

BAB V

PEMBAHASAN

Lada merupakan salah satu tanaman rempah yang biasanya digunakan untuk meningkatkan citarasa makanan serta digunakan sebagai bahan baku obat tradisional dan memiliki sifat anti-bakteri (Nurllah & Iswari, 2019). Pemalsuan lada yang terjadi sebagian besar disebabkan motif ekonomi untuk memperoleh keuntungan sebesar-besarnya. Adulteran yang paling banyak digunakan dalam pemalsuan lada yaitu sereal dan olahannya. Metode spektroskopi yang dapat digunakan adalah spektroskopi *Near Infrared* (NIR), *Near Infrared Hyperspectral Imaging* (NIR-HSI), *Mid Infrared* (MIR), *Fourier Transform Near Infrared* (FT-NIR), *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR), dan *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform* (DRIFT). Spektroskopi NIR merupakan metode yang paling sering digunakan dalam pemalsuan lada. Analisis multivariat yang paling sering digunakan yaitu PLS (*Partial Least Square*) dan AUROC (*Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve*).

5.1. Adulteran Pada Lada Yang Dapat Dideteksi Menggunakan Metode Spektroskopi

Lada merupakan salah satu rempah yang paling banyak digunakan di dunia untuk menambah citarasa makanan dan juga digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (Hardiansyah *et al.*, 2015). Lada menjadi salah satu target pemalsuan makanan akibat harga dan kandungan nutrisi yang tinggi (Rivera-Pérez *et al.*, 2021). Pemalsuan lada dilakukan dengan menggunakan jenis adulteran yang bermacam-macam dengan karakteristik yang berbeda-beda.

Bahan pangan dengan kandungan karbohidrat tinggi yang digunakan dalam pemalsuan lada yaitu sereal dan umbi-umbian. Sereal dan umbi-umbian merupakan tanaman yang memiliki kadar karbohidrat tinggi yaitu pati (Iryani,

2013; Mamuaja & Lamaega, 2015; Stuart, 2004). Kandungan pati pada masing-masing adulteran antara lain tepung jagung (72,7%), *buckwheat* (67,8-78,3%), *millet* (66,5%), tepung beras (67,68%), sorgum ($\pm 70\%$), tepung gandum utuh (60-80%), tepung tapioka (72-81%), serta pati singkong (100%) (Bock *et al.*, 2021; Halwan & Nisa, 2015; Haryani *et al.*, 2015; Haryani *et al.*, 2020; Imam *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2020; Moubarik *et al.*, 2013; Sabilla & Murtini, 2020). Penggunaan jenis adulteran ini menyebabkan sulit untuk dideteksi keberadaannya karena pati merupakan salah satu komponen utama yang terkandung dalam lada. Kandungan pati pada lada hitam sebesar 36,2% dan lada putih sebesar 52,4% dari total berat kering bahan (Zhu *et al.*, 2017). Penambahan pati dalam rempah-rempah misalnya penambahan pati jagung pada bawang putih bubuk dalam penelitian Kucharska-Ambrożej & Karpinska (2020) bertujuan untuk meningkatkan massa produk yang dipalsukan untuk memperoleh keuntungan ekonomi. Selain itu, alasan penggunaan adulteran ini yaitu mudah diperoleh dalam jumlah banyak, ukuran partikel kecil, dan tidak mempengaruhi karakteristik dari lada (Li *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020). Meskipun adulteran ini merupakan bahan pangan yang dapat dikonsumsi namun terdapat kandungan lain yang dapat menimbulkan masalah kesehatan pada beberapa orang. Misalnya, adanya kandungan gluten sekitar 20,3% pada tepung gandum utuh yang apabila dikonsumsi oleh penderita *celiac disease* dapat menimbulkan permasalahan kesehatan akibat ketidakmampuan mencerna gluten (Kulushtayeva *et al.*, 2019; Naumenko *et al.*, 2021).

Beberapa bagian lada seperti *husk* dan *pinheads* dan limbah lada (*spent material*) digunakan dalam pemalsuan lada. *Husk* merupakan bagian kulit lada yang tidak terpakai dan menjadi limbah pada proses pembuatan lada putih. *Pinheads* merupakan buah lada yang kurang berkembang dan berukuran kecil. Penambahan kedua adulteran ini dapat terjadi secara disengaja ataupun tidak disengaja. Keberadaan *husk* dan *pinheads* secara tidak sengaja dapat disebabkan karena proses pembersihan dan penyortiran yang kurang maksimal saat proses produksi lada sehingga ikut terbawa ke dalam produk (Esquerre *et al.*, 2020; Lafeuille *et al.*, 2022; Ruth *et al.*, 2019). Keberadaan adulteran ini dapat menurunkan kadar piperin pada

produk lada yang akan mempengaruhi tingkat kepedasan lada. Hal tersebut disebabkan karena kandungan piperin pada adulteran endogen biasanya hanya di bawah 1% (Lafeuille *et al.*, 2020). *Spent material* meliputi *spent light berry* dan *white pepper spent* merupakan limbah buah lada setelah proses ekstraksi oleoresin. Penggunaan limbah lada disebabkan karena merupakan bagian tidak terpakai dan dapat digunakan sebagai *bulking agent* untuk meningkatkan volume lada sehingga terlihat lebih mengembang dan memperoleh keuntungan ekonomi (Lafeuille *et al.*, 2020; Wilde *et al.*, 2019).

Lada memiliki rasa pedas dan rasa menggigit (*biting taste*) yang disebabkan senyawa utama yaitu piperin pada lada hitam (Hammouti *et al.*, 2019). Penggunaan rempah-rempah seperti cabai bubuk dan lada Sichuan bertujuan untuk menggantikan atau menambahkan rasa pedas pada lada yang dipalsukan. Pada cabai bubuk, rasa pedas dengan sensasi panas dan menggigit disebabkan karena adanya senyawa kapsaisinoid yang terdiri dari capsaicin dan dihydrocapsaicin. Jumlah capcaisin akan mempengaruhi tingkat kepedasannya (Zhang *et al.*, 2019). Sensasi pedas cabai bubuk yang ditimbulkan cenderung sama dengan sensasi pedas lada. Berbeda dengan lada hitam dan cabai bubuk, sensasi pedas lada Sichuan berasal dari alkilamida yaitu *sanshools* dan hidrosil *sanshools* yang masih dalam satu keluarga dengan senyawa piperin dan capcaisin (Ji *et al.*, 2019). Sensasi pedas yang ditimbulkan oleh lada Sichuan memiliki karakteristik yaitu rasa kesemutan (*tingling*), mati rasa (*numbing*), astringen, dan pahit (Zhang *et al.*, 2021). Selain dapat menggantikan rasa pedas, adulteran ini memiliki harga yang lebih murah dibandingkan dengan lada (Dissanayake *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2018).

Biji pepaya biasanya hanya menjadi limbah saja tetapi adulteran ini sebenarnya dapat dikonsumsi dan paling sering ditambahkan untuk menggantikan rasa pedas pada pemalsuan lada (Malacrada *et al.*, 2011; Orrillo *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019). Rasa pedas tersebut ditimbulkan akibat adanya senyawa benzil isothiocyanate dalam biji pepaya. Penggunaan biji pepaya disebabkan karena penampilannya mirip, murah, dan mudah diperoleh (Orrillo *et al.*, 2019; Wilde *et*

al., 2019). Konsumsi biji pepaya dalam jumlah sedikit tidak menimbulkan bahaya dan dapat memberikan manfaat kesehatan seperti mengontrol diabetes mellitus dan hipertensi, menghilangkan cacing parasit dari tubuh, meningkatkan imunitas tubuh, dan lain-lain. Akan tetapi, jika pemalsuan dilakukan dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan keguguran akibat kontraksi rahim yang disebabkan kandungan getah (Ali *et al.*, 2012; Orrillo *et al.*, 2019).

Sebagian besar adulteran yang ditambahkan pada lada merupakan bahan-bahan yang dapat dikonsumsi meskipun beberapa dapat memberikan manfaat ataupun menimbulkan permasalahan kesehatan. Akan tetapi, keberadaan adulteran tersebut dalam lada tetap dapat dikategorikan sebagai pemalsuan pangan (Orrillo *et al.*, 2019). Sebagaimana persyaratan mutu lada hitam dan lada putih yang ditetapkan dalam Standar Nasional Indonesia 0004-2013 dan 0005-2013 (2013) bahwa keberadaan benda asing pada produk lada yaitu maksimal sebesar 1% pada mutu I dan 2% pada mutu II. Persyaratan lada hitam dan lada putih juga ditetapkan dalam Codex Alimentarius (2017) yang menjelaskan bahwa kadar benda asing maksimal 0,1% (kelas I) dan 0,5% (kelas II-III). Selain itu, kadar *pinheads* pada produk lada hitam juga ditetapkan dalam Codex Alimentarius (2017) yaitu maksimal sebesar 1,0% (kelas I), 2,0% (kelas II), dan 4,0% (kelas III). Apabila keberadaan bahan-bahan tersebut melebihi dari syarat yang ditetapkan dapat dikategorikan sebagai pemalsuan lada.

Selain itu, asal geografis pada produk lada yang tidak sesuai dengan labelnya juga dapat dikategorikan sebagai pemalsuan pangan karena perbedaan asal geografis merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan kimia (piperin) pada lada hitam yang dihasilkan. Kandungan piperin kemudian akan mempengaruhi harga lada. Sebagai contoh, lada hitam asal India memiliki harga yang lebih tinggi dibandingkan dengan lada yang berasal dari negara lain akibat keunggulan aroma dan kepedasan yang dimiliki lada India (Liang *et al.*, 2020). Pemalsuan menggunakan lada dengan kualitas rendah dan murah bertujuan untuk memperoleh keuntungan ekonomi (Hu *et al.*, 2018). Pemalsuan asal geografis lada ini

merupakan pelanggaran dari Undang-Undang No. 20 Tahun 2019 tentang Merek dan Indikasi Geografis (Waspiyah *et al.*, 2020).

5.2. Deteksi Adulteran Pada Pemalsuan Lada Dengan Metode Spektroskopi

Sampel yang akan dianalisis dengan metode spektroskopi dikeringkan dengan tujuan untuk menurunkan kadar air dan variasi kelembaban sampel yang dapat mempengaruhi kualitas spektra yang dihasilkan (Petrakis & Polissiou, 2017). Penggilingan sampel dilakukan karena ukuran sampel dapat mempengaruhi efek hamburan pada spektrum dan homogenitas sampel dapat mempengaruhi tingkat keakuratan pengukuran sampel (Botros *et al.*, 2013). Penambahan KBr (Kalium Bromida) pada sampel spektroskopi DRIFT digunakan untuk bahan referensi atau spektrum latar belakang (Hu *et al.*, 2018). Alasan penggunaan KBr karena karakteristiknya yang tidak menghasilkan absorbansi pada spektrum inframerah sehingga tidak mengganggu sampel yang dianalisis (Sulistiyani & Huda, 2017). Perlakuan konsentrasi adulteran yang bervariasi bertujuan untuk mengetahui tingkat atau kemampuan deteksi dari berbagai jenis metode spektroskopi dalam mendeteksi adanya pemalsuan (Jawaid *et al.*, 2013).

Deteksi metode spektroskopi dilakukan menggunakan panjang atau bilangan gelombang yang berbeda-beda bergantung pada jenis spektroskopi dan tujuan masing-masing penelitian. Analisis ini akan menghasilkan spektra yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya pemalsuan. Deteksi pemalsuan lada dilakukan dengan cara membandingkan dan menganalisis spektra antara sampel lada murni dengan sampel lada yang dipalsukan. Pada panjang atau bilangan gelombang tertentu, akan terbentuk spektra adulteran lada murni dan spektra adulteran murni yang dapat dibandingkan untuk menemukan perbedaan yang paling mencolok. Spektra yang terbentuk akan menunjukkan vibrasi dalam bentuk puncak yang khas yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa pada sampel (Rampengan, 2017).

Lada menunjukkan gugus fungsi yang terdeteksi dengan spektroskopi *Near Infrared* (NIR) pada penelitian Lima *et al.* (2020) antara lain gugus C-H (1194 nm, 1340 nm, 1705 nm, 1754 nm, 2287 nm, 2312, dan 2348 nm), gugus O-H (1466 nm dan 2108 nm), serta gugus N-H (1933 nm). Deteksi dengan spektroskopi *Near Infrared Hyperspectral Imaging* (NIR-HSI) pada panjang gelombang 1200-1400 nm, terdeteksi gugus C-H berkaitan dengan fenol, flavonoid, kuinin, dan pati, serta gugus O-H yang berkaitan dengan pati dan minyak pada lada. Selain itu, panjang gelombang 1323 nm dan 1390 nm menunjukkan gugus fungsi terkait piperin, piperonal, dan *caryophyllene* (Orrillo *et al.*, 2019). Piperin merupakan senyawa utama lada, *caryophyllene* merupakan senyawa yang paling banyak pada minyak lada hitam, dan *piperonal* merupakan senyawa aldehida aromatik yang banyak ditemukan dalam lada hitam (Alves *et al.*, 2020; Fan *et al.*, 2020; Lee & Ko, 2021).

Deteksi spektroskopi *Near Infrared* (NIR) pada pati singkong, tepung jagung, *buckwheat*, *millet*, tepung beras, tepung gandum utuh, serta campuran tepung jagung dan tepung gandum utuh menunjukkan gugus yang sama yaitu gugus C-H pada panjang gelombang sekitar 1200 nm, 1700-1780 nm, dan 2284-2466 nm yang mengindikasikan keberadaan pati, protein, dan lipid, serta gugus O-H pada panjang gelombang sekitar 1450 nm dan 2100 nm yang mengindikasikan keberadaan pati dan air. Spektra NIR dan FT-NIR pada adulteran di atas menunjukkan tren spektra dan puncak vibrasi yang cenderung sama namun terdapat perbedaan pada nilai absorbansi dengan spektra lada hitam murni. Selain itu, terjadi tumpang tindih spektra adulteran dengan spektra lada murni, kecuali pada pati singkong (Lapcharoensuk *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020; McGoverin *et al.*, 2012). Pada penelitian Wilde *et al.* (2019), adulteran *husk*, *pinheads*, *spent material*, biji pepaya, dan bubuk cabai dengan spektroskopi NIR menunjukkan perbedaan spektra pada panjang gelombang 1111-2500 nm dan terjadi tumpang tindih (*overlapping*) dengan spektra lada. Keadaan tumpang tindih (*overlapping*) pada spektra menyebabkan keberadaan adulteran sulit dideteksi secara langsung melalui spektra NIR (Agustina *et al.*, 2015). Deteksi spektroskopi *Near Infrared Hyperspectral Imaging* (NIR-HSI) pada biji pepaya dapat menunjukkan gugus

fungsi C-H terkait serat, protein, fenol, dan kuinin serta gugus O-H terkait serat dan minyak pada panjang gelombang 1200-1400 nm. Selain itu, panjang gelombang 1475 nm dan 1503 nm terdeteksi gugus fungsi khusus yang mengindikasikan keberadaan senyawa glucotropaeolin dan karpain pada biji pepaya (Orrillo *et al.*, 2019).

Deteksi lada dengan spektroskopi *Mid Infrared* (MIR), *Fourier Transform Infrared* (FTIR), dan *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform* (DRIFT) menunjukkan gugus fungsi terkait piperin yaitu gugus C=C alkena (1633 cm^{-1}), gugus C-C cincin aromatik (1492 cm^{-1}), gugus C-N amina aromatik (1252 cm^{-1}), gugus C-O eter (1193 cm^{-1}), dan gugus C-N amina alifatik (1134 cm^{-1}). Selain itu, pada bilangan gelombang sekitar 996 cm^{-1} terdeteksi gugus CH₂ metilen terkait terpena (Hu *et al.*, 2018; McGoverin *et al.*, 2012; Sarifudin *et al.*, 2021; Wilde *et al.*, 2019). Pada penelitian Lafeuille *et al.* (2020), spektroskopi *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR) menunjukkan wilayah *fingerprint* piperin lada pada bilangan gelombang $1660\text{-}720\text{ cm}^{-1}$. Piperin lada menunjukkan puncak yang tajam pada spektra yang dihasilkan ketiga metode spektroskopi di atas.

Deteksi adulteran *buckwheat* dan *millet* pada penelitian McGoverin *et al.* (2012) dengan spektroskopi *Mid Infrared* (MIR) menunjukkan wilayah *fingerprint* pada bilangan gelombang $1170\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ serta terdeteksi gugus fungsi antara lain C=O amida I (1640 cm^{-1}), C-N dan N-H amida II (1515 cm^{-1}), N-H dan C-N amida III (1230 cm^{-1}); CH₂ metilen (1415 cm^{-1}), dan C-O-C eter siklik (920 cm^{-1}). Pada wilayah *fingerprint*, spektra *buckwheat* dan *millet* menunjukkan perbedaan yang jelas dan sangat jarang terjadi tumpang tindih (*overlapping*) dengan spektra lada. Pada penelitian Sarifudin *et al.* (2021), spektra *Fourier Transform Infrared* (FTIR) tepung tapioka menunjukkan jumlah puncak vibrasi yang lebih sedikit dibandingkan dengan spektra lada putih serta terlihat perbedaan puncak yang jelas pada bilangan gelombang 1134 cm^{-1} , 1193 cm^{-1} , 1251 cm^{-1} , 1492 cm^{-1} , dan 1633 cm^{-1} terkait senyawa piperin.

Deteksi adulteran *husk, spent material, pinheads*, biji pepaya, dan bubuk cabai dengan spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) menunjukkan wilayah *fingerprint* pada bilangan gelombang 1800-400 cm^{-1} . Pada wilayah tersebut menunjukkan perbedaan spektra yang sangat jelas terutama pada biji pepaya dan bubuk cabai (Wilde *et al.*, 2019). Adulteran tepung beras, *pinheads, spent light berry, white spent pepper*, bubuk cabai, biji pepaya, dan bedak dengan spektroskopi *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR) menunjukkan perbedaan yang jelas pada wilayah *fingerprint* gugus CH_2 metilen pada bilangan gelombang 1170-875 cm^{-1} terkait pati dan selulosa (Lafeuille *et al.*, 2020). Pada penelitian Hu *et al.* (2018), deteksi sorgum, lada sichuan, dan lada yang berbeda asal geografis dengan spektroskopi *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform* (DRIFT) menunjukkan perbedaan spektra lada murni dengan spektra lada yang dipalsukan sangat sedikit sehingga sulit untuk dianalisis secara langsung. Deteksi sorgum menunjukkan gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang 3500-3100 cm^{-1} serta pada lada Sichuan menunjukkan gugus rangkap tiga atau rangkap dua kumulatif pada bilangan gelombang 2400-2300 cm^{-1} yang menunjukkan perbedaan antara spektra lada murni dengan spektra lada yang dipalsukan dengan sorgum. Lada yang berbeda asal geografis menunjukkan tren spektra yang cenderung sama, hanya terdapat perbedaan nilai absorbansi pada bilangan gelombang 1600-600 cm^{-1} .

Berdasarkan berbagai penelitian terkait pemalsuan lada, metode spektroskopi yang dianggap paling efektif yaitu spektroskopi FTIR dan ATR-FTIR. Spektroskopi ini dapat menunjukkan perbedaan spektra lada dan spektra dari berbagai jenis adulteran dengan jelas terutama pada wilayah *fingerprint* dan pada spektra jarang terjadi tumpang tindih (*overlapping*). Puncak *fingerprint* piperin juga terlihat jelas pada spektra karena intensitasnya yang tinggi dan tajam sehingga dapat digunakan untuk membedakan puncak-puncak vibrasi gugus fungsi dari adulteran (Sarifudin *et al.*, 2021). Tidak seperti spektroskopi NIR dan NIR-HSI yang menunjukkan spektra yang seringkali tumpang tindih dan memiliki tren spektra yang cenderung

sama dengan spektra lada. Panjang gelombang 1323 nm 1390 nm terkait senyawa piperin, piperonal, dan *caryophyllene* pada tidak menunjukkan perbedaan yang jelas pada spektra, kecuali biji pepaya. Hal tersebut disebabkan adanya gugus fungsi khusus pada biji pepaya serta dan proses lebih lanjut yang dinamakan normalisasi dan *smoothing* untuk menghilangkan gangguan (*noise*) dan *overlapping* pada spektra (Orrillo *et al.*, 2019; Sahuleka *et al.*, 2019). Spektroskopi DRIFT juga hanya menunjukkan perbedaan yang sedikit antara spektra sampel lada dengan sampel lada yang dipalsukan apabila dianalisis secara langsung melalui spektra. Hal tersebut membuat spektra sulit dianalisis secara langsung sehingga diperlukan bantuan analisis multivariat (Agustina *et al.*, 2015).

Alasan lainnya yang mendukung yaitu tidak membutuhkan penambahan larutan atau padatan pada preparasi sampel seperti spektroskopi DRIFT pada penelitian Hu *et al.* (2018) sehingga waktu yang dibutuhkan menjadi lebih sedikit. Beberapa alasan di atas menunjukkan deteksi pemalsuan lada dengan spektroskopi FTIR dan ATR-FTIR secara kualitatif lebih baik dibandingkan spektroskopi lainnya. Menurut Jamwal *et al.* (2020), kombinasi dengan analisis multivariat dapat digunakan untuk mendeteksi pemalsuan secara kuantitatif.

5.3. Analisis Multivariat dalam Menginterpretasi Hasil Pengujian Spektroskopi pada Pemalsuan Lada

Analisis multivariat merupakan metode yang digunakan untuk mengolah, menginterpretasi, dan mengevaluasi data spektrum hasil serapan molekul-molekul dalam suatu sampel (Rafi *et al.*, 2016). Kombinasi spektroskopi dengan analisis multivariat dapat digunakan dalam menentukan perbedaan rempah-rempah murni dengan rempah-rempah yang dipalsukan serta menghitung tingkat pemalsuan sampel (Oliveira *et al.*, 2020). Penggunaan analisis multivariat disebabkan karena seringkali terjadi tumpang tindih pada spektra yang membuat sulit untuk diinterpretasikan (Hendrajaya *et al.*, 2021; Ratnasari *et al.*, 2016). Penggunaan

analisis multivariat dalam pemalsuan lada bervariasi disesuaikan dengan tujuan masing-masing penelitian.

Analisis *targeted* dilakukan untuk menentukan tingkat adulteran pada lada (Lima *et al.*, 2020). Spektroskopi NIR paling banyak dikombinasi dengan analisis *Partial Least Square* (PLS). *Partial Least Square* (PLS) merupakan teknik analisis yang dapat memprediksi adanya hubungan linier antar variabel-variabel yang diamati dengan matriks X merupakan data hasil percobaan dan data Y merupakan data informasi terkait hasil percobaan (Siregar *et al.*, 2015). Pada pemalsuan lada, matriks X merupakan spektra dan Y merupakan tingkat pemalsuan. Spektroskopi NIR dan NIR-HSI dengan kombinasi analisis PLS pada adulteran pati singkong, tepung jagung, tepung gandum utuh, campuran tepung jagung dan tepung gandum utuh, dan biji pepaya menunjukkan kemampuan memprediksi pemalsuan yang baik dengan nilai R^2 (*Coefficient of Determination*) lebih besar dari 0,94, RPD (*Ratio Prediction to Deviation*) lebih besar dari 3, serta nilai SEC (*Standard Error of Calibration*) dan SEV (*Standard Error of Validation*) yang rendah (Li *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020; Orrillo *et al.*, 2019). Pada penelitian McGoverin *et al.* (2012), kombinasi spektroskopi NIR dan MIR dengan PLS pada *buckwheat* dan *millet* menunjukkan masing-masing nilai R^2 yang tinggi. Akan tetapi, pada spektroskopi NIR menunjukkan nilai RPD lebih tinggi dan SEV yang lebih rendah dibandingkan spektroskopi MIR. Kombinasi spektroskopi FT-NIR dengan PLS pada tepung beras dalam penelitian Lapcharoensuk *et al.* (2019) menunjukkan nilai RPD paling tinggi namun tidak menunjukkan nilai SEC dan SEV.

Metode *Multiple Linear Regression* (MLR) merupakan salah satu teknik yang digunakan dalam memprediksi adanya tingkat pemalsuan dalam sampel (Wasnik *et al.*, 2019). Metode ini menentukan hubungan antara informasi spektra berupa puncak utama dengan konsentrasi adulteran (Lima *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Lima *et al.* (2020), spektroskopi NIR dengan MLR dapat menunjukkan nilai R^2 yang tinggi, RPD lebih dari 5, serta nilai SEC dan SEV yang rendah.

Genetic Algorithm Optimized Support Vector Machine (GA-SVM) juga dapat digunakan dalam pemalsuan lada. Berdasarkan penelitian Hu *et al.* (2018), kombinasi spektroskopi DRIFT dengan GA-SVM menunjukkan nilai R^2 lebih dari 0,98 pada adulteran sorgum dan lada Sichuan, serta sebesar 1 pada lada yang berbeda asal geografis.

Berdasarkan data dari berbagai penelitian, analisis *Partial Least Square* (PLS) dianggap sebagai metode analisis *targeted* yang paling efektif dibandingkan dengan metode lainnya. PLS dapat digunakan pada spektroskopi NIR, FT-NIR, NIR-HSI, dan MIR. Beberapa alasan yang mendukung yaitu nilai R^2 (*Coefficient of Determination*) dan RPD (*Ratio Prediction to Deviation*) yang tinggi serta nilai SEC (*Standard Error of Calibration*) dan SEV (*Standard Error of Validation*) yang cenderung rendah yang ditunjukkan pada berbagai penelitian. Kemampuan PLS dapat dikatakan baik apabila menunjukkan nilai R^2 yang tinggi (lebih dari 0,90), nilai SEC dan SEV yang rendah, serta nilai RPD antara 2,5 hingga 3. Apabila nilai RPD lebih dari 3 dapat dikatakan kemampuan prediksi yang sangat baik (Orrillo *et al.*, 2019; Suhandy & Yulia, 2021). Analisis PLS juga menunjukkan adanya proses validasi dengan nilai yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan nilai pada proses kalibrasi. Proses validasi dengan tujuan untuk melakukan verifikasi atau pengecekan ulang terhadap keakuratan suatu metode. Nilai kalibrasi dan nilai validasi yang cenderung sama dapat menunjukkan metode tersebut memiliki kemampuan yang baik (Hadiwijaya *et al.*, 2020). Selain itu, pada penelitian Lima *et al.* (2020), hasil interpretasi analisis PLS pada pati singkong dan tepung jagung menunjukkan nilai R^2 dan RPD yang lebih tinggi serta nilai SEC dan SEV yang lebih rendah dibandingkan dengan analisis MLR. Meskipun analisis *Multiple Linear Regression* (MLR) dan *Genetic Algorithm Optimized Support Vector Machine* (GA-SVM) juga menunjukkan nilai yang tinggi yang artinya baik dalam memprediksi adanya pemalsuan namun penggunaan ketiga analisis ini masih sedikit diperlukan lebih banyak penelitian untuk dapat membuktikan efektivitasnya dalam memprediksi pemalsuan.

Analisis *non-targeted* dilakukan untuk menunjukkan keaslian sampel dengan melihat perbedaan antara sampel asli dan sampel palsu (Lima *et al.*, 2020). Parameter yang digunakan untuk menentukan efektivitas atau kemampuan metode analisis *non-targeted* adalah tingkat sensitivitas dan spesifisitas. Sensitivitas merupakan persentase sampel asli dalam set uji yang dapat dideteksi dengan benar, sedangkan spesifisitas merupakan persentase sampel palsu dalam sampel tercemar yang dapat dideteksi dengan benar (Karunathilaka *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA) merupakan teknik klasifikasi dengan menggambarkan hubungan linear antara matriks data X (data spektral) dengan matriks Y (variabel kelas) (Hu *et al.*, 2018). Spektroskopi NIR dengan analisis PLS-DA menunjukkan tingkat spesifitas sebesar 92% dan sensitivitas sebesar 24% pada pati singkong serta pada tepung jagung diperoleh tingkat spesifisitas sebesar 98% dan sensitivitas sebesar 24% (Lima *et al.*, 2020).

Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis (OPLS-DA) merupakan metode diskriminasi terawasi yang optimal digunakan untuk memisahkan antara kelompok yang diklasifikasikan berpasangan (Song *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Lima *et al.* (2020), kombinasi OPLS-DA dengan spektroskopi NIR menunjukkan tingkat spesifitas sebesar 90% pada pati singkong dan 99% pada tepung jagung serta nilai sensitivitas sebesar 36% pada kedua adulteran.

Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA) merupakan salah satu analisis multivariat terawasi yang digunakan untuk menggambarkan pola berdasarkan kumpulan metode PCA (Suhandy *et al.*, 2020). Kombinasi SIMCA dengan spektroskopi NIR menunjukkan tingkat spesifitas sebesar 83% dan sensitivitas sebesar 88% pada pati singkong. Pada tepung jagung, diperoleh tingkat spesifisitas 57% dan sensitivitas sebesar 88% pada tepung jagung (Lima *et al.*, 2020). Pada penelitian Orrillo *et al.* (2019), spektroskopi NIR dengan SIMCA menunjukkan spesifitas sebesar 90-97% dan sensitivitas sebesar 90-98% pada adulteran biji pepaya.

Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve (AUROC) merupakan salah satu analisis multivariat *non-targeted* yang dapat digunakan pada deteksi pemalsuan lada. Pada penelitian Wilde *et al.* (2019), kombinasi AUROC dengan spektroskopi NIR pada *spent/husk* dan biji pepaya menunjukkan nilai spesifisitas sebesar 100%, sensitivitas sebesar 90%, dan konsentrasi terendah yang dapat terdeteksi sebesar 10%. Kombinasi AUROC dengan spektroskopi FTIR menunjukkan nilai spesifisitas sebesar 100% pada *spent/husk* dan 92% pada biji pepaya serta sensitivitas keduanya sebesar 93% dan konsentrasi terendah yang dapat terdeteksi sebesar 10%. Berdasarkan penelitian Lafeuille *et al.* (2020), kombinasi metode AUROC dan spektroskopi ATR-FTIR pada *pinheads*, *spent light berry*, *spent white berry*, bedak, biji pepaya, cabai bubuk, dan tepung beras menunjukkan tingkat sensitivitas sebesar 100%, kecuali pada *spent white berry* dan tepung beras sebesar 74%. Selain itu, pada adulteran tersebut diperoleh spesifisitas sebesar 91-96% dan konsentrasi terendah yang dapat terdeteksi antara 5-20%.

Berdasarkan berbagai penelitian terkait analisis multivariat *non-targeted*, *Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve* (AUROC) paling banyak digunakan dan dapat digunakan pada spektroskopi *Near Infrared* (NIR), *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR) (Lafeuille *et al.*, 2020; Wilde *et al.*, 2019). Selain itu, tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya cenderung lebih tinggi dibandingkan metode lainnya serta dapat menunjukkan konsentrasi adulteran terendah yang dapat terdeteksi. Pada penelitian Lima *et al.* (2020), dapat diketahui bahwa penggunaan *Partial Least Square Discriminant Analysis* (PLS-DA), *Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis* (OPLS-DA), dan *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA) yang kurang efektif. PLS-DA dan OPLS-DA hanya menunjukkan tingkat spesifitas yang tinggi namun sensitivitas yang rendah, sedangkan SIMCA hanya menunjukkan sensitivitas yang tinggi dan spesifisitas yang rendah. Ketiga analisis tersebut juga tidak menunjukkan konsentrasi adulteran terendah yang terdeteksi. Berdasarkan beberapa alasan di atas, penggunaan analisis

AUROC pada adulteran yang bermacam-macam dapat membuktikan efektivitasnya dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta konsentrasi adulteran terendah yang dapat terdeteksi.

