



## **RINGKASAN**

### **PENETAPAN HMF(*hydroxy methyl fulfural*) PADA DALAM MADU SECARA KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*)**

**Oleh:**

**Putrika Maharani**

**(1800033090)**

**Universitas Ahmad Dahlan**

Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM), diketahui memiliki fungsi untuk mengawasi seluruh peredaran obat-obatan dan makanan yang ada di seluruh wilayah Indonesia dengan persyaratan keamanan yang telah ditetapkan oleh pengawasan obat dan makanan. Madu adalah bahan alami yang memiliki rasa alami yang manis yang dihasilkan lebah dari nektar atau sari bunga berbentuk cairan yang berasal dari bagian bagian tanaman hidup yang dikumpulkan, diubah dan diikat dengan senyawa tertentu lalu disimpan di sarang yang berbentuk heksagonal (Al Fady, 2015). Madu merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki rasa manis dan kental yang berwarna emas sampai coklat gelap dengan kandungan gula yang tinggi serta lemak rendah (Wulansari, 2018). Berdasarkan SNI No.8664 Tahun 2018 mengenai syarat maksimal kandungan HMF(*hydroxy methyl fulfural*) madu yaitu 40 mg/kg. Apabila terdapat kandungan madu yang lebih dari 40 mg/kg atau syarat maksimal maka madu tersebut bisa di katakan bukanlah madu asli dan atau bisa disebut tidak memenuhi syarat.

Tujuan dari pengujian ini adalah untuk menentukan kandungan kadar HMF (*Hydroxy Methyl Fulfural*) sebagai penentu madu asli atau palsu serta kandungan glukosa, sukrosa dan fruktosanya. Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu menggunakan KCKT (*Kromatografi cair kinerja tinggi*) Atau HPLC (*High performance Liquid Chromatography*) Metode ini digunakan karena sistem tidak terhubung atau terpisah dengan kecepatan tinggi. Hasil dari pengujian HMF(*Hydroxy Methyl Fulfural*) madu menggunakan KCKT(*Kromatografi cair kinerja tinggi*) telah dilakukan 3 sampel yang menghasilkan 2 sampel tidak memenuhi syarat dan 1 sampel yang memenuhi syarat, Sampel dengan kode 105 dan L.034 Tidak Memenuhi Syarat (TMS) sedangkan untuk sampel dengan kode L.035 Memenuhi Syarat (MS). Namun dalam hal ini jenis dari sampel madu bersifat konvensional atau Data rahasia.

**Kata kunci : BBPOM, Madu, HMF, KCKT**

## **BAB I**

### **TINJAUAN UMUM PERUSAHAAN**

#### **1.1. Profil Instansi**

BPOM (*Badan Pengawas Obat dan Makanan*) adalah pembentuk pemerintah dan non-kementerian yang menggelar urusan pemerintahan di bidang pengawasan obat dan makanan serta pelayanan publik kepada masyarakat. BBPOM (*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) adalah bagian pembuatan teknis pada BPOM sendiri yang memiliki kedudukan pada provinsinya. BPOM mempunyai 33 balai besar yang tersebar di setiap provinsi di seluruh Indonesia dan mempunyai tugas dari 40 Loka POM yang telah tersebar di setiap provinsi di seluruh Indonesia. Tugas dan fungsi Loka POM sendiri sama seperti Balai Besar POM yaitu melaksanakan pemeriksaan secara bersamaan dan juga sertifikasi fasilitas produksi atau hasil dari pemeriksaam itu sehingga pembagian obat dan makanan, sertifikasi produk dan pengujian obat dan makanan, yang membedakan Loka POM dan Balai Besar POM hanyalah wilayah kerja saja.

##### **1.1.1. Sejarah BBPOM (*Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan*)**

###### **Mataram, Lombok Barat**

BBPOM (*Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan*) awalnya UPT (Unit Pelaksanaan Teknis) yang merupakan lingkungan Departemen Kesehatan sehingga Untuk mewujudkan Undang-Undang Pokok Kesehatan telah dibentuk oleh Lembaga Farmasi Nasional sesuai dengan berdasarkan Surat Keputusan Menteri No. 39521/ Kab/199 tanggal 11 Juni 1963. Pada saat itu diketahui dua instansi pemerintah di bidang farmasi yakni, Direktorat Urusan Farmasi dan Lembaga Farmasi Nasional. Direktorat Urusan Farmasi awalnya adalah Inspektorat Farmasi yang pada saat itu masih melakukan sebuah proses yang menjadikan lebih besar sehingga menjadi Jenderal Farmasi pada tahun 1967.

Pada masa orde baru keadaan politik, ekonomi, dan keamanan menjadi baik dan pembangunan dari berbagai bidang bisa dilakukan dengan baik. Pembangunan kesehatan dapat diwujudkan dengan baik sesuai dengan sarana pelayanan kesehatan ataupun dalam mutu pelayanan yang semakin baik. Saat ini juga pengaturan, pengendalian dan pengawasan pada bidang farmasi dilakukan dengan baik pada tahun 1975, institusi pengawasan farmasi dapat berkembang dengan perubahan Direktorat Jenderal Farmasi

menjadi Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Sehingga dengan ini berdasarkan undang-undang yang telah dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan untuk melanjutkan pembangunan pada masa yang akan datang.

Dengan menjadikan pengawasan terhadap obat dan makanan sehingga pemerintah melakukan kebijakan yaitu mengadakan perubahan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, dimana awalnya Direktorat Jenderal Obat dan Makanan bertanggung jawab kepada Departemen Kesehatan tetapi saat ini berubah menjadi Badan Pengawasan Obat dan Makanan bertanggung jawab kepada Presiden. Badan Pengawasan Obat dan Makanan saat ini adalah Lembaga Pemerintah Non Departemen. Dengan ketetapan Keputusan Presiden No. 103 tahun 2000 sehingga dapat merubah Keputusan Presiden No. 166 tahun 2003. (*BPOM, 2019*)

### **1.1.2. Visi dan Misi**

#### **1. Visi**

Obat dan Makanan aman, bermutu, dan berdaya saing untuk mewujudkan Indonesia maju yang berdaulat, mandiri, dan berkepribadian berlandaskan gotong royong.(BBPOM Mataram,Lombok barat 2022)

#### **2. Misi**

- a) Membangun SDM unggul terkait Obat dan Makanan dengan mengembangkan kemitraan bersama seluruh komponen bangsa dalam rangka peningkatan kualitas manusia Indonesia.
- b) Memfasilitasi percepatan pengembangan dunia usaha Obat dan Makanan dengan keberpihakan terhadap UMKM dalam rangka membangun struktur Ekonomi yang produktif dan berdaya saing untuk kemandirian bangsa.
- c) Meningkatkan efektivitas pengawasan Obat dan Makanan serta penindakan kejahatan Obat dan Makanan melalui sinergi pemerintah pusat dan daerah dalam kerangka Negara Kesatuan guna perlindungan bagi sgenap bangsa dan memberikan rasa aman pada seluruh warga.
- d) Pengelolaan pemerintahan yang bersih, efektif, dan terpercaya untuk memberikan pelayanan publik yang prima di bidang Obat dan Makanan. (BBPOM Mataram,Lombok barat 2022).

### 1.1.3. Lokasi BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat

Lokasi kerja praktik pada BBPOM terletak Jalan Catur Warga, Mataram Tim., Kec. Mataram, Kota Mataram, Lombok Barat,Nusa Tenggara Bar. 83121 dapat di lihat pada Gambar 1.1

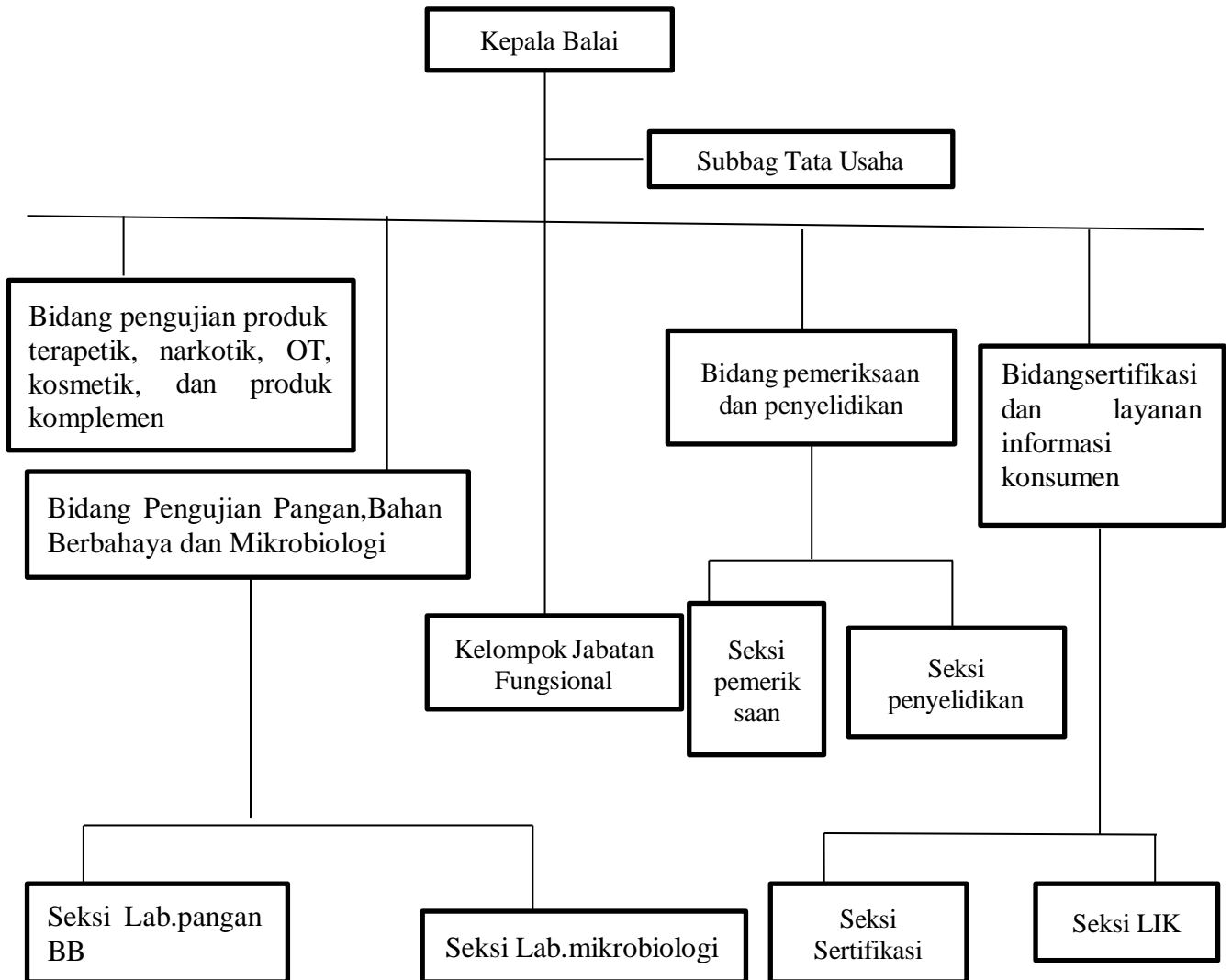


Gambar 1.1 Peta Lokasi BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat  
(Google maps,2022).

BBPOM(*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) Kota Mataram, Lombok Barat bertempat di Jalan Catur Warga Mataram Timur., Kec. Mataram, Kota Mataram, Lombok Barat, NTB. BBPOM (*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) Di Kota Mataram, Lombok Barat Memiliki lahan 3.855 m<sup>2</sup> dengan Luas bangunan 3.325 m<sup>2</sup>, Luas Laboratorium 1.525 m<sup>2</sup>, Luas Penyelenggara Administrasi 1.604 m<sup>2</sup>, Luas Aula Besar 192,5 m<sup>2</sup>, Rumah dinas tanah seluas 250 m<sup>2</sup> dan pembangunannya seluas 200 m<sup>2</sup>.

### 1.1.4. Struktur Organisasi BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat

Struktur Organisasi dari BBPOM di Kota Mataram, Lombok barat digambarkan dalam Gambar 1.2



Gambar 1.2 Struktur Organisasi BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat  
(BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat 2021)

Sesuai dengan struktur organisasi, secara garis besar tugas di BBPOM di Kota Mataram dapat dikelompokkan sebagai berikut :

1. Bidang Pengujian Produk Terapeutik, Narkotika, Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen, mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program, evaluasi dan laporan pelaksanaan pemeriksaan secara laboratorium, pengujian dan penilaian mutu di bidang produk terapeutik, narkotika, obat tradisional, kosmetik dan produk komplemen.
2. Bidang Pengujian Pangan, Bahan Berbahaya dan Mikrobiologi, mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program, evaluasi dan laporan pelaksanaan pemeriksaan secara laboratorium, pengujian dan penilaian mutu di bidang pangan dan bahan berbahaya serta pemeriksaan secara laboratorium pengujian dan pengendalian mutu di bidang mikrobiologi.
3. Bidang Pemeriksaan dan Penyidikan, mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program, evaluasi dan laporan pemeriksaan setempat, pengambilan contoh untuk pengujian, dan pemeriksaan sarana produksi, distribusi dan pelayanan kesehatan serta penyidikan kasus pelanggaran hukum di bidang produk terapeutik, narkotika, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen pangan dan bahan berbahaya.
4. Bidang Sertifikasi dan Layanan Informasi Konsumen, mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program, evaluasi dan laporan pelaksanaan sertifikasi produk, sarana produksi dan distribusi tertentu serta layanan informasi konsumen.
5. Subbagian Tata Usaha, mempunyai tugas memberikan pelayanan teknis dan administrasi di lingkungan BBPOM di Mataram.
  - Kelompok Jabatan Fungsional, mempunyai tugas melaksanakan pengawasan farmasi dan makanan yang meliputi penyiapan perangkat lunak pengawasan farmasi dan makanan, pemeriksaan, pengujian, penilaian, pemantauan dan penyuluhan di bidang farmasi dan makanan, serta melaksanakan tugas ditempat yang mempunyai resiko tinggi dan atau rawan.

*(BBPOM Kota Mataram, Lombok Barat 2021).*



### **1.1.5. Tugas dan Fungsi BBPOM Kota Mataram,Lombok Barat**

Secara Umum Tugas BBPOM(Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan) Berdasarkan Pasal 3 Peraturan BBPOM (*Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan*) No.22 Tahun 2020, BBPOM (*Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan*) di Kota Mataram, Lombok Barat mempunyai tugas melaksanakan tugas teknis operasional di bidang Pengawasan Obat dan Makanan pda wilayah kerja masing-masing sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan (*BBPOM,2021*)

Berdasarkan Peraturan BBPOM (Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan) Nomor 22 Tahun 2020, BBPOM di Mataram menyelenggarakan fungsi :

- a) Penyusunan rencana, program, dan anggaran di bidang pengawasan Obat dan Makanan;
- b) Pelaksanaan pemeriksaan fasilitas produksi Obat dan Makanan;
- c) Pelaksanaan pemeriksaan fasilitas distribusi Obat dan Makanan dan fasilitas pelayanan kefarmasian;
- d) Pelaksanaan sertifikasi produk dan fasilitas produksi dan distribusi Obat dan Makanan;
- e) Pelaksanaan sampling Obat dan Makanan;
- f) Pelaksanaan pemantauan label dan iklan Obat dan Makanan;
- g) Pelaksanaan pengujian rutin Obat dan Makanan;
- h) Pelaksanaan pengujian Obat dan Makanan dalam rangka investigasi dan penyidikan;
- i) Pelaksanaan cegah tangkal, intelijen dan penyidikan terhadap pelanggaran ketentuan peraturan perundangundangan di bidang pengawasan Obat dan Makanan;
- j) Pelaksanaan pemantauan peredaran Obat dan Makanan melalui siber;

- k) Pengelolaan komunikasi, informasi, edukasi, dan pengaduan masyarakat di bidang pengawasan Obat dan Makanan;
- l) Pelaksanaan kerja sama di bidang pengawasan Obat dan Makanan;
- m) Pelaksanaan pemantauan, evaluasi, dan pelaporan di bidang pengawasan Obat dan Makanan;
- n) Pelaksanaan urusan tata usaha dan rumah tangga; dan pelaksanaan fungsi lain yang diberikan oleh Kepala Badan.

(BBPOM Mataram, Lombok Barat, 2022)

## 1.2. Mesin dan peralatan

Pada kegiatan kerja praktik ini dilakukan di Laboratorium kimia Pangan BBPOM Mataram, Lombok Barat. Sehingga Mesin dan peralatan pada Laboratorium Pangan ini dapat di lihat pada Tabel 1.1

Tabel 1.1 Mesin dan Peralatan BBPOM Di Kota Mataram, Lombok Barat

No.	Nama Alat	Fungsi
1.	HPLC ( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )	Digunakan untuk pemisahan berbagai komponen dalam campuran sampel serta dapat mencari konsentrasi sampel (Chawla, 2016)
2	AAS ( <i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i> )	Untuk menghitung kuantitas dari unsur-unsur logam dan metalloid berdasarkan pada penyerapan absorbansi radiasi oleh atom bebas pada fase gas.
3	Spektrofotometer UV- VIS	Untuk mengukur serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu senyawa. (Cairns, 2009)
4	GC-MS ( <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> )	Untuk mengukur jenis dan kandungan senyawa dalam suatu sampel baik secara kualitatif dan kuantitatif

5	LC-MS ( <i>Liquid Chromatography-Mess Spectrometry</i> )	Untuk penggabungan dari pemisahan fisik menggunakan kromatografi cair dan deteksi massa molekul dengan spektrometri massa.
6	Mesin Centrifuge	Untuk memutar objek atau sampel dalam kecepatan tinggi, perputaran ini akan membuat partikel yang akan jadi lebih berat lalu terkumpul menuju dasar tabung Centrifuge.
7	Ultrasonic	Berfungsi untuk proses bahan cair sebagai pemisah komponen zat padat jika dicampurkan dengan bahan cairan.

### 1.3. Sarana dan prasarana penunjang

Sarana adalah segala sesuatu yang dipakai sebagai alat untuk mencapai makna dan tujuan (Kamus Besar Bahasa Indonesia, 2008). Sedangkan pengertian prasarana adalah segala sesuatu yang merupakan penunjang utama terselenggaranya suatu proses (Kamus Besar Bahasa Indonesia, 2008).

#### a) Sarana

Berikut ini Sarana yang ada pada BBPOM Di kota Mataram, Lombok Barat yaitu :

- (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) AAS, sebanyak 2 unit.
- HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), sebanyak 3 unit
- LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometer*). sebanyak 2 unit
- GC-MS (*Gas Chromatography- Mass Spectrometer*). sebanyak 2 unit
- GC (*Gas Chromatograph*). sebanyak 2 unit
- PCR (*polymerase chain reaction*). sebanyak 1 unit
- *Uv-Vis* sebanyak 2 unit
- Mesin *Centrifuge* 1 unit
- *Inkubator* sebanyak 2 unit
- Oven sebanyak 2 unit
- *Autoclave* 1 unit
- *Stomacher* sebanyak 1 unit
- *Dissolution Tester* sebanyak 2 unit
- *Karl Fischer* 1 unit
- *Furnace* 1 unit
- Ph air, vortex, Tabung reaksi, labu ukur, gelas beaker, vial, batang pengaduk, pipet tetes, pipet mikro, tip, Rak tabung reaksi, corong, sepuit, parafilm, Erlenmeyer, dan penyaringan.

#### b) Prasarana

Berikut ini Prasarana yang ada pada BBPOM Di kota Mataram, Lombok Barat yaitu :

- Ruang staff.
- Ruang penyelia.
- Ruang manager
- Ruang rapat.

- Ruang preparasi sampel.
- Ruang instrumen
- Ruang Timbangan
- Ruang HPLC.
- Ruang AAS.
- Ruang Laboratorium
- Ruang Aula
- Dapur
- Gudang sampel.
- Mushola.
- Toilet

#### 1.4. Denah Laboratorium Kimia Pangan

BBPOM (*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) di mataram, Lombok Barat terdapat laboratorium kimia dan mikrobiologi. Dalam hal itu untuk melakukan kerja praktik yang di telah dilakukan dengan laboratorium kimia pangan. Berikut adalah *layout* dari laboratorium kimia pangan BBPOM(*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) di mataram, Lombok Barat dapat dilihat pada Gambar 1.3.



Gambar 1.3. Denah Laboratorium Pangan dan Bahan Berbahaya

## **BAB II**

### **TUGAS KHUSUS KERJA PRAKTIK**

#### **2.1. Latar Belakang**

Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) memiliki hutan hujan tropis yang memiliki keanekaragaman flora dan fauna yang cukup tinggi, Hutan di daerah NTB banyak ditumbuhi oleh berbagai tanaman sebagai sumber makanan bagi hewan, antara lain tanaman bidara dimana tanaman tersebut sangat digemari oleh lebah madu. Dalam hal ini juga NTB merupakan salah satu daerah yang terkenal sebagai salah satu penghasil madu terbaik (Bawantara, 2011). Bawantara, 2011 sendiri meneliti tentang hasil dari budidaya lebah madu di provinsi NTB. Selain tanaman bidara sebagai tumbuhnya lebah madu, Masyarakat NTB juga memanfaatkan Tanaman bidara karena tanaman tersebut memiliki khasiat sebagai tanaman obat. Masyarakat di NTB budidayakan lebah madu dengan mengambil lebah yang menghasilkan madu yang dapat dibudidayakan di sekitar perumahan karena jenisnya adalah madu trigona SP yang merupakan kehidupannya tidak bergantung pada polen bunga tidak seperti lebah madu lainnya, maka dari itu madu trigona dapat di biakkan dimana saja. lalu madu di pasarkan dengan harga berkisar 300 ribu. Madu trigona terletak pada lokasi Lombok utara.

Seiring berkembangnya waktu maka di NTB saat ini terdapat beberapa lokasi budidaya lebah madu, antara lain di Kabupaten Lombok Utara, Lombok Barat, Lombok tengah dan juga Lombok Timur. Budidaya Madu di Kabupaten Lombok utara memiliki lokasi di Desa sekadana, kecamatan Bayan, NTB. Kabupaten Lombok Barat terletak di Desa Langko, Lingsar, NTB. Kabupaten Lombok Tengah terletak di Desa Durian, janapria, Central Lombok Regency, NTB. Sedangkan pada Kabupaten Lombok Timur terletak Di Desa Dasan Kebon, Rumbuk, Sakra, NTB. Dari Budidaya yang terletak di kabupaten Lombok Utara, Barat, Tengah dan Timur memiliki potensi dengan menghasilkan propolis sebagai pertahanan yang dimiliki madu trigona, dimana propolis adalah sejenis resin yang dikumpulkan lebah dari berbagai tumbuhan yang bercampur dengan saliva dan enzim lebah yang digunakan untuk membangun sarang. Budidaya masing masing kabupaten di Lombok juga dapat menjadi salah satu peluang masyarakat untuk menciptakan kemandirian ekonomi, terlebih di masa pandemi madu sudah menjadi pilihan utama masyarakat dalam menjaga ketahanan tubuh dan juga kualitas madu trigona yang baik (GrafikaNews.com,2021)

Madu merupakan salah satu produk lebah yang dihasilkan dari nektar bunga yang diolah oleh lebah menjadi pakan yang disimpan dalam sarang lebah dengan beberapa kandungan gizi antara lain karbohidrat, asam amino, protein serta beberapa jenis Vitamin dan mineral (Suranto, 2004). Madu menjadi sumber tenaga yang mudah digunakan oleh tubuh karena kandungan gula sederhana yang mudah dicerna. Setiap seratus gram madu bernilai 294 kalori (Sumoprastowo, 1980). Madu mengandung air 17,2%, karbohidrat 82,3%, protein 0,3%, kandungan lain dalam bentuk abu 0,2% (Sihombing, 2005). Lebah madu memperoleh sebagian energi dari karbohidrat dalam bentuk gula. Jenis gula yang terkandung dalam madu adalah 38,19% fruktosa, 31,28% glukosa, 7,31% maltosa dan 1,31% sukrosa (Gojmerac, 1983). Kandungan lain dalam madu adalah mineral natrium, kalsium, magnesium, aluminium, besi, fosfor, kalium serta vitamin berupa thiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), raijin, asam pantotenat, biotin, asam folat, vitamin K dan zat antimikroba. Madu juga mengandung zat antimikroba (Molan, 2006).

Mengapa Madu Manis? Karna rasa manis dari monosakarida fruktosa dan glukosa didalamnya serta memiliki rasa manis yang hampir sama dengan sukrosa yaitu disakarida. Madu kaya akan gula sederhana karena lebah pekerja meminum madu dan memuntahkannya kembali sambil menambahkan enzim yang disebut enzim diastase dan invertase. Diastase berperan dalam menguraikan glikogen menjadi gula-gula sederhana, dan invertase akan mengubah sukrosa menjadi dektrosa (glukosa) dan levulosa (fruktosa). Jenis gula yang dominan dalam hampir semua madu adalah levulosa dan hanya sebagian kecil madu yang kandungan dektrosanya lebih tinggi dari levulosa. Levulosa dan dektrosa mencakup 85% - 90% dari karbohidrat yang terdapat dalam madu dan hanya sebagian kecil oligosakarida dan polisakarida (Sihombing, 2005). Sukrosa dianggap sebagai sumber karbon utama untuk memproduksi invertase karena keberadaan kandungan glukosa bergantung pada proses hidrolisis sukrosa, sehingga konsentrasi sukrosa mempengaruhi biosintesis invertase (Shankar *et al.*, 2013). Kandungan glukosa dan fruktosa yang sangat tinggi menunjukkan tingkat hidrolisis sukrosa yang tinggi, sehingga sangat memungkinkan terdapat kandungan enzim invertase yang tinggi pula pada madu dan nektar. Mengapa menggunakan perbedaan glukosa, fruktosa dan sukrosa? Karna sukrosa menghasilkan hidrolisis yang tinggi mengapa demikian? Karna glukosa dan fruktosa yang mempengaruhinya yaitu kandungannya yang tinggi membuat hidrolisis tinggi juga, hal tersebut memungkinkan di dalamnya memiliki kandungan enzim invertase. Sehingga hal tersebut membuat madu berbahaya jika di tambahkan dengan gula tersebut dan



menyebabkan konsentrasi dan jumlah parameter di dalam madu menjadi lebih tinggi dan melebihi kandungan kapisitas HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) Madu menurut SNI No.8664 Tahun 2018.

Menurut ratnayani, adhi dkk (2008). Madu mempunyai warna, rasa dan aroma yang berbeda-beda tergantung dari jenis tanaman yang tumbuh. Sebagai contoh tanaman bidara sebagai penghasil madu yaitu, jenis madu mangga memiliki rasa yang agak asam, madu bunga timun memiliki rasa yang sangat manis, madu kapuk atau randu memiliki rasa manis, lebih legit dan agak gurih, madu lengkung memiliki rasa manis, lebih legit dan aromanya lebih tajam. Selain madu-madu tersebut adapula madu yang berasal dari bunga rambutan, madu kaliandra dan madu karet.

Dengan berjalannya waktu sehingga banyaknya peredaran madu palsu masyarakat hendaknya memiliki pengetahuan yang cukup terkait keaslian madu. masyarakat sebaiknya mengetahui kandungan apa saja yang terdapat pada madu asli, sehingga apabila masyarakat ingin mengujikan madu kepada laboratorium yang terkreditasi dapat mengetahui secara persis apa yang akan di ujikan, kandungan Madu tersebut dapat dilihat pada SNI 8664 tahun 2018 tentang Madu. Komposisi madu ditentukan oleh dua faktor utama yakni faktor internal komposisi nektar asal madu dan faktor-faktor eksternal lingkungan tertentu (Sihombing, 2005). Perbedaan jenis tanaman sebagai sumber utama nektar mengakibatkan komponen madu yang dihasilkan juga berbeda. Komposisi kimia madu yang dapat menjadi indikator kemurnian madu yaitu kandungan HMF (*hydroxyl methyl fulfural*), kadar air, karbohidrat, protein, dan nilai pH (Simuth *et al.*, 2004; Bogdanov *et al.*, 2002). Indikator lainnya yaitu warna, rasa, kekentalan dan aroma. Namun dalam hal ini menggunakan pengujian HMF (*hydroxy methyl fulfural*) dengan metode KCKT (*kinerja cair kinerja tinggi*)

HMF (*hydroxy methyl fulfural*) yang terdapat dalam madu merupakan senyawa kimia yang dihasilkan dari perombakan monosakarida madu yang jumlah atom C-nya enam (glukosa dan fruktosa), dalam suasana asam dan dengan bantuan kalor (panas) (Achmadi, 1991). Kadar HMF madu segar sangat rendah (Nozal *et al.*, 2001; Gonzales *et al.*, 2000; Fennema, 1996). Kualitas Madu yang dihasilkan sangat berpengaruh terhadap Lebah Madu dengan sumber nektarnya serta kondisi lingkungan serang. Selain itu juga pengujian HMF(*hydroxyl methyl fulfural*) untuk menententukan keaslian dan kesegaran madu (Zakaria,2012).

Telah diketahui bahwa HMF (*hidroxy methyl furfural*) didalam industry makanan digunakan sebagai indikator perubahan panas dan penyimpanan pada madu. HMF (*hidroxy methyl furfural*) terkandung pada pecahan fruktosa yaitu salah satu gula utama yang

ditemukan dalam madu, sehingga ketika dikombinasikan dengan asam, fruktosa akan hancur dan HMF bisa terbentuk namun komponen fruktosa muncul pada madu secara perlahan kecuali ketika dipanaskan komponen fruktosa akan cepat muncul karena komponen fruktosa didalam terbentuk oleh dekomposisi gula yang bisa cepat panas. Komponen fruktosa ditemukan secara alami hampir semua madu dan pembentukan HMF dalam madu bervariasi tergantung pada jenis madu sendiri. Madu alami segar yang memiliki kadar senyawa HMF biasanya kurang dari 1 mg/kg.

Kualitas madu tersebut dapat tergambar dari sifat fisik dan kimianya:

Sifat Fisik diantaranya:

- Warna madu dapat diklasifikasikan berdasarkan 7 warna yaitu mulai dari putih transparan hingga gelap pekat. Hal tersebut karena dipengaruhi oleh Nectar yang dikonsumsi oleh lebah. Semakin lama waktu penyimpanannya semakin tinggi suhunya dan warna akan semakin gelap (Eleazu,dkk.,2013)
- Ph Walaupun dari Nectar yang sama namun nilai Ph pada madu dimungkinkan berbeda dikarenakan perbedaan kandungan mineral dan asam pada madu (Gulfraz dkk.,2010). Ph madu berkisar antar 3,4-6,1 semakin rendah Ph pertumbuhan bakteri pada madu semakin kecil dan akan menghambat pertumbuhan bakteri sehingga bakteri akan mati. Ph juga mempengaruhi rasa dan aroma (Glfraz dkk.,2010;Khalil dkk.,2012).
- Kadar Air berpengaruh pada kualitas madu. Baku mutu madu memiliki maksimum yang telah ditetapkan di indonesia tidak lebih dengan 22%. Semakin tinggi kadar air, maka madu akan semakin mudah untuk terfermentasi (Bogdanov,2012)

Sifat Kimia diantaranya:

- Madu menurunkan titik beku
- Laju kristalisasi madu paling cepat pada suhu 14°C
- Berat Jenis madu sangat tergantung pada air(*Sudaryanto,2010*)

Konsentrasi HMF dikenal luas sebagai parameter yang mempengaruhi kesegaran madu, karena biasanya HMF tidak terdapat (atau hanya dalam jumlah yang sangat kecil dalam madu segar), sedangkan konsentrasinya cenderung meningkat selama pemrosesan dan atau penyimpanan yang lama. Penelitian melaporkan bahwa madu yang disimpan pada suhu rendah dan atau dalam kondisi segar memiliki konsentrasi HMF yang rendah, sedangkan madu yang sudah lama atau disimpan pada suhu relatif tinggi atau sedang memiliki kandungan HMF yang tinggi. Selain kondisi penyimpanan, penggunaan wadah logam dan juga sumber bunga madu

dapat mempengaruhi tingkat konsentrasi HMF. Sehingga konsentrasi HMF tidak hanya merupakan indikasi kesegaran produk madu namun juga dipengaruhi oleh kondisi dan durasi penyimpanan.

Kadar air dalam madu menentukan keawetan madu. Madu yang kadar airnya tinggi, mudah terfermentasi. Fermentasi terjadi karena khamir dari genus *Zygosaccharomyces* yang tahan terhadap konsentrasi gula tinggi, sehingga dapat hidup dalam madu. Sel khamir akan mendegradasi gula dalam madu (khususnya glukosa dan fruktosa) menjadi alkohol (etanol). Jika alkohol bereaksi dengan oksigen, alkohol tersebut akan membentuk asam asetat yang mempengaruhi kadar keasaman, rasa dan aroma madu. Pada akhir proses fermentasi akan terbentuk karbondioksida dan air (White, 1979; Achmadi, 1991). Madu tidak mudah larut dalam air. Berdasarkan hasil penelitian oleh Rahmani (2004), rendahnya kelarutan madu murni disebabkan rheologi murni madu yang berbentuk kental dengan viskositas tinggi serta adanya komponen-komponen lain dalam madu (meski dalam jumlah yang sangat sedikit) seperti protein, vitamin dan mineral yang tidak dimiliki oleh madu buatan atau madu tidak murni. Madu bersifat higroskopis (mudah menarik air), oleh karena itu penyimpanan madu harus memakai tempat yang tidak tembus udara (Sumoprastowo, 1980). Kadar air madu tergantung dari keadaan cuaca, dan kadar air awal nektar dari mana nektar tersebut berasal (White, 1992). Kelembaban udara juga berpengaruh terhadap kadar air madu. Semakin rendah kelembaban udara maka semakin rendah pula kadar airnya. Kadar air madu di Indonesia tinggi disebabkan oleh kelembaban relatif (Rh) udara di Indonesia yang tinggi (Gojmerac, 1983). Kelembaban relatif (Rh) Indonesia berkisar 60% hingga 90%, menghasilkan kadar air madu sekitar 18,3% sampai 33,1% (Sihombing, 2005). Madu murni diproduksi oleh lebah, diperoleh dari berbagai nektar bunga sedangkan madu tidak murni dibuat oknum tertentu dengan berbagai bahan baku seperti sirup, tapioka, gula jagung, soda, dan lain-lain yang dapat merugikan konsumen bahkan membahayakan kesehatan manusia. Madu murni memiliki aroma khas madu, sedangkan madu palsu tidak beraroma khas madu, namun terkadang diberi aroma sintetik madu sehingga aromanya menyerupai madu murni. Madu murni jika dicampur ke dalam air bening, air akan menjadi keruh sedangkan madu palsu warnanya bening, akan tetapi untuk madu tidak murni yang dicampur dengan bahan pengental (bukan gula) maka akan menghasilkan warna keruh juga ketika dicampur ke dalam air bening. Madu murni jika dipegang terasa kesat sedangkan madu murni terasa licin. Madu murni mengandung fruktosa, glukosa, enzim dan berbagai macam vitamin dan mineral. Madu palsu mengandung sukrosa (gula) dan air (Sihombing, 2005).

Menurut SNI No.8664 Tahun 2018 Kandungan HMF Madu memiliki persyaratan maksimal mengandung 40 mg/kg jika lebih dari itu maka sudah di pastikan madu tersebut adalah madu palsu yang hanya gula yang telah dicampurkan oleh pemanis buatan. Pada Jenis Madu ini Data bersifat Rahasia.

## 2.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dari kerja praktik ini adalah :

1. Bagaimanakah Tahapan pengujian HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) pada madu dengan menggunakan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) ?
2. Bagaimanakah kadar HMF (*hydroxy methyl fulfural*) pada madu dengan perbandingan Glukosa, sukrosa dan fruktosa ?
3. Apakah kadar HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) pada madu masing masing sampel telah memenuhi syarat berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018

## 2.3. Tujuan Pengujian

Berdasarkan uraian dari rumusan masalah tersebut, maka tujuan khusus dari kerja praktik ini adalah:

- 1) Untuk mengetahui bagaimana Tahapan pengujian HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) pada madu dengan menggunakan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) ?
- 2) Untuk mengetahui perbandingan kadar HMF (*hydroxy methyl fulfural*) pada madu dengan glukosa, sukrosa dan fruktosa ?
- 3) Untuk menganalisis ketentuan pada kadar HMF (*hydroxy methyl fulfural*) pada madu dengan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) yang digunakan berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018

## **2.4. Metode Pemecahan Masalah**

### **2.4.1. Waktu dan Tempat**

Kerja Praktik (KP) yang dilaksanakan pada tanggal 12 April s.d 21 Mei 2021 Di Laboratorium Kimia pangan BBPOM (*Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan*) Mataram, Lombok Barat dengan Alamat Jalan Catur Warga, Mataram Timur., Kec.Mataram, Kota Mataram, Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat. 83121

### **2.4.2. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu seperangkat alat KCKT yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis, Labu tentukur, Gelas Ukur tertutup, Pipet Mikro 20-200  $\mu\text{L}$ , Pipet Mikro 1000  $\mu\text{L}$ , Pipet Volumetric, Neraca Analitik Vortex, Ultrasonic dan Peralatan Gelas lainnya.

Sedangkan Pada bahan yaitu 3 sampel Madu berbagai merk namun dalam hal ini merk jenis madu bersifat rahasia hanya saja menggunakan kode yaitu ( kode 105, L.034, dan L.035), Aquades, Kertas Saring Whattman 42, Methanol, Natrium Benzoat, Asam Sorbat, Natrium Sakarin,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,36 gram,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,74 gram, Larutan Baku induk, Larutan Baku antara, Larutan Baku kerja dan juga Larutan Baku Perbandingan dipakai saat pengujian sampel, dengan cara membandingkan kurva pada kromatografi dari sampel terhadap baku perbandingan, baku perbandingan yang digunakan yaitu Natrium Benzoat, Asam Sorbat dan Natrium Sakarin.

### **2.4.3. Metode Pengumpulan Data**

Metode pengambilan data ini dapat diambil dengan menggunakan *purposive sampling* adalah teknik yang lebih menekankan pada tujuan dari penelitian dari pada sifat sifat populasi dalam menggunakan sampel penelitian (Bungin,2018:118) sampel yang telah diuji adalah sampel yang harus di lakukan setiap tahun yang pengujiannya untuk memastikan sampel madu yang telah tersebar oleh masyarakat sekitar agar tetap aman sehingga ketika dikonsumsi dapat sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh peraturan BPOM RI. Sampel yang telah diuji adalah sampel yang harus di lakukan setiap tahun yang pengujiannya untuk memastikan sampel madu yang telah tersebar oleh masyarakat sekitar agar tetap aman sehingga ketika dikonsumsi dapat sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh peraturan BPOM RI. Parameter mengenai HMF madu menggunakan KCKT. Sampel madu yang diuji sebanyak 3 sampel dengan berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018 mengenai persyaratan kandungan HMF madu memiliki maksimal adalah 40 mg/kg. Dari 3 sampel tersebut masing-masing memiliki warna madu yang berbeda. Pada sampel 1 dengan kode 105 memiliki warna sedikit

kecoklatan, sampel 2 dengan kode L.034 berwarna putih agak keruh dan sampel 3 dengan kode L.035 berwarna putih namun lebih keruh dari sampel 2, sehingga dalam hal tersebut dengan perbedaan warna pada masing-masing sampel dapat membedakan setiap sampel. Metode yang digunakan dalam pengumpulan data yaitu menggunakan metode observasi, wawancara, dan praktik langsung.

#### 1) Observasi

Observasi merupakan pengamatan secara langsung untuk mendapatkan sebuah informasi sehingga proses pengujian kandungan HMF (*hydroxy methyl fulfural*) pada madu menggunakan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) dapat dicatat hasil dari uji di Laboratorium Kimia Pangan BBPOM Mataram yang tujuannya untuk melengkapi data-data yang telah ada supaya dapat digunakan dalam penyusunan laporan akhir kerja praktik, dapat dimulai dari penimbangan sampel yang dibutuhkan saat pengujian hingga mengamati hasil akhir dari pengujian.

#### 2) Wawancara

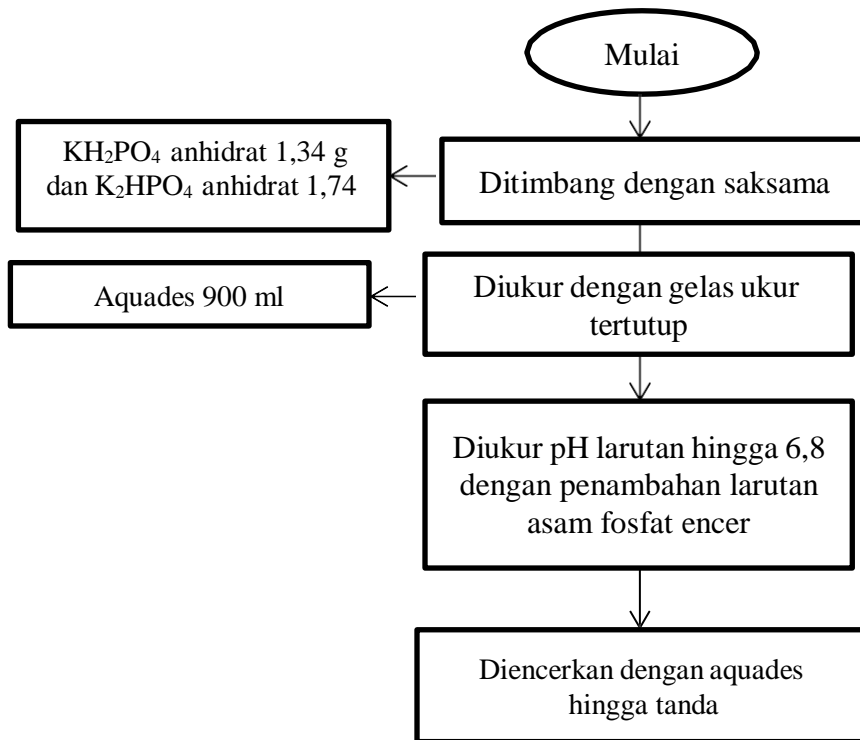
Wawancara dilakukan dengan menanyakan langsung kepada pihak yang memiliki kapasitas untuk menjawab mengenai seluruh proses pengujian pada sampel pangan yang dilakukan di Laboratorium Kimia Pangan BBPOM (*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) Mataram, Lombok Barat .

#### 3) Praktik Langsung

Melaksanakan praktik langsung yaitu melakukan preparasi sampel uji pada kadar HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) pada madu menggunakan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Pangan BBPOM (*Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan*) Mataram, Lombok Barat.

### 2.4.3.1. Pembuatan Fase gerak

Sebelum dilakukannya preparasi sampel uji maka akan dilakukan dua fase kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak memiliki bentuk larutan yang bermanfaat sebagai penarik unsur atau komponen ketidakmurnian yang akan masuk ke dalam detector UV-Vis, sedangkan pada fase diam merupakan fase tetap didalam kolom yang terdapat partikel serta terdapat area surface (Gazdik dkk, 2008). Berikut adalah diagram alir pada Fase gerak



Gambar 2.1 Diagram Alir Pembuatan Larutan Fase Gerak



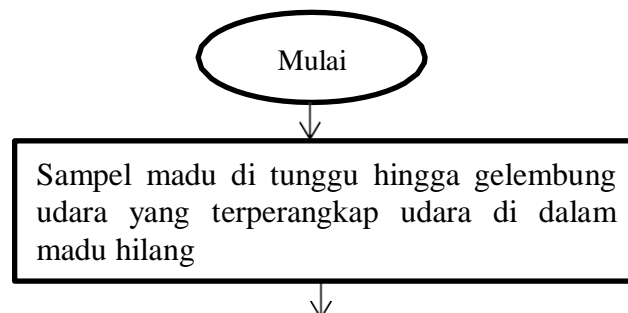
#### 2.4.3.2. Pembuatan Preparasi Larutan Uji Sampel

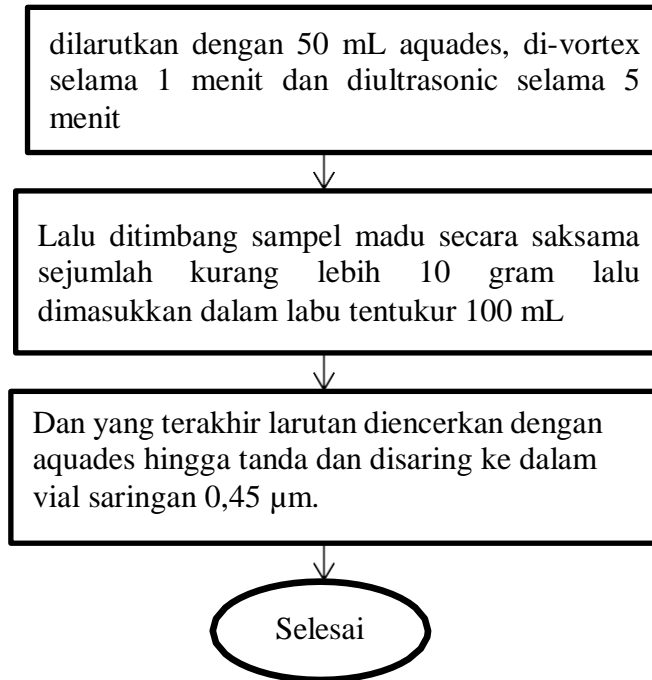
Setelah dilakukan pembuatan fase gerak dan fase diam untuk metode KCKT (*Kromotografi Cair Kinerja Tinggi*) lalu akan melakukan preparasi sampel Madu yang akan diuji dengan metode KCKT (*Kromotografi Cair Kinerja Tinggi*) yaitu sampel Madu diawaudarakan madu selama 30 menit atau sampai gelembung udara yang terperangkap di dalam madu hilang. Madu bergelombang karna kemungkinan adanya bunga polen yang ada di sampel madu. Lalu ditimbang sampel madu secara saksama sejumlah kurang lebih 10 gram lalu dimasukkan dalam labu tentukur 100 mL. Kemudian dilarutkan dengan 50 mL aquades, di- vortex selama 1 menit untuk menghomogenisasi larutan madu dalam jumlah kecil. Lalu diultrasonic selama 5 menit untuk menghancurkan komponen yang tidak diinginkan seperti kristal atau sel-sel ragi dalam madu. Dan yang terakhir larutan diencerkan dengan aquades hingga tanda dan disaring ke dalam vial saringan 0,45  $\mu\text{m}$ .



Gambar 2.2. Preparasi Larutan Uji

Berikut adalah Diagram Alir Preparasi Larutan Uji

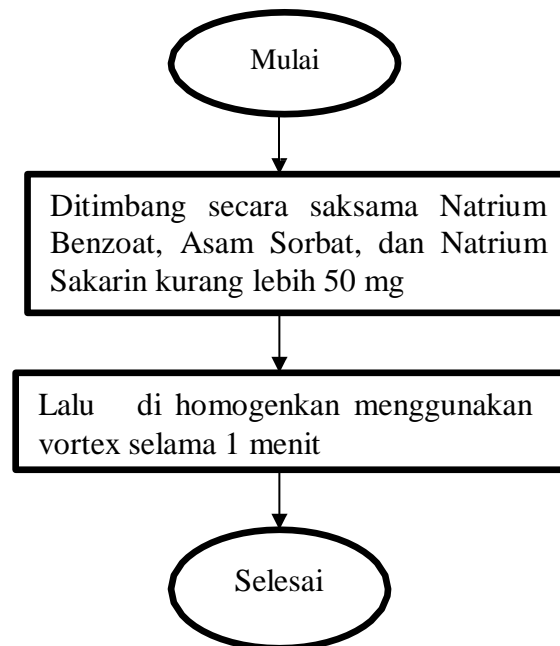




Gambar 2.3. Diagram alir preparasi sampel Larutan Uji

#### 2.4.3.3. Pembuatan Larutan Baku Pembanding

Larutan Pembanding dibuat dari Natrium Benzoat, Asam Sorbat, Natrium Sakarin dari ketiganya akan ditimbang secara bersamaan kurang lebih 50 mg lalu dihomogenkan.

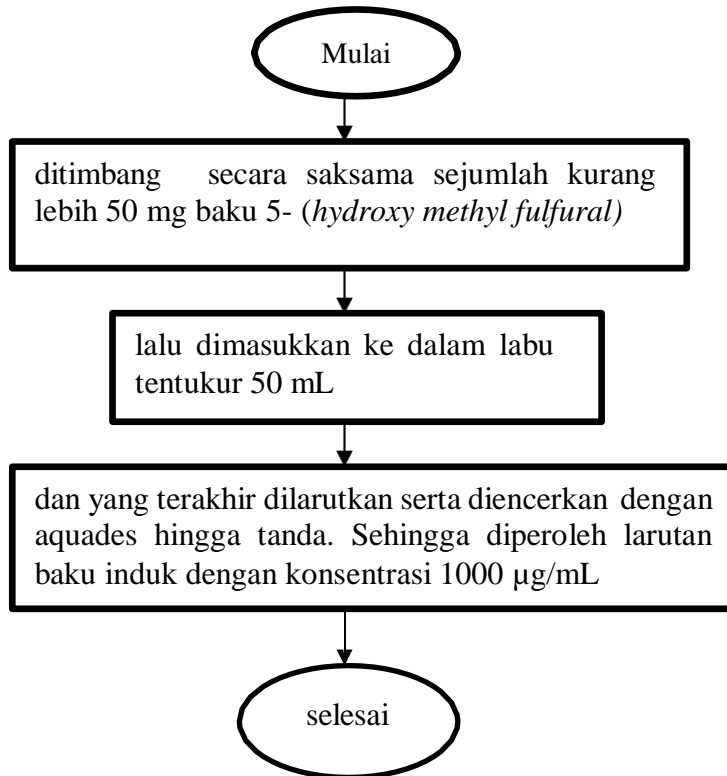


Gambar 2.4. Diagram Alir Larutan Pembanding

#### 2.4.3.4. Pembuatan Larutan Baku Induk

Larutan baku induk dibuat dengan ditimbang secara saksama sejumlah kurang lebih 50 mg baku 5- (*hydroxy methyl fulfural*), lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL dan yang terakhir dilarutkan serta diencerkan dengan aquades hingga tanda.

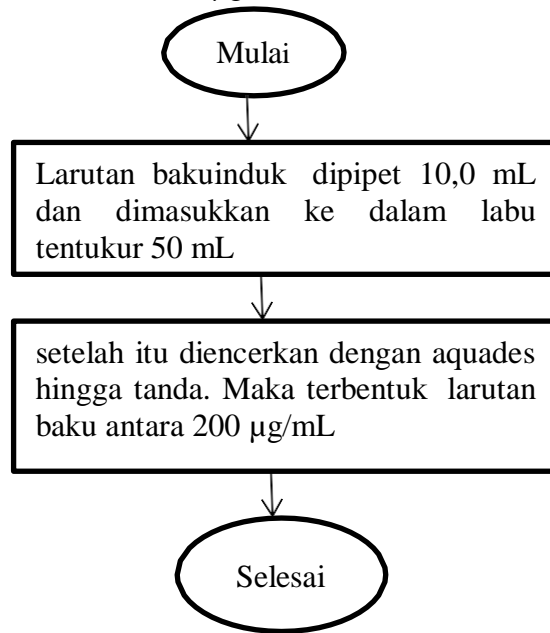
Berikut adalah diagram alir larutan baku induk



Gambar 2.5. Diagram Alir Larutan Baku Induk

#### 2.4.3.5. pembuatan Larutan baku antara

Selanjutnya adalah larutan baku antara dengan metodenya yaitu Dipipet 10,0 mL larutan baku induk dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, setelah itu diencerkan dengan aquades hingga tanda. Maka terbentuk larutan baku antara 200 µg/mL



Gambar 2.6. Diagram Alir Larutan Baku Antara

#### 2.4.3.6. Pembuatan Larutan baku Kerja

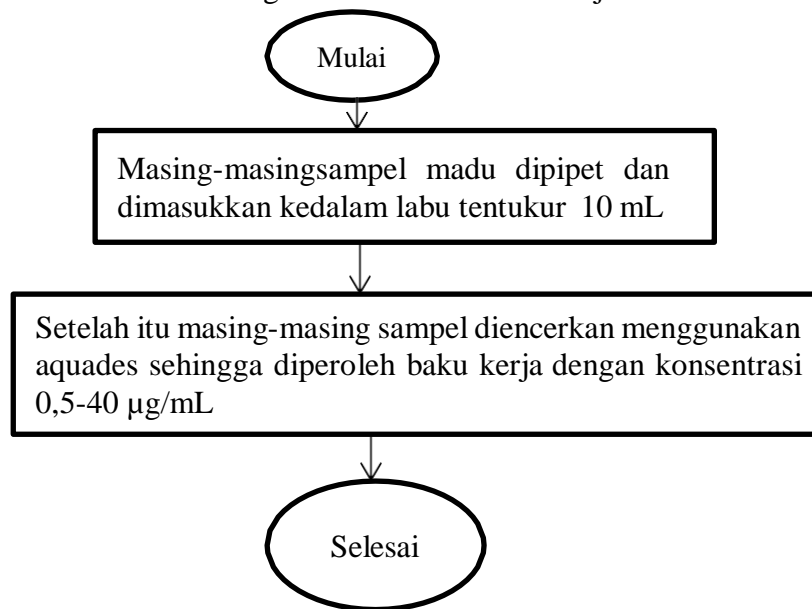
Untuk Larutan baku kerja terdapat metodenya yaitu masing-masing sampel madu dipipet kedalam masing-masing labu tentukur 10 mL dan diencerkan masing- masing dengan aquades sehingga diperoleh larutan baku kerja dengan konsentrasi sesuai dengan yang tertera pada tabel berikut :

Tabel 2.1. Larutan Baku kerja

Baku Kerja	Konsentrasi (µg/mL)	Pemipetan(mL) dari Baku	Aquadest ad (ml)
1	0,5	0,025	10
2	1	0,050	10
3	2	0,100	10

4	5	0,250	10
5	10	0,500	10
6	20	1,000	10
7	40	2,000	10

Berikut adalah diagram alir larutan baku kerja



Gambar 2.7. Diagram Alir Larutan Baku kerja

#### 2.4.3.7. Cara Penetapan

Larutan baku dan Sampel disuntikkan secara terpisah ke dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan kondisi sebagai berikut:

Fase gerak : Metanol-Aquades (10:90)

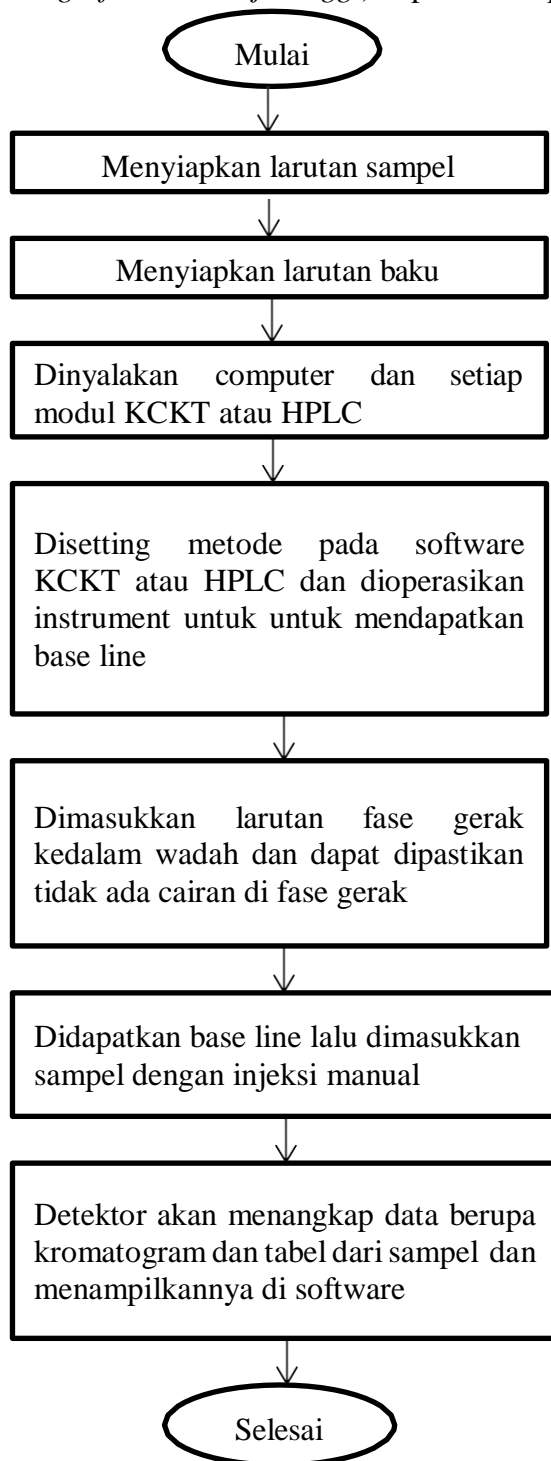
Kolom : Sunfine C18 (15 cm x 4,6 mm) ukuran partikel 5 µm

Detektor : UV, Pada panjang gelombang 285 nm

Laju Air : 1 mL/menit Volume Penyuntikan : 20 µL

#### 2.4.3.8. Metode Analisis pengujian KCKT

Pengujian Kadar HMF(*hydroxyl methyl fulfural*) menggunakan KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) dapat dilihat pada diagram Alir berikut:



Gambar 2.8. Diagram Alir Metode KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) pada kadar HMF(*hydroxyl methyl fulfural*)

## **Instrumen KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*)**

Instrumen KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*) Terdiri 6 bagian yaitu :

➤ **Wadah fase gerak**

Wadah fase gerak merupakan wadah sebagai alat dalam fase gerak sehingga digunakan saat proses pemisahan melalui KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*). Wadah ini wajib inert terhadap perangkat fase gerak. Wadah fase gerak bisa menggunakan wadah pelarut kosong atau labu laboratorium sebagai alat menggunakan fase gerak perkiraanya 1 sampai 2 Liter (Rahma Juwita Zamri, 2008).

➤ **Pompa**

Pompa KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*) sebaiknya yang mempunyai ketentuan khusus pada wadah pelarut yaitu pompa wajib inert pada fase gerak. Tujuan dari pompa tersebut adalah untuk memastikan proses pada pompa fase gerak berjalan dengan baik, konstan serta tidak terhalang oleh apapun (Eria Oktavia, 2006).

➤ **Tempat injeksi sampel**

Tempat injeksi sampel digunakan pada metode KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*) yaitu tempat injeksi sampel yang sangat sederhana.

➤ **Kolom**

Kolom untuk pengujian ini memakai kolom mikrobor yang memiliki tiga keuntungan yaitu :

- a. Memakai fase gerak kolom mikrobor tidak lebih dari 80% namun berbeda dengan kolom konvensional yang memakai lebih dari 80% hal tersebut disebabkan kolom mikrobor memiliki kecepatan alir fase gerak yang memerlukan waktu yang lama/lambat sekitar

10-100 ul/menit.

- b. Dengan munculnya fase gerak yang memerlukan waktu yang lama/lambat menyebabkan kolom mikrobor menjadi sangat sesuai pada saat fase gerak dan kolom mikrobor digabung dengan spektrometer massa.
- c. Sensitivitas pada kolom mikrobor diproses agar solut lebih likat/pekat disebabkan jenis kolom ini berfungsi ketika banyaknya perhitungan pada sampel sedikit.

➤ **Detektor**

Detektor untuk metode KCKT (*kromatografi kinerja tinggi*) memakai Detektor Spektrofotometer UV-Vis. Detektor Spektrofotometer UV-Vis adalah detektor yang sering digunakan dan memiliki manfaat sebagai analisis pada bidang pangan disebabkan jumlah senyawa kimia di bidang pangan juga banyak dan memiliki struktur yang bisa diserap oleh sinar UV- Vis.

➤ **Perekam**

Perangkat atau alat yang digunakan seperti komputer, integrator atau rekorder, akan disambung melalui detektor. Perangkat tersebut untuk menghitung ukuran sinyal elektronik sebagai penghasil yang dapat membawa alur pada kromatogram dan dinilai oleh seorang penelitian (Ibnu Rohman dkk, 2012).

## **2.5. Metode Pengolahan Data**

Data yang telah terkumpul setelah itu dibandingkan dengan SNI No. 8664 Tahun 2018 sehingga dapat mengetahui Batas Maksimum kandungan HMF (*hydroxy methyl fulfural*) madu sendiri dan Batas Maksimumnya adalah 40 mg/mL.



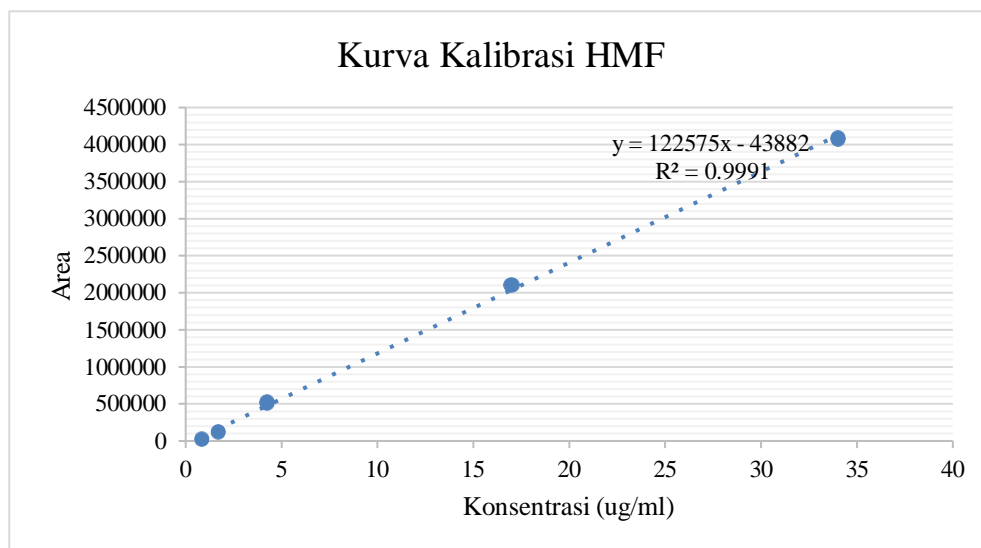
## 2.6. Hasil dan Pembahasan

### 2.6.1. Linearitas kurva pada madu

Merupakan Penentuan kadar analit dalam sampel lingkungan secara kuantitatif dengan menggunakan instrumentasi kimia secara umum dapat dilakukan melalui kurva kalibrasi yang memiliki linearitas memenuhi batas di terimanya Kurva kalibrasi merupakan grafik yang membentuk garis lurus (*linear*) yang menyatakan hubungan antara kadar larutan kerja termasuk blanko dengan respon yang proporsional dari instrumen.

No.	Konsentrasi Baku HMF (ug/mL)	Area
1	0,850	26065
2	1,700	122096
3	4,250	520713
4	17,000	2110837
5	34,000	4085724

Berikut adalah kurva kalibrasi HMF (*hydroxy methyl fulfural*)



Gambar 2.9. Kurva Kalibrasi HMF(hydroxyl methyl fulfural)

**2.6.2. Karakteristik Fisik HMF(*hydroxyl methyl fulfural*) menggunakan metode KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*)**

No	Sampel	warna	Aroma	Bentuk
1	Madu kode 105	Sedikit Kecoklatan	khas	kental
2	Madu kode L.034	Putih agak keruh	khas	kental
3	Madu kode L.035	Putih keruh sekali	khas	kental

**2.6.3. Metode Kromatografi Kinerja Tinggi**

Pada Metode KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*) memiliki kemampuan yaitu dapat memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, analisis, serta sensitivitas yang tinggi. Kolom juga dapat digunakan dan memiliki beberapa jenis detector yang bisa dipakai dan dapat meminimalkan ketika terdapat kerusakan pada bahan yang dianalisis(Adnan 1997).

Fungsi dari KCKT (*kromatografi kinerja tinggi*) ini sendiri adalah untuk membatasi sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis. Selain itu KCKT (*kromatografi kinerja tinggi*) juga dapat menganalisis campuran senyawa yang tidak menguap, membuat molekul-molekul netral, ionik, maupun ion yang tidak tercampur senyawa, memberikan pembatasan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama. KCKT(*kromatografi kinerja tinggi*) merupakan metode yang bersifat tidak diskriptif dapat dilakukan secara analisis kualitatif dan kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2007).

KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) juga terdapat Kolom, sama halnya dengan kolom lainnya. Sampel pada kolom akan mengalami batasan senyawa-senyawa tersebut. Ketika intraksi senyawa adanya perbedaan maka senyawa masing-masing akan memiliki perbatasannya sehingga menjadi puncak-puncak tersendiri. (Harvey, 2000).

#### 2.6.4. Hasil pengukuran HMF(*hydroxyl methyl fulfural*) madu

menggunakan metode KCKT(*kromatografi cair kinerja tinggi*)

Nomor Sampel	Berat Wadah	Berat Wadah + Sampel	Faktor Pengenceran	Respon Puncak
105.1	55,9116	66,0505	100	5379012
105.2	53,1440	63,3455	100	5394860
L.034.1	54,0540	64,0685	100	728555
L.034.2	55,0134	65,1411	100	721345
L.035.1	57,5037	67,6045	100	-
L.035.2	54,0530	64,0677	100	-

#### 2.6.5. Hasil perhitungan HMF(*hydroxyl methyl fulfural*) madu

menggunakan metode KCKT(*kromatografi cair kinerja tinggi*)

Nomor Sampel	Bobot Sampel (gram)	Respon Puncak	Faktor Pengenceran	Konsentrasi Sampel (Csp)	Kadar Sampel (mg/Kg)
105.1	10,1389	5379012	100	44,24	436,35
105.2	10,2015	5394860	100	44,37	434,94
L.034.1	10,0145	728555	100	6,30	62,93
L.034.2	10,1277	721345	100	6,24	61,64
L.035.1	10,1008	-	100	-	-
L.035.2	10,0147	-	100	-	-

HMF (*hydroxy methyl fufural*) pada dasarnya adalah pecahan dari sukrosa dan fruktosa. Kandungan HMF maksimal pada madu berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018 adalah 40 mg/kg. Jika lebih dari angka tersebut, dapat dipastikan bahwa madu tersebut palsu dan hasilnya juga akan melebihi kandungan yang telah di batasi oleh SNI No.8664 Tahun 2018. Dari segi perbandingan, sukrosa adalah jenis gula yang masuk kedalam kelompok disakarida sedangkan glukosa dan fruktosa adalah monosakarida yang artinya adalah sukrosa adalah gula yang terbentuk dari fruktosa dan glukosa. HMF (*hydorxyl methyl fufural*) berhubungan dengan glukosa, fruktosa, dan juga sukrosa karna madu mengandung kaya akan gula yang sederhana yaitu glukosa, fruktosa, dan sukrosa sehingga ketika 3 senyawa tersebut di tambahkan membuat hasil dari parameter pada pengujian madu HMF (*hydorxy methyl fufural*) menjadi lebih tinggi dan melebihi batas yang telah ditentukan dan memuat madu juga rusak. Contoh gula invert adalah sirup, air gula, dll.

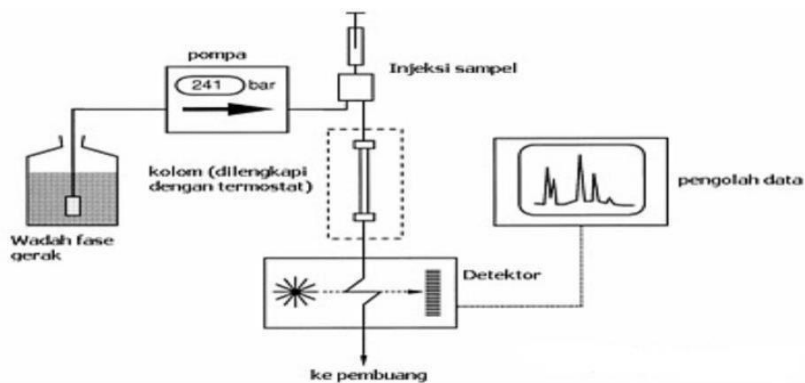
Berdasarkan pada kurva Linearitas Kalibrasi HMF (*hydorxy methyl fufural*) menghasilkan nilai persamaan garis untuk penentuan kadar analit dalam sampel lingkungan secara kuantitatif. dalam sampel dilakukan pengukuran Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) adalah (y) dan area adalah (x) pada HMF (*hydorxy methyl fufural*) Madu diperoleh dengan cara persamaan  $y = 122575x - 43882$  dengan nilai r 0,9991 dengan ini menunjukkan bahwa grafik pada kurva tersebut membentuk garis lurus (*linear*) yang menyatakan hubungan antara kadar larutan kerja termasuk blanko dengan respon yang proporsional dari instrumen.

Pada tabel diatas terdapat beberapa karakteristik dari masing masing sampel madu yaitu pada sampel dengan kode 105 dengan warna sedikit kecoklatan, aroma khas dan memiliki bentuk yang kental. Pada kode L.034 berwarna putih agak keruh dengan aroma khas dan bentuk kental, untuk yang terakhir adalah kode L.035 memiliki warna putih keruh sekali dengan aroma khas dan juga bentuknya kental.

Kadar HMF dapat menjadi indikator kerusakan madu oleh pemanasan yang berlebihan atau karena penambahan gula invert yang merupakan tambahan glukosa dan fruktosa yang menghasilkan hidrolisis

sukrosa dan hal tersebut membuat madu rusak karna ketika hasil dari hidrolisis glukosa dan fruktosa yang awalnya positif namun terdapat putaran optis yang menurun sehingga yang awalnya positif berubah menjadi negatif setelah di hidrolisis sempurna (Winarno,1982). Semakin lama penyimpanan menyebabkan kadar HMF pada madu semakin tinggi (White, 1994). Kenaikan kadar HMF juga disebabkan oleh suhu penyimpanan. Data ini didukung oleh hasil penelitian Almayanthi (1998) yang menunjukkan bahwa kadar HMF madu yang disimpan pada suhu 28°C lebih tinggi dibandingkan pada suhu 3°C dan 5°.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) merupakan salah satu teknik kromatografi untuk zat cair yang biasanya disertai dengan tekanan tinggi. Seperti teknik kromatografi pada umumnya, HPLC berupaya untuk memisahkan molekul berdasarkan perbedaan *afinitasnya* terhadap zat padat tertentu. Cairan yang akan dipisahkan merupakan fasa cair dan zat padatnya merupakan fasa diam (*stationer*). Teknik ini sangat berguna untuk memisahkan beberapa senyawa sekaligus karena setiap senyawa mempunyai afinitas selektif antara fasa diam tertentu dan fasa gerak tertentu. Instrumental Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) terdiri dari: fase gerak, pompa alat untuk memasukkan sampel (tempat injeksi), kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, dan suatu komputer atau integrator atau perekam(Ardianingsih,2009).



Gambar 2.9 KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) (Meyer,2004)

Prinsip kerja KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) adalah suatu teknik analisis kromatografi dengan menggunakan tekanan tinggi yang berguna untuk pemisahan ion atau molekul terlarut dalam suatu larutan. Dalam metode KCKT (*kromatografi cair kinerja tinggi*) digunakan untuk pemisahan ion karena terdapat kepolarannya contohnya air dan minyak tidak akan pernah menyatu dan berubah warna menjadi 1 warna saja dikarenakan bersifat polar nonpolar. Madu dapat dipisahkan oleh ion dan dapat menyatu dengan aquades atau air karena madu mengandung kadar air didalam nektarnya yaitu sebesar 22% yang dipengaruhi oleh kelembaban lingkungan yang ada. Teknik ini berkembang untuk mengatasi kelemahan-kelemahan pemisahan pada kromatografi gas, seperti senyawa yang relatif tidak tahan panas dan senyawa yang tidak volatil. KCKT berdasarkan kepolaran kolomnya dibagi menjadi dua, yaitu fase normal dan terbalik. Kromatografi fase normal menggunakan fase diam lebih polar daripada fase gerak, sedangkan pada kromatografi fase terbalik, fase gerak lebih polar daripada fase diam (Charde dkk, 2014).

Adapun cara untuk menguji HMF (*hydroxy methyl fulfural*) pada Madu dapat dilakukan dengan pengujian kuantitatif menggunakan KCKT (*Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*), kelarutan madu sangat baik dalam air sehingga proses preparasi untuk pengujian HMF pada madu dilakukan dengan melarutkan sampel madu ke dalam air. Sebelum madu dilarutkan, sampel madu terlebih dahulu di awaudarakan selama 30 menit atau sampai gelembung udara yang terperangkap di dalam madu hilang. Setiap sampel diuji sebanyak 2 (dua) kali (duplo), dari pengujian sampel madu menggunakan alat KCKT (*Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*) diperoleh hasil sebagai berikut:

<b>Nomor Sampel</b>	<b>Kadar Sampel (mg/Kg)</b>	<b>Kadar Sampel rata-rata (mg/Kg)</b>
105.1	436,35	<b>435,65</b>
105.2	434,94	
L.034.1	62,93	<b>62,28</b>
L.034.2	61,64	

L.035.1	-	-
L.035.2	-	-

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa sampel madu dengan kode 105 kadar HMF pada sampel adalah 435,65 mg/kg; sampel madu dengan kode L.034 kadar HMF pada sampel adalah 62,28 mg/kg sedangkan sampel madu dengan kode L.035 kadar HMF pada sampel adalah tidak terdeteksi. Sampel madu dengan kode 105 dan L.034 tidak memenuhi syarat(TMS) karna telah melebihi batas persyaratan Berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018. Hal tersebut menunjukkan telah terjadi kerusakan pada sampel madu sehingga madu tersebut memiliki kualitas yang kurang baik dan kerusakan madu tersebut biasanya di sebabkan oleh pemanasan madu setelah di proses penyimpanan yang kurang baik. sedangkan untuk sampel dengan kode L.034 Memenuhi Syarat (MS) karna hasil dari madu tersebut tidak terdeteksi atau dapat disimpulkan hasilnya adalah 0. Tidak terdeteksi atau hasilnya 0 karna memiliki masalah pada alat kolom sehingga hasilnya tidak terdeteksi.

## 2.7. kesimpulan

Dari penelitian ini terdapat beberapa yang dapat disimpulkan yaitu :

- 1) Sesuai dengan penelitian di atas memiliki 7 metode yaitu dalam fase gerak, preparasi larutan Sampel Uji, larutan baku pembanding, larutan Baku Induk, larutan Baku Antara, Larutan Baku Kerja dan juga Metode KCKT(*kromatografi cair kinerja tinggi*)
- 2) perbandingan kadar HMF (*hydroxyl methyl fulfural*) pada madu dengan glukosa, sukrosa dan fruktosa dapat disimpulkan sukrosa adalah jenis gula yang masuk kedalam kelompok disakarida sedangkan glukosa dan fruktosa adalah monosakarida yang artinya adalah sukrosa adalah gula yang terbentuk dari fruktosa dan glukosa. artinya penambahan glukosa, fruktosa dan sukrosa akan membuat madu menjadi berbeda atau akan rusak pada saat pemanasan, maka dari itu kemungkinan kadar HMF(hydroxyl methyl fulfural) madu yang tidak memenuhi syarat sesuai ketentuannya kemungkinan tercampur oleh gula invert.
- 3) Hasil dari HMF(hydroxyl methyl fulfural) Sampel Madu menggunakan KCKT(*kromatografi cair kinerja tinggi*) memiliki Hasil dengan kode 105 kadar HMF pada sampel adalah 435,65 mg/kg; sampel madu dengan kode L.034 kadar HMF pada sampel adalah 62,28 mg/kg sedangkan sampel madu dengan kode L.035 kadar HMF pada sampel adalah tidak terdeteksi. Berdasarkan SNI No. 8664 Tahun 2018 batas maksimal HMF pada madu adalah 40 mg/kg, maka dapat disimpulkan bahwa sampel dengan kode 105 dan L.034 Tidak Memenuhi Syarat (TMS) sedangkan untuk sampel dengan kode L.035 Memenuhi Syarat(MS). Maka dari itu hanya kode dengan L.035 yang dapat dikonsumsi oleh masyarakat karna telah memenuhi syarat berdasarkan ketentuan SNI No. 8664 Tahun 2018.



## DAFTAR PUSTAKA

Adji, suranto.,2004. Khasiat dan Manfaat madu hermal. Agromedia Pustaka Jakarta.

Adrian, R., 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Sifat Kimia dan Sifat Fisika dari Madu Asli Dengan Madu yang dijual di pasaran Medan. (Skripsi). FMIPA USU, Medan.

Almayanthy, D. 1998. Kualitas madu randu pada suhu penyimpanan yang berbeda. Skripsi. Fakultas Peternakan, IPB. Bogor.

Amalia, L., 2016. Karakteristik Fisiokimia Madu Multiflora Asal Riau Serta Efektivitasnya Terhadap *Escherechia coli* dan *staphylococcus aureus*. (Skripsi). Institut Pertanian bogor, Bogor.

Badan Standarisasi Nasional, 2013. Madu. SNI 3545 : 2013. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.

Bogdanov, S., K. Ruoff and Persano. 2004. Physico-Chemical Methos For The Characterisation Of Unifloral Honeys. A review, apid., 35 (2) : 4-17

Kowalski S. Lukasiewicz M, Chodak DA, et al. 2013. 5-Hydroxymethyl-2-furfural-heat-induced formation occurrence in food and biotransformation; A review, j. food.

RATNAYANI, K.; DWI ADHI S., N. M. A.; GITADEWI, I G. A. M. A. S.. PENENTUAN KADAR GLUKOSA DAN FRUKTOSA PADA MADU RANDU DAN MADU KELENGKENG DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR

KINERJA TINGGI. Jurnal Kimia (journal of chemistry), [S.l.], nov. 2012.

ISSN 2599-2740. Available at:

<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jchem/article/view/2714>

Rohmi, Anam. H., Andrianto, M.R., 2016. Uji Mutu Mikrobiologis pada Kemasan yang Beredar di Kecamatan Cakranegara. Jurnal Analisis Kesehatan, 1(2), 153-160.

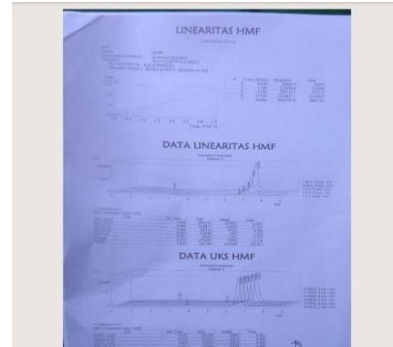
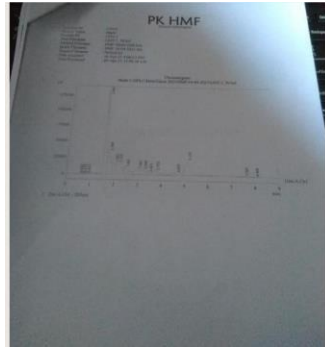
Sujatmaka, 1988, Menghasilkan Madu Berkualitas Tinggi, Trubus, 4(I) : 24- 25

Standar Nasional Indonesia (SNI). (2018). Madu (SNI 8664 : 2018). Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.

Sutami, A., 2003, Pengaruh waktu Penyimpanan dalam refrigerator terhadap komposisi kimia madu asli dan madu palsu. Skripsi Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan.

Zakaria. 2012. Analisis Kadar HMF ( Hidroxy Methyl Fulfural) Pada Madu Bone. Bone: STAIN Watampone.

## LAMPIRAN



### Hasil Pengukuran

Nomor Sampel	Berat Wadah	Berat Wadah + Sampel	Faktor Pengenceran	Respon Puncak
105.1	55,9116	66,0505	100	5379012
105.2	53,1440	63,3455	100	5394860
L.034.1	54,0540	64,0685	100	728555
L.034.2	55,0134	65,1411	100	721345
L.035.1	57,5037	67,6045	100	-
L.035.2	54,0530	64,0677	100	-

**Cara Perhitungan Kadar HMF (*hydroxyl methyl fulfural*)  
Sampel Madu Persamaan regresi linier**

$$Y = bx + a$$

$$y = 122575 x - 43882$$

$$\text{Intercept} = -43882$$

$$\text{Slope} = 122575$$

**Konsentrasi HMF Pada Sampel Madu =**

$$C_{sp} = \text{Respon Puncak} - \text{Intercept}$$

$$\text{Baku HMF/Slope Baku HMF}$$

$$\text{Kadar HMF (mg Kg)} = C_{sp}W \times F$$

Dimana:

C<sub>sp</sub> : Konsentrasi HMF dalam Sampel

F : Faktor Pengenceran

W : Penimbangan (gram)

Perhitungan Sampel 1 (105.1)

$$C_{sp} = (5379012 - (-43882))/122575$$

$$C_{sp} = 44,24$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (C_{sp} \times F)/W$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (44,24 \times 100)/10,1389 = 436,35 \text{ mg/Kg}$$

**Perhitungan Sampel 1 (105.2)**

$$C_{sp} = (5394860 - (-43882))/122575$$

$$C_{sp} = 44,37$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (C_{sp} \times F)/W$$

$$\text{Kadar HMF pada Sampel} = (44,37 \times 100)/10,1389 = 434,94 \text{ mg/kg}$$

**Perhitungan Sampel II (L.034. 1)**

$$C_{sp} = (728555 - (-43882))/122575$$

$$C_{sp} = 6,30$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (C_{sp} \times F)/W$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (6,30 \times 100)/10,1389 = 62,93 \text{ mg/kg}$$

**Perhitungan Sampel II (L.034. 2)**

$$C_{sp} = (721345 - (-43882)) / 122575$$

$$C_{sp} = 6,30$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (C_{sp} \times F) / W$$

$$\text{Kadar HMF dalam Sampel} = (6,24 \times 100) / 10,1389 = 61,64 \text{ mg/kg}$$

**Perhitungan Sampel III (L.034. 1)**

Kadar HMF dalam Sampel = Tidak Terdeteksi

**Perhitungan Sampel III (L.034. 1)**

Kadar HMF dalam Sampel = Tidak Terdeteksi

### Hasil Perhitungan Sampel

Nomor Sampel	Bobot Sampel (gram)	Respon Puncak	Faktor Pengenceran	Konsentrasi Sampel (Csp)	Kadar Sampel (mg/Kg)
105.1	10,1389	5379012	100	44,24	436,35
105.2	10,2015	5394860	100	44,37	434,94
L.034.1	10,0145	728555	100	6,30	62,93
L.034.2	10,1277	721345	100	6,24	61,64
L.035.1	10,1008	-	100	-	-
L.035.2	10,0147	-	100	-	-

