkin. Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut antara lain: selektivitas, sifat pelarut dan kemampuan mengekstraksi, tidak toksik, mudah diuapkan dan relatif murah. Pelarut untuk ekstraksi maserasi yang umumnya digunakan antara lain: etil asetat, etanol, aseton dan air (Simpson, 2008).

Ekstraksi cair-cair digunakan sebagai cara untuk praperlakuan sampel untuk memisahkan senyawa yang diukur dari komponen-komponen pengotor yang mungkin akan mengganggu pada saat kuantifikasi atau deteksi analit. Di samping itu, ekstraksi pelarut juga digunakan untuk memekatkan analit yang ada dalam sampel dengan jumlah kecil sehingga tidak memungkinkan atau menyulitkan untuk deteksinya. Kebanyakan ekstraksi dilakukan dengan menggunakan corong pisah dalam waktu beberapa menit. Akan tetapi untuk efektifitas ekstraksi analit dengan rasio distribusi yang kecil (<1), ekstraksi hanya dapat dicapai dengan mengenakan pelarut baru pada larutan sampel secara terus menerus. Hal ini dapat dilakukan dengan refluks menggunakan alat yang didesain secara khusus (Kealey and Haines, 2002).

7. Spektrofotometer FTIR

Spektroskopi merupakan kajian tentang interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi (sampel). Spektrofotometri inframerah (IR) merupakan salah satu jenis spektrofotometri vibrasional yang didasarkan pada serapan molekul terhadap radiasi inframerah. Daerah IR terdiri dari tiga bagian

yakni daerah IR jauh ($400\text{-}40\text{ cm}^{-1}$), daerah IR tengah ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), dan daerah IR dekat ($14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$). Umumnya analisis senyawa dilakukan pada daerah IR tengah (Tanaka *et al.*, 2008).

Analisis minyak pada daerah bilangan gelombang IR tengah mampu memberikan berbagai macam jenis ikatan molekul (gugus fungsional) dalam minyak (Reid *et al.*, 2006). Spektrofotometri IR juga dapat digunakan untuk identifikasi struktur molekul dan analisis kuantitatif karena intensitas (absorbansi) dalam spetra IR berbanding lurus dengan konsentrasi gugus fungsional yang bersesuaian dalam molekul kimia, seperti ditunjukkan dalam hukum Lambert-Beer. Dalam analisis lemak dan minyak, sebagian puncak dan bahu spektra dapat disebabkan oleh gugus fungsional tertentu (Guillen and Cabo, 1997).

Pada Spektrofotometri IR, molekul-molekul dieksitasikan ke tingkat energi lebih tinggi ketika molekul menyerap radiasi inframerah. Absorpsi radiasi inframerah tersebut merupakan proses kuantifikasi. Proses kuantifikasi yang dimaksud adalah bahwa molekul hanya dapat menyerap pada frekuensi (energi) tertentu. Absorpsi radiasi IR bersesuaian dengan perubahan energi berkisar antara $2\text{-}10\text{ kkal/mol}$. Radiasi pada kisaran energi ini bersesuaian dengan kisaran frekuensi vibrasi regangan dan ulur suatu ikatan dalam kebanyakan ikatan kovalen molekul (Pavia *et al.*, 2001).

Saat ini dengan pengembangan Fourier Transform, spektrofotometri FTIR digunakan secara luas dalam bidang farmasi, makanan, dan lingkungan (Che Man *et al.*, 2010). Dengan menggunakan *attenuated total reflectance* (ATR) sebagai teknik penanganan sampelnya, spektrofotometri FTIR merupakan metode analisis

yang cepat, sensitif, non-destruktif, dan mudah operasionalnya (Rohman and Che Man, 2008). Teknik ATR dapat dimanfaatkan untuk analisis secara sederhana/praktis pada sampel padat dan cair seperti dalam analisis makanan (Subramanian and Rodriguez-Saona, 2009).

Spektrofotometri FTIR berkembang dalam satu dekade terakhir dan memberikan beberapa keuntungan yaitu mampu menawarkan sensitifitas yang tinggi, mampu memberikan energi yang lebih tinggi serta mampu meningkatkan kecepatan pembacaan spektra IR secara dramatis. Digabungkan dengan kemajuan komputer dan perangkat lunak “kemometrika”, spektroskopi FTIR mampu dengan mudah memanipulasi informasi spektra. Spektroskopi IR juga dikenal sebagai teknik sidik jari (*finger print*), yang berarti bahwa tidak ada 2 senyawa/sampel yang mempunyai jumlah puncak atau intensitas (absorbansi) yang sama (Guillen and Cabo, 1997).

8. Kemometrika

Kemometrika merupakan analisis yang dilakukan terhadap data multivariat. Data tersebut dihasilkan dari spesimen-spesimen yang masing-masing memiliki beberapa variabel yang harus diukur (Miller and Miller, 2005).

Kalibrasi multivariat dibagi menjadi metode linier dan non-linier. Metode linier terdiri dari: *classical least square* (CLS), *inverse least square* (ILS), *principal component regression* (PCR), dan *partial least square* (PLS). Metode-metode tersebut berdasarkan pada model persamaan *multiple linier regression* (MLR) yang merupakan lanjutan dari regresi linier biasa. Model MLR menggunakan lebih dari

satu variabel untuk memprediksi konsentrasi analit, namun variabel-variabel tersebut tidak berkorelasi satu sama lain (Miller and Miller, 2005).

a. PCA (*principal componen analysis*)

PCA merupakan salah satu metode multivariat yang dapat digunakan untuk menyederhanakan data dengan mengurangi sejumlah variabel ke jumlah variabel yang lebih kecil. PCA berfungsi sebagai teknik pengurangan jumlah data ketika muncul korelasi antar data. Ketika antar variabel tidak saling berhubungan maka teknik ini tidak berguna (Miller and Miller, 2000).

Secara umum, tujuan penggunaan PCA untuk analisis multivariat dapat dibagi menjadi dua. Pertama, PCA melibatkan pemutaran dan pengubahan data asli (n). Transformasi ini dilakukan sedemikian rupa sehingga sumbu baru terletak di sepanjang arah varian maksimum data dengan batasan bahwa sumbu-sumbu tersebut ortogonal, dengan kata lain variabel yang baru tidak berkorelasi. Hal ini biasanya terjadi pada kasus ketika jumlah variabel baru (p) yang diperlukan untuk menggambarkan sebgain besar varian data sampel kurang dari n . Jadi, PCA menghasilkan metode dan teknik untuk mengurangi dimensi dari parameter ruang. Kedua, PCA dapat menampakkan variabel-variabel tersebut, atau kombinasi variabel, yang menentukan beberapa struktur yang melekat dalam data yang dapat ditafsirkan dalam terminologi kimia atau fisika-kimia (Adams, 2004).

Tujuan lain metode PCA adalah untuk membuat *principal component* (PC) yaitu Z_1, Z_2, \dots, Z_n yang berasal dari kombinasi linier X_1, X_2, \dots, X_n , atau dapat ditulis sebagai berikut:

$$Z1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots a_{1n}X_n$$

$$Z2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots a_{2n}X_n$$

Koefisien a_{11} , a_{12} , dst dipilih sedemikian rupa sehingga variabel-variabel baru tidak seperti variabel awal, tidak berkorelasi satu sama lain. Membuat variabel baru dengan cara ini nampaknya tidak bernilai, karena akan diperoleh sejumlah n variabel baru yang menggantikan n variabel asal, dan karenanya tidak ada reduksi atau pengurangan terhadap banyaknya data. Meskipun demikian, komponen utama dipilih sehingga *principal component* pertama (PC1), $Z1$, memiliki variasi paling besar dari serangkaian data. PC2, $Z2$, memiliki variasi terbesar kedua terhadap serangkaian data, dan seterusnya. Nilai $Z1$ yang memiliki variasi paling besar memungkinkan digunakan untuk mengurangi jumlah data yang ditangani, yaitu dengan bekerja pada satu dimensi $Z1$ daripada dalam banyak dimensi $X1$, $X2$, ..., Xn . *Principal component* diperoleh dari matriks kovarian (gabungan dari dua variasi) (Miller and Miller, 2000).

Antara *principal component* (PC) satu dengan PC yang lain memiliki hubungan saling ortogonal sehingga tidak ada korelasi antar PC. Nilai a_{11} , a_{12} , dan koefisien lain merupakan koefisien yang dibuat agar variabel-variabel baru tidak saling berkorelasi (Miller and Miller, 2005).

Metode PCA sering menghasilkan PC1 dan PC2 yang mengandung sebagian besar informasi dari variabel-variabel asli. Pada PCA dilakukan rotasi terhadap sumbu X sehingga PC1 berada pada arah variasi maksimum dan dilanjutkan dengan PC2 sebagai arah variasi maksimum yang selanjutnya. Data

baru yang diperoleh merupakan data dua dimensi yang dapat disajikan dengan menggunakan diagram (Miller and Miller, 2005).

b. PLS (*partial least square*)

Partial Least Square (PLS) merupakan metode regresi yang digunakan untuk mengkalibrasikan variabel-variabel yang saling berkorelasi. Metode ini hanya menggunakan variabel prediktor yang menunjukkan korelasi yang tinggi dengan variabel respon. Selanjutnya dibuat korelasi linier dari variabel-variabel prediktor yang dipilih tersebut (Miller and Miller, 2005).

PLS sering digunakan dalam metode spektrofotometri FTIR untuk mengekstrak informasi dari spektra yang kompleks, mendeteksi *impurities* dan *noise* dari instrumen spektrofotometer FTIR (Syahariza *et al*, 2005). Model regresi ini memberikan kelebihan berupa pembentukan komponen model PLS yang dapat menggambarkan korelasi antara variabel x dan y. Setiap komponen pada regresi PLS diperoleh dengan memaksimalkan korelasi variasi antara variabel y dengan setiap fungsi linier yang memungkinkan dari variabel x (Miller and Miller, 2005).

Model regresi PLS termasuk salah satu metode *inverse least square* yang digunakan untuk kalibrasi dari variabel-variabel yang saling berkaitan. Metode ini menggunakan kombinasi linier dari variabel prediktor dan bukan variabel asli (Miller and Miller, 2005). Model PLS dibagi menjadi dua macam, yaitu PLS1 dan PLS2. Variabel-variabel respon diolah secara terpisah pada PLS1, dan secara kolektif pada PLS2. Model PLS2 digunakan saat variabel-variabel respon saling berkorelasi (Miller and Miller, 2005).

Algoritma yang banyak digunakan pada PLS adalah *non-linear iterative partial least square* (NIPALS) dan *simple iterative partial least square* (SIMPLS). Model PLS memiliki variabel laten yang merupakan variabel perantara dari variabel x dan variabel y. Variabel laten disebut juga dengan komponen regresi PLS, yang menyerupai PC pada PCA dan PCR (Romia and Bernandes, 2009).

Pada model PLS, variabel prediktor yang berkorelasi tinggi dengan variabel respon akan mendapatkan nilai tambah (*score* yang lebih tinggi) karena memberikan efektivitas yang tinggi pada penentuan kalibrasi. Komponen yang dipilih pada regresi PLS merupakan komponen tertinggi dari hubungan linier antara variabel prediktor dengan variabel respon, serta merupakan variabel yang dapat menjelaskan variasi antar variabel prediktor (Miller and Miller, 2005). Hal ini dapat dilakukan karena algoritma regresi PLS menggunakan informasi yang diperoleh dari data matrik X (variabel prediktor) dan matrik Y (variabel respon) (Romia and Bernandez, 2009).

c. PCR (*principal componen regression*)

PCR adalah sebuah alternatif untuk regresi linier ganda (*multiple linear regression*) dan dapat digunakan dalam analisis sinyal seperti dalam kalibrasi. PCR menggabungkan PCA dan Regresi Linear. Prinsip dasar PCA adalah mengurangi jumlah variabel prediksi dengan mencari komponen utama yang merupakan kombinasi linier dari variabel asli. Metode regresi PCR ditetapkan bila dalam pembentukan model, pendugaan variabel bebas yang digunakan banyak dan terdapat hubungan yang erat antar variabel bebasnya. PCR

merupakan analisis faktor yang mana hanya spektra yang tidak memberikan ko-linearitas yang digunakan dalam kalibrasi. PCR merupakan teknik yang berguna ketika variabel prediksi memiliki korelasi yang sangat tinggi (Che Man *et al.*, 2010).

PCR merupakan salah satu metode untuk mengatasi masalah multikolinieritas yang mana sering muncul dalam analisis multivariat untuk menyatakan adanya hubungan linier (korelasi) antara dua variabel bebas atau lebih, dalam suatu persamaan regresi. Adanya korelasi antar variabel bebas juga menyebabkan salah satu syarat dari metode kuadrat terkecil tidak dipenuhi (Myers, 1990).

Komponen-komponen utama dipilih sedemikian rupa sehingga komponen utama pertama memiliki variasi yang terbesar dalam serangkaian data, sedangkan komponen utama kedua tegak lurus terhadap komponen utama pertama dan memiliki variasi terbesar berikutnya. Pemikiran dasar metode analisis ini adalah mendeskripsikan variasi serangkaian data multivariatif dengan data baru yang mana variabel –variabel baru tidak berkorelasi satu sama lain. Variabel-variabel baru adalah kombinasi linier dari variabel asal. Variabel baru diturunkan dalam arah menurun sehingga beberapa komponen pertama mengandung sebanyak mungkin variasi data asal (Brereton, 2003).

PLS dan PCR dilakukan dalam tiga tahap, yaitu kalibrasi, validasi, dan analisis sampel yang tidak diketahui. Perbedaan antara PCR dan regresi PLS terletak pada variabel baru pertama kali muncul. Model PCR menggunakan komponen utama yaitu komponen yang saling menggambarkan variasi dalam

variabel asli tanpa memperhatikan hubungan antara variabel prediktor dengan variabel respon. Pada model PLS, variabel prediktor berkorelasi tinggi dengan variabel respon akan mendapatkan nilai tambah (*score* yang lebih tinggi) karena memberikan efektivitas tinggi pada penentuan kalibrasi (Miller and Miller, 2005).

F. Landasan Teori

Minyak buah alpukat merupakan minyak buah fungsional yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, antara lain dapat berfungsi menurunkan serum kolesterol total, LDL, dan trigliserida, serta meningkatkan kadar HDL dalam tubuh (Alvizouri-Munoz *et al.*, 1992; Lopez-Ledesma *et al.*, 1996), serta sebagai diet pilihan untuk pencegahan kanker karena mengandung fitokimia yang tinggi (Ding *et al.*, 2007). Dengan harga yang tinggi dibandingkan dengan minyak lainnya, minyak buah alpukat berpotensi dipalsukan dengan minyak nabati lain seperti minyak jagung dan minyak wijen untuk memperoleh keuntungan yang besar. Pemalsuan tersebut seringkali tidak tampak oleh mata telanjang, oleh karena itu diperlukan suatu metode analisis yang mampu mendeteksi adanya pemalsu minyak secara cepat, simpel, dan reliabel untuk menjamin bahwa minyak yang dikonsumsi oleh konsumen memiliki kualitas yang terbaik.

Analisis adanya minyak pemalsu dengan metode-metode kromatografi seperti kromatografi gas dan KCKT dianggap membutuhkan preparasi sampel yang rumit serta boros dalam penggunaan pelarut, oleh karena itu dibutuhkan suatu metode analisis yang dapat menutupi kekurangan metode-metode lama. Metode

spektroskopi inframerah (FTIR) merupakan metode yang menjanjikan yang mampu menganalisis adanya senyawa pemalsu dalam minyak buah alpukat secara cepat, akurat, dan terpercaya karena spektroskopi inframerah memiliki kemampuan sebagai teknik sidik jari yang mampu membedakan antar struktur molekul suatu senyawa dengan senyawa lain, karena tidak ada dua molekul yang memiliki struktur dan spektra IR yang sama persis.

Spektroskopi inframerah yang dihubungkan dengan kemometrika merupakan metode analisis yang dapat menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif. Sebagai analisis kualitatif dapat dilihat dari analisis menggunakan spektra pada daerah *finger print*, sedangkan untuk analisis secara kuantitatif digunakan Hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan antara intensitas puncak (absorbansi) spektra sebanding dengan konsentrasi sampel. Analisis multivariat (kemometrika) yang digunakan adalah *principal component analysis* (PCA) untuk analisis kualitatif serta *partial least square* (PLS) dan *principal component regression* (PCA) untuk analisis secara kuantitatif.

Spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrika telah berhasil digunakan untuk autentikasi minyak buah merah dalam campuran dengan minyak wijen; *extra vrgin olive oil* dengan campuran minyak kelapa sawit; minyak zaitun dalam campuran dengan minyak jagung, minyak kedelai, minyak biji bunga matahari, dan minyak hazelnut. Karena alasan ini pada penelitian ini akan digunakan kombinasi spektroskopi inframerah dan kemometrika untuk autentikasi minyak buah alpukat.

G. Hipotesis

1. Model analisis yang sesuai untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran dengan minyak jagung dan minyak wijen dapat diperoleh dengan kombinasi spektrofotometer FTIR dan kemometrika.
2. Kombinasi Spektrofotometer FTIR dan kemometrika dapat digunakan untuk autentikasi minyak buah alpukat dalam campuran minyak jagung dan minyak wijen dalam campuran biner dan terner.