

Research Article

Chemical Profile and Observing Honey Adulteration Using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy and Multivariate Calibration

Profil Kimia dan Pengamatan Pemalsuan Madu menggunakan Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (FTIR) dan Kalibrasi Multivariat

Sulistyo Prabowo^{1*}, Yudha Agus Prayitno¹, and Yuliani¹

¹Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Corresponding author: Sulistyo Prabowo | Email: sulprab@gmail.com

Received: 11 November 2019; Revised: 30 December 2019; Accepted: 3 January 2020; Published: 20 January 2020

ABSTRACT: Honey is a complex mixture that contains nutrients and bioactive composition and chemical composition that is needed by the human body. Honey is also rich in antioxidants because it is prone to falsification given its many properties. This study discusses the chemical and nutritional profiles and the observation of counterfeiting in honey using the infrared spectroscopy method. The honey used is obtained from providers of native honey from Kalimantan forests with 3 kinds of honey brands, namely Mahuka A (MHA), Mahuka B (MHB) and Mahuka C (MHC). Tests of chemical and nutritional profiles included Water content, ash content, protein content, fat content and calcium levels followed by honey counterfeiting observation using the Fourier Transform Infrared (FTIR) method with a combination of Partial least square (PLS) calibration model and Principle Component Regression (PCR). The results of all honey samples have varying values in the water content between 26.75 - 31.00%. Ash content of 0.10 - 0.16%. Protein content 0.24 - 0.88% fat content 0.08 - 0.44% carbohydrate content. Observation of FTIR honey counterfeiting is used to replace the authenticity of Honey (MH). FTIR combined with Partial Least Square (PLS) was optimized in the subsequent testing of a mixture of sucrose (MCS) with native honey (MH). Calibration models were taken in a combination of regions 1423 - 1825 cm⁻¹. A high coefficient of determination (R²) of 0.9960 with a calibration value (RMSEC) of the root error of the square root low of 0.0898% v / v was successfully understood in the MHA on the PLS model. high R² values and low RMSEC and RMSEP values on calibration and validation assessments with both accuracy and precision models used.

Keywords: forest honey; authentication; ATR-FTIR; chemometrics; sugar; east kalimantan

Abstrak: Madu merupakan campuran kompleks yang mengandung nutrisi dan komposisi bioaktif serta komposisi kimiawi yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Madu juga kaya akan antioksidan karena rentan terhadap pemalsuan mengingat banyaknya khasiat madu. Penelitian ini membahas profil kimia dan nutrisi serta pengamatan pemalsuan pada madu dengan metode spektroskopi inframerah. Madu yang digunakan diperoleh dari penyedia madu asli hutan Kalimantan dengan 3 macam merk madu yaitu Mahuka A (MHA), Mahuka B (MHB) dan Mahuka C (MHC). Pengujian profil kimia dan nutrisi meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan kadar kalsium dilanjutkan dengan pengamatan pemalsuan madu menggunakan metode *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dengan kombinasi model kalibrasi *Partial Least Square* (PLS) dan *Principle Component Regresi* (PCR). Hasil dari semua sampel madu memiliki nilai kadar air yang bervariasi antara 26,75 – 31,00%, kadar abu 0,10 – 0,16%, kadar protein 0,24 - 0,88%, dan kadar lemak 0,08 – 0,44%. Pengamatan

pemalsuan madu secara FTIR digunakan untuk mengembalikan keaslian madu (MH). FTIR yang dikombinasikan dengan PLS dioptimalisasi dalam pengujian selanjutnya dari campuran sukrosa (MCS) dengan madu asli (MH). Model kalibrasi telah diambil pada kombinasi wilayah 1423 – 1825 cm^{-1} . Koefisien determinasi (R^2) yang tinggi sebesar 0,9960 dengan nilai kalibrasi (RMSEC) dari akar kesalahan pada akar kuadrat rendah sebesar 0,0898% v/v berhasil diketahui dalam MHA dengan model PLS. Nilai R^2 tinggi serta nilai RMSEC dan RMSEP rendah pada kalibrasi dan penilaian validasi dengan model akurasi dan presisi.

Kata kunci: madu hutan; autentikasi; ATR-FTIR; kemometrik; gula; kalimantan timur

1. PENDAHULUAN

Madu adalah cairan manis alami lebah setelah mengonsumsi nektar bunga dan bahan-bahan manis lain dari tumbuhan. Madu merupakan campuran kompleks yang mengandung nutrisi dan senyawa bioaktif seperti karbohidrat (terutama fruktosa dan glukosa), enzim, protein, asam-asam amino, asam-asam organik, mineral, vitamin, bahan aromatik, polifenol, pigmen, lilin dan polen yang berkontribusi pada warna, aroma dan rasa [1]. Komposisi dan kualitas madu sangat beragam dan tergantung pada sumber nektar tumbuhan, lokasi, musim dan iklim, jenis pengolahan dan penyimpanan [1,2]. Madu mempunyai kandungan senyawa kimia yang sangat dibutuhkan tubuh manusia. Madu juga diketahui kaya akan antioksidan dan sejumlah kecil asam organik [3]. Keasaman ini tak terasa karena ditutupi oleh kandungan gula yang sangat besar, tetapi madu tetap tergolong sebagai makanan yang bersifat asam [4,5]. Selain itu madu juga memiliki karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis yang dapat digunakan sebagai acuan kualitas yang ada pada madu. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kualitas suatu madu tertentu [6-8]. Di Indonesia standar kualitas mutu madu sudah diatur pada SNI 3545:2013 [12].

Saat ini cukup banyak oknum tidak bertanggung jawab yang membuat madu tiruan. Madu tiruan merupakan madu namun tidak diolah atau tidak bersumber dari lebah. Madu tiruan tersebut secara sepintas sulit dibedakan dari yang asli [9,10]. Madu tiruan atau madu sintetik diolah dengan campuran beberapa bahan seperti glukosa, gula pasir, flavor buah dan zat warna, dan terkadang cukup berpotensi untuk membahayakan kesehatan manusia. Madu tiruan tidak mengandung enzim dan tidak mengandung vitamin dan mineral sehingga berbeda dengan komposisi madu murni. Di Eropa pemalsuan madu menggunakan sirup gula inversi, sirup jagung, sirup maple, gula tebu, gula beet, molasse, dan sebagainya [11]. Bagi masyarakat awam tidaklah mudah menentukan keaslian madu. Banyak metode-metode praktis yang berkembang dari mulut ke mulut yang diyakini bisa membantu memilih madu yang asli [13]. Metode tersebut perlu ditelaah lebih lanjut untuk mengetahui kebenarannya. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk melakukan validasi terhadap metode-metode tradisional dalam menentukan keaslian madu yang dilakukan dan dianggap praktis oleh masyarakat. Sebagai pembandingan dilakukan juga analisis secara kimia (kadar abu, padatan tak larut dalam air, keasaman).

Spektroskopi inframerah menggunakan reflektansi total yang dilemahkan (FTIR-ATR) digunakan sebagai metode otentikasi karena mempunyai tingkat kepekaan dan akurasi serta kecepatan pengujian [14]. Metode ini membutuhkan jumlah sampel yang kecil dan tidak memerlukan waktu yang lebih untuk persiapan analisis serta dapat diterapkan pada kondisi sampel (padat, gel, cair bahkan gas) [15]. Penelitian ini bertujuan untuk melihat profil kimia serta identifikasi pemalsuan madu dengan menggunakan fourier transform infra red dengan kombinasi kalibrasi

multivariate *Partial least square* dan *principle component regression*. Kombinasi spektroskopi FTIR dan kalibrasi multivarian dari *partial least square* (PLS) kalibrasi telah pada beberapa penelitian diantaranya analisa curcumin, pengujian pemalsuan avocado oil, autentifikasi red fruit [15-17].

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Madu yang digunakan diperoleh dari penyedia madu asli dari hutan di Kalimantan Timur dengan 3 macam merek Mahuka A (MHA), Mahuka B (MHB) dan Mahuka C (MHC). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis lainnya adalah kualitas pro-analisa yang diproduksi oleh E. Merck (Darmstadt Germany). Analisis pemalsuan madu menggunakan seri konsentrasi antara sukrosa dan madu seperti yang terlihat dalam Tabel 1. Sukrosa (gula): 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, dan 75 %. Madu dimasukkan ke dalam 15 buah botol vial, masing-masing dengan volume sebanyak 2000 μL , kemudian ditambahkan larutan sukrosa dengan variasi konsentrasi ke dalam botol vial masing-masing sebanyak 100 μL dan divorteks selama 30 detik. Masing-masing sampel dianalisis dengan FTIR spectrophotometer (Nicolet 6700, Thermo Nicolet Corp. Madison, WI) dan analisis autentifikasi dilakukan menggunakan TQ Analyst Software.

Tabel 1. Seri konsentrasi larutan sukrosa dalam madu asli

No	% content*	
	Honey	Sucrose
1	95	0.238
2	95	0.476
3	95	0.714
4	95	0.952
5	95	1.190
6	95	1.429
7	95	1.667
8	95	1.905
9	95	2.143
10	95	2.381
11	95	2.619
12	95	2.857
13	95	3.095
14	95	3.333
15	95	3.571

2.2. Penentuan kadar abu

Krus porselen kosong ditimbang dan dicatat beratnya (A) kemudian sampel homogen ditimbang dan dimasukkan dalam krus porselen (berat B). Krus porselen ditutup dan dimasukkan dalam furnace, lalu dipanaskan pada suhu 6000°C selama 8 jam (jadi abu), hingga berat konstan. Masukkan ke dalam desikator dan ditimbang (D). Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(D - A)}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

- D = bobot sampel sebelum diabukan (g)
- A = bobot sampel + cawan setelah diabukan (g)
- B = bobot cawan kosong (g)

2.3. Penentuan kadar air

Menyiapkan refraktometer dengan lap tissue bagian prisma dan day light plate (kaca) hingga bersih dan kering. Sampel diteteskan 1-3 tetes pada prisma lalu ditutup dengan day light plate. Skala dibaca dan dicatat (satuan °brix). Kadar air sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air} = (100 - \text{kadar gula}) \%$$

2.4. Penentuan kadar protein

Sampel ditimbang ± 1 g dan dimasukkan ke dalam tabung *Kjedahl* dan ditambah 3,5 g K_2SO_4 , 0,1 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 12 ml $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$. Tabung dipanaskan dalam almari asam pada instrumen *Automatic Digestion Unit*. Hasil destruksi dipindahkan dalam *Automatic Distillation and Titration System*. Semua reagen H_3BO_3 4%, NaOH 35%, HCl 0,2 N, dan aquadest telah tersedia. Kemudian dilakukan analisis destilasi dan titrasi pada alat.

2.5. Penentuan kadar lemak

Sampel dilumatkan hingga homogen kemudian ditimbang ± 5 gr dan ditambah 5 mL HCL pekat. Lakukan proses hidrolisis dalam water bath suhu $\pm 80^\circ\text{C}$ selama 90 menit sambil digoyang-goyang kemudian didinginkan. Ekstraksi dengan menggunakan 25 mL Diethyl ether, vortex selama 1 menit ± 25 mL Petroleum benzene, vortex 1 menit. Ekstrak dituang ke dalam erlenmeyer yang sudah diketahui beratnya. Ulangi proses ekstaksi dengan menggunakan 15 mL Diethyl ether dan 15 mL Petroleum Benzene. Ekstrak dikeringkan, kemudian dioven dalam suhu 100°C hingga berat konstan selama 1 – 2 Jam. Dinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kadar lemak total dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Lemak Total} = \frac{(\text{berat erlenmeyer} + \text{lemak}) - (\text{berat erlenmeyer kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

2.6. Pengukuran menggunakan instrument FTIR

Instrumen FTIR menggunakan (A Nicolet 6700 dari Thermo Nicolet Corp., Madison, WI) dengan detektor (DTGS) sebagai pendeteksi dan KBr sebagai pembagi berkas, di olah menggunakan perangkat lunak sistem operasi OMNIC (Versi 7.0 Thermo Nicolet) [18]. Semua spektrum FTIR discan antara bilangan gelombang dari $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$, pada resolusi 4 cm^{-1} . Spektrum ini dicatat sebagai nilai absorbansi pada masing-masing titik data. Pengukuran sampel diulang tiga kali.

2.7. Analisis kemometrik

Analisis multivariat PLS dan PCR dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *TQ Analyst* versi 9.0 (Thermo Nicolet, Madison, WI). PLS dan PCR dilakukan untuk membuat model kalibrasi. Daerah spektra yang menunjukkan perbedaan spektrum dipilih untuk dijadikan model

kalibrasi. Nilai *root mean square error of calibration* (RMSEC), *root mean square error of prediction* (RMSEP) dan koefisien determinasi (R^2) digunakan sebagai kriteria untuk model kalibrasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Penentuan kadar air, abu, protein, lemak dan karbohidrat

Hasil penelitian ini menunjukkan kadar air Mahuka A 31,00 % Mahuka B 27,75 % dan Mahuka C 26,75% dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis proksimat

Sample	Kandungan debu (% b/b)	Kadar air (%)	Kandungan protein (% b/b)	Total lemak (%)	Kandungan karbohidrat (%)
Mahuka A	0,16	31,00	0,88	0,30	67,66
Mahuka B	0,10	27,75	0,24	0,08	71,83
Mahuka C	0,11	26,75	0,58	0,44	72,12

Kadar air merupakan faktor yang penting dalam penentuan kualitas madu. Syarat SNI untuk kadar air madu adalah maksimal 22% (SNI 2013). Semua madu menunjukkan lebih tinggi dari persyaratan SNI hal ini terjadi karena madu liar hidup di dalam hutan dan mempunyai tingkat kelembaban yang tinggi bisa juga disebabkan oleh faktor pemanenan serta kondisi lingkungan tempat lebah membuat sarang. Sifat higroskopis madu dapat menyerap air dari lingkungannya [19-21].

Hasil kadar abu mahuka A sebesar 0.16 % Mahuka B 0,10 % dan Mahuka C 0,11%. Kandungan abu yang terdapat dalam madu mempunyai nilai yang kecil tergantung pada komposisi nektar tanaman yang dikonsumsi lebah [22]. Jenis tanah tempat tanaman tumbuh mempengaruhi kandungan mineral yang ada dalam madu. Dengan demikian, variabilitas mineral telah dikaitkan secara kualitatif dengan asal botani dan geografis madu yang berbeda. Faktor-faktor ini terkait dengan pengambilan madu seperti lokasi geografis atau kondisi lingkungan yang berbeda dari daerah penghasil serta aspek teknologi pemrosesan madu [22-24].

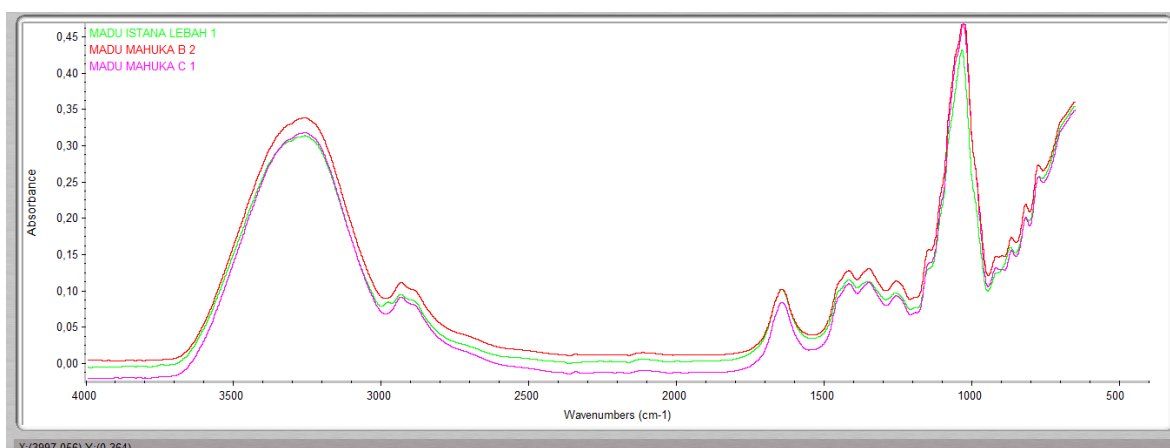
Hasil kadar protein ketiga madu yaitu mahuka A 0,88% Mahuka B 0,24 % dan Mahuka C sebesar 0,58 %. Kandungan protein dalam madu sampai saat ini masih banyak diteliti tentang kemungkinan sebagai biomarker yang berguna untuk kualitas madu [25].

Hasil kadar lemak madu Mahuka A 0,30% Mahuka B 0,08% dan mahuka C 0,44%. Adanya kandungan lemak kemungkinan disebabkan dari beberapa faktor diantaranya dari sumber makanan yang diperoleh lebah. Madu hutan mendapatkan sumber makanannya berupa nektar dari sari bunga bunga yang ada di sekitar lingkungan tempat tinggal.

Karbohidrat merupakan bentuk gula dan komponen utama pada madu yang jumlahnya hampir 80%. Fruktosa dan glukosa mencapai 85- 90% [26,27]. Kadar karbohidrat Mahuka A sebesar 67.66% Mahuka B sebesar 71,83% dan Mahuka C sebesar 72,12 %. Karbohidrat yang terkandung pada madu meliputi maltosa, sukrosa, dan karbohidrat kompleks lainnya [28].

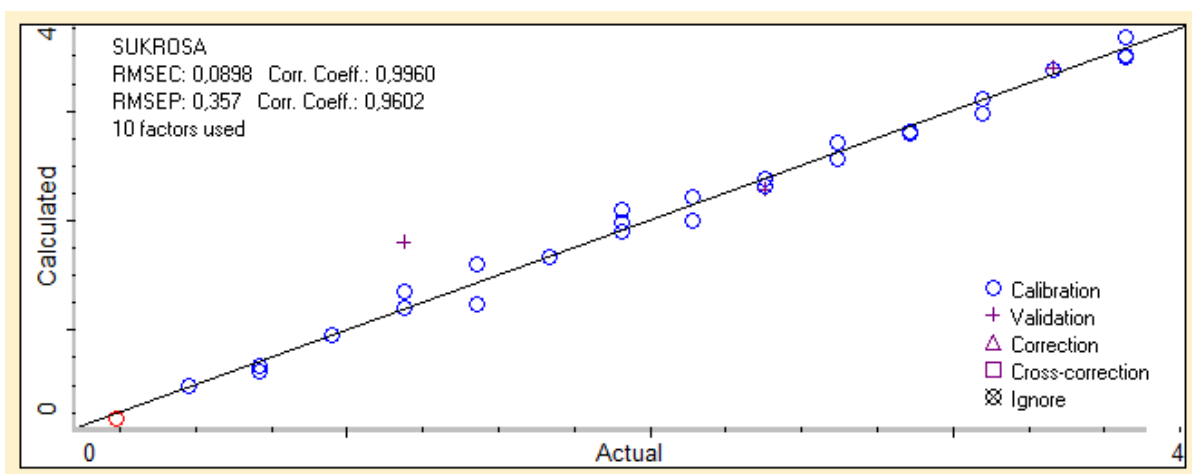
3.2. Observasi pemalsuan madu sukrosa menggunakan FTIR kombinasi multivariate

Metode PLS menggunakan informasi spektrum sampel dari frekuensi pada spektral lebar dan kemudian berkorelasi antara spektral perubahan penyerapan dan konsentrasinya [29]. Sementara itu, PCR adalah jenis analisis faktor di mana data spektral dan konsentrasi dimasukkan ke dalam model dalam satu langkah [30]. Pada Gambar 1. menunjukkan spektrum FTIR semua madu dalam kisaran 4000 -650 cm^{-1} . Wilayah spektral tempat variasi berada diamati dipilih untuk mengembangkan regresi PLS dan PCR, terutama di wilayah sidik jari pada 1423 – 1825 cm^{-1} . Dalam model kalibrasi PLS dan PCR, evaluasi Metode linearitas dilakukan untuk menunjukkan proporsional hubungan antara respons (absorbansi) versus konsentrasi analit [18].

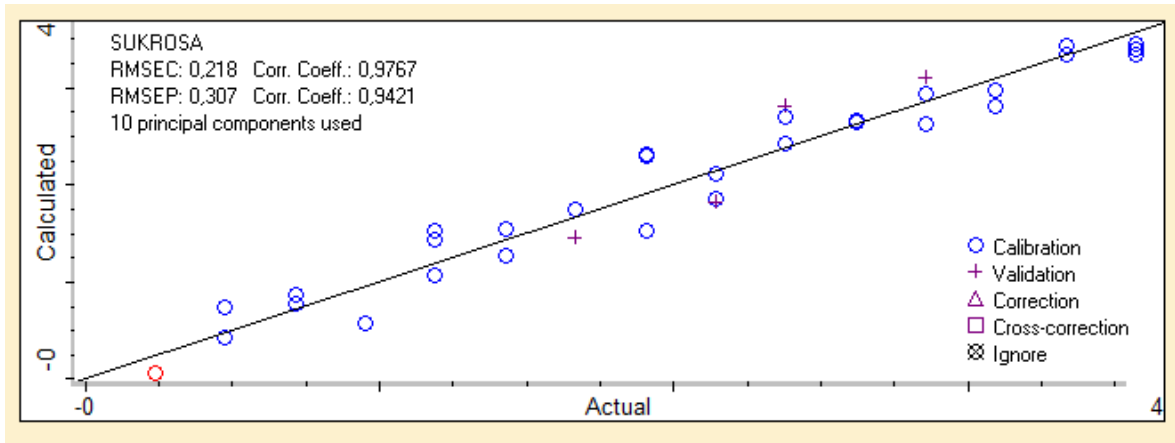


Gambar 1. Spektra FTIR dari madu, diamati pada daerah inframerah tengah (*mid-infrared*) dengan bilangan gelombang 4.000 – 650 cm^{-1}

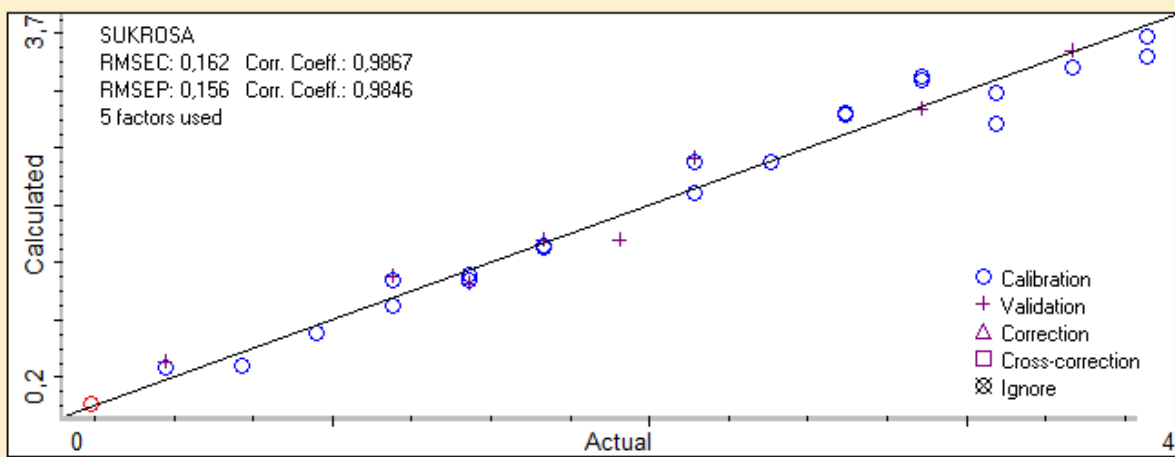
Untuk kuantifikasi menggunakan PLS dan PCR, sampelnya adalah dibagi menjadi set kalibrasi dan validasi [31]. Kuantifikasi Sukrosa dalam madu dilakukan dengan menggunakan bilangan gelombang 1423 – 1825 cm^{-1} . Di wilayah ini setelah di evaluasi di dapatkan hasil dari kalibrasi PLS dan PCR dalam hal R^2 , RMSEC, dan RMSEP dapat di lihat pada gambar 2-7.



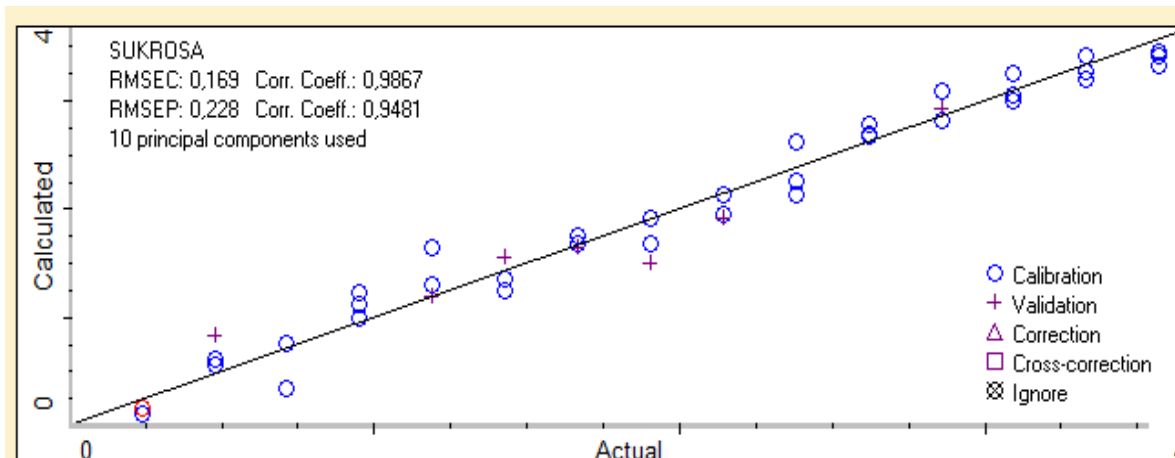
Gambar 2. Autentikasi madu Mahuka A menggunakan kalibrasi *partial least square* (PLS)



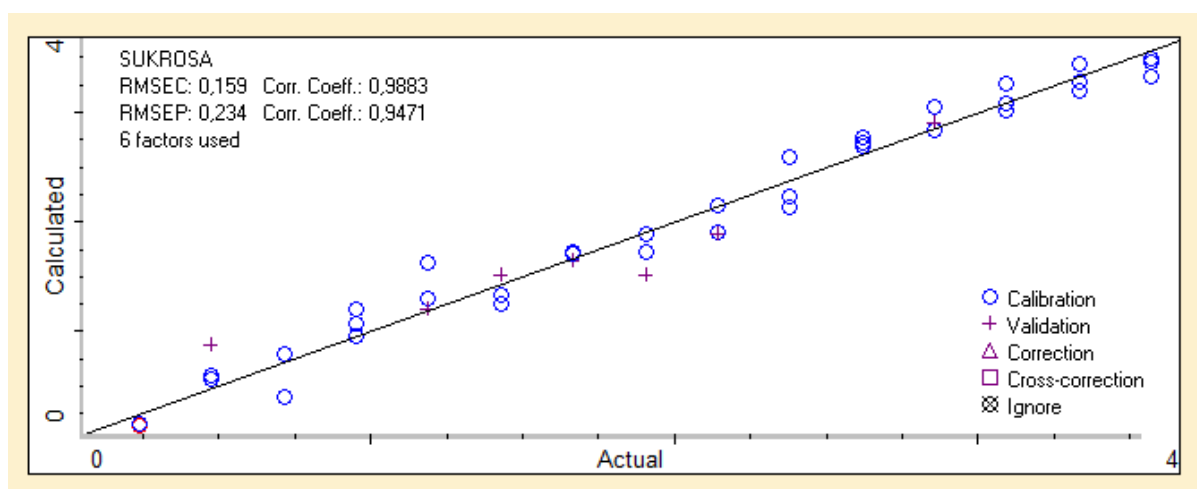
Gambar 3. Autentikasi madu Mahuka A menggunakan metode *principle component regression* (PCR)



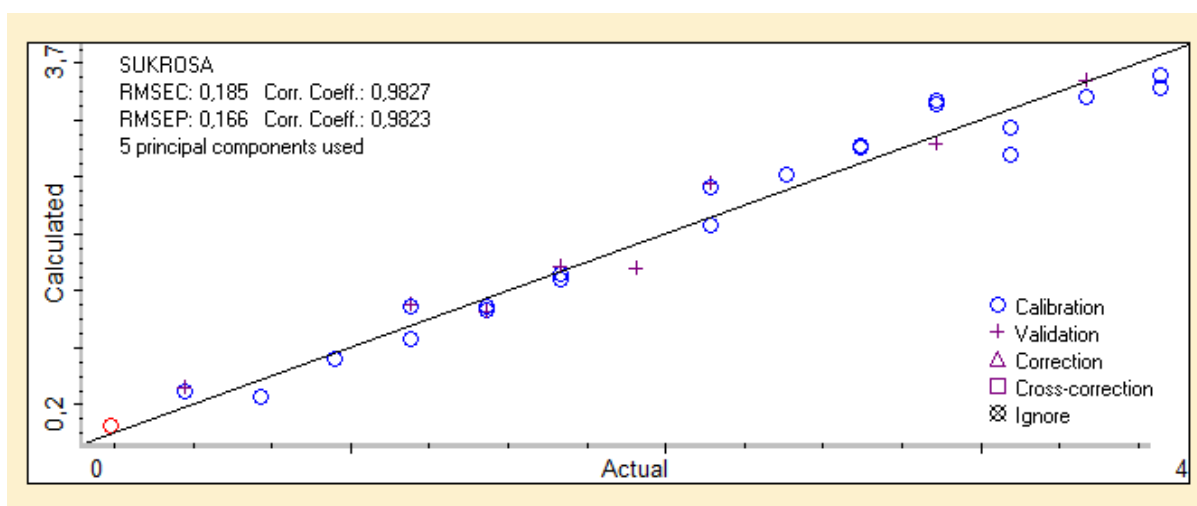
Gambar 4. Autentikasi madu Mahuka B menggunakan metode *partial least square* (PLS)



Gambar 5. Autentikasi madu Mahuka B menggunakan metode *principle component regression* (PCR)



Gambar 6. Autentikasi madu Mahuka C menggunakan metode *partial least square* (PLS)



Gambar 7. Autentikasi madu Mahuka C menggunakan metode *principle component regression* (PCR)

Pada Tabel 3 mengungkapkan nilai tertinggi R² dan terendah RMSEC dibandingkan dengan spektrum lainnya.

Tabel 3. Kalibrasi multivariat untuk menentukan kandungan sukrosa dalam madu pada bilangan gelombang 1423 – 1825 cm⁻¹ dengan menggunakan teknik PLS dan PCR

Madu	Metode	Calibration		Validation	
		R ²	RMSEC	R ²	RMSEP
Mahuka A	PLS	0,9960	0,0898	0,9602	0,357
	PCR	0,9767	0,218	0,9421	0,307
Mahuka B	PLS	0,9867	0,162	0,9846	0,156
	PCR	0,9867	0,169	0,9481	0,228
Mahuka C	PLS	0,9867	0,162	0,9846	0,156
	PCR	0,9827	0,185	0,9823	0,166

PLS = partial least square; PCR = principal component regression; RMSEC = root mean square error of calibration; RMSEP = root mean square error of prediction. 1st derivative = spectra turunan pertama; 2nd derivative = spectra turunan kedua

Pada metode PLS semua madu mendapatkan nilai RMSEC 0,0898- 0,162 dengan nilai R² 0,9867- 0,9960 dan pada RMSEP 0,156 – 0,357 dengan nilai R² 0,9421 -0,9823 pada model kalibrasi PCR di dapat nilai RMSEC 0,169 – 0,218 dengan nilai R² 0,9767 – 0,9867 dan pada RMSEP 0,166 -0,307 dengan nilai R² 0,9421-0,9823 (Tabel 1). FTIR dikombinasikan dengan *Partial Least Square* (PLS) dioptimalkan pada pengujian lanjut pada campuran sukrosa (MCS) dengan Madu asli (MH). Model kalibrasi di ambil pada kombinasi wilayah 1423 – 1825 cm⁻¹. Nilai koefisien determinasi (R²) yang tinggi sebesar 0,9960 dengan nilai kalibrasi (RMSEC) 0,0898 % v/v berhasil diketahui dalam MHA pada model PLS. nilai R² yang tinggi dan nilai RMSEC dan RMSEP rendah pada kalibrasi dan validasi dikaitkan dengan semakin baik model akurasi dan presisi yang digunakan. Nilai rendah RMSEC menyarankan kemampuan model kalibrasi untuk menjelaskan hubungan antara prediktor dan tanggapan. Nilai RMSEC yang lebih rendah, model yang lebih baik diperoleh. Hasil PLS akan diperoleh nilai R² dan RMSE dimana nilai R² menunjukkan seberapa dekat hubungan antara nilai real atau kenyataan dengan nilai prediksi dari model kalibrasi yang digunakan. Menurut harmonisasi internasional dalam Rohman et al., (2014) apabila nilai R² semakin mendekati 1, maka hubungan yang diharapkan dari model akan semakin baik [32]. Sedangkan nilai RMSE (*Root Mean Square Error*) adalah nilai kesalahan dalam model. Semakin kecil nilai RMSE, maka semakin baik model tersebut.

4. KESIMPULAN

Kandungan kimia dan nutrisi madu menunjukkan bahwa setiap sampel madu mempunyai nilai masing-masing karakteristik nilai yang berbeda hal ini disebabkan karena setiap jenis madu mempunyai asal dan kondisi yang berbeda. Spektroskopi FTIR dikombinasikan dengan metode *chemometric* dan dapat digunakan untuk melihat pemalsuan madu. PLS dan kalibrasi PCR dapat berhasil digunakan untuk mengukur kandungan sukrosa pada frekuensi 1423 – 1825 cm⁻¹ dengan nilai koefisien determinasi (R²) yang tinggi sebesar 0,9960 dengan nilai kalibrasi (RMSEC) 0,0898 % v/v berhasil diketahui dalam MHA pada model PLS. Metode ini efektif cepat, akurat dan sederhana tanpa rumit dalam proses persiapan bahan dan dapat dianggap green analitical karena minim penggunaan bahan kimia yang berbahaya.

Ucapan terima kasih : Terima kasih disampaikan kepada Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman yang telah mendanai penelitian ini melalui BOPTN 2019 dan Anggita atas bantuannya selama penelitian di LPPT UGM.

Referensi

1. Pavlova T, Stamatovska V, Kalevska T, Dimov I and Nakov G. Quality Characteristics of Honey: a Review. Proceedings of University of Ruse. 2018, 57: book 10.2
2. El Sohaimy SA, Masry SHD, Shehata MG. Physicochemical Characteristics of Honey from Different Origins. Annals of Agricultural Science. 2015, 60(2): 279-287

3. Ustadi, Radiati LE, Thohari I. Komponen Bioaktif pada Madu Karet (*Hevea brasiliensis*), Madu Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) dan Madu Randu (*Ceiba pentandra*). Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak. **2017**, 12(2): 97-102
4. Boussaid A, Chouaibi M, Rezig L, Hellal R, Donsi F, Ferrari G and Hamdi S. Physicochemical and Bioactive Properties of Six Honey Samples from Various Floral Origins from Tunisia. Arabian Journal of Chemistry. **2018**, 11(2): 265-274
5. Kasli E and Royani R. Menentukan Kemurnian Larutan melalui Indeks Bias dari Beberapa Madu. Serambi Saintia. **2016**, IV(1): 67-71
6. Adriani R. Identifikasi dan Karakterisasi Sifat Kimia dan Sifat Fisika dari Madu Asli dengan Madu yang dijual di Pasaran Medan. Skripsi. FMIPA Universitas Sumatera Utara, 2011.
7. Amalia L. Karakterisasi Fisikokimia Madu Multiflora Asal Riau serta Efektivitasnya terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, 2016.
8. Rohmi, Anam H, Andrianto MR. Uji Mutu Mikrobiologis pada Madu Kemasan yang Beredar di Kecamatan Cakranegara. Jurnal Analis Kesehatan. **2016**, 1(2): 153-160
9. Rachmawaty M. Efektivitas Beberapa Uji Pemalsuan Madu Kapuk. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, 2011.
10. Savitri NPT, Hatuti ED, Suedy SWA. Kualitas Madu Lokal dari Beberapa Wilayah di Kabupaten Temanggung. Buletin Anatomi dan Fisiologi. **2017**, 2(1): 58-66
11. Bogdanov S and Martin P. Honey Authenticity. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. **2002**, 93: 232-254
12. Badan Standardisasi Nasional Indonesia. Madu. Standar Nasional Indonesia, 2013.
13. Wahyuni T. Cara Membedakan Madu Murni dan Madu 'Oplosan'. Diakses dari : <https://www.cnnindonesia.com> pada tanggal 12 September 2019
14. Rohman A and Che Man YB. Analysis of Cod-liver Oil Adulteration using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. Journal of the American Oil Chemists Society. **2009**, 86: 1149-1153
15. Lumakso FA, Riyanto S, Ahmad S, Salleh A, Mohd F and Rohman A. Application of Chemometrics in Combination with Fourier Transformation Mid Infrared Spectroscopy for Authentication of Avocado Oil. Journal of Food and Pharmaceutical Sciences. **2015**, 3(1): 12-17
16. Abdul R, Sudjadi, Devi, Ramadhani D and Nugroho A. Analysis of Curcumin in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* using FTIR Spectroscopy and Chemometrics. Research Journal of Medicinal Plant. **2015**, 9(4): 179-186
17. Rohman A and Che Man YB. Authentication Analysis of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) Oil using FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics. Phytochemical Analysis. **2011**, 22(5): 462-467
18. Rohman A, Lukitaningsih E, Rafi M, Nurulhidayah AF and Windarsih A. *Nigella sativa* Oil: Physico-Chemical Properties, Authentication Analysis and Its Antioxidant Activity. Food Research. **2019**, 3(6): 628-634
19. Sarwono 2007
20. Wulandari DD. Kualitas Madu (Keasaman, kadar air, dan kadar gula pereduksi) berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. Jurnal Kimia Riset. **2017**, 2(1): 16-22

21. Cahyati I. Sifat Fisikokimia Madu Monoflora dari Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. *Agritech*. **2008**, 28(1): 9-14
22. Felsner ML, Cano CB, Bruns RE, Watanabe HM, Almeida-Muradian LB and Matos JR. Characterization of Monofloral Honeys by Ash Contents through a Hierarchical Design. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2004**, 17(6): 737-747
23. Da silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Costa ACO and Fett R. Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Food Chemistry*. **2016**, 196: 309-323
24. Gairola A, Tiwari P and Tiwari JK. Physico-Chemical Properties of *Apis Cerana-indica* F Honey from Uttarkashi District of Uttarakhand. *Journal of Global Biosciences*. **2013**, 2(1): 20-25
25. Sahlan M, Mahira KF, Wiratama I, Mahadewi AG, Yohda M, Hermansyah H and Noguci K. Purification and Characterization of Proteins in Multifloral Honey from Kelulut Bee (Stingless Bee). *Heliyon*. **2019**, 5(11): 1-11
26. Sahlan M, Karwita S, Gozan M, Hermansyah H, Yohda M, Yoo YJ and Pratami DK. Identification and Classification of Honey's Authenticity by Attenuated Total Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy and Chemometric Method. *Veterinary World*. **2019**, 12(8): 1304-1310
27. Se KW, Ibrahim RKR, Wahab RA and Ghoshal SK. Accurate Evaluation of Sugar Contents in Stingless Bee (*Heterotrigona itama*) Honey using a Swift Scheme. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2018**, 66: 46-54
28. Avila S, Beux MR, Ribani RH and Zambiazi RC. Stingless Bee Honey: Quality Parameters, Bioactive Compounds, Health-Promotion Properties and Modification Detection Strategies. *Trends in Food Science and Technology*. **2018**, 81: 37-50
29. Gallardo-Velazquez T, Osorio-Revilla G, Loa MZ and Rivera-Espinoza Y. Application of FTIR-HATR Spectroscopy and Multivariate Analysis to the Quantification of Adulterants in Mexican Honeys. *Food Research International*. **2009**, 42(3): 313-318
30. Cockerill FR and Smith TF. Rapid-cycle Real-Time PCR: a Revolution for Clinical Microbiology – Automated Extractions, Self-contained PCR Instruments and Other Improvements Yield Easy-to-run Diagnostic Tests. *American Society for Microbiology*. **2002**, 68(2): 77-83
31. Wang J, Kliks MM, Jun S, Jackson M and Li QX. Rapid Analysis of Glucose, Fructose, Sucrose and Maltose in Honeys from Different Geographic Regions using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Journal of Food Science*. **2010**, 75(2): 208-214
32. Abdul R, Anggun MS, Sugeng R and Farahwahida MY. The Use of FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics for the Authentication of Red Fruit. *Food Bioscience*. **2014**, 7: 64-70

