



Evaluasi non-destruktif pada pemalsuan tepung kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) menggunakan spektroskopi *visible-near infrared* (VIS-NIR)

Laila Rahmawati^{1*}, Hari Hariadi²

¹Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Gunungkidul, Indonesia

²Pusat Riset Teknologi Tepat Guna, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Subang, Indonesia

Article history

Diterima:

21 Desember 2022

Diperbaiki:

30 Januari 2023

Disetujui:

2 Februari 2023

Keyword

adulteration;
chemometric analysis;
rapid detection;
flour;
food evaluation;

ABSTRACT

Food adulteration is one of the biggest concerns of quality control. Food adulteration is adding or replacing a product with one or more similar products to increase economic value. Unwanted food adulteration in bean flour was mixing beans with other flour. This study aimed to determine the adulteration of red kidney bean flour using Vis-NIR spectroscopy of 350-1000 nm. The sample was red kidney beans flour adulterated with red rice flour, wheat flour, and white rice flour at 10%, 20%, 30%, 40%, and 50%. Principal component analysis (PCA) and Partial Least Square Regression (PLSR) were used based on spectra pre-processing technique (Savitsky-Golay 1st and 2nd derivative, multiple scatter correction (MSC), and standard normal variates (SNV)). SNV method gave the best calibration and model on white rice flour as an adulterant in R_c^2 (0.99), RMSEC (1.23), R_v^2 (0.77), RMSEV (7.79), R_p^2 (0.99) and RMSEP (1.25). Otherwise, the PLSR analysis in red rice flour and wheat flour as adulterant gave the raw spectra for the model's best result. The obtained Vis-NIR models demonstrated the technology novelty in evaluating red kidney bean flour.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email : laila.rahmawati53@gmail.com

DOI 10.21107/agrointek.v17i4.17968

PENDAHULUAN

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L), merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang memiliki sumber nutrisi penting yang banyak diproduksi di Asia, beberapa wilayah Afrika, dan Amerika Selatan. (Wani et al. 2010). Sebagian besar kacang merah dikonsumsi sebagai biji kering atau dimasak menjadi makanan. Kacang merah juga menjadi makanan pokok di beberapa negara Amerika Selatan dan Afrika, misalnya di Meksiko dengan konsumsi 40kg per tahun per kapita (Viswanathan dan Ho 2014). USDA melaporkan bahwa kacang merah mengandung karbohidrat yang tinggi (61%), protein (22%), dan serat (15,2%). Sejalan dengan data dari Departemen kesehatan RI (2005), kacang merah kering mengandung karbohidrat 56,2g, protein 22,1g, lemak 1,1g, kalsium 502g, fosfor 429mg, dan Fe 10,3mg. Karena kandungan nutrisinya, kacang merah dapat menjadi sumber protein makanan yang ekonomis di negara berkembang (Yin et al. 2010).

Di Indonesia, kacang merah banyak tersedia di pasar tradisional. Secara tradisional, kacang merah diolah dengan cara direbus dan dikukus. Apalagi ditambah dengan teknologi pangan yang maju, kacang merah dapat menjadi substitusi tepung sereal dalam pembuatan roti dengan potensi gluten rendah (Viswanathan dan Ho 2014). Secara visual, tepung kacang merah memiliki sifat fisik yang mirip dengan tepung sereal lainnya. Untuk kandungan gizi dan komoditas yang harganya mahal, kacang merah menjadi sasaran pemalsuan dengan biaya yang murah dan kualitas yang buruk. Tepung terigu, tepung beras merah, dan tepung beras putih diperdagangkan secara komersial untuk mensubstitusi atau mengganti tepung kacang merah. Secara visual dan harga, tepung terigu, tepung beras merah, dan tepung beras putih memiliki potensi digunakan sebagai *adulterant* tepung kacang merah sehingga diperlukan suatu evaluasi dan pengujian mutu tepung kacang merah.

Oleh karena itu diperlukan suatu metode evaluasi dan pengujian orisinalitas dan kualitas mutu dari tepung kacang merah. Beberapa metode

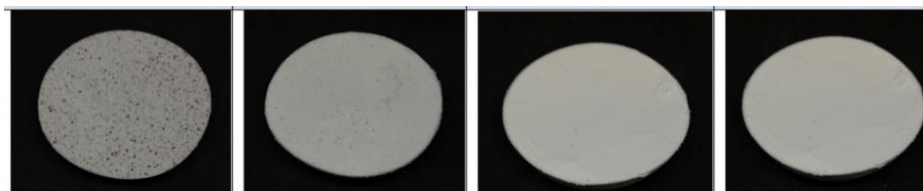
pengujian telah digunakan, diantaranya HPLC (Domingues et al. 2014), NMR (Bergana et al. 2019), dan kromatografi yang relatif membutuhkan peralatan mahal, waktu analisa lama, preparasi sampel lama, dan membutuhkan analis profesional.

Dekade ini, industri makanan membutuhkan metode yang cepat dan non-invasif untuk memprediksi pemalsuan, terutama pada tepung kacang merah. Spektroskopi Visible and Near Infrared (Vis-NIR) adalah pengukuran cepat dan non-destruktif yang memungkinkan kualitas produk makanan (Arendse et al. 2021). Vis-NIR memberikan informasi penting mengenai bahan pangan yang mengalami perubahan kecil, sedang, dan besar (Oliveira et al. 2020). Vis-NIR telah dilaporkan berhasil diterapkan sebagai kualitas makanan untuk pemalsuan berbagai bahan makanan bubuk (Kiani et al. 2019, Galvin-King et al. 2021, Rahmawati et al. 2022). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengukuran non-destruktif menggunakan Vis-NIR pada pemalsuan tepung kacang merah dengan tepung beras merah, tepung beras putih, dan tepung terigu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi evaluasi hasil pengujian pemalsuan tepung kacang merah dengan menggunakan metode cepat spektroskopi Vis-NIR.

METODE

Persiapan sampel

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L) diperoleh dari pasar lokal di Bantul, Yogyakarta, Indonesia dalam bentuk kacang kering. Sampel biji kacang merah diseleksi berdasarkan keseragaman warna dan kerusakan fisik. Sampel kemudian dicuci dan direndam dalam air dengan perbandingan air dan kacang merah sebanyak 1:10 selama 24 jam. Biji kemudian direbus selama 10-15 menit dan dikeringkan dalam oven (55°C) selama 10 jam. Biji kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh (0,18 mm; standar ASTM). Sampel disimpan dalam plastik vakum dan disimpan pada kotak (24-26°C). Sebelum digunakan sampel dikeringkan kembali menggunakan dehidrator (60°C selama 5 jam) untuk menghilangkan kelebihan air.



Gambar 1 Sampel penelitian a) Tepung kacang merah; b) Tepung beras merah; c) Tepung terigu; d) Tepung beras putih

Tabel 1 Preparasi sampel pengujian

Campuran Tepung (%)	Jenis Campuran Tepung		
	Tepung beras merah	Tepung Terigu	Tepung beras putih
10			
20			
30			
40			
50			

Persiapan adulterasi sampel

Pada penelitian ini, bahan campuran diperoleh dari pasar lokal di Sleman, Yogyakarta, Indonesia. Sampel pemalsuan dibuat dengan mencampurkan tepung kacang merah dengan tiga tepung yang berbeda (tepung beras merah, tepung beras putih, dan tepung terigu) sampel murni (0%) (Gambar 1) dan lima konsentrasi yang berbeda (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%) (Tabel 1). Untuk mendapatkan keseragaman, masing-masing sampel diayak kembali menggunakan ayakan 80 mesh dan dimasukkan ke dalam vortex untuk pencampuran. Sepuluh sampel untuk setiap konsentrasi pemalsuan digunakan dalam total 160 sampel.

Akuisisi spectra

Sampel ditimbang sejumlah 5gr dan dimasukkan ke dalam cawan aluminium (diameter 4,5cm) untuk dipindai. Spektrum panjang

gelombang yang terlihat diperoleh dengan Vis-NIR Spectrometer (Flame T-VS-NIR Ocean Optics) dengan cahaya tungsten-halogen (360-2400 nm, HL-2000-HP-FHSA Ocean Optics). Spektrum berada dalam mode pantulan (*reflectance*) dalam rentang panjang gelombang 350-1000nm. Sampel dipindai 10 kali (*Software*: OceanView 1.6.7) dengan waktu integrasi 100ms, rata-rata pemindaian 10 kali pada suhu kamar

Analisa kemometrik

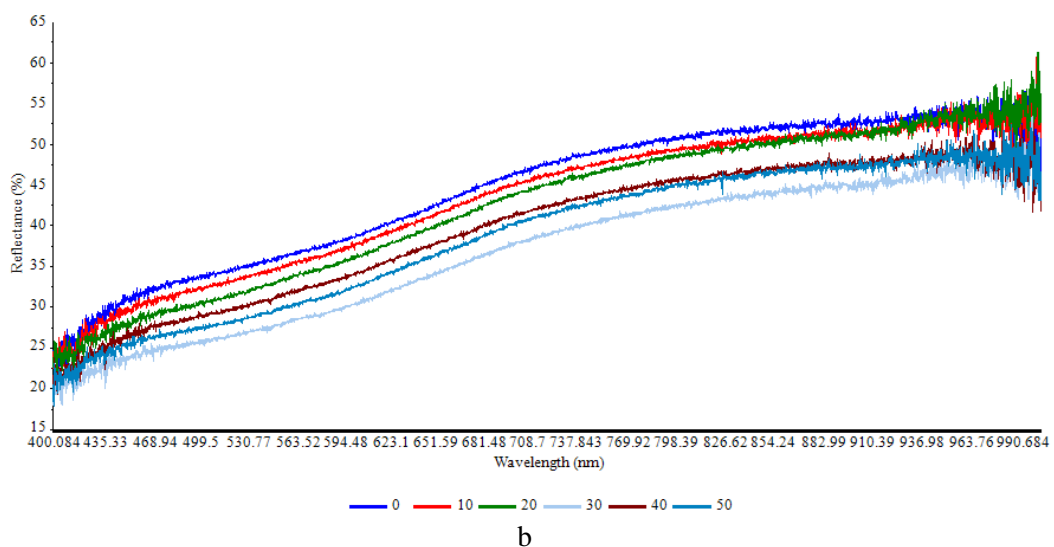
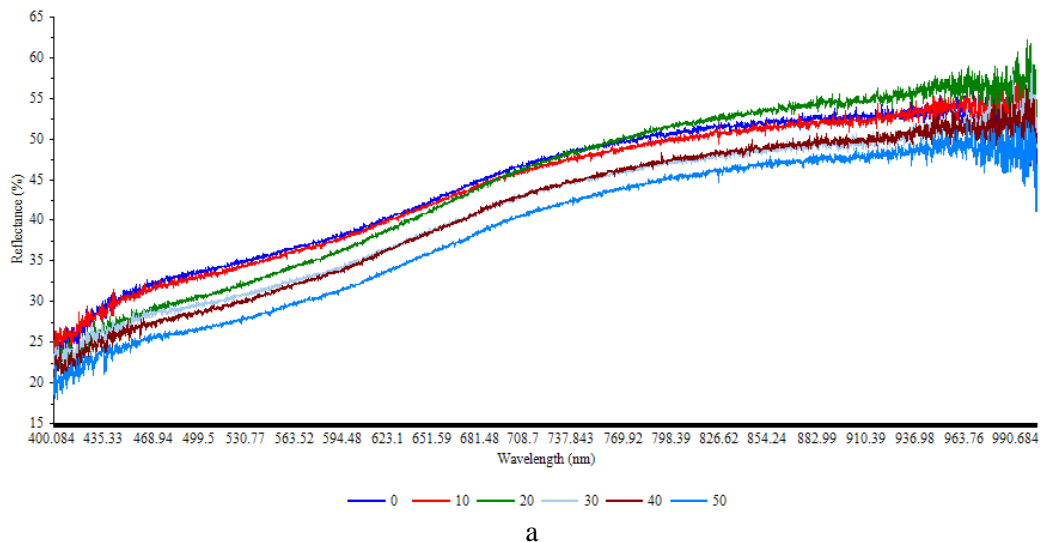
Semua pengukuran spektrum dikonversi ke dalam *format file Excel* kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak Unscrambler® X10.4 (CAMO, Oslo, Norwegia). Untuk mengurangi *noise* data, spektral dibatasi menjadi kisaran 400-1000nm. Pada studi ini, data pra-proses diperlukan untuk model prediksi yang lebih tepat dan untuk meningkatkan informasi spektrum. Turunan pertama Savitzky-Golay

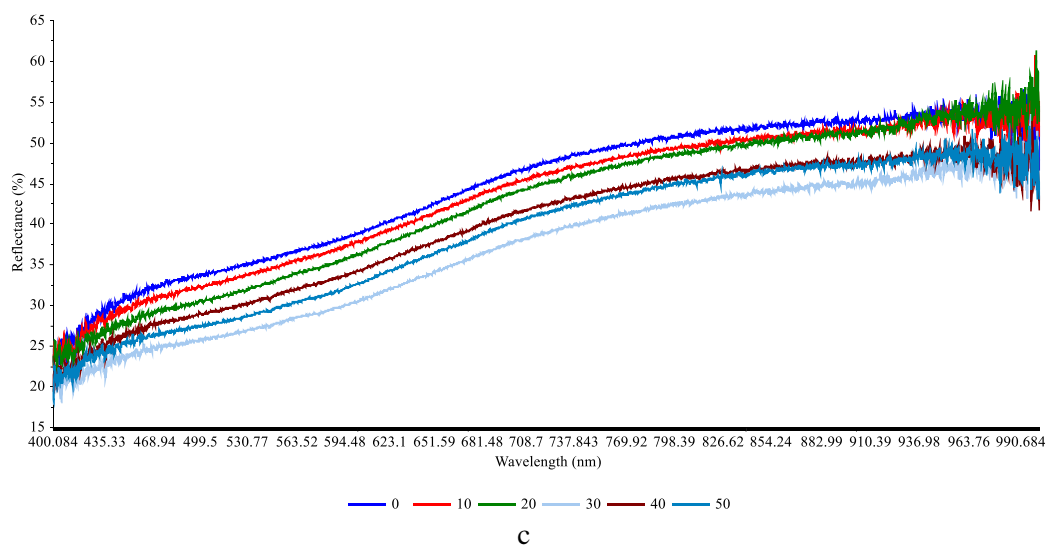
(perataan 12 poin, polynomial ke-2), turunan kedua Savitzky–Golay (perataan 42 poin, polinomial urutan ke-2), *standar normal variate* (SNV), dan *Multiplicative Scatter Correction* (MSC) digunakan untuk pra-proses sementara analisa tanpa pengawasan/*unsupervised* menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) dan analisis yang diawasi/*supervised* dengan *Partial Least Squares Regression* (PLSR) untuk analisis kemometrik

HASIL DAN PEMBAHASAN
Spektra Vis-NIR

Sampel tepung kacang merah murni (0%) dan sampel campuran kacang merah (10%, 20%,

30%, 40%, dan 50%) sebelum pra-proses disajikan pada Gambar 2a, 2b, dan 2c. Hasil spektral dapat diamati dari pola spektrum tepung kacang merah murni dan campuran tepung pemalsuan menunjukkan penampakan spektrum dan pola yang serupa kecuali pada beberapa bagian panjang gelombang di seluruh rentang spektrum (400-1000). Tepung kacang merah murni (0%) relatif memiliki daya serap yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel yang dipalsukan. Gambar 2a, 2b, dan 2c menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar pemalsuan maka absorbansi sampel semakin rendah. Semakin tinggi kadar pemalsuan dapat menunjukkan semakin cerah warna sampel.





Gambar 2 Vis-NIR spektral tepung kacang merah dengan tingkat pemalsuan yang berbeda (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%). a) Tepung beras merah; b) Tepung beras putih, dan c) Tepung terigu sebagai campuran

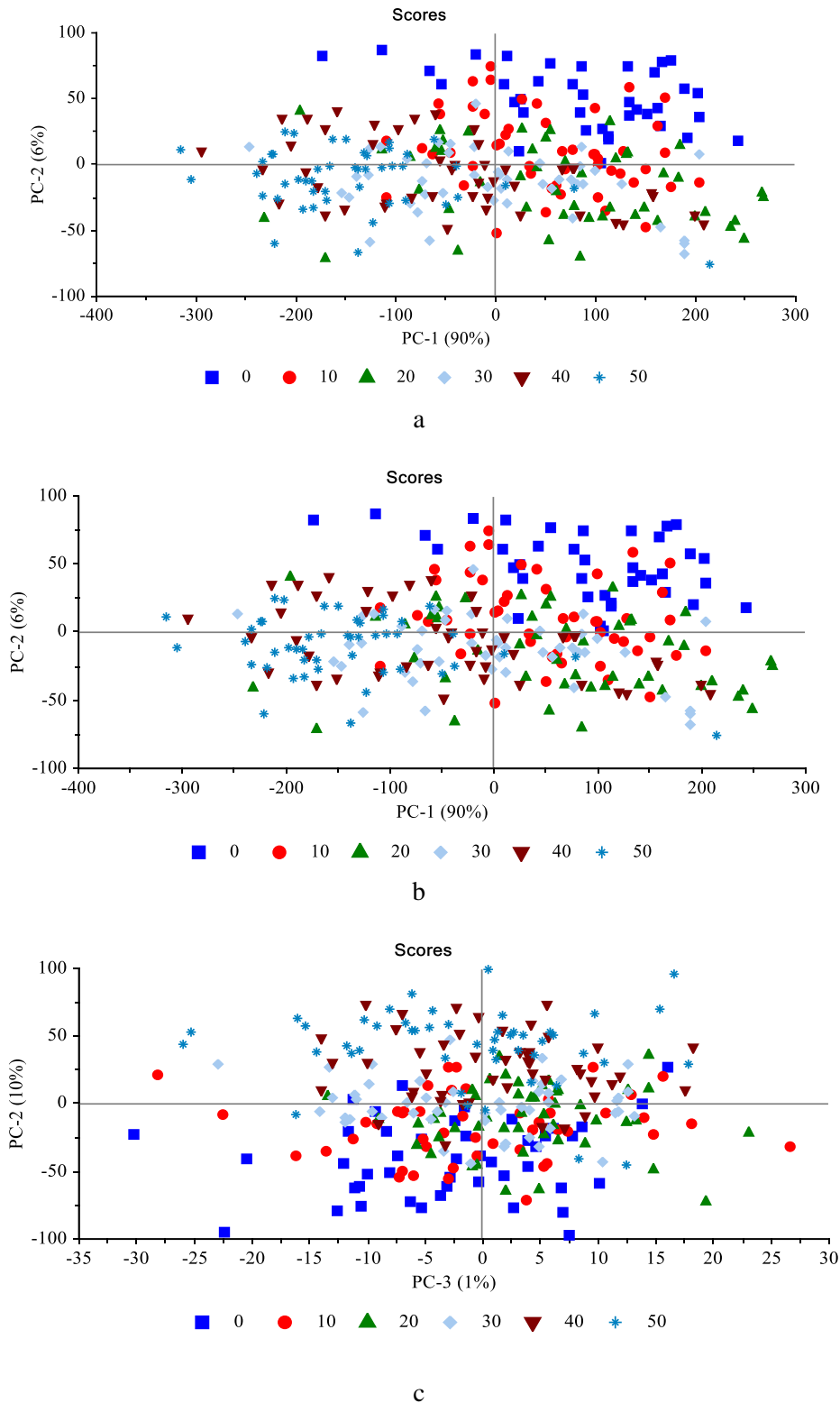
Ketiga spektrum dari Gambar 2a, 2b, dan 2c menunjukkan tiga pola dominan di sekitar 410-450nm, 650-710nm, dan 970-990nm. Panjang gelombang sekitar 410-450nm dapat dipengaruhi oleh pigmen karotenoid (Cortés et al. 2016). Beberapa referensi menyebutkan bahwa penyerapan cahaya pada panjang gelombang 500-520nm dapat berubah menjadi warna merah. Sejalan dengan Ambrose and Cho, (2014) semua puncak panjang gelombang di wilayah Vis-NIR dikaitkan dengan atribut warna dan menunjukkan bahwa 450-670nm dominan untuk transisi kromofor matriks makanan atau bahan pertanian. Oleh karena itu, perbedaan warna antar tepung dapat mengklasifikasikan metode penggilingan. Terakhir, peregangan OH memengaruhi puncak sekitar 970-990nm (Fernández-Novales et al. 2019).

Analisis Vis-NIR menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA)

Nilai plot PCA dilakukan untuk memvisualisasikan data spektroskopi dan prediksi kemungkinan klasifikasi sampel. Plot PCA pada Gambar 3a, 3b, dan 3c dengan perlakuan adulteran pada level yang berbeda (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%) dilakukan untuk menggambarkan keragaman dan diskriminasi. Transformasi spektrum menggunakan metode PCA memberikan variasi 100% dan menunjukkan kemampuan yang tinggi untuk membedakan tepung kacang merah

yang telah diberi campuran. Gambar 3a, Gambar 3b, dan Gambar 3c pada data Vis-NIR masing-masing menghasilkan 96%, 96%, dan 11% yang terdiri dari PC-1 dan PC-2. Diferensiasi dan klasifikasi tingkat campuran (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%) pada setiap sampel yang dipalsukan tidak teridentifikasi dengan jelas, terutama pada Gambar 3c dengan tepung terigu sebagai adulteran. Beberapa kemungkinan yang menjadikan sampel tidak dapat mengelompok dengan sempurna adalah rendahnya homogenitas pencampuran sampel, dan karakter fisik serta kimia masing-masing tepung yang relatif sama (Pauwels et al. 1998, Andrade 2020). Secara keseluruhan, sampel adulteran pada tingkat yang berbeda dikelompokkan menjadi konsentrasi rendah ke tingkat yang lebih tinggi di empat masing-masing kuadran positif dan negatif.

Seperti yang diilustrasikan pada Gambar 4a, Gambar 4b, dan Gambar 4c, plot nilai PC-1 dan PC-2 memberikan panjang gelombang yang berkontribusi pada pemisahan dan klasifikasi sampel. Skor pembebanan tertinggi diamati pada 450-560nm untuk PC-1 dan PC-2 masing-masing pada Gambar 4a dan Gambar 4b yang terkait dengan transisi kromofor matriks makanan (Mishra et al. 2015). Kromofor dalam tepung terdiri dari berbagai senyawa aromatik atau ikatan terkonjugasi (molekul organik C-O dan C-C).



Gambar 3 Nilai PCA tepung kacang merah dengan tingkat pemalsuan yang berbeda (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%). a) Tepung beras merah; b) Tepung beras putih, dan c) Tepung terigu sebagai adulteran

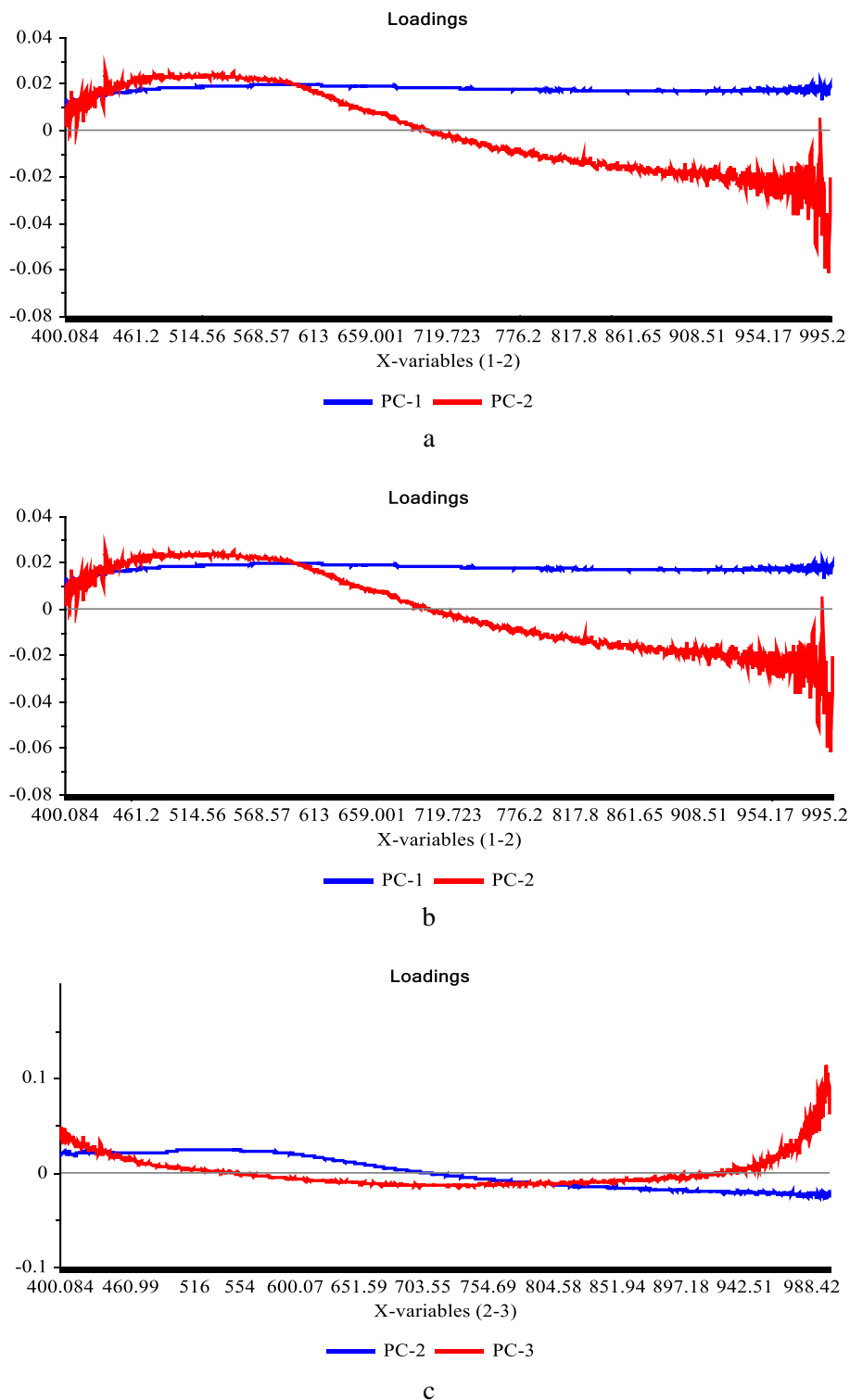
Prediksi Kuantitatif dengan analisis *Partial Least Squares Regression (PLSR)*.

Data spektroskopi dengan pemalsuan tepung pada tingkatan yang berbeda (10%, 20%, 30%,

40%, dan 50%) dikuantifikasi dengan mengembangkan model PLSR. Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4 adalah model yang dihasilkan untuk mengukur dan memprediksi pemalsuan. Jumlah variabel optimum dalam model regresi PLSR

diperoleh dengan memilih nilai RMSE, nilai RPD, RP^2 , dan validasi silang (RMSECV) terendah (Lohumi et al. 2014). Model regresi PLSR terbaik dengan menggunakan pra-pemrosesan optimal dipilih berdasarkan nilai Rp^2 tinggi (mendekati 1) dan nilai RSMEP rendah (mendekati 0). Beberapa

metode pra-pemrosesan dievaluasi seperti turunan ke-1 dan ke-2 Savitsky-Golay, *standar normal variate* (SNV) dan *multiple scatter correction* (MSC) untuk memperbaiki model dan mengurangi data yang tidak berguna tanpa informasi (Rinnan et al. 2009).



Gambar 4 Nilai loading PCA tepung kacang merah dengan tingkat pemalsuan yang berbeda (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%). a) Tepung beras merah; b) Tepung beras putih, dan c) Tepung terigu sebagai adulteran

Table 2 Model PLSR dengan metode pre-processing yang berbeda pada tepung beras merah sebagai bahan pemalsuan pada tepung kacang merah.

Metode Pre-Processing	Kalibrasi		Kalibrasi silang		Prediksi	
	R_c^2	RSMEC	R_v^2	RSMEV	R_p^2	RSMEP
Raw spectra	0.93	4.36	0.77	8.15	0.87	5.99
SG D-1	0.92	4.80	0.81	7.30	0.90	5.36
SG D-2	0.87	6.14	0.66	9.93	0.76	8.34
SNV	0.91	5.07	0.76	8.36	0.86	6.36
MSC	0.91	5.08	0.76	8.37	0.86	6.37

Table 3 Model PLSR dengan metode pre-processing yang berbeda pada tepung beras putih sebagai bahan pemalsuan pada tepung kacang merah.

Metode Pre-Processing	Kalibrasi		Kalibrasi silang		Prediksi	
	R_c^2	RSMEC	R_v^2	RSMEV	R_p^2	RSMEP
Raw spectra	0.94	4.68	0.77	7.96	0.86	6.09
SG D-1	0.92	4.53	0.86	6.06	0.94	3.86
SG D-2	0.94	4.08	0.77	7.96	0.86	6.09
SNV	0.99	1.23	0.77	7.79	0.99	1.25
MSC	0.92	4.66	0.75	8.27	0.85	6.31

Table 4 Model PLSR dengan metode pre-processing yang berbeda pada tepung terigu sebagai bahan pemalsuan pada tepung kacang merah.

Metode Pre-Processing	Kalibrasi		Kalibrasi silang		Prediksi	
	R_c^2	RSMEC	R_v^2	RSMEV	R_p^2	RSMEP
Raw spectra	0.96	3.37	0.80	7.60	0.78	7.70
SG D-1	0.21	15,15	NA	18.28	NA	19.12
SG D-2	0.21	15.14	NA	18.47	NA	19.12
SNV	0.96	3.18	0.80	7.61	0.74	8.64
MSC	0.96	3.18	0.80	7.59	0.74	8.64

Model PLSR pada tepung beras merah sebagai campuran (Tabel 2) menunjukkan bahwa pada spektrum murni memberikan hasil terbaik pada R_c^2 (0,93), RMSEC (4,36), R_v^2 (0,77), RMSEV (8,15), R_p^2 (0,87) dan RMSEP (5,99). Selain itu, Tabel 3 menunjukkan bahwa model PLSR pada tepung beras putih sebagai *adulterant* menggunakan SNV pada metode pra-proses memberikan model terbaik yang memiliki R_c^2 (0,99), RMSEC (1,23), R_v^2 (0,77), RMSEV (7,79), R_p^2 (0,99) dan model RMSEP (1,25) dan PLSR pada tepung terigu (Tabel 4) menunjukkan bahwa tanpa metode *pre-processing*, model memberikan hasil terbaik dengan R_c^2 (0,96),

RMSEC (3,37), R_v^2 (0,80), RMSEV (7,60), R_p^2 (0,78) dan RMSEP (7,70).

KESIMPULAN

Penelitian ini telah mengevaluasi dan menunjukkan bahwa spektroskopi Vis-NIR dengan analisis PCA dan PLSR masih perlu ditingkatkan dan dikembangkan dalam mendeteksi dan memprediksi pemalsuan tepung kacang merah oleh beberapa tepung di pasar. Analisis PCA dapat membedakan *adulterant* umum dengan kelompok level yang berbeda dari level konsentrasi rendah ke level tinggi. Analisis PLSR menunjukkan prediksi model tepung *adulteran* pada tepung kacang merah dengan

sempurna. Metode SNV memberikan kalibrasi dan model terbaik pada tepung beras putih sebagai adulterant pada Rc^2 (0.99), RMSEC (1.23), Rv^2 (0.77), RMSEV (7.79), Rp^2 (0.99) dan RMSEP (1.25), sedangkan analisis PLSR pada campuran menggunakan tepung beras merah dan tepung terigu memberikan spektra mentah untuk hasil model terbaik. Ini adalah indikator kepekaan spektroskopi Vis-NIR dan kemampuan model untuk mendeteksi dan memprediksi tepung pemalsuan umum dalam tepung kacang merah secara efisien dan cepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Laboratorium Fisika Hayati, Departemen Teknik Pertanian dan Biosistem, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada yang telah memfasilitasi riset ini. Terima kasih kepada Pusat Penelitian Teknologi dan Porses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambrose, A., and B.-K. Cho. 2014. A Review of Technologies for Detection and Measurement of Adulterants in Cereals and Cereal Products. *Journal of Biosystems Engineering* 39:357–365.
- Andrade, C. 2020. Sample Size and its Importance in Research. *Indian Journal of Psychological Medicine* 42:102–103.
- Arendse, E., H. Nieuwoudt, L. S. Magwaza, J. F. I. Nturambirwe, O. A. Fawole, and U. L. Opara. 2021. Recent Advancements on Vibrational Spectroscopic Techniques for the Detection of Authenticity and Adulteration in Horticultural Products with a Specific Focus on Oils, Juices and Powders. *Food and Bioprocess Technology* 14:1–22.
- Bergana, M. M., K. M. Adams, J. Harnly, J. C. Moore, and Z. Xie. 2019. Non-targeted detection of milk powder adulteration by 1H NMR spectroscopy and conformity index analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 78:49–58.
- Cortés, V., C. Ortiz, N. Aleixos, J. Blasco, S. Cubero, and P. Talens. 2016. A new internal quality index for mango and its prediction by external visible and near-infrared reflection spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 118:148–158.
- Domingues, D. S., E. D. Pauli, J. E. M. De Abreu, F. W. Massura, V. Cristiano, M. J. Santos, and S. L. Nixdorf. 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.
- Fernández-Navales, J., T. Garde-Cerdán, J. Tardáguila, G. Gutiérrez-Gamboa, E. P. Pérez-Álvarez, and M. P. Diago. 2019. Assessment of amino acids and total soluble solids in intact grape berries using contactless Vis and NIR spectroscopy during ripening. *Talanta* 199:244–253.
- Galvin-King, P., S. A. Haughey, and C. T. Elliott. 2021. Garlic adulteration detection using NIR and FTIR spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Composition and Analysis* 96:103757.
- Kiani, S., S. M. van Ruth, L. W. D. van Raamsdonk, and S. Minaei. 2019. Hyperspectral imaging as a novel system for the authentication of spices: A nutmeg case study. *Lwt* 104:61–69.
- Lohumi, S., S. Lee, W. H. Lee, M. S. Kim, C. Mo, H. Bae, and B. K. Cho. 2014. Detection of starch adulteration in onion powder by FT-NIR and FT-IR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:9246–9251.
- Mishra, P., A. Herrero-Langreo, P. Barreiro, J. M. Roger, B. Diezma, N. Gorretta, and L. Lleó. 2015. Detection and quantification of peanut traces in wheat flour by near infrared hyperspectral imaging spectroscopy using principal-component analysis. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 23:15–22.
- Oliveira, M. M., J. P. Cruz-Tirado, J. V. Roque, R. F. Teófilo, and D. F. Barbin. 2020. Portable near-infrared spectroscopy for rapid authentication of adulterated paprika powder. *Journal of Food Composition and Analysis* 87.
- Pauwels, J., A. Lamberty, and H. Schimmel. 1998. Homogeneity testing of reference materials. *Accreditation and Quality Assurance* 3:51–55.
- Rahmawati, L., R. E. Masithoh, M. F. R. Pahlawan, and H. Hariadi. 2022. Detection of Encapsulant Addition in Butterfly-Pea (*Clitoria ternatea* L.) Extract Powder using Visible-Near Infrared Spectroscopy and

- Chemometrics Analysis. (Under Review) *The Open Agriculture Journal*:711–723.
- Rinnan, Å., F. van den Berg, and S. B. Engelsen. 2009. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 28:1201–1222.
- Viswanathan, K., and P. Ho. 2014. Fortification of white flat bread with sprouted red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 13:27–34.
- Wani, I. A., D. S. Sogi, A. A. Wani, B. S. Gill, and U. S. Shivhare. 2010. Physico-chemical properties of starches from Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. *International Journal of Food Science and Technology* 45:2176–2185.
- Yin, S. W., C. H. Tang, Q. B. Wen, and X. Q. Yang. 2010. Functional and conformational properties of phaseolin (*Phaseolus vulgaris* L.) and kidney bean protein isolate: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90:599–607.