

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Adulterasi pangan merupakan salah satu proses pemalsuan makanan yang bertujuan untuk meningkatkan nilai asli produk dan menurunkan harga produksi. Proses adulterasi dilakukan dalam berbagai cara seperti substitusi bahan yang lebih murah dan melakukan aksi curang selama proses produksi (Spink & Moyer, 2011). Pemalsuan makanan biasanya dilakukan karena permintaan pasokan pangan lebih besar pada rantai pasok yang kompleks (Black *et al.*, 2016). Jenis bahan yang menjadi target pemalsuan biasanya merupakan bahan mahal dan diproduksi dalam jumlah besar. Contoh dari bahan tersebut adalah madu, jus buah, daging, susu, *wine*, minyak, dan masih banyak lagi (Cordella *et al.*, 2002).

Madu merupakan produk pangan yang banyak mengalami adulterasi. Pengawasan madu kurang diperhatikan sebelumnya sehingga banyak konsumen yang tidak percaya untuk membeli madu (Fakhlaei *et al.*, 2020). Banyak sekali perusahaan atau peternak lebah yang menjual madu tidak murni atau bahkan madu palsu. Pemalsuan dilakukan dengan mencampurkan madu palsu atau senyawa berbahaya ke dalam produk. Contoh maraknya pemalsuan madu disampaikan oleh Ungeod-Thomas (2021) melalui berita daring Inggris yang menginformasikan kecurangan pedagang yang menambahkan sirup gula atau madu murah ke dalam madu. Contoh kasus lain menunjukkan bahwa supermarket di Australia tertuduh telah menjual madu palsu dalam dagangannya (Ferguson & Gillett, 2018). Di Indonesia, beredar bukti bahwa tiga orang tertuduh melakukan praktik pemalsuan madu dengan menggunakan campuran bahan seperti molase, glukosa, dan fruktosa (Ridho, 2021).

Bahan yang sering dipakai dalam memalsukan madu adalah pemanis lain dan sirup komersial (Soares *et al.*, 2017). Kedua bahan tersebut memiliki harga lebih murah dibandingkan dengan madu asli. Pemakaian pemanis yang berlebihan akan memberikan dampak negatif bagi tubuh akibat kadar gula tubuh terlalu tinggi

(Awasthi *et al.*, 2014; Fakhlaei *et al.*, 2020). Kadar gula yang terlalu tinggi dapat memicu berbagai penyakit seperti penyakit diabetes dan obesitas (Jensen *et al.*, 2018).

Percobaan untuk mendeteksi adanya pemalsuan madu sudah dilakukan dalam berbagai cara. Salah satu yang dapat dilakukan dengan mendeteksi adulteran menggunakan teknik *Nuclear Magnetic Resonance* (Bertelli *et al.*, 2010; Cazor *et al.*, 2006; Lolli *et al.*, 2008; Ohmenhaeuser *et al.*, 2013; Schievano *et al.*, 2013; Simova *et al.*, 2012; Spiteri *et al.*, 2015), kromatografi layar tipis (Kushnir, 1979; White *et al.*, 1979), dan analisis perbandingan isotop karbon stabil (Çinar *et al.*, 2014; Cotte *et al.*, 2007; Elflein & Ræzke, 2008; Guler *et al.*, 2014; White & Winters, 1989). *Marker* yang digunakan biasanya berupa pemanis lain seperti sirup, gula, jenis sakarida dan lain-lain. Semua cara tersebut memiliki deteksi yang modern dan memiliki sensitivitas cukup tinggi. Hanya saja cara tersebut masih membutuhkan waktu cukup lama terutama pada saat penghancuran sampel. Sebagian metode juga membutuhkan para laboran yang memiliki *skill* mumpuni dalam mengoperasikan instrumen tersebut. Berdasarkan penyebab-penyebab di atas, masih dibutuhkan suatu variasi teknik deteksi yang cepat, akurat, dan mudah dioperasikan agar tidak menghabiskan waktu lama (Gallardo-Velázquez *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2020; Riswahyuli *et al.*, 2020; Se *et al.*, 2018).

Salah satu metode yang sering digunakan untuk mendeteksi praktik adulterasi bahan pangan adalah *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Maraknya penggunaan FTIR bagi industri dan laboratorium dikarenakan metode ini dapat mengurangi biaya analisis dan penggunaan banyak instrumen, tetapi tetap mendapatkan hasil maksimal dalam analisisnya. FTIR bisa digunakan untuk mendeteksi bahan bernilai tinggi seperti daging, madu, minyak zaitun, *saffron*, dan oregano (Valand *et al.*, 2020). FTIR merupakan teknologi yang cepat, mudah digunakan, persiapan sederhana, dan sangat murah (Wu *et al.*, 2017).

Beberapa artikel *review* hanya membahas mengenai jenis adulteran pada madu dari ciri-ciri dan fungsi adulteran bila dicampurkan ke dalam madu (Naila *et al.*, 2018; Se *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2017). Artikel *review* yang ada tidak menjelaskan secara terintegrasi tentang adulteran yang dideteksi menggunakan FTIR (Ulberth, 2016). Metode deteksi adulteran pada madu dengan instrumen analisis tertentu masih kurang dijelaskan dalam beberapa *review* khususnya menggunakan FTIR. Instrumen FTIR memiliki hasil yang cepat dan akurat bila mendeteksi senyawa tertentu dalam bahan pangan (Valand *et al.*, 2020). Dalam beberapa artikel yang dikutip beberapa *review* masih belum menjelaskan metode analisis multivariat terbaik untuk menguji adulteran pada madu (Se *et al.*, 2019). Sehingga diharapkan *review* ini membantu peneliti lain dalam menentukan adulteran yang biasa dideteksi menggunakan FTIR, proses deteksi adulteran pada madu, metode analisis statistik yang sesuai untuk masing-masing adulteran, beserta faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses deteksi adulteran pada madu.

1.2. Tinjauan Pustaka

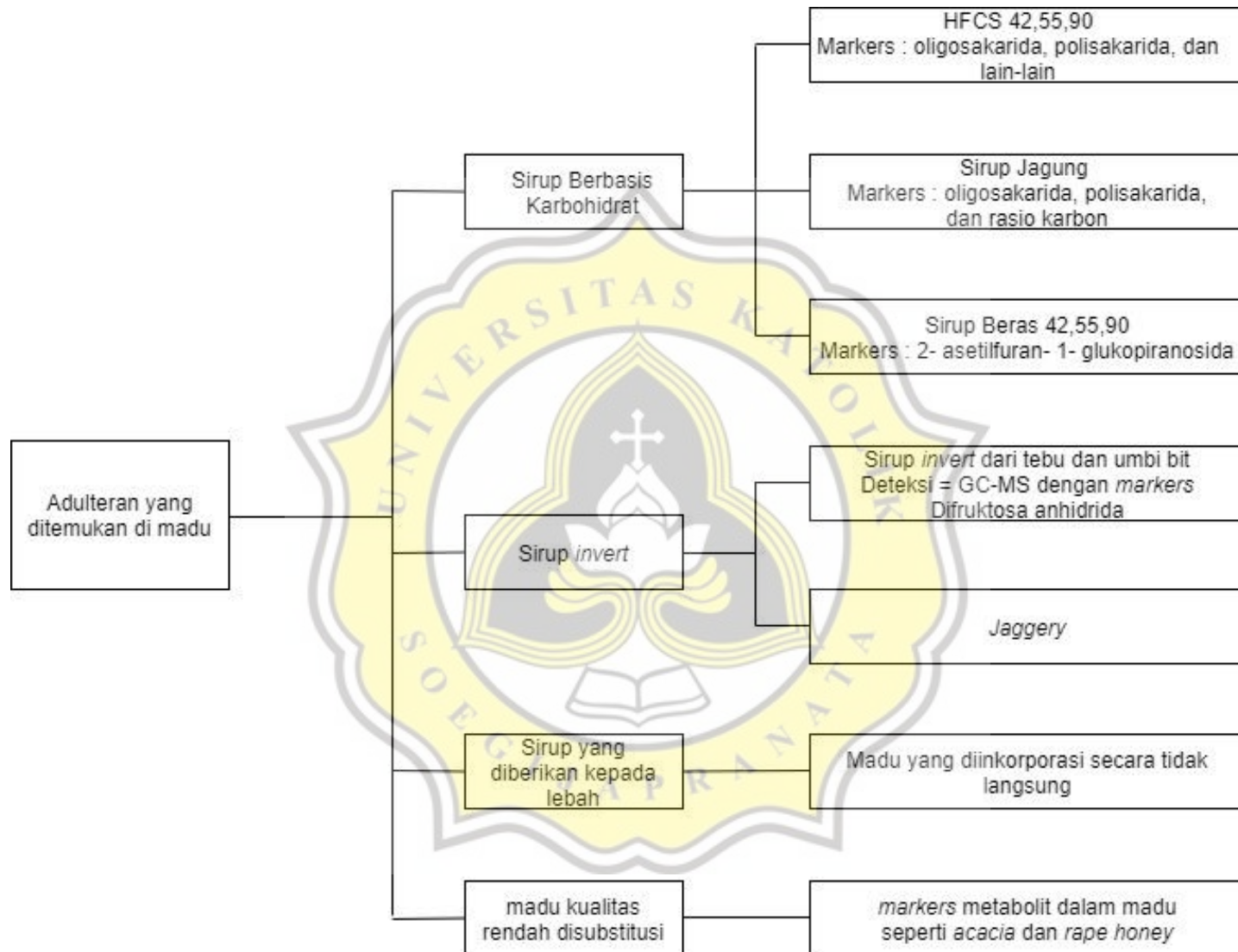
Madu merupakan salah satu pemanis alami yang sangat kompleks. Hal ini dikarenakan madu tidak perlu proses lama untuk dikonsumsi manusia. Madu merupakan produk natural yang dihasilkan oleh lebah terutama dari jenis *Apis mellifera L.* dari nektar yang dihasilkan oleh bunga atau dari sekret bagian tanaman lain atau serangga penghisap selain lebah (Schievano *et al.*, 2013). Jenis madu yang diadulterasi memiliki komponen penyusun yang berbeda-beda baik dari komposisi kimia maupun sifat fisikokimia. Berdasarkan hal tersebut, adulteran yang digunakan juga berbeda-beda. Komposisi kimia madu yang bervariasi dipengaruhi oleh sumber tanaman, lokasi geografis, kondisi iklim, metode produksi, dan kondisi penyimpanan (Das *et al.*, 2017). Lain halnya dengan komposisi fisikokimia madu yang dipengaruhi oleh sumber dan suhu lingkungan sekitar (Boussaid *et al.*, 2018).

Madu merupakan salah satu pemanis yang dapat dijadikan sebagai obat berdasarkan kepercayaan masa lampau. Madu memiliki sifat antibakteri dan antiinflamasi yang berguna dalam mempercepat penyembuhan luka kulit maupun bakar. Selain itu,

madu memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Warna madu yang semakin pekat menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin meningkat. Madu terbukti efektif melawan reaksi oksidasi yang merusak dalam makanan, misalnya pada oksidasi lemak dan pencoklatan enzimatis pada buah dan sayuran (Gheldof & Engeseth, 2002). Madu memiliki nilai komersial yang berbeda-beda tiap produknya berdasarkan asal muasal dan sifat fisikokimianya. Salah satu parameter fisikokimia yang diperhatikan dalam madu adalah kadar air, kadar gula, kandungan senyawa organik, dan berbagai macam parameter kualitas lainnya (Pires *et al.*, 2009).

1.2.1. Cara Adulterasi, Jenis Adulteran, dan Penentuan Kualitas Madu.

Adulterasi madu dilakukan dalam tiga cara yaitu langsung, tidak langsung, dan campuran (Fakhlai *et al.*, 2020; Se *et al.*, 2019). Adulterasi secara langsung dilakukan dengan menambahkan pemanis ke dalam madu. Metode adulterasi yang dilakukan dengan mencampurkan gula melalui pemberian pakan pada lebah penghasil madunya dinamakan adulterasi tidak langsung. Jenis adulterasi terakhir adalah adulterasi campuran yang dilakukan dengan mencampur madu kualitas tinggi dan kualitas rendah (Fakhlai *et al.*, 2020). Madu dapat diadulterasi dengan pemanis murah untuk keuntungan pribadi (Pita-Calvo *et al.*, 2017). Salah satu komponen paling penting dari madu adalah karbohidrat. Karbohidrat pada madu dibentuk dari enzim gula nektar. Jenis karbohidrat utama madu adalah fruktosa dan glukosa. Selain karbohidrat, masih terdapat komponen minor seperti asam organik, protein, enzim, dan hormon. Karakteristik karbohidrat menjadi suatu indikator adanya praktik adulterasi pada madu. Oleh karena itu, kontrol kualitas perlu dilakukan untuk memastikan tidak terjadi adulterasi pada madu (Pita-Calvo *et al.*, 2017).



Gambar 1. Tipe Adulteran pada Madu di Pasaran (Wu *et al.*, 2017)

Dalam bagan tersebut, ada beberapa tipe adulteran yang biasa digunakan untuk dicampurkan dalam madu. Beberapa di antara adulteran tersebut biasanya digantikan dengan pemanis lain (Wu *et al.*, 2017). Adulteran yang sering dipakai adalah *High Fructose Corn Syrup (HFCS)*, *Corn Sugar Syrup (COSS)*, *Inverted Sugar Syrup (ISS)*, *Cane Sugar Syrup (CASS)*, *Glucose Syrup (GS)*, *High Fructose Inulin Syrup (HFIS)*, *Rice Syrups (RS)*, dan masih banyak lagi (Fakhlaei *et al.*, 2020). Menurut Soares *et al.* (2017), pemanis ini dijadikan sebagai adulteran pada proses adulterasi langsung dengan tujuan untuk meningkatkan rasa manis pada madu. Pada adulterasi tidak langsung penambahan pemanis buatan ditujukan supaya lebah memproduksi lebih banyak madu. Hal ini dikarenakan nektar bunga merupakan sumber karbohidrat dan jumlahnya sangat bergantung pada anatomi tanaman tersebut.

High Fructose Corn Syrup (HFCS) merupakan sirup yang hampir memiliki komposisi sama dengan madu asli. Senyawa dari HFCS adalah glukosa dan fruktosa (92%) sehingga sangat susah untuk dideteksi (Li *et al.*, 2012). Penggunaan HFCS sebagai adulteran dikarenakan harganya yang murah (Sammataro & Weiss, 2013). *Corn sugar syrup (COSS)* merupakan gula yang dihasilkan dari tumbuhan C4 (Rios-Corripio *et al.*, 2012). *Inverted sugar syrup (ISS)* merupakan sirup yang dihasilkan dari pemecahan sukrosa menjadi monosakarida seperti fruktosa dan dekstrosa. Salah satu jenis gula *invert* yang sering digunakan adalah *beet sugar* yang berasal dari tumbuhan C3 (Fakhlaei *et al.*, 2020). Gula *invert* lain yang bisa digunakan dalam pemalsuan madu adalah *jaggery*. Gula ini biasa digunakan untuk memalsukan madu di India. Komposisi dari *jaggery* adalah 50% sukrosa, 20% gula *invert*, dan 20% kandungan air dan sisanya adalah materi tidak terlarut. Warna *jaggery* adalah coklat gelap dan bisa membentuk larutan homogen dengan madu sehingga mudah untuk dipalsukan (Mishra *et al.*, 2010). *Cane sugar syrup (CASS)* dan *glucose syrup (GS)* merupakan salah satu jenis sirup gula yang ditambahkan dalam pemalsuan jenis madu.

High Fructose Inulin Syrup (HFIS) merupakan jenis sirup yang dibentuk oleh oligofruktosa yang terdiri dari campuran oligosakarida. Sirup ini dapat membentuk berbagai jenis rantai fruktosa yang terikat oleh ikatan β -2,1 dalam unit glukosa. Jenis *marker* yang biasa digunakan untuk mendeteksi HFIS dalam madu adalah inulotriose (Ruiz-Matute *et al.*, 2010). Jenis adulteran terakhir yang biasa digunakan adalah sirup beras. Sirup beras dibuat dari tanaman C3 yang terdiri atas maltotriosa, maltosa, dan glukosa (Fakhlaei *et al.*, 2020). Kehadiran sirup beras dalam madu sulit dideteksi karena adanya hidrolisa polisakarida dan oligosakarida. Adulterasi madu dengan menggunakan sirup beras menjadi tantangan tersendiri karena belum banyak penelitian yang membahas mengenai hal ini (Wu *et al.*, 2017; Xue *et al.*, 2013)

Standar produk digunakan untuk melindungi konsumen dari berbagai praktik penipuan yang dilakukan oleh beberapa lembaga tertentu (Valand *et al.*, 2020). Standar juga menjadi patokan dalam analisis adulteran. Beberapa adulteran yang digunakan dalam pemalsuan madu dikembangkan untuk menguji keaslian madu berdasarkan standar dan regulasi yang ditetapkan (Riswahyuli *et al.*, 2020). Salah satunya adalah standar Codex Alimentarius atau SNI mengenai madu.

Menurut BSN (2018), persyaratan mutu madu budidaya secara organoleptik adalah memiliki bau dan rasa khas madu. Secara uji laboratoris, madu budidaya dipersyaratkan memiliki aktivitas enzim diastase minimal 3 DN, mengandung hidroksimetilfurfural maksimal sebanyak 40 mg/kg, memiliki kadar air maksimal 22% b/b, mengandung gula pereduksi yang dihitung sebagai glukosa dengan jumlah minimal 65% (b/b), kandungan sukrosa maksimal 5% (b/b), persen padatan tidak larut maksimal 0,5% (b/b), kadar abu maksimal 0,5% (b/b), dan beberapa ketentuan lainnya. Cemaran logam yang diperbolehkan pada madu budidaya adalah maksimal 1 mg/kg timbal (Pb), maksimal 0,2 mg/kg kadmium, dan maksimal 0,03 mg/kg merkuri (Hg). Cemaran arsen (As) yang diperbolehkan dalam madu yaitu maksimal 1,0 mg/kg.

Menurut standar CODEX, madu harus memiliki kadar air maksimal 20%, total fruktosa dan glukosa tidak kurang dari 60 g/100g, kandungan sukrosa tidak lebih dari 5 g/100g, dan padatan tidak terlarut maksimal 0,1 g/100g. Pengukuran kualitas ini diharapkan dapat mengurangi kemungkinan terjadinya pemalsuan dalam madu.

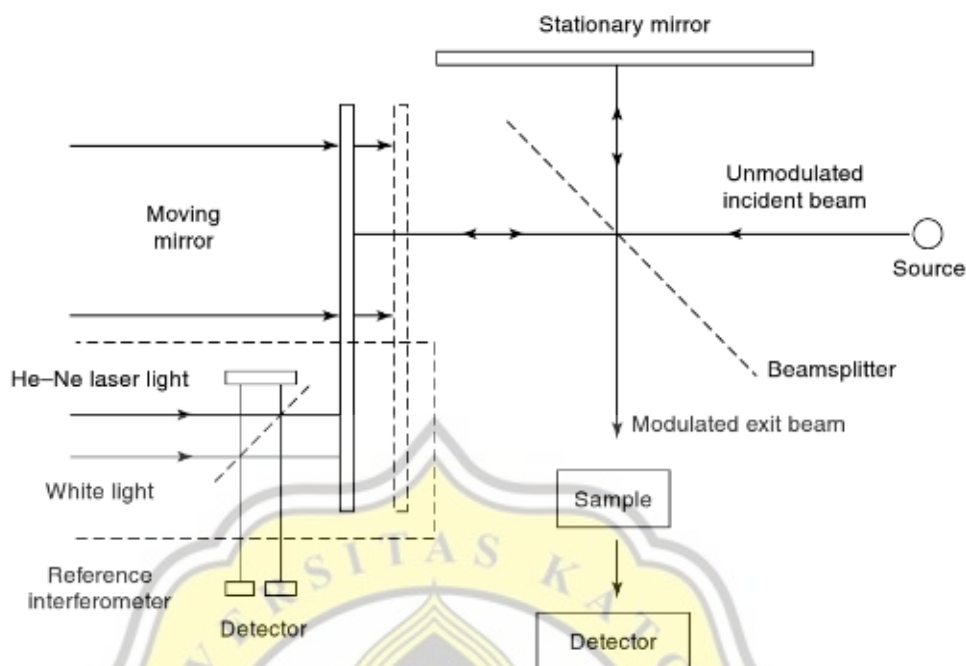
1.2.2. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan salah satu jenis dari spektrofotometer inframerah selain *Fourier Transform Mid-Infrared* (FT-MIR) dan *Fourier Transform Near-Infrared* (FT-NIR). Prinsip kerja FTIR dengan mengukur absorbansi cahaya melalui interferometer dari ikatan gugus fungsi molekul. Hasil dari pengukuran tersebut berupa spektrum yang dapat diukur menggunakan analisis *fourier* (Gauglitz & Moore, 2014). FTIR biasanya digunakan untuk mengetahui keberadaan molekul pada sampel tertentu. Parameter yang digunakan untuk mengidentifikasi molekul tersebut dengan mengetahui keberadaan puncak spektra pada sampel tertentu. Puncak spektra tersebut dapat digunakan untuk membandingkan kemiripan antara suatu sampel dengan sampel lainnya. Oleh sebab itu, FTIR dapat digunakan sebagai deteksi gugus fungsi (Smith, 2011). Absorpsi dari berbagai gugus fungsi dapat dideteksi secara akurat menggunakan FTIR dengan memantau setiap pergerakan dari suatu komponen kimia dalam proses sistem (Gauglitz & Moore, 2014). Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi sampel tertentu.

FTIR merupakan suatu instrumen yang memanfaatkan interaksi antara dua berkas sinar inframerah dengan sumber material. Interaksi tersebut menghasilkan sinyal yang disebut interferogram. Interferogram merupakan sebuah sinyal yang dihasilkan akibat perubahan jarak antar dua sinar. Kondisi ini biasanya dicapai dengan menggunakan Interferometer Michelson. Sinyal dari interferometer Michelson (Gambar 2.) kemudian didekomposisi menjadi frekuensi yang membentuk sinyal. Setelah terdekomposisi, sinyal tersebut diukur menggunakan algoritma *Fourier Transform* (Stuart, 2004). Pada bagian awal interferometer, berkas sinyal inframerah akan terbagi dengan intensitas yang sama oleh

beamsplitter. Sinyal yang terbagi, kemudian dipantulkan oleh cermin diam dan cermin *beamsplitter*. Keduanya bergabung kembali dan saling mengganggu (Stuart, 2004). Setelah bergabung, sinar akan menuju ke sampel dan diteruskan menuju detektor. Tugas dari detektor adalah mengubah intensitas cahaya menjadi sinyal elektrik. Perubahan intensitas cahaya akan berujung kepada perubahan pada sinar elektrik yang diterima oleh detektor. Perubahan ini dilakukan dengan memanfaatkan panas pada radiasi inframerah yang berfungsi sebagai transduser. Setelah terjadi perubahan energi, sinyal akan dikirimkan melalui komputer. Sinyal tersebut lalu diubah menjadi spektrum yang diterjemahkan oleh program lunak FTIR menjadi bentuk matematis (Smith, 2011). Spektra yang dihasilkan dapat diubah menjadi informasi kimia untuk mengidentifikasi klasifikasi dan kuantitas bahan. Analisis spektra yang sudah didapatkan bisa dianalisis menggunakan analisis multivariat atau kemometrik (Rohman *et al.*, 2020).

Terdapat dua metode untuk menyebarkan sinyal pada FTIR yaitu transmitansi dan reflektansi. Metode transmitansi pada FTIR didasarkan pada penyerapan radiasi sinar inframerah saat melewati material. Cara ini sangat cocok untuk mendeteksi sampel dalam bentuk padat, cair, dan gas. Metode reflektansi merupakan metode yang sering digunakan dalam analisis sampel FTIR. Cara ini biasa dilakukan pada saat sinar inframerah terpantulkan dari material. Analisis reflektansi yang sering digunakan dalam deteksi FTIR adalah *Attenuated total reflectance* (ATR). Teknik ini menggunakan reflektansi kontak internal antara sel dengan sampel (Stuart, 2004).



Gambar 2. Cara Kerja Interferometer Michelson dalam Deteksi Sampel Menggunakan FTIR (Stuart, 2004).

1.2.2.1 FTIR sebagai Instrumen Analisis untuk Mendeteksi Adulteran pada Madu.

Metode yang biasa digunakan untuk mendeteksi adulteran dalam madu adalah kromatografi layar tipis, analisis rasio isotop karbon stabil, teknik kromatografi, teknik spektroskopi, biosensor, dan teknik kemometrik yang dikombinasikan dengan teknik analisis yang lain (Dong *et al.*, 2017; Se *et al.*, 2019). Metode yang digunakan didasari pada analisis *phytochemical markers*, analisis serbuk sari, profil senyawa, serta pengembangan analisis yang dikombinasikan dengan analisis multivariat (Pita-Calvo *et al.*, 2017; Ulberth, 2016). Teknologi spektroskopi *infrared* biasa digunakan untuk menentukan jumlah kemurnian madu secara akurat.

Menurut Rodriguez-Saona & Allendorf (2011), spektra inframerah FTIR terdapat 3 macam yaitu spektra dekat ($14.000-4.000\text{ cm}^{-1}$), spektra tengah ($4.000-400\text{ cm}^{-1}$), dan spektra jauh ($400-50\text{ cm}^{-1}$). Bilangan gelombang yang biasa digunakan untuk mendeteksi keaslian senyawa organik adalah spektra tengah $4000-1500\text{ cm}^{-1}$. Spektra tersebut harus menyesuaikan bilangan gelombang adulteran sehingga dapat

berubah-ubah sesuai adulterannya. Bilangan gelombang yang digunakan untuk deteksi komponen madu adalah $1500\text{-}900\text{ cm}^{-1}$. Bila bilangan gelombang berada di bawah 1500 cm^{-1} menandakan adanya getaran dari suatu ikatan molekul pada bahan yang berujung pada karakterisasi struktur molekul (Valand *et al.*, 2020).

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy telah menjadi metode alternatif untuk menguji pemalsuan bahan pangan karena persiapan sampel sedikit, analisis cepat, dan sedikit pelarut berbahaya yang digunakan. Analisis ini dapat menghemat waktu, biaya dan persiapan sampel sederhana, serta banyak diterapkan di bidang pangan. Spektroskopi jenis ini menggunakan teknik inframerah (IR) untuk mengotentikasi dan mendeteksi pemalsuan dalam makanan. Perubahan spektra inframerah dilakukan dengan merekam perubahan absorpsi radiasi Inframerah oleh molekul. Hasil dari perubahan tersebut adalah gerakan mekanis (mode getaran dan rotasi) akibat penyerapan energi (Rodriguez-Saona & Allendorf, 2011). *Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy* dapat dikombinasikan dengan teknik statistik multivariat untuk mendapatkan informasi khusus tentang parameter yang berbeda secara bersamaan dan cepat. Penggunaan FTIR bisa dikombinasikan dengan menggunakan atenuasi total reflektansi (ATR) menggunakan spektroskopi inframerah-tengah (NIR). Kombinasi FTIR-ATR digunakan untuk mengukur kandungan adulteran seperti sirup jagung, HFCS, dan gula invertasi (Kumaravelu & Gopal, 2015). Di masa kini, terdapat 3 strategi dasar yang diikuti untuk mengecek adanya praktik adulterasi madu. Metode tersebut yaitu meneliti adanya komponen asing, jumlah komponen yang menyimpang, dan detail komponen tersebut. Di antara ketiganya, strategi pertama merupakan pendekatan yang dianggap paling baik (Bansal *et al.*, 2017). Strategi ini disebut juga sebagai pendekatan proaktif. *Chemical marker* merupakan komponen yang dianggap sebagai adulteran dalam suatu bahan pangan (Sforza, 2013). *Marker* ini dapat menjadi penanda spesifik otentifikasi bahan pangan (Manning & Soon, 2014).

Spektra FTIR sangat kompleks dan sulit untuk diinterpretasikan sehingga cara perhitungan spektra FTIR dapat dilakukan dengan kombinasi menggunakan metode

kemometri. Pada grafik spektra FTIR, dapat dilihat bahwa terdapat sumbu X berupa bilangan gelombang dan sumbu Y berupa bilangan absorbansi. Absorbansi merupakan cara yang dilakukan untuk mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh sampel. Puncak absorbansi menunjukkan bilangan gelombang di mana sejumlah besar cahaya diserap oleh sampel (Smith, 2011). Dalam spektra FTIR, terdapat beberapa gugus fungsi yang terdapat dalam madu maupun pemalsunya. Tabel 1 memuat perbandingan spektra gugus fungsi madu asli dan senyawa aduleran pada madu.

Tabel 1. Gugus Fungsi yang Terdeteksi pada Madu dan Aduleran dalam Bilangan Gelombang Tertentu.

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Gugus yang terdeteksi	Referensi
950-750	Gugus anomer karbohidrat	(Gok <i>et al.</i> , 2015)
1.024 dan 1.251	Regangan C–O dalam gugus C–OH dan regangan C–C dalam fraksi karbohidrat pada madu	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
1.271-991	Regangan C–O dalam C–OH dan regangan C–C dalam gula	(Tewari & Irudayaraj, 2004)
1.500-750	Absorpsi senyawa gula utama seperti monosakarida (glukosa,fruktosa) dan disakarida (sukrosa)	(Cengiz & Durak, 2019)
1.700-1.600	Lekukan gugus N–H pada amina (ada protein pada madu) Lekukan dan regangan gugus –OH pada air adanya C=O pada karbohidrat	(Philip, 2009) (Cai & Singh, 2004) (Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
3.600-1.700	Tidak adanya ikatan regangan atau lekukan karena kurangnya konsentrasi air dalam madu.	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
3.000-2.800	Regangan C–H pada asam karboksilat dan ikatan NH ₃ pada asam amino bebas	(Anjos <i>et al.</i> , 2015)

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa setiap spektra memiliki gugus fungsi yang berbeda-beda tiap bilangan gelombang. Dalam beberapa gugus fungsi yang dijelaskan, dapat diketahui adanya absorpsi inframerah. Absorpsi ini menyebabkan

peningkatan frekuensi di mana ikatan antara atom akan melekok dan meregang (Fox & Whitesell, 2004). Regangan dan lekukan ditentukan berdasarkan massa atom dan kekuatan ikatan. Regangan akan berkontribusi terhadap peningkatan dan pengurangan panjang ikatan molekul sedangkan lekukan akan berkontribusi terhadap sudut antara ikatan dalam molekul (Bridgeman, 2021).

Berdasarkan Tabel 1, terdapat gugus-gugus penting yang terdapat pada senyawa adulteran pada madu dan madu asli. Gugus-gugus tersebut adalah gugus anomer, regangan gugus C-O, C-C, C-OH, N-H, C=O, N-H, C-H, dan absorpsi senyawa gula utama. Gugus anomer merupakan gugus yang menunjukkan adanya karakteristik senyawa sakarida pada suatu sampel sementara gugus C-O, C-C, dan C-OH merupakan gugus yang membentuk struktur karbohidrat (Gallardo-Velázquez *et al.*, 2009). Senyawa gula utama seperti glukosa, sukrosa, dan fruktosa merupakan salah satu senyawa yang ditemukan pada bilangan gelombang 1.500-750 cm^{-1} . Senyawa ini biasanya menjadi salah satu spektra pembeda antara spektra madu dengan senyawa pemalsunya (Cengiz & Durak, 2019; Li *et al.*, 2012). Gugus lainnya seperti gugus N-H pada senyawa amina bebas dan gugus OH pada air biasanya tidak menjadi salah satu gugus pembeda untuk membedakan senyawa adulterasi madu dengan madu asli. Gugus protein amida merupakan gugus yang menunjukkan adanya wilayah protein amida baik getarannya maupun rantai samping getaran yang terbentuk (Cai & Singh, 2004). Pada bilangan gelombang 3.600-1.700 cm^{-1} , tidak terdapat ikatan regangan atau lekukan karena kurangnya konsentrasi air dalam madu. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya ikatan -OH pada bilangan gelombang 3.600-1.700 cm^{-1} (Gallardo-Velázquez *et al.*, 2009). Regangan C-H pada asam karboksilat dan ikatan NH_3 pada asam amino bebas ditemukan pada bilangan gelombang 3.000-2.800 cm^{-1} . Senyawa tersebut memiliki konsentrasi sangat rendah dan tidak dipertimbangkan dalam perbandingan spektra FTIR (Anjos *et al.*, 2015).

1.2.2.2. Analisis Multivariat dalam Deteksi Spektroskopi Inframerah

Kombinasi spektroskopi inframerah dan kemometrik (teknik analisis data multivariat) berlaku pada banyak makanan dan komoditas pertanian untuk memprediksi komposisi bahan kimia dengan akurasi tinggi. Analisis multivariat dapat memprediksi data adulteran pada madu bila dibandingkan dengan sampel aslinya (Rios-Corripio *et al.*, 2012). Analisis yang biasa digunakan adalah *Partial Least Squares* (PLS) dan *Principal Component Regression* (PCR). Baik PLS maupun PCR memiliki perbedaan di mana PCR mencari nilai regresi data paling tinggi sementara PLS akan memprediksi hasil paling baik menggunakan informasi tertentu. Terdapat beberapa metode analisis multivariat yang bisa digunakan seperti *Principal Component Analysis* (PCA) dengan menggunakan sebaran plot tertentu. Dasar dari penggunaan PCA menggunakan posisi sampel diposisikan berdasarkan titik tertentu (Valand *et al.*, 2020).

Kombinasi analisis multivariat dapat digunakan untuk memprediksi kandungan gula dalam madu termasuk glukosa, fruktosa, melezitosa dan turanosa dalam bentuk persen. Penggunaan spektroskopi inframerah biasanya digunakan untuk mendeteksi Hidroksi Metil furfuraldehid (HMF), prolin, dan gula seperti maltosa, turanosa, nigerosa, erlosa, trehalosa, isomaltosa, kojibiosa, melesitosa, rafinosa, gentiobiosa, selulosa, maltotriosa. Parameter yang biasa diuji adalah nilai pH, konduktivitas elektrik, asam bebas. Selain itu, pengukuran komposisi kimia serbuk sari meliputi kandungan protein, kadar air, abu, dan pH juga dilakukan dalam analisis multivariat (Cozzolino *et al.*, 2011). Adapun kelemahan yang ditimbulkan dari penggunaan FTIR adalah bilangan gelombang terbatas dalam region yang masih terlihat, sinyal yang lemah di bilangan gelombang pendek, sangat sensitif terhadap getaran, dan perlu pemanasan sampel karena bilangan gelombang yang terlalu pendek (Babushkin *et al.*, 2016)

1.2.4. Analisis Kesenjangan Terkait Kajian Pemalsuan pada Madu

Madu merupakan suatu larutan jenuh di mana lebih dari 95 % massa keringnya terdiri dari gula meskipun berbeda-beda kandungan nutrisinya (Schievano *et al.*, 2013). Hal inilah yang membuat madu menjadi target untuk dipalsukan karena

komposisi gulanya sangat besar. Terdapat berbagai artikel *review* yang membahas mengenai pemalsuan madu dan cara deteksinya. Fokus penelitian-penelitian berbasis *review* terkait adulterasi madu dan FTIR yang telah dilakukan sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. *Review* terkait Adulterasi Madu dan FTIR yang Sudah Dilakukan

No	Aspek yang di- <i>review</i>	Temuan/kata kunci	Referensi
1	Aplikasi FTIR dalam autentikasi dan deteksi adulteran dan adulteran berbahaya	FTIR, otentisitas, dan adulteran	(Rodriguez-Saona & Allendorf, 2011)
2	Penggunaan, kelebihan, kekurangan dari spektroskopi inframerah untuk melihat komposisi madu	Kelebihan, kekurangan, komposisi, madu	(Cozzolino <i>et al.</i> , 2011)
3	Karakteristik teknik spektroskopi dalam mengecek kualitas dan otentisitas makanan dan cara pengaplikasiannya di bidang industri pangan.	Spektroskopi, otentisitas, aplikasi	(Lohumi <i>et al.</i> , 2015)
4	Cara analisis dan kriteria menguji otentisitas dari madu serbia berdasarkan asal usulnya	Analisis, otentisitas, madu	(Milojković-Opsenica <i>et al.</i> , 2015)
5	Perkembangan terkini adulterasi madu menggunakan beberapa alat uji tertentu.	Adulterasi, madu, instrumen	(Ulberth, 2016)
6	Jenis adulteran, otentikasi, dan teknik analisis untuk mendeteksi adulteran madu dengan metode kemometrik.	Adulteran, otentisitas, madu	(Wu <i>et al.</i> , 2017)
7	Masalah otentisitas madu berdasarkan produksi dan asal muasal dan juga perkembangannya.	Otentisitas, madu, produksi	(Soares <i>et al.</i> , 2017)
8	Pengertian madu, komposisi madu, standar, kualitas, cara pemalsuan, cara deteksi dengan alat deteksi yang ada.	madu, komposisi, standar, pemalsuan, deteksi	(Naila <i>et al.</i> , 2018)

9	Jenis-jenis adulteran pada madu dan perspektif ke depan	Adulteran, madu	(Se <i>et al.</i> , 2019)
10	Adulterasi madu beserta jenis deteksi yang digunakan serta alasan menggunakan metode tersebut.	Adulterasi, deteksi	(Girma & Seboka, 2020)
11	Penjelasan mengenai FTIR sebagai teknik analisis adulterasi dan otentikasi makanan beserta cara mengolah datanya	Deteksi FTIR, adulterasi, otentisitas	(Valand <i>et al.</i> , 2020)
12	Metode analisis yang dapat mendeteksi otentisitas dan adulterasi	Deteksi, otentisitas, adulterasi.	(Mendes & Duarte, 2021)

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa beberapa artikel *review* yang menjelaskan mengenai analisis FTIR hanya terfokus seputar bahan makanannya saja. Sebagian *review* belum ada yang membahas secara mendetail mengenai potensi adulteran yang digunakan dalam analisis FTIR (Rodriguez-Saona & Allendorf, 2011; Valand *et al.*, 2020). Kurang lebih *review* lainnya hanya membahas tentang cara mendeteksi adulterasi madu seperti *review* Wu *et al.* (2017) yang menjelaskan tentang tantangan yang dihadapi dalam deteksi adulteran berbasis gula. Jurnal tersebut juga berisi tentang jenis adulteran pada madu dan deteksi adulteran menggunakan teknik yang berbeda-beda. Penelitian serupa juga diperkenalkan oleh Se *et al.* (2019) dan Ulberth (2016) dengan tambahan berupa perkembangan teknik untuk mendeteksi madu seperti biosensor dan *electronic nose*. Demikian pula dengan penelitian yang dikemukakan oleh Naila *et al.* (2018) perihal perkembangan lama dan terkini mengenai teknik pengujian adulterasi madu.

Beberapa artikel *review* masih sedikit yang membahas mengenai analisis FTIR dibandingkan dengan menggunakan metode lainnya. Keaslian madu menjadi perhatian khusus bagi industri pangan dan konsumen terutama karena efek kesehatannya (Gok *et al.*, 2015). Madu menjadi salah satu bahan pangan yang memiliki kualitas tinggi sehingga rentan untuk dipalsukan dengan bahan lain. Bahan pemalsu atau adulteran pada madu memiliki ciri-ciri kimia yang berbeda-beda sehingga kemampuan dalam deteksinya berbeda-beda (Wu *et al.*, 2017).

Beberapa deteksi dapat dilakukan untuk mendeteksi adulteran pada madu seperti teknik *Nuclear Magnetic Resonance*, kromatografi layar tipis, dan analisis perbandingan isotop karbon stabil. Dari beberapa deteksi yang dilakukan, ternyata masih terdapat kelemahan-kelemahan karena waktu cukup lama terutama pada saat penghancuran sampel. Oleh karena itu, FTIR menjadi salah satu metode deteksi yang dibutuhkan karena teknik deteksi yang cepat, akurat, dan mudah dioperasikan agar tidak menghabiskan waktu lama (Gallardo-Velázquez *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2020; Riswahyuli *et al.*, 2020; Se *et al.*, 2018).

Review mengenai adulterasi madu membahas mengenai keterlacakan melalui asal muasal madu (Lohumi *et al.*, 2015; Mendes & Duarte, 2021; Milojković-Opsenica *et al.*, 2015; Soares *et al.*, 2017), dan juga cara deteksi kualitas madu yang baik dan benar (Girma & Seboka, 2020). Akan tetapi penelitian-penelitian *review* tersebut kurang membahas tentang adulteran yang dapat dideteksi dengan metode-metode tersebut terutama menggunakan FTIR. Analisis FTIR dikenal memiliki tingkat akurasi tinggi, cepat, dan sangat mudah pengaplikasiannya. Oleh karena itu, penelitian ini diangkat untuk mencari tahu aplikasi dan deteksi FTIR yang biasa digunakan untuk mendeteksi adulteran-adulteran dalam bahan pangan terutama pada madu.

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian yang dilakukan dalam pembuatan laporan ini yaitu:

1. Mengetahui berbagai jenis adulteran pada madu yang dideteksi menggunakan FTIR.
2. Menjelaskan metode deteksi adulteran pada madu dengan FTIR.
3. Mengetahui metode analisis multivariat dalam mendeteksi adulteran pada madu menggunakan analisis FTIR.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari *review* ini adalah :

1. Memberikan informasi mengenai jenis adulteran pada madu yang dideteksi oleh FTIR.
2. Mengetahui cara mendeteksi adulterasi madu dengan menggunakan FTIR.
3. Mengetahui kinerja FTIR dalam mendeteksi adulteran pada madu menggunakan metode multivariat.

