

instrumen analisis yang sesuai (Gauglitz & Moore, 2014). Kasus penipuan menggunakan madu biasanya dilakukan dengan mengubah proporsi gula sehingga dapat menyerupai komposisi madu asli (Morales *et al.*, 2008). Metode preparasi sampel untuk deteksi adulteran pada madu menggunakan FTIR dapat dilihat pada Tabel 4.

Terdapat berbagai metode preparasi sampel sebelum dilakukan analisis adulterasi menggunakan instrumen FTIR. Dalam penelitian Başar & Özdemir (2018), preparasi sampel yang diadulterasi gula bit dilakukan dengan melarutkan gula bit berbentuk padat menggunakan air keran sebanyak 50% (b/b). Pelarutan gula bit bertujuan agar gula bit dapat menjadi larutan. Metode preparasi lainnya menggunakan sampel yang diadulterasi dengan gula jagung tidak dilakukan pelarutan. Sampel yang diadulterasi dengan gula jagung disiapkan dengan mencampurkan madu asli dengan sirup jagung komersial secara langsung. Hal ini dikarenakan sirup jagung komersial telah memiliki viskositas yang tinggi. Metode preparasi yang dilakukan pada sampel madu yang diadulterasi dengan campuran air, gula bit, dan sirup dengan mencampurkan sampel madu asli secara binari (madu dan sirup jagung), tersier (madu, gula bit, dan air), dan kuartener (madu, gula bit, sirup jagung, dan air) dengan berbagai konsentrasi. Hal ini bertujuan agar memperoleh ragam konsentrasi sehingga bisa menggambarkan banyak skenario adulterasi di pasaran.

Penelitian lain dari Cengiz & Durak (2019) menunjukkan bahwa sampel yang diadulterasi dengan sukrosa disiapkan dengan mempersiapkan larutan sukrosa terlebih dahulu dengan konsentrasi 43<sup>0</sup> brix pada suhu 50°C. Setelah larutan disiapkan, sukrosa dicampurkan ke sampel madu kontrol pada 10 persentase massa yang berbeda. Persentase massa yang berbeda menunjukkan persen adulterasi sukrosa pada sampel madu asli di Turki. Sebelum dianalisis, larutan diletakkan terlebih dahulu di *water bath* pada suhu 50°C agar kristal gula dapat larut sempurna.

Pada penelitian Subari *et al* (2012) metode pendahuluan yang digunakan dengan melakukan validasi aktivitas antioksidan madu Tualang murni menggunakan metode DPPH. Pengukuran kadar antioksidan merupakan variabel kontrol untuk memastikan sampel yang digunakan memiliki kadar antioksidan yang sama (Subari *et al.*, 2012). Madu Tualang berasal dari sarang lebah madu liar yang dapat ditemukan di pohon tualang hutan hujan tropis Malaysia (Mohamed *et al.*, 2010). Madu Tualang murni memiliki nilai DPPH pada rentang 32,25-73,20% yang berarti bahwa sampel tersebut merupakan madu Tualang murni tanpa adanya adulterasi. Tujuan pengecekan kandungan antioksidan pada madu Tualang disebabkan karena madu ini memiliki intensitas warna yang baik dan mengandung senyawa fenol yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan (Mohamed *et al.*, 2010). Setelah sampel madu Tualang murni tervalidasi keasliannya, diambil sebanyak 5 ml sampel madu murni kemudian dicampurkan dengan gula umbi bit pada konsentrasi 20, 40, 60, dan 80%. Selain gula umbi bit, sampel diberi perlakuan adulterasi dengan gula tebu pada konsentrasi 20, 40, 60, dan 80%. Replika kemudian dibuat dari sampel murni dan sampel yang telah diadulterasi sebanyak 5 kali sedangkan sampel gula umbi bit dan gula tebu direplikasi sebanyak 10 kali. Hal ini bertujuan untuk meyakinkan dan memverifikasi bahwa data diambil dari produk yang sama.

Pada penelitian Huang *et al* (2020), preparasi sampel dilakukan menggunakan tanaman C3 (gula beras dan gula bit), dan tanaman C4 (HFCS, sirup jagung, sirup maltosa, dan sirup sukrosa) dengan mengatur konsentrasi derajat adulterasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60%. Setelah diatur konsentrasinya, sampel madu asli dan madu yang telah diadulterasi dipanaskan di *water bath* pada suhu 50°C selama 1 jam. Hal ini dikarenakan dekstrosa pada beberapa madu dapat mengalami kristalisasi yang sangat cepat pada suhu 25°C. Perlakuan pemanasan dengan *water bath* pada suhu 50°C selama 1 jam bertujuan agar menghilangkan kristal maupun nuklei kristal yang ada. Setelah itu dilakukan pemanasan kembali pada suhu 30°C di *water bath* selama 48 jam agar

gelembung udara hilang. Setelah itu sampel dipindahkan ke suhu ruang untuk pengujian lebih lanjut.

Beberapa penelitian melakukan preparasi sampel dengan pengenceran dan pengukuran kadar padatan. Hal tersebut dilakukan oleh Gallardo-Velázquez *et al.* (2009) dan Riswahyuli *et al.* (2020). Pengenceran yang dilakukan oleh Gallardo-Velázquez *et al.* (2009) dimulai dengan mengencerkan sampel dari 2-50 % (w/w) lalu dikoleksi dalam suhu ruang. Pengenceran dari 2-50 % dilakukan untuk kalibrasi data sampel madu yang ada. Sehingga dapat diketahui pada wilayah spektra mana adulterasi madu dilakukan dan terjadi bila terjadi perbedaan konsentrasi. Metode seperti ini dilakukan oleh Kelly & Downey (2005) dengan menggunakan perbedaan konsentrasi saat melakukan pengambilan sampel.

Metode preparasi yang terakhir adalah metode pengukuran kadar padatan (Riswahyuli *et al.*, 2020). Metode ini dilakukan dengan mengatur kadar padatan sebesar 70<sup>0</sup> Brix menggunakan refraktometer. Tujuan dari perlakuan ini adalah untuk standarisasi sampel agar tidak terjadi perbedaan perlakuan. Selain mengukur kadar padatan, preparasi sampel dari Riswahyuli *et al.* (2020) dilakukan dengan mengatur konsentrasi tiap sampel sebesar 10-50 %.

Tabel 4. Metode Preparasi Sampel untuk Deteksi Adulteran pada Madu Menggunakan FTIR

No	Adulteran	Jenis Madu yang diadulterasi	Metode <i>pre treatment</i>	Perlakuan	Prosedur/alat	Keterangan/perlakuan	Sumber/Referensi
1	Gula Bit	Madu dari pasar lokal dan peternak lebah	Pelarutan	TA	TA	Dilartukan dengan air keran sebesar 50 % (w/w)	(Başar & Özdemir, 2018)
2	Sirup Jagung	Madu dari pasar lokal dan peternak lebah	Tanpa perlakuan	TA	TA	Digunakan secara langsung berbentuk larutan	(Başar & Özdemir, 2018)
3	Air	SDA	SDA	TA	TA	SDA	(Başar & Özdemir, 2018)
4	Campuran air, sirup jagung, dan gula bit	Madu dari pasar lokal dan peternak lebah	TA	pencampuran secara binari, tersier, dan kuarternar.	TA	74 larutan sampel ditambahkan adulteran pada madu dengan proporsi berbeda-beda	(Başar & Özdemir, 2018)
5	Sukrosa	Madu dari pasar lokal	Pengaturan total padatan dan pemanasan sampel	TA	refraktometer dan <i>waterbath</i>	-Pengaturan konsentrasi sukrosa 73 <sup>0</sup> brix (var. kontrol) - Larutan dipanaskan pada suhu 50 <sup>0</sup> C di <i>water bath</i> dan dibiarkan di suhu ruang.	(Cengiz & Durak, 2019)
6	Sirup Beras	Madu dari Peternakan lebah di wilayah <i>Chinese Academy of Agricultural Sciences of China</i>	TA	Pengaturan konsentrasi adulteran dan madu aslinya.	TA	TA	(Li <i>et al.</i> , 2020)
7	D-fruktosa	Madu dari peternak lebah dari berbagai wilayah	Pengaturan total padatan dan pemanasan sampel	Pengaturan konsentrasi (10-90 %)	Refraktometer	Sampel diatur 70 <sup>0</sup> Brix (var. kontrol) tiap sampel dan dipanaskan sebesar 35 <sup>0</sup> C.	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
8	D-glukosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
9	sukrosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
10	Sirup Jagung (CS)	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
11	Sirup Gula Invert (ISS)	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)

12	Sirup Gula Tebu (CSS)	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
13	D(-)-fructose	Madu dari peternakan lebah wilayah peninsular malaysia	Pengaturan konsentrasi dan <i>stirring</i> sampel	60 sampel diatur konsentrasinya (2-59 % w/w).	refraktometer, <i>magnetic stirrer</i>	- Pengaturan konsentrasi sampel madu dan adulteran sebesar 70 <sup>0</sup> brix ( var. kontrol) - diaduk dengan <i>stirrer</i> pada 300 rpm selama 5 menit.	(Se <i>et al.</i> , 2018)
14	D(+)-glukosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
15	D (+)-sukrosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
16	Sirup Jagung	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
17	Sirup Tebu tergranulasi	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
18	Gula umbi bit	Madu Tualang dari pasar lokal	Pengukuran aktivitas antioksidan dan preparasi konsentrasi sampel	Pengaturan konsentrasi yang berbeda-beda (20, 40, 60 dan 80%)	Spektrofotometer UV-Vis (metode DPPH)	- Pengukuran aktivitas antioksidan melalui DPPH (var. kontrol)	(Subari <i>et al.</i> , 2012)
19	Gula Tebu	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Subari <i>et al.</i> , 2012)
20	Gula beras	Madu yang difasilitasi oleh <i>Guangdong Institute of Applied Biological Resources</i>	Pemanasan I dan II, dan penyimpanan sampel	Pengaturan konsentrasi sampel (10,20, 30, 40, 50, dan 60%)	<i>Water bath</i>	Pemanasan dalam <i>water bath</i> suhu 50 °C selama satu jam dan suhu 30 °C selama 48 jam	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
21	Sirup Bit	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
22	<i>High-Fructose Corn Syrup</i>	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
23	Sirup jagung	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
24	Sirup maltosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
25	Sirup sukrosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
26	Gula aren	Madu yang dikumpulkan dari 7 area hutan yang berbeda-beda	Pengaturan kadar padatan sampel	pengaturan konsentrasi sebesar 10-50 %	Refraktometer	Pengaturan kadar padatan distandarisasi 70 <sup>0</sup> Brix	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)

27	Gula kelapa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)
28	Gula tebu	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)
29	Sirup jagung	Madu yang didapatkan dari wilayah yang berbeda-beda di dunia	Pemanasan sampel	Pengaturan konsentrasi sampel (2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23 & 27%)	<i>Water bath</i>	Sampel dipanaskan dalam <i>water bath</i> sebesar 50 <sup>0</sup> C	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
30	Campuran madu dan sirup jagung	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
31	HFCS	Madu yang dikumpulkan dari empat wilayah berbeda	Pengenceran sampel	TA	TA	Sampel diencerkan (2-60 %) dan dikoleksi dalam suhu ruang	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
32	Gula tebu invert	Madu yang dikumpulkan dari empat wilayah berbeda	Pengenceran sampel	TA	TA	Sampel diencerkan (2-50 %) dan dikoleksi dalam suhu ruang	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
33	Gula jagung	SDA	SDA	TA	TA	SDA	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
34	Campuran Madu <i>Trigona spp.</i> dan <i>Apis sp.</i>	Madu yang dikumpulkan dari peternak lebah	Pemanasan sampel	TA	<i>waterbath</i>	Sampel dipanaskan pada suhu 30 C untuk mendapatkan viskositas yang sesuai	(Mail <i>et al.</i> , 2019)
35	Asam cuka	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Mail <i>et al.</i> , 2019)
36	Air	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Mail <i>et al.</i> , 2019)

Catatan :

SDA = sama seperti penjelasan di atas

TA = tidak ditemukan di jurnal

Berdasarkan metode-metode preparasi pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa metode preparasi sampel untuk deteksi adulteran pada madu menggunakan FTIR dapat dilakukan sesuai tujuan dan maksud penelitian. Metode perlakuan yang sesuai akan mengurangi rentang bilangan gelombang dan konsentrasi suatu sampel dalam melakukan deteksi adulteran pada madu sehingga puncak spektra dapat terlihat dengan jelas (Smith, 2011). Beberapa penelitian langsung meletakkan adulteran pada madu ke dalam FTIR tanpa perlakuan apapun sehingga, tujuan metode persiapan sampel dilakukan sesuai keinginan peneliti.

Menurut Tabel 3, metode yang paling sering digunakan dalam preparasi sampel adulterasi madu yaitu pemanasan larutan (Cengiz & Durak, 2019; Huang *et al.*, 2020; Mail *et al.*, 2019; Rios-Corripio *et al.*, 2012). Alat yang digunakan dalam melakukan pemanasan larutan adalah *water bath* yang mampu memanaskan sampel hingga 90<sup>0</sup> C (Block, 2001). Hal ini disebabkan karena proses pemanasan tidak membutuhkan pelarut yang destruktif dan cepat untuk dilakukan (Smith, 2011). Selain itu, panas yang dihasilkan sampel menyebabkan terjadinya kenaikan suhu sehingga terbentuk gelombang periodik. Gelombang ini akan dikonversi menjadi gelombang elektromagnetik dalam FTIR sehingga deteksi spektra akan berlangsung secara cepat (Stuart, 2004). Selain itu, pemanasan menggunakan *water bath* digunakan untuk melarutkan kristal gula dan menghilangkan gelembung udara pada sampel madu (Cengiz & Durak, 2019; Huang *et al.*, 2020). Madu merupakan larutan superjenuh yang tidak mudah terlarut dalam larutan sejenis seperti air. Molekul dari larutan superjenuh akan menghasilkan kristal dengan distribusi kurang teratur (Anderson *et al.*, 2013). Kandungan dekstrosa pada madu mudah mengkristal pada suhu kurang dari 25<sup>0</sup> C. Pengkristalan dekstrosa ini menyebabkan distribusi yang tidak merata pada komposisi madu sehingga kemampuan sinyal FTIR untuk membaca sampel sangat rendah (Huang *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pemanasan dilakukan untuk melarutkan padatan kristal yang terdapat pada madu (Anderson *et al.*, 2013).

Variabel kontrol yang biasa dilakukan untuk menyamakan perlakuan deteksi adalah pengaturan kadar padatan menggunakan refraktometer. Alat ini biasanya digunakan untuk mengukur kandungan total padatan terlarut dalam suatu bahan pangan (Lombard *et al.*, 2008). Pengukuran kadar padatan pada deteksi adulteran pada madu bertujuan untuk mengetahui total padatan dalam madu. Total padatan lebih dari 70<sup>0</sup> brix biasanya diberikan untuk produk yang memiliki umur simpan panjang, aktivitas air di bawah 0,5 %, memiliki sifat antimikroba, dan tidak mendukung pertumbuhan mikroba (Koutchma, 2014). Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa setiap madu yang diteliti harus diukur total padatannya sebesar 70<sup>0</sup> brix terutama pada madu yang memiliki umur simpan panjang dan terdapat sifat antimikroba. Total padatan madu pada berbagai penelitian dibuat sama untuk menghindari adanya variasi total padatan dalam tiap sampel sehingga tidak terjadi kesulitan dalam proses pembacaan spektra FTIR (Guelpa *et al.*, 2017).

Perlakuan yang diberikan pada tiap sampel kebanyakan menggunakan perlakuan konsentrasi yang berbeda-beda (Tabel 4). Perlakuan ini bertujuan untuk membandingkan spektra inframerah sampel berdasarkan konsentrasi massa yang digunakan. Rentang konsentrasi yang digunakan menyesuaikan jenis sampel adulteran dan madu yang dipakai. Perlakuan konsentrasi akan menghasilkan model prediksi dari berbagai sampel madu (Wang *et al.*, 2010).

#### **4.2. Pengujian Berbagai Adulteran pada Madu dan Gugus Fungsi yang Terlihat**

Setelah sampel sudah disiapkan, larutan madu dan adulteran diuji menggunakan alat FTIR. Dua metode yang biasa digunakan dalam deteksi sinyal FTIR yaitu transmitansi dan reflektansi (Stuart, 2004). Pengujian adulteran menggunakan deteksi FTIR dapat dilihat pada Tabel 5. Berdasarkan data pada Tabel 5, metode yang biasa digunakan dalam mendeteksi adulterasi madu adalah metode FTIR dengan analisis *attenuated total reflectance* (ATR).



Berdasarkan alat yang digunakan, dapat dilihat bahwa semua adulteran dideteksi menggunakan alat FTIR-ATR (*Fourier Transform Infrared-Attenuated Total Reflection*). ATR (*Attenuated Total Reflection*) merupakan cara analisis sampel baik berbentuk padat maupun cair dan dikombinasikan untuk mengurangi proses preparasi sampel dan pengembangan spektral, sehingga proses analisis menjadi lebih tepat. Selain itu, ATR memiliki waktu minimal dalam preparasi sampel. Hasil akhir dari analisis ATR sangat cepat dalam pendeteksiannya. ATR-FTIR dikombinasikan pada refleksi tunggal untuk mempertahankan hasil gambar yang diperoleh. Detektor yang biasa digunakan menggunakan FTIR-ATR adalah *detector array*. Detektor ini berfungsi untuk mengumpulkan setiap cahaya yang dipantulkan untuk mempertahankan hasil gambar yang baik (Kazarian & Chan, 2013).

Menurut Rodriguez-Saona & Allendorf (2011), spektra inframerah yang biasa digunakan dalam FTIR ada 3 macam yaitu spektra dekat ( $14.000-4.000\text{ cm}^{-1}$ ), spektra tengah ( $4.000-400\text{ cm}^{-1}$ ), dan spektra jauh ( $400-50\text{ cm}^{-1}$ ). Dalam Tabel 5, bilangan gelombang yang digunakan tiap sampel adulteran menggunakan bilangan gelombang  $4.000-650\text{ cm}^{-1}$ . Hal ini disebabkan karena pada bilangan gelombang tersebut, biasa digunakan untuk deteksi senyawa organik sementara madu merupakan pemanis yang memiliki banyak senyawa organik sehingga dapat digunakan untuk deteksi adulteran pada madu (Nyquist *et al.*, 1997).

#### **4.2.1. Spektra Adulteran pada Madu beserta Gugus Fungsi yang Terlihat.**

Analisis spektra adulteran pada madu dilakukan dengan membandingkan spektra sampel madu asli dengan sampel madu yang dipalsukan pada bilangan gelombang yang sudah ditentukan. Bilangan gelombang merupakan jumlah gelombang yang dihasilkan dalam jarak sebesar 1 cm (Stuart, 2004). Setelah melakukan perbandingan antar sampel, biasanya akan muncul dua spektra yaitu spektra adulteran pada madu dan spektra madu asli. Kedua spektra tersebut dibandingkan dan dilihat perbedaan yang paling mencolok berdasarkan gelombang inframerah yang dihasilkan. Dalam bilangan

gelombang, terdapat puncak yang dihasilkan melalui vibrasi spektra. Puncak ini digunakan untuk membandingkan persamaan suatu sampel dengan sampel lainnya (Smith, 2011). Dalam wilayah bilangan gelombang tertentu, biasanya terdapat perbedaan sangat mencolok dan dikategorikan sebagai wilayah sidik jari/*fingerprint*. Sebuah spektrum yang terdapat satu atau ratusan ikatan absorpsi yang ada tetapi tidak secara menyeluruh dan menjadi ciri-ciri suatu senyawa dinamakan wilayah sidik jari (Stuart, 2004). Wilayah ini menjadi pembeda dan menjadi penentu senyawa adulterasi pada madu (Cengiz & Durak, 2019; Li *et al.*, 2012). Apabila pada saat menggunakan analisis spektra tidak efektif untuk dilakukan, biasanya metode FTIR dikombinasikan dengan analisis multivariat untuk membandingkan kemampuan FTIR dalam memprediksi senyawa madu dan pemalsunya. Deteksi spektra adulteran terhadap FTIR dapat dilihat pada Tabel 5.

#### **A. Air dan Cuka**

Adulteran air pada madu yang terdapat dalam penelitian Başar & Özdemir (2018) dan Mail *et al.* (2019) menunjukkan hasil serupa di mana semakin banyak air maka terjadi pemisahan spektra sehingga membuat adulteran air dapat dikenali dengan baik. Hal tersebut juga terjadi pada cuka dengan peristiwa yang sama. Pada penelitian dari Başar & Özdemir (2018), adulteran air sudah bisa terdeteksi pada wilayah *fingerprint* yaitu  $1500-500\text{ cm}^{-1}$

#### **B. Gula Sederhana**

Glukosa yang terdapat pada penelitian Rios-Corripio *et al.* (2012) dan Se *et al.* (2018) terjadi peningkatan konsentrasi adulteran seiring meningkatnya bilangan gelombang. Puncak spektra pada glukosa tersebut berada pada puncak  $920$  dan  $990\text{ cm}^{-1}$  yang berarti terdapat regangan antara gugus C-O dan C-H. Hal tersebut berlaku pada fruktosa pada penelitian Rios-Corripio *et al.* (2012) dan Se *et al.* (2018).

Analisis sukrosa (Cengiz & Durak, 2019; Rios-Corripio *et al.*, 2012) mengalami peningkatan konsentrasi seiring dengan meningkatnya intensitas sinar inframerah dan terdapat beberapa gugus fungsi yang terdapat pada spektra seperti C-O, C-H, C-OH, dan gugus penyusun lainnya yang sebenarnya merupakan gugus penyusun dari gula monosakarida.

### **C. Gula Komersial**

Berdasarkan Tabel 5, gula komersial terdiri dari berbagai macam yaitu gula aren, gula beras, gula bit (dua sampel pada Tabel 5.), gula jagung, gula kelapa, gula tebu (tiga sampel pada Tabel 5.). Gula aren dan gula kelapa dalam penelitian Riswahyuli *et al.* (2020) terdapat beberapa gugus fungsi yang ada pada spektra 4.000-650  $\text{cm}^{-1}$  yaitu gugus C-H pada karbohidrat (927  $\text{cm}^{-1}$ ), gugus C-O dan C-C pada karbohidrat (991, 1042, 1106, dan 1259  $\text{cm}^{-1}$ ), dan beberapa gugus lainnya. Sementara pada gula beras dan jagung terdapat penyerapan monosakarida dan disakarida dalam 1.500-750  $\text{cm}^{-1}$ . Sementara gugus pada gula bit dalam penelitian Başar & Özdemir (2018) dan Subari *et al.* (2012) terdapat dua hal yang berbeda. Pada penelitian Başar & Özdemir (2018), gula bit terjadi peningkatan konsentrasi dan perubahan spektra. Pada penelitian Subari *et al.* (2012) terdapat penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida. Sementara dua gula tebu dan gula tebu *invert* yang dideteksi dengan FTIR terlihat berbeda di mana terdapat penyerapan gugus monosakarida dan disakarida serta terdapat beberapa lekukan dan regangan dalam beberapa gugus fungsi.

### **D. Sirup**

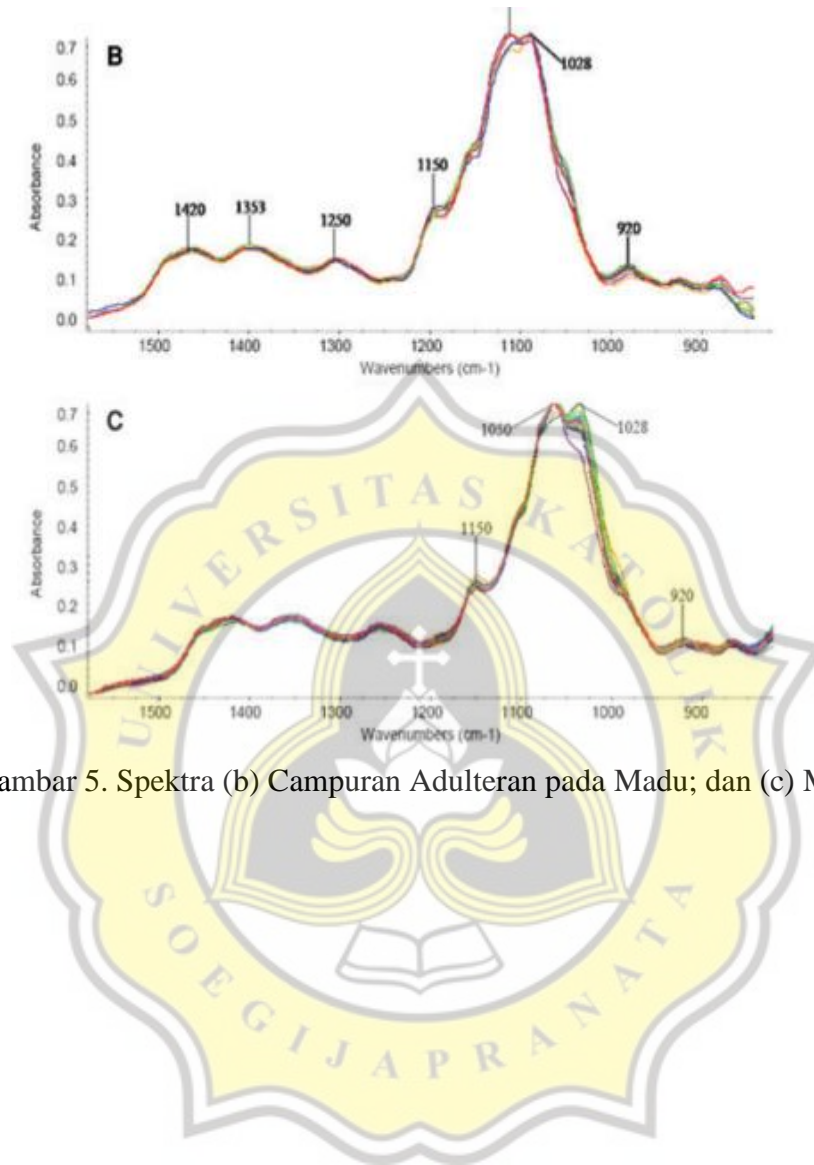
Terdapat beberapa sirup yang dideteksi dengan menggunakan alat FTIR yaitu sirup beras, sirup bit, sirup gula invert, sirup gula tebu (dua sampel pada Tabel 5.), sirup jagung (lima sampel pada Tabel 5.), sirup maltosa, sirup sukrosa. Pada sirup bit, terdapat penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida pada bilangan gelombang 1.500-750  $\text{cm}^{-1}$  (Huang *et al.*, 2020). Sementara pada sirup beras terdapat getaran regangan C-O dan C-C pada sirup beras (1.180-950  $\text{cm}^{-1}$ ).

Sirup jagung memiliki beberapa regangan gugus C-O dan C-C pada bilangan gelombang  $1.128 \text{ cm}^{-1}$ . Selain itu, sirup jagung lain memiliki perbedaan spektra karena penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida dan perbedaan puncak spektra (Başar & Özdemir, 2018; Huang *et al.*, 2020; Rios-Corripio *et al.*, 2012; Se *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2015).

Pada sirup gula tebu dan *invert*, terjadi peningkatan intensitas pada spektra. Sementara pada sirup maltosa dan sukrosa terdapat Penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida pada sirup tebu tergranulasi terdapat ikatan glikosidik pada sukrosa (Huang *et al.*, 2020; Rios-Corripio *et al.*, 2012).

#### **E. Campuran/Blended**

Pada sampel madu yang diadulterasi dan dicampur biasanya lebih susah dideteksi menggunakan FTIR. Hal ini dapat dibuktikan dengan tidak adanya perubahan spektra antara madu yang dicampur dan madu asli pada grafik FTIR (Başar & Özdemir, 2018; Mail *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2015). Berdasarkan gambar 5, dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara madu yang dicampur dengan madu asli. Kedua sampel tidak memiliki perbedaan spektra yang jelas sehingga FTIR sangat tidak cocok untuk mendeteksi adulteran yang sudah dicampur dalam massa tertentu (Wang *et al.*, 2015). Puncak absorbansi kedua grafik tersebut terdapat pada daerah  $1.500-800 \text{ cm}^{-1}$ . Puncak tersebut menandakan terdapat gugus molekul antara senyawa gula glukosa, fruktosa, sukrosa, dan maltose (Wang *et al.*, 2015).



Gambar 5. Spektra (b) Campuran Adulteran pada Madu; dan (c) Madu Asli

Tabel 5. Deteksi Adulteran pada Madu berbasis Analisis FTIR

No	Adulteran	Alat	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Puncak/Wilayah Spektra Penentu Adulterasi (cm <sup>-1</sup> )	Keterangan	Gugus fungsi	Sumber/Referensi
1	Gula Bit	FTIR-ATR	4000-600	1500-500	perbedaan spektral antara sampel karena perbedaan konsentrasi terutama di <i>fingerprints</i> spektrum FTIR.	TA	(Başar & Özdemir, 2018)
2	Sirup Jagung	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Başar & Özdemir, 2018)
3	Air	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Başar & Özdemir, 2018)
4	Campuran air, sirup jagung, dan gula bit	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Başar & Özdemir, 2018)
5	Sukrosa	FTIR-ATR	4000-650	1500-750	Peningkatan konsentrasi sukrosa dan madu	- Lekukan C-H pada sukrosa (925) - Regangan C-O pada gugus C-OH dan Regangan gugus C-C (1.271 dan 991) - Ikatan O-C-H, C-C-H and C-O-H (1.474-1.199) - Lekukan N-H amida, regangan O-H dan regangan C=O pada karbohidrat (1.700-1.600)	(Cengiz & Durak, 2019)
6	Sirup Beras	FTIR-ATR	4000-650	1.180-950	TA	Getaran Regangan C-O dan C-C pada sirup beras (1180-950)	(Li <i>et al.</i> , 2020)
7	D-fruktosa	MIR-FTIR	4000-650	990-925		Regangan C-O dan C-H (925 dan 990)	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
8	D-glukosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
9	sukrosa	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
10	Sirup Jagung (CS)	SDA	SDA	1.028	Terjadi peningkatan intensitas adulteran pada spektra	Regangan gugus C-O dan C-C (1.028)	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
11	Sirup Gula Invert (ISS)	SDA	SDA	SDA	SDA	TA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)

12	Sirup Gula Tebu (CSS)	SDA	SDA	SDA	SDA	TA	(Rios-Corripio <i>et al.</i> , 2012)
13	D(-)-fruktosa	FTIR-ATR	4000-650	1054, 867,822, 779	SDA	TA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
14	D(+)-glukosa	SDA	SDA	1,022,991,898	SDA	TA	(Se <i>et al.</i> , 2018)
15	D (+)-sukrosa	SDA	SDA	991, 921	SDA	ikatan glikosidik pada sukrosa (991)	(Se <i>et al.</i> , 2018)
16	Sirup Jagung	SDA	SDA	1180-950	SDA	Regangan gugus C-O dan C-C (1.028)	(Se <i>et al.</i> , 2018)
17	Sirup Tebu tergranulasi	SDA	SDA	991, 921	SDA	ikatan glikosidik pada sukrosa (991)	(Se <i>et al.</i> , 2018)
18	Gula umbi bit	FTIR-ATR	4000-650	1.500-750	Perbedaan Spektra pada 1.500-750 (puncak pada 919 $\text{cm}^{-1}$ , 1.031, 1.415, 2.933, 3.265)	- Absorpsi sakarida (900-750). - Ikatan regangan CO (1,034) - Ikatan Regangan C-H (1,414)	(Subari <i>et al.</i> , 2012)
19	Gula Tebu	SDA	SDA	1.500-750	TA	SDA	(Subari <i>et al.</i> , 2012)
20	Gula beras	FTIR-ATR	6000-4500*	1.500-750	Puncak yang berbeda diamati pada 777, 821, 865, 921, 1022, 1148, 1251, 1341, 1410, 1642, 2934, dan 3297 $\text{cm}^{-1}$ .	Penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
21	Sirup Bit	SDA	SDA	1.500-750	"	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
22	High-Fructose Corn Syrup	SDA	SDA	1.500-750	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
23	Sirup jagung	SDA	SDA	1.500-750	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
24	Sirup maltosa	SDA	SDA	1.500-750	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
25	Sirup sukrosa	SDA	SDA	1.500-750	SDA	SDA	(Huang <i>et al.</i> , 2020)
26	Gula aren	FTIR-ATR	4000-650	-	Perbedaan spektra MIR pada bilangan gelombang 4000-650 $\text{cm}^{-1}$ yang dapat diklasifikasikan menjadi dua wilayah yaitu wilayah gugus fungsi (4000-1500 $\text{cm}^{-1}$ ) dan wilayah <i>fingerprint</i> (1500-650 $\text{cm}^{-1}$ ).	- pembengkokan C-H pada karbohidrat (927) - peregangan C-O pada gugus C-OH dan peregangan C-C pada karbohidrat (991, 1042, 1106, dan 1259). Regangan	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)

27	Gula kelapa	SDA	SDA	SDA	SDA	ikatan C–O sebagai ikatan glikosidik sukrosa. (991, 1042, 1106, dan 1259) - pembengkokan O-H pada gugus C-OH (1327) pembengkokan O-H pada gugus C-O, –H dan C–H pada alkena (1419) Regangan HOH (1650) - Regangan CH ( 2929) SDA	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)
28	Gula tebu	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)
29	Sirup jagung	FTIR-ATR	4000-400		- Tidak ada perbedaan signifikan spektra dari madu adulterasi yang dicampur dengan madu asli	- Perbedaan spektra absorpsi sukrosa pada 994 cm <sup>-1</sup> dan 1049 cm <sup>-1</sup> - Perbedaan spektra absorpsi fruktosa pada 1053 cm <sup>-1</sup> - Perbedaan spektra absorpsi maltosa pada 1032 cm <sup>-1</sup>	(Riswahyuli <i>et al.</i> , 2020)
30	Campuran madu dan sirup jagung	SDA	SDA	SDA	SDA	SDA	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
31	HFCS	FTIR-ATR	4000-650	1500-800	SDA	Penyerapan absorpsi monosakarida dan disakarida	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
32	Gula tebu invert	SDA	SDA	1500-800	SDA	SDA	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
33	Gula jagung	SDA	SDA	1500-800	SDA	SDA	(Gallardo-Velázquez <i>et al.</i> , 2009)
34	Campuran Madu <i>Trigona spp.</i> dan <i>Apis sp.</i>	MIR-FTIR-ATR	4000-900	1026-3372	- Tidak ada perubahan spektra antara madu <i>Apis mellifera</i> dan <i>trigona</i> .	-Regangan C-O dan C-C (1.026) - Regangan C-O (1.256) - Regangan -OH ( 1.416) - Regangan O-H (3.372, 1.643, 1.416, 1.256) -Regangan C-H ( 2934)	(Mail <i>et al.</i> , 2019)



35	Asam cuka	SDA	SDA	TA	- Penambahan konsentrasi air dan cuka menyebabkan absorbansi campuran yang dipalsukan bergeser dari madu murni dan membuatnya terpisah dari spektra madu asli sehingga dapat diidentifikasi.	TA	(Mail <i>et al.</i> , 2019)
36	Air	SDA	SDA	TA	SDA	TA	(Mail <i>et al.</i> , 2019)

Catatan :

SDA = sama seperti penjelasan di atas

TA = tidak ditemukan di jurnal



Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa instrumen analisis yang digunakan untuk mendeteksi adulteran pada madu adalah FTIR-ATR. Hal tersebut sangat cocok dilakukan mengingat sampel cair akan memiliki kontak yang baik dengan permukaan panas dari kristal ATR sehingga tidak perlu benda lain sebagai penyangga utama (Smith, 2011). Kristal ATR tidak akan terlarut dalam senyawa organik maupun air. Air dalam deteksi FTIR-ATR tidak akan mengganggu proses deteksi karena penetrasi dan absorbansi air sangat kecil (Smith, 2011). Oleh karena itu, metode deteksi FTIR-ATR sangat cocok digunakan dalam mendeteksi senyawa adulteran pada madu. Keunggulan dari metode FTIR-ATR yaitu cepat, mudah dioperasikan, bekerja pada banyak sampel, dan perhitungannya mudah (Smith, 2011). Akan tetapi, metode ini juga memiliki kekurangan di mana sensitifitasnya rendah, terbatas dalam bilangan gelombang tertentu, dan harga kristal ATR yang mahal (Smith, 2011). Madu termasuk ke dalam bahan yang berkualitas tinggi (Valand *et al.*, 2020). Permintaan dari madu meningkat karena kualitasnya yang baik dan memiliki manfaat kesehatan. Oleh karena itu, sangat diperlukan metode yang cepat dan akurat untuk mendeteksi adulteran pada madu seperti FTIR-ATR (Li *et al.*, 2012).

Tabel 5 juga menjelaskan bahwa karakteristik adulteran gula teridentifikasi pada bilangan gelombang  $1.500-750\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan gugus anomer karbohidrat (Gok *et al.*, 2015), regangan gugus C-O dan C-C pada gula (Tewari & Irudayaraj, 2004). Hal ini disebabkan karena adanya absorpsi senyawa gula utama seperti monosakarida (glukosa, fruktosa) dan disakarida (sukrosa). Puncak yang berbeda di antara region tersebut menunjukkan terdapat adulterasi yang terjadi antara gula monosakarida dan disakarida. Sukrosa dapat dideteksi pada  $991\text{ cm}^{-1}$  di mana terdapat ikatan glikosidik yang merupakan ciri-ciri dari senyawa sukrosa (Se *et al.*, 2018). Sirup juga memiliki karakteristik spektra adulteran yang hampir sama dengan spektra gula tergantung komposisi penyusunnya (Huang *et al.*, 2020). Sementara campuran antara madu *Apis sp.* dan *Trigona spp.* sangat sulit dideteksi pada wilayah cukup luas yaitu

1.026-3.372  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini disebabkan karena kedua sampel tidak memiliki perbedaan spektra yang jelas (Wang *et al.*, 2015).

#### 4.2.2. Faktor-Faktor yang mempengaruhi hasil spektra FTIR

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil spektra deteksi adulteran pada madu menggunakan FTIR :

##### A. Konsentrasi adulteran

Konsentrasi adulteran pada madu yang dipakai berpengaruh terhadap grafik spektra yang akan terbentuk pada FTIR. Beberapa penelitian dari Başar & Özdemir (2018); Cengiz & Durak (2019); Mail *et al.*, (2019) mengindikasikan bahwa semakin meningkat konsentrasi adulteran akan memisahkan spektra madu yang asli.

##### B. Jenis adulteran

Jenis adulteran pada madu yang berbeda-beda akan memberikan garis spektra yang berbeda-beda. Pada Tabel 5, dapat dilihat bahwa perbedaan jenis adulteran akan memberikan gugus fungsi dan puncak spektra yang berbeda-beda.

##### C. Metode *Pre-treatment*

Metode *pre-treatment* yang berbeda-beda akan memberikan grafik spektra yang berbeda-beda. Pada Tabel 4. dan Tabel 3, dapat dilihat bahwa perbedaan spektra adulteran disebabkan karena metode *pre-treatment* yang berbeda-beda walaupun jenis adulterannya sama.

##### D. Metode analisis multivariat

Pada Tabel 6, mengenai analisis multivariat dapat dilihat bahwa setiap metode analisis multivariat memiliki bilangan regresi, SEC, dan SEP yang berbeda-beda.