

**PENGGUNAAN UV-VIS SPEKTROSKOPI FLUORESENSI PORTABEL
DAN METODE SIMCA UNTUK MENGIDENTIFIKASI PEMALSUAN
MADU LEBAH *Heterotrigona itama* NEKTAR *Acacia mangium* DENGAN
BAHAN PEMANIS BUATAN HFCS-55**

(Skripsi)

Oleh

YESI RAHAYU



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

PENGGUNAAN UV-VIS SPEKTROSKOPI FLUORESENSI PORTABEL DAN METODE SIMCA UNTUK MENGIDENTIFIKASI PEMALSUAN MADU LEBAH *Heterotrigona itama* NEKTAR *Acacia mangium* DENGAN BAHAN PEMANIS BUATAN HFCS-55

Oleh

YESI RAHAYU

Madu dari lebah *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* memiliki banyak nutrisi dan khasiat untuk kesehatan, namun produksinya rendah, hal ini membuat harga jual madu ini tinggi sehingga rawan terhadap pemalsuan. Untuk mengantisipasinya maka perlu memiliki sistem autentikasi. Penelitian ini memanfaatkan UV-Vis spektroskopi fluoresensi dan metode SIMCA untuk mengidentifikasi pemalsuan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* yang dicampur HFCS-55. Sampel berupa madu *Heterotrigona itama* murni (MA) sebanyak 50 sampel dan madu campuran (MC) sebanyak 120 sampel. Data spektra emisi diukur pada rentang panjang gelombang 300-800 nm dengan interval 0.5 nm yang dieksitasi menggunakan panjang gelombang 365 nm.

Data spektra original dianalisis menggunakan *The Unscrambler 10.4* menggunakan beberapa kombinasi *pretreatment* yaitu *smoothing moving average*, *SNV (standard normal variate)* dan *normalize*. Model SIMCA dengan *pretreatment* terbaik yaitu *smoothing moving average 9 segment*. *Pretreatment* ini mampu mengklasifikasi seluruh sampel dengan benar dan memberikan nilai sempurna pada akurasi, sensitivitas, dan spesifisitas yaitu 100%, serta nilai *error* 0%. Sedangkan nilai PC kumulatif dari analisis PCA memberikan nilai 95% untuk varian data yang dapat dijelaskan dengan baik. Plot skor menampilkan pola sampel MA dan MC yang dapat dibedakan. Plot *x-loading* menunjukkan puncak gelombang pada 372 nm dan 478 nm, terbentuknya puncak gelombang ini diduga adanya pengaruh kuat dari respon flavonoid dan asam fenolik Hal ini sesuai dengan fakta bahwa asam fenolik dan flavonoid merupakan senyawa penting yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan pada madu. Berdasarkan hasil klasifikasi model SIMCA MA dan MC, dibuat kurva ROC yang menjelaskan hubungan antara 1-SP dan sensitivitas di 6 level signifikansi (0.1, 0.5, 1, 5, 10 dan

25%). Pada kurva ROC klasifikasi MA dan MC menggunakan spektra *original* yang dapat dikategorikan sebagai *excellent classification* hanya pada level signifikansi 25% karena berada tepat di koordinat (0,1), sedangkan menggunakan data *pretreatment smoothing moving average 9 segment*, *excellent classification* ada pada semua level signifikansi (0.1 %, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%). Sehingga hasil klasifikasi menggunakan data yang telah diberi perlakuan *pretreatment smoothing moving average 9 segment* lebih baik dalam mengklasifikasikan sampel jika dibandingkan dengan menggunakan data *original*.

Kata Kunci: UV-Vis spektroskopi, fluoresensi, *Heterotrigona itama*, sirup jagung, SIMCA, identifikasi pemalsuan.

ABSTRACT

THE USE OF UV-VIS PORTABLE FLUORESCENCE SPECTROSCOPY AND SIMCA METHOD TO IDENTIFY ADULTERATION HONEY OF BEES *Heterotrigona itama* NECTAR *Acacia mangium* WITH HFCS-55 ARTIFICIAL SWEETENER

By

YESI RAHAYU

Honey from *Heterotrigona itama* bees with *Acacia mangium* nectar has many nutrients and health benefits, but the production is low, this makes the selling price of this honey high so it is prone to counterfeiting. To anticipate this, it is important to have an authentication system. This study utilized UV-Vis fluorescence spectroscopy and the SIMCA method to identify *Heterotrigona itama* bee honey nectar of *Acacia mangium* adulterated with HFCS-55. The samples were 50 samples of pure *Heterotrigona itama* honey (MA) and 120 samples of adulterated honey (MC). Emission spectral data was measured over a wavelength range of 300-800 nm with an interval of 0.5 nm which was excited using a wavelength of 365 nm.

The original spectral data were analyzed using *The Unscrambler* 10.4 using several *pretreatment* combinations, namely *smoothing moving average*, SNV (*standard normal variate*) and *normalize*. The SIMCA model with the best *pretreatment* is a *smoothing moving average* of 9 segments. This *pretreatment* was able to classify all samples correctly and gave perfect values for accuracy, sensitivity and specificity, namely 100%, and an error value of 0%. Meanwhile, the cumulative PC value from PCA analysis gives a value of 95% for data variance that can be explained well. Score plots display distinguishable MA and MC sample patterns. The *x-loading* plot shows wave peaks at 372 nm and 478 nm, the formation of these wave peaks is suspected of a strong influence from the response of flavonoids and phenolic acids. This is consistent with the fact that phenolic acids and flavonoids are important compounds responsible for antioxidant activity in honey. Based on the classification results of the SIMCA MA and MC models, the ROC curve explains the relationship between 1-SP and sensitivity at 6 levels of significance (0.1, 0.5, 1, 5, 10 and 25%). On the ROC curve, the MA and MC

classification uses the original spectra which can be categorized as an excellent classification only at a significance level of 25% because they are right at the coordinates (0,1), while using the 9 segment smoothing moving average pretreatment data, the excellent classification is at all levels of significance (0.1 %, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%). So that the classification results using data that has been pretreated with a 9 segment smoothing moving average are better at classifying samples when compared to that of the original one.

Keywords: *UV-Vis spectroscopy, fluorescence, Heterotrigna itama, corn syrup, SIMCA, adulteration identify.*

**PENGGUNAAN UV-VIS SPEKTROSKOPI FLUORESENSI PORTABEL
DAN METODE SIMCA UNTUK MENGIDENTIFIKASI PEMALSUAN
MADU LEBAH *Heterotrigona itama* NEKTAR *Acacia mangium* DENGAN
BAHAN PEMANIS BUATAN HFCS-55**

Oleh

Yesi Rahayu

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNIK**

Pada

**Jurusan Teknik Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **PENGUNAAN UV-VIS SPEKTROSKOPI
FLUORESENSI PORTABEL DAN METODE SIMCA
UNTUK MENGIDENTIFIKASI PEMALSUAN MADU
LEBAH *Heterotrigena itama* NEKTAR *Acacia mangium*
DENGAN BAHAN PEMANIS BUATAN HFCS-55**

Nama Mahasiswa : **Yesi Rahayu**

Nomor Pokok Mahasiswa: **1914071045**

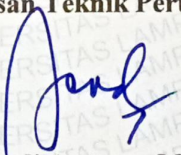
Program Studi : **Teknik Pertanian**

Fakultas : **Pertanian**



 **Prof. Dr. Agr. Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr**  **Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr. Sc.**
NIP. 197803032001121001 NIP. 197905142008122001

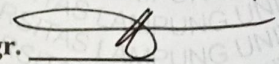
Ketua Jurusan Teknik Pertanian


Dr. Ir. Sandi Asmara, M.Si.
NIP. 1962101019890210012

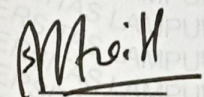
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

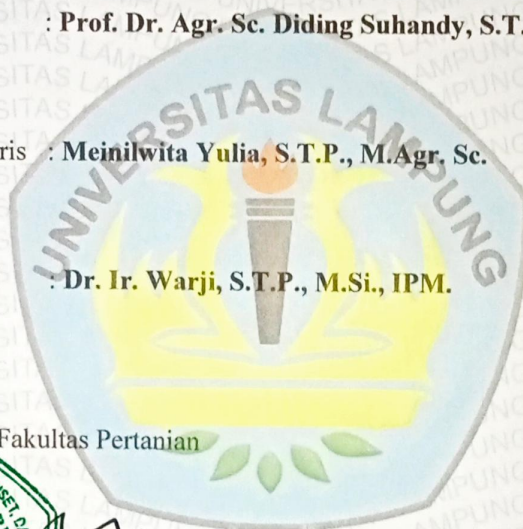
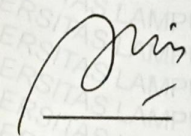
Ketua : **Prof. Dr. Agr. Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr.**



Sekretaris : **Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr. Sc.**



Penguji : **Dr. Ir. Warji, S.T.P., M.Si., IPM.**

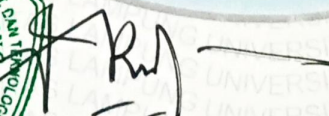


2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 196110201986031002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **30 Mei 2023**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya **Yesi Rahayu** dengan NPM **1914071045**, dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya saya yang dibimbing oleh Komisi Pembimbing, pembimbing 1 **Prof. Dr. Agr. Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr.** dan **Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr. Sc.** selaku pembimbing 2, berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini berisi material yang dibuat sendiri dan hasil rujukan beberapa sumber lain (buku, jurnal, dll) yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain. Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, *Juni* 2023

Yang membuat pernyataan,



Yesi Rahayu
NPM. 1914071045

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Lampung Tengah, Provinsi Lampung pada tanggal 13 Juli 2001. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Amirudin Pujianto dan Ibu Siti Kamsiah. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 1

Sri Busono dan lulus pada tahun 2013. Kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Way Seputih yang lulus pada tahun 2016 dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) di SMK Tri Sukses pada tahun 2019.

Penulis dilahirkan di Lampung Tengah, Provinsi Lampung pada tanggal 13 Juli 2001. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Amirudin Pujianto dan Ibu Siti Kamsiah. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 1 Sri Busono dan lulus pada tahun 2013. Kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Way Seputih yang lulus pada tahun 2016 dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) di SMK Tri Sukses pada tahun 2019.

Tahun 2019, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan bernama Persatuan Mahasiswa Teknik Pertanian (PERMATEP) sebagai Anggota Bidang Informasi dan Komunikasi pada periode 2021-2022.

Tanggal 10 Januari - 19 Februari 2022, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode 1 tahun 2022 di Desa Mataram Udik, Kecamatan Bandar Mataram, Kabupaten Lampung Tengah selama 40 hari. Kemudian, pada tanggal 04 Juli - 06 Agustus 2022, penulis melakukan kegiatan Praktik Umum (PU) di PT. Suhita Lebah Indonesia dengan judul “Mempelajari Proses Pascapanen dan Penurunan Kadar Air Madu Lebah *Heterotrigona itama* di PT. Suhita Lebah Indonesia”.

SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SAW dan keluarga serta para sahabatnya. Skripsi penulis berjudul **“Penggunaan UV-Vis Spektroskopi Fluoresensi Portabel dan Metode SIMCA untuk Mengidentifikasi Pemalsuan Madu Lebah *Heterotrigona itama* Nektar *Acacia mangium* dengan Bahan Pemanis Buatan HFCS-55”** merupakan salah syarat bagi penulis untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik (S.T.) di Universitas Lampung.

Penulis memahami dan menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini terdapat begitu banyak kekurangan dan kesalahan. Serta banyak pihak yang memberikan bantuan, dukungan serta memberikan bimbingan kepada penulis selama proses penelitian hingga penyusunan tugas akhir ini. Oleh karena itu, penulis ucapkan terimakasih kepada semua pihak, diantaranya:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Ir. Sandi Asmara, M.Si., selaku Ketua Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Agr. Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr., selaku dosen pembimbing akademik sekaligus pembimbing 1 penulis, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan, arahan, motivasi dan nasihat selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr., Sc., selaku dosen pembimbing kedua penulis yang telah memberikan bimbingan, saran dan dorongan dalam proses penyusunan skripsi ini.

5. Bapak Dr. Ir. Warji, S.T.P., M.Si., IPM., selaku dosen pembahas penulis yang telah memberikan kritik, koreksi dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
7. Seluruh Staf Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
8. Kedua orang tuaku, Hi. Amirudin Pujiyanto dan Hj. Siti Kamsiah, yang selalu memberikan dan mengupayakan segala hal, baik berupa materi, tenaga, pikiran, nasihat, motivasi serta doa untuk keberhasilanku.
9. Ketiga Kakakku, Handoyo, Siti Mualafah dan Awi Diharjo dan seluruh keluarga atas doa, perhatian, motivasi, kasih sayang dan wejangan-wejangan yang telah diberikan.
10. Teman spesialku, yang senantiasa memberi semangat, dukungan, bantuan, perhatian dan banyak hal baik lainnya yang membantu dalam penyusunan skripsi ini.
11. Sahabatku, Anis, Shinta, Ines dan Alfin yang senantiasa menjadi tempat berbagi cerita, memberikan dukungan dan semangat selama proses penyusunan skripsi ini.
12. Teman-teman dekatku selama kuliah, Adi, Anne, Arini dan Alif.
13. Teman-teman seperjuangan skripsi, Ainun, Dicky dan Kholis.
14. Keluarga Teknik Pertanian 2019 yang telah banyak membantu, menjadi keluarga penulis selama perkuliahan, penelitian hingga penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna. Semoga skripsi ini menjadi manfaat bagi kita semua. Aamiin.

Bandar Lampung,
Penulis

Yesi Rahayu

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Batasan Masalah	6
1.6 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Lebah <i>Trigona</i>	7
2.2 Madu.....	10
2.3 Manfaat dan Kandungan Madu.....	11
2.4 Jenis-Jenis Madu	12
2.5 Sirup Jagung.....	13
2.6 <i>UV-Visible</i> Spektrometer Fluoresensi	15
2.7 Metode Kemometrika	17
2.7.1 <i>Principal Componen Analisis (PCA)</i>	18
2.7.2 <i>Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA)</i>	19
2.7.3 <i>Confusion Matrix</i>	20
III. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.3 Prosedur Penelitian.....	21
3.3.1 Persiapan Alat	22
3.3.2 Prosedur Persiapan Bahan	23
3.3.3 Pengukuran Spektra dengan Spektrometer.....	25
3.3.4 Membuat dan Menguji Model	27
3.4 Analisis Data.....	27
3.4.1 <i>Principal Component Analysis (PCA)</i>	27
3.4.2 Membangun Model Menggunakan <i>Analisis Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)</i>	32

3.4.3 Menguji Model Menggunakan Matriks Konfusi	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> Nektar <i>Acacia mangium</i>	34
4.1.1 Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> Murni dan Campuran Menggunakan Data Spektra <i>Original</i> dengan Panjang Gelombang 300- 800 nm.....	35
4.1.2 Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> Murni dan Campuran Menggunakan <i>Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	37
4.2 Hasil <i>Principal Component Analysis</i> (PCA).....	40
4.2.1 Hasil Analisis PCA Terhadap Data Spektra <i>Original</i> pada Panjang Gelombang 300-800 nm.....	40
4.2.2 Hasil Analisis PCA Terhadap Data Perbaikan <i>Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	44
4.3 Model <i>Soft Independent Modelling of Class Analogy</i> (SIMCA) pada Panjang Gelombang 300-800 nm.....	47
4.3.1 Model <i>Soft Independent Modelling of Class Analogy</i> (SIMCA) Menggunakan Data Spektra <i>Original</i>	48
4.3.2 Model <i>Soft Independent Modelling of Class Analogy</i> (SIMCA) Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	49
4.4 Klasifikasi Menggunakan Sampel Baru (Sampel Prediksi).....	51
4.4.1 Klasifikasi Menggunakan Data <i>Original</i>	51
4.4.2 Klasifikasi Menggunakan Data <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	53
4.5 <i>Coomans Plot</i>	54
4.5.1 <i>Coomans Plot</i> Data Spektra <i>Original</i> pada Panjang Gelombang 300-800 nm.	54
4.5.2 <i>Coomans Plot</i> Menggunakan Data Spektra dengan <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i> pada Panjang Gelombang 300- 800 nm.....	55
4.6 Kurva <i>Receiver Operating Characteristic</i> (ROC).....	56
4.6.1 Kurva ROC menggunakan Data Spektra <i>Original</i>	56
4.6.2 Kurva ROC Menggunakan Data Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	58
V. KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Lebah <i>Heterotrigona itama</i>	8
2. Sarang Lebah <i>Heterotrigona itama</i>	10
3. <i>High Fructose Corn Syrup</i> (HFCS)	14
4. Diagram Jablonski	16
5. Plot <i>Score</i> dan <i>Loading</i> pada PCA.....	19
6. Diagram Alir Prosedur Penelitian.....	22
7. Pemanasan Sampel Menggunakan <i>Waterbath</i>	23
8. Pengenceran Sampel dengan Aquades.....	24
9. Pengadukan Sampel Menggunakan Pengaduk Magnetik	24
10. Diagram Alir Pengambilan Spektra	26
11. Mengimport Data dari <i>Microsoft Excel</i> ke <i>The Unscrambler 10.4</i>	29
12. Proses <i>Transpose</i> Data pada <i>The Unscrambler 10.4</i>	29
13. Proses Membuat Kolom <i>Category Variable</i>	30
14. Langkah Menambahkan <i>Level Name</i>	30
15. Tahap <i>Define Ranges</i>	31
16. Langkah PCA pada <i>The Unscrambler 10.4</i>	31
17. Warna Madu <i>Heterotrigona itama</i> Murni (MA), Madu <i>Heterotrigona itama</i> Campuran (MC10-MC60) dan HFCS.....	34
18. Grafik Nilai Rata-Rata Fluoresensi <i>Original</i> Sampel MA, MC10-MC60 dan HFCS pada Panjang Gelombang 300-800 nm yang Dieksitasi pada Panjang Gelombang 365 nm.....	36

19. Grafik Nilai Rata-Rata Fluoresensi Sampel MA, MC10-MC60 dan HFCS pada Panjang Gelombang 300-800 nm Menggunakan <i>Smoothing Moving Average 9 Segment</i> yang Dieksitasi pada Panjang Gelombang 365 nm.....	39
20. Hasil PCA Data Spektra <i>Original</i> Antara Kelas Sampel MA dan MC pada Panjang Gelombang 300-800 nm yang Dieksitasi pada Panjang Gelombang 365 nm.....	40
21. Hasil PCA Data Spektra <i>Original</i> Berdasarkan Level Pencampuran yang Berbeda pada Panjang Gelombang 300-800 nm yang Dieksitasi pada Panjang Gelombang 365 nm.....	41
22. Grafik <i>X-Loading</i> PC-1 dan PC-2 Hasil PCA Menggunakan Spektra.....	43
23. Hasil <i>Plot Score</i> PCA <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i> Berdasarkan MA dan MC.....	45
24. Hasil <i>Plot Score</i> PCA <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i> Berdasarkan MA dan MC dengan Level Pencampuran yang Berbeda.....	45
25. Grafik <i>X-Loading</i> PC-1 dan PC-2 <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	46
26. Model SIMCA PC-1 dan PC-2 MA Spektra <i>Original</i>	48
27. Model SIMCA MC Spektra <i>Original</i> dengan Level Campuran.....	49
28. Model SIMCA MA Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	50
29. Model SIMCA MC Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	50
30. <i>Plot Coomans</i> Hasil Klasifikasi Model SIMCA MI dan MC Menggunakan Data Spektra <i>Original</i>	54
31. <i>Plot Coomans</i> Hasil Klasifikasi SIMCA MA dan MC Menggunakan Data Spektra dengan <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	55
Gambar 32. Kurva ROC Klasifikasi MA dan MC Menggunakan Data Spektra <i>Original</i>	57
33. Kurva ROC Klasifikasi MA dan MC Menggunakan Data Spektra.....	59
34. <i>Water Bath</i> Jenis <i>Digiterm 200</i> (J.P. Selecta, Spain) (a) dan Kuvet (b)	74
35. UV-Vis Spektroskopi Fluoresensi Portabel (Goyalab, Prancis) (a) Box Hitam (b) dan Kain Penutup Box Berwarna Hitam (c)	75
36. Air Destilasi (Aquadess) (a) dan Larutan Sampel 1: 5 (b).....	75
37. Pipet Tetes (a) dan Spatula (b).....	75

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penomoran Sampel Madu dengan Campuran HFCS	25
2. Matriks Konfusi	33
3. Hasil Perhitungan Matriks Konfusi serta Nilai PC Menggunakan Beberapa Kombinasi <i>Pretreatment</i>	38
4. Matriks Konfusi Model SIMCA MA dan MC Data <i>Original</i>	52
5. Matriks Konfusi Model SIMCA Kelas MI dan Kelas MC Menggunakan Data Hasil <i>Pretreatment</i>	53
6. Hasil Tingkat Spesifisitas dan Sensitivitas Klasifikasi MA dan MC Spektra <i>Original</i>	57
7. Hasil Tingkat Spesifisitas dan Sensitivitas Klasifikasi MA dan MC Data Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment</i>	58
8. Tabel Istilah	69
9. Klasifikasi Model SIMCA Menggunakan Spektra Data <i>Original</i>	71
10. Klasifikasi Model SIMCA Menggunakan Data <i>Pretreatment</i>	72

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Madu merupakan pemanis alami yang dihasilkan lebah dengan cara menghisap nektar bunga. Nektar merupakan senyawa kompleks berbentuk larutan gula yang dihasilkan oleh kelenjar tanaman. Nektar bunga dihisap dan dikumpulkan oleh lebah pekerja dengan cara dihisap melalui mulut dan asafagus, kemudian masuk dalam perut di dalam abdomen (Sarwono, 2001). Madu memiliki banyak manfaat, di antaranya yaitu digunakan sebagai obat, bahan kosmetik, bahan pengawet dan pemanis alami. Madu yang dihasilkan oleh lebah tidak bersengat (*Heterotrigona itama*) memiliki kelebihan seperti mengandung senyawa *protocatechuic acid* (PCA), *4-hydroxyphenylacetic acid*, dan *cerumen* yang dapat digunakan tubuh sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa ini berfungsi meningkatkan proliferasi sel dalam penyembuhan luka (Kakkar & Bais, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan madu yang dihasilkan oleh lebah *Trigona sp.* memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan madu dari lebah *Apis sp.* (Avila *et al.*, 2018 ; Nweze *et al.*, 2017). Madu *Heterotrigona itama* juga mengandung flavonoid, hidrogen peroksida dan peptida antibakterial yang berfungsi sebagai antibakteri (Abd Jalil *et al.*, 2017).

Madu yang dihasilkan oleh lebah *Heterotrigona itama* memiliki cita rasa yang unik, berasa manis dan asam. Cita rasa ini dipengaruhi oleh kandungan mineral, polen, dan kandungan fenolik pada madu (Nascimento *et al.*, 2015 ; Sulieman *et al.*, 2013). Dengan cita rasa serta kandungan senyawa yang ada pada madu *Heterotrigona itama*, madu ini cocok digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai campuran pada jamu tradisional untuk meningkatkan kesehatan.

Kualitas madu menjadi pertimbangan yang penting, dan perlu diperhatikan. Pentingnya memperhatikan kualitas madu karena hal ini mempunyai keterkaitan erat dengan khasiat madu yang dibutuhkan dan menggambarkan keamanan produk untuk dikonsumsi. Nilai jual madu meningkat sesuai dengan kandungan dan kualitasnya, terutama karena nutrisi yang terkandung dalam madu, seperti asam amino, asam organik, vitamin, enzim, mineral dan antioksidan, dan yang menyusunnya (da Silva *et al.*, 2016). Komposisi dari madu sangat dipengaruhi oleh jenis lebah dan asal nektar madu yang menghasilkan madu (da Silva *et al.*, 2016).

Madu berdasarkan jenis nektarnya diklasifikasikan menjadi madu monoflora dan madu multiflora. Disebut sebagai madu monoflora jika mengandung 1 nektar bunga. Sangat sulit menghasilkan madu yang berasal dari satu nektar bunga. Sehingga biasanya ada batasan (*threshold*) kandungan dari nektar tanaman tertentu untuk mengklasifikasikan madu monoflora sebagai madu monoflora (Kasprzyk *et al.*, 2018). Adapun *threshold* dari madu monoflora yakni mengandung kandungan nektar bunga dominan minimal 45% (Mehretie *et al.*, 2018). Namun, pada peternakan lebah, biasanya akan dilakukan pengaturan sumber nektar yang disediakan untuk lebah dengan jenis tertentu, sehingga menghasilkan satu jenis sifat madu. Madu monoflora sebagian besar mempunyai kelebihan dari aspek organoleptik maupun farmakologi (manfaat medis) dibandingkan dengan madu multiflora (Martins *et al.*, 2008). Secara organoleptik madu yang berasal dari nektar *Acacia mangium* memiliki warna yang lebih menarik jika dibandingkan dengan madu dari nektar *Acacia crassicarpa*.

Produksi madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* cukup terbatas. Dalam waktu 1 tahun lebah *Heterotrigona itama* hanya mampu memproduksi madu kurang lebih 2 liter setiap koloninya. Hal ini menjadi alasan tingginya harga madu yang dihasilkan oleh lebah *Heterotrigona itama* jika dibandingkan dengan madu yang lain (Syarifuddin *et al.*, 2021). Dengan produksi yang terbatas serta banyaknya manfaat yang terdapat pada madu yang dihasilkan oleh lebah *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* ini, mendorong

tingkat pemalsuan terhadap madu ini. Pemalsuan sering dilakukan dengan mencampur dengan madu multifloral yang lebih murah atau menggunakan bahan pemanis. Di antara bahan pemanis yang digunakan sebagai campuran tersebut, terdapat sirup jagung atau yang dikenal dengan HFCS (*high fructose corn syrup*) yang dimungkinkan digunakan para oknum untuk berlaku curang. Hal tersebut dikarenakan HFCS mempunyai kelarutan yang mirip dengan madu serta memiliki tingkat keasaman dan kemanisan yang mendukung karakteristik madu. Dan hal pendukung lainnya bagi para oknum menggunakan HFCS sebagai bahan campuran madu adalah harga HFCS yang relatif murah (Parker *et al.*, 2010).

Hal di atas menjadi alasan pentingnya dilakukan pengujian keaslian madu. Uji keaslian tersebut memberikan manfaat bagi konsumen maupun produsen. Dengan adanya jaminan keaslian madu konsumen mendapat perlindungan terhadap haknya untuk memperoleh madu dengan kriteria dan kandungan yang dibutuhkan. Sedangkan produsen dapat mengendalikan kualitas madu yang dipasarkan dan memperoleh kepercayaan dari konsumen.

Penelitian keaslian madu dan madu campuran sebelumnya telah banyak dilakukan dengan berbagai metode. Metode tersebut diantaranya berdasarkan fisikokimia yang meliputi kadar abu, padatan tak larut dalam air, dan keasaman (Prabowo *et al.*, 2019). Selain secara fisikokimia, terdapat beberapa cara lain secara kimia untuk mengetahui kemurnian madu yaitu analisis karbon, analisis mikroskopis, analisis *hydroxymethylfurfural* (HMF), analisis polaritas cahaya dan tes keasaman (Moermanto, 1986). Analisis fisikokimia dan analisis kimia pada pelaksanaannya membutuhkan tenaga ahli, banyak persiapan sampel serta menggunakan peralatan khusus, sehingga tidak semua orang dapat melakukannya.

Kemudian pengujian keaslian madu juga dapat dilakukan menggunakan *UV-Visible* spektroskopi absorpsi tipe *benchtop*. Beberapa riset pengujian tersebut adalah Penggunaan *UV-Vis Spectroscopy* dan Metode SIMCA untuk Identifikasi Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Berdasarkan Sumber Nektar, yang dilakukan oleh Firmansyah, pada tahun 2019. Kemudian skripsi berjudul Penggunaan

UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Diskriminasi Madu Kelengkeng dan Madu Karet PT Madu Pramuka yang dilakukan oleh Hartono pada tahun 2021. Skripsi yang berjudul, Studi Pencampuran Madu Tidak Bersengat (*Tetrigona apicalis*) dengan Sirup Jagung HFCS 55 Menggunakan *UV-Vis Spectroscopy* dan Metode SIMCA yang dilakukan oleh Himawan, pada tahun 2022. Namun, pengujian keaslian yang dilakukan menggunakan spektroskopi absorpsi memiliki beberapa kekurangan, salah satunya adalah alat yang digunakan cukup besar dan tidak dapat dipindahkan secara sembarangan sehingga pengujian sampel harus dilakukan di laboratorium, serta waktu yang dibutuhkan untuk menganalisis sampel menggunakan spektroskopi absorpsi membutuhkan waktu cukup lama sekitar 3-4 menit untuk 1 sampel, ketika analisis dilakukan pada sampel yang cukup banyak akan memakan waktu yang cukup lama, sehingga penggunaan spektroskopi absorpsi kurang efisien dalam hal menghemat waktu.

Kelemahan-kelemahan di atas dapat diatasi dengan menerapkan teknologi spektroskopi fluoresensi *portable*. Kelebihan *UV-Vis* spektroskopi fluoresensi portabel adalah ukuran alat yang kecil sehingga dapat dibawa kemanapun dan pengujian tidak harus dilakukan di dalam laboratorium serta membutuhkan waktu yang cukup singkat jika dibandingkan dengan spektroskopi absorpsi. Waktu yang dibutuhkan spektroskopi fluoresensi dalam menganalisis 1 sampel hanya berkisar 10-15 detik. Sehingga alat ini lebih efisien dalam hal waktu dan tempat pengujian sampel.

Metode spektroskopi fluoresensi sebelumnya juga telah banyak digunakan dan dikembangkan oleh para ilmuwan baik lokal maupun mancanegara. Penggunaan metode ini salah satunya telah dilakukan untuk membedakan antara madu lebah alami dengan madu yang diberi pemanis dengan melihat spektrum fluoresensi pada sampel yang disinari oleh LED (*Light Emitting Diode*) (Marudova *et al.*, 2013). Meskipun demikian melihat dari hasil penelusuran pustaka menunjukkan bahwa penggunaan *UV-Vis* spektroskopi fluoresensi terhadap madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* asli dan madu yang telah dicampur dengan sirup jagung belum pernah dilaksanakan. Sehingga, perlu dilakukan penelitian untuk

mengetahui keaslian madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium*, serta untuk membedakan antara madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* asli dan madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* yang telah dicampur dengan HFCS-55 menggunakan *UV-Vis* spektroskopi fluoresensi dan metode SIMCA.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pemalsuan madu dilakukan dengan cara mencampur madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dengan bahan pemanis buatan HFCS-55. HFCS-55 dipilih sebagai bahan pencampur dalam penelitian ini karena banyak terjadi kasus pemalsuan madu menggunakan HFCS. HFCS memiliki harga yang relatif murah serta memiliki komposisi yang hampir sama dengan madu asli.
2. Perlunya sistem autentikasi yang digunakan untuk membedakan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* murni dan yang telah dicampur HFCS-55 secara cepat dan *portable* menggunakan spektroskopi fluoresensi dan metode SIMCA.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi pemalsuan dari madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* murni dengan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* yang dicampur dengan pemanis buatan (HFCS-55) berdasarkan dari level pencampuran antara 10-60 % menggunakan spektroskopi fluoresensi dan metode SIMCA.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Dapat mengidentifikasi kemurnian madu monoflora dan bahan pencampur HFCS-55.

2. Identifikasi bermanfaat bagi konsumen maupun produsen. Konsumen mendapatkan hak penuh atas kemurnian madu yang dibelinya dan produsen mendapatkan jaminan kualitas madu yang diproduksi sehingga akan mendapatkan kepercayaan dari konsumen.
3. Dapat digunakan sebagai referensi penelitian berikutnya mengenai identifikasi kemurnian madu menggunakan spektroskopi fluoresensi.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Identifikasi dilakukan pada madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dengan pencampur HFCS-55.
2. Tidak dilakukan uji kimia terhadap sampel.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah spektroskopi fluoresensi dapat membedakan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* murni dengan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* yang telah dicampur zat pemanis (HFCS) berdasarkan intensitas emisi fluoresensi menggunakan metode SIMCA.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lebah *Trigona*

Lebah umumnya dibagi menjadi dua jenis, bersengat dan tidak bersengat, berdasarkan sengatannya. Lebah bersengat, seperti *Apis*, telah banyak dikembangkan dan lebih populer di masyarakat. Sementara itu, lebah tanpa sengat lebih sedikit pengembang biakannya dibandingkan dengan lebah bersengat, dan tidak populer di masyarakat. *Trigona* adalah salah satu hewan yang hidup pada zaman prasejarah. Namun, fosil yang ditemukan para ilmuwan di masa lalu menunjukkan bahwa lebah tidak bersengat adalah lebah yang paling tua (Fadhilah & Rizkika, 2015).

Lebah *Trigona* merupakan genus terbanyak, terbukti dengan fakta bahwa ada sekitar 202 spesies di seluruh dunia yang terdiri dari 186 takson yang masuk ke dalam 55 genus yang terbagi menjadi 61 sub-genus. Sub-genus tersebar ke berbagai negara di seluruh dunia, termasuk Amerika Selatan di mana ditemukan genus *Oxytrigona*, *Paratrigona*, *Nanotrigona*, *Plebeia*, *Scaura*, *Tetragona*, *Apalatrigena*, *Dolichotrigona*, *Celetrigona*, *Cephalotrigona*, dan *Melipona* ditemukan. Di Australia, ditemukan genus *Tetragonula* dan *Austroplebeia*. Kemudian di negara-negara Afrika, sub-genus seperti *AxetoTrigona*, *ApoTrigona* dan *Plebeina* juga berhasil ditemukan. Sub-genus ini juga ditemukan di Asia Tenggara, termasuk genus *Geniotrigona*, *Heterotrigona*, *Homotrigona*, *Lisotrigona*, *Platytrigona*, *Tetragonula*, dan *Tetrigona* (Rasmussen & Cameron, 2009).

Penelitian ini akan terfokus pada madu dari jenis lebah *Heterotrigona itama*. *Heterotrigona itama* merupakan salah satu lebah dari spesies *Trigona*, tubuh *Trigona* berbentuk seperti lalat sehingga dinamai *penyingok lalet* di daerah Palembang, Sumatra Selatan. Namun, nama *Trigona* berbeda-beda di setiap daerah, contohnya yaitu: *Lanceng* (Jawa), *Gegelah* (Lampung), *Taeweul* (Sunda), *Galo-galo* (Sumatra Barat) dan masih banyak lagi (Achyani & Wicandra, 2019). Lebah *Heterotrigona itama* ditunjukkan oleh Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Lebah *Heterotrigona itama* (Sumber : Harjanto *et al.*, 2020)

Lebah *Heterotrigona itama* menurut Achyani & Wicandra, (2019), memiliki klasifikasi sebagai berikut .

Kingdom : Animalia
 Phylum : Arthropoda
 Class : Insecta
 Ordo : Hymenoptera
 Familia : Apidae
 Sub Familia : Meliponinae
 Genus : *Heterotrigona*
 Spesies : *Heterotrigona itama*

Lebah *Trigona* memiliki dua pasang sayap transparan sehingga secara sistematika menjadikannya termasuk kedalam Ordo Hymenoptera. Sedangkan familia lebah *Trigona* termasuk kedalam Apidae bersama dengan lebah penghasil

madu lainnya. Karena adanya pengelompokan lebah penghasil madu berdasarkan ada tidaknya sengat, maka lebah yang tidak memiliki sengat seperti *Trigona* termasuk kedalam sub familia Meliponinae (Achyani & Wicandra, 2019).

Heterotrigona itama memiliki daerah puncak sayap berwarna putih, dengan sayap keseluruhan berwarna sepia yang seragam. Ukuran tubuh *Heterotrigona itama* lebih kecil dari *Apis cerana* (lebah madu Asia). Cara termudah untuk membedakan lebah yang tidak bersengat dari lebah lainnya adalah dengan melihat posisi kakinya saat terbang. Kaki belakang lebah tak bersengat *Heterotrigona itama* memanjang saat terbang, sementara lebah lain melipat kaki belakangnya ke dalam perut saat terbang (Yuwei & Lin 2019).

Ciri utama lebah *Trigona* adalah tidak adanya sengat (*Stingless bee*). Sengat berguna sebagai pertahanan lebah dari predator, karena tidak memiliki sengat, lebah *Trigona* mengandalkan propolis sebagai penguat dinding sarang sebagai pertahanan dari predator dan penyakit, yang juga berguna untuk menjaga kestabilan suhu di dalam sarang. Sarang lebah *Heterotrigona itama* berbentuk seperti kantong. Sarang ini merupakan satu ruangan tempat yang selain digunakan lebah untuk perlindungan diri juga untuk menempatkan kumpulan telur-larva-pupa (disebut sebagai *brood cells*), madu dan polen. Material utama dalam membangun sarang adalah campuran resin tanaman dan lilin lebah. Campuran material ini disebut sebagai *cerumen* (Michener, 2013). Lebah-lebah pengumpul akan mengambil getah tanaman dan diangkut di tungkai belakangnya. Resin tanaman ini bersifat lengket dan digunakan untuk struktur sarang dan membangun kantong-kantong telur dan cadangan makanan. Sedangkan lilin lebah dihasilkan oleh kelenjar pada bagian ventral abdomen. Pada beberapa bagian, getah tanaman ini dicampur dengan material padatan lain seperti pasir atau tanah liat untuk memperkuat struktur (disebut *batumen*) (Harjanto *et al.*, 2020). Sarang lebah *Heterotrigona itama* diperlihatkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Sarang Lebah *Heterotrigona itama*

Trigona mempunyai ukuran 5 mm dengan daya jelajah sekitar 600 m (Nelli, 2004). Produksi madu lebah *Trigona* masih tergolong sedikit, berkisar 1-2 kg per tahun. Hal tersebut disebabkan daya jelajah serta budidaya lebah *Trigona* belum berkembang. Tetapi keunggulan yang dimiliki lebah *Trigona* adalah dapat memproduksi propolis cukup tinggi yaitu berkisar 3 kg per koloni tiap tahunnya dibandingkan lebah *apis* yang hanya memproduksi 20-30 gram propolis per koloni per tahun (Syafrizal, 2014).

2.2 Madu

Menurut SNI 3545:2013, madu adalah cairan yang memiliki rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (extra floral). Madu menjadi salah satu bahan pangan yang berasa manis dan kental serta memiliki warna emas sampai coklat gelap dengan kandungan gula yang tinggi serta rendah lemak. Madu didapatkan lebah dengan proses enzimatik melalui nektar bunga dan digunakan sebagai cadangan makanan (White, 1977).

Menurut standar (Codex Alimentarius Commission, 2001), madu merupakan bahan manis alamiah yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar tanaman atau dari sekresi bagian yang hidup pada tanaman atau *excretion plant sucking insect*

pada bagian hidup tanaman. Lebah madu mengumpulkan serta mengubahnya dengan bahan khusus yang terdapat dalam tubuh lebah, mendepositkan, mengeringkan, menyimpannya didalam sarang lebah, dan membiarkannya sampai matang (*mature*) (F. G. Winarno, 2020).

2.3 Kandungan dan Manfaat Madu

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Afrilia et al., 2022), madu *Heterotrigona itama* memiliki cita rasa unik, yaitu asam sedikit manis, berwarna kuning gelap hingga hitam, beraroma khas, mengandung kadar air cukup tinggi sebesar 27.11% - 35 %, kadar abu total 0.28% dengan pH 3.07, bobot jenis 1.34 g/mL, serta mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, asam fenolik dan triterpenoid. Secara umum, madu tersusun dari gula glukosa dan fruktosa (Siddiqui et al., 2017). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Bogdanov, 2011), yang menyatakan bahwa madu memiliki kandungan 38% fruktosa, 31% glukosa, 10% gula jenis lainnya serta berbagai macam mikronutrisi (vitamin-vitamin, asam amino dan mineral-mineral) dengan pH di bawah 4. Komposisi madu dipengaruhi oleh nektar bunga yang telah dikumpulkan dan dikeluarkan oleh lebah yang menghisapnya, faktor iklim serta kematangan madu (White, 1978).

Nektar bunga yang dihisap oleh lebah mempengaruhi warna madu yang dihasilkan. Warna madu memiliki korelasi dengan kandungan fenolik dan flavonoid pada madu tersebut. Madu yang berwarna gelap memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan madu yang berwarna terang (Kek et al., 2014). (Piotraszewska-Pajak & Gliszczynska-Swiglo, 2015), juga mengatakan bahwa madu berwarna gelap dapat diindikasikan dengan dominannya zat-zat antosianin pada madu dan madu dengan warna terang banyak didominasi zat-zat flavonoid yang berwarna dominan kuning. Pernyataan ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Mahani et al., 2022), pada penelitian ini digunakan beberapa sampel madu dengan jenis lebah yang berbeda dan juga sumber nektar yang berbeda. Berdasarkan penelitian ini, madu *Heterotrigona itama* dari Sumatera Selatan memiliki kandungan flavonoid sebesar 0.808 -

13.142 (mg/100g), sedangkan pada madu lebah *Genio thorasica* dari Sumatera Utara hanya memiliki kandungan flavonoid sebesar 0.038 - 7.208 (mg/100g), kemudian madu dari lebah *Apis dorsata* dari Nusa Tenggara Timur memiliki kandungan flavonoid yang lebih besar dari madu yang dihasilkan oleh lebah *Heterotrigona itama* dan *Genio thorasica*, yaitu sebesar 0.077 - 17.247 (mg/100g). Perbedaan kandungan flavonoid ini disebabkan oleh perbedaan warna madu.

Kandungan dari madu ini dapat dimanfaatkan, dalam pengobatan, kosmetik, kesehatan, bahan pengawet alami, serta bahan pemanis makanan dan minuman. Madu juga kaya akan nutrisi yang bermanfaat bagi manusia (Baroni *et al.*, 2006). Penelitian terhadap madu lebah *Heterotrigona itama* telah banyak dilakukan dalam bidang kesehatan dan terbukti efektif untuk mengobati luka dan dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Jull *et al.*, 2008). Karena madu *Heterotrigona itama* memiliki senyawa fenolik yang tinggi (asam fenolik, polifenol, antosianin, saponin, dan pigmen) yang dapat dimanfaatkan tubuh sebagai antioksidan (da Silva *et al.*, 2013). Senyawa fenolik yang terdapat pada madu lebah tidak bersengat (*Heterotrigona itama*) memiliki segudang manfaat, di antaranya dapat merusak struktur membran bakteri sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, dapat menghambat produksi berlebih dari mediator inflamasi seperti nitrat oksida (NO), *tumor necrosis factor* (TNF), dan prostaglandin E₂ (PGE₂). Senyawa fenolik juga dapat menjadi penangkal radikal bebas sehingga dapat melindungi sel dari sitotoksik yang diinduksi mediator inflamasi (Aljadi & Kamaruddin, 2004 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2009). Senyawa fenolik yang ada pada madu *Heterotrigona itama* juga berperan sebagai anti-inflamasi atau anti-peradangan.

2.4 Jenis-Jenis Madu

Berdasarkan sumber bunga (nektar), madu dapat dibedakan menjadi 2, yaitu madu monofloral dan madu multifloral (Jaya, 2016). Madu monoflora adalah madu yang dihasilkan dari satu tumbuhan utama. madu ini biasanya dinamakan berdasarkan sumber nektarnya, seperti madu Kopi, madu Randu, dan madu Kangkung dan lain-lain. Sumber nektar akan mempengaruhi sifat madu yang

dihasilkan oleh lebah, diantaranya dari segi warna dan komponen madu (Sihombing, 2005). Sedangkan madu multiflora adalah madu yang dihasilkan dari bermacam-macam nektar jenis tanaman, sebagai contoh adalah madu hutan dimana lebah mendapatkan nektar dari beberapa jenis tanaman yang terdapat dalam suatu area tertentu (Jaya, 2016)

Selain dua jenis madu yang telah disebutkan, terdapat beberapa jenis madu lainnya seperti madu flora (*blossom*) dan madu ekstra flora (*honeydew*). Madu flora dihasilkan dari nektar bunga sebagai sumbernya. Madu ekstra flora dihasilkan dari sekresi tanaman tertentu, yaitu berasal dari larutan yang terdapat pada batang, daun dan cabang pohon serta dapat juga berasal dari sekresi serangga penghisap tumbuhan, khususnya dari famili *Aphididae* (Iglesias *et al.*, 2004). Perbedaan antara kedua jenis madu ini terletak pada aroma dan rasa. Aroma madu *blossom* lebih kuat dibandingkan madu *honeydew*, sedangkan rasa madu *honeydew* lebih manis dibandingkan madu *blossom* (Castro-Vazquez *et al.*, 2006).

2.5 Sirup Jagung

HFCS (*high fructose corn syrup*) atau sirup jagung fruktosa tinggi merupakan pemanis buatan berbentuk cairan yang digunakan sebagai pengganti sukrosa yang berbahan dasar utama jagung dengan tambahan enzim untuk menghidrolisis pati jagung serta bahan kimia lain. HFCS dibuat melalui tahap hidrolisis kimia dan enzimatis pati jagung yang mempunyai amilosa dan amilopektin. Sirup jagung sebagian besar mengandung glukosa kemudian melewati tahap isomerisasi glukosa dalam sirup jagung menjadi fruktosa sehingga dihasilkan sirup jagung fruktosa tinggi atau HFCS.

High Fructose Corn Syrup (HFCS) berbahan dasar sirup jagung dengan kadar glukosa tinggi (*High Glucose Corn Syrup*). Inti dari pembuatan HFCS adalah dengan mengkonversi *High Glucose Corn Syrup* menjadi HFCS yang dibantu oleh enzim glukosa isomerase, enzim ini berperan penting sebagai katalis dalam proses konversi *High Glucose Corn Syrup* menjadi HFCS. HFCS yang dihasilkan mengandung 42% fruktosa, sedangkan HFCS yang mengandung kadar fruktosa

hingga 90% didapatkan melalui proses fraksinasi untuk membuang sebagian besar glukosa yang masih terkandung dalam HFCS 42%. HFCS 55% diperoleh lewat pencampuran HFCS 90% dengan HFCS 42%. HFCS memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan sukrosa dalam olahan makanan dan minuman, HFCS memiliki daya tarik tersendiri karena rasa manisnya, keasaman, kelarutan serta harganya yang tergolong murah. HFCS ini banyak sekali diproduksi di Amerika Serikat (AS) sebagai campuran makanan dan minuman (Parker *et al.*, 2010).

HFCS merupakan salah satu jenis sirup yang digunakan untuk memalsukan madu, karena memiliki komposisi yang sama dan mirip dengan madu asli. Senyawa dari HFCS adalah glukosa dan fruktosa (92%) sehingga sangat sulit untuk dideteksi, serta HFCS memiliki harga yang sangat terjangkau. Contoh maraknya pemalsuan madu dengan HFCS adalah beredarnya berita daring di Inggris yang menginformasikan kecurangan pedagang yang menambahkan sirup jagung ke dalam madu pada tahun 2021. Contoh kasus lain terjadi di Indonesia, beredar bukti bahwa ada 3 orang melakukan praktik pemalsuan madu dengan menggunakan campuran bahan pemanis, salah satunya adalah sirup jagung (Felim, 2021). HFCS ditunjukkan oleh Gambar 3 di bawah ini :



Gambar 3. *High Fructose Corn Syrup (HFCS)*

2.6 *UV-Visible* Spektrometer Fluoresensi

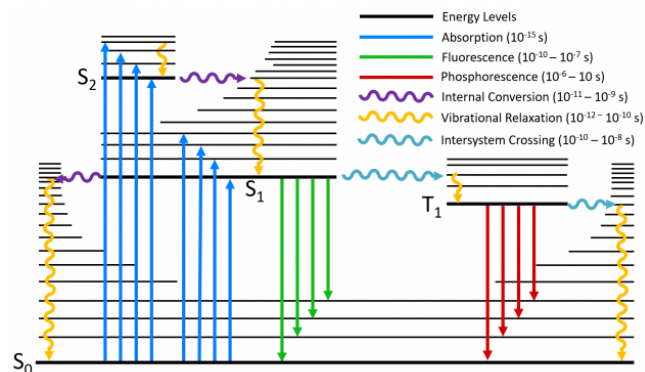
Spektrofotometer *UV-Vis* merupakan alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas dari sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet berada pada rentang panjang gelombang (200-350 nm) dan sinar tampak (350-800 nm) dari suatu senyawa. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrum ini berguna untuk pengukuran secara kuantitatif (Dachriyanus, 2004).

Spektrofotometer UV-Visible memiliki dua buah sumber cahaya yang berbeda, yaitu sumber cahaya *ultraviolet* menggunakan lampu *Deuterium* dan sumber cahaya *visible* menggunakan lampu *Wolfram*. *Wolfram* digunakan sebagai lampu pada spektrofotometri karena memiliki titik didih yang sangat tinggi (5930 °C). (Balai Teknologi Polimer, 2020).

Spektroskopi dibagi menjadi 4 jenis berdasarkan panjang gelombang sumber cahaya yang digunakan, yaitu spektroskopi UV, spektroskopi *Visible*, spektroskopi *UV-Visible*, dan spektroskopi infra merah. Sedangkan jika didasarkan pada interaksi antara cahaya dan materi terbagi atas 3 jenis, yaitu spektroskopi absorpsi, spektroskopi emisi dan spektroskopi fluoresensi. Spektroskopi fluoresensi merupakan metode spektroskopi yang mengamati intensitas fluoresensi atau spektrum fluoresensi sinar pada suatu zat yang dikenai cahaya. Spektroskopi fluoresensi menggunakan kamera CCD (*Charged Couples Devices*) atau CMOS (*Complementary Metallic Oxide Semiconductor*) atau yang disebut pencitraan fluoresensi (Asriani & Minarni, 2015). Fluoresensi terjadi ketika cahaya berinteraksi dengan suatu materi, dimana ketika atom atau partikel menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu akan memancarkan kembali cahaya dengan panjang gelombang yang lebih besar (Lemboumba, 2006).

Pemancaran radiasi cahaya oleh suatu materi setelah terjadi eksitasi oleh berkas cahaya berenergi tinggi disebut dengan fluoresensi. Fluoresensi merupakan proses perpindahan tingkat energi dari keadaan atom tereksitasi (S_1 atau S_2) menuju ke keadaan stabil (*ground states*) (S_0). Proses terjadinya fluoresensi secara skematik

dijelaskan oleh diagram Jablonski yang ditunjukkan oleh Gambar 4 berikut ini :



Gambar 4. Diagram Jablonski (Granite, n.d.)

Fluoresensi terjadi ketika suatu atom atau molekul yang berupa elektron mengabsorpsi energi cahaya sebesar $h\nu_A$, maka elektron di *ground states* (S_0) akan berpindah ke tingkat energi yang lebih tinggi ke tingkat S_1 atau S_2 . Pada diagram yang ada pada Gambar 4 proses ini ditunjukkan dengan garis panah lurus berwarna biru. Proses transisi terjadi sangat cepat kurang dari 1 pikodetik. Proses berpindahnya S_0 ke tingkat S_1 atau S_2 ini disebut *absorption* (penyerapan).

Atom yang telah tereksitasi yang ada pada tingkat S_1 atau S_2 ini akan mengalami konversi internal (*internal conversion*) yang ditunjukkan oleh garis bergelombang berwarna ungu, konversi internal diikuti oleh relaksasi getaran (*vibrational relaxation*) yang ditunjukkan oleh garis panah bergelombang berwarna kuning, proses ini juga terjadi dalam waktu sangat singkat sekitar 10-1 ns, kemudian atom tersebut akan melepaskan sejumlah energi sebesar $h\nu_f$ yang berupa cahaya. Karenanya energi atom semakin lama semakin berkurang maka elektron akan kembali menuju ke tingkat energi dasar S_0 untuk mencapai keadaan suhu yang setimbang (*thermally equilibrium*). Kembalinya elektron yang ada pada tingkat S_1 atau S_2 ke *ground states* (S_0) ini disebut dengan fluoresensi, proses fluoresensi pada Gambar 4 ditunjukkan oleh garis panah lurus berwarna hijau. Syarat terjadinya fluoresensi menggunakan spektroskopi *UV-Visible* (Goyalab, Prancis) yaitu emisi dari lampu yang digunakan lebih besar dari eksitasi lampu.

Kemudian jika terjadi persimpangan antar sistem sebelum transisi dari S_1 ke S_0 yaitu ketik S_1 terjadi konversi spin ke *triplet state* (T) yang pertama (T_1) maka proses ini dinamakan persimpangan antar sistem (*intersystem crossing*), proses ini pada Gambar 4 ditunjukkan oleh garis bergelombang berwarna biru muda. Jika terjadi proses persimpangan antar sistem maka akan segera mengalami relaksasi vibrasi ke tingkat dasar T_1 (ditunjukkan oleh garis bergelombang berwarna kuning). Setelah elektron ada pada T_1 maka akan terjadi transisi dari T_1 ke S_0 . Transisi dari T_1 ke S_0 disebut sebagai fosforesensi. Fosforesensi pada Gambar 4 ditunjukkan oleh garis panah berwarna merah. Fosforesensi terjadi dalam waktu yang lebih lama daripada fluoresensi, hal ini karena transisi yang terjadi pada proses fosforesensi sebenarnya adalah transisi yang dilarang. Sehingga fosforesensi menghasilkan energi emisi cahaya yang relatif lebih rendah dengan panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan dengan fluoresensi (Granite, n.d.).

2.7 Metode Kemometrika

Kemometrika diperkenalkan oleh ilmuwan berkebangsaan Swedia, Swante Wold, dan ilmuwan Amerika Serikat, Bruce R. Kowalski. Secara umum, kemometrika diartikan sebagai cabang ilmu matematika yang diaplikasikan berdasarkan teori-teori matematika dan statistika untuk mengolah data. Kemometrika dapat digunakan untuk merancang atau memilih prosedur dan pengujian yang optimal, serta untuk menarik informasi sebanyak-banyaknya dari suatu data (Rohman *et al.*, 2014).

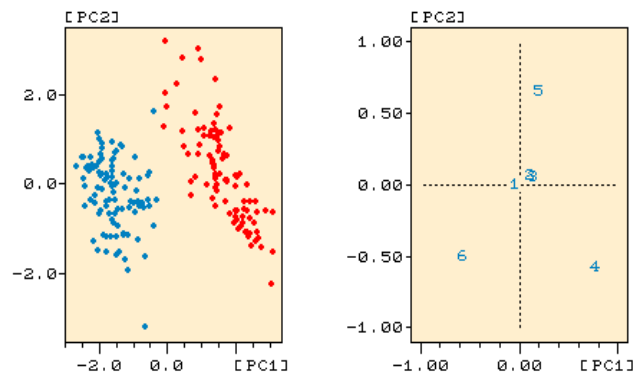
Pada metode ini dilakukan analisis multivariat untuk meringkas data variabel, dilakukan dengan membuat variabel baru yang memuat informasi. Variabel baru yang telah dibuat selanjutnya digunakan untuk pemecahan masalah dan tampilan, yaitu dalam pengelompokan hubungan dan mengontrol grafik. Salah satunya adalah PCA (*principal component analysis*), PCA merupakan sebuah transformasi linier yang berguna untuk menarik fitur dari data pada sebuah skala berdimensi tinggi. Data yang diproyeksikan PCA akan masuk ke dalam *subspace*. Metode PCA mampu memperkecil ukuran data tanpa menghilangkan informasi penting data tersebut (Roggo *et al.*, 2007).

Spektra yang dihasilkan setelah melalui fluoresensi dari alat *UV-Visible* spektroskopi terlihat sangat kompleks, sehingga arti dari data spektra menjadi cukup sulit untuk dipahami. Cara untuk mempermudah penafsiran data *multivariat* yaitu dengan metode PCA dan SIMCA yang diolah menggunakan *software the Unscrambler*. Tujuan dari perangkat lunak ini untuk mempermudah analisis data *multivariat* dan membangun model eksperimen. *Software* ini mampu membuat klasifikasi sampel yang tidak diketahui ke dalam berbagai kategori (Citrasari, 2015).

2.7.1 Principal Componen Analisis (PCA)

Principal componen Analisis (PCA) adalah salah satu metode interpretasi data dalam kemometrika (Pratiwi & Harjoko, 2013). Perbedaan antar sampel dipengaruhi oleh ratusan bahkan ribuan variabel, dengan PCA dapat diketahui apakah variabel-variabel tersebut mempunyai korelasi atau saling lepas (Suhandy & Yulia, 2019). Tujuan dilakukannya PCA adalah untuk mereduksi dimensi yang besar dari ruang data (*observed variable*) menjadi dimensi yang lebih kecil dari ruang fitur (*independent variable*), yang dibutuhkan untuk mendeskripsikan data menjadi lebih sederhana (Pratiwi & Harjoko, 2013). Metode ini dijalankan dengan *software Unscramble*.

Principal component analysis (PCA) merupakan metode penyederhanaan data dengan cara melakukan *Pre-Treatment* linier untuk membentuk sistem koordinat baru dengan jumlah perubahan terbesar. PCA ini dapat digunakan untuk mengurangi ukuran data tanpa menghilangkan karakteristik data secara signifikan. Metode ini mengubah sebagian besar variabel asli menjadi kumpulan variabel yang lebih kecil (Ardiansyah, 2013). Plot umum yang digunakan ketika menggunakan PCA yaitu plot *score*, plot *loading* yang sesuai sebagai garis spektral, dan plot nilai eigen yang diurutkan. Plot *score* dan plot *loading* pada suatu data seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar 5. Plot *Score* dan *Loading* pada PCA (Sumber : Zahrok, 2019)

2.7.2 *Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA)*

Soft independent modeling of class analogies (SIMCA) merupakan metode analisis multivariat yang berfungsi sebagai pengujian kekuatan klasifikasi dan analisis multivariat yang berfungsi sebagai pengujian kekuatan klasifikasi dan diskriminasi sampel. SIMCA juga berguna untuk mengklasifikasikan sampel sesuai kelas yang dibuat dengan benar. Dasar metode klasifikasi ini terdapat pada model PCA yang telah dibentuk untuk setiap kelas dan tiap sampel terklasifikasi. *Output* (keluaran) dari SIMCA berbentuk tabel pengelompokan (klasifikasi), pada tabel tersebut memperlihatkan sampel yang dikelompokkan masuk pada satu kelas, beberapa (2 atau lebih) kelas, atau tidak masuk (terklasifikasi) ke dalam kelas manapun (Nurchahyo, 2015).

Pembuatan dan pengujian model yang dibangun dengan program SIMCA masuk ke dalam PCA tetapi nilai sensitivitas pembacaan data SIMCA mempunyai nilai yang lebih besar (*supervised*). Berikut beberapa prosedur yang dilakukan untuk menerapkan SIMCA :

- a. Dilakukan pelepasan PCA di setiap kelas pada data set dengan jumlah cukup.
- b. Dipertahankan komponen utama untuk beberapa variasi data di tiap-tiap kelas.
- c. Dibuat klasifikasi yang dilakukan di dalam SIMCA dengan cara melakukan perbandingan variasi residual dari sampel dengan rata-rata residual varian sampel yang membentuk kelas. Maka, dengan perbandingan tersebut dapat memberikan ukuran langsung dari kesamaan sampel pada kelas tertentu serta

dapat dianggap sebagai ukuran *goodness of fit* dari sampel untuk model kelas tertentu (Lavine *et al.*, 2009).

2.7.3 *Confusion Matrix*

Hasil klasifikasi SIMCA dicatat dengan matriks konfusi. Matriks konfusi digunakan untuk melakukan pengujian dan memprediksi objek yang tepat atau tidak. Matriks konfusi mempunyai sejumlah rumus keluaran yaitu akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan eror. Nilai klasifikasi dari rumus akurasi berguna untuk membuktikan bahwa model yang telah dibangun telah terbukti akurat.

Klasifikasi yang dilakukan sistem terhadap sampel tentunya diharapkan memberikan prediksi yang tepat. Namun pada beberapa kasus ketepatan tidak mencapai 100%. Maka penting untuk dilakukan pengujian kinerja sistem klasifikasi untuk mengetahui tingkat ketepatannya dalam memprediksi. Menurut Lavine *et al.*, (2009), elemen-elemen yang menjadi parameter dalam menentukan baik atau tidaknya model diskriminasi/klasifikasi adalah sebagai berikut:

- a. Akurasi, yang menunjukkan seberapa tepat suatu model dalam mengklasifikasi sampel secara keseluruhan.
- b. Sensitivitas, yang menunjukkan kemampuan model diskriminasi/klasifikasi untuk menolak sampel yang bukan kelasnya.
- c. Spesifisitas, yang menunjukkan kemampuan model diskriminasi/klasifikasi untuk mengarahkan sample masuk kedalam kelas secara benar.

Confusion matrix menjadi alat pengukuran kinerja klasifikasi yang sering diandalkan. *Confusion matrix* bekerja dengan menganalisa tingkat kinerja model klasifikasi dalam mengenali *record* dari setiap kelas yang berbeda. Sesuai dengan yang dijelaskan oleh (Suhandy & Yulia, 2019)

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 di Laboratorium Rekayasa Bioproses dan Pascapanen Pertanian (Lab. RBPP), Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

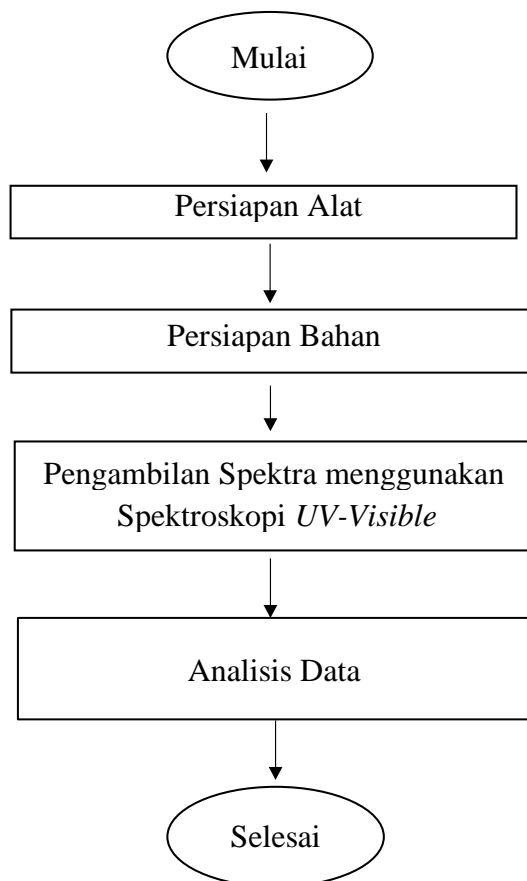
3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Analisis sampel madu dilakukan menggunakan spektroskopi *UV-Visible* (Goyalab, Prancis) dengan parameter sebagai berikut : rentang pengukuran 300-800 nm dengan interval panjang gelombang 0.5 nm yang dieksitasi pada panjang gelombang 365 nm . Alat lainnya yaitu *magnetic stirrer* (CiblancTM, Cina) (*size* pelat atas 4 x 4 *inch*), *waterbath*, kuvet, labu *erlenmeyer* 50 ml, pipet ukur., gelas beker, gelas ukur, toples kecil, box hitam, kain penutup box berwarna hitam, spatula dan komputer. Bahan yang digunakan adalah madu monoflora nektar *Acacia mangium* lebah tanpa sengat *Heterotrigona itama* yang diperoleh dari PT. Suhita Lebah Indonesia, bahan pemanis HFCS-55, dan air destilasi sebagai pengencer.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap, dimulai dengan persiapan alat dan bahan, kemudian persiapan sampel dengan cara memanaskan madu dan pencampuran madu dengan pemanis buatan. Kemudian setiap sampel diencerkan menggunakan *aquades* dengan kadar pencampuran 1:5, diaduk

menggunakan pengaduk magnetik, dilanjutkan dengan proses pengambilan spektra dan yang terakhir dilakukan analisis data menggunakan metode SIMCA. Adapun diagram alir dari penelitian ini ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Alir Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Alat

Persiapan alat dilakukan dengan menyiapkan alat dengan lengkap dan dilakukan pemeriksaan kondisi dari alat yang akan digunakan. Ketersediaan alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini penting untuk diperhatikan kelengkapan dan kondisinya sehingga setiap tahap penelitian dapat terlaksana dengan lancar. Selain itu, pemeriksaan kondisi alat harus dilakukan dengan seksama sebelum dan selama penelitian untuk memastikan alat dapat digunakan dengan baik sesuai fungsinya.

3.3.2 Prosedur Persiapan Bahan

Terdapat beberapa perlakuan yang harus dilakukan pada madu yang akan dijadikan sample pada penelitian ini, perlakuan itu meliputi :

1. Pemanasan Sampel

Mengacu pada BSN (2013), analisis dilakukan langsung pada sampel tanpa perlakuan lain kecuali penyaringan, pengadukan dan pengocokan. Jika terdapat bagian-bagian yang menggumpal maka sampel dihangatkan menggunakan *water bath* dengan suhu air 60-65°C selama 30 menit. Setelah pemanasan selesai bahan didiamkan pada suhu ruangan sampai suhunya setara dengan suhu ruang.

Pemanasan sampel dilakukan seperti Gambar 7.



Gambar 7. Pemanasan Sampel Menggunakan *Waterbath*

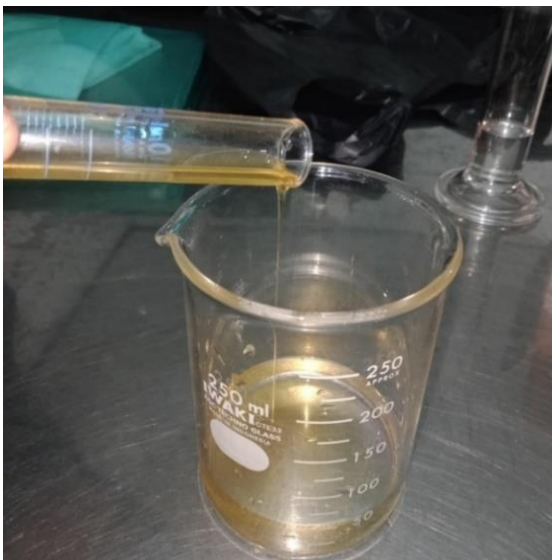
2. Pencampuran Madu dengan Pemanis Buatan (HFCS-55)

Madu yang telah dipanaskan dan kembali dingin, kemudian dicampur dengan pemanis buatan. Rasio pencampuran madu dengan HFCS-55 yang dilakukan yaitu 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, dan 4:6.

3. Pengenceran Sampel

Seluruh sampel yang akan diukur menggunakan *spectoscopy* harus berada pada konsentrasi yang sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan. Untuk mendapat konsentrasi yang tepat larutan diencerkan menggunakan air destilasi dengan perbandingan 1:5 (ml:ml). Perbandingan tersebut dipilih karena

menurut pra penelitian yang dilakukan peneliti, pencampuran yang baik dilakukan dengan cara mencampurkan madu dan air distilasi dengan perbandingan 1:5 (v/v). Pengenceran sampel ditunjukkan oleh Gambar 8 berikut ini.



Gambar 8. Pengenceran Sampel dengan Aquades

4. Pengadukan Sampel

Sampel madu yang telah diencerkan diaduk dengan pengaduk magnetik (CiblancTM, Cina) selama 10 menit dengan kecepatan sedang hingga campuran homogen. Pada kondisi ini sampel telah siap diambil data spektranya. Pengadukan sampel ditunjukkan Gambar 9.



Gambar 9. Pengadukan Sampel Menggunakan Pengaduk Magnetik

5. Persiapan Sampel

Persiapan sampel dilakukan dengan penomoran sampel, sampel dinomori dan diberi kode berdasarkan jenis campuran dan kadar campurannya. Sampel madu *Heterotrigona itama* murni diberi kode sampel MA, sampel madu campuran dengan level 10-60% diberi kode sampel berturut-turut MC10, MC20, MC30, MC40, MC50, MC60, sedangkan sampel HFCS-55 diberi kode sampel HF. Penomoran sampel dapat dilihat pada Tabel 1, berikut ini :

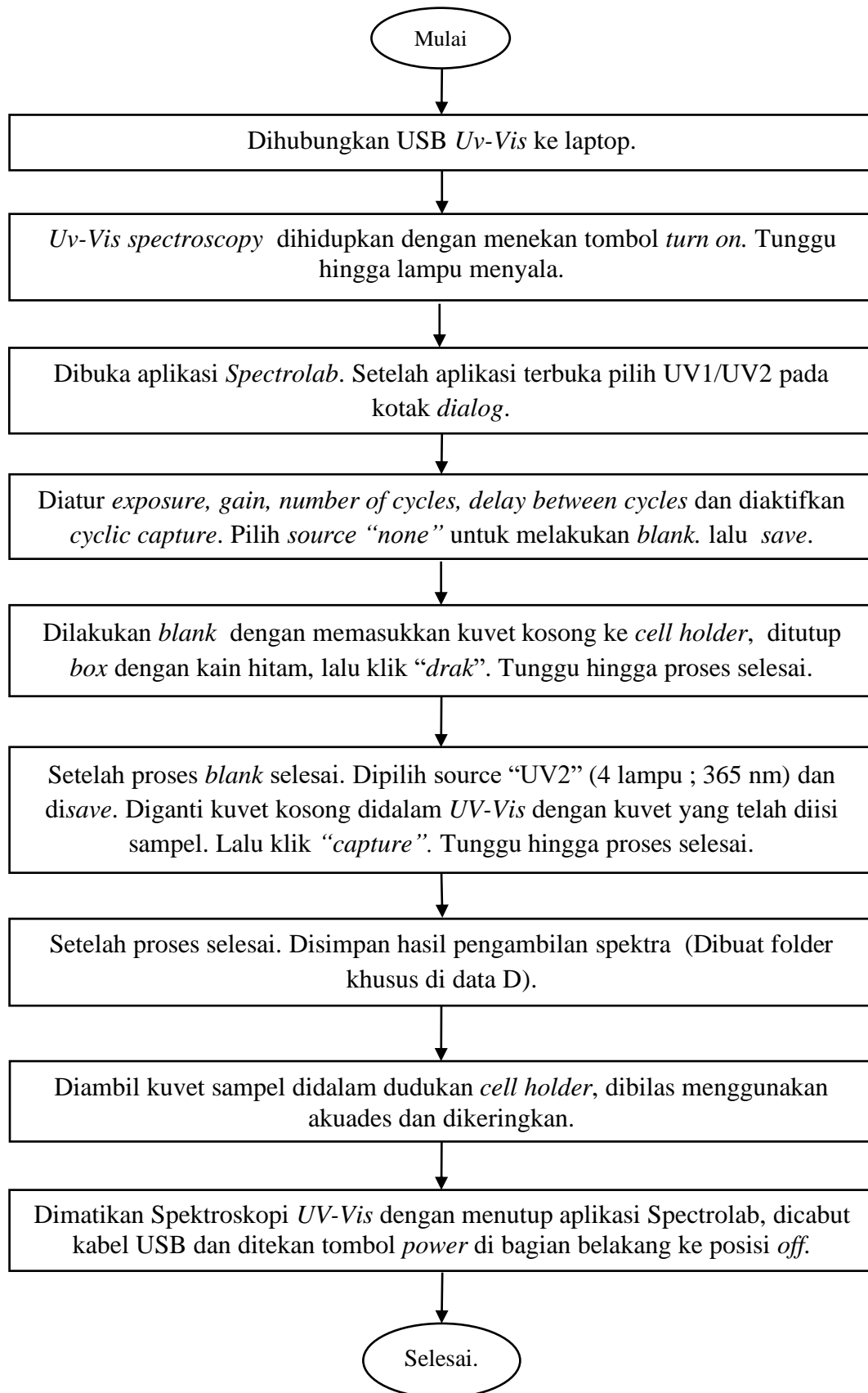
Tabel 1. Penomoran Sampel Madu dengan Campuran HFCS

No Sampel	Komposisi Bahan
1-50	10 ml Madu + 0 ml sirup jagung (MA)
51-70	9 ml Madu + 1 ml sirup jagung (MC10)
71-90	8 ml Madu + 2 ml sirup jagung (MC20)
91-110	7 ml Madu + 3 ml sirup jagung (MC30)
111-130	6 ml Madu + 4 ml sirup jagung (MC40)
131-150	5 ml Madu + 5 ml sirup jagung (MC50)
151-170	4 ml Madu + 6 ml sirup jagung (MC60)
171-190	<i>Hight Fructose Corn Syrup 55% (HF)</i>

Sampel yang diambil data spektranya sebanyak 190 sampel dengan masing-masing 2 kali pengulangan. Setelah sampel dipastikan homogen, kemudian dipipet dengan volume 2 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet berbahan kuarsa. Permukaan luar kuvet terutama dinding transparan dari kuvet harus dalam keadaan bersih, agar gelombang cahaya dapat diteruskan dengan optimal. Kuvet dimasukkan ke dalam spektroskopi *UV-Visible*. Kemudian diukur spektranya.

3.3.3 Pengukuran Spektra dengan Spektrometer

Pengambilan data spektra menggunakan alat spektrofotometer, sampel yang digunakan merupakan madu yang telah diencerkan, sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 2 ml. Lalu kuvet diletakkan di dalam *holders system* dan diambil nilai intensitas fluoresensinya. Langkah pengambilan data spektra menggunakan spektrofotometer dijelaskan pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram Alir Pengambilan Spektra

3.3.4 Membuat dan Menguji Model

Model dibangun dan diuji berdasarkan data nilai intensitas fluoresensi yang telah diperoleh sebelumnya. Data intensitas fluoresensi dijadikan dasar dalam membangun model atau persamaan serta digunakan untuk pengujian model. Pembuatan dan pengujian model menggunakan metode PCA dan SIMCA pada perangkat lunak *The Unscrambler* versi 10.4.

3.4 Analisis Data

Data yang telah diperoleh hanya dapat diartikan jika pola sampel telah terdeteksi, pola sampel dideteksi dengan *The Unscrambler* versi 10.4. Pembangunan model kalibrasi dibuat menggunakan metode *principal component analysis* (PCA) dan metode *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA). Seluruh nilai intensitas fluoresensi dari sampel yang didapat dikumpulkan dalam satu file data *Microsoft Excel* lalu dianalisis menggunakan aplikasi *The Unscrambler* versi 10.4. Sampel yang akan digunakan dalam proses dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kalibrasi, validasi dan prediksi. Sampel kalibrasi digunakan pada tahap pembuatan model PCA, sampel validasi digunakan pada tahap validasi model yang telah dibangun dan sampel prediksi digunakan pada pengujian model. Kemudian hasil klasifikasi yang diperoleh dari pengujian model dihitung menggunakan matriks konfusi.

3.4.1 *Principal Component Analysis* (PCA)

Data nilai intensitas fluoresensi yang diambil dari *UV-Vis Spectroscopy* fluoresensi berasal dari sampel madu monoflora *Acacia mangium* lebah tanpa sengat *Heterotrigona itama* murni dan yang telah dicampur dengan HFCS. Setelah diperoleh data intensitas fluoresensinya lalu data tersebut dikumpulkan menjadi satu dalam file *Microsoft Excel*. Kemudian data dalam file *Microsoft Excel* tersebut dianalisis menggunakan aplikasi *The Unscrambler version 10.4* (Sukarye, 2018).

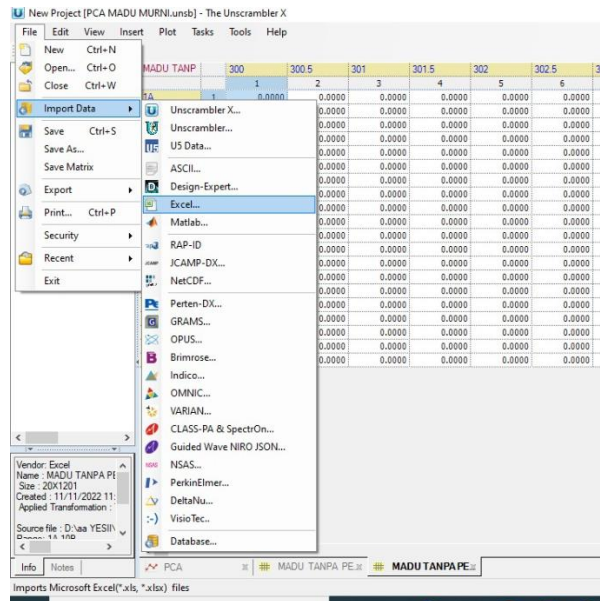
Analisis Komponen Utama (*Principal Component Analysis*) merupakan analisis *multivariate* yang mentransformasi variabel-variabel asal yang saling berkorelasi menjadi variabel-variabel baru yang tidak saling berkorelasi dengan mereduksi sejumlah variabel tersebut sehingga dimensinya menjadi lebih kecil namun dapat menerangkan sebagian besar keragaman variabel aslinya (Rumus Statistik, 2021).

Banyaknya komponen utama yang terbentuk sama dengan banyaknya variabel asli. Pereduksian (penyederhanaan) dimensi dilakukan dengan kriteria persentase keragaman data yang diterangkan oleh beberapa komponen utama pertama. Jika beberapa komponen utama pertama telah menerangkan lebih dari 75% keragaman data asli, maka analisis cukup dilakukan sampai dengan komponen utama tersebut (Rumus Statistik, 2021).

Unscrambler merupakan aplikasi yang dirancang sebagai alat bantu dalam menganalisis data multivariat termasuk data spektra yang berasal dari pengukuran spektrometer (*NIR spectroscopy*, *UV-Visible spectroscopy*, *Mid Infrared spectroscopy*, *Terahertz spectroscopy* dan lainnya) (Suhandy & Yulia, 2019). PCA menjadi salah satu fitur proyeksi data yang disediakan dalam aplikasi *Unscrambler*.

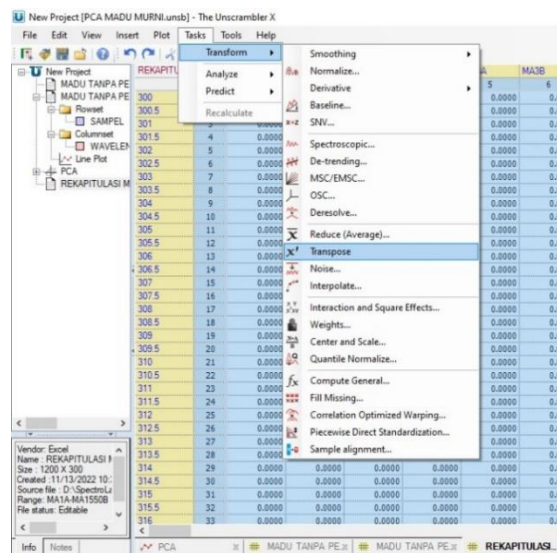
Untuk mengakses metode analisis PCA dengan perangkat lunak *Unscrambler* dilakukan dengan mengakses menu *Task – Analyze – Principal Component Analysis*. Semua data fluoresensi yang diperoleh sebelumnya dijadikan file *Microsoft Excel* versi 2019. Data tersebut akan diimpor ke perangkat lunak *Unscrambler* dan didefinisikan sebagai kategori yang akan diklasifikasikan. Tahap yang dijalankan adalah sebagai berikut:

1. Buka perangkat lunak *The Unscrambler* versi 10.4.
2. Mengimpor data, dengan cara klik menu File kemudian *import* data dengan format excel untuk mengambil file *Microsoft Excel* yang akan dianalisis. Adapun langkah dalam mengimpor data ditunjukkan oleh Gambar 11.



Gambar 11. Mengimport Data dari Microsoft Excel ke The Unscrambler 10.4

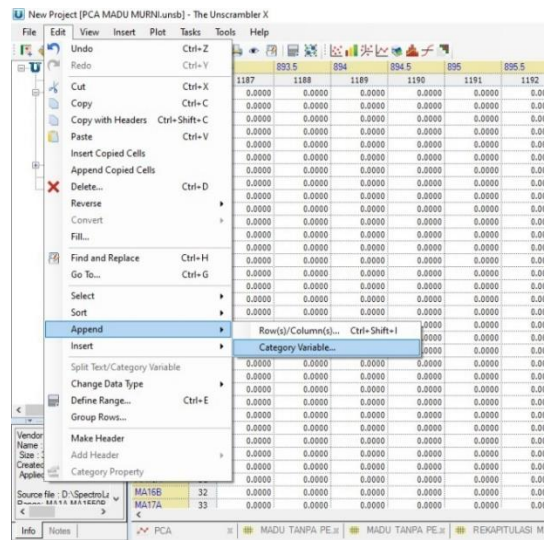
3. Men-transpose data, setelah data berhasil diimport dan tampil pada jendela The Unscrambler, langkah berikutnya adalah mentranspose data dengan langkah :
 - Klik menu *task*
 - Pilih fitur *transform*
 - Kemudian klik *transpose*. Langkah *transpose* dapat dilihat pada Gambar 12 berikut ini :



Gambar 12. Proses Transpose Data pada The Unscrambler 10.4

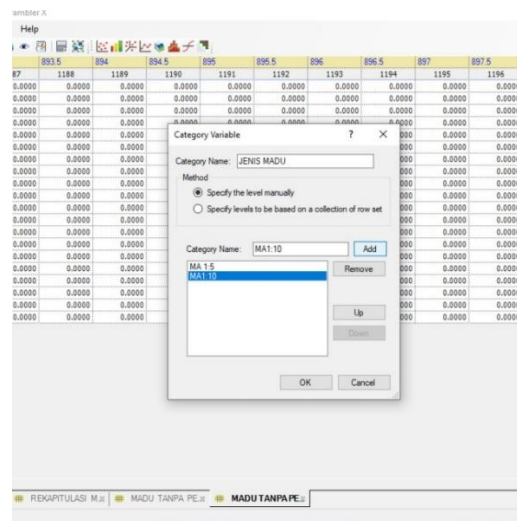
4. Menuliskan *Category Variable Name*, tahapnya yaitu pilih menu edit klik *Append* lalu pilih *Category Variable*, kemudian tuliskan kata “JENIS MADU”

pada *Category Variable Name*. Tahapan Langkah ini dijelaskan oleh Gambar 13 berikut :



Gambar 13. Proses Membuat Kolom *Category Variable*

5. Mengisi *Level Name*, tuliskan jenis madu yaitu madu uniflora *Heterotrigona* murni dan madu *Heterotrigona* campuran pada *Level Name*. Penjelasan pada Gambar 14 berikut.



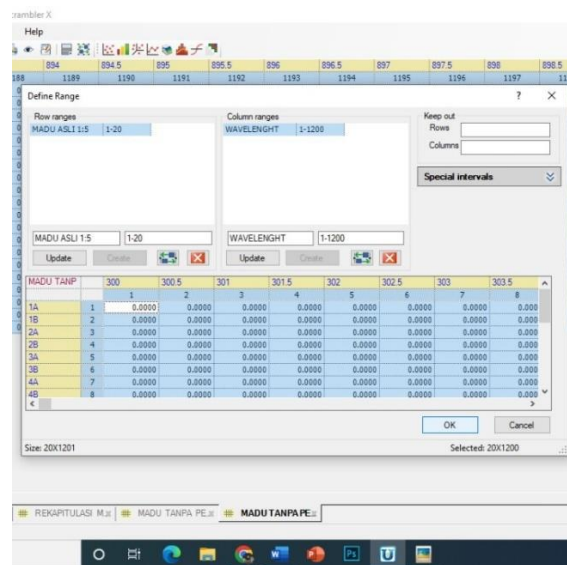
Gambar 14. Langkah Menambahkan *Level Name*

6. Diklik kolom JENIS MADU dan isi setiap baris sesuai jenis madu. Sebelum menganalisis data menggunakan PCA maka diawali dengan mengelompokan data berdasarkan kategori sampel dan variabel. Tahap yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Klik menu edit lalu pilih *define ranges*.
- Isi *rowset* dengan nama kalibrasi, validasi, dan prediksi dari jenis madu.

- Isi *column set* dengan jumlah *wavelength*.

Proses pada tahap ini ditunjukkan oleh Gambar 15.

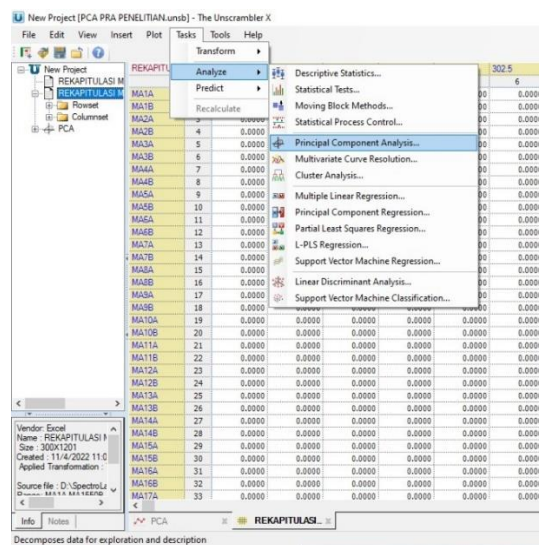


Gambar 15. Tahap *Define Ranges*

7. Menambahkan kolom *Category Variable*, kolom tersebut berisi kalibrasi, validasi, dan prediksi (KALVALPRED).

8. Menganalisis data dengan PCA, ini merupakan tahap inti dan dilakukan dengan :

- Pilih menu *Tasks*.
- Pilih *Analyze*.
- Pilih *Principal Component Analysis*. Proses tahap ini dijelaskan oleh Gambar 16 berikut :



Gambar 16. Langkah PCA pada *The Unscrambler 10.4*

3.4.2 Membangun Model Menggunakan Analisis Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)

Setelah hasil diskriminasi PCA diperoleh dan mendapatkan hasil yang baik, maka langkah berikutnya adalah membangun model dengan metode SIMCA (*soft independent modeling of class analogy*). SIMCA adalah Teknik analisis multivariat terawasi yang digunakan pada pengujian kekuatan diskriminasi dan klasifikasi sampel. SIMCA digunakan untuk menetapkan sampel ke dalam kelas yang tersedia dengan tepat. Dasar metode klasifikasi ini ada pada pembuatan model PCA untuk masing-masing kelas dan mengklasifikasikan setiap sampel pada masing-masing model PCA.

Hasil luaran yang diperoleh dari SIMCA berupa tabel klasifikasi yang menunjukkan setiap sampel masuk ke dalam golongan kelas mana setiap sampel itu sendiri, apakah masuk ke dalam satu kelas yang tepat, beberapa kelas, atau tidak terklasifikasikan ke dalam kelas manapun. Sampel madu yang digunakan untuk membuat model SIMCA dibagi menjadi 3 bagian yaitu untuk kalibrasi, validasi dan prediksi. Sampel kalibrasi merupakan sampel madu yang akan digunakan untuk membuat model SIMCA, sampel validasi digunakan untuk mengecek kembali model yang digunakan, dan sampel prediksi merupakan sampel madu yang akan digunakan untuk menguji model yang sudah dibuat dari sampel kalibrasi dan validasi.

3.4.3 Menguji Model Menggunakan Matriks Konfusi

Confusion matrix merupakan daftar berupa tabel hasil pengklasifikasian dari pengolahan suatu data dengan SIMCA. *Confusion matrix* berfungsi untuk menguji dan memprediksi objek yang tepat atau tidak. Matriks konfusi mempunyai sejumlah rumus keluaran yaitu akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan eror (Lavine *et al.*, 2009). Matrix konfusi pada penelitian ini digunakan untuk menguji model dengan menghitung nilai keluaran matriks konfusi. Matriks konfusi ditunjukkan pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Matriks Konfusi (Lavine *et al.*, 2009)

	Kelas A (aktual)	Kelas B (aktual)
Hasil model SIMCA A	a	b
Hasil model SIMCA B	c	d

Perhitungan:

1. Akurasi (AC) $= \frac{a + d}{a + b + c + d} \times 100\%$
2. Sensitivitas (S) $= \frac{d}{b + d} \times 100\%$
3. Spesifisitas (SP) $= \frac{a}{a + c} \times 100\%$
4. Error $= \frac{b+c}{a + b + c + d} \times 100\%$

Keterangan :

a : Sampel kelas A yang sudah sesuai kelasnya (*True Positive*)

b : Sampel kelas A yang tidak sesuai kelasnya (*False Positive*)

c : Sampel kelas B yang tidak sesuai kelasnya (*False Negative*)

d : Sampel kelas B yang sudah sesuai kelasnya (*True Negative*)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil penelitian membuktikan keberhasilan metode analisis spektroskopi UV-Vis fluoresensi portabel dan metode SIMCA dalam mengidentifikasi pemalsuan madu lebah *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* yang dicampur HFCS-55.
2. Model klasifikasi PCA yang dibangun dengan data spektra *original* menampilkan pola sampel pada *plot score* yang terpisah dengan cukup baik antara sampel MA dan sampel MC serta menghasilkan nilai varian PC-1 sebesar 72% dan nilai varian PC-2 sebesar 22%, secara kumulatif seluruh PC mampu menjelaskan varian data sebesar 94%. Sedangkan data hasil *pretreatment smoothing moving average 9 segment* menghasilkan pola sampel yang tidak jauh berbeda, menghasilkan nilai varian PC-1 sebesar 73% dan nilai varian PC-2 sebesar 22%, sehingga seluruh PC mampu menjelaskan varian data lebih baik jika dibandingkan dengan data *original*. Nilai kumulatif PC sebesar 95%.
3. Hasil *x-loading*, membentuk puncak gelombang pada 372 nm dan 478 nm, terbentuknya puncak gelombang ini diduga adanya pengaruh kuat dari respon flavonoid dan asam fenolik. Hal ini sesuai dengan fakta bahwa asam fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang terdapat pada madu dan bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan dalam madu.
4. Performansi model SIMCA dalam mengklasifikasi sampel yang dievaluasi dengan matriks konfusi, pada data *original* menghasilkan nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan eror secara berurutan yaitu, 72.2%; 70.6%;

100%; dan 22.8% serta memiliki model klasifikasi terbaik yang tergolong ke dalam *excellent classification* hanya pada level signifikansi 25%. Sedangkan data hasil *pretreatment smoothing moving average 9 segment* mendapatkan nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan eror secara berurutan yaitu 100%; 100%; 100%; dan 0% serta memiliki model klasifikasi data *pretreatment* yang tergolong ke dalam *excellent classification* pada level signifikansi 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10% dan 25%.

5.2 Saran

Saran dari penulis untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Melibatkan jenis madu premium lainnya, terutama madu dari lebah tidak bersengat (*stingless bee*).
2. Menggunakan jenis pencampur lain yang berpotensi menjadi bahan pemalsuan madu.
3. Menambahkan cuka jika menggunakan madu dari spesies *Trigona*. Penambahan cuka bertujuan untuk mereplika rasa asam madu dari lebah *Trigona spp.*
4. Menggunakan metode klasifikasi lain seperti PLS-DA dan LDA.
5. Mengatur jarak yang tepat antara lampu dengan sampel yang akan diambil intensitas fluoresensinya menggunakan spektroskopi fluoresensi. Hal ini bertujuan untuk mengurangi *noise* pada hasil pengukuran spektra intensitas fluoresensi yang didapatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd Jalil, M. A., Kasmuri, A. R., & Hadi, H. (2017). Stingless Bee Honey, the Natural Wound Healer: A Review. *Skin Pharmacology and Physiology*, 30(2), 66–75. <https://doi.org/10.1159/000458416>
- Achyani, & Wicandra, D. (2019). *Kiat Praktis Budidaya Lebah Trigona (Heterotrigona itama)*. CV. Laduny Alifatama.
- Afriliah, N., Taurina, W., & Andrie, M. (2022). *Karakterisasi Simplisia Madu Kelulut (Heterotrigona itama) Sebagai Bahan Baku Sediaan Obat Penyembuhan Luka*. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i3.20969>
- Aljadi, A. M., & Kamaruddin, M. Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00596-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00596-4)
- Alvarez-Suarez, J., Tulipani, S., Romandini, S., Vidal, A., & Battino, M. (2009). Methodological Aspects about Determination of Phenolic Compounds and In Vitro Evaluation of Antioxidant Capacity in the Honey: A Review. *Current Analytical Chemistry*, 5(4), 293–302. <https://doi.org/10.2174/157341109789077768>
- Ardiansyah, R. F. (2013). *Pengenalan Pola Tanda Tangan dengan Menggunakan Metode Principal Component Analysis (PCA)* [Skripsi]. Universitas Dian Nuswantoro.
- Asriani, F., & Minarni. (2015). Analisa Pengaruh Panjang Gelombang Sumber Cahaya Penginduksi Fluoresensi Terhadap Fluoresensi Klorofil pada Daun Bayam yang Dipengaruhi Variasi Sinar Matahari. *Komunikasi Fisika Indonesia*, 12(10), Article 10. <https://doi.org/10.31258/jkfi.12.10.629-636>
- Avila, S., Beux, M. R., Ribani, R. H., & Zambiasi, R. C. (2018). Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.002>
- Balai Teknologi Polimer. (2020). *Pengujian Sampel Polimer dengan Alat UV-VIS*. <https://polimer.bppt.go.id/id/berita-dan-artikel/artikel/pengujian-dengan-alat-uv-vis>

- Baroni, Veronica, M., & Nores. (2006). Determination of Volatile Organic Compound Patterns Characteristic of Five Unifloral Honey by Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry Coupled to Chemometrics. *Food Chem Journal*, 54, 7235–7241.
- Bogdanov, S. (2011). *Functional and Biological Properties of the Bee Products: A Review I Functional and Biological Properties of the Bee Products: A Review*. www.bee-hexagon.net
- Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., & Pérez-Coello, M. S. (2006). Volatile Composition and Contribution to the Aroma of Spanish Honeydew Honeys. Identification of a New Chemical Marker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4809–4813.
<https://doi.org/10.1021/jf0604384>
- Citrasari, D. (2015). *Penentuan Adulterasi Daging Babi pada Nugget Ayam Menggunakan NIR dan Kemometrik* [Skripsi]. Universitas Jember.
- Codex Alimentarius Commission. (2001). *Revised Standards for Honey* (Patent No. Codex Standard 12-198).
- da Silva, I. A. A., da Silva, T. M. S., Camara, C. A., Queiroz, N., Magnani, M., de Novais, J. S., Soledade, L. E. B., Lima, E. de O., de Souza, A. L., & de Souza, A. G. (2013). Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. *Food Chemistry*, 141(4), 3552–3558.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.072>
- da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Food Chem*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- F. G. Winarno. (2020). *Panduan Analisis Kemurnian Madu*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Fadhilah, R., & Rizkika, K. (2015). *Laba Lebah Tanpa Sengat*. PT Trubus Swadaya.
- Felim, J. (2021). *Kajian Litelatur Deteksi Adulteran pada Madu dengan Analisis FTIR* [Skripsi]. Universitas Katolik Soegijapranata.
- Firmansyah, R. (2019). *Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Identifikasi Madu Lebah Hutan (Apis dorsata) Berdasarkan Sumber Nektar* [Skripsi]. Universitas Lampung.
- Garedew, A., Schmolz, E., dan Lamprecht, I. (2003). The antimicrobial activity of honey of the stingless bee *Trigona* spp. *Journal of Apicultural*

Science, 47(1), 37–48.

- Granite. (n.d.). *Jablonski Diagram / What is it?* Edinburgh Instruments. Retrieved January 10, 2023, from <https://www.edinst.com/us/blog/jablonski-diagram/>
- Harjanto, S., Mujiyanto, M., & Ramlan, A. (2020). *Budidaya Lebah Madu Kelulut Sebagai Alternatif Mata Pencaharian Masyarakat*.
- Hartono, P. (2021). *Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Diskriminasi Madu Kelengkeng dan Madu Karet PT Madu Pramuka [Skripsi]*. Universitas Lampung.
- Himawan, A. B. (2022). *Studi Pencampuran Madu Tidak Bersengat (Tetrigona apicalis) dengan Sirup Jagung HFCS 55 Menggunakan UV-Vis Spektroskopi dan Metode SIMCA [Skripsi]*. Universitas Lampung.
- Iglesias, M. T., de Lorenzo, C., Polo, M. del C., Martín-Álvarez, P. J., & Pueyo, E. (2004). Usefulness of Amino Acid Composition To Discriminate between Honeydew and Floral Honeys. Application to Honeys from a Small Geographic Area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 84–89. <https://doi.org/10.1021/jf030454q>
- Jaya, F. (2016). *Produk-Produk Lebah dan Hasil Olahannya*. UB Press.
- Jull, A., Walker, N., Parag, V., Molan, P., & Rodgers, A. (2008). Randomized clinical trial of honey-impregnated dressings for venous leg ulcers. *British Journal of Surgery*, 95(2), 175–182. <https://doi.org/10.1002/bjs.6059>
- Kakkar, S., & Bais, S. (2014). A review on protocatechuic Acid and its pharmacological potential. *ISRN Pharmacology*, 2014, 952943. <https://doi.org/10.1155/2014/952943>
- Kaligis, M., & Mokosuli, Y. (2022). Characteristics and Flavonoid Content of Honey Apis dorsata Binghami from The Manembo Forest of South Minahasa. *Jurnal Biologi Tropis*, 22. <https://doi.org/10.29303/jbt.v22i4.4247>
- Kasprzyk, I., Depciuch, J., Grabek-Lejko, D., & Parlinska-Wojtan, M. (2018). FTIR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey. *Food Control*, 84, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.015>
- Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Tan, S. W., & Chua, L. S. (2014). Total Phenolic Contents and Colour Intensity of Malaysian Honeys from the Apis spp. And Trigona spp. Bees. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.022>
- Lavine, B. K., Walczak, B., Tauler, R., & Brown, S. (2009). Comprehensive Chemometric: Chemical and Biochemical Data Analysis. *Validation of Classifiers*, 587–599.

- Lemboumba, S. O. (2006). *Laser Induced Chlorophyll Fluorescence of Plant Material* [Thesis]. University of Stellenbosch.
- Mahani, Savitri, S., & Subroto, E. (2022). Hubungan Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Berbagai Provinsi di Indonesia. *J. Sains Dan Teknologi Pangan (JSTP)*, 7, 5255–5268.
- Martins, R. C., Lopes, V. V., Valentao, P., Carvalho, J. C. M. F., Isabel, P., Amaral, M. T., Batista, M. T., Andrade, P. B., & Silva, B. M. (2008). Relevant principal component analysis applied to the characterisation of Portuguese heather honey. *Natural Product Research*, 22(17), 1560–1582. <https://doi.org/10.1080/14786410701825004>
- Marudova, M., Eftimov, T., Nikolova, K., Bodurov, I., Vlaeva, I., Grancharova, C., & Yovcheva, T. (2013). Advanced Physics Methods for Honey's Quality Estimation. *International Scientific-Practical Conference, Food, Technologies and Health 2013, Plovdiv, Bulgaria, 7-8 November 2013*, 208–213.
- Mehretie, S., Al Riza, D. F., Yoshito, S., & Kondo, N. (2018). Classification of raw Ethiopian honeys using front face fluorescence spectra with multivariate analysis. *Food Control*, 84, 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.024>
- Michener, C. D. (2013). *The Meliponini. Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees* (eds. P. Vit, R.M. Pedro & D.W. Roubik), pp. 3 – 17. Springer.
- Moermanto. (1986). Tinjauan tentang Quality Control pada Industri Madu. In Perum Perhutani (Ed.), *Prosiding Lokakarya Pembudidayaan Lebah Madu untuk Peningkatan Kesejahteraan Masyarakat*. Perum Perhutani.
- Nascimento, A., Marchini, L., Carvalho, C., Araújo, D., Olinda, R., & Silveira, T. (2015). Physical-Chemical Parameters of Honey of Stingless Bee (Hymenoptera: Apidae). *American Chemical Science Journal*, 7(3), 139–149. <https://doi.org/10.9734/ACSJ/2015/17547>
- Nayik, A. G., & Nanda, V. (2015). Physico-Chemical, Enzymatic, Mineral and Colour Characterization of Three Different Varieties of Honey from Khasmir Valley of India with a Multivariate Approach. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65(2), 101–108. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0022>
- Nelli. (2004). Waktu Pencarian Serbuk Sari Lebah Pekerja Trigona sp (Apidae: Hymenoptera). *Institut Pertanian Bogor*.
- Nurchahyo, B. (2015). *Identifikasi dan Autentikasi Meniran (Phyllanthus Niruri) Menggunakan Spektrum Ultraviolet Tampak dan Kemometrika* [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Nweze, J. A., Okafor, J. I., Nweze, E. I., & Nweze, J. E. (2017). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: A

- comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka, Nigeria. *BMC Research Notes*, 10(1), 566. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2884-2>
- Parker, K., Salas, M., & Nwosu, V. C. (2010). *High Fructose Corn Syrup: Production, Uses and Public Health Concerns*.
- Piotraszewska-Pająk, A., & Gliszczynska-Swiglo, A. (2015). Directions of Colour Changes of Nectar Honeys Depending on Honey Type and Storage Conditions. *Journal of Apicultural Science*, 59(2), 51–61. <https://doi.org/10.1515/jas-2015-0019>
- Prabowo, S., Yuliani, Prayitno, A. Y., Lestari, K., & Kusesvara, A. (2019). Penentuan Karakteristik Fisiko-Kimia Beberapa Jenis Madu Menggunakan Metode Konvensional Dan Metode Kimia. *Journal of Tropical AgriFood*, 1(2), 66–73.
- Pratiwi, D. E., & Harjoko, A. (2013). *Implementasi Pengenalan Wajah menggunakan PCA (Principal Componen Analysis)*. FMIPA UGM.
- Rasmussen, C., & Cameron, S. A. (2009). Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal: STINGLESS BEE PHYLOGENY. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(1), 206–232. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01341.x>
- Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., & Jent, N. (2007). A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44(3), 683–700. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.03.023>
- Rohman, A., Gupitasari, I., Purwanto, P., Triyana, K., Rosman, A. S., Ahmad, S. A. S., & Yusof, F. M. (2014). Quantification of Lard in the Mixture with Olive Oil in Cream Cosmetics Based on FTIR Spectra and Chemometrics for Halal Authentication. *Jurnal Teknologi*, 69(1), Article 1. <https://doi.org/10.11113/jt.v69.2062>
- Rumus Statistik. (2021). *Analisis Komponen Utama (Principal Component Analysis)*. Rumus Statistik. <https://www.rumusstatistik.com/2015/03/analisis-komponen-utama-principal.html>
- Sarwono. (2001). *Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Lebah Madu*. PT. Agro Media Pustaka.
- Siddiqui, A. J., Musharraf, S. G., Choudhary, M. I., & Rahman, A.-. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry*, 217, 687–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.001>
- Sihombing. (2005). *Ilmu Ternak Lebah Madu*. Gadjah Mada University Press.

- Subagyo. (2008). *Forecasting Konsep dan Aplikasi*.
- Suhandy, D., & Yulia, M. (2019). *Tutorial Analisis Data Spektra menggunakan The Unscrambler*. Graha Ilmu.
- Sukarye, K. (2018). *Studi Penggunaan Uv- Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Membedakan Kopi Bubuk Berdasarkan Umur Simpan (Skripsi)*. Universitas Lampung.
- Sulieman, A. M. E., Abdelhmied, B. A., & Salih, Z. A. (2013). Quality Evaluation of Honey Obtained from Different Sources. *Food and Public Health*, 3(3), 137–141.
- Sumarlin, L. O., Suprayogi, A., Rahminiwati, M., Tjahja, A., & Sukandar, D. (2015). Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Namnam Serta Kombinasinya dengan Madu Trigona. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 26(2), Article 2. <https://doi.org/10.6066/jtip.2015.26.2.144>
- Syafrizal, S. (2014). *Keragaman dan Habitat Lebah Trigona pada Hutan Sekunder Tropis Basah di Hutan Pendidikan Lempake, Samarinda, Kalimantan Timur*. <http://repository.unmul.ac.id/handle/123456789/17501>
- Syaifuddin, S., Fauzi, H., & Satriadi, T. (2021). Produksi Madu Kelulut (*Trigona itama*) pada Dua Tipe Pola Agroforestri Pakan Lebah yang Berbeda (Studi di Desa Mangkauk dan Kelurahan Landasan Ulin Utara. *Jurnal Sylva Scientiae*, 4(5), Article 5. <https://doi.org/10.20527/jss.v4i5.4198>
- Vercellis, C. (2019). *Business Intelligence: Data Mining and Optimization for Decision Making | John Wiley*. Wiley.Com. <https://www.wiley.com/en-us/Business+Intelligence%3A+Data+Mining+and+Optimization+for+Decision+Making-p-9780470511381>
- White, J. W. (1978). *Honey Advances in food research*.
- White, J. W. (1977). *Specific Determination of Sucrose in Honey*. <https://academic.oup.com/jaoac/article-abstract/60/3/669/5710159>
- Yuwei, W., & Lin, L. Y. (2019). *Heterotrigona itama—Stingless Bee—Taxo4254—Wiki.nus*. <https://wiki.nus.edu.sg/display/TAX/Heterotrigona+itama+-+Stingless+Bee>
- Zahrok, H. (2019). *Studi Penggunaan Metode Analisis Berbasis UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Membedakan Kopi Codot Murni dan Kopi Codot Campuran [Skripsi]*. Univesitas Lampung.