

**AUTENTIKASI MADU LEBAH *Heterotrigona itama* DENGAN NEKTAR  
*Acacia mangium* DAN *Calliandra calothyrsus* MENGGUNAKAN  
PORTABLE LED-BASED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

**(SKRIPSI)**

**Oleh**

**DANANG RAHMADDIANSYAH**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG**

**2024**

## ABSTRAK

### **AUTENTIKASI MADU LEBAH *Heterotrigona itama* *Acacia mangium* DAN *Calliandra calothyrsus* MENGGUNAKAN PORTABLE LED-BASED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

Oleh

**DANANG RAHMADDIANSYAH**

Madu yang dihasilkan dari lebah *Heterotrigona itama* memiliki manfaat nutrisi dan kesehatan yang baik untuk tubuh. Lebah madu *Trigona* menghasilkan jumlah madu yang lebih sedikit daripada *Apis sp.* Lebah *Apis sp.* menghasilkan hingga satu kilogram madu per tahun, sedangkan lebah madu *Trigona* menghasilkan kurang lebih satu kilogram madu per tahun sehingga harga madu *Heterotrigona itama* menjadi mahal dan dapat mendorong munculnya pemalsuan. Penelitian ini menggunakan *portable LED-based fluorescence spectroscopy* dan metode SIMCA untuk mengautentikasi madu lebah *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* yang dicampur dengan sirup beras. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel madu murni *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* (MA,  $n = 50$ ) dan nektar *Calliandra calothyrsus* (MC,  $n = 50$ ) dengan jumlah masing-masing sampel 50, selain itu terdapat 120 sampel untuk jumlah madu campuran *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* (MAC,  $n = 60$ ) dan nektar *Calliandra calothyrsus* (MCC,  $n = 60$ ). Alat ini mampu mengukur spektrum emisi, penyerapan atau transmisi dengan rentang berkisar dari 370 hingga 810 nm dengan resolusi 5 nm. Setelah diperoleh hasil spektra selanjutnya membuat model serta mengujinya dengan metode PCA dan SIMCA. Hasil pengujian PCA pada spektra *original* PC1 dan PC-2 pada sampel MA-MAC dan MC-MCC berjumlah 98% dan 95%. Hasil PCA terbaik diperoleh dengan cara perbaikan spektra menggunakan beberapa perlakuan, dan diperoleh perbaikan *multiplicative scatter correction* (MSC) *smoothing moving average* (SMA) 9S dan *smoothing moving average* 5S dengan jumlah nilai PC-1 dan PC-2 sebesar 95% dan 98%. Hasil analisis grafik yang dilakukan pada sampel MA, MAC, MC, MCC, dan SB menunjukkan bahwa terdapat tiga puncak gelombang pada 358 nm, 485 nm, dan 720 nm. Ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik, riboflavin, dan klorofil. Hasil klasifikasi model SIMCA pada MA-MAC mendapatkan nilai akurasi, sensitivitas dan

spesifisitas sebesar 100% serta nilai *error* 0%. Sedangkan pada klasifikasi model SIMCA pada MC-MCC mendapatkan nilai akurasi sebesar 65%, sensitivitas sebesar 62,2%, spesifisitas sebesar 100% dan *error* sebesar 35%. Berdasarkan kurva ROC yang menjelaskan hubungan spesifisitas dan sensitivitas, memperoleh klasifikasi sangat baik karena semakin mendekati garis Y (0,1). Sehingga dapat mengklasifikasikan antara madu murni *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* (MA) dan madu campuran (MAC) dengan sangat baik. Sedangkan pada madu *Calliandra calothyrsus* (MC) dan madu campuran (MCC) diklasifikasikan sebagai baik.

**Kata kunci:** Madu *Heterotrigona itama*, *Fluorescence Spectroscopy*, LED, *Portable LED Based Fluorescence Spectroscopy*, Sirup Beras, PCA, SIMCA

## ABSTRACT

### THE AUTHENTICATION OF *Heterotrigona itama* WITH TWO DIFFERENT BOTANICAL ORIGIN (*Acacia mangium* AND *Calliandra calothyrsus*) USING PORTABLE LED-BASED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY

By

DANANG RAHMADDIANSYAH

Honey produced from *Heterotrigona itama* bees has nutritional and health benefits that are good for the body. *Trigona* honey bees produce a smaller amount of honey than *Apis sp.* *Apis sp.* bees produce up to kilograms of honey per year, while *Trigona* honey bees produce approximately one kilogram of honey per year, so the price of *Heterotrigona itama* honey is expensive and can encourage counterfeiting. This study uses portable LED-based fluorescence spectroscopy and the SIMCA method to authenticate *Heterotrigona itama* bee honey with *Acacia mangium* and *Calliandra calothyrsus* nectar mixed with rice syrup. The samples used in this study are pure honey samples of *Heterotrigona itama* with *Acacia mangium* nectar (MA,  $n = 50$ ) and *Calliandra calothyrsus* nectar (MC,  $n = 50$ ) with a total of 50 samples each, in addition there are 120 samples for the amount of adulteration honey of *Heterotrigona itama* with *Acacia mangium* nectar (MAC,  $n = 60$ ) and *Calliandra calothyrsus* nectar (MCC,  $n = 60$ ). This tool is capable of measuring emission, absorption or transmission spectra with a range from 370 to 810 nm with a resolution of 5 nm. After obtaining the spectra results, then make a model and test it with PCA and SIMCA methods. The results of PCA testing on the original spectra of PC1 and PC-2 on MA-MAC and MC-MCC samples amounted to 98% and 95%. The best PCA results were obtained by improving the spectra using several treatments, and obtained the improvement of MSC smoothing moving average 9S and smoothing moving average 5S with the number of PC-1 and PC-2 values of 95% and 98%. The results of graph analysis carried out on MA, MAC, MC, MCC, and SB samples show that there are three wave peaks at 358 nm, 485 nm, and 720 nm. This indicates phenolic compounds, riboflavin, and chlorophyll. The SIMCA model classification results on

MA-MAC get an accuracy, sensitivity and specificity value of 100% and an error value of 0%. While the SIMCA model classification on MC-MCC gets an accuracy value of 65%, sensitivity of 62,2%, specificity of 100% and an error of 35%. Based on the ROC curve that explains the relationship between specificity and sensitivity, the classification is very good because it is getting closer to the Y line (0,1). So it can classify between pure *Heterotrigona itama* honey with *Acacia mangium* nectar (MA) and adulteration honey (MAC) very well. While *Calliandra calothyrsus* honey (MC) and adulteration honey (MCC) are classified as good.

Keywords: *Heterotrigona itama* honey, Fluorescence Spectroscopy, LED, Portable LED Based Fluorescence Spectroscopy, rice syrup, PCA, SIMCA

**AUTENTIKASI MADU LEBAH *Heterotrigona itama* DENGAN NEKTAR  
*Acacia mangium* DAN *Calliandra calothyrsus* MENGGUNAKAN  
PORTABLE LED-BASED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

**Oleh**

**Danang Rahmaddiansyah**

**Skripsi**

**Sebagai salah satu syarat mencapai gelar  
SARJANA TEKNIK**

**Pada**

**Jurusan Teknik Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

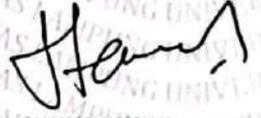
**MENGESAIHKAN**

**1. Tim Penguji**

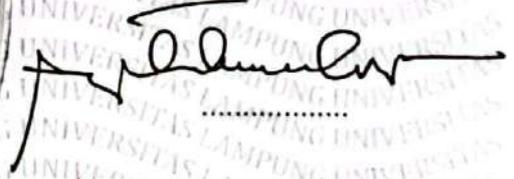
**Ketua : Prof. Dr.Agr.Sc. Diding Suhandy, S.T.P., M.Agr** .....



**Sekretaris : Dr. Ir. Tamrin, M.S.**



**Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Sapto Kuncoro, M.S.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Dr. H. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**

**NIP. 196411181989021002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 02 Juli 2024**

Judul Skripsi : **AUTENTIKASI MADU LEBAH *Heterotrigona itama* DENGAN NEKTAR *Acacia mangium* DAN *Calliandra calothyrsus* MENGGUNAKAN PORTABLE LED-BASED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

Nama Mahasiswa : **Danang Rahmaddiansyah**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2014071057**

Program Studi : **Teknik Pertanian**

Fakultas : **Pertanian**



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

**Dr. Ir. Tamrin, M. S.**  
**NIP. 196212311987031030**

**2. Ketua Jurusan Teknik Pertanian**

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

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Danang Rahmaddiansyah      NPM 2014071057

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) Dr. Ir. Tamrin, M. S. 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 dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung,      Juni 2024

Yang membuat pernyataan



Danang Rahmaddiansyah

NPM. 2014071057

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, Kelurahan Gedong Air, Kecamatan Tanjung Karang Barat, Kabupaten Bandar Lampung, Provinsi Lampung pada tanggal 26 Mei 2001.

Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Sugeng dan Ibu Sunarti. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Gedong Air dan lulus pada tahun 2013.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 10 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2016 serta pendidikan Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) diselesaikan di SMK Negeri 8 Bandar Lampung, jurusan Rekayasa Perangkat Lunak pada tahun 2019.

Tahun 2020, 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 Persatuan Mahasiswa Teknik Pertanian (PERMATEP) sebagai Anggota Bidang Informasi dan Komunikasi periode 2022 dan pernah menjabat sebagai Ketua Bidang Informasi dan Komunikasi periode 2023.

Pada tanggal 07 Januari sampai 12 Februari 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode 1 tahun 2023 di Desa Penggawa V, Kecamatan Way Krui, Kabupaten Pesisir Barat, Provinsi Lampung selama 40 hari. Kemudian, pada bulan Juni sampai Agustus 2023, penulis melakukan kegiatan Praktik Umum (PU) di Balai Penerapan Standarisasi Instrumen Pertanian Lampung dengan judul “Analisa Kinerja dan Perawatan Mesin Roasting Kopi di Kebun Percobaan Natar Balai Penerapan Standar Instrumen Pertanian (BPSIP) Lampung”.

# *Persembahkan*

*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**

*Bapakku Sugeng dan Ibuku Sunarti yang telah selalu mengupayakan segala yang dimiliki baik berupa materi, tenaga, pikiran serta doa demi keberhasilanku*

## **Keluargaku**

*Kakakku Andika Rio Sempana, Adikku Nurul Aisyah Fajra, Bapak dan Ibu keluarga Sumiyati serta keluarga besarku yang selalu memberikan doa, dukungan, materi dan semangat yang tiada henti.*

Serta

**“Kepada Almamater Tercinta”**

**Teknik Pertanian Universitas Lampung 2020**

## SANWANCANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya 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 “**Autentikasi Madu Lebah *Heterotrigona itama* Dengan Nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* Menggunakan Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy**” 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 Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., 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 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. Bapak Dr. Ir. Tamrin, M.S., selaku pembimbing kedua sekaligus Pembimbing Akademik (PA) 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. Sapto Kuncoro, M.S., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan masukan sebagai perbaikan selama penulis menyusun skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pengalamannya.
7. Kedua orang tuaku Bapak Sugeng dan Ibu Sunarti, Kakakku Andika Rio Sempana, Adikku Nurul Aisyah Fajra, serta seluruh keluarga besar atas semua doa, kasih sayang, dukungan dan nasihat yang telah diberikan. Terima kasih banyak.
8. Gustuty Indriyani yang telah memberikan bantuan, motivasi, waktu dan dukungannya dalam proses penyelesaian skripsi ini.
9. Fitria Amelia Damayanti, Kak Wahyudi, Kak Kholis dan Kak Dimas yang telah berbaik hati membantu dalam proses penyelesaian data penelitian ini.
10. Teman-teman seperjuangan skripsi Budi, Tirta, Pipit dan Zaki atas kerjasamanya selama penelitian berlangsung.
11. Teman-teman seperjuangan Teknik Pertanian 2020 yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuannya selama menempuh pendidikan.

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, Juli 2024

**Danang Rahmaddiansyah**  
NPM. 2014071057

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>v</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.4. Manfaat Penelitian .....	5
1.5. Batasan Masalah .....	5
1.6. Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1. Lebah <i>Trigona</i> .....	6
2.2. Madu .....	8
2.3. Penggolongan Madu .....	9
2.4. Manfaat dan Kandungan Madu.....	10
2.5. Sirup Beras.....	11
2.6. Tanaman C3 dan C4.....	12
2.7. <i>Portable LED-Based Fluorescence Spectrometer</i> .....	14
2.8. Metode Kemometrika .....	16
2.8.1. <i>Principal Component Analysis (PCA)</i> .....	16
2.8.2. <i>Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)</i> .....	17
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1. Waktu dan Tempat.....	18
3.2. Alat dan Bahan.....	18
3.3. Prosedur penelitian.....	18
3.3.1. Persiapan Alat .....	19
3.3.2. Persiapan Bahan.....	20
3.3.3. Pengukuran Spektra dengan <i>Portable LED-based Fluorescence Spectroscopy</i> .....	23
3.3.4. Membuat dan Menguji Model .....	25
3.4. Analisis Data.....	25

3.4.1. <i>Principal Component Analysis (PCA)</i> .....	26
3.4.2. Membangun Model Menggunakan Analisis <i>Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)</i> .....	31
3.4.3. Menguji Model Menggunakan Matriks Konfusi .....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>33</b>
4.1. Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> dengan Nektar <i>Acacia mangium</i> dan <i>Calliandra calothyrsus</i> Asli dan Campuran .....	33
4.1.1. Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> dengan nektar <i>Acacia mangium</i> dan <i>Calliandra calothyrsus</i> Menggunakan Data Spektra <i>Original</i> .....	34
4.1.2. Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> dengan nektar <i>Acacia mangium</i> dan <i>Calliandra calothyrsus</i> Menggunakan Data Spektra <i>Pretreatment MSC + SMA 9 Segment</i> .....	38
4.1.3. Analisis Spektra Madu <i>Heterotrigona itama</i> dengan nektar <i>Acacia mangium</i> dan <i>Calliandra calothyrsus</i> Menggunakan Data Spektra <i>Pretreatment SMA 5 Segment</i> .....	42
4.2. Hasil <i>Principal Component Analysis (PCA)</i> .....	45
4.2.1. Hasil PCA Terhadap Data <i>Original</i> .....	46
4.2.2. Hasil PCA Terhadap Data <i>Pretreatment MSC + SMA 9 Segment</i> ..	49
4.2.3. Hasil PCA Terhadap Data <i>Pretreatment SMA 5 Segment</i> .....	52
4.3. Model <i>Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA)</i> .....	55
4.3.1. Hasil Model SIMCA Menggunakan Data <i>Original</i> .....	56
4.3.2. Hasil Model SIMCA Menggunakan Data <i>Pretreatment MSC + SMA 9 Segment</i> .....	58
4.3.3. Hasil Model SIMCA Menggunakan Data <i>Pretreatment SMA 5 Segment</i> .....	60
4.4. Klasifikasi Menggunakan Sampel Baru (sampel prediksi) .....	61
4.4.1. Klasifikasi Menggunakan Data <i>Original</i> .....	62
4.4.2. Klasifikasi Menggunakan Data <i>Pretreatment MSC + SMA 9 Segment</i> .....	64
4.4.3. Klasifikasi Menggunakan Data <i>Pretreatment SMA 5 Segment</i> .....	65
4.5. Kurva <i>Receiver Operating Characteristic (ROC)</i> .....	66
4.5.1. Kurva ROC Menggunakan Data <i>Original</i> .....	66
4.5.2. Kurva ROC Menggunakan Data <i>Pretreatment MSC + SMA 9 Segment</i> .....	69
4.5.3. Kurva ROC Menggunakan Data <i>Pretreatment SMA 5 Segment</i> .....	71
<b>V. KESIMPULAN</b> .....	<b>73</b>
5.1. Kesimpulan .....	73
5.2. Saran .....	74
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>75</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>80</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<i>Teks</i>	<b>Halaman</b>
	<i>Lampiran</i>	
1.	Penomoran sampel madu dengan sirup beras .....	22
2.	Matriks Konfusi .....	32
3.	Hasil perhitungan matriks konfusi serta nilai PC pada model MA dan MAC menggunakan beberapa kombinasi <i>pretreatment</i> .....	39
4.	Hasil perhitungan matriks konfusi serta nilai PC pada model MC dan MCC menggunakan beberapa kombinasi <i>pretreatment</i> .....	42
5.	Matriks konfusi model SIMCA MA dan MAC data <i>original</i> .....	62
6.	Matriks konfusi model SIMCA MC dan MCC data <i>original</i> .....	63
7.	Matriks konfusi model SIMCA MA dan MAC data MSC + SMA 9S.....	64
8.	Matriks konfusi model SIMCA MC dan MCC data SMA 5 <i>segment</i> .....	65
9.	Hasil klasifikasi MA dan MAC menggunakan data <i>original</i> pada beberapa level signifikansi.....	67
10.	Hasil klasifikasi MC dan MCC data <i>original</i> pada beberapa level signifikansi .....	68
11.	Hasil klasifikasi MA dan MAC data <i>pretreatment</i> MSC + SMA 9 <i>segment</i> pada beberapa level signifikansi .....	69
12.	Hasil klasifikasi MC dan MCC data <i>pretreatment</i> SMA 5 <i>segment</i> pada beberapa level signifikansi .....	71
13.	Tabel istilah (Suhandy dan Yulia, 2019).....	81
14.	Klasifikasi model SIMCA pada model MA dan MAC menggunakan spektra <i>original</i> .....	83
15.	Klasifikasi model SIMCA pada model MC dan MCC menggunakan spektra <i>original</i> .....	84

16. Klasifikasi model SIMCA pada model MA dan MAC menggunakan spektra MSC + SMA 9 <i>segment</i> .....	85
17. Klasifikasi model SIMCA pada model MA dan MAC menggunakan spektra SMA 5 <i>segment</i> .....	86

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Lebah <i>Heterotrigona itama</i> (Sumber Achyani dan Dimas, 2019).....	7
2.	Sirup beras.....	12
3.	Fluorescence Spectroscopy (Sumber GoyaLab, 2024) .....	15
4.	Diagram Jablonski (Sumber Lakowicz, 2006).....	15
5.	Diagram alir prosedur penelitian.....	19
6.	Pemanasan sampel menggunakan <i>water bath</i> .....	20
7.	Pengadukan sampel menggunakan <i>magnetic stirrer</i> .....	21
8.	Diagram alir persiapan bahan.....	23
9.	Diagram alir pengambilan spektra .....	24
10.	Proses pengambilan spektra .....	25
11.	Penggabungan data menggunakan Excel .....	27
12.	Proses <i>import</i> data gabungan ke dalam <i>The Unscrambler</i> .....	27
13.	Proses <i>transpose</i> data .....	28
14.	Proses pembuatan <i>category variable</i> sesuai dengan jenis sampelnya .....	29
15.	Proses pengisian <i>level name</i> .....	29
16.	Proses pengisian <i>define ranges</i> .....	30
17.	Proses Analisis PCA pada <i>The Unscrambler</i> .....	31
18.	Grafik intensitas fluoresensi nilai spektra <i>original</i> .....	34
19.	Grafik intensitas fluoresensi nilai spektra MA dan MAC <i>original</i> .....	36
20.	Grafik intensitas fluoresensi nilai spektra MC dan MCC <i>original</i> .....	37
21.	Grafik intensitas fluoresensi nilai spektra MSC + SMA 9 <i>Segment</i> .....	40
22.	Grafik intensitas fluoresensi nilai spektra MA dan MAC MSC + SMA 9 <i>segment</i> .....	41

23. Grafik intensitas fluoresensi spektra SMA 5 <i>Segment</i> .....	44
24. Grafik intensitas fluoresensi spektra MC dan MCC <i>original</i> + SMA 5 <i>segment</i> .....	45
25. Hasil PCA data <i>original</i> yang diukur berdasarkan sampel MA, MAC, MC, MCC dan SB .....	46
26. Grafik <i>Loading</i> menggunakan data <i>original</i> .....	48
27. Hasil PCA data spektra emisi MSC + SMA 9 <i>segment</i> berdasarkan sampel MA, MAC, MC, MCC dan SB .....	50
28. Grafik <i>X-Loadings</i> menggunakan data <i>pretreatment</i> MSC +SMA 9S .....	51
29. Hasil PCA data spektra emisi SMA 5 <i>segment</i> .....	53
30. Grafik <i>X-Loadings</i> menggunakan data <i>pretreatment</i> SMA 5 <i>segment</i> .....	54
31. Model SIMCA MA data <i>original</i> .....	56
32. Model SIMCA MAC data <i>original</i> .....	56
33. Model SIMCA MC data <i>original</i> .....	57
34. Model SIMCA MCC data <i>original</i> .....	57
35. Model SIMCA MA data <i>pretreatment</i> MSC + SMA 9 <i>segment</i> .....	59
36. Model SIMCA MAC data <i>pretreatment</i> MSC + SMA 9 <i>segment</i> .....	59
37. Model SIMCA MC data <i>pretreatment</i> SMA 5 <i>segment</i> .....	60
38. Model SIMCA MCC data <i>pretreatment</i> SMA 5 <i>segment</i> .....	61
39. Kurva ROC MA dan MAC data spektra <i>original</i> .....	67
40. Kurva ROC MA dan MAC data spektra <i>original</i> .....	68
41. Kurva ROC klasifikasi berdasarkan kelas MA dan MAC menggunakan data spektra <i>pretreatment</i> MSC + SMA 9 <i>segment</i> .....	70
42. Kurva ROC klasifikasi berdasarkan kelas MC dan MCC menggunakan data spektra <i>pretreatment</i> SMA 5 <i>segment</i> .....	71
<i>Lampiran</i>	
43. Proses pengambilan data .....	87
44. Alat <i>LED portable fluorescence spectroscopy</i> .....	87
45. Sampel madu yang diletakkan di gelas ukur .....	88
46. Tampilan <i>holder</i> yang berisi dengan madu .....	88

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Golongan lebah yang menghasilkan madu disebut lebah madu (*honey bee*). Tidak semua jenis lebah dapat menghasilkan madu atau disebut sebagai lebah madu (*honey bee*). Hanya tiga golongan lebah yang diketahui dapat menghasilkan madu, yaitu *Bombini* (*bumble bee*), *Meliponini* (*stingless bee*), dan *Apini* (*true honey bee*) (Supeno dan Erwan, 2016).

Karena perbedaan suku dan bahasa di Indonesia, lebah tanpa sengat (*stingless bees*) memiliki nama yang berbeda di setiap daerah. *Kelulut* (Riau dan Sumatera Selatan), *galo-galo* (Sumatera Barat), *teuweul* (Jawa Barat dan Banten), *klanceng* (Jawa), *Emuk* (Sulawesi Selatan), dan sebagainya adalah nama-nama lebah tanpa sengat yang umum di beberapa wilayah. Setiap spesies lebah tanpa sengat dapat ditenakkan, tetapi *T. laeviceps* / kelulut nasi dan *H. itama* / kelulut beruang adalah yang paling umum dan banyak ditenakkan di Indonesia (Priawandiputra, dkk., 2020).

Madu adalah cairan alami dengan rasa manis yang dibuat oleh lebah dari ekskresi serangga, sari bunga tanaman (*floral nectar*), bagian lain dari tanaman (*ekstra floral nectar*), atau sari bunga tanaman lainnya (BSN, 2004). Pada dasarnya, madu terdiri dari berbagai gula, terutama fruktosa dan glukosa, serta zat tambahan seperti asam organik, enzim, dan partikel padat yang berasal dari pengumpulan madu. Warna madu berkisar dari yang hampir tidak berwarna hingga yang coklat tua. Konsistensinya dapat cair, kental, atau sebagian mengkristal. Mereka

memiliki rasa dan aroma yang berbeda, tetapi semuanya berasal dari tumbuhan. (Codex Alimentarius Commission, 2001). Lebah madu *Trigona* menghasilkan jumlah madu yang lebih sedikit daripada *Apis sp.* Lebah *Apis sp.* menghasilkan hingga kilogram madu per tahun, sedangkan Lebah Madu *Trigona* menghasilkan kurang lebih satu kilogram madu per tahun (Achyani dan Dimas, 2019). Resin tumbuhan dan bunga yang dihirup lebah menciptakan aroma madu *Trigona* yang unik, yang memiliki rasa manis dan asam seperti lemon (Fatoni, 2008).

Madu dikonsumsi di seluruh dunia karena kualitas organoleptiknya dan manfaat nutrisi dan kesehatannya. Ini adalah sumber mineral makro (Ca, Fe, dan Mg) dan elemen jejak (Cu, Mn, dan Zn) yang baik untuk makanan dewasa (Pohl *et al.*, 2012). Para atlet sering mengonsumsi madu sebagai sumber karbohidrat sebelum dan sesudah latihan ketahanan. Selain itu, indeks glikemik madu yang lebih rendah mempermudah pengobatan diabetes tipe I dan II karena meningkatkan konsentrasi hemoglobin, merangsang sekresi insulin, mengurangi kadar glukosa darah, dan meningkatkan profil lipid (Siddiqui *et al.*, 2017).

Penelitian kontemporer menunjukkan bahwa madu dapat digunakan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit. Madu meningkatkan resistensi terhadap organisme patogen karena kombinasi gula, asam, dan protein yang kompleks. Selain itu, makanan dapat membantu melawan penyakit cacing, terutama nematoda usus, seperti infeksi cacing tambang dan ascariasis (Sajid dan Azim, 2012). Dalam penelitian lain, ditemukan bahwa glikoprotein dan peptida madu memiliki sifat imunomodulator dengan mengganggu molekul sistem kekebalan bawaan manusia (Mesaik *et al.*, 2015).

Rasa dan nilai gizi yang tinggi dari madu alami membuat harganya jauh lebih tinggi dibandingkan dengan pemanis umum lainnya, seperti gula tebu rafinasi, sirup beras, atau sirup jagung fruktosa tinggi. Akibatnya, harga madu alami menjadi rentan terhadap pemalsuan, dan meningkatnya perdagangan madu di seluruh dunia telah menyebabkan kebutuhan akan alat untuk mengidentifikasi atau memastikan keasliannya.

Berbagai metode telah digunakan dalam penelitian sebelumnya tentang keaslian madu dan madu campuran; salah satunya adalah fisikokimia, yang mencakup analisis warna, faktor konduktivitas listrik, nilai pH, dan analisis serbuk sari mikroskopis (Siddiqui *et al.*, 2017). Metode lain melibatkan pengukuran kemometri elemen fisikokimia seperti gula, rotasi optik, kandungan nitrogen, dan konduktivitas listrik. Dengan bantuan faktor-faktor ini, beberapa madu *monofloral* dapat dipisahkan dengan mudah (Terrab *et al.*, 2003). Dari analisis tersebut masih membutuhkan banyak persiapan sampel, tenaga ahli, dan peralatan khusus, sehingga tidak semua orang dapat melakukannya.

Selain metode di atas, metode lain untuk mengklasifikasikan berbagai jenis madu yang paling efektif adalah spektroskopi resonansi magnetik nuklir (*Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*) (Siddiqui *et al.*, 2017). Namun, biaya tinggi dan kompleksitas membatasi ketersediaannya bagi industri dan institusi besar. Akibatnya, metode baru, lebih murah, dan lebih praktis harus dicoba untuk mengidentifikasi dan mengidentifikasi perusahaan madu palsu (Lastra-Mejías *et al.*, 2018).

Menggunakan spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*) yang dapat dibawa untuk mengidentifikasi madu adalah metode yang lebih murah dan efisien. Kelebihan lain dari alat ini adalah ukurannya yang kecil, yang berarti dapat dibawa ke mana saja dan pengujian tidak perlu dilakukan di laboratorium. Selain itu, alat ini membutuhkan waktu yang cukup singkat dibandingkan dengan spektroskopi absorpsi. Alat ini lebih efisien dalam hal waktu dan lokasi pengujian sampel karena waktu yang dibutuhkan spektroskopi fluoresensi untuk menganalisis satu sampel hanya berkisar antara sepuluh hingga lima belas detik. Meskipun demikian, seperti yang ditunjukkan oleh hasil penelusuran pustaka, penggunaan spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*) terhadap madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* asli, nektar *Calliandra calothyrsus* asli, dan madu yang dicampur dengan sirup beras masih jarang digunakan. Oleh karena itu, penelitian harus dilakukan untuk memastikan bahwa madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dan nektar *Calliandra calothyrsus*

adalah yang asli, dan untuk membedakan antara madu *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dan nektar *Calliandra calothyrsus* yang dicampur dengan sirup beras dengan menggunakan spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*) dan metode SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*).

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, masyarakat terus mengonsumsi madu karena memiliki banyak manfaat kesehatan. Tidak seimbang antara produksi dan permintaan karena tingkat produksi madu rendah meskipun permintaannya tinggi. Ini adalah alasan banyak orang mencampur madu asli bersama dengan pemanis buatan seperti contohnya sirup jagung dan sirup beras. Madu lebah tidak bersengat, salah satu jenis madu yang sering dipalsukan tentu akan merugikan konsumen karena dapat menurunkan kualitas dan khasiat madu. Madu lebah tidak bersengat sering dipalsukan karena tingkat produksinya yang rendah dan kualitasnya yang luar biasa. Oleh karena itu, pemalsuan menjadi kunci untuk oknum penjual madu mendapatkan keuntungan yang besar.

## 1.3. Tujuan Penelitian

Dengan menggunakan spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*) dan metode SIMCA, tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi indikasi pemalsuan dari madu lebah tanpa sengat *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* murni dan nektar *Calliandra calothyrsus* murni yang dicampur sirup beras dengan nilai pencampuran berkisar antara 10-60% menggunakan metode SIMCA

#### 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Mampu mengidentifikasi kemurnian dua madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* dengan bahan pencampur sirup beras.
2. Identifikasi bermanfaat bagi konsumen maupun produsen. Konsumen mendapat hak penuh atas kemurnian madu yang dibelinya dan produsen mendapat kepercayaan dari konsumen.
3. Dapat digunakan sebagai referensi penelitian berikutnya mengenai identifikasi kemurnian madu dengan spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*).

#### 1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu proses autentifikasi madu hanya menggunakan madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* dengan pencampur sirup beras. Tidak dilakukannya uji kandungan kimia pada sampel yang digunakan.

#### 1.6. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah bahwa teknologi spektroskopi fluoresensi berbasis LED (*Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy*) dapat membedakan madu *Heterotrigona itama* dari nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* asli, serta membedakannya dari sirup beras menggunakan spektra yang dihasilkan menggunakan metode SIMCA.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Lebah *Trigona*

Lebah madu adalah jenis lebah yang menghasilkan madu selama aktivitasnya. Lebah madu mengumpulkan nektar dari tanaman: nektar bunga (*floral nectar*), nektar non-bunga (*extra floral*) dan embun madu (*honeydew*). Nektar ini dikumpulkan oleh lebah melalui perut madu, yang juga disebut sebagai "*tembolok*", di mana nektar dikumpulkan dari bunga-bunga tanaman. Sebagian besar jenis lebah tidak menghasilkan madu, yang dikenal sebagai lebah madu. Lebah hanya dari tiga suku yang diketahui dapat menghasilkan madu: Apini (*true honey bee*), Meliponini (*stingless bee*), dan Bombini (*bumble bee*) (Supeno dan Erwan, 2016).

Lebah *Trigona* memiliki ciri utama yaitu tidak memiliki sengat (*stingless bee*), membuat mereka bergantung pada propolis untuk melindungi sarang mereka dari predator dan menjaga suhu stabil (Achyani dan Dimas, 2019). Pada pagi hari, *Trigona* mencari makan lebih banyak daripada pada sore hari. Intensitas cahaya matahari mempengaruhi hal ini. Selain itu, ukuran tubuh lebah mempengaruhi jarak yang mereka ambil untuk mencari makanan. Lebah dapat terbang lebih jauh jika tubuhnya lebih besar. Dengan ukuran 5 mm, *Trigona sp* dapat terbang sekitar 600 m (Neill, 2004).

Seperti terlihat pada Gambar 1 lebah *Trigona* biasanya berwarna hitam, tetapi mereka juga bisa kekuningan atau kemerahan. Tubuhnya terdiri dari tiga bagian: kepala (*caput*), dada (*thoraks*), dan perut.

Adapun secara lengkap klasifikasi dari *Heterotrigona itama* menurut Achyani dan Dimas, (2019) adalah sebagai berikut:

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



Gambar 1. Lebah *Heterotrigona itama* (Sumber Achyani dan Dimas, 2019)

Lebah ini memiliki rambut keranjang di salah satu dari tiga tungkainya yang beruas-ruas. Tujuannya adalah agar lebah *Trigona* dapat mengumpulkan getah/resin dan *bee pollen* di dalamnya. Sebagian besar lebah *Trigona* memiliki gigi yang tidak terlalu tajam, sehingga menggigitnya tidak sakit. Selain itu, dia terbang dengan gaya yang menarik, tenang, dan tidak terlalu bising. Lebah *Trigona*, yang terdiri dari lebah ratu, lebah pejantan, dan lebah pekerja, memiliki strata yang sama dengan lebah pada umumnya. Strata ini membantu lebah menjalani kehidupannya, seperti mencari propolis, madu, pollen, dan menjaga sarang dan bertelur untuk ratu dan lebah muda (Achyani dan Wicandra, 2019).

Lebah betina *Trigona* memiliki badan yang cukup besar sangat sehingga menyebabkan sulit terbang, jadi mereka membangun sarang di dalam lubang pohon, celah dinding, dan juga lubang bambu. Mereka juga tidak suka bergerak-gerak. Lebah *Trigona* hidup dalam kelompok kecil dengan memotong dan mengikat batang bambu. Sarang *Trigona* terbuat dari resin dan lilin. Dalam sarang, selubung lembut yang dinamakan *involucrum* melindungi sel-sel tetesan. Sarang yang lebih sederhana dibuat oleh *trigona* yang lebih tua. Pot verikal untuk madu dan pipa polen yang penuh lilin untuk polen, kadang-kadang disimpan dalam pot yang sama. (Free, 1982).

## 2.2. Madu

Meskipun para ahli memberikan definisi yang berbeda untuk madu, konsep ini umumnya serupa. Madu adalah cairan manis yang dihasilkan oleh lebah dari berbagai sumber nektar, menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 1994. SNI 2004, yang merupakan revisi dari Standar Nasional Indonesia (SNI) 1994, mendefinisikan madu sebagai cairan alami yang biasanya manis yang dibuat oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (*floral nectar*), ektrafloral nectar, atau bagian lain dari tanaman.

Menurut Codex Alimentarius Commission (2004), madu adalah zat manis alami yang dibuat oleh lebah dari nektar bunga tanaman atau bagian tanaman, serta ekskresi serangga pencucuk jaringan tanaman atau bunga. Setelah lebah mengumpulkan bahan-bahan ini atau menggabungkannya dengan zat tertentu yang ada dalam perut mereka, bahan-bahan ini ditransfer, disimpan dalam pot atau sel-sel madu yang telah disediakan dalam sarang, dan dibiarkan hingga masak. Achyani dan Wicandra pada tahun 2019, menyatakan bahwa madu adalah cairan alami yang memiliki rasa manis yang dibuat oleh lebah, dari sari bunga tanaman atau bagian lain dari nektar bunga tanaman, atau dari ekskresi serangga yang sangat bergizi.

### 2.3. Penggolongan Madu

Dalam penggolongan madu, madu yang dihasilkan lebah dibagi menjadi berbagai kategori berdasarkan prinsip atau dasar pembagian madu atau faktor-faktor tertentu. Faktor-faktor ini termasuk asal nektar, asal daerah produksi madu, rasa, sumber nektar tanaman, sifat fisik, dan nama tanaman.

Madu manis, madu pahit, dan madu asam adalah jenis madu yang paling umum dikenal orang. Lebah *Apis spp.* menghasilkan madu manis dari berbagai sumber nektar tumbuhan, yang membuatnya sangat dikenal dan dijual di pasar. Madu pahit adalah madu yang dibuat oleh lebah hutan *Apis dorsata* atau *Apis spp.* lainnya dari nektar tumbuhan spesies tertentu. Madu pahit Palawan berasal dari nektar pohon palawan (*Tristanopsis spp.*), yang banyak ditemukan di hutan Bangka Belitung (Badriah, 2010). Lebah madu tak-bersengat, juga dikenal sebagai lebah madu tak-bersengat, menghasilkan madu dengan rasa asam dari berbagai nektar tumbuhan.

Ada dua jenis madu yaitu monofloral dan polifloral, berdasarkan bagaimana lebah madu mengambil nektar tanaman. Makanan monofloral berasal dari nektar beberapa spesies tanaman, tetapi satu di antaranya adalah yang paling penting atau dominan. Madu kopi (*Coffea sp.*), madu leci (*Leachi chinensis*), madu linden (*Tilia cordata Mill.* dan *Tilia platyphyllos Scop.*), dan madu randu (*Ceiba pentandra*) misalnya berasal dari nektar beberapa spesies tanaman. Madu monofloral juga dikategorikan berdasarkan jenis tanaman yang menghasilkan nektar. Oleh karena itu, nama madu disesuaikan dengan tanaman yang menghasilkan nektar. Madu klengkeng, rambutan, dll. Madu polifloral atau multifloral adalah madu yang berasal dari berbagai tanaman yang menghasilkan nektar, seperti madu hutan. (Supeno dan Erwan, 2016).

Menurut Codex Alimentarius Commission (2004), madu terbagi menjadi dua jenis: madu bunga (*blossom honey*), madu nektar (*nectar honey*), dan madu embun (*honeydew honey*). Madu yang dihasilkan oleh lebah dari nektarium tanaman disebut madu bunga atau madu nektar. Madu memiliki nektar dari kelenjar nektar

(nektarium) tumbuhan. Ini bisa menjadi kelenjar nektar bunga atau ekstra bunga. Madu embun madu atau madu embun adalah madu yang nektarnya berasal dari ekskresi serangga penghisap cairan tanaman (ordo Hemiptera) yang hidup pada bagian-bagian tanaman dengan populasi yang besar. Ekskresi serangga juga dapat berasal dari organ-organ tanaman tertentu yang memiliki rasa manis, seperti nira atau cairan dari batang tebu, batang gandum, sorgum, dan jagung, serta sari buah.

#### **2.4. Manfaat dan Kandungan Madu**

Selama ratusan tahun, orang Mesir kuno menyebut madu sebagai sari madu para dewa karena banyaknya manfaatnya. Demikian juga dalam Al-Quran, dalam Surat An-Nahl ayat 68-69, yang berbunyi, "Buatlah sarang-sarang di bukit-bukit, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia." Kemudian makanlah dari segala macam buah-buahan, dan tempuhlah jalan yang telah dimudahkan bagimu oleh Tuhan. Dari perut lebah keluar minuman (madu) berwarna-warni yang mengandung obat untuk manusia. Sesungguhnya yang demikian itu benar-benar tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan. Tidak diragukan lagi, banyaknya syafaat tersebut memiliki dampak sosial pada masyarakat, baik yang positif maupun yang negatif. Salah satu dampak negatif adalah banyaknya distribusi madu berkualitas rendah, bahkan pemalsuan volume (oplosan) atau seratus persen madu sintetis buatan manusia (Supeno dan Erwan, 2016).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Afrilia *et al.*, 2022), madu *Heterotrigona itama* memiliki cita rasa yang khas, asam sedikit manis, berwarna kuning gelap hingga hitam, kadar air yang cukup tinggi sebesar 27,11% hingga 35%, kadar abu total 0,28% dengan pH 3.07, dan bobot jenis 1,34 gram per milliliter. Madu umumnya terdiri dari gula glukosa dan fruktosa (Siddiqui *et al.*, 2017). Ini sesuai dengan penelitian Bogdanov tahun 2011, yang menemukan bahwa madu memiliki 38% fruktosa, 31% glukosa, 10% gula jenis lainnya, dan berbagai mikronutrisi (vitamin, asam amino, dan mineral-mineral) dengan pH di bawah 4. Ketika lebah menghisap bunga, nektar yang dikumpulkan dan

dikeluarkan oleh lebah mempengaruhi komposisi madu. Ini adalah faktor iklim yang mempengaruhi kematangan madu (White, 1978).

Madu ini dapat digunakan dalam pengobatan, kosmetik, kesehatan, pengawet alami, dan pemanis makanan dan minuman. Selain itu, makanan kaya akan nutrisi yang bermanfaat bagi manusia (Baroni *et al.*, 2006). Dalam bidang kesehatan, penelitian telah dilakukan pada madu lebah *Heterotrigona itama*, yang terbukti efektif untuk mengobati luka dan dapat digunakan sebagai antibakteri (Jull *et al.*, 2008). Madu *Heterotrigona itama* mengandung banyak senyawa fenolik, termasuk asam fenolik, polifenol, antosianin, saponin, dan pigmen. Tubuh dapat menggunakan senyawa fenolik ini sebagai antioksidan (daSilva *et al.*, 2016).

## **2.5. Sirup Beras**

Sirup adalah sediaan pekat dalam air yang terbuat dari gula atau gula lain, dengan atau tanpa bahan tambahan, bahan pewangi, dan zat aktif yang berfungsi sebagai obat (Ansel, 2005). Mun'im dan Endang (2012) menyatakan bahwa sirup beras, juga dikenal sebagai *Rice Malt Syrup* (RMS), adalah salah satu pemanis buatan. Ini berasal dari beras merah organik sebagai bahan utamanya. Sirup biasanya mengandung 60% hingga 65% sukrosa. Beras dibiakkan dengan enzim untuk memecah pati, kemudian campuran dimasak hingga mencapai konsistensi yang diinginkan untuk menghasilkan sirup. Sirup yang dibuat dari beras terdiri dari protein, hemiselulosa (serat), dan lemak bebas.



Gambar 2. Sirup beras

Terlihat pada Gambar 2 merupakan sirup beras yang digunakan sebagai bahan campuran untuk pencampuran madu karena memiliki karakteristik yang mirip dengan pengganti gula lainnya. Warna dan kelarutannya yang mirip dengan madu membuat sirup ini banyak digunakan untuk pemalsuan madu dengan tujuan mendapatkan volume madu yang lebih besar tanpa memperdulikan keaslian madu dan meningkatkan keuntungan yang dihasilkan oleh individu yang bertanggung jawab.

## 2.6. Tanaman C3 dan C4

Tumbuhan C3 lebih tahan terhadap kondisi dengan kandungan CO<sub>2</sub> atmosfer tinggi dan panas, sedangkan tumbuhan C4 lebih tahan terhadap lingkungan yang kering dan panas (Akbar H., 2020). Kelompok tanaman C3 mencakup sebagian besar tanaman pertanian, seperti kacang-kacangan, kedelai, gandum, kentang, dan kapas. Dalam proses asimilasi awal, enzim yang menyatukan CO<sub>2</sub> dengan RuBP (RuBP adalah substrat untuk pembentukan karbohidrat dalam proses fotosintesis) juga dapat mengikat oksigen secara bersamaan untuk proses fotorespirasi (fotorespirasi adalah respirasi, di mana oksigen diikat ke dalam (Kimbal, 1994).

Tumbuhan C<sub>3</sub> yang difiksasi dengan karbon C<sub>3</sub> biasanya tumbuh dengan baik di tempat dengan intensitas sinar matahari yang sedang, suhu sedang, konsentrasi CO<sub>2</sub> sekitar 200 ppm atau lebih tinggi, dan air tanah yang banyak. Karena Rubisco sering menyertakan molekul oksigen ke dalam RuBP sebagai pengganti molekul karbondioksida, tumbuhan C<sub>3</sub> harus berada di area dengan konsentrasi gas karbondioksida yang tinggi. Karena konsentrasi gas karbondioksida yang tinggi menurunkan kemungkinan Rubisco menyertakan molekul oksigen, karena Rubisco akan terpecah menjadi molekul 3-karbon yang tinggal dalam siklus Calvin, dan 2 molekul glikolat akan dioksidasi dengan adanya oksigen. Karboksilase RuBP hanya mengikat CO<sub>2</sub> RuBP pada tumbuhan C<sub>3</sub>. Karboksilase RuBP hanya bekerja apabila CO<sub>2</sub> jumlahnya berlimpah. Contoh tanaman C<sub>3</sub> antara lain: kedelai, kacang tanah, kentang, padi, dan lain-lain (Rachmadiarti, 2007).

Tumbuhan C<sub>4</sub> lebih efektif di lingkungan yang panas dan kering. PEP, enzim pengikat CO<sub>2</sub> pada tanaman C<sub>4</sub>, mengikat CO<sub>2</sub> pada tanaman C<sub>4</sub>. PEP tidak dapat mengikat O<sub>2</sub>, jadi tidak ada persaingan antara CO<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> yang sudah terikat oleh PEP kemudian ditransfer ke sel-sel "*bundle sheath*" (sel-sel di sekitar xylem dan floem) di mana ikatan dengan RuBP terjadi. Sel-sel mesofil adalah tempat terjadinya asosiasi awal ini. Dengan tingginya konsentrasi CO<sub>2</sub> pada sel-sel *bundle sheath* ini, oksigen tidak memiliki kesempatan untuk bereaksi dengan RuBP, menyebabkan fotorespirasi yang sangat kecil dan tingkat G yang sangat rendah. Selain itu, PEP memiliki daya ikat yang tinggi terhadap CO<sub>2</sub>, sehingga fotosintesis memiliki reaksi yang sangat tinggi terhadap CO<sub>2</sub> di bawah 100 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Jika ada peningkatan CO<sub>2</sub> di atmosfer, laju asimilasi tanaman C<sub>4</sub> hanya meningkat sedikit. Oleh karena itu, jika ada peningkatan CO<sub>2</sub> di atmosfer, tanaman C<sub>3</sub> akan lebih beruntung daripada tanaman C<sub>4</sub> dalam hal pemanfaatan CO<sub>2</sub> yang berlebihan. Tanaman C<sub>4</sub> termasuk jagung, sorgum, dan tebu (Santosa, 1990).

Kelompok tumbuhan C<sub>3</sub> mencakup tumbuhan berbunga dan bunga pohon yang biasa dikunjungi lebah. Kelompok tumbuhan C<sub>4</sub> mencakup jagung dan tebu

(Ulberth, 2016). Nilai C dari berbagai sampel madu berkisar antara 23,2% dan 24,61%. Nilai C tidak selalu menunjukkan pemalsuan dengan penambahan gula tanaman C4; sebaliknya, nilainya diukur bersamaan dengan nilai protein madu; perbedaan yang lebih rendah menunjukkan penambahan gula tanaman C4. Sekitar 7% gula palsu dapat dideteksi (White, 1992).

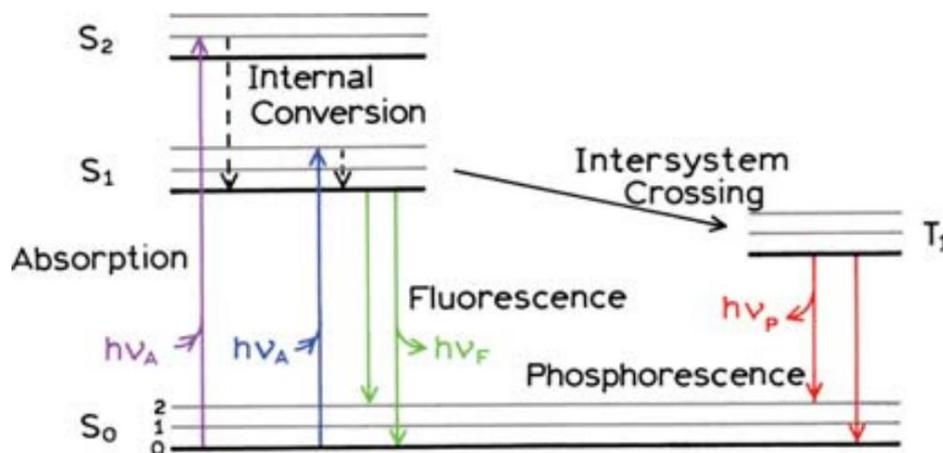
### **2.7. *Portable LED-Based Fluorescence Spectrometer***

Salah satu jenis spektroskopi elektromagnetik yang dapat digunakan untuk menganalisis fluoresensi sampel adalah *Fluorescence Spectrometer*. Haryanto (2008) menyatakan bahwa fluoresensi adalah proses di mana materi memancarkan radiasi cahaya setelah tereksitasi oleh berkas cahaya berenergi tinggi. Proses absorpsi cahaya oleh atom menyebabkan emisi cahaya, yang menyebabkan keadaan atom tereksitasi. Proses fluoresensi mengubah tingkat energi dari keadaan atom tereksitasi ke keadaan stabil (*ground states*). Proses ini terjadi ketika atom yang telah tereksitasi melepaskan energi cahaya dan kembali ke keadaan semula. Sementara proses fosforesensi berlangsung lebih lama, sekitar 1 hingga 1000 mili detik, proses fluoresensi hanya berlangsung kurang lebih 1 nano detik. Seperti yang dinyatakan oleh Lakowicz (2006), spektroskopi fluoresensi adalah teknik yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya fluoresensi yang dipancarkan oleh zat yang diujikan dan oleh suatu baku pembanding tertentu. Semakin berkembangnya jaman, alat *fluorescence spectroscopy* semakin dikembangkan menjadi lebih nyaman untuk digunakan, seperti terlihat pada Gambar 3 yang merupakan *fluorescence spectroscopy portable* terbaru yang berasal dari goyalab



Gambar 3. Fluorescence Spectroscopy (Sumber GoyaLab, 2024)

Proses fluoresensi terjadi ketika suatu materi tereksitasi oleh berkas cahaya berenergi tinggi dan kemudian memancarkan radiasi cahaya. Perpindahan tingkat energi dari keadaan atom tereksitasi ( $S_1$  atau  $S_2$ ) ke keadaan stabil ( $S_0$ ) dikenal sebagai fluoresensi. Diagram Jablonski menggambarkan bagaimana fluoresensi terjadi dapat dilihat pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 4. Diagram Jablonski (Sumber Lakowicz, 2006)

Proses fluoresensi dan fosforesensi digambarkan pada diagram Jablonski. Dalam waktu kurang dari satu piko detik, ketika sebuah atom atau molekul menyerap energi cahaya  $h\nu_A$ , elektron keadaan dasar (ground state)  $S_0$  bergerak ke tingkat energi yang lebih tinggi dari tingkat  $S_1$  atau  $S_2$ . Dalam waktu yang sangat singkat, sekitar 10-1 ns, atom mengalami konversi internal atau relaksasi ke keadaan  $S_1$ . Kemudian, atom memancarkan sejumlah energi dalam bentuk cahaya yang setara

dengan  $h\nu_f$ . Dengan waktu, energi atom akan berkurang dan kembali ke tingkat energi dasar  $S_0$ , mencapai keadaan kesetimbangan termal. Tingkat energi  $S_1$  bergerak ke berbagai sublevel  $S_0$ , yang menunjukkan tingkat keadaan energi dasar getaran atom 0, 1, dan 2. Akibatnya, emisi fluoresensi dalam bentuk spektrum lebar muncul (Lakowicz, 2006).

## 2.8. Metode Kemometrika

Ilmuwan Swedia Swante Wold dan Amerika Serikat Bruce R. Kowalski memperkenalkan geometri. Secara umum, kemometrika adalah cabang ilmu matematika yang digunakan untuk mengolah data. Ini dapat digunakan untuk merancang atau memilih prosedur dan pengujian terbaik, serta untuk menarik sebanyak mungkin data (Rohman *et al.*, 2014).

Metode kemometrika adalah metode penelitian yang menggunakan model matematika, statistik, variabel, dan teknologi informasi. Ini terutama berlaku untuk data kimia. Analisis multivariat menghasilkan kesimpulan dari data yang berbeda dengan menambahkan variabel baru ke dalam data ukuran standar. Kemudian, masalah dan tampilan seperti pengelompokan hubungan dan pengelolaan gambar grafik digunakan dengan variabel baru ini. Untuk menarik fitur dari data besar, *Principal Component Analysis* (PCA) adalah transformasi linier. Data dapat diproyeksikan ke dalam subspace melalui PCA. Ini memungkinkan pengurangan ukuran file yang sangat besar tanpa mengorbankan data penting (Ronggo *et al.*, 2007).

### 2.8.1. *Principal Component Analysis* (PCA)

Suatu teknik proyeksi yang dikenal sebagai *Principal Components Analysis* (PCA) dapat menggambarkan semua data yang ada dalam tabel data yang kompleks. Tujuan PCA adalah untuk mengelompokkan sampel dalam pemodelan

data, mengidentifikasi adanya *outlier* (pencilan), dan memilih peubah untuk diklasifikasikan atau melakukan pemodelan data. Dalam set data, komponen utama yang dipilih memiliki variasi terbesar. Komponen garis kedua, yang tegak lurus terhadap komponen pertama, juga memiliki variasi terbesar. Secara umum, menurut Miller dan Miller (2000), dua komponen ini berfungsi sebagai bidang proyeksi utama dalam pemeriksaan visual data multivariat. Ketika PCA digunakan, plot skor, plot loading yang sesuai sebagai garis spektral, dan plot nilai eigen yang diurutkan adalah plot yang umum digunakan (Zahrok, 2019).

### **2.8.2. *Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)***

*Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)* adalah metode analisis multivariat yang berfungsi sebagai pengujian kekuatan dalam mengelompokkan dan diskriminasi sampel. Metode klasifikasi ini didasarkan pada pembentukan model PCA untuk masing-masing kelas dan mengelompokkan setiap sampel pada masing-masing model PCA; hasil dari metode klasifikasi ini adalah tabel yang menggambarkan pengelompokan sampel (Nurchahyo, 2015).

Meskipun SIMCA termasuk dalam PCA, sensitivitas pembacaan data SIMCA lebih tinggi (*supervised*). Untuk menerapkan SIMCA, berikut ini adalah langkah-langkah yang diambil:

1. Dibuat model PCA untuk setiap kelas berdasarkan data set yang cukup besar;
2. Dijaga komponen utama dari beberapa variasi data yang berbeda; dan
3. Dibuat klasifikasi menggunakan program SIMCA dengan melakukan perbandingan variasi residual sampel dengan variasi rata-rata residual varian sampel yang membentuk kelas. Hasil dari perbandingan ini menghasilkan informasi tentang urutan yang tepat dari variasi residual masing-masing (Lavine, 2009).

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2023 (pengambilan data spektra) di Laboratorium Rekayasa Bioproses dan Pascapanen Pertanian (Lab. RBPP), Jurusan Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

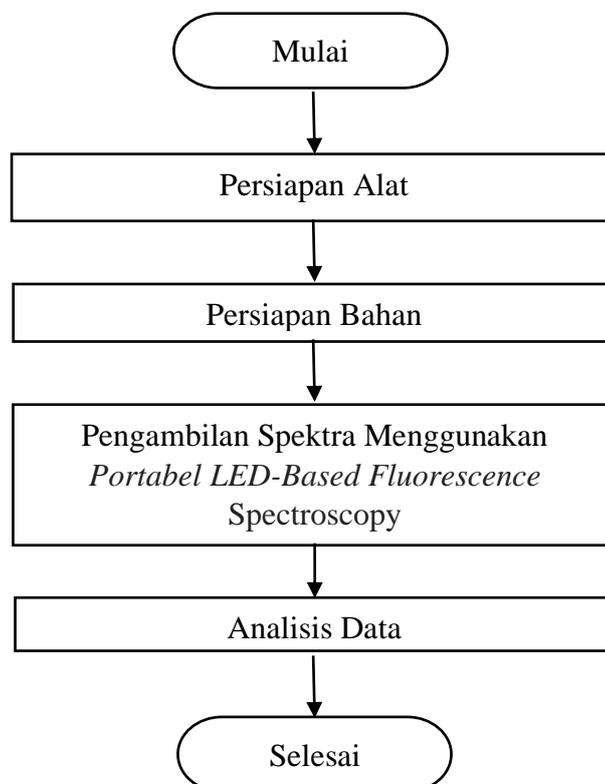
#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *Portabel LED-Based Fluorescence Spectroscopy* (GoyaLab, Fluorescence Spectroscopy), *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* (Ciblanc™, China), corong, tisu dan spatula. Sedangkan bahan yang digunakan adalah madu lebah tanpa sengat *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dan nektar *Calliandra calothyrsus* yang diperoleh dari PT. Suhita Lebah Indonesia, 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 *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* murni dan madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra*

*calothyrsus* campuran. Untuk melakukan penelitian ini, beberapa prosedur harus dilakukan, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5. Prosedur ini meliputi persiapan alat dan bahan yang digunakan, pengukuran sampel madu, pemanasan pemanis buatan, dan pengaturan suhu sampel pada suhu ruang. Setelah itu, setiap sampel diencerkan, diaduk dengan magnetic stirrer, dan proses pengambilan spektra dan proses menganalisis data menggunakan metode SIMCA



Gambar 5. Diagram alir prosedur penelitian

### 3.3.1. Persiapan Alat

Persiapan alat dilakukan dengan menyiapkan alat secara lengkap dan dilakukan pengecekan atau pemeriksaan kondisi dari alat yang akan digunakan dengan seksama sebelum dan selama penelitian untuk memastikan alat dapat digunakan sesuai fungsinya. Ketersediaan alat yang diperlukan dalam penelitian ini penting untuk diperhatikan kelengkapannya serta kondisinya sehingga kegiatan penelitian dapat berjalan dengan lancar.

### 3.3.2. Persiapan Bahan

Ada tahapan dalam persiapan bahan yaitu :

#### 1. Pemanasan Sampel

Menurut BSN (2013), analisis dilakukan secara langsung pada sampel tanpa prosedur tambahan selain penyaringan, pengadukan, dan pengocokan. Sampel dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 60–60°C selama tiga puluh menit jika ada bagian yang menggumpal seperti terlihat pada Gambar 6. Setelah pemanasan selesai, bahan dibiarkan pada suhu ruangan sampai suhunya setara dengan suhu ruang.



Gambar 6. Pemanasan sampel menggunakan *water bath*

#### 2. Pencampuran Madu dengan Sirup Beras

Madu yang telah dipanaskan dan kembali dingin atau madu yang berada pada suhu ruang, kemudian dicampur dengan sirup beras. Rasio campuran madu dengan sirup beras adalah 9:1, 8:2, 7:3, 5:5, dan 4:6.

### 3. Pengadukan Sampel

Digunakan *magnetic stirrer* (Ciblanc™, Cina) selama sepuluh menit dengan kecepatan sedang untuk mencampur sirup beras dan sampel hingga campuran menjadi homogen seperti terlihat pada Gambar 7. Data spektra sampel telah siap untuk dikumpulkan dalam kondisi ini.



Gambar 7. Pengadukan sampel menggunakan *magnetic stirrer*

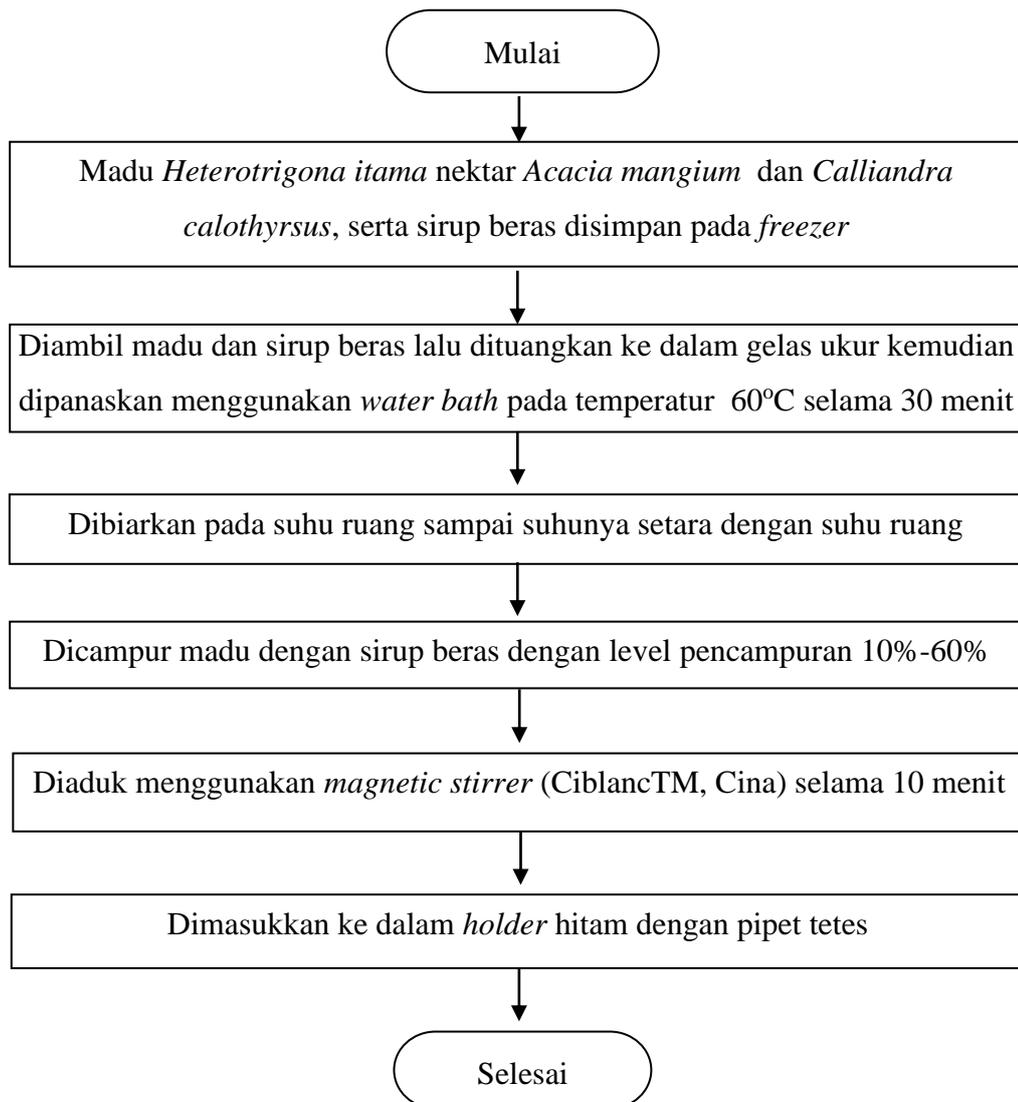
### 4. Persiapan Sampel

Untuk persiapan sampel, sampel diberi label dan kode berdasarkan jenis campuran dan kadar campuran. Untuk sampel madu *Heterotrigona itama* yang mengandung nektar *Acacia mangium* diberi kode sampel MA, sampel madu campuran dengan level 10-60% diberi kode sampel berturut-turut MAC10, MAC20, MAC30, MAC40, MAC50, MAC60, sedangkan pada sampel madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Calliandra calothyrsus* diberi kode sampel MC, sampel madu campuran dengan level 10-60% diberi kode sampel berturut-turut MCC10, MCC20, MCC30, MCC40, MCC50, dan MCC60. Untuk sampel sirup beras diberi kode sampel SB. Penomoran sampel dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Penomoran sampel madu dengan sirup beras

No Sampel	Komposisi Bahan
1-50	50 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 0 ml sirup beras (MA)
51-60	18 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 2 ml sirup beras (MAC10)
61-70	16 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 4 ml sirup beras (MAC20)
71-80	14 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 6 ml sirup beras (MAC30)
81-90	12 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 8 ml sirup beras (MAC40)
91-100	10 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 10 ml sirup beras (MAC50)
101-110	8 ml Madu nektar <i>Acacia mangium</i> + 12 ml sirup beras (MAC60)
111-160	50 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 0 ml sirup beras (MC)
161-170	18 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 2 ml sirup beras (MCC10)
171-180	16 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 4 ml sirup beras (MCC20)
181-190	14 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 6 ml sirup beras (MCC30)
191-200	12 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 8 ml sirup beras (MCC40)
201-210	10 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 10 ml sirup beras (MCC50)
211-220	8 ml Madu nektar <i>Calliandra calothyrsus</i> + 12 ml sirup beras (MCC60)
221-320	100 ml Sirup Beras (SB)

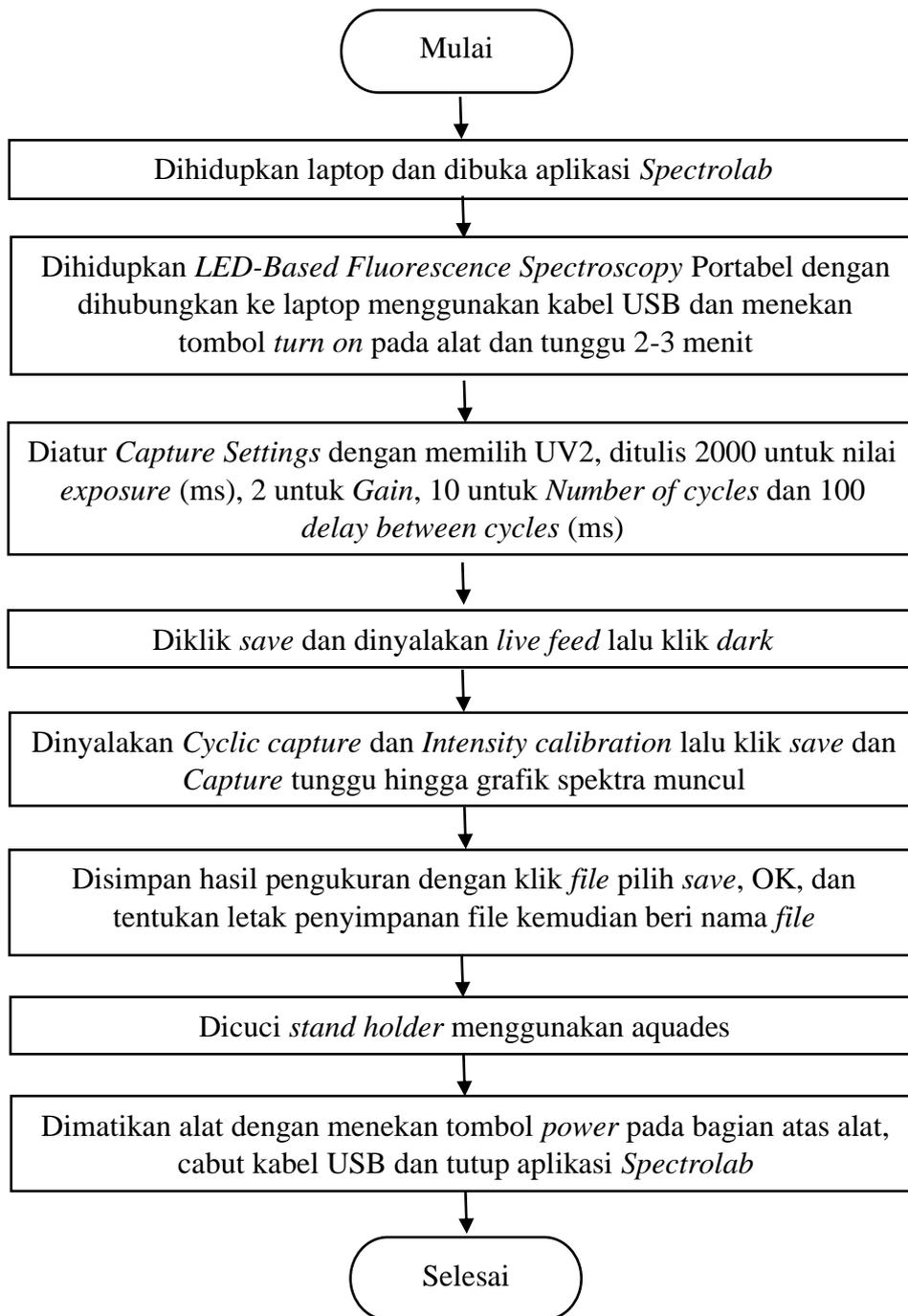
Data spektranya dikumpulkan dari 320 sampel, yang diulang dua kali. Setelah sampel menjadi homogen, dipipet dengan volume kira-kira 1 mililiter dan dimasukkan ke dalam *stand holder* berwarna hitam. Untuk memaksimalkan difusi cahaya, permukaan *stand holder* harus bersih. Diagram alir dalam persiapan bahan dapat dilihat pada Gambar 8 di bawah ini :



Gambar 8. Diagram alir persiapan bahan

### 3.3.3. Pengukuran Spektra dengan *Portable LED-based Fluorescence Spectroscopy*

Pengukuran data spektra menggunakan alat *Portable LED-based Fluorescence Spectroscopy*, sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam *stand holder* sebanyak  $\pm 1$  ml. Kemudian alatnya diletakkan di atas *stand holder*-nya dan diambil nilai intensitas fluoresensinya. Langkah dan proses pengambilan data spektra dijelaskan pada Gambar 9 dan Gambar 10 berikut ini :



Gambar 9. Diagram alir pengambilan spektra



Gambar 10. Proses 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 (*Principal Component Analysis*) dan SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) pada perangkat lunak The Unscrambler versi 10.4.

### 3.4. Analisis Data

Untuk mengidentifikasi pola sampel, analisis data harus dilakukan. Program The Unscrambler versi 10.4 digunakan untuk mengolah dan menganalisis data tersebut. *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA) digunakan untuk mengolah data dalam penelitian ini. Setelah intensitas fluoresensi dari sampel madu dihitung, file gabungan dibuat dalam Microsoft Excel. Aplikasi Unscrambler kemudian digunakan untuk menganalisis file tersebut. Sampel kalibrasi, validasi, dan prediksi adalah tiga kelompok sampel yang akan digunakan dalam proses. Sampel kalibrasi digunakan pada tahap pembuatan model PCA, dan sampel validasi digunakan pada tahap

pengujian model. Kemudian matriks konfusi digunakan untuk menghitung hasil klasifikasi dari pengujian model.

### 3.4.1. *Principal Component Analysis (PCA)*

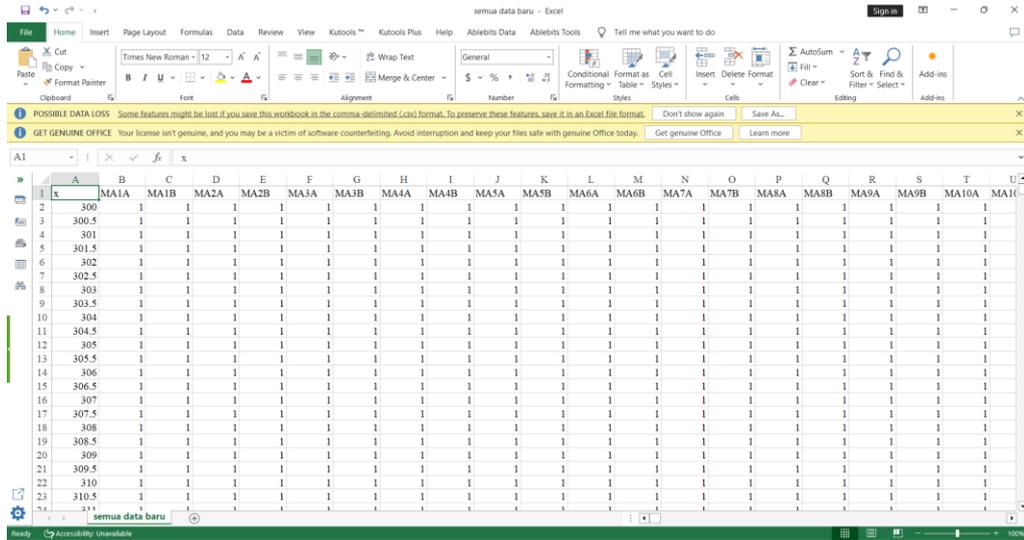
Data nilai intensitas fluoresensi yang diambil dari *Portable LED-Based Fluorescence Spectroscopy* berasal madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* yang telah dicampur dengan sirup beras. Setelah diperoleh data intensitas fluoresensinya lalu data tersebut dikumpulkan menjadi satu dalam file Microsoft Excel. Kemudian data dalam file Microsoft Excel tersebut dianalisis menggunakan aplikasi The Unscrambler 10.4.

Analisis Komponen Utama (*Principal Component Analysis*) adalah analisis multivariat yang mengubah variabel-variabel awal yang saling berkorelasi menjadi variabel-variabel baru yang tidak berkorelasi. Ini dilakukan dengan mengurangi jumlah variabel tersebut sehingga ukurannya menjadi lebih kecil tetapi masih dapat mencakup sebagian besar keragaman dari variabel awal (Rumus Statistik, 2021).

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. Nilai sampel madu *Heterotrigona itama* diambil dari nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus*, madu campuran (10–60%), dan sirup beras. Nilai ini kemudian digabungkan ke dalam file menggunakan Microsoft Excel.

Gambar 11 berikut menunjukkan proses penggabungan data.



Gambar 11. Penggabungan data menggunakan Excel

2. Buka perangkat lunak *The Unscrambler* versi 10.4.
  3. Mengimport data, dengan cara klik menu File kemudian *import* data dengan format excel untuk mengambil file *Microsoft Excel* yang akan dianalisis.
- Adapun langkah dalam mengimport data ditunjukkan oleh Gambar 12 berikut

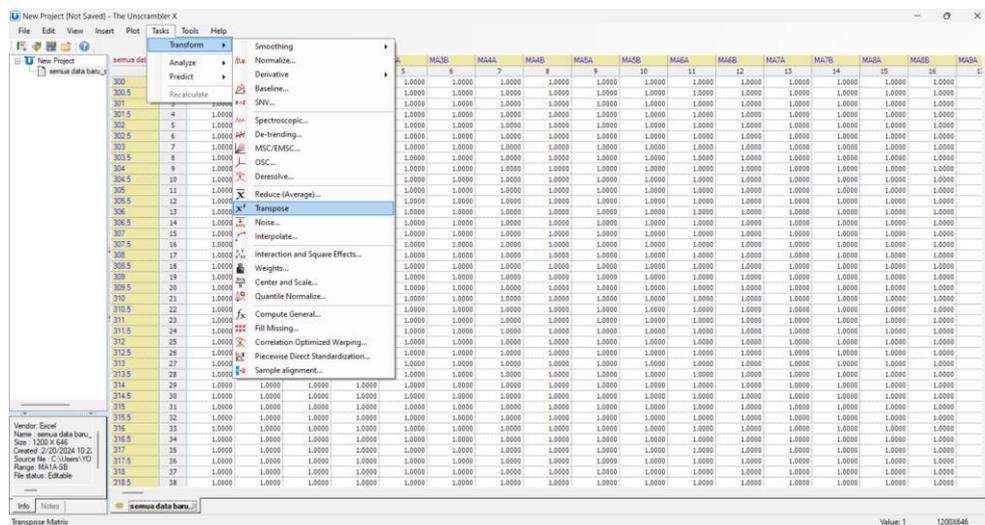
:



Gambar 12. Proses *import* data gabungan ke dalam *The Unscrambler*

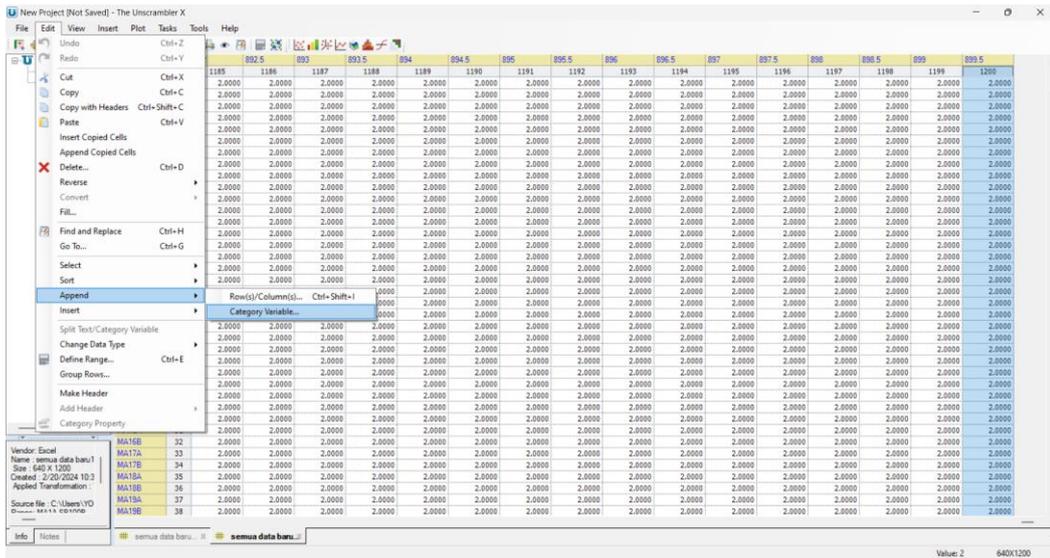
4. Men-transpose data, setelah data berhasil di *import* dan tampil pada jendela *The Unscrambler*, langkah berikutnya adalah men-transpose data dengan langkah :

- Klik menu *task*
- Pilih fitur *transform*
- Kemudian klik *transpose*. Langkah *transpose* dilihat pada Gambar 13 berikut ini :



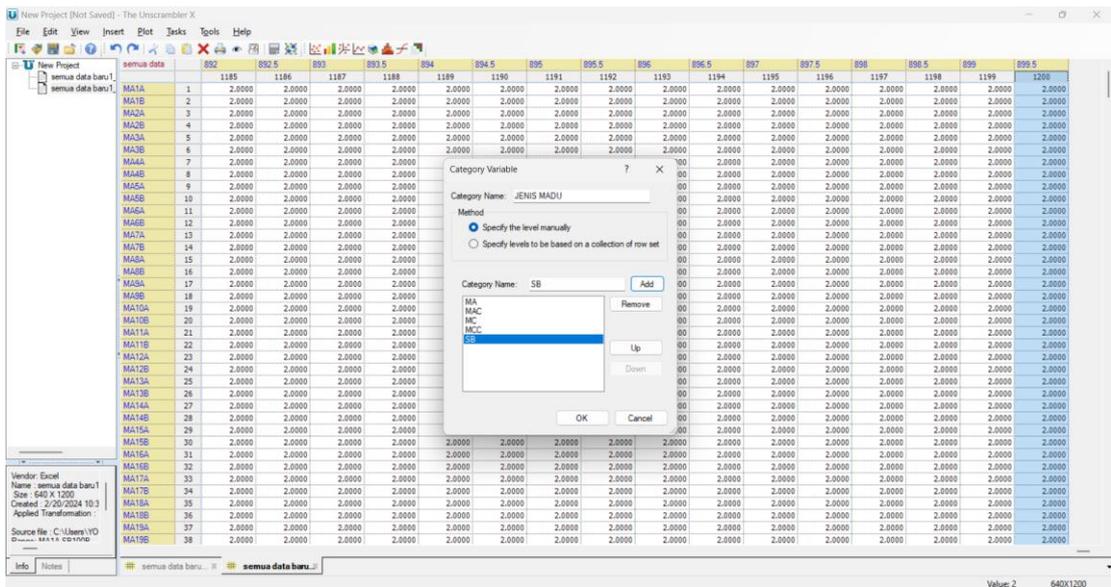
Gambar 13. Proses *transpose* data

5. Untuk menulis *Category Variable Name*, pilih menu edit klik *Append* lalu pilih *Category Variable*, kemudian tuliskan kata "JENIS MADU" pada *Category Variable Name*, atau pada sampel lain diganti dengan jenis sampel yang digunakan. Gambar 14 berikut menunjukkan proses langkah ini:



Gambar 14. Proses pembuatan *category variable* sesuai dengan jenis sampelnya

6. Tentukan jenis madu pada *Level Name*, misalnya *Heterotrigona itama* nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus*. Penjelasananya dapat dilihat pada Gambar 15 berikut :

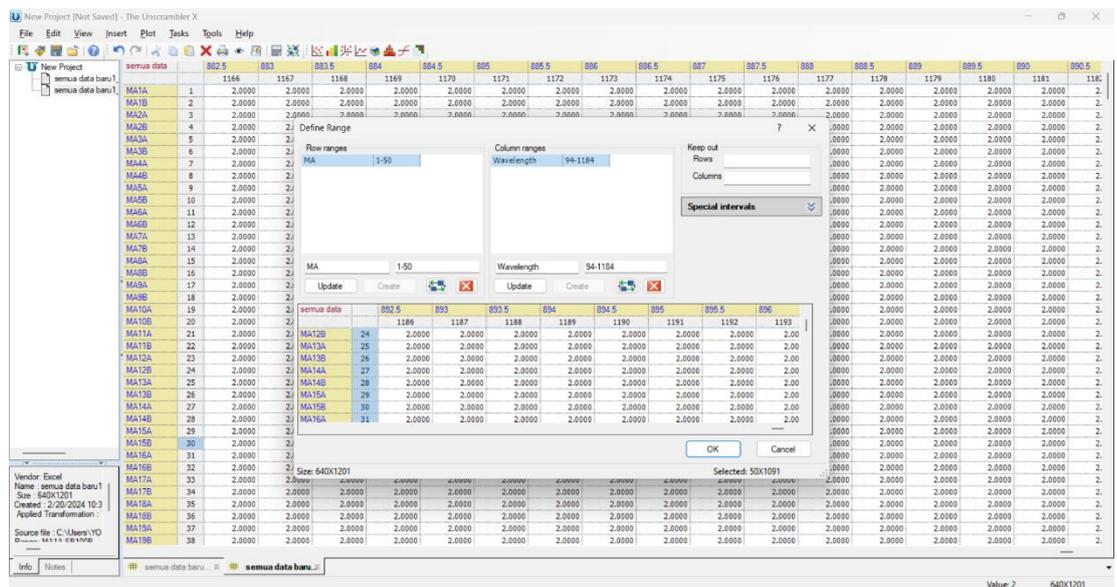


Gambar 15. Proses pengisian *level name*

7. Klik kolom JENIS MADU dan isi setiap baris dengan jenis madu yang diinginkan. Sebelum menganalisis dan menggunakan PCA data dikelompokkan berdasarkan kategori sampel dan variabel. Berikut adalah langkah-langkah yang diambil:

- 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 16 berikut

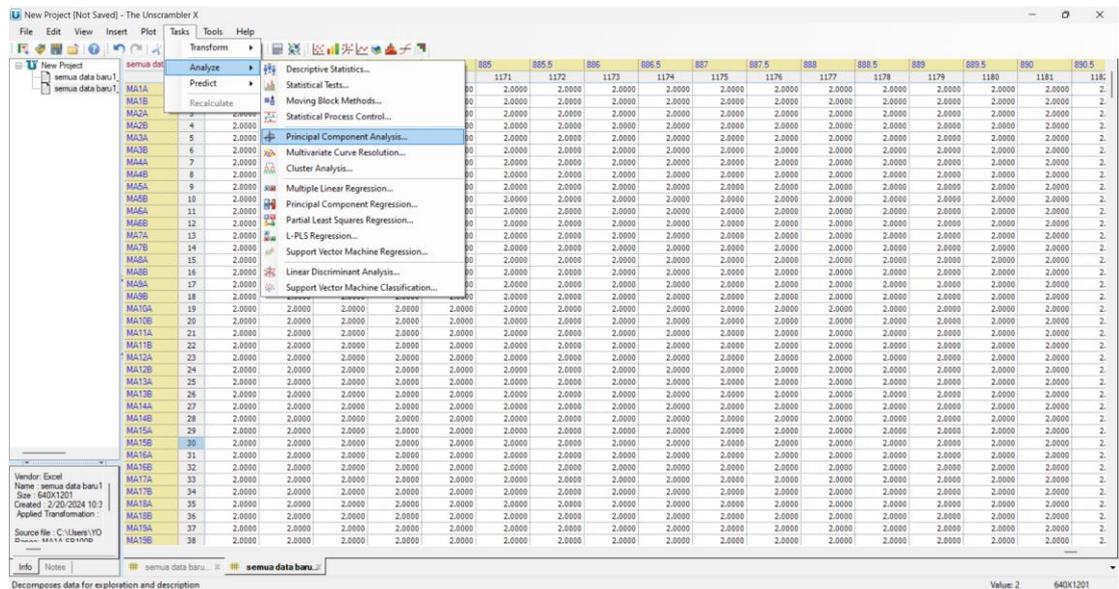


Gambar 16. Proses pengisian *define ranges*

8. Menambahkan kolom *Category Variable* yang berisi kalibrasi, validasi, dan prediksi (KALVALPRED).

9. Menganalisis data dengan PCA adalah tahap utama dan dapat dilakukan dengan :

- Pilih menu *Task*
- Pilih *Analyze*
- Pilih *Principal Component Analysis*. Proses tahap ini dijelaskan oleh Gambar 17 berikut :



Gambar 17. Proses Analisis PCA pada *The Unscrambler*

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

Langkah berikutnya adalah membangun model menggunakan metode SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) setelah mengumpulkan hasil diskriminasi PCA (*Principal Component Analysis*). SIMCA digunakan untuk menetapkan sampel ke dalam kelas yang tersedia dan menguji kekuatan diskriminasi. Metode klasifikasi ini didasarkan pada pembuatan model PCA untuk masing-masing kelas dan mengklasifikasikan setiap sampel berdasarkan model PCA tersebut. Hasil luaran dari SIMCA adalah tabel klasifikasi yang menunjukkan bahwa setiap sampel termasuk dalam golongan kelas mana, apakah itu termasuk dalam satu atau beberapa kelas. Kalibrasi, validasi, dan prediksi adalah tiga komponen dari sampel madu yang digunakan untuk membuat model SIMCA. Sampel kalibrasi digunakan untuk membuat model SIMCA, sedangkan sampel validasi digunakan untuk mengecek kembali model yang telah digunakan, dan sampel prediksi digunakan untuk menguji model yang telah dibuat dari sampel kalibrasi dan validasi.

### 3.4.3. Menguji Model Menggunakan Matriks Konfusi

Matrik konfusi adalah hasil dari pengklasifikasian sampel dari pengolahan data dengan metode SIMCA berupa daftar tabel hasil. Matrik konfusi berfungsi dalam menguji dan memprediksi suatu objek yang tepat maupun tidak tepat. Matrik konfusi memiliki rumus keluaran yaitu akurasi, sensitivitas, spesifisitas dan *error* (Lavine *et al.*, 2009). Pada penelitian ini, matrik konfusi digunakan untuk menghitung nilai keluaran matriks konfusi. Adapun untuk matriks ditunjukkan pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Matriks Konfusi

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

Perhitungan:

$$1. \text{ Akurasi (AC)} = \frac{a+b}{a+b+c+d} \times 100\%$$

$$2. \text{ Sensitivitas (S)} = \frac{a}{a+c} \times 100\%$$

$$3. \text{ Spesifisitas (SP)} = \frac{d}{d+b} \times 100\%$$

$$4. \text{ Error} = \frac{b+c}{a+b+c+d} \times 100\%$$

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

### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hasil autentikasi antara madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* (MA) dan nektar *Calliandra calothyrsus* (MC) berdasarkan pada tingkat pencampuran, menunjukkan perbedaan yang ditunjukkan oleh nilai fluoresensi. Nilai fluoresensi menjadi lebih rendah pada sampel MCC atau bahkan semakin tinggi pada sampel MAC ketika kedua madu asli masing-masing dicampur dengan sirup beras, sehingga menunjukkan bahwa ketika madu dicampur dengan bahan pemanis, akan menjauhi tingkat keaslian madu asli.
2. Model yang dibangun pada PCA pada menggunakan data spektra *original* dan data spektra *pretreatment* menunjukkan bahwa masing masing PC-1 dan PC-2 mampu menjelaskan varian data tersebut. Selain itu, hasil model PCA yang dibangun dapat menampilkan pola sampel yang berbeda pada masing-masing perlakuan.
3. Hasil kinerja model SIMCA pada data awal sampel MA dan MAC menunjukkan nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas, dan *error* secara berurutan yaitu 59,5%, 58,5%, 100%; dan 40,5%, dengan model klasifikasi terbaik pada level signifikansi 25%. Pada perlakuan *pretreatment* MSC + SMA 9 *segment* memiliki nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas, dan *error* secara berurutan yaitu 59,5%, 58,5%, 100%; dan 40,5% dengan model klasifikasi terbaik hanya pada level signifikansi 5%. Sementara sampel MC dan MCC pada spektra awal menunjukkan nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas, dan *error* masing-masing 62,5%, 61,1%, 75%, dan 37,5%,

dengan model klasifikasi terbaik pada level signifikansi 25%. Dengan demikian, data hasil *pretreatment* awal dengan SMA 5 *segment* menunjukkan nilai akurasi, sensitivitas, spesifisitas, dan eror masing-masing 65%, 62,5%, 100%; dan 35% serta memiliki model klasifikasi terbaik pada level 25% yang tergolong klasifikasi sangat memuaskan atau *excellent classification*.

4. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat membuktikan bahwa dengan menggunakan metode analisis *portable LED fluorescence spectroscopy* dan metode SIMCA dapat mengautentikasi madu *Heterotrigona itama* dengan nektar *Acacia mangium* dan *Calliandra calothyrsus* yang dicampur dengan sirup beras.

## 5.2. Saran

Rekomendasi untuk penelitian berikutnya yaitu jika menggunakan alat *portable LED fluorescence spectroscopy*, disarankan untuk menggunakan metode yang berbeda dengan penelitian, seperti LDA atau PLS-DA. Selain itu, jika menggunakan alat *portable LED fluorescence spectroscopy*, disarankan untuk menggunakan kotak hitam, seperti yang dilakukan dalam penelitian sebelumnya, untuk menghalangi jumlah cahaya yang masuk ke spektra.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achyani dan Dimas Wicandra. 2019. *Kiat Praktis Budidaya Lebah Trigona (Heterotrigona itama)*. Penerbit Laduny : Metro.
- Akbar, H. dkk., 2020. *Buku Ajar Fisiologi Tumbuhan*. Uin Raden Intan: Lampung
- Afriliah, N., Taurina, W., dan Andrie, M. 2022. Karakterisasi Simplisia Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) Sebagai Bahan Baku Sediaan Obat Penyembuhan Luka. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i3.20969>
- Ansel, H. C, Allen, L. V and Popovich, N. G. 2005. *Ansel Farmaccutical Dosage Form and Drug Delivery System. Eight Edition*, Lippincott Williams and Wilkins a Watters Kluver Company. Philadelphia.
- Baroni, Veironica, M., and Noreis. 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*, 54(19), 7235–7241
- Badariah. 2010. Madu Pahit Palawan. Berita Kegiatan Ristek. IPTEK Voice. <http://www.ristek.go.id/index.php/module/News+News/id/6160/print>
- 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](http://www.bee-hexagon.net)
- (BSN) Badan Standarisasi Nasional. 2004. SNI 01-3545-2004. Madu. Badan Standardisasi Nasional : Jakarta.
- Codex Alimentarius Commission. 2001. *Revised Standards for Honey (Patent No. Codex Standard 12-198)*.
- da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., and Fett, R. 2016. Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Food Chem*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>

- Dramićanin, T., Lenhardt Acković, L., Zeković, I., and Dramićanin, M. D. 2018. Detection of Adulterated Honey by Fluorescence Excitation-Emission Matrices. *Journal of Spectroscopy*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8395212>
- Fatoni, A. 2008. *Pengaruh propolis Trigona spp asal Bukittinggi terhadap beberapa bakteri usus halus sapi dan penelusuran komponen aktifnya* (Tesis). Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Free JB. 1982. *Bees and Mankind*. London: George Allen and Unkwin.
- Haryanto, G. 2008. *Probe Optik Untuk Mengukur Konsentrasi Fitoplankton, Studi Kasus Scenedesmus sp* (Tesis). Universitas Indonesia. Depok. 46 hlm.
- Jull, A., Walker, N., Parag, V., Molan, P., and 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>
- Kimbal, John W. 1994. *Biologi. Jilid 1, 2, dan 3. Edisi kelima*. Jakarta: Erlanga.
- Kula, M., Rys, M., and Skoczowski, A. 2014. Far-red light (720 or 740 nm) improves growth and changes the chemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Engineering in Life Sciences*, 14(6), 651–657. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400057>
- Lakowicz, J.R. 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd Ed. USA: University of Maryland School of Medicine Baltimore.
- Lavine, B. K., Walczak, B., Tauler, R., and Brown, S. 2009. Comprehensive Chemometric: Chemical and Biochemical Data Analysis. *Validation of Classifiers*, 587–599.
- Lastra-Mejías, M., Torreblanca-Zanca, A., Aroca-Santos, R., Cancilla, J. C., Izquierdo, J. G., and Torrecilla, J. S. 2018. Characterization of an array of honeys of different types and botanical origins through fluorescence emission based on LEDs. *Talanta*, 185, 196–202. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.03.060>
- Luykx, D. M. A. M., and van Ruth, S. M. 2008. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107, 897–911. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.038>
- Mesaik, M. A., Dastagir, N., Uddin, N., Rehman, K., and Azim, M. K. 2015. Characterization of immunomodulatory activities of honey glycoproteins and glycopeptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(1), 177–184. <https://doi.org/10.1021/jf505131p>

- Miller, J.N., and Miller, J.C. 2000. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 4th Edition*. Pearson Education. Harlow. 271 hlm.
- Mun'im, Abdul dan Endang Hanani. 2012. *Fitoterapi Dasar*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Neilli. 2004. Waktu Pencarian Serbuk Sari Lebah Pekerja *Trigona sp* (Apidae: Hymenoptera). Institut Pertanian Bogor.
- Nikolova, K., Eftimov, T., and Aladjadjiyan, A. 2014. Fluorescence Spectroscopy as Method for Quality Control of Honey. *Advances in Research* (Vol. 2, Issue 2). www.sciencedomain.org
- Nurchahyo, B. 2015. *Identifikasi dan Autentikasi Meniran (Phyllanthus Niruri) Menggunakan Kombinasi Spektrum Ultraviolet-Tampak Dan Kemometrika*. Institut Pertanian Bogor.  
<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/78573>
- O'toole, M., and Diamond, D. 2008. Absorbance Based Light Emitting Diode Optical Sensors and Sensing Devices. *Sensors*, 8(4), 2453–2479.  
<https://doi.org/10.3390/s8042453>
- Parri, E., Santinami, G., and Domenici, V. 2020. Front-face fluorescence of honey of different botanic origin: A case study from Tuscany (Italy). *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(5).  
<https://doi.org/10.3390/app10051776>
- Pohl, P., Stecka, H., Greda, K., dan Jamroz, P. 2012. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn from commercial bee honeys. *Food Chemistry*, 134(1), 392–396. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.065>
- Priawandiputra, W, Muhammad Giffary Azizi, Rismayanti, Kartika Martha Djakaria, Anggun Wicaksono, Rika Raffiudin, Tri Atmowidi, dan Damayanti Buchori. 2020. *Panduan Budidaya Lebah Tanpa Sengat (Stingless bees) di Desa Perbatasan Hutan*. Sumatera Selatan: ZSL Indonesia.
- Rachmadiarti, F. dkk. (2007). *Biologi Umum*. Surabaya: Unesa University Press.
- Rohman, A., Gupitasari, I., Purwanto, P., Triyana, K., Rosman, A. S., Ahmad, S. A. S., dan Yusof, F. M. 2014. Quantification of Lard in the Mixture with Olive Oil in Cream Cosmetics Based on FTIR Spektra and Chemometrics for Halal Authentication. *Jurnal Teknologi*, 69(1), Article 1.  
<https://doi.org/10.11113/jt.v69.2062>
- Ronggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., and Martinez, C. L. 2007. A Review of Near Infrared Spektroskopi and Chemometrics in Pharmaceutical Technologies.

*Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 44 (1) : 683–700  
 hlm. <https://doi:10,1021/jf402280y>.

- Rumus Statistik. 2021. *Analisis Komponen Utama (Principal Component Analysis)*. Rumus Statistik.  
<https://www.rumusstatistik.com/2015/03/analisis-komponen-utamapincipal.html>
- Sajid, M., dan Azim, M. K. 2012. Characterization of the nematicidal activity of natural honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7428–7434. <https://doi.org/10,1021/jf301653n>
- Santosa. 1990. *Fisiologi Tumbuhan Metabolisme dan Pertumbuhan pada Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Yogyakarta.
- Shamsudin, S., Selamat, J., Sanny, M., Shamsul Bahari, A. R., Jambari, N. N., and Khatib, A. 2019. A comparative characterization of physicochemical and antioxidants properties of processed *Heterotrigona itama* honey from different origins and classification by chemometrics analysis. *Molecules*, 24(21). <https://doi.org/10.3390/molecules24213898>
- Siddiqui, A. J., Musharraf, S. G., Choudhary, M. I., dan Rahman, A. ur. 2017. Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry* (Vol. 217, pp. 687–698). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10,1016/j.foodchem.2016.09.001>
- Supeno, B., dan Erwan. 2016. *Pengenalan Pembelajaran Tentang Lebah Madu (Honey Bees)*. Nusa Tenggara Barat: Arga Puji Press.
- Suwannasom, N., Kao, I., Pruß, A., Georgieva, R., and Bäumler, H. 2020. Riboflavin: The health benefits of a forgotten natural vitamin. *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 3). MDPI AG.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21030950>
- Stanković, M., Prokopijević, M., Šikoparija, B., Nedić, N., Andrić, F., Polović, N., Natić, M., and Radotić, K. 2023. Using Front-Face Fluorescence Spectroscopy and Biochemical Analysis of Honey to Assess a Marker for the Level of *Varroa destructor* Infestation of Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies. *Foods*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/foods12030629>
- Terrab, A., González, A. G., Díez, M. dan Heredia, F. 2003. Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *European Food Research and Technology* 218(1): 88-95.
- Ulberth, F. (2016). Advances in testing for adulteration in honey. *Food Authenticity Testing* (pp. 729–753). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100220-9.00026-6>

- Wang, J., and Li, Q. X. (2011). Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins. *Food and Nutrition Research* (Vol. 62). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385989-1.00003-X>
- White, J. W. 1978. Honey. *Advances in Food Research*, 287–374.  
doi:10.1016/s0065-2628(08)60160-3
- White, J. W. (1992). Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C-4 plant sugars in honey: Collaborative trial study, and evaluation of improved protein preparation procedure. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 75, 543–548.
- Zahrok, H. 2019. *Studi Penggunaan Metode Analisis Berbasis UV-Vis Spectroscopy dan Metode SIMCA untuk Membedakan Kopi Codot Murni dan Kopi Codot Campuran* (Skripsi). Universitas Lampung