

KADAR TRIGONELIN DALAM BIJI KOPI ARABIKA (*COFFEA ARABICA*) ASAL WAMENA, KABUPATEN JAYAWIJAYA , PAPUA

Septiani Mangiwa¹ dan Yuliana R. Yabansabra²

^{1,2} Prodi Sistem Kimia FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura

ABSTRACT

Trigonelline is a one of chemical compound that have activity as antioxidant, anti cancer, anti diabetes, and estrogenic. The study of determination trigonelline in Arabica coffee beans from Wamena, Jayawijaya regency, Papua have been performed by HPLC method using C-18 column (150 mm length; 4,6 mm in diameter) as the stationary phase while mobile phase consist of metanol : buffer fosfat 10 mM pH 2,6 (30 : 70, v/v) and detector waveleght was set at 265 nm. Trigonelline content was determined in unroasted and roasted (75, 150, 225^oC) coffee beans. Extraction was performed by soxhletation method using metanol as solvent during five hours. The linearity for concentrations between 100 – 200 ppm trigonelline with correlation coefisien ($R^2 = 0,9761$). The results showed that trigonelline content of Arabica coffee beans was different for each of temperature roasting, that is 4,70 % for unroasted; 3,76 ; 4, 90 ; dan 3,86 %, for roasted at 75, 150 dan 225^oC, respectively. The highest trigonelline content at 150^oC.

Keywords : Trigonelline, Arabica coffee beans, temperature roasting, HPLC.

PENDAHULUAN

Kopi merupakan minuman yang berasal dari pengolahan biji tanaman kopi dan digemari oleh hampir semua kalangan. Hal ini disebabkan karena kopi memberikan rasa dan aroma yang khas serta memberikan asupan energi bagi yang mengkonsumsinya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kopi mengandung senyawa aktif kimia yang berperan dalam menurunkan resiko terhadap beberapa penyakit. Komposisi senyawa kimia dalam kopi dipengaruhi oleh spesies, varietas, derajat penyangraian, penyimpanan dan kematangan buah. Penyangraian dapat menyebabkan perubahan komposisi senyawa kimia ((Farah *et al*, 2005; Ewa *et al*, 2007; Bicho *et al*, 2011; Mangiwa dan Maryuni, 2015) yang disebabkan oleh reaksi Maillard dan degradasi senyawa kimia selama penyangraian. Salah satu senyawa kimia yang mengalami penurunan kadar akibat penyangraian adalah trigonelin. Trigonelin merupakan senyawa kimia yang memiliki aktivitas anti diabetes, anti kanker, estrogenik dan antioksidan (Annida dan Stanley, 2004; Agustini *et al*, 2007; Raju, 2009;

Agustini *et al* , 2013; Mangiwa, 2013). Oleh karena itu, saat ini mulai dikembangkan kopi tanpa melalui proses penyangraian atau yang dikenal dengan kopi hijau.

Kopi Arabika dikenal sebagai kopi dengan kualitas terbaik karena memiliki aroma dan cita rasa yang lebih nikmat. Sementara itu, kopi Robusta memiliki sifat yang lebih kental dan lebih pahit. Di Papua, ditemukan biji kopi yang memiliki kualitas unggul, yaitu biji kopi Arabika asal Wamena dan biji kopi asal Monemani. Di antara kedua daerah tersebut, biji kopi Arabika asal Wamena termasuk dalam biji kopi kualitas unggul dunia.

Penentuan kadar senyawa trigonelin dalam biji kopi telah dikembangkan dengan berbagai metode seperti HPTLC, HPLC, spektrofotometri, dan lain sebagainya (Muflifah dan Buchari, 2012; Mangiwa, 2012; Putri dan Latunra, 2013). Dari beberapa metode tersebut, metode yang paling banyak digunakan adalah HPLC. HPLC merupakan suatu metode kromatografi cair yang mudah, sederhana dan mampu melakukan identifikasi, pemisahan dan penentuan kadar sekaligus. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar trigonelin dan mengetahui pengaruh derajat / suhu

* Alamat korespondensi :

Kampus Uncen Waena, Jurusan kimia, Jayapura
e-mail: septhy.mangiwa@yahoo.com

penyangrain dalam biji kopi Arabika asal Wamena.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : peralatan gelas laboratorium, neraca analitik, termometer, 4 set alat soxhlet, evaporator, HPLC dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan-bahan dengan kualitas proanalisis (p.a), yaitu : standar trigonelin, metanol (E. Merck), buffer fosfat, akuades, dan kertas saring.

Prosedur Kerja

a. Penyiapan Sampel

Biji kopi dipilih secara acak dan diangin-anginkan sebentar, kemudian biji kopi dijemur/dikeringkan dibawah sinar matahari sehingga diperoleh biji kopi kering. Selanjutnya biji kopi diolah dengan 2 cara, yaitu tidak disangrai dan disangrai. Proses penyangraian dilakukan pada suhu 75, 150 dan 225^oC selama 1 jam 30 menit menggunakan penangas pasir. Setelah itu biji kopi dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk biji kopi dan kemudian diayak untuk memperoleh ukuran serbuk 100 mesh yang seragam.

b. Ekstraksi Biji Kopi

Biji kopi diekstraksi dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut metanol. 10 gram serbuk biji kopi ditimbang dan dibungkus dengan kertas saring membentuk *thimble* (sarung jari), kemudian dimasukkan ke dalam ekstraktor soxhlet. Ke dalam ekstraktor tersebut ditambahkan 250 mL metanol, ditambahkan pula batu didih. Perangkat soxhlet dipasang dan suhu diatur pada 63^oC (sesuai dengan titik didih methanol). Ekstraksi dilakukan selama lima jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kering yang diperoleh disimpan pada suhu 4^oC untuk digunakan pada pengujian selanjutnya.

c. Penentuan Trigonelin dalam Biji Kopi

Larutan uji dibuat dari ekstrak biji kopi dengan melarutkan ekstrak ke dalam metanol. Larutan uji dihomogenkan selama 30 menit dan

disaring menggunakan kertas saring PTFE 0,45 μ m sebelum digunakan. Penentuan trigonelin dilakukan dengan metode HPLC menggunakan kolom C-18, panjang 150 mm, diameter 4,6 mm; eluen berupa campuran metanol : buffer fosfat 10 mM pH 2,6 (30:70), laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 μ L. Pendeteksian kafein dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 265 nm. Hasil pemisahan dan kadar trigonelin yang diperoleh ditunjukkan oleh kromatogram yang dihasilkan. Puncak yang dihasilkan pada kromatogram merupakan suatu indikasi kadar trigonelin sehingga kadar trigonelin dalam biji kopi dapat ditentukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Penyiapan Sampel

Umumnya biji kopi yang akan dikonsumsi, disangrai terlebih dahulu untuk mendapatkan aroma dan rasa kopi yang khas. Pada penelitian ini, biji kopi disangrai dengan tiga variasi suhu, yaitu 75, 150 dan 225^oC, sementara itu biji kopi yang tidak disangrai juga disiapkan sebagai kontrol. Penyangraian dilakukan dengan bantuan penangas pasir untuk mempercepat proses sangrai selama 1 jam 30 menit dan kontrol suhu dilakukan dengan menggunakan termometer. Penyangraian menyebabkan perubahan warna biji kopi yang disertai dengan pelepasan aroma kopi yang sangat khas terutama pada penyangraian 225^oC. Pada suhu 75^oC biji kopi menjadi coklat muda dan aroma yang dihasilkan masih sama seperti biji kopi yang tidak disangrai (biji kopi hijau), sementara itu penyangraian pada suhu 150^oC menyebabkan warna biji kopi berubah menjadi lebih coklat disertai dengan pelepasan aroma kopi namun belum begitu kuat. Warna biji kopi berubah menjadi coklat tua (coklat kehitaman) disertai dengan adanya aroma kopi yang sangat khas ketika disangrai pada suhu 225^oC.

Perubahan warna biji kopi dari hijau menjadi kuning dan kemudian menjadi coklat disebabkan karena pada proses penyangraian terjadi reaksi *browning* (pencoklatan non enzimatik) atau reaksi Maillard, yang disebabkan karena adanya reaksi antara gula pereduksi dan gugus amina bebas dari protein (Mulato, 2009). Semakin tinggi suhu penyangraian maka semakin banyak gula

pereduksi yang akan bereaksi dengan protein sehingga warna biji kopi yang dihasilkan semakin coklat. Sedangkan adanya aroma kopi yang sangat khas disebabkan karena pada suhu diatas 200°C, senyawa-senyawa volatil yang ada dalam biji kopi menguap dan senyawa kimia lainnya terdegradasi. Biji kopi yang akan dianalisis selanjutnya dihaluskan 100 mesh untuk mendapatkan ukuran yang seragam. Semakin halus dan seragam ukuran suatu zat maka komponen kimia yang terkandung di dalamnya semakin mudah diekstraksi.

b. Ekstraksi Biji Kopi

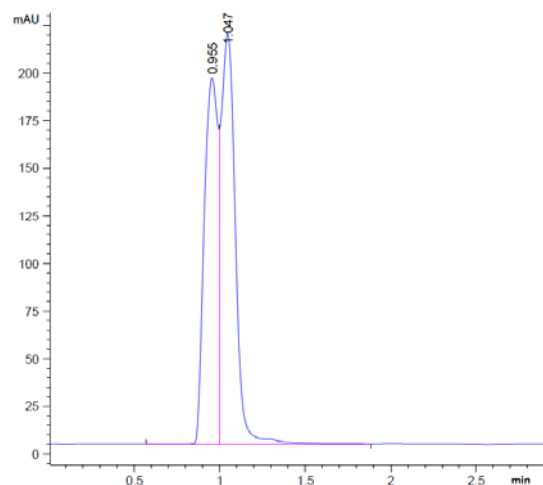
Ekstraksi biji kopi dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan metanol sebagai pelarut. Pemilihan metanol sebagai pelarut didasarkan pada prinsip "*like dissolve like*", yaitu bahwa senyawa kimia akan mudah larut dalam komponen yang memiliki sifat yang sama dengan pelarutnya. Dalam hal ini, senyawa yang akan diekstrak adalah trigonelin yang merupakan senyawa organik sehingga untuk mendapatkan ekstrak trogonelin yang maksimal maka digunakan pelarut organik, yaitu metanol.

Ekstraksi trigonelin dengan metode soxhletasi dilakukan pada suhu 63°C yang merupakan titik didih metanol sehingga ekstraksi sesungguhnya menggunakan uap metanol. Penggunaan uap metanol sebagai pelarut memungkinkan trigonelin terekstrak lebih maksimal dan murni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa warna ekstrak yang dihasilkan sesuai dengan warna biji kopi sangrai, yaitu semakin tinggi suhu penyangraian maka warna ekstrak yang dihasilkan semakin coklat. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan evaporator untuk menghilangkan pelarutnya. Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut kemudian disimpan dalam wadah (botol vial) dan diberi label untuk analisis selanjutnya.

c. Penentuan Kadar Trigonelin dengan HPLC

Trigonelin dalam ekstrak biji kopi ditentukan dengan metode HPLC dan dilakukan di laboratorium Kimia Analitik ITB dengan kondisi HPLC : fase diam berupa kolom C-18, panjang 150 mm, diameter 4,6 mm dan fase gerak berupa campuran metanol : buffer fosfat

10 mM pH 2,6 (30:70), laju alir 1 mL/menit; volume injeksi 20 µL dan diukur pada panjang gelombang 265 nm. Hasil analisis HPLC trogonelin ditunjukkan dalam bentuk kromatogram. Kromatogram standar trigonelin (100 ppm) dan kromatogram sampel ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram standar trigonelin 100 ppm pada 265 nm. Fase diam C-18 panjang 150 mm, diameter 4,6 mm dan fase gerak : campuran metanol-buffer fosfat mM pH 2,6 (30:70).

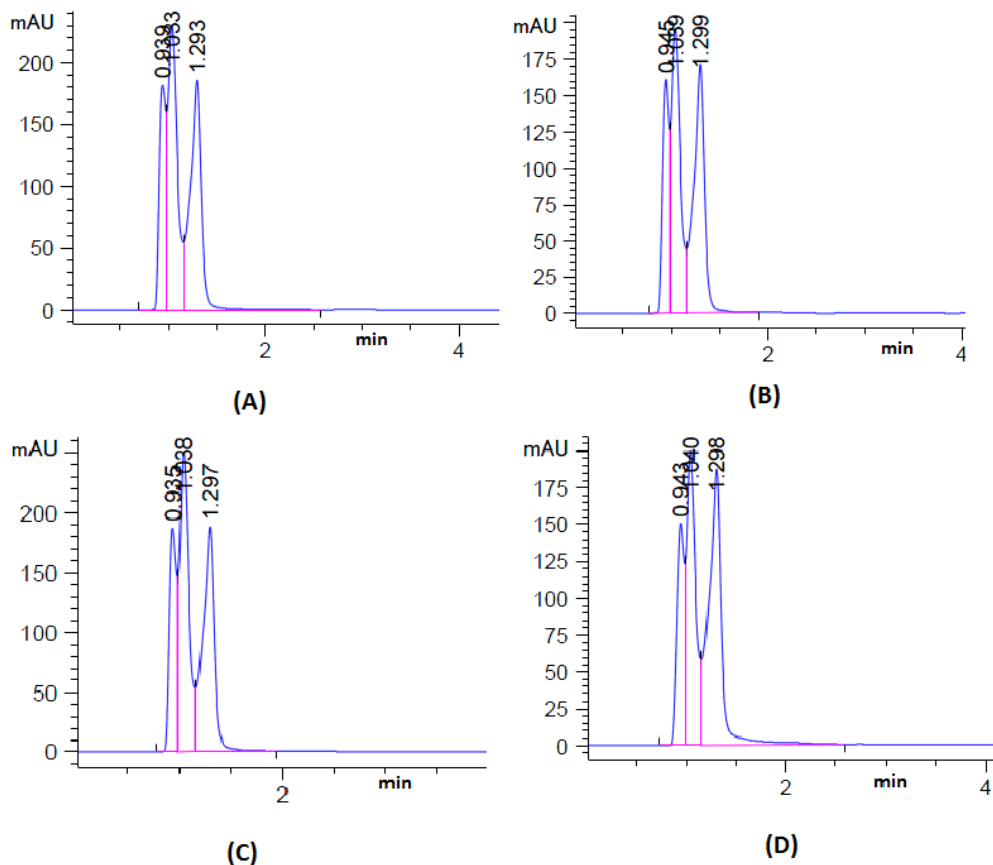
Kromatogram standar trogonelin 100 ppm menghasilkan dua puncak dengan $Rf_1 = 0,995$ menit dan $Rf_2 = 1,047$ menit, total luas area = 2313,90686 mAU dan total tinggi puncak = 408,04791 mAU sedangkan kromatogram sampel menghasilkan tiga puncak. Satu puncak yang muncul pada sampel belum teridentifikasi dan kemungkinan disebabkan karena ekstrak yang dihasilkan belum begitu murni atau adanya senyawa lain yang merupakan turunan dari trigonelin. Nilai Rf , total luas area dan tinggi puncak yang dihasilkan oleh sampel ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Informasi dari Kromatogram Trigonelin Dalam Ekstrak Biji Kopi Arabika

Ekstrak Biji Kopi Arabika	Nilai Rf (menit)			Total Luas Area (mAU)
	Rf_1	Rf_2	Rf_3	
A	0,939	1,033	1,293	3899,09747
B	0,945	1,039	1,299	3324,15582
C	0,935	1,038	1,297	3985,62524
D	0,943	1,040	1,298	3732,81769

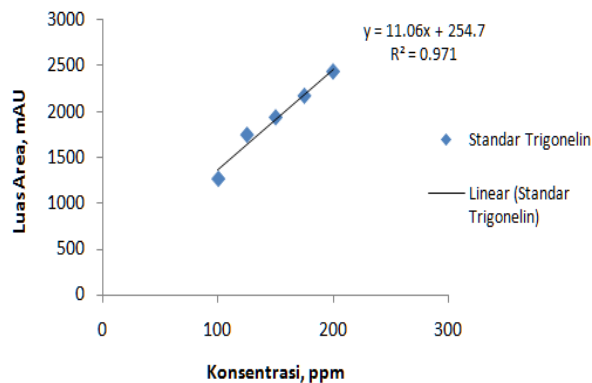
Nilai Rf sampel yang diberikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa trigonelin pada keempat sampel memiliki nilai Rf yang tidak berbeda secara signifikan atau hampir sama, sedangkan luas area dan tinggi puncak yang dihasilkan

bervariasi. Seperti telah diketahui bahwa nilai Rf menyatakan waktu yang dibutuhkan trigonelin untuk memisah dari senyawa lain maka dapat dikatakan bahwa trigonelin dapat terpisah dari senyawa lain dalam ekstrak metanol antara 0,935 – 1,298 menit.



Gambar 2 Kromatogram trigonelin dalam biji kopi Arabika : (A) tidak disangrai, (B) sangrai 75°C, (C) sangrai 150°C, dan (D) sangrai 225°C. Fase diam : C-18 panjang 150 mm, diameter 4,6 mm dan fase gerak : campuran metanol-buffer fosfat mM pH 2,6 (30:70), diukur pada 265 nm. Pengenceran 200 kali.

Luas area yang dihasilkan pada kromatogram mengindikasikan adanya trigonelin dan seberapa besar kadar senyawa tersebut dalam sampel. Kadar trigonelin dalam biji kopi ditentukan dengan menginterpolasikan luas area sampel yang diperoleh ke dalam persamaan garis pada kurva kalibrasi standar trigonelin yang diperoleh dari luas area standar. Kurva kalibrasi standar trigonelin menghasilkan persamaan garis $y = 11,067x + 254,72$ dengan koefisien korelasi, $R^2 = 0,9716$. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan menunjukkan adanya korelasi yang baik pada konsentrasi 100 – 200 ppm. Gambar 3 menunjukkan kurva kalibrasi standar trigonelin pada 100 – 200 ppm.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Standar Trigonelin 100 – 200 ppm

Dengan mengintrapolasikan luas area sampel ke dalam persamaan kurva kalibrasi standar trigonelin maka kadar trigonelin dalam sampel biji kopi Arabika asal Wamena dapat diketahui. Berdasarkan hasil perhitungan, diketahui bahwa kadar trigonelin dalam biji kopi bervariasi dan dipengaruhi oleh suhu penyangraian. Kadar trigonelin pada suhu penyangraian 75, 150 dan 225°C berturut-turut adalah 3,76; 4,89; dan 3,86 % sementara biji kopi yang tidak disangrai (biji kopi hijau) mengandung 4,70 % trigonelin. Kadar trigonelin tertinggi ditemukan pada suhu penyangraian 150°C. Data tersebut bersesuaian dengan kadar asam klorogenat, bahwa kadar asam klorogenat tertinggi ditemukan pada suhu penyangraian 150°C (Mangiwa, 2014). Namun pada suhu penyangraian 75 dan 225°C kadar trigonelin tidak berbeda secara signifikan. Kadar trigonelin dalam biji kopi Arabika asal Wamena diberikan pada Tabel 5.2. Kadar trigonelin dalam biji kopi Arabika asal Wamena lebih tinggi dibanding kadar trigonelin biji kopi Arabika yang dilaporkan oleh Clarke dan Macrae pada tahun 1986 (Ridwansyah, 2013).

Tabel 2 Kadar Trigonelin Dalam Biji Kopi Arabika Asal Wamena

Ekstrak Biji Kopi Arabika	Suhu Penyangraian (°C)	Kadar Trigonelin (%)
A	Tidak disangrai	4,70
B	75	3,76
C	150	4,89
D	225	3,86

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa trigonelin dalam biji kopi dapat ditentukan dengan metode HPLC pada 265 nm. Kadar trigonelin yang terkandung dalam biji kopi Arabika asal Wamena yang disangrai pada suhu 75, 150, 225°C adalah 3,76; 4,89; dan 3,86 sedangkan trigonelin dalam biji kopi yang tidak disangrai adalah 4,70 %. Kadar trigonelin dalam biji kopi dipengaruhi oleh suhu penyangraian. Trigonelin tertinggi ditemukan pada penyangraian dengan suhu 150°C.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Cenderawasih atas kerja sama dan bantuan berupa dana penelitian BOPTN sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dan juga kepada Bapak Dede Suhendar (Kimia Analitik- ITB) yang telah membantu dalam analisis HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, K., Sumaryono, W., Widyanto, R.M. 2011. Activity of trigonella foenum-graceum on some cell lines. Indonesian journal of cancer chemoprevention. Volume 2. Nomor 2: 233 – 240.
- Agustini, K., Sumali W., Dadang K. 2007. Estrogenic Effect of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on White Female Rats. Conference Proceedings "Women's Health and Traditional Medicine", International Medicine and Medicinal Plants, Surabaya.
- Annida, B., dan Stanley, M. P. P., 2004. Supplementation of fenugreek leaves lower lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal. Med. Food. Volume 7. Nomor 2:153-156.
- Bicho, N.C., Leitao, A.E., Rumalho, J.C., Lidon, F.C., 2011. Identification of chemical clusters discriminator of roast degree in arabica and robusta coffee beans. Journal Europa Food Res Technologi.
- Ewa, N., Budryn, G., Kula, J. 2007. The effect of roasting method on headspace composition of Robusta coffee bean aroma. Eur Food Res Technol. 225 : 9-19.
- Farah, A., Paulis, T., Trugo, L., dan Martin, P.R. 2005. Effect roasting on the formation chlorogenic acid lactone in coffee. Journal Agricultural and Food Chemistry, 53 : 1505-1513.
- Macrae, R. 1985. Nitrogenous components coffee. Journal Elsevier Applied Science. Volume 1.
- Mangiwa, Septiani. 2012. Penyiapan kandidat *reference material* untuk penentuan kafein dan asam klorogenat dalam biji kopi hijau secara kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (HPTLC). Tesis. Bandung : ITB.
- Mangiwa, Septiani. 2013. Isolasi dan penentuan asam klorogenat dalam biji kopi Arabika serta uji aktivitas antioksidan. Laporan Penelitian BOPTN Jayapura : LPPM Universitas Cenderawasih.

- Mangiwa, Septiani dan Maryuni, Agnes Eri. 2015. Pengaruh suhu penyangraian terhadap kadar kafein dalam biji kopi Arabika (*Coffea arabica*). Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan IPTEKS dan SAINS. Edisi Pertama : 7-11.
- Muflifah, Y.M., dan Buchari. 2013. Penyiapan material acuan untuk penentuan *Trigonelline* dalam biji kopi hijau menggunakan HPTLC. Jurnal Ilmu Dasar. Volume 14, Nomor 1 : 49-53.
- Putri, W. dan Lantunra, A.I. 2013. Kandungan kafein dan polifenol pada biji kopi Arabika *Coffea arabica* l. dari Kabupaten Enrekang. Jurnal Alam dan Lingkungan. Volume 4. Nomor 7.
- Raju, Jayadev, Jagan MR Patlolla, Malisetty V.Swamy, Chinthalapally V. Rao. 2004. Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek), inhibits zoxy methane induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 colon cancer cells. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*, Volume 13. Nomor 8:1392-8.