

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Teknik Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel madu pahit sebanyak 5 merk (A, B, C, D, dan E) serta madu manis murni sebanyak satu sampel (F) yang berasal dari penangkaran lebah Maribaya.

#### 5.2. Uji Hidroksimetilfurfural (HMF)

Pengukuran kadar HMF dilakukan terhadap lima sampel madu pahit dan satu sampel madu manis murni. Masing-masing sampel madu sebanyak 5 g ditambahkan larutan Carrez I dan Carrez II untuk mengendapkan protein yang dapat mengganggu proses pembacaan absorbansi pada spektrofotometer UV/Vis. Batas kandungan HMF yang merupakan produk pemecahan glukosa dan fruktosa pada madu ditetapkan oleh SNI sebanyak maksimal 50 mg/kg. Jika kadar HMF meningkat, diduga madu telah dipalsukan secara mutu, berhubungan dengan mengubah kadar air madu yang sebelumnya tinggi dengan cara pemanasan untuk memperoleh sifat fisik madu yang kental seperti madu asli<sup>1</sup>. Dalam uji in vitro dan studi pada tikus menunjukkan potensi toksisitas dan karsinogenisitas dari HMF, sehingga apabila kadar HMF melewati ambang batas yang ditetapkan oleh SNI, diduga dapat menyebabkan toksisitas dan karsinogenisitas pula terhadap manusia. Pada pengujian kadar HMF didapat hasil:

<sup>1</sup>*Ibid*

Tabel V.1 Kadar HMF

Madu	Kadar (mg/kg)	
	I	II
A	53,24	34,94
B	19,08	52,19
C	26,57	43,80
D	12,28	55,91
E	40,29	46,62
F	27,64	45,68

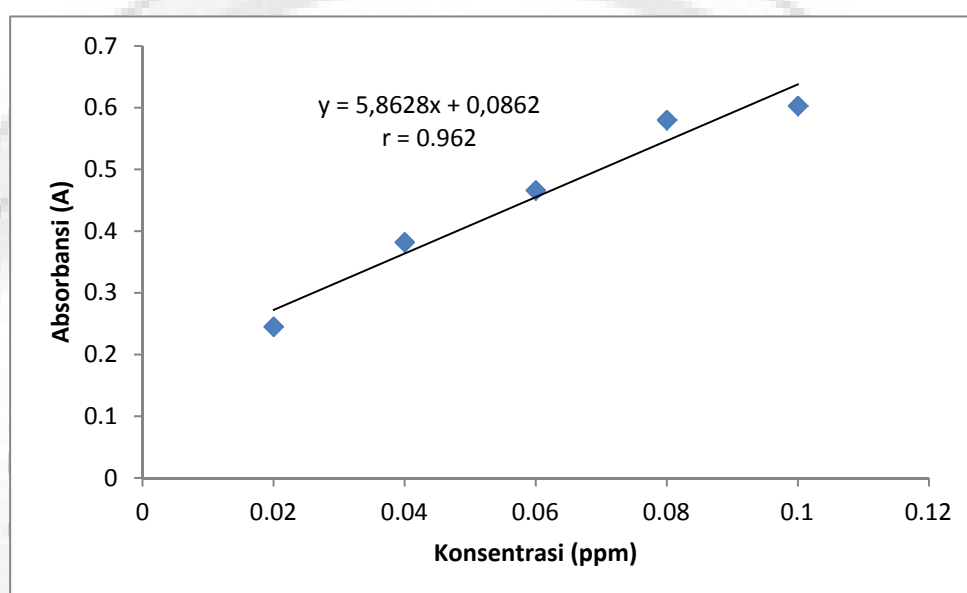
Pengukuran kadar HMF dilakukan sebanyak 2 kali. Namun, kedua hasil tidak dapat dirata-ratakan karena selisih yang sangat jauh sehingga hanya dipilih hasil pengukuran ke-1 saja. Dapat disimpulkan bahwa terdapat sampel madu yang mengandung HMF lebih dari 50 mg/kg, yaitu madu A. Dengan menggunakan metode statistik t pada **Lampiran 1: Gambar 1**, secara keseluruhan hasil pengujian parameter kadar HMF menunjukkan hasil yang berbeda bermakna karena memiliki nilai sig. (2-tailed)  $0,001 < 0,05$ .

### 5.2.1. Kinerja Analitik Spektrofotometer UV/Vis

Kurva kalibrasi digunakan untuk mengetahui konsentrasi HMF di dalam sampel. Dari hasil gambar kurva kalibrasi dapat disimpulkan bahwa pengujian linieritas tidak memenuhi persyaratan karena nilai koefisien korelasi ( $r$ ) tidak mendekati 1 yang berarti pembacaan absorbansi oleh spektrofotometer UV/Vis kurang baik, kemungkinan dari hasil inilah yang membuat selisih hasil kedua pengukuran kadar HMF cukup banyak.

Tabel V.2 Data kurva kalibrasi dan linieritas

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)
1	0,0200	0,2450
2	0,0400	0,3820
3	0,0600	0,4660
4	0,0800	0,5800
5	0,1000	0,6030



Gambar V.2 Kurva kalibrasi dan linieritas

### 5.3. Uji kadar air

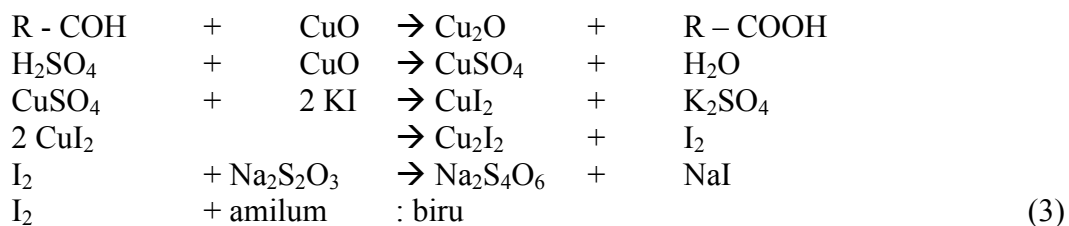
Penetapan kandungan air dapat dilakukan dengan beberapa cara. Hal ini bergantung pada sifat bahannya. Pada umumnya penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105°C-110°C selama 3 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (Winarno, 1991). Pengukuran kadar air dilakukan terhadap dua sampel madu pahit dan satu sampel madu manis murni. Masing-masing sampel madu dikeringkan pada oven dengan suhu 105°C,

kemudian ditimbang hingga diperoleh bobot yang tetap. Untuk mendapatkan kekentalan madu yang baik, maka produsen nakal akan mengurangi kadar air madu sampai sifat fisik madu terbentuk dengan baik, pada umumnya dengan cara pemanasan. Selain itu, proses pemanasan biasanya dilakukan untuk melarutkan gula yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam madu dengan tujuan memperoleh madu yang baik cita rasanya. Proses pemanasan inilah sebagai awal pemecahan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa yang menghasilkan produk samping berupa HMF. Jika kadar HMF yang dihasilkan melebihi ambang batas, diduga dapat menimbulkan toksisitas dan bersifat karsinogen bagi manusia. Hasil pengujian kadar air dapat dilihat pada **Lampiran 2: Gambar 3** bahwa semua sampel madu memenuhi persyaratan mutu kadar air. Dengan menggunakan metode statistik t pada **Lampiran 2: Gambar 4**, secara keseluruhan hasil pengujian parameter kadar air menunjukkan hasil tidak berbeda bermakna karena memiliki nilai sig. (2-tailed)  $0,06 > 0,05$ .

#### **5.4. Uji kadar sukrosa**

Pengukuran kadar sukrosa dilakukan terhadap lima sampel madu pahit dan satu sampel madu manis murni. Masing-masing sampel madu dicampurkan terlebih dahulu dengan Pb asetat setengah basa untuk penjernihan larutan gula yang akan dianalisa. Hal ini karena sifat Pb asetat yang cukup efektif dalam mengendapkan asam amino, protein, tanin, dan asam organik. Agar proses titrasi tidak mengalami kesulitan dan kesalahan besar maka pemberian zat penjernih tidak boleh berlebihan. Pemberian zat penjernih yang berlebihan akan

mempengaruhi polarisasi gula dan pada waktu pemanasan akan terjadi interaksi dengan gula serta terjadi destruksi senyawa gula sehingga titrasi menjadi kurang tepat. Untuk menghilangkan kelebihan timbal ditambahkan  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Larutan gula bebas timbal selanjutnya dapat ditentukan jenis dan kadarnya dengan uji kualitatif dan kuantitatif. Sampel madu bebas timbal selanjutnya dihidrolisis dengan HCl dan ditambahkan NaOH agar didapat larutan yang netral sehingga siap untuk dititrasi. Pada penentuan gula cara Luff Schoorl, yang ditentukan adalah kupri oksida dalam larutan sebelum direaksikan dengan gula reduksi (titrasi blanko) dan sesudah direaksikan dengan sampel gula reduksi (titrasi sampel). Penentuan dengan titrasi menggunakan Na-tiosulfat. Selisih titrasi blanko dengan titrasi sampel ekuivalen dengan kupri oksida yang terbentuk dan juga ekuivalen dengan jumlah gula reduksi yang ada dalam bahan/larutan. Reaksi yang terjadi selama penentuan karbohidrat cara ini mula-mula kupri oksida yang ada dalam reagen akan membebaskan iod dari garam K-iodida. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan banyaknya kupri oksida. Banyaknya iod dapat diketahui dengan titrasi menggunakan Na-tiosulfat. Untuk mengetahui bahwa titrasi sudah cukup maka diperlukan indikator kanji. Apabila larutan berubah warna dari biru menjadi putih berarti titrasi sudah selesai. Setelah diketahui selisih banyaknya titrasi blanko dan titrasi sampel kemudian dikonsultasikan dengan tabel yang sudah tersedia yang menggambarkan hubungan antara banyaknya Na-tiosulfat dengan jumlah gula reduksi (Sudarmadji, dkk., 1996).



Pada Tabel V.4 tersebut dapat diketahui jumlah gula reduksi yang ada dalam larutan. Jika kadar sukrosa meningkat, diduga madu telah dipalsukan secara mutu, yaitu dengan cara menambahkan gula dengan sengaja ke dalam madu dengan tujuan mendapatkan madu yang baik cita rasanya. Hal ini dapat membahayakan kesehatan konsumen yang terus-menerus mengkonsumsi madu tersebut, salah satunya adalah penyakit diabetes, dimana penderita memiliki kadar gula darah diatas normal.

**Tabel V.3** Penentuan glukosa, fruktosa, dan gula inversi

mL Na. thio	Glukosa, fruktosa, gula invert mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	mL Na. thio	Glukosa, fruktosa, gula invert mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>
1	2,4	13	33,0
2	4,8	14	25,7
3	7,2	15	38,5
4	9,7	16	38,5
5	12,2	17	44,2
6	14,7	18	47,1
7	17,2	19	50,0
8	19,8	20	53,0
9	22,4	21	56,0
10	25,0	22	59,1
11	27,0	23	62,2
12	30,3	24	-

(Sudarmadji, dkk., 1996)

Tabel V.4 Kadar sukrosa

Madu	Kadar (%b/b)	
	I	II
	A	1,952
B	0,426	2,023
C	5,898	1,099
D	3,651	15,719
E	0,629	1,970
F	4,924	3,902

Titration dilakukan sebanyak 2 kali. Namun, kedua hasil tidak dapat dirata-ratakan karena selisih yang sangat jauh sehingga hanya dipilih hasil pengukuran ke-1 saja. Dapat disimpulkan bahwa terdapat sampel madu yang mengandung sukrosa lebih dari 5% b/b, yaitu madu C. Dengan menggunakan metode statistik t pada **Lampiran 3: Gambar 5**, secara keseluruhan hasil pengujian parameter kadar sukrosa menunjukkan hasil tidak berbeda bermakna karena memiliki nilai sig. (2-tailed)  $0,074 > 0,05$ .

### 5.5. Uji padatan tak larut dalam air

Pengukuran kadar padatan tak larut dalam air dilakukan terhadap lima sampel madu pahit dan satu sampel madu manis murni. Masing-masing sampel madu dilarutkan terlebih dahulu dengan air panas dengan tujuan semua komponen madu dapat terlarut sempurna sehingga bagian yang tidak dapat larut dalam air dapat diukur. Bagian yang tidak dapat larut dalam air adalah zat-zat kotoran seperti pasir-pasir, potongan-potongan daun, serangga, dan lain-lain sehingga perlu diuji untuk menjamin kebersihan dan keamanan ketika mengkonsumsi

sampel madu itu sendiri. Pada pengujian kadar padatan yang tidak larut air didapat hasil:

**Tabel V.5** Perhitungan kadar padatan yang tak larut dalam air

Madu	Hasil Perhitungan		Rata-rata
	I	II	
<b>A</b>	$\frac{34,53 - 34,49}{20,07} \times 100 = 0,199 \%$	0,249 %	0,224 %
<b>B</b>	0,499 %	0,150 %	0,324 %
<b>C</b>	0,348 %	0,149 %	0,248 %
<b>D</b>	0,297 %	0,150 %	0,223 %
<b>E</b>	0,448 %	0,200 %	0,324 %
<b>F</b>	0,149 %	0,100 %	0,124 %

Dapat disimpulkan bahwa keseluruhan sampel madu yang mengandung padatan tidak larut dalam air kurang dari 0,5% b/b. Dengan menggunakan metode statistik t pada **Lampiran 4: Gambar 6**, secara keseluruhan hasil pengujian parameter kadar padatan tak larut air menunjukkan hasil yang berbeda bermakna karena memiliki nilai sig. (2-tailed)  $0,000 < 0,05$ .

### 5.6. Uji cemaran logam

Pengukuran kadar padatan tak larut dalam air dilakukan terhadap dua sampel madu pahit dan satu sampel madu manis murni menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom. Logam berat dapat menimbulkan efek gangguan terhadap kesehatan manusia, tergantung pada bagian mana dari logam berat tersebut yang terikat dalam tubuh serta besarnya dosis paparan. Efek toksik dari logam berat mampu menghalangi kerja enzim sehingga mengganggu metabolisme tubuh, menyebabkan alergi, bersifat mutagen, teratogen, atau karsinogen bagi manusia. Inilah sebabnya kadar logam berat wajib ditetapkan batasannya agar



tidak menimbulkan kerugian. Pada pengujian kadar logam Pb dan Cu, hasilnya dapat dilihat pada **Lampiran 5: Gambar 7**. Dengan menggunakan statistik t, dapat disimpulkan bahwa rata-rata kadar Pb tidak sama dengan 1,0 ppm dan berdasarkan Gambar 7, masing-masing sampel madu memiliki rata-rata lebih kecil dari 1,0 mg/kg dan semua sampel madu memenuhi persyaratan mutu dengan jenis uji kadar logam Pb dan Cu. Secara keseluruhan hasil pengujian parameter kadar logam menunjukkan hasil yang berbeda bermakna karena memiliki nilai sig. (2-tailed)  $0,000 < 0,05$ .

### **5.7. Kinerja Analitik Spektrofotometer Serapan Atom**

Kinerja analitik merupakan proses evaluasi untuk menjamin kesesuaian persyaratan metode analisis yang digunakan. Kinerja analitik yang dilakukan pada penelitian ini antara lain akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan batas kuantisasi.

#### **5.7.1. Akurasi**

Konsentrasi yang dibuat untuk mendapatkan nilai akurasi adalah 1,000 dan 2,000 ppm. Pada konsentrasi 1,000 ppm nilai perolehan kembali yang didapat adalah 99,65%; 101,47%; 100,38% sedangkan pada konsentrasi 2,000 ppm nilai perolehan kembali yang didapat adalah 99,33%; 99,69%; 99,51%. Nilai akurasi yang di dapat ini sesuai dengan kriteria kecermatan karena berada pada rentang 95-105 %.

Tabel V.6 Data nilai akurasi

No	Konsentrasi (ppm)	% Perolehan Nilai Kembali
1	1,0000	99,65%
		101,47%
		100,38%
2	2,0000	99,33%
		99,69%
		99,51%

### 5.7.2. Presisi

Uji presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Konsentrasi yang diambil untuk menghitung presisi ini adalah 1,000 ppm. Dari hasil perhitungan didapat nilai simpangan baku 0,9159 dengan nilai koefisien variansi atau nilai RSD sebesar 0,9113%. Dapat disimpulkan bahwa perolehan nilai presisi memenuhi persyaratan karena kurang dari 2 %.

Tabel V.7 Data Nilai Presisi

Konsentrasi sebenarnya (ppm)	Konsentrasi (ppm)	Persentase Perolehan Kembali (%)
1,0000	0,9965	99,65
	1,0147	101,47
	1,0038	100,38
<b>Rata-rata</b>		100,5
<b>Simpangan Baku</b>		0,9159
<b>Koefisien Variansi (RSD)</b>		0,9113

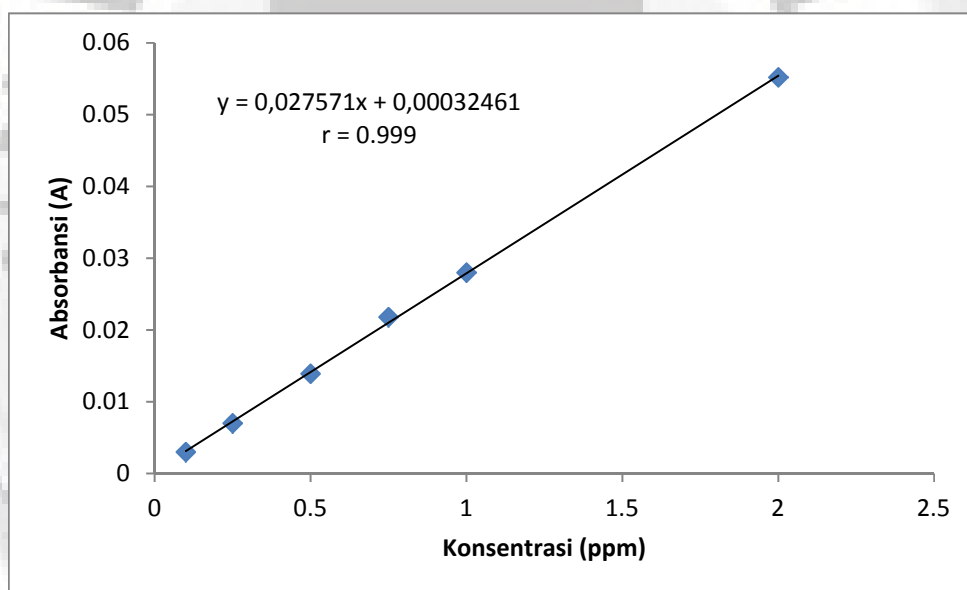
### 5.7.3. Linieritas

Kurva kalibrasi digunakan untuk mengetahui konsentrasi logam Pb dan Cu di dalam sampel. Alat yang digunakan dalam pengujian kadar Pb dan Cu adalah

Spektrofotometer Serapan Atom sesuai dengan prosedur SNI yang telah ditetapkan.

**Tabel V.8** Data kurva kalibrasi dan linieritas

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)
1	0,1000	0,0030
2	0,2500	0,0070
3	0,5000	0,0139
4	0,7500	0,0218
5	1,0000	0,0280
6	2,0000	0,0552



**Gambar V.2** Kurva kalibrasi dan linieritas

Dapat disimpulkan bahwa pengujian linieritas ini memenuhi persyaratan karena nilai koefisien korelasi ( $r$ ) mendekati 1 yang berarti pembacaan absorbansi oleh spektrofotometer serapan atom sangat baik.

#### 5.7.4. Batas deteksi dan batas kuantisasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Berdasarkan perhitungan LOD, didapat hasil bahwa Pb akan terdeteksi secara signifikan jika terdapat minimal  $5,49 \times 10^{-5}$  ppm. Batas kuantisasi merupakan parameter pada analisis renik. Berdasarkan perhitungan LOQ, didapat hasil bahwa  $1,83 \times 10^{-4}$  ppm merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.