

PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI

Bidang Unggulan : Kopi untuk kesejahteraan nasional

Kode>Nama Rumpun Ilmu: 112/Kimia

Peneliti : Agus Abdul Gani¹, Bambang Kuswandi², Moch. Amrun Hidayat³,

Mahasiswa terlibat : Nur Nuha⁴

Sumber Dana : BOPTN-PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER
2013

¹ Jurusan Pendidikan MIPA - Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

² Jurusan Kimia Farmasi - Fakultas Farmasi Universitas Jember

³ Jurusan Biologi Farmasi - Fakultas Farmasi Universitas Jember

⁴ Jurusan Kimia Farmasi – Fakultas Farmasi Universitas Jember.

PENGEMBANGAN KEMOSENSOR ANTIOKSIDAN SEBAGAI METODE CEPAT DAN MUDAH UNTUK PENENTUAN KUALITAS BIJI BERASAN KOPI

Agus Abdul Gani¹, Bambang Kuswandi¹, Moch. Amrun Hidayat¹, Nur Nuha²,

- 1) Kelompok Studi kimia dan biosensor, Fakultas Farmasi Universitas Jember, Indonesia
- 2) Mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Indonesia

ABSTRAK

Kopi merupakan salah satu komoditi subsektor perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian nasional khususnya sebagai sumber devisa dan penyedia lapangan kerja. Dari berbagai studi ilmiah diketahui bahwa kopi memiliki efek positif terhadap kesehatan. Kopi dapat menurunkan resiko penyakit diabetes, menurunkan resiko penyakit Parkinson serta meningkatkan kesadaran dan suasana hati. Efek farmakologi kopi tersebut terkait erat dengan kandungan senyawa antioksidan di dalamnya seperti kafein dan asam galat.

Berbagai metode diaplikasikan untuk mendeteksi senyawa antioksidan di dalam kopi, misalnya dengan spektrofotometri UV-Vis, HPLC atau spektroskopi. Namun demikian, metode spektrometri dan kromatografi tersebut memiliki beberapa kelemahan, yakni: membutuhkan peralatan yang relatif mahal, analisis harus memiliki pengetahuan dan keterampilan kimia analisis yang memadai, waktu analisis yang relatif lama serta membutuhkan volume sampel yang relatif besar. Oleh karenanya dibutuhkan alternatif metode pengujian aktifitas antioksidan kopi yang cepat, tepat, murah dan mudah.

Pengembangan alat uji antioksidan sederhana dapat dilakukan melalui desain, konstruksi dan fabrikasi kemosensor berbasis reagen kimia yang spesifik terhadap keberadaan senyawa antioksidan seperti *reagen CUPRAC* (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel kopi yakni dengan mengukur perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi senyawa antioksidan dalam kopi dengan reagen CUPRAC. Desain sensor menggunakan matriks pendukung *blister* dan *96 multiwellplate* yang kecil, kompak dan sederhana sehingga mudah di bawa kemanapun (*portable*).

Sensor kimia berbasis reagen CUPRAC untuk deteksi kandungan antioksidan dalam biji berasan kopi telah berhasil diwujudkan. Sensor dapat mendeteksi keberadaan antioksidan dalam larutan biji kopi melalui perubahan warna jika mengalami kontak dengan antioksidan, dari warna biru menjadi kuning. Intensitas warna dilakukan pengukuran dengan menggunakan instrument RGB. Dalam penelitian ini digunakan asam galat sebagai analit.

Hasil analisis aplikasi sensor memberikan data sebagai berikut. Sensor hasil fabrikasi memiliki waktu respon 3 menit, daerah linier (5 – 35) ppm dengan $R^2 = 0,99$, sensitifitas 1,972 mean blue/ppm, LOD 3,275 mgGAE, LOQ 10,918 mgGAE, RSD kepresisian 0,116, keakuratan (% Recovery) 104,517 % untuk kopi Arabika dan 100,990 % untuk kopi Robusta. Dalam aplikasinya untuk determinasi aktifitas antioksidan dalam biji kopi memberikan hasil yang tidak berbeda dibanding dengan teknik Spektrometri UV-Vis baik untuk kopi Robusta maupun kopi Arabika, masing-masing dengan nilai signifikansi ($\alpha = 0,475$, $n=3$) dan ($\alpha = 0,157$, $n=3$) yang berarti $> 0,025$ (H_0 diterima). Kondisi demikian berarti sensor kimia berbasis reagen CUPRAC hasil fabrikasi layak diaplikasikan untuk penentuan kualitas biji kopi. Penelitian akan dilanjutkan pada tahun kedua 2014 dengan fabrikasi biosensor berbasis enzim Xantin Oksidase (XO)

Kata kunci : Sensor kimia optik; Reagen CUPRAC; Asam Galat; Biji berasan kopi

DEVELOPMENT OF OPTICAL CHEMICAL SENSOR BASED ON CUPRAC REAGENT FOR DETECTION OF ANTIOXIDANT IN COFFEE BEANS SAMPLES AS FAST AND SIMPLE METHOD

Agus Abdul Gani¹, Bambang Kuswandi¹, Moch. Amrun Hidayat¹, Nur Nuha²,
1) Chemo and Biosensors Group, Faculty of Pharmacy Jember University, Indonesia
2) Students of Faculty of Pharmacy Jember University, Indonesia
Email: Agusagani@yahoo.com

Abstract

Coffee is one of the plantation sub-sector commodity, which plays an important role in the national economy, especially as a source of income and employment providers. From various scientific studies it is known that coffee has a positive effect on health. Coffee may lower the risk of diabetes, Parkinson's disease, and also it can raise awareness and mood. The pharmacological effects of coffee were related to its antioxidant compounds, such as caffeine and gallic acid.

Various methods were employed to detect the antioxidant compounds in coffee, for example, by liquid chromatography or spectroscopy. Nevertheless, spectrometry and chromatography method has some drawbacks: they required relatively expensive equipment, large sample volumes, and long analytical time. Moreover, the analyst must have sufficient knowledge and skills in analytical chemistry, Therefore, an alternative method to determine antioxidant coffee which were fast, accurate, inexpensive and easy is needed.

The development of a simple antioxidant test equipment can be done through the design, construction and fabrication chemical sensor based on chemical reagents which can react specifically with antioxidant compounds, such as CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) reagents. The color of sensor would be changed from blue to yellow in the presence of antioxidant. The sensor design were developed using blister and 96 multiwell plate as supporting matrices which were small, compact, simple, and portable.

The result showed that the antioxidant sensor exhibited analytical parameters as follow: responsive time at 3 minutes, linear range at 5-35 ppm ($R^2 = 0.99$), sensitivity at 1.972 mean blue/ppm, LOD 3.275 mgGAE, LOQ 10.918mgGAE, good precision (RSD = 0.116), good accuracy for both Arabica (104.517% recovery) and Robusta (100.990% recovery) coffee respectively. No significant analytical results were observed for both Arabica ($\alpha = 0.475$, $n = 3$) and Robusta ($\alpha = 0.157$, $n = 3$) coffee when sensor were compared with Spectrophotometric method.

Keywords: Optical Chemical Sensor; Cuprac reagent; Gallic acid; Coffee beans

PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI

Bidang Unggulan : Kopi untuk kesejahteraan nasional

Kode>Nama Rumpun Ilmu: 112/Kimia

Peneliti : Agus Abdul Gani¹, Bambang Kuswandi², Moch Amrun Hidayat³,
Mahasiswa terlibat : Nur Nuha⁴

Sumber Dana : BOPTN-PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER 2013

Kontak Email : agusagani@yahoo.com

Diseminasi : belum ada

¹ Jurusan Pendidikan MIPA - Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

² Jurusan Kimia Farmasi - Fakultas Farmasi Universitas Jember

³ Jurusan Biologi Farmasi - Fakultas Farmasi Universitas Jember

⁴ Jurusan Kimia Farmasi – Fakultas Farmasi Universitas Jember.

RINGKASAN

PENGEMBANGAN KEMOSENSOR DAN BIOSENSOR ANTIOKSIDAN SEBAGAI METODE CEPAT DAN MUDAH UNTUK PENENTUAN KUALITAS BIJI BERASAN KOPI

Kopi merupakan salah satu komoditi subsektor perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian nasional khususnya sebagai sumber devisa dan penyedia lapangan kerja. Dari berbagai studi ilmiah diketahui bahwa kopi memiliki efek positif terhadap kesehatan. Kopi dapat menurunkan resiko penyakit diabetes, menurunkan resiko penyakit Parkinson serta meningkatkan kesadaran dan suasana hati. Efek farmakologi kopi tersebut terkait erat dengan kandungan senyawa antioksidan di dalamnya seperti kafein dan asam galat.

Berbagai metode dikembangkan untuk mendeteksi senyawa antioksidan di dalam kopi, misalnya dengan spektrofotometri UV-Vis, HPLC atau spektroskopi. Namun demikian, metode spektrometri dan kromatografi tersebut memiliki beberapa kelemahan, yakni: membutuhkan peralatan yang relatif mahal, analisis harus memiliki pengetahuan dan keterampilan kimia analisis yang memadai, waktu analisis yang relatif lama serta membutuhkan volume sampel yang relatif besar. Oleh karenanya dibutuhkan alternatif metode pengujian aktifitas antioksidan kopi yang cepat, tepat, murah dan mudah.

Penelitian ini dilakukan bertujuan, memberikan solusi alternative cara control kualitas kopi secara mudah dan cepat, melalui fabrikasi atau mendesain kemosensor berbasis *imobilisasi reagen Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC)*. Reagen Cuprac dibuat dari senyawa Cu(II)-neocuproin yang berperan sebagai agen pengoksidasi kromogenik. Reduksi ion Cu(II) dapat diukur melalui intensitas perubahan warna sensor. Berdasarkan perubahan warna sensor dan intensitasnya, dapat ditentukan kandungan senyawa antioksidan dalam kopi.

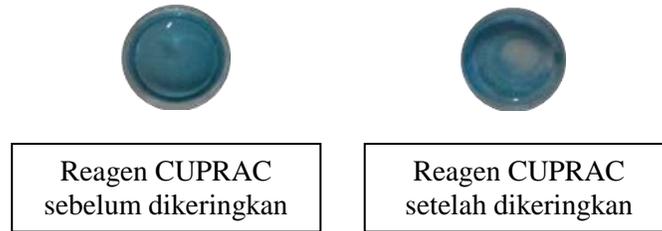
Pengembangan alat uji antioksidan sederhana dapat dilakukan melalui desain, konstruksi dan fabrikasi kemosensor reagen kimia yang spesifik terhadap keberadaan senyawa antioksidan. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel kopi yakni dengan mengukur perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi senyawa antioksidan dalam kopi dengan reagen CUPRAC. Desain sensor menggunakan matriks pendukung *blister* dan *96 multiwellplate* yang kecil, kompak dan sederhana sehingga mudah di bawa kemanapun (*portable*).

Kemosensor hasil fabrikasi selanjutnya dilakukan uji kapabilitas yang meliputi waktu respon, linieritas, keakuratan dan kepresisian sensor dalam proses deteksi dan determinasi antioksidan dalam biji berasan kopi. Kapabilitas sensor juga dibandingkan dengan metode yang sudah distandarkan, yaitu Spektrometri UV-Vis.

Kontribusi dari penelitian ini adalah memberikan solusi nyata, berupa alat dan metode penentuan kualitas kopi, sehingga kualitas kopi Indonesia dapat ditingkatkan melalui *screening* kualitas kopi menggunakan kemosensor antioksidan yang dapat dioperasikan secara cepat, tepat, mudah dan murah. Selain itu, penelitian ini merupakan bagian dari penelitian unggulan Universitas Jember 2013-2020 yakni “Kopi untuk kesejahteraan Nasional”.

Pada penelitian tahun pertama ini telah berhasil dilakukan fabrikasi sensor kimia berbasis reagen CUPRAC. Wujud sensor hasil fabrikasi berupa butiran sensor, kapabilitas sensor berdasarkan interaksinya dengan antioksidan dalam larutan sampel kopi dipaparkan sebagaimana data-data dan gambar-gambar berikut.

1) Sensor hasil fabrikasi



Gambar 1. Kemosensor berbasis reagen CUPRAC hasil fabrikasi

2) Optimasi Konsentrasi Larutan Pereaksi CUPRAC yang Direaksikan dengan Larutan Standar Asam Galat didapatkan konsentrasi CuCl_2 terbaik adalah 5% dengan nilai $r = 0,996$ dan sensitifitas sensor 4,092 satuan intensitas sinyal tiap ppm antioksidan.

Tabel 1. Optimasi Konsentrasi Larutan Pereaksi CUPRAC yang Direaksikan dengan Larutan Standar Asam Galat

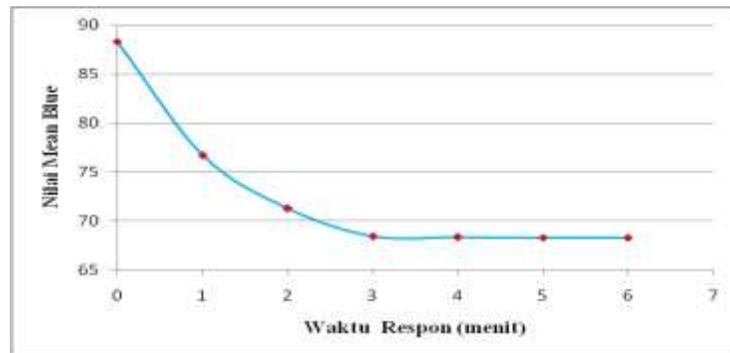
Konsentrasi asam galat	CuCl_2 2%	CuCl_2 5%	CuCl_2 7%
Blanko			
5 ppm			
10 ppm			
15 ppm			
20 ppm			
25ppm			

3) Optimasi pelarut yang digunakan untuk Rekonstitusi

Pelarut air tidak mampu melarutkan seluruh pereaksi CUPRAC sehingga tidak memungkinkan untuk diketahui *mean blue*-nya. Pelarut etanol 70% mampu melarutkan reagen kering pereaksi CUPRAC \pm 15 menit, memiliki nilai slope yang paling besar dan nilai koefisien korelasi 0,9. Jadi pelarut yang digunakan untuk rekonstitusi CUPRAC selanjutnya adalah etanol 70%.

4) Waktu respon sensor CUPRAC

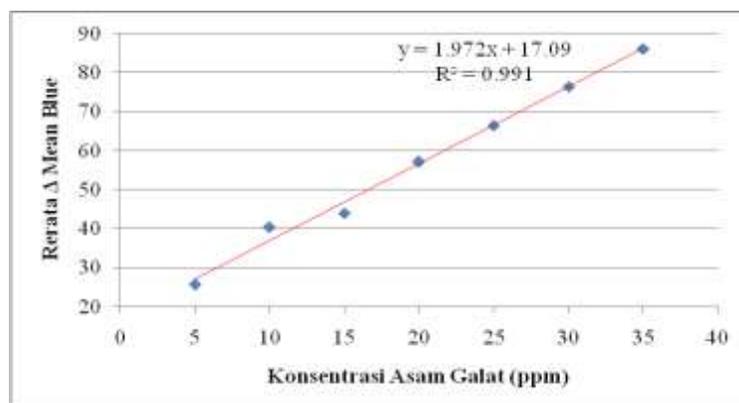
Sensor hasil fabrikasi memiliki waktu respon sensor 3 menit sebagaimana dipaparkan melalui gambar berikut. Berarti untuk proses determinasi antioksidan hanya perlu waktu 3 menit.



Gambar 2. Kurva waktu respon kemosensor berbasis reagen Cuprac

5) Linieritas sensor (daerah linier)

Sensor CUPRAC hasil fabrikasi dalam aplikasinya untuk determinasi antioksidan memiliki daerah kerja yang linier antara konsentrasi 5 ppm – 35 ppm, sebagaimana dipaparkan pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Kurva Linieritas Reagen Kering Pereaksi CUPRAC

6) Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi LOQ

Tabel 2. Data Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Konsentrasi	Mean blue	Δ mean blue	y_i	Δy	$(\Delta y)^2$
Blanko	132.426	-	-	-	-
5	104.333	25.560	27.141	-1.581	2.499
10	89.394	40.328	36.871	3.457	11.951
15	85.607	43.931	46.631	-2.700	7.290
20	80.980	57.090	56.361	0.729	0.531
25	62.649	66.451	66.091	0.360	0.129
30	57.654	76.325	75.821	0.504	0.254
35	42.664	84.822	85.551	-0.729	0.531
Jumlah					23.185

Berdasarkan persamaan regresi antara konsentrasi asam galat terhadap intensitas Mean Blue: $y = 1,972x + 17,09$ (Gambar 3) dan data pada Tabel 2, untuk sensor hasil fabrikasi didapatkan LOD = 3,275 mgGAE dan LOQ = 10,918 mgGAE.

7) Kepresisian sensor

Data diukur menggunakan mean blue imageJ dengan menentukan nilai Δ mean blue pada tiap pengulangan, larutan standar yang digunakan 25 ppm. Data hasil pengukuran sebagaimana tertera pada Tabel 4. berikut.

Tabel 4. Data pengukuran kepresisian sensor kimia CUPRAC terhadap analit Asam Galat

Replikasi	Blangko	Mean Blue	Δ Mean Blue	Aktifitas
1	129.497	64.526	64.971	24.281
2	129.583	64.556	65.026	24.308
3	129.510	64.509	65.002	24.296
4	129.414	64.460	64.954	24.272
5	129.518	64.413	65.105	24.348
6	129.639	64.585	65.054	24.323
Rerata				24.305
SD				0.028
RSD				0.116

Berdasarkan Tabel 4.9, maka didapatkan realita bahwa kemosensor berbasis reagen CUPRAC memiliki kapabilitas kepresisian yang baik, karena nilai RSD < 1 (Harmita, 2004).

8) Akurasi (Keakuratan)

Penentuan akurasi reagen kering pereaksi CUPRAC dilakukan dengan metode adisi yaitu dengan menambahkan standar asam galat dengan konsentrasi tertentu pada sampel nyata. Dalam penelitian ini digunakan sampel kopi Arabika dan Kopi Robusta. Sampel ditambahkan standar asam galat dengan konsentrasi 30%, 45 % dan 60% dari aktivitas

antioksidan sampel yang diketahui. Pada penambahan 30 % GAE sampel ditambahkan dengan 3 ppm asam galat. Pada penambahan 45 % dan 60 % sampel ditambahkan 4 ppm dan 5 ppm asam galat, masing-masing dilakukan replikasi tiga kali. Data hasil pengukuran % *recovery* tertera pada Tabel 5 untuk kopi Arabika dan 6 untuk kopi Robusta.

Tabel 5 Akurasi Infusa Kopi Arabika

Konsentrasi	Mean Blue	Δ Mean Blue	Pengukuran	Adisi	Teoritis	%Recovery
Blanko	131.261	-				
Nyata	-	-	10.415			
Adisi 30%	87.459	43.802	13.545	3.129	3.000	104.333%
Adisi 45%	82.809	48.452	15.935	5.559	5.000	101.184%
Adisi 60 %	81.055	50.206	16.837	6.422	6.000	107.034%
Rata-rata						104.517%

Tabel 6 Akurasi Infusa Kopi Robusta

Konsentrasi	Mean blue	Δ Mean blue	Pengukuran	Adisi	Teoritis	% recovery
Blanko	131.372					
Sampel	-	-	11.626	-		
Adisi 30%	85.449	45.923	14.635	3.009	3.000	100.299%
Adisi 45%	81.167	50.205	16.837	5.211	5.000	104.210%
Adisi 60%	77.896	53.476	18.518	6.892	7.000	98.460%
Rata-rata						100.990%

Hasil pengujian akurasi aktivitas antioksidan infusa kopi Arabika dan Robusta melalui komosensor CUPRAC, masing-masing memberikan persen perolehan kembali memberikan nilai sebesar 104,517 % dan 100,990 %. Nilai ini memenuhi rentang syarat akurasi atau persen perolehan kembali yaitu 80 – 110 % (Huber, 2007).

Aplikasi sensor CUPRAC pada pengukuran Antioksidan dalam Sampel Kopi dibandingkan dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Metode pembandingan yang digunakan pada penelitian ini yaitu spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum reagen pereaksi CUPRAC 460 nm. Larutan standar asam galat 200 μ l dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm ditambahkan dengan larutan pereaksi CUPRAC sebanyak 600 μ l. Kemudian absorbansinya diukur dan diperoleh kurva persamaan regresi. Sampel dengan jumlah yang sama dengan standar ditambahkan kedalam reagen pereaksi CUPRAC. Dari pengukuran absorbansi dapat ditentukan aktivitas antioksidan dari kedua sampel kopi yang dinyatakan dalam mg/L GAE (Galat Acid Equivalent).

Selanjutnya pembacaan sensor antioksidan dianalisis dengan program “*ImageJ*”. Untuk pengujian dengan menggunakan reagen kering pereaksi CUPRAC dilakukan dengan merekonsitusi reagen kering pereaksi CUPRAC pada volume awal kemudian masing-masing sampel infusa dimasukkan dan dilakukan sebanyak tiga replikasi. Kemudian dilihat intensitas warna yang dihasilkan dan diperoleh data *mean blue* dan Δ *mean blue* untuk masing-masing

sampel. Hasil pengujian dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan sensor antioksidan tertera pada Tabel 7 dan 8.

Tabel 7 Hasil Pengukuran Aktifitas Antioksidan Infusa Kopi Arabika melalui Metode Analisis Reagen dan Spektrofotometri UV-Vis

Replikasi sampel	Reagen kering (mg/L GAE)	Spektrofotometri UV-Vis (mg/L GAE)
1	11,54	11,64
2	11,23	11,67
3	11,55	11,70
Signifikansi 0.157		

Tabel 8 Hasil Pengukuran Aktifitas Antioksidan Infusa Kopi Robusta melalui Metode Analisis Reagen dan Spektrofotometri UV-Vis

Replikasi sampel	Reagen kering (mg/L GAE)	Spektrofotometri UV-Vis (mg/L GAE)
1	8,02	8,21
2	8,13	8,14
3	8,21	8,15
Signifikansi 0.475		

Berdasarkan hasil analisis dari kedua metode (Tabel 7, dan 8) dilakukan uji t menggunakan program SPSS 11.5 dengan tingkat kepercayaan 95 % yang bertujuan untuk membandingkan selisih dua rata-rata dari dua sampel yang berpasangan dengan asumsi data terdistribusi normal (S. Uyanto, 2006). Kedua metode yang dibandingkan dikatakan tidak berbeda apabila signifikansinya $> \alpha_{\text{tabel}}$ ($\alpha_{\text{tabel}} = 0.025$). Berdasarkan Tabel 7 dan 8, didapatkan nilai signifikansi infusa Kopi Arabika sebesar 0.157, infusa Kopi Robusta sebesar 0,475. Realita tersebut berarti H_0 infusa kopi Arabika dan infusa kopi Robusta (kedua rata-rata populasi adalah identik) diterima. H_0 menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna, hasil dari kedua metode, antara determinasi menggunakan sensor kimia dengan metode spektroskopi UV-Vis.

Berdasarkan data-data hasil uji kapabilitas sensor kimia dalam determinasi antioksidan dalam biji kopi, dapat disimpulkan bahwa: 1) Sensor kimia kualitas kopi berbasis reagen kimia CUPRAC telah berhasil difabrikasi, 2) Sensor kimia hasil fabrikasi memiliki kapabilitas yang layak untuk mengidentifikasi kualitas kopi melalui larutan berasan kopi, 3) hasil deteksi kualitas berdasar kandungan antioksidan dalam kopi melalui sensor kimia hasil fabrikasi memberikan kualitas yang sama (tidak berbeda nyata) dengan metode deteksi secara spektroskopi yang sudah distandarkan. Realita yang demikian berarti sensor kimia berbasis reagen CUPRAC layak diaplikasikan untuk penentuan kualitas biji kopi berdasarkan kandungan antioksidannya. Penelitian akan dilanjutkan pada tahun kedua 2014 dengan fabrikasi biosensor berbasis enzim Xantin Oksidase (XO)

Kata Kunci : Kemosensor, Biosensor, Antioksidan, Biji berasan kopi