STUDI PENCAMPURAN MADU LEBAH TIDAK BERSENGAT (*Tetrigona apicalis*) DENGAN PEMANIS HFCS 55 DAN SIRUP BERAS MENGGUNAKAN UV-VIS SPEKTROSKOPI TIPE *BENCHTOP* DAN METODE SIMCA

(SKRIPSI)

Oleh

MUHAMMAD KHOLIS



JURUSAN TEKNIK PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023

ABSTRAK

STUDI PENCAMPURAN MADU LEBAH TIDAK BERSENGAT (Tetrigona apicalis) DENGAN PEMANIS HFCS 55 DAN SIRUP BERAS MENGGUNAKAN UV-VIS SPEKTROSKOPI TIPE BENCHTOP DAN METODE SIMCA

Oleh

MUHAMMAD KHOLIS

Indonesia memiliki sumberdaya alam yang melimpah salah satunya yaitu hutan tropis yang memiliki keanekaragaman hayati di dalamnya salah satunya adalah madu. Madu *Tetrigona apicalis* dihasilkan oleh lebah tidak bersengat yang memiliki kandungan dan khasiat yang sangat baik untuk kesehatan serta produksinya yang rendah yaitu kurang lebih 1 kg pertahun. Hal ini, menjadikan madu ini memiliki harga jual yang tinggi. Sehingga banyak oknum yang melakukan pemalsuan terhadap keaslian madu *Tetrigona apicalis* yang dicampur dengan pemanis buatan berupa HFCS dan sirup beras. Penelitian ini menggunakan UV-Vis spektroskopi tipe *Benchtop* dan metode SIMCA untuk mengidentifikasi keaslian madu *Tetrigona apicalis* yang dicampur dengan HFCS dan sirup beras.

Sampel yang digunakan berjumlah 180 sampel yaitu, 20 sampel Tetrigona apicalis asli (MA), 120 sampel Tetrigona apicalis campuran (MC), 20 sampel HFCS dan 20 sampel sirup beras. Sebelum dilakukan pengambilan spektra, beberapa yang harus dilakukan yaitu pemanasan madu, pencampuran dengan sirup jagung, pengenceran, pengadukan, kemudian dilakukan pengambilan spektra menggunakan UV-Vis spektroskopi tipe Benchtop dan membuat model serta mengujinya dengan metode PCA dan SIMCA. Hasil pengujian PCA menggunakan data *original* diperoleh jumlah nilai PC-1 dan PC-2 sebesar 99%. Hasil PCA terbaik diperoleh dengan cara perbaikan spektra menggunakan pretreatment smoothing moving average 9 segment dengan jumlah nilai PC-1 dan PC-2 sebesar 99%. Kemudian, hasil klasifikasi model SIMCA MA dan MC diperoleh nilai akurasi, sensitivitas, dan spesifisitas masing-masing 100% dan eror rate sebesar 0%. Berdasarkan hubungan analisis spesifisitas dan sensitivitas yang disajikan dalam bentuk kurva ROC, hasil klasifikasi MA dan MC dikategorikan sebagai excellent classification karena titik koordinat pada kurva ROC tepat pada koordinat 0,1.

Kata kunci: Madu $Tetrigona\ apicalis$, UV-Vis spektroskopi, HFCS, sirup beras, PCA, SIMCA .

ABSTRACT

STUDY OF MIXING HONEY OF STINGLESS BEES (*Tetrigona apicalis*) WITH HFCS 55 SWEETENER AND RICE SYRUP USING BENCHTOP TYPE UV-VIS SPECTROSCOPY AND THE SIMCA METHOD

By

MUHAMMAD KHOLIS

Indonesia has abundant natural resources, one of which is tropical forests which have biodiversity in them, one of which is honey. *Tetrigona apicalis* honey is produced by stingless bees which have very good ingredients and properties for health and low production, which is approximately 1 kg per year. This, makes this honey has a high selling price. So that many people fake the authenticity of *Tetrigona apicalis* honey which is mixed with artificial sweeteners in the form of HFCS and rice syrup. This study used Benchtop type UV-Vis spectroscopy and the SIMCA method to identify the authenticity of Tetrigona apicalis honey mixed with HFCS and rice syrup.

The samples used were 180 samples, namely, 20 samples of original Tetrigona apicalis (MA), 120 samples of mixed Tetrigona apicalis (MC), 20 samples of HFCS and 20 samples of rice syrup. Before taking the spectra, several things had to be done, namely heating the honey, mixing it with corn syrup, dilution, stirring, then taking the spectra using Benchtop type UV-Vis spectroscopy and making a model and testing it with the PCA and SIMCA methods. The PCA test results using the original data obtained the sum of the PC-1 and PC-2 values of 99%. The best PCA results were obtained by improving the spectra using a 9 segment smoothing moving average pretreatment with a total PC-1 and PC-2 value of 99%. Then, the results of the SIMCA MA and MC model classification obtained accuracy, sensitivity, and specificity values of 100% each and an error rate of 0%. Based on the relationship between specificity and sensitivity analysis presented in the form of the ROC curve, the results of the MA and MC classification are categorized as an excellent classification because the coordinate point on the ROC curve is at the coordinate 0.1.

Keywords: *Tetrigona apicalis* honey, UV-Vis spectroscopy, HFCS, rice syrup, PCA, SIMCA

STUDI PENCAMPURAN MADU LEBAH TIDAK BERSENGAT (Tetrigona apicalis) DENGAN PEMANIS HFCS 55 DAN SIRUP BERAS MENGGUNAKAN UV-VIS SPEKTROSKOPI TIPE BENCHTOP DAN METODE SIMCA

Oleh

Muhammad Kholis

Skripsi

Sebagai salah satu syarat mencapai gelar SARJANA TEKNIK

Pada

Jurusan Teknik Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung



FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2023 Judul Skripsi

: STUDI PENCAMPURAN MADU LEBAH TIDAK

BERSENGAT (Tetrigona apicalis) DENGAN

PEMANIS HFCS 55 DAN SIRUP BERAS

MENGGUNAKAN UV-VIS SPEKTROSKOPI TIPE

BENCHTOP DAN METODE SIMCA

Nama Mahasiswa

: Muhammad Kholis

No. Pokok Mahasiswa

: 1954071017

Jurusan

: Teknik Pertanian

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

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

NIP. 197803032001121001

Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr. Sc

NIP. 197905142008122001

We'll

2. Ketua Jurusan Teknik Pertanian

Dr. Ir. Sandi Asmara, M.Si. NIP. 196210101989021002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Prof. Dr.Agr.Sc. Diding Suhandy, S.TP., M.Agr

Sekretaris

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

Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Warji, S.T.P., M.Si., IPM.

ekan Fakultas Pertanian

Irwan Sukri Banuwa, M.Si. 6201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 06 September 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Muhammad Kholis dengan NPM 1954071017, dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya saya yang dibimbing oleh Komisi Pembimbing, 1) Prof. Dr. Agr. Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr. dan 2) Meinilwita Yulia, S.T.P., M.Agr. Sc. 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, 10 Oktober 2023 Yang membuat pernyataan,

NPM. 1954071017

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kresno Widodo, Kecamatan Tegineneng, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung pada tanggal 28 Oktober 2000. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Ribut Santoso dan Ibu Komsatun. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Kresnowidodo dan lulus pada tahun 2013.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 2 Tegineneng yang saat ini berubah nama menjadi SMP Negeri 11 Pesawaran dan lulus pada tahun 2016 serta pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 1 Tegineneng pada tahun 2019.

Tahun 2019, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMMPTN Barat). Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam Persatuan Mahasiswa Teknik Pertanian (PERMATEP) sebagai Anggota Biasa periode 2019-2020 dan pernah menjabat sebagai Staf Ahli Badan Kajian Dewan Perwakilan Mahasiswa Universitas Lampung (DPM UNILA) tahun 2020/2021.

Pada tanggal 05 Januari sampai 11 Februari 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode 1 tahun 2023 di Desa Pakuan Sakti, Kecamatan Pakuan Ratu, Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung selama 40 hari. Kemudian, pada bulan Juni sampai Agustus 2022, penulis melakukan kegiatan Praktik Umum (PU) di Brigade Alat Mesin Pertanian Provinsi Lampung dengan judul "Mempelajari Perawatan Traktor ISEKI NT-Series 540F di Brigade Alat Mesin Pertanian Tegineneng Provinsi Lampung".

Rersembahan

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, serta kesehatan, kemudahan dan kelancaran dalam setiap langkah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini

Karya ini ku persembahkan untuk:

Kedua Orang Tua

Ayahku Ribut Santoso dan Ibuku Komsatun yang telah selalu mengupayakan segala yang dimiliki baik berupa materi,tenaga, pikiran serta doa demi keberhasilanku

Keluargaku

Adikku Durrotun Nafisah dan Kakek dan Nenekku serta keluarga besarku yang selalu memberikan doa, dukungan, dan semangat yang tiada henti.

Serta

"Kepada Almamater Tercinta"

Teknik Pertanian Universitas Lampung 2019

SANWANCANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini. Sholawat dan salam
semoga selalu tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW. yang
kita nantikan syafaat nya di akhirat kelak. Skripsi dengan judul "Studi
Pencampuran Madu Lebah Tidak Bersengat (*Tetrigona apicalis*) Dengan
Pemanis Buatan HFCS 55 dan Sirup Beras Menggunakan UV-Vis
Spektroskopi Tipe *Benchtop* dan Metode SIMCA" merupakan salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik (S.T.) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak terjadi kesalahan dan kekurangan. Sehingga penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih atas bantuan semua pihak yang telah memberikan bantuan, doa, dukungan dan bimbingan serta arahan dalam penyelesaian skripsi ini. Ucapan terima kasih saya ucapkan kepada:

- 1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian yang telah membantu dalam administrasi skripsi.
- 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.TP., M.Agr., selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Pembimbing Akademik (PA) penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Teknik Pertanian, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, menyemangati dan memberikan saran dalam proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
- 4. Ibu Meinilwita Yulia, S.TP., M.Agr. Sc. selaku pembimbing kedua penulis yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan arahan dalam

- menyelesaikan skripsi ini, serta motivasi dan dorongannya selama penulis menempuh pendidikan ini.
- 5. Bapak Dr. Ir. Warji, S.T.P., M.Si., IPM., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan masukan sebagai perbaikan selama penulis menyusun skripsi ini.
- Seluruh Dosen dan Staff Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian,
 Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pengalamannya.
- Kedua orang tuaku Bapak Ribut Santoso dan Ibu Komsatun, Adikku Durrotun Nafisah, serta seluruh keluarga besar atas semua doa, kasih sayang, dukungan dan nasihat yang telah diberikan. Terima kasih banyak.
- 8. Sahabatku, teman kosku, teman seperjuangan Gerald Squad yang telah memberikan bantuan, motivasi, dan dukungannya.
- 9. Muhammad Jakarya Harahap dan Dedi Hermawan selaku Komti Wakomti Teknik Pertanian angkatan 2019.
- 10. Teman-teman seperjuangan skripsi Ainun, Dicky, Dimas, Wahyudi dan Yesi atas kerja samanya selama penelitian berlangsung.
- 11. Kelompok KKN UNILA 2023 Periode I Desa Pakuan Sakti, Kabupaten Way Kanan serta masyarakat Pakuan Sakti terutama aparatur dan perangkat desa.
- 12. Teman-teman seperjuangan Teknik Pertanian 2019 yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuannya selama menempuh pendidikan.
- 13. Terakhir namun bukan yang akhir, saya ingin berterima kasih kepada diri saya sendiri, karena sudah percaya dengan diri sendiri, untuk melakukan kerja keras ini, untuk tidak pernah berhenti, dan terima kasih karena sudah menjadi diri saya setiap saat.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan Bapak, Ibu, serta rekan-rekan yang telah membantu, dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat di masa yang akan datang. Aamiin.

Bandarlampung, 10 Oktober 2023

Muhammad Kholis NPM, 1954071017

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvi
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 Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Madu	7
2.2 Lebah <i>Trigona</i>	8
2.3 Jenis Madu	10
2.4 Kandungan Madu	11
2.5 Manfaat dan Khasiat Madu	12
2.6 Sirup Jagung (HFCS)	13
2.7 Sirup Beras	14
2.8 UV-Vis Spektroskopi	15
2.9 Metode Kemometrika	17
2.9.1 Principal Component Analysis (PCA)	17
2.9.2 Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)	18
2.9.3 Matrik Konfusi (Confusion Matrix)	19
2.9.4 Pretreatment	21
III. METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Waktu dan Tempat	24
3.2 Alat dan Rahan	24

3.3 Prosedur Penelitian	24
3.4 Persiapan Alat dan Bahan	25
3.5 Pembuatan Larutan	26
3.5.1 Pemanasan Pemanis Buatan (Sirup Jagung dan Sirup Beras)	26
3.5.2 Persiapan Madu	26
3.5.3 Pencampuran Madu dengan Pemanis Buatan	27
3.5.4 Pengenceran Sampel	27
3.5.5 Pengadukan Sampel	28
3.5.6 Persiapan Sampel	28
3.6 Pengambilan Spektra Menggunakan Spektrometer	30
3.7 Membuat dan Menguji Model	32
3.8 Analisis Data	32
3.8.1 Principal Component Analysis (PCA)	33
3.8.2 Membuat Model Menggunakan Analisis Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)	•
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Analisis Spektra Madu Tetrigona apicalis Asli dan Campuran	44
4.1.1 Analisis Spektra Madu <i>Tetrigona apacalis</i> Asli dan Campuran Menggunakan Data Spektra <i>Original</i>	46
4.1.2 Analisis Spektra Madu <i>Tetrigona apicalis</i> Asli dan Campuran Menggunakan Data Spektra <i>Pretreatment Smoothing Moving Average Segment</i>	
4.2 Hasil Principal Component Analysis (PCA)	52
4.2.1 Hasil PCA Terhadap Data <i>Original</i> pada Panjang Gelombang 190-1100 nm)
4.2.2 Hasil PCA Terhadap Data Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment pada Panjang Gelombang 190-1100 nm	56
4.3 Model Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA) pada Panjang Gelombang 190-1100 nm	59
4.3.1 Hasil Model SIMCA Menggunakan Data Original	60
4.3.2 Hasil Model SIMCA Menggunakan Data Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment	62
4.4 Klasifikasi Menggunakan Sampel Baru (sampel prediksi)	64
4.4.1 Klasifikasi Menggunakan Data Original	64
4.4.2 Klasifikasi Menggunakan Data Data Pretreatment Smoothing Moving	r
Average 9 Segment	65
4.5 Cooman's Plot	66
4.5.1 Cooman's Plot Menggunakan Data Original	66

LAMPIRAN	. 7 9
DAFTAR PUSTAKA	. 75
5.2 Saran	. 74
5.1 Kesimpulan	. 73
V. KESIMPULAN DAN SARAN	. 73
4.6.2 Kurva ROC Menggunakan Data Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment	. 70
4.6.1 Kurva ROC Menggunakan Data Original	. 69
4.6 Kurva Receiver Operating Characteristic (ROC)	. 68
4.5.2 Cooman's plot Menggunakan Data Pretreatment Smoothing Moving Average 9 Segment	

DAFTAR GAMBAR

	Hala	aman
Gambar	1. Madu Tetrigona apicalis	8
	2. Bentuk tubuh lebah <i>Trigona</i> secara umum	
Gambar	3. Koloni lebah <i>Tetrigona apicalis</i>	9
Gambar	4. Sirup jagung (HFCS 55%)	13
	5. Sirup beras (RMS)	
Gambar	6. Prinisip kerja UV-Vis Spektroskopi	16
Gambar	7. Diagram alir prosedur penelitian	25
	8. Pemanasan sirup jagung	
Gambar	9. Pencampuran madu dengan pemanis buatan	27
Gambar	10. Pengenceran madu dengan aquades	28
Gambar	11. Pengadukan sampel	28
	12. Diagram alir persiapan bahan (Firmansyah, 2019)	
	13. Diagram alir pengambilan spektra (Firmansyah, 2019)	
	14. Proses pengambilan spektra	
	15. Penggabungan data absorbansi dalam bentuk <i>exce</i> l	
Gambar	16. Proses <i>import</i> data gabungan ke dalam <i>unscrambler</i>	34
	17. Proses <i>transpose</i> data	
Gambar	18. Proses pembuatan <i>category variable</i> sesuai dengan kadar	
	pencampurannya	35
Gambar	19. Proses pengisian <i>level name</i>	35
Gambar	20. Pengelompokan sampel sesuai jenisnya	36
Gambar	21. Membuat kolom Kalibrasi, Validasi dan Prediksi setiap sampel.	37
Gambar	22. Pengisian Kalibrasi, Validasi dan Prediksi setiap sampel setiap	
	sampel	37
Gambar	23. Proses define range	38
Gambar	24. Proses pengelompokan sampel Kalibrasi, Validasi dan Prediksi	
	setiap sampel	38
Gambar	25. Proses analisis PCA	39
Gambar	26. Submenu model input	39
Gambar	27. Submenu weight	40
Gambar	28. Submenu validation	40
Gambar	29. Submenu algorithm	40
Gambar	30. Hasil analisis menggunakan PCA	41
	31. Tabel klasifikasi MA dan MC	
Gambar	32. Cooman's plot	43
	33. Perbedaan warna madu asli dan madu campuran (10%-60%)	

Gambar	34. Grafik nilai rata-rata spektra <i>original</i> MA, MC 10%-MC 60%, HFCS dan sirup beras	. 46
Gambar	35. Grafik nilai rata-rata spektra <i>pretreatment smoothing moving</i>	
	average 9 segment MA, MC 10%-MC 60%, HFCS dan	
	sirup beras	50
Gambar	36. Perbedaan <i>noise</i> sepktra data <i>original</i> dan <i>pretreatment smoothing</i>	
O WILLIO WIL	moving average 9 segment	
Gambar	37. Hasil <i>plot score</i> PCA data <i>original</i> terhadap MA dan MC dengan	, , ,
O WILLIO WIL	level pencampuran yang berbeda	52.
Gambar	38. Hasil <i>plot score</i> PCA data <i>original</i> terhadap MA dan MC	
	39. Grafik <i>x-loading</i> PC-1 dan PC-2 data <i>original</i>	
	40. Hasil plot score PCA data pretreatment smoothing moving average	
Gumour	segment terhadap MA dan MC dengan level pencampuran yang	0)
	berbeda	56
Gambar	41. Hasil plot score PCA data pretreatment smoothing moving averag	
O WILLIO WIL	segment terhadap MA dan MC	
Gambar	42. Grafik x-loading PC-1 dan PC-2 data pretreatment smoothing	
Guineur	moving average 9 segment	58
Gambar	43. Model SIMCA PC-1 dan PC-2 MA menggunakan data <i>original</i> pa	
Guineur	panjang gelombang 190-1100 nm	
Gambar	44. Model SIMCA MC menggunakan data <i>original</i> pada panjang	
O WILLIO WIL	gelombang 190-1100 nm	. 61
Gambar	45. Model SIMCA MA PC-1 dan PC-2 menggunakan data <i>pretreatme</i>	
O WILLIO WIL	smoothing moving average 9 segment pada panjang gelombang	
	190-1100 nm	. 62
Gambar	46. Model SIMCA MA PC-1 dan PC-3 menggunakan data <i>pretreatme</i>	
O WILLIO WIL	smoothing moving average 9 segment pada panjang gelombang	
	190-1100 nm	. 62
Gambar	47. Model SIMCA MC menggunakan data pretreatment smoothing	. 02
	moving average 9 segment pada panjang gelombang	
	190-1100 nm	. 63
Gambar	48. Cooman's plot hasil klasifikasi SIMCA MA dan MC data	
	original	. 67
Gambar	49. <i>Cooman's plot</i> hasil klasifikasi SIMCA MA dan MC data	
	pretreatment smoothing moving average 9 segment	. 68
Gambar	50. Kurva ROC klasifikasi MA dan MC menggunakan data <i>original</i>	
	51. Kurva ROC klasifikasi MA dan MC data pretreatment smoothing	
	moving average 9 segment	. 71
Gambar	52. Gelas <i>beaker</i>	
	53. UV-Vis Spektroskopi	
	54. Persiapan sampel	
	55. Gelas ukur	

DAFTAR TABEL

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagai negara yang beriklim tropis Indonesia memiliki sumber daya alam yang melimpah salah satunya yaitu hutan tropis. Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK) menyatakan luas hutan Indonesia secara hukum mencapai 120,5 juta hektare (Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2020). Dengan luas hutan tersebut terdapat keanekaragaman hayati yang tinggi di dalamnya, baik flora maupun fauna. Keanekaragaman ini termasuk jenis serangga. Lebah merupakan salah satu jenis serangga yang dapat menguntungkan dan membantu kehidupan manusia karena dapat menghasilkan madu. Lebah sebagai penghasil utama madu memilki banyak varietas, namun tidak semua lebah dapat menghasilkan. Lebah penghasil madu dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu lebah bersengat (*Apis*) dan lebah tidak bersengat (*Trigona sp.*)

Madu merupakan bahan alami yang sangat baik untuk kesehatan karena mengandung banyak manfaat terlebih jika madu yang dikonsumsi adalah madu murni. Madu memiliki kandungan yang sangat baik untuk kesehatan seperti antibakteri, anti inflamasi, hingga antioksidan. Pada umumnya madu digunakan masyarakat Indonesia sebagai campuran pada jamu tradisional yang dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit tertentu seperti penyakit infeksi pada saluran cerna, pernafasan serta dapat meningkatkan kebugaran tubuh (Mandal & Mandal, 2011).

Mutu dan kandungan madu merupakan hal penting untuk menentukan harga jual madu. Harga jual madu semakin tinggi apabila madu memiliki mutu yang masih murni dan memiliki kandungan yang khas atau berbeda dengan madu yang lainnya. Pada umumnya madu memiliki nutrisi penting seperti asam amino, asam organik, vitamin, antioksidan, mineral, enzim, serta senyawa lain yang menyusunnya (da Silva *et al.*, 2016). Selain kandungan dari madu tersebut, terdapat hal yang lain mempengaruhi harga jual madu yaitu asal geografis dan sumber nektarnya. Berdasarkan sumber nektarnya madu dibagi menjadi dua yaitu madu multiflora dan madu uniflora. Madu multiflora adalah madu yang nektar dan embun madunya berasal dari berbagai jenis tumbuhan sedangkan madu uniflora adalah madu yang nektarnya didominasi oleh satu jenis tumbuhan saja (Schuhfried et al., 2016)

Madu *Tetrigona apicalis* merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah tidak bersengat (*Trigona sp.*) memiliki warna hitam dan rasa khas yang berbeda dengan madu pada umumnya. Kandungan vitamin C yang tinggi menjadikan madu ini memiliki rasa asam yang kuat. Selain itu, madu *Tetrigona apicalis* memiliki rasa yang sedikit pahit. Kandungan *flavonoik* dan *fenolik* sebagai antioksidan yang berguna untuk menangkal radikal bebas dalam tubuh. Berdasarkan rasa dan kandungan yang khas menjadikan madu *Tetrigona apicalis* memiliki harga jual yang lebih tinggi dibandingkan madu jenis lainnya (Harjanto *et al.*, n.d.). Selain itu, hal yang menyebabkan madu *Trigona* memiliki harga jual yang lebih tinggi dibandingkan madu jenis lainnya yaitu tingkat produksinya yang rendah. Lebah *Trigona* hanya memproduksi kurang lebih satu kilogram sampai dua kilogram madu dalam satu sarang per tahunnya (Djajasaputra, 2010)

Melihat harga jual madu *Trigona* yang tinggi dan kurangnya produksi madu pertahunnya menyebabkan banyak terjadi pemalsuan madu oleh beberapa oknum. Pemalsuan madu dilakukan dengan cara menambahkan larutan seperti pemanis buatan (sirup jagung, sirup beras), sukrosa, glukosa, fruktosa dan air ke dalam madu murni. Sehingga dapat menghasilkan madu dengan volume yang banyak dan dipasarkan dengan harga yang lebih murah sehingga banyak

masyarakat yang tergiur untuk membelinya. Larutan yang sering digunakan untuk pemalsuan madu adalah sirup jagung atau biasa disebut HFCS (*high fructose corn syrup*) dan sirup beras. Hal tersebut dikarenakan sirup jagung dan sirup beras mempunyai kelarutan yang mirip dengan madu serta memiliki tingkat keasaman dan kemanisan yang mendukung karakteristik madu. Selain itu sirup jagung dan sirup beras memiliki harga yang relatif murah dan umur simpan yang lebih lama (Brackett, 2008)

Terdapat beberapa cara untuk membedakan antara madu murni dengan madu campuran salah satunya menggunakan cara evaluasi sensori. Evaluasi sensori adalah cara yang dilakukan oleh manusia dengan menggunakan panca indera yaitu, indera perasa, indera penglihatan, indera peraba, dan aroma. Seperti mengamati warna, rasa dan viskositasnya. Namun, cara ini dianggap tidak efektif karena tidak dapat diketahui pasti kandungan dalam madu, karena manusia memiliki keterbatasan fisik untuk mendeskripsikan ciri suatu bahan. Seperti riset yang telah dilakukan oleh Suprawijaya et al., (2021) mengenai "Uji Sifat Fisik Sediaan Salep Kombinasi Madu Kelulut (Trigona sp.) dan Minyak Cengkeh (Syzygium aromaticum L)" Untuk mengatasi kelemahan analisis sensori dapat menggunakan Metode NIR (Near Infra Red). Metode NIR adalah salah satu metode analisis farmasi yang digunakan untuk kontrol kualitas (Gowen et al., 2008). Tetapi metode ini memiliki kekurangan yaitu menggunakan alat yang harganya mahal berupa spektrometer dan sumber cahaya (light source) sehingga menjadi kendala dalam perkembangan teknologi di Indonesia (Suhandy et al., 2018). Munawar (2017) telah melakukan riset menggunakan metode NIR dengan judul "Kajian Teknologi Near Infrared Spectroscopy Sebagai Metode Baru untuk Prediksi Kualitas Madu" Selain metode-metode tersebut, terdapat metode lain untuk dapat membedakan madu murni dengan madu campuran yaitu dengan metode HPLC (High Performance Liquid of Chromatography). Akan tetapi, metode ini memerlukan instrumentasi yang mahal dan penggunaannya yang rumit karena melibatkan bahan kimia yang dapat menghasilkan limbah kimia.

Diperlukan metode yang tepat untuk mengetahui perbedaan dari berbagai jenis madu yaitu menggunakan UV-Vis spektroskopi untuk meningkatkan pengetahuan

masyarakat terhadap berbagai jenis madu yang ada di Indonesia. Kelebihan UV-Vis spektroskopi adalah dalam penerapannya ketika mengekstraksi sampel dapat menggunakan air sebagai pelarut sehingga biaya yang dibutuhkan relatif murah dan ramah lingkungan serta ketepatan waktu dan nilai akhir yang akurat. Metode UV-Vis spektroskopi sudah banyak tersedia di laboratorium perguruan tinggi karena alat ini termasuk alat standar untuk menganalisis warna.

Penggunaan UV-Vis spektroskopi sudah terbukti berhasil untuk mendeteksi keaslian beberapa produk pertanian seperti madu, kopi dan teh. Beberapa riset tersebut antara lain : Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Diskriminasi Tiga Kopi Robusta Lampung Berdasarkan Jenis Pupuk (Andriyani, 2019), Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Identifikasi Madu Lebah Hutan (Apis dorsata) Berdasarkan Sumber Nektar (Firmansyah, 2019), Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Diskriminasi Madu Kelengkeng dan Madu Karet PT Madu Pramuka (Hartono, 2021), Studi Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Klasifikasi Madu Hutan Berdasarkan Letak Geografis (Zaini, 2019), Identifikasi *Grade* Teh Hitam (Camellia sinensis) CTC Produk PT. Perkebunan Nusantara VIII Unit Rancabali Bandung Menggunakan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA (Supriyanto, 2019), Studi Penggunaan Metode Analisis Berbasis UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Membedakan Kopi Codot Murni dan Kopi Codot Campuran (Zahrok, 2019) dan Studi Diskriminasi Teh Hijau dan Teh Hitam di PT. Pagilaran Batang Menggunakan Uji Sensori dan Metode UV-Vis Spectrocsopy (Al Zulfa, 2019).

Berdasarkan hasil penelusuran pustaka menunjukkan bahwa penggunaan UV-Vis spektroskopi untuk membedakan madu *Tetrigona apicalis* asli dengan madu yang telah dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras belum pernah dilaksanakan. Sehingga, perlu dilakukan penelitian ini untuk menetukan keaslian madu *Tetrigona apicalis* dan membedakan antara madu *Tetrigona apicalis* asli dengan madu *Tetrigona apicalis* yang telah dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras menggunakan UV-Vis spektroskopi tipe *Benchtop* dan metode SIMCA.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu sampai sekarang madu masih banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Melihat kebutuhan madu yang tinggi namun tingkat produksinya yang masih rendah sehingga tidak seimbang antara permintaan dan produksi. Hal ini yang menyebabkan banyak oknum yang mencampurkan madu asli dengan pemanis buatan berupa sirup jagung dan sirup beras. Pemalsuan ini tentunya akan merugikan masyarakat karena dapat menurunkan kualitas dan khasiat madu. Salah satu jenis madu yang sering dipalsukan yaitu madu lebah tidak bersengat karena jenis madu ini mempunyai khasiat yang melimpah dan sedikit berbeda dengan jenis madu lainnya serta nilai jual yang tinggi tetapi tingkat produksi yang sedikit. Sehingga pemalsuan menjadi faktor utama bagi oknum penjual madu untuk memperoleh keuntungan yang tinggi.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah;

- 1. Untuk membedakan madu *Tetrigona apicalis* murni dengan madu *Tetrigona apicalis* yang telah dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras dengan kadar pencampuran antara 10%-60% berdasarkan data spektra di daerah UV-Vis.
- Membangun dan menguji model dengan metode SIMCA dalam menentukan keaslian madu *Tetrigona apicalis* sehingga dapat dibedakan antara madu *Tetrigona apicalis* murni dan madu yang dioplos dengan HFCS 55% dan sirup beras (RMS).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu dapat mengidentifikasi kemurnian madu *Tetrigona* apicalis yang dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras, serta bahan referensi tentang studi pencampuran madu lebah tidak bersengat (*Tetrigona apicalis*)

dengan senyawa HFCS 55 dan sirup beras menggunakan UV-Vis spektroskopi tipe *Benchtop* dan metode SIMCA.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah ;

- 1. Proses menentukan keaslian madu ini hanya dilakukan pada jenis madu lebah tidak bersengat (*Tetrigona apicalis*)
- 2. Tidak dilakukan uji kimia pada sampel madu, sirup jagung dan sirup beras yang digunakan.

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu dengan teknologi UV-Vis spektroskopi dapat membedakan madu *Tetrigona apicalis* asli dan madu *Tetrigona apicalis* yang dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras berdasarkan spektra dari nilai absorbansi menggunakan metode SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Madu

Madu didefinisikan sebagai bahan pangan berwarna emas hingga cokelat yang mempunyai rasa manis, kental dan memiliki kadar gula tinggi namun rendah lemak. Madu yang dihasilkan oleh lebah dengan sumber nektar yang berasal dari sari bunga tumbuhan disebut madu *blossom* (*floral nektar*) dan madu yang sumber nektarnya berasal dari bagian lain tumbuhan disebut *honeydew* (*ekstra floral*) melalui cara enzimatis yang kemudian dijadikan sebagai cadangan makanan (Bogdanov, 1997). Madu memiliki kandungan gula sederhana yang langsung dapat digunakan oleh tubuh, serta memiliki kandungan garam mineral dan kandungan lainnya sehingga dapat dijadikan sebagai sumber stamina. Selain itu, madu merupakan bahan pangan yang mengandung gula tanpa pengolahan dahulu sebelum dimanfaatkan oleh manusia (Sihombing, 1997)

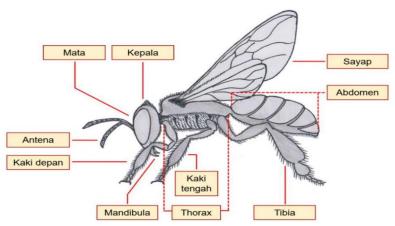
Hutan tropis yang dimiliki oleh negara di benua Asia menyebabkan madu yang dihasilkan mengandung kadar air yang cenderung tinggi karena curah hujan yang cukup tinggi. Madu memiliki berbagai macam aroma, rasa, khasiat dan kegunaan sesuai dengan jenis nektar yang dihisap oleh lebah. Madu yang diteliti pada penelitian ini merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah *Trigona apicalis*. Lebah *Trigona apicalis* menghasilkan madu yang memiliki aroma khusus dan rasa yang asam. Sesuai dengan pernyataan di atas bahwa aroma yang dihasilkan dari madu lebah *Tetrigona apicalis* berasal dari resin tumbuhan dan bunga yang dihinggapi oleh lebah tersebut (Fatoni, 2008). Madu lebah *Trigona apicalis* dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini:



Gambar 1. Madu Tetrigona apicalis

2.2 Lebah Trigona

Penelitian hanya mengamati madu yang dihasilkan oleh lebah *Tetrigona apicalis*. Lebah *Tetrigona apicalis* sudah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia dan termasuk jenis lebah tidak bersengat (*Trigona sp*). Lebah *Trigona* mempunyai ukuran tubuh yang kecil dan berkerabat dekat dengan lebah madu bersengat (*Apis* pp.) dalam famili *Apidae*. Lebah mempunyai tiga bagian tubuh, yaitu kepala, dada (*thorax*) dan perut (*abdomen*) dapat dilihat pada Gambar 2. Pada bagian kepala terdapat tiga mata sederhana (*oseli*), sepasang mata majemuk serta sepasang antena yang berfungsi sebagai organ peraba yang berada di dekat mata. Di bagian *thorax* memiliki dua pasang sayap dan tiga pasang tungkai. Pada lebah *Trigona* di bagian tungkai belakang dilengkapi dengan *pollen basket* (Harjanto *et al.*, 2020).



Gambar 2. Bentuk tubuh lebah *Trigona* secara umum

Lebah *Trigona* hidup secara berkelompok dan berkoloni dapat dilihat pada Gambar 3. Dalam satu koloni lebah *Trigona*, berjumlah 300 hingga 80000 lebah (Gowen *et al.*, 2008). Kelompok lebah *Trigona* tersebar di kawasan tropis dan subtropis. Negara yang berada di benua Amerika beriklim tropis terdapat 300 jenis, benua Afrika terdapat 50 jenis dan benua Asia menyumbangkan 60 jenis serta benua Australia hanya sekitar 10 jenis, jika ditotal populasi lebah *Trigona* dibumi mencapai 500 jenis (Bradbear, 2009).

Menurut Rasmussen (2008), lebah *Trigona* mempunyai klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Insecta

Ordo : Hymenoptera

Famili : Apidae

Tribus : Meliponini

Genus : Trigona

Marga : Geniotrigona, Heterotrigona, Lepidotrigona, Tetrigona,

Tetragonula, dan lain - lain

Spesies : Tetrigona apicalis



Gambar 3. Koloni lebah Tetrigona apicalis

Lebah *Trigona* memiliki perilaku hidup bersama cara hidup ini dikenal dengan *eusosial*. Sistem pembagian kerjanya sama seperti beberapa serangga lainnya

yaitu semut dan rayap. Pada sistem sosial tersebut, terdiri dari satu terkadang lebih dari satu ratu lebah, lebah jantan (*drone*) dan lebah pekerja yang berjumlah ratusan hingga ribuan. Ratu lebah sebagai pemimpin serta berkelamin betina dan fertil. Lebah jantan memiliki tugas mengawini ratu lebah (Kofi *et al.*, 2010). Sementara lebah pekerja bertugas menjaga keamanan, mengumpulkan pakan dan merawat serta membangun sarang (Harjanto *et al.*, 2020).

Lebah *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. Daya jelajah serta budidaya lebah *Trigona* belum berkembang menjadi penyebab rendahnya tingkat produksi madu *Trigona*.

2.3 Jenis Madu

Berdasarkan sumber nektar yang diperoleh dari spesies tanaman madu dibagi menjadi tiga jenis. Madu *multiflora* atau *poliflora* merupakan madu yang sumber nektarnya berasal dari beberapa tanaman dan tanaman yang tidak berpengaruh, contohnya seperti madu hutan Indonesia yang sifat hutannya berupa hutan heterogen. Madu *monoflora* merupakan madu yang sumber nektarnya dominan hanya berasal dari satu tanaman. Beberapa daerah tertentu juga memiliki jenis madu *bioflora* yaitu madu yang dihasilkan dari nektar dua jenis tanaman berbeda. Lebah cenderung mengambil sumber nektar hanya pada satu tanaman. Namun, apabila satu tanaman tersebut tidak dapat memenuhi sumber pangannya maka lebah akan mengambil nektar dari jenis tanaman yang lain (Suranto, 2004).

Selain madu yang telah dijelaskan di atas, terdapat beberapa jenis madu lainnya seperti madu *blossom* (*floral nektar*) dan madu *honeydew* (*ekstra floral*). Madu *blossom* sumber nektarnya berasal dari bunga. Sedangkan madu *honeydew* dihasilkan dari sekresi tanaman tertentu, yang berasal dari larutan batang, daun dan cabang pohon serta dapat juga berasal dari sekresi serangga pengisap tumbuhan, khususnya dari famili *Aphididae* (Iglesias *et al.*, 2004). Aroma dan rasa merupakan hal yang sangat diinginkan pada madu. Namun, terdapat perbedaan antara kedua jenis madu ini yaitu pada aroma dan rasanya. Aroma

madu *honeydew* lebih kuat dibandingkan madu *blossom*, sedangkan rasa madu *honeydew* tidak semanis madu *blossom* (Castro-Vázquez *et al.*, 2006).

2.4 Kandungan Madu

Di dalam madu banyak terkandung mineral yang terdiri dari kalsium, alumunium, besi, natrium, magnesium, kalium, dan fosfor. Sedangkan kandungan vitamin yang terkandung dalam madu antara lain, asam askorbat (C), thiamin (B1), niasin, biotin, riboflavin (B2), piridoksin (B6), vitamin K, asam folat dan asam pantotenat. Selain itu, terdapat kandungan lain yang memiliki peran penting dalam madu yaitu enzim. Beberapa enzim tersebut antara lain glukosa oksidase, enzim diastase, lipase, invertase dan peroksidase. Semua zat yang terkandung dalam madu tersebut memiliki manfaat dan khasiat untuk sistem metabolisme tubuh (Suranto, 2004). Berdasarkan jenis madu *pollen*, madu dibagi menjadi dua yaitu madu *natural pollen* (NP) dan madu *pollen substitute* (PS). Pada umumnya Madu NP atau madu alami tersusun atas 82,4% karbohidrat, 17,1% air, 0,5 % protein, 31 % glukosa, 38% fruktosa, 12,9% gula lain, asam amino, vitamin, senyawa fenolik, asam organik dan mineral (Widiarti & Kuntadi, 2012). Kandungan madu dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1. Kandungan Madu (Bogdanov, 1997)

Komposisi	Rata-rata (mEq)	Kisaran nilai (mEq)
Fruktosa	29,2	12,2-60,7
Air	22,9	16,6-37
Sukrosa	13,4	1,4-53
Glukosa	18,6	6,6-29,3
pН	3,92	3,60-5,34
Asam bebas	41,31	10,33 – 62,21

Madu *Tetrigona apicalis* yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik lebih encer dan memiliki warna dominan hitam. Mempunyai rasa asam karena memiliki nilai pH 3,05-4,55. Dengan persentase kadar air lebih banyak yaitu sekitar 30-35%. Selain itu, madu *Tetrigona apicalis* juga mengandung beberapa senyawa seperti 4- *hydroxyphenylacetic acid*, cerumen dan *protacatechuic acid* (PCA) yang berfungsi sebagai antioksidan (Kakkar & Bais, 2014).

2.5 Manfaat dan Khasiat Madu

Madu memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh manusia. Secara umum madu bermanfaat untuk meningkatkan kekebalan tubuh dan meningkatkan stamina tubuh. Madu juga dapat menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti radang usus, hipertensi, penyakit lambung, dan jantung. Madu juga mengandung jenis zat asetil kolin yang mampu melancarkan metabolisme tubuh seperti menurunkan tekanan darah dan melancarkan peredaran darah. Selain itu, madu juga baik untuk dikonsumsi oleh ibu hamil supaya terhindar dari keracunan pada kehamilan, meningkatkan kekebalan tubuh dan juga baik bagi perkembangan bayi di dalam janin (Suranto, 2004).

Madu *Tetrigona apicalis* memiliki senyawa *protacatechuic acid* (PCA) sebagai antioksidan yang berperan untuk meningkatkan poliferasi sel pada proses

penyembuhan terhadap luka dan juga memiliki kandungan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri dalam tubuh (Kakkar & Bais, 2014).

2.6 Sirup Jagung (HFCS)

Berdasarkan standar SNI 3544 (BSN, 2013), sirup merupakan minuman yang berasal dari paduan gula dan air. Dengan kadar larutan gula minimum sebesar 65% atau dengan tambahan bahan lain yang diperbolehkan sesuai aturan. HFCS (high fructose corn syrup) adalah pemanis buatan pengganti sukrosa dengan jagung sebagai bahan utamanya dengan campuran bahan kimia dan enzim untuk menghidrolisis pati jagung. HFCS dihasilkan melalui cara hidrolisis kimia dan enzimatik pati jagung yang memiliki amilosa dan amilopektin. Sebagian besar sirup jagung mengandung glukosa yang dilengkapi isomerisasi glukosa dalam sirup jagung sehingga menghasilkan sirup jagung fruktosa tinggi atau disebut dengan HFCS (SNI 3544 (BSN), 2013). Sirup beras yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini :



Gambar 4. Sirup jagung (HFCS 55%)

Berdasarkan persentase kadar fruktosa dan glukosa HFCS dibagi menjadi tiga kategori yaitu HFCS-90 yang terdiri dari 90% fruktosa dan 10% glukosa, HFCS-42 yang terdiri dari 42% fruktosa dan 58% glukosa, dan HFCS-55 yang terdiri dari 55% fruktosa dan 45% glukosa. HFCS sangat membantu dalam berkembangan industri olahan makanan dan minuman. HFCS memiliki banyak

kelebihan dibandingkan dengan sukrosa di antaranya rasa manisnya, keasaman, kelarutan serta harganya yang tergolong murah. HFCS banyak di produksi di negara Amerika Serikat untuk memenuhi sebagian fungsionalitas dalam campuran makanan dan minuman (Parker *et al.*, 2010).

2.7 Sirup Beras

Sirup beras atau *Rice Malt Syrup* (RMS), merupakan salah satu pemanis buatan yang berasal dari beras merah organic sebagai bahan utamanya. Sirup ini diperoleh dengan cara beras dibiakkan dengan enzim untuk memecah pati kemudian campurannya dimasak hingga mencapai konsistensi yang ditentukan. Sirup beras yang dihasilkan mengandung protein, serat (*hemiselulosa*) dan bebas lemak. Biasanya terdiri dari 65-85% maltosa, 10-15% maltotriosa, 5-20% dekstrin dan 2-3% glukosa. Sirup beras banyak digunakan untuk industri pembuatan makanan dan minuman (Shaw *at all*, 1992).

Sirup beras juga dijadikan sebagai bahan campuran untuk pemalsuan madu karena sirup beras memiliki karakter yang sama dengan pengganti gula lainnya. Dengan warna dan kelarutannya yang menyerupai madu menjadikan sirup ini banyak digunakan untuk pemalsuan madu yang bertujuan untuk memperoleh volume madu yang lebih banyak tanpa memedulikan keaslian madu dan meningkatkan keuntungan yang dilakukan oleh oknum tertentu. Sirup beras yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 5 di bawah ini :

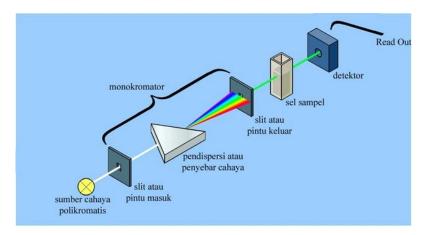


Gambar 5. Sirup beras (RMS)

2.8 UV-Vis Spektroskopi

Spektrofotometri merupakan cara analisis berdasarkan absorbs cahaya yang melalui suatu larutan yang telah ditentukan konsentrasinya dengan panjang gelombang tertentu. Spektrofotometer merupakan perangkat yang fungsinya didasarkan pada kaidah spektrofotometri. Spektrofotometer terdiri dari dua alat yaitu spektrometer dan fotometer yang digabungkan menjadi satu. Alat spektrometer menghasilkan *ouput* berupa cahaya spektrum dengan panjang gelombang tertentu sedangkan fotometer adalah alat yang berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya yang masuk atau diteruskan (Gholib, 2007). Spektrofotometri ialah metode analisis kimia untuk memastikan kandungan pada sampel berdasarkan hubungan antara cahaya dan materi secara kualitatif dan kuantitatif. Cahaya yang digunakan yaitu cahaya ultraviolet, inframerah dan visible. Absorbs merupakan bentuk interaksi antara cahaya dan materi, kemudian menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu (Octaviani *et al.*, 2014).

Metode spektroskopi banyak digunakan dalam analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif karena sangat informatif. Metode spektroskopi didasarkan pada penyerapan atau pancaran radiasi gelombang elektromagnetik di daerah ultraviolet (UV), cahaya tampak (visible), infra merah/infrared (IR) dan gelombang radio (rentang frekuensi magnetic resonance, NMR) merupakan metode spektroskopi yang sering digunakan dalam analisis pangan. Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara Spektrofotometer ultraviolet dan visible yang menggunakan sumber cahaya ultraviolet (UV) dan tampak (visible). Pada bidang spektroskopi, UV-Vis lebih banyak digunakan karena penggunaannya yang mudah dan dapat digunakan pada sampel yang berwarna maupun tidak berwarna. Spektrometer mengukur serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350 nm) dan sinar tampak (350-800 nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya dari UV dan visible dapat berakibat pada transisi elektronik, sehingga promos elektron-elektron yang berasal dari orbital keadaan dasar menuju orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi (Apratiwi, 2016). Transmitansi merupakan korelasi antara absorbansi dengan cahaya yang diteruskan. Semakin tinggi intensitas absorbansi yang diserap maka akan semakin rendah intesitas transmitansinya.



Gambar 6. Prinisip kerja UV-Vis Spektroskopi

Komponen-komponen utama spektrofotometer antara lain;

- 1. Lampu xenon sebagai sumber cahaya UV-Vis Spektrofotometer
- 2. Monokromator berfungsi untuk memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis menggunakan alat berupa grating (kisi difraksi) Keuntungan dari kisi difraksi dalam proses spektroskopi adalah sinar yang terdispersi akan tersebar secara merata, dan dengan pendispersi yang sama bertujuan mendapatkan hasil dispersi yang lebih baik. Fungsi lain dari kisi difraksi yaitu untuk menjangkau seluruh jangkauan spektrum
- 3. Kuvet yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang di daerah UV menggunakan sel kuarsa, karena pada daerah ini kuvet gelas tidak tembus cahaya. Umumnya kuvet memiliki ketebalan 10 mm, tetapi kuvet yang lebih tebal maupun lebih tipis juga dapat digunakan namun kurang maksimal
- 4. Detektor berfungsi sebagai penerima serta pemberi sinyal di berbagai panjang gelombang terhadap cahaya
- Amplifier memiliki fungsi sebagai penguat sinyal yang mengakibatkan keluaran yang cukup besar sehingga mampu dideteksi oleh alat pengukur. Amplifier ini dibutuhkan saat sinyal listrik elektronik yang dialirkan sudahmelewati detektor (Mulja dan Suharman, 1995).

Prinsip kerja dari metode ini adalah jumlah cahaya yang diserap oleh larutan sama dengan konsentrasi kontaminan dalam larutan. Prinsip ini dipaparkan dalam

Lambert-Beer yang merupakan hubungan linieritas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit (Dachriyanus, 2004).

2.9 Metode Kemometrika

Metode kemometrika merupakan multidisiplin ilmu yang melibatkan statistik, , pemodelan matematika, multivariat dan informasi teknologi, khususnya diterapkan pada data kimia. Untuk meringkas data variabel dengan menciptakan variabel baru yang mengandung informasi dilakukan analisis multivariat. Variabel-variabel baru kemudian digunakan untuk memecahkan masalah dan tampilan, yaitu dalam pengelompokan hubungan dan mengontrol grafik. Salah satunya adalah *principal component analysis* (PCA). 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 pada data tersebut (Roggo *et al.*, 2007).

2.9.1 Principal Component Analysis (PCA)

Principal component analysis (PCA) merupakan Metode proyeksi yang digunakan untuk menggambarkan semua data yang terdapat dalam tabel data yang kompleks, juga dapat membantu memahami dengan tepat dan cepat faktor atau variabel apa saja yang membuat suatu sampel berbeda dengan sampel yang lain. PCA dapat mengidentifikasi penyebab perbedaan antar sampel dan menentukan variabel yang menyebabkan perbedaan sampel tersebut serta dapat mengkuantifikasi beberapa informasi berguna dan tidak sesuai (noise) yang akan dikeluarkan dalam bentuk data (Suhandy & Yulia, 2019). Berikut ini atribut yang sesuai pada hasil PCA:

1. Nilai Varian

Nilai varian merupakan nilai yang menyatakan tingkat kesalahan dalam melakukan proses olah data dan memberikan informasi berapa banyak data yang telah diperhitungkan secara berurutan dalam komponen model

2. Loadings

Loadings merupakan bentuk variabel yang saling berkaitan berdasarkan skala yang memberikan informasi berupa gambaran struktur data. Setiap variabelnya memiliki nilai *loadings* pada masing-masing PC nya. Nilai *loadings* dapat menggambarkan peran variabel terhadap PC dan memperhitungkan seberapa baik kinerja dari PC saat memperhitungkan varian dari variabel tersebut. Semakin kecil hubungan antara PC dan variabel maka nilai *loadings* yang didapat akan semakin besar. Variasi nilai *loadings* dari -1 sampai +1.

3. Nilai skor

Nilai yang menggambarkan perbedaan atau persamaan antar sampel adalah nilai skor. Setiap sampel menghasilkan PC yang memiliki nilai skor yang akan dikoordinatkan lokasinya di sepanjang PC tersebut. Nilai skor menggambarkan struktur data dari pola sampel.

Hubungan nilai skor PCA dan *loadings* adalah nilai *loadings* akan menunjukkan bagaimana data tersebut bergerak disepanjang komponen (PC) lalu di interpretasi dari PC tersebut untuk diterjemahkan makna dari nilai skor. Untuk dapat mengetahui bahwa nilai skor dan *loadings* bekerja, maka pastikan terlebih dahulu bahwa PC adalah sumbu terarah. Sehingga didapatkan nilai skor dan nilai *loadings* bernilai positif atau negatif (Suhandy & Yulia, 2019).

2.9.2 Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)

Soft independent modeling of class analogy (SIMCA) adalah metode analisis multivariat yang berfungsi sebagai penguji kekuatan dalam mengelompokkan dan diskriminasi suatu sampel. SIMCA digunakan untuk menetapkan sampel ke dalam kelas yang tersedia dengan tepat. Metode klasifikasi didasarkan pada pembentukan model PCA untuk masing-masing kelas dan mengelompokkan untuk tiap sampel pada masing-masing model PCA. *Output* dari SIMCA berupa tabel yang berisi pengelompokan sampel dalam satu, beberapa kelas, atau tidak dikelompokkan ke dalam kelas mana pun (Nurcahyo, 2015).

SIMCA termasuk ke dalam PCA tetapi nilai sensitivitas pembacaan data SIMCA mempunyai nilai yang lebih besar (supervised). Berikut ini langkah-langkah yang dilakukan untuk menerapkan SIMCA :

- Dilakukan pembuatan model PCA untuk setiap kelasnya berdasarkan data set dengan jumlah yang layak
- 2. Dipertahankan komponen utama pada beberapa variasi data di tiap-tiap kelas
- 3. Dibuat klasifikasi menggunakan program SIMCA dengan cara melakukan perbandingan variasi residual dari sampel dengan rata-rata residual varian sampel yang membentuk kelas. Dengan perbandingan tersebut didapat informasi ukuran langsung dari kesamaan sampel pada kelas tertentu serta dapat dianggap sebagai ukuran *goodness of fit* dari sampel untuk model kelas tertentu (Lavine, 2009).

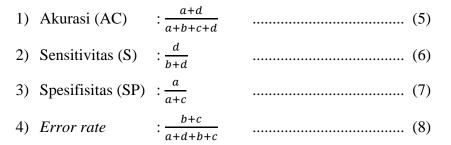
2.9.3 Matrik Konfusi (Confusion Matrix)

Matriks konfusi adalah daftar yang mencatat pengelompokan dari hasil kerja pengolahan data menggunakan SIMCA. Matriks konfusi berfungsi untuk melakukan pengujian untuk memprediksi objek yang tepat atau tidak. Matriks konfusi mempunyai sejumlah rumus luaran berupa akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan *error rate*. Keempat luaran tersebut dapat dituliskan secara matematik pada Tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Matrik konfusi

	Kelas A (aktual)	Kelas B (aktual)
Kelas A (hasil model SIMCA A)	a (TP)	b (FP)
Kelas B (hasil model SIMCA B)	c (FN)	d (TN)

Perhitungan:



Keterangan:

a : Sampel kelas A yang masuk ke dalam kelas A (TP)

b : Sampel kelas A yang masuk ke dalam kelas B (FP)

c : Sampel kelas B yang masuk ke dalam kelas A (FN)

d : Sampel kelas B yang masuk ke dalam kelas B (TN)

TP : True Positive

TN : True Negative

FP : False Positive

FN : False Negative

Kelas A: Kelas sampel madu *Tetrigona apicalis* murni/asli

Kelas B: Kelas sampel madu *Tetrigona apicalis* dengan campuran sirup jagung dan sirup beras (Faisal & Nugrahadi, 2019).

Nilai akurasi menunjukkan tingkat keakuratan model yang dibangun. Sensitivitas menunjukkan kemampuan model untuk tidak menerima sampel yang bukan kelasnya, semakin tinggi nilai sensitivitas maka model yang dibangun semakin mengenali karakteristik sampel. Spesifisitas merupakan kemampuan model untuk mengelompokkan sampel ke dalam kelasnya secara benar. Berdasarkan pernyataan terebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi nilai akurasi, sensitivitas, dan spesifisitas maka model yang dibangun semakin tangguh. Nilai *error rate* menunjukkan tingkat kesalahan dalam klasifikasi model yang dibangun. Semakin rendah nilai *error rate* maka model semakin baik (Apratiwi, 2016).

Nilai akurasi memiliki 5 tingkatan performansi, yaitu:

- 1) Akurasi bernilai 0.90 1.00 = excellent classification (sangat memuaskan)
- 2) Akurasi bernilai $0.80 0.90 = good\ classification\ (baik)$
- 3) Akurasi bernilai $0.70 0.80 = fair\ classification\ (dapat\ diterima)$
- 4) Akurasi bernilai $0.60 0.70 = poor \ classification$ (buruk)
- 5) Akurasi bernilai $0.50 0.60 = failure\ calassification\ (gagal)\ (Vercellis, 2009).$

2.9.4 Pretreatment

Pretreatment spektra dilakukan untuk mendapatkan model yang lebih akurat. Perlakuan ini bertujuan untuk mengurangi pengaruh interferensi gelombang dan noises pada data spektra yang telah diperoleh. Sebelum dilakukan pengembangan model analisis pada data spektra yang telah didapat, dilakukan perlakuan pretreatment terlebih dahulu baik itu pada data kalibrasi maupun prediksi (Galindo-Prieto, 2017). Untuk memperbaiki spektra metode pretreatment dibagi menjadi empat yaitu:

a) Smoothing Moving Average

Smoothing moving average merupakan metode yang sering digunakan untuk menghilangkan noise. Untuk menghilangkan noise tersebut, smoothing moving average umumnya digabungkan dengan metode lain pada pengolahan awal data. Persamaan metode smoothing moving average dapat ditulis sebagai berikut:

$$s_{j} = \frac{Y_{j-1} + Y_{j} + Y_{j+1}}{3} \tag{9}$$

Keterangan:

Sj : Nilai *smoothing moving average* pada panjang gelombang ke j

Yi : Nilai spektra asli pada panjang gelombang ke j

i : Indeks panjang gelombang

3 : Jumlah segmen

Rumus di atas digunakan jika segmen = 3, pembagi dan penyebut dapat berubah sesuai dengan segmen yang dibuat. Hasil dari *smoothing moving* average akan terpusat di tengah karena jumlah segmen harus bilangan ganjil.

b) Multiplicative Scatter Corretions (MSC)

MSC merupakan metode pendekatan untuk mengurangi *amplification* (*multiplicative*, *scattering*) efek pada spektrum. Variasi cahaya yang menyebar pada data spektroskopi dapat diperbaiki menggunakan *multiplicative scatter correction*.

MSC bertujuan untuk memperbaiki semua sampel supaya persebaran cahayanya memiliki tingkat yang sama. Persamaan yang digunakan dalam metode MSC dijelaskan di bawah ini :

$$X_{org} = a_i + bi\bar{x}j + e_i \quad \dots \tag{10}$$

$$f(x) = \frac{x_{org} - a_i}{b_i} \quad \dots \tag{11}$$

Keterangan:

f(x): Nilai dari spektrum yang dikoreksi (matriks data).

X_{org}: Nilai dari spektra asli

 $\overline{x_j}$: Nilai dari spektrum rata-rata

e_i: Nilai error

a_i: Nilai intersep

b_i : Nilai slope

i : Indeks sampel

j : Indeks panjang gelombang

Yang pertama dilakukan untuk mencari nilai MSC adalah mencari koefisien regresi yaitu a_i dan b_i yang diperoleh dari persamaan regresi pada grafik linier yang dibuat dan menunjukan persamaan y = ax+b pada sampel i.

c) Standar Normal Variate (SNV)

SNV merupakan cara transformasi untuk menghilangkan efek hamburan atau scatter effects yang terdapat pada spektrum, dengan cara memusatkan dan menskala spektrum individual. Seperti MSC hasil praktis dari SNV adalah menghilangkan multiplicative interferences dari scatter effects pada data spektra. Tujuan utama dari SNV adalah menghapus gangguan multiplikasi dari persebaran dan ukuran partikel. Metode SNV memiliki rumus persamaan sebagai berikut :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{k} (i_k - x_i)^2}{K - 1}} \dots (12)$$

$$\bar{\mathbf{x}}\mathbf{k} = \frac{X_k - mean(x)}{SD(x)} \qquad (13)$$

Keterangan:

SD: Standar deviasi

K : Jumlah data pada sampel i

i : Indeks sampel

k : Indeks panjang gelombang

 \tilde{x}_{ik} : Nilai SNV dari sampel i pada panjang gelombang k

X_{ik}: Nilai spektra *Original* pada sampel i pada panjang gelombang k

 $\overline{x_i}$: Nilai rata-rata pada sampel i

d) Mean Normalization (MN)

Mean normalization bekerja dengan cara mentransformasikan titik suatu spektra dalam sebuah unit dan semua data didekati dalam skala yang sama. Metode mean centering digunakan untuk menghitung jumlah data spektrum yang diperoleh dari data spektrum dibagi nilai rata-rata spektrum dalam satu baris pada data pengamatan. Rumus dari pretreatment mean normalization adalah;

$$f(x) = \frac{x}{mean(x)} \qquad (14)$$

Keterangan:

f(x) : Nilai *mean normalize* pada sampel i di panjang gelombang k

I : Indeks sampel

k : Indeks panjang gelombang

X_{raw}: Nilai spektra asli

X_{mean} : Nilai spektra rata-rata pada sampel.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2022 sampai Maret 2023 di Laboratorium Rekayasa Bioproses dan Pascapanen Pertanian (Lab. RBPP), Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

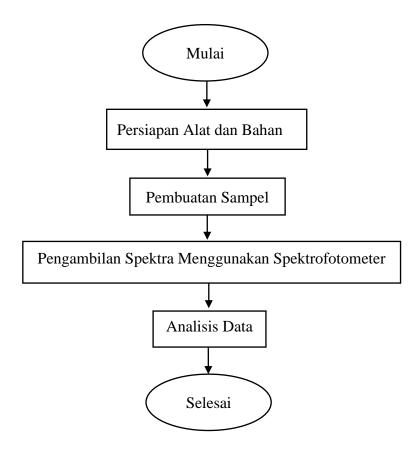
Alat yang digunakan adalah UV-Vis spektroskopi jenis *Genesys* 10S *UV-Vis* (*Thermo Electron Instrumen*, USA), flashdisk, laptop, kuvet, *water bath* jenis *Digiterm 200* (J.P. Selecta, Spain), pipet ukur, pipet ukur 2 ml, gelas beker, labu *Erlenmeyer* 50 ml, gelas ukur, *magnetic stirrer* (CiblancTM, China), corong plastik dan spatula.

Sedangkan bahan yang digunakan yaitu madu lebah tanpa sengat *Tetrigona apicalis* yang diperoleh dari PT Suhita Lebah Indonesia, sirup jagung (HFCS 55%), sirup beras dan aquades.

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membangun dan menguji model dengan metode SIMCA untuk dapat membedakan madu lebah tidak bersengat *Tetrigona apicalis* murni dan madu *Tetrigona apicalis* campuran. Dalam melakukan penelitian ini terdapat beberapa prosedur penelitian yang harus dikerjakan yang terdiri dari persiapan alat dan bahan yang digunakan, kemudian persiapan sampel yang

meliputi proses mengukur sampel madu yang akan digunakan, pemanasan pemanis buatan dan kemudian didinginkan pada suhu ruang. Setelah itu setiap sampel diencerkan, lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dilakukan proses pengambilan spektra dan proses terakhir data dianalisis menggunakan metode SIMCA. Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 7 di bawah ini :



Gambar 7. Diagram alir prosedur penelitian

3.4 Persiapan Alat dan Bahan

Tahap awal dalam penelitian ini yaitu menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Persiapan yang dilakukan yaitu memastikan bahwa semua alat dan bahan tersedia dan dalam kondisi yang baik sehingga mengurangi hal-hal yang tidak diinginkan pada saat digunakan. Pemeriksaan kondisi alat juga diperhatikan supaya alat yang digunakan dapat berfungsi sebagai mestinya. Bahan yang

dibutuhkan juga harus disediakan dan dipastikan dalam kondisi yang baik sesuai dengan prosedur.

3.5 Pembuatan Larutan

Penelitian ini menggunakan larutan atau sampel madu *Tetrigona apicalis* murni dan madu yang dicampur dengan sirup jagung dan sirup beras. Dalam pembuatan larutan terdapat beberapa langkah yaitu sebagai berikut :

3.5.1 Pemanasan Pemanis Buatan (Sirup Jagung dan Sirup Beras)

Sebelum dilakukan pencampuran dengan madu, sirup jagung dan sirup beras terlebih dahulu dituangkan pada gelas ukur kemudian dipanaskan menggunakan *water bath* dengan suhu 60°C selama 30 menit dapat dilihat pada Gambar 8. Pemanasan ini bertujuan untuk mengencerkan bagian-bagian yang menggumpal. Setelah pemanasan selesai dibiarkan pada suhu ruang sampai suhunya sama dengan suhu ruang.



Gambar 8. Pemanasan sirup jagung

3.5.2 Persiapan Madu

Madu yang digunakan pada penelitian ini adalah madu dari lebah tidak bersengat *Tetrigona apicalis* dengan sumber nektar dari pohon *Agathis dammara*. Sampel madu tersebut diperoleh dan diproses oleh PT Suhita Lebah Indonesia yang

terletak di Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung. Madu *Tetrigona apicalis* ini dipanen oleh *bee keeper* Bapak Janjiyanto di daerah Pesisir Barat pada tanggal 20 September 2021 dengan vegetasi dominan daerah tersebut adalah dominan pohon damar. Kemudian, dituangkan pada gelas ukur sesuai dengan kebutuhan yang telah ditentukan. Madu *Tetrigona apicalis*, sirup jagung dan sirup beras disimpan pada *freezer* dengan suhu 20-25°C di laboratorium RBPP.

3.5.3 Pencampuran Madu dengan Pemanis Buatan

Setelah madu dan pemanis buatan selesai disiapkan sesuai prosedur, selanjutnya kedua sampel dicampurkan dengan rasio perbandingan madu dan pemanis buatan (HFCS dan RMS) sebanyak 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 dan 4:6. Sebelumnya pemanis buatan HFCS dan RMS dicampurkan dengan perbandingan 1:1. Pencampuran madu dengan pemanis buatan dapat dilihat pada Gambar 9 di bawah ini :



Gambar 9. Pencampuran madu dengan pemanis buatan

3.5.4 Pengenceran Sampel

Setelah itu sampel diencerkan dengan aquades menggunakan perbandingan 1:80 (ml:ml) dapat dilihat pada Gambar 10. Perbandingan pengenceran ini diperoleh pada saat melakukan pra penelitian, di mana grafik spektra yang diperoleh dengan hasil terbaik pada pengenceran 1:80 (ml:ml). Aquades merupakan air yang dihasilkan dari proses destilasi sehingga tidak mengandung mineral.



Gambar 10. Pengenceran madu dengan aquades

3.5.5 Pengadukan Sampel

Sampel madu yang telah diencerkan kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* (Ciblanc, TM, China) selama sepuluh menit untuk menghomogenkan bahan. Pengadukan sampel dapat dilihat pada Gambar 11 di bawah ini :



Gambar 11. Pengadukan sampel

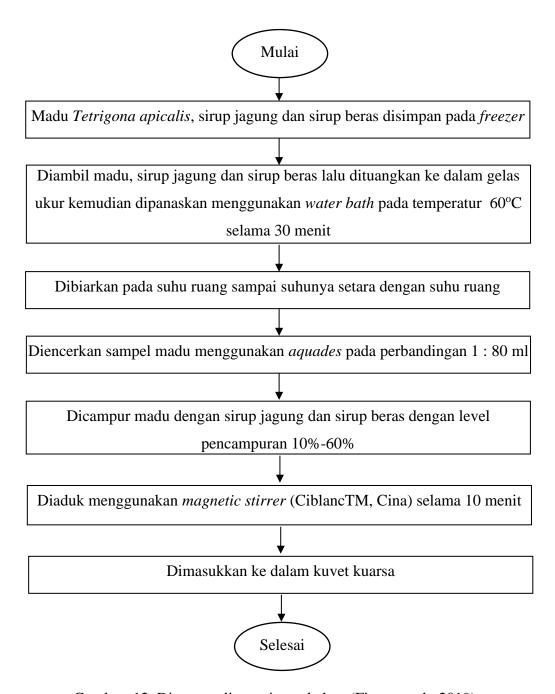
3.5.6 Persiapan Sampel

Supaya mudah untuk membedakan komposisi bahan yang digunakan, maka sampel diberikan label penomoran sesuai dengan kadar perbandingan yang ditentukan. Sampel madu *Tetrigona apicalis* asli diberikan kode sampel MA, sedangkan sampel madu campuran dengan kadar campuran 10-60% diberikan kode sampel MC10, MC20, MC30, MC40, MC50 dan MC60. Penomoran sampel dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini :

Tabel 3. Pemberian nomor sampel

No	Nomor Sampel	Komposisi Bahan
1	1-20	10 ml Madu + 0 ml HFCS & 0 ml RMS (MA)
2	21-40	9 ml Madu + 0,5 ml HFCS & 0,5 ml RMS (MC 10%)
3	41-60	8 ml Madu + 1 ml HFCS & 1 ml RMS (MC 20%)
4	61-80	7 ml Madu + 1,5 ml HFCS & 1,5 ml RMS (MC 30%)
5	81-100	6 ml Madu + 2 ml HFCS & 2 ml RMS (MC 40%)
6	101-120	5 ml Madu + 2,5 ml HFCS & 2,5 ml RMS (MC 50%)
7	121-140	4 ml Madu + 3 ml HFCS & 3 ml RMS (MC 60%)
8	141-160	High Fructose Corn Syrup 55 (HFCS)
9	161-180	Rice Malt Syrup (RMS)

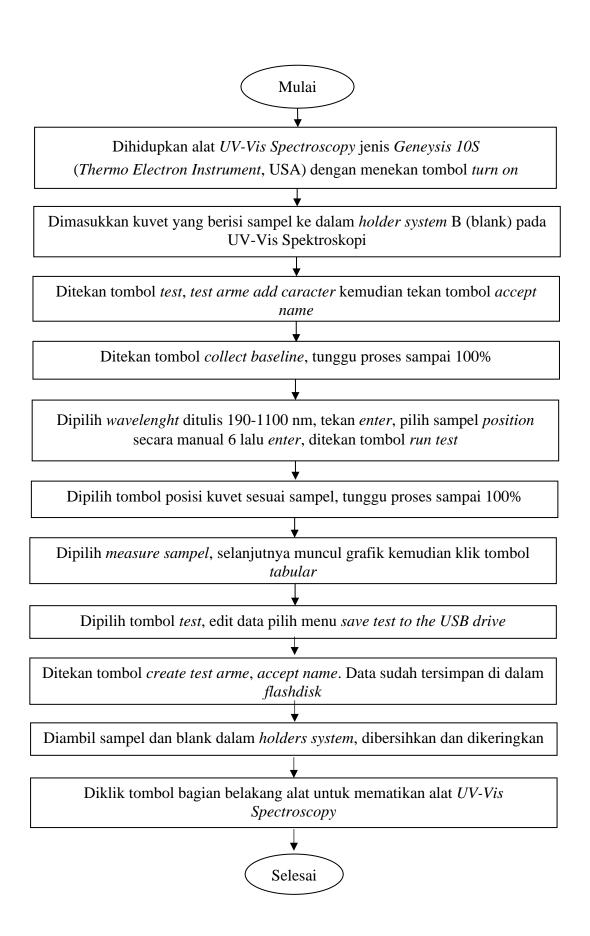
Data spektra yang diambil pada penelitian sebanyak 180 sampel dengan 2 kali pengulangan setiap sampelnya. Bahan yang telah dihomogenkan selanjutnya diambil sebanyak kurang lebih 2 ml menggunakan pipet kemudian dimasukkan ke dalam kuvet kuarsa. Pastikan bagian permukaan transparan pada kuvet dalam keadaan bersih supaya gelombang cahaya yang dipancarkan oleh alat UV-Vis spektroskopi dapat diteruskan secara optimal. Diagram alir dalam persiapan bahan dapat dilihat pada Gambar 12 di bawah ini :



Gambar 12. Diagram alir persiapan bahan (Firmansyah, 2019)

3.6 Pengambilan Spektra Menggunakan Spektrometer

Kuvet kuarsa yang terisi sampel, kemudian diukur nilai absorbansinya dengan cara diletakkan ke dalam sistem holder dan tunggu hingga proses pengukuran selesai, lalu disimpan pada *flashdisk*, setiap sampel diulang sebanyak dua kali. Diagram alir pengambilan spektra dapat dilihat pada Gambar 13 di bawah ini :



Gambar 13. Diagram alir pengambilan spektra (Firmansyah, 2019)



Gambar 14. Proses pengambilan spektra

3.7 Membuat dan Menguji Model

Nilai absorbansi yang telah diperoleh kemudian dibuat modelnya dan diuji menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler versi*on 10.4 dengan metode PCA dan SIMCA.

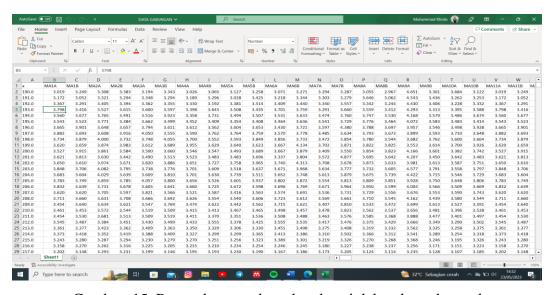
3.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler versi* 10.4 untuk mendeteksi pola sampel. Pengembangan model kalibrasi dilakukan menggunakan metode *principal component analysis* (PCA) dan *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA). Nilai absorbansi sampel yang diperoleh digabungkan menjadi satu dalam *microsoft excel* yang akan dianalisis menggunakan aplikasi *The Unscrambler versi* 10.4. Sampel dibagi menjadi tiga yaitu sampel kalibrasi, validasi dan sampel prediksi. Sampel kalibrasi digunakan untuk membuat model SIMCA, sampel validasi digunakan untuk menguji model tersebut dan sampel prediksi digunakan untuk menguji model yang telah dibuat

dari sampel kalibrasi dan validasi. Hasil klasifikasi yang diperoleh dari pengujian model tersebut selanjutnya dilakukan perhitungan *confusion matrix*.

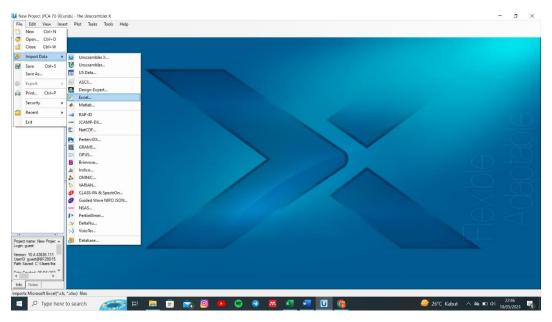
3.8.1 Principal Component Analysis (PCA)

Setelah diperoleh nilai absorbansi dari sampel madu *Tetrigona apicalis* asli, madu *Tetrigona apicalis* campuran (10-60%), pemanis sirup jagung dan sirup beras kemudian digabung menjadi satu dalam satu file menggunakan aplikasi *Microsoft Excel*. Proses penggabungan data dapat dilihat pada Gambar 15 di bawah ini :



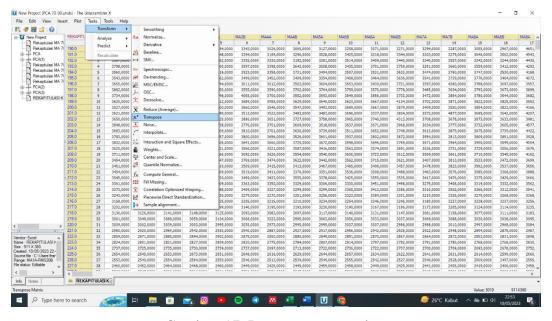
Gambar 15. Penggabungan data absorbansi dalam bentuk excel

Setelah data absorbansi masing-masing sampel digabungkan, kemudian dilakukan analisis menggunakan aplikasi *The Unscrambler version 10.4*. Langkah pertama buka aplikasi *The Unscrambler version 10.4*. Kemudian klik menu *File*, pilih *Import Data* lalu pilih format *Excel* untuk memasukkan data yang akan dianalisis. Langkah *Import Data* dapat dilihat pada Gambar 16 di bawah ini:



Gambar 16. Proses import data gabungan ke dalam unscrambler

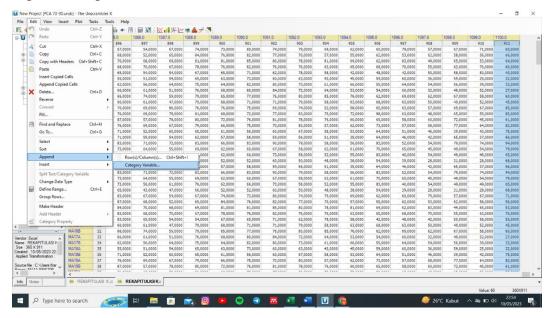
Setelah muncul data pada jendela *The Unscrambler version 10.4*, selanjutnya dilakukan proses *Transpose* dengan memilih menu *Tasks*, kemudian *Transform* lalu pilih *Transpose*. Langkah *Transpose* dapat dilihat pada Gambar 17 di bawah ini :



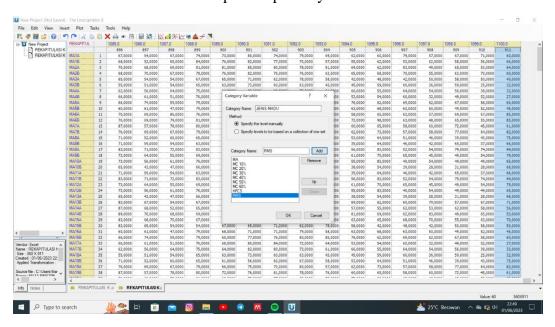
Gambar 17. Proses transpose data

Untuk menentukan nilai PCA pada *The Unscrambler version 10.4*, sampel terlebih dahulu diklasifikasikan sesuai dengan kadar pencampurannya. Dengan cara klik menu *Edit*, lalu pilih *Append* dan pilih *Category Variable*. Selanjutnya

akan muncul *Category Name*, kemudian isi "JENIS MADU" pada kolom *Category Name* bagian atas dan pada kolom *Category Name* bagian bawah, pilih *Add* lalu isi *Level Name* dengan kode sampel Madu *Tetrigona apicalis* Asli (MA), Madu *Tetrigona apicalis* Campuran (MC10-MC60), sirup jagung (HFCS) dan sirup beras (RMS). Setelah semua kode sampel tercatat, pilih *Ok*. Proses membuat *category name* dapat dilihat pada Gambar 18 dan proses pengisian *level name* dapat dilihat pada Gambar 19 di bawah ini:

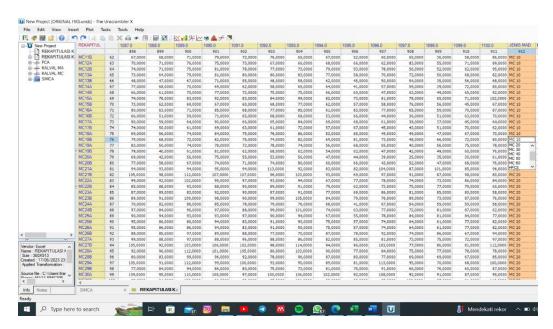


Gambar 18. Proses pembuatan *category variable* sesuai dengan kadar pencampurannya



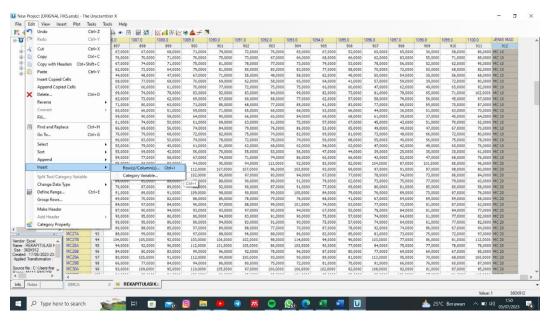
Gambar 19. Proses pengisian level name

Sebelum data dianalisis dengan metode PCA sampel terlebih dahulu dikelompokkan sesuai dengan kategori dan variabelnya dengan cara pilih kolom JENIS MADU kemudian dipilih *level name* yang sesuai dengan jenis madu dan kadar pencampurannya. Proses pengisian jenis madu dapat dilihat pada Gambar 20 di bawah ini:

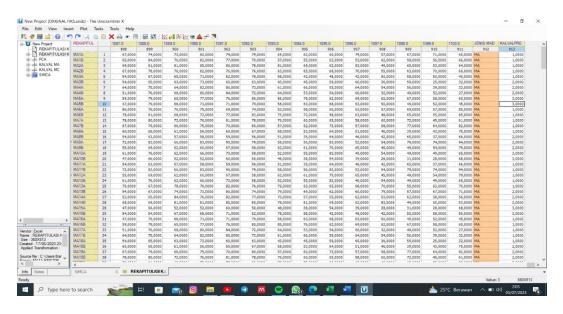


Gambar 20. Pengelompokan sampel sesuai jenisnya

Selanjutnya membuat kolom KALVALPRED untuk mengelompokkan sampel Kalibrasi, Validasi dan Prediksi. Dengan cara klik kolom JENIS MADU kemudian pilih *Edit, Insert* lalu pilih *Rows/Coloums*. Kemudian pada kolom paling atas diisi dengan KALVALPRED selanjutnya secara berurutan setiap sampel diisi dengan angka 1 (Kalibrasi) sebanyak 5 sampel, angka 2 (Validasi) sebanyak 3 sampel dan angka 3 (Prediksi) sebanyak 2 sampel. Lakukan cara ini sampai sampel yang terakhir. Proses pembuatan kolom dan pengisian KALVALPRED dapat dilihat pada Gambar 21 dan Gambar 22 di bawah ini :

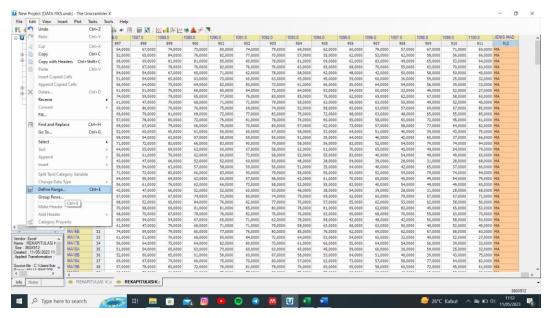


Gambar 21. Membuat kolom Kalibrasi, Validasi dan Prediksi setiap sampel

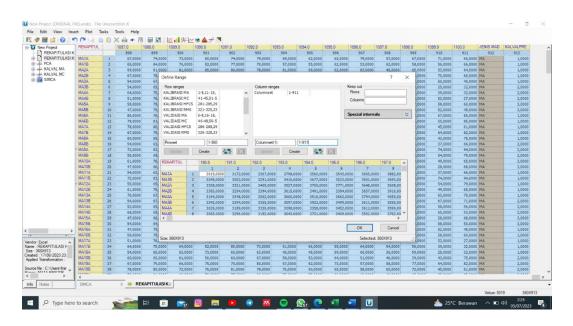


Gambar 22. Pengisian Kalibrasi, Validasi dan Prediksi setiap sampel setiap sampel

Selanjutnya masing-masing sampel dikelompokkan sesuai dengan nilai Kalibrasi, Validasi dan Prediksi. Dengan klik *Edit* lalu pilih *Define Range*, kemudian pada kolom *Rowset* diisi dengan nilai KALVALPRED pada setiap sampel dan pada kolom *Coloumnset* diisi 1-193 kemudian pilih *create* lalu *OK*. Proses pengelompokan sampel KALVALPRED dapat dilihat pada Gambar 23 dan Gambar 24 di bawah ini :

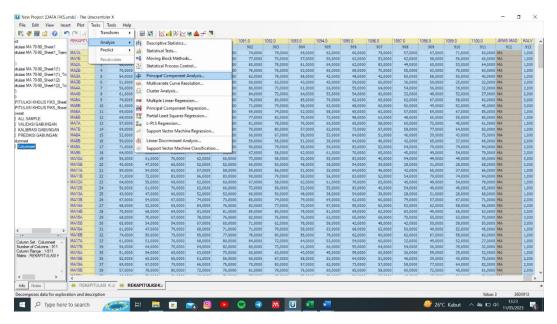


Gambar 23. Proses define range



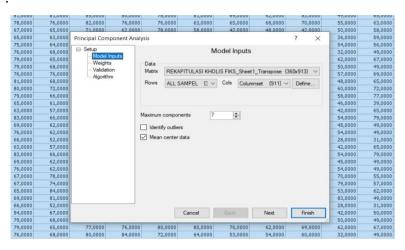
Gambar 24. Proses pengelompokan sampel Kalibrasi, Validasi dan Prediksi setiap sampel

Setelah diperoleh sampel kalibrasi, validasi dan prediksi kemudian data dapat dianalisis dengan metode PCA (*principal component analysis*). Klik menu *Tasks*, lalu *Analysze* dan pilih P*rincipal Component Analysis*. Proses analisis PCA dapat dilihat pada Gambar 25 di bawah ini :

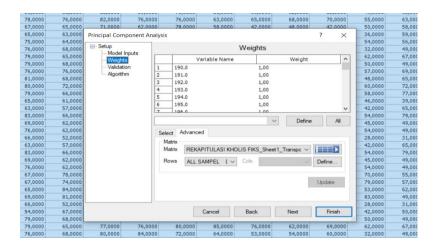


Gambar 25. Proses analisis PCA

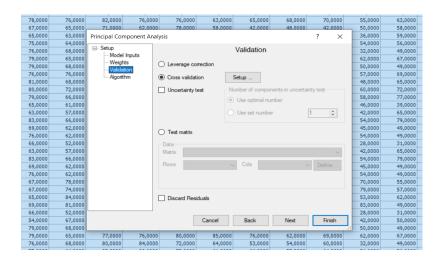
Kemudian muncul menu *Setup* dengan submenu *Model Input* pilih *Rows ALL SAMPLE* dan *Cols* pilih *columnset* {911}, lalu klik *next* pada submenu *Weight* klik *advanced* lalu *Rows* pilih *ALL SAMPLE*, klik *next* pada submenu *Validation* pilih *Cross validation*, *kemudian* klik *next* pada submenu *Algorithm* pilih *NIPALS* lalu klik *finish*. Proses PCA ini dapat dilihat pada Gambar 26, 27, 28 dan 29 di bawah ini:



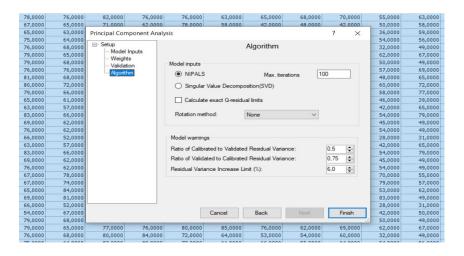
Gambar 26. Submenu model input



Gambar 27. Submenu weight

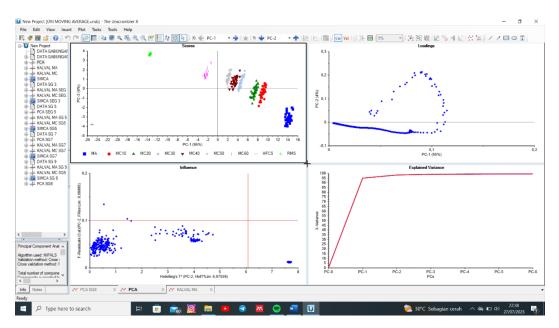


Gambar 28. Submenu validation



Gambar 29. Submenu algorithm

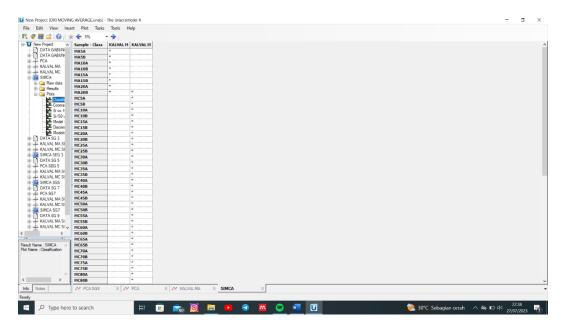
Hasil dari proses analisis PCA dapat dilihat pada Gambar 30, selanjutnya dapat dibangun model klasifikasi menggunakan metode SIMCA.



Gambar 30. Hasil analisis menggunakan PCA

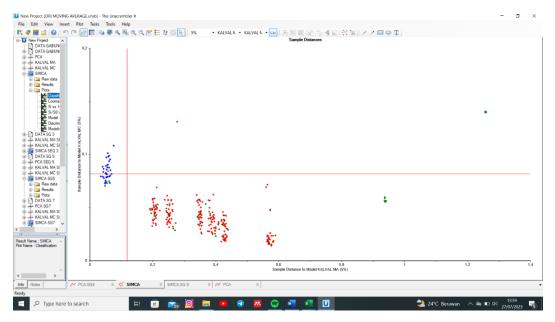
3.8.2 Membuat Model Menggunakan Analisis Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)

SIMCA merupakan salah metode diskriminasi dan klasifikasi berbasis data terbimbing. Setelah diperoleh hasil PCA kemudian dibangun model SIMCA untuk mengevaluasi kemampuan model SIMCA yang dibangun dalam mengklasifikasikan sampel madu sesuai kelasnya yaitu madu asli atau madu campuran. Dalam membangun model SIMCA ini diperlukan sampel kalibrasi dan validasi untuk membuat model SIMCA kemudian sampel prediksi untuk meguji kekuatan klasifikasi dari model tersebut. Setelah diperoleh hasil klasifikasi dari pengujian model kemudian dilakukan perhitungan *confusion matrix*. Hasil dari pegujian model menggunakan SIMCA dapat dilihat pada Gambar 31 di bawah ini:



Gambar 31. Tabel klasifikasi MA dan MC

Gambar di atas menunjukkan hasil pengujian model SIMCA berupa tabel klasifikasi menggunakan sampel kalval MA dan kalval MC. Dari tabel tersebut model ini sudah dapat mengklasifikasikan antara MA dan MC namun semua sampel belum terklasifikasi sesuai kelasnya. Terdapat sampel MA yang masuk ke dalam kelas MC dan sebaliknya. Oleh karena itu, perlu dilakukan *pretreatmen* guna mengurangi *noise* dan hamburan cara supaya semua sampel dapat terklasifikasi sesuai dengan kelasnya masing-masing. Selain itu, terdapat juga *Cooman's plot* yang memiliki klasifikasi kuadran I sampai IV yang dipisahkan oleh garis *membership*. Semua sampel akan terletak pada kuadran masing-masing sesuai dengan kelasnya. Hasil *Cooman's plot* dapat dilihat pada Gambar 32 di bawah ini:



Gambar 32. Cooman's plot

Hasil dari *Cooman's plot* di atas menunjukkan banyak sampel MA yang tidak masuk pada kelasnya, hal ini terjadi karena adanya *noise* sehingga perlu dilakukan *pretreatment* untuk menghasilkan data yang lebih akurat dari data *original* dengan cara mengurangi *noise* dan interferensi pada gelombang spektra. *Preetreatment* yang digunakan ada empat yaitu *Smoothing Moving Average, Multiplicative Scatter Correction* (MSC), *Standard Normal Variate* (SNV) dan *Mean Normalization* (MN). Dari keempat *pretreatment* tersebut dipilih yang paling akurat setelah melalui proses perhitungan *confusion matrix*.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- 1. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dibuktikan bahwa metode analisis UV-Vis spektroskopi dengan metode SIMCA dapat mengidentifikasi pemalsuan terhadap madu *Tetrigona apicalis* dengan nectar dari *Agathis dammara* yang dicampur dengan sirup jagung (HFCS) dan sirup beras (RMS) berdasarkan spektra dari nilai absorbansi yang diperoleh
- 2. Secara umum spektra madu *Tetrigona apicalis* asli (MA) dan madu *Tetrigona apicalis* campuran (MC) memiliki nilai absorbansi yang berbeda-beda. Semakin tinggi level pencampuran maka nilai absorbansinya semakin rendah.
- 3. Model klasifikasi PCA yang dibangun menggunakan data spektra *original* menampilkan pola sampel pada *plot score* secara terpisah sesuai dengan kelas dan level pencampurannya, dengan nilai PC-1 sebesar 95% dan PC-2 sebesar 4% sehingga mampu menjelaskan varian data secara kumulatif sebesar 99%. Pada model klasifikasi PCA menggunakan data *pretreatment Smoothing moving average 9 segment* dapat menampilkan *plot score* secara terpisah sesuai dengan kelas dan level pencampurannya, dengan nilai PC-1 sebesar 96% dan PC-2 sebesar 3% sehingga mampu menjelaskan varian data secara kumulatif sebesar 99%

- 4. Pada visualisasi *x-loading* terbentuk puncak gelombang pada panjang gelombang 280 nm dan 293 nm yang diduga mengidentifikasi absorbansi dari senyawa *flavonoid*, *fenolik* dan *polifenol*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rahayu (2012), senyawa *flavonoid*, *fenolik* dan *polifenol* berada pada rentang panjang gelombang 254-366 nm
- 5. Performansi model SIMCA dalam mengklasifikasi sampel yang dievaluasi menggunakan matriks konfusi pada data *original* model klasifikasi dikategorikan sebagai *good classification* karena titik koordinat kurva ROC mendekati 0,1 yaitu pada koordinat 0,0.98. Sedangkan performansi model SIMCA dalam mengklasifikasi sampel menggunakan data *pretreatment smoothing moving average 9 segments* model klasifikasi dikategorikan sebagai *excellent classification* karena titik koordinat pada kurva ROC tepat pada koordinat 0,1.

5.2 Saran

Pada penelitian ini, penulis menyarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan berbagai jenis madu untuk mengetahui senyawa penting yang berkontribusi dalam mengkarakterisasi jenis madu tertentu atau menambah jenis pemanis buatan yang berpotensi sebagai bahan pemalsuan madu.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Zulfa, M. H. (2019). Studi Diskriminasi Teh Hijau dan Teh Hitam di PT. Pagilaran Batang Menggunakan Uji Sensori dan Metode UV-Vis Spectrocsopy. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Andriyani, M. (2019). Penggunaan UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Diskriminasi Tiga Kopi Robusta Lampung Berdasarkan Jenis Pupuk. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Anggraini, A. D. (2006). *Potensi Propolis Lebah Madu Trigona spp. Sebagai Bahan Antibakteri*. Skripsi Sarjana Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan IPA, IPB, Bogor.
- Apratiwi, N. (2016). Studi Penggunaan UV-Vis Spectroscopy Untuk Identifikasi Campuran Kopi Luwak dengan Kopi Arabika. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Bogdanov, S. (1997). Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey. *LWT - Food Science and Technology*, 30(7), 748–753. https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0259
- Brackett, R. (2008). High-Fructose Corn Syrup A Guide for Consumers, Policymakers and The Media. GMA.
- Bradbear, N. (2009). Bees and their role in forest livelihoods: A guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, processing and marketing of their products. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 19.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-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
- Chan, C. C., Lam, H., Lee, Y. C., & Zhang, X. (Eds.). (2004). Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification (1st ed.). Wiley. https://doi.org/10.1002/0471463728

- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051
- Dhurhania, C. E., & Novianto, A. (2019). *Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (Myrmecodia pendens)*. Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, *5*(2), 62. https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i22018.62-68
- Djajasaputra, M. R. S. (2010). *Potensi budidaya lebah Trigona dan pemanfaatan propolis sebagai antibiotik alami untuk sapi PO*. IPB. http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/63256
- Fatimah, S., & Yanlinastuti, Y. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis.: Vol. 9 (17). Pengelolaan Instalasi Nuklir.
- Galindo-Prieto, B. (2017). Novel variable influence on projection (VIP) methods in OPLS, O2PLS, and OnPLS models for single- and multi-block variable selection: VIPOPLS, VIPO2PLS, and MB-VIOP methods. Umeå University.
- Gowen, A. A., O'Donnell, C. P., Cullen, P. J., & Bell, S. E. J. (2008). Recent applications of Chemical Imaging to pharmaceutical process monitoring and quality control. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(1), 10–22. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.10.013
- Harjanto, S., Mujianto, M., & Ramlan, A. (n.d.). Budidaya Lebah Madu Kelulut Sebagai Alternatif Mata Pencaharian Masyarakat.
- Hoo, Z. H., Candlish, J., & Teare, D. (2017). What is an ROC curve? *Emergency Medicine Journal*, *34*(6), 357–359. https://doi.org/10.1136/emermed-2017-206735
- 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
- Kakkar, S., & Bais, S. (2014). A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. *ISRN Pharmacology*, 2014, 1–9. https://doi.org/10.1155/2014/952943

- Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011). Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *1*(2), 154–160. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6
- Michener, C. D. (2007). *The bees of the world (2nd ed)*.). Johns Hopkins University Press.
- Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014a). Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of Antioxidant Capacity. *BioMed Research International*, 2014, 1–11. https://doi.org/10.1155/2014/737490
- Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014b). Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of Antioxidant Capacity. *BioMed Research International*, 2014, 1–11. https://doi.org/10.1155/2014/737490
- Octaviani, T., Guntarti, A., & Susanti, H. (n.d.). Determination \Of β- Carotene in Some Types Of Chili (Genus Capsicum) Using Visible Spectrophotometry Method. *4*(2).
- Parker, K., Salas, M., & Nwosu, V. C. (n.d.). *High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns.*
- Rahayu, C. (n.d.). Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Kandungan Senyawa Total Polifenol Dan Flavonoid Madu Paliasa Secara Spektrofotometri UV-Vis.
- 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
- Schuhfried, E., Sánchez del Pulgar, J., Bobba, M., Piro, R., Cappellin, L., Märk, T. D., & Biasioli, F. (2016). Classification of 7 monofloral honey varieties by PTR-ToF-MS direct headspace analysis and chemometrics. *Talanta*, 147, 213–219. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.062
- Suhandy, D., & Yulia, M. (2019). *Tutorial Analisis Data Spektra Menggunakan The Unscrambler*. Graha Ilmu.
- Suhandy, D., Yulia, M., Ogawa, Y., & Kondo, N. (2018). *Diskriminasi Kopi Lanang Menggunakan UV-Visible Spectroscopy dan Metode SIMCA*. *Agritech*, *37*(4), 471. https://doi.org/10.22146/agritech.12720

- Vercellis, C. (2009). *Business Intelligence: Data Mining and Optimization for Decision Making* (1st ed.). Wiley. https://doi.org/10.1002/9780470753866
- Widiarti, A., & Kuntadi, K. (2012). Budidaya Lebah Madu Apis mellifera L. Oleh Massyarakat Pedesaan Kabupaten Pati, Jawa. Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam, 9(4), 351–361. https://doi.org/10.20886/jphka.2012.9.4.351-361