

#### 4. DETEKSI PEMALSUAN DAN AUTENTIKASI SARANG WALET

Sarang walet yang dipalsukan menjadi suatu permasalahan yang cukup berbahaya apabila nantinya akan dikonsumsi oleh manusia. Permasalahan tersebut, menuntut adanya perkembangan mengenai deteksi pemalsuan dan tindakan autentikasi sebagai bentuk penjaminan kualitas serta keaslian sarang walet. Metode autentikasi dan deteksi pemalsuan sebenarnya sudah dilakukan terlebih dahulu dengan cara yang sangat sederhana dan kini telah banyak mengalami perkembangan seiring dengan adanya perkembangan teknologi .

Menurut Leh (2001), deteksi pemalsuan dan metode autentikasi sederhana dilakukan dengan melakukan pengamatan secara sensori menggunakan panca indera yakni untuk sarang yang dipalsukan mempunyai karakteristik lebih mudah berjamur apabila dibiarkan selama beberapa hari dalam ruang lembab, tidak bersifat semi transparan, bertekstur kasar dan mengeluarkan bunyi retak saat terjadi benturan.

Kelemahan dari deteksi pemalsuan dan metode autentikasi sederhana tersebut membutuhkan waktu yang lama dan membutuhkan proses yang panjang serta melelahkan apabila dengan menggunakan sampel dalam jumlah yang banyak. Sehingga, saat ini telah dikembangkan metode serta instrumen yang lebih efisien dalam waktu bila dibandingkan metode yang sederhana seperti spektroskopi, kombinasi beberapa metode dan analisis thermal yang dapat disesuaikan serta kelemahan dan kelebihan penggunaan metode tersebut. Berikut akan dipaparkan mengenai penjelasan berbagai macam metode yang pada umumnya digunakan dalam mendeteksi tindakan *adulteration* dan *authentication* dalam sarang walet.

Tabel 4. *Adulterant*, proses penambahan *adulterant*, dan metode deteksi pemalsuan pada sarang walet

No	<i>Adulterant</i>	Persiapan sampel	Pemalsuan sampel	Metode Deteksi	Referensi
1.	Sukrosa, glukosa, kolagen laut dan Monosodium glutamat dalam bentuk larutan konsentrasi 10%	Sampel dikumpulkan, ditimbang dan direndam dengan 10% larutan <i>adulterant</i> lalu disaring, dibilas dengan aquades dan dikeringkan selama 3 hari dalam suhu kamar 24°C dan kelembapan relatif sekitar 50%.	1 gram sarang walet direndam dalam 50 mL larutan <i>adulterant</i> dengan konsentrasi 10% selama semalam	Spektroskopi raman	(Shim <i>et al.</i> , 2016)
2.	Rumput laut merah, karaya gum, dan jamur tremela	Sampel dikumpulkan dari berbagai lokasi Malaysia dan Indonesia	Sampel dicampur dengan 2% dan 10% bahan <i>adulterant</i> , ditetes dengan asam nitrat sebanyak 3 tetes dan dilakukan pengamatan selama 20 detik.	Uji xanthoprotein	(Marcone, 2005)
3.	Jelly fungus, kulit babi agar yang diklaim dalam sampel sarang walet asli instan yang direndam dalam larutan gula batu dalam botol	Sampel instan yang di autentifikasi sebagai produk palsu (agar, jelly fungus, kulit babi) direndam dalam larutan gula batu di kemasan botol.	Sampel berupa produk sarang walet asli palsu direndam dalam larutan gula batu di kemasan botol.	GC-MS <i>environment scanning electron microscopy</i> (ESEM) dan <i>immunoblotting</i>	(Yang <i>et al.</i> , 2014)
4.	Pati, agar, karagenan, sodium alginat, putih telur dan kulit babi	Sampel dikeringkan lalu digiling hingga menjadi bubuk halus	Dilakukan pencampuran bubuk <i>adulterant</i> , bubuk sarang walet dan kalium bromida dengan perbandingan 1:1:100. Lalu, dicetak berbentuk cakram	FTIR	(Hamzah <i>et al.</i> , 2013)

dengan tekanan tinggi 10 ton selama 5 menit.

5.	Putih telur, jeli, karaya gum, rumput laut, bihun, dan soun	TA	TA	FTIR	(Ketty <i>et al.</i> , 2013)
6.	Jamur tremela, agar, kulit babi, dan putih telur	Dihancurkan hingga menjadi bubuk dan dibuat campuran dengan 6 perlakuan konsentrasi (1%, 5%, 10%, 30%, 50% dan 100% b/b).	Dihaluskan lalu dicampurkan dengan bubuk sarang walet.	FTIR	(Guo <i>et al.</i> , 2018)
7.	Garam (Natrium klorida), gula (sukrosa), dan Monosodium glutamat	TA	TA	FTIR	(Set, 2012)
8.	Monosodium glutamat, glukosa, sukrosa dan kolagen	Dicuci lalu disimpan dalam kamar dengan suhu 24°C dan kelembapan relatif 50%.	Sampel sarang walet asli direndam dalam larutan <i>adulterant</i> konsentrasi 1, 2, 5, 10% selama 1 malam.	Analisis thermal dengan Thermogram DTG	(Shim <i>et al.</i> , 2017)
9.	Putih telur, jamur putih, jeli, & isi perut ikan	sampel dibersihkan lalu digiling secara terpisah dengan menggunakan mortar & disaring melalui filter baja 1 mm	TA	Elektroforesis gel & kromatografi cair	(Hun <i>et al.</i> , 2016b)

Catatan : TA : Tidak ada/Tidak dijelaskan

## 4.1 Metode Spektroskopi

Metode spektroskopi didasarkan pada pembuatan sidik jari molekul bahan kimia yang ada pada sampel yang digunakan sebagai identifikasi dan kuantifikasi (Lee *et al.*, 2017). Instrumen yang tercakup terdiri atas FTIR (Set, 2012 dan Hamzah *et al.*, 2013) dan spektroskopi raman (Shim *et al.*, 2016 dan Shim & Lee, 2017). Kelebihan dari metode spektroskopi yakni dalam pengoperasiannya cepat (tidak membutuhkan waktu yang lama sekalipun sampel yang digunakan banyak), sedangkan untuk kelemahannya hanya dapat melakukan analisis secara kualitatif (Lee *et al.*, 2017).

### 4.1.1 *Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)*

Analisis FTIR merupakan salah satu metode yang digunakan dalam identifikasi sarang walet. Metode ini merupakan metode yang cepat dan efektif untuk mengidentifikasi pemalsuan pada sarang walet (Hamzah *et al.*, 2013). Metode FTIR dibagi menjadi 2 yakni FTIR *portable* dan FTIR konvensional (Lee *et al.*, 2017) dan masing-masing mempunyai kelebihan serta kekurangan. Prinsip FTIR yakni interaksi antara energi dan materi. Infrared yang melewati celah ke sampel, kemudian beberapa *infrared* diserap oleh sampel dan yang lainnya ditransmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar infrared lolos ke detector dan sinyal terukur kemudian dikirim ke computer dan direkam dalam bentuk puncak (Sari & Fajri, 2018).

Perbedaan antara kedua instrumen metode spektroskopi tersebut terletak pada perlakuan pendahuluan sampel, dimana FTIR konvensional (Guo *et al.*, 2018) membutuhkan adanya perlakuan pendahuluan sampel berupa penghalusan sampel yang kemungkinan dapat merusak komponen yang ada dalam sarang walet baik asli maupun yang palsu. Sedangkan untuk FTIR *portable* (Set, 2012 dan Ketty *et al.*, 2013), instrumen spektroskopi terbaru, yang tidak membutuhkan perlakuan berupa penghalusan sampel, praktis namun hasil penelitian tidak spesifik seperti FTIR konvensional yang menggambarkan gugus fungsi dan hanya berpacu pada bilangan gelombang yang ditampilkan.

Pada umumnya, metode FTIR menampilkan hasil asam amino, protein dan karbohidrat berdasarkan gugus fungsinya (Chua & Zukefli, 2016). Keaslian sarang walet yang diujikan dengan menggunakan metode FTIR digambarkan melalui perbedaan bilangan gelombang, serta intensitas puncak relatif dari puncak serapan (Shi *et al.*, 2017).

Spektrum keaslian sarang walet asli dapat dilihat berdasarkan bilangan gelombang pada protein, karbohidrat dan lipid. Pita protein terletak pada bilangan gelombang 1640 dan 1550  $\text{cm}^{-1}$ , pita karbohidrat mendekati bilangan gelombang 1030  $\text{cm}^{-1}$  dan pita lipid terletak pada bilangan gelombang 2930  $\text{cm}^{-1}$  ketiga pita tersebut dapat dijadikan sebagai acuan untuk membedakan sarang walet asli dengan sarang walet yang dipalsukan (Ketty *et al.*, 2013).

Penelitian (Set, 2012) menyatakan bahwa, sarang walet asli menggambarkan pita protein amida I,II, dan III secara keseluruhan hanya saja untuk pita selulosa tidak terdeteksi keberadaanya dalam sarang walet asli. Penelitian tersebut, menggunakan beberapa bahan *adulterant* seperti monosodium glutamat, golongan garam (Natrium klorida), golongan gula (sukrosa) dan kalsium karbonat.

*Adulterant* berupa kalsium karbonat menggambarkan adanya bilangan gelombang 1410  $\text{cm}^{-1}$  dan 873  $\text{cm}^{-1}$  dengan gugus fungsi berupa karbonat. Selanjutnya, *adulterant* natrium klorida tergambar bentuk pita positif di pita amida I,II, dan III dan spektrum yang terbentuk cenderung berada pada range 1500  $\text{cm}^{-1}$ . *Adulterant* sukrosa terbentuk bilangan gelombang 1050  $\text{cm}^{-1}$ ·980  $\text{cm}^{-1}$  dan 905  $\text{cm}^{-1}$  dan *adulterant* yang terakhir berupa monosodium glutamat yang tergambar adanya spektrum doublet tumpang tindih (tak beraturan dan menumpuk pada 1 spektrum) (Set, 2012).

Penelitian Hamzah *et al.*, (2013), juga menggunakan FTIR konvensional untuk mendeteksi pemalsuan sarang walet dengan agar, pati, sodium alginate, karagenan, kulit babi dan putih telur. Penelitian ini menggunakan campuran antara *adulterant* dengan bubuk sarang walet kualitas paling tinggi dalam pengidentifikasiannya.

Tabel 5. Gugus Fungsi dan bilangan gelombang antara sarang walet asli asli dan campuran sarang walet asli dengan *adulterant*

No	Gugus Fungsi	Sarang walet asli asli	Pati + sarang walet asli	Agar + sarang walet asli	Karagenan + sarang walet asli	Sodium alginate + sarang walet asli	Putih telur + sarang walet asli	Kulit babi + sarang walet asli
1.	O-H stretch	3381 cm <sup>-1</sup>	3349,6 cm <sup>-1</sup>	3390,7 cm <sup>-1</sup>	3390,4 cm <sup>-1</sup>	3431,0 cm <sup>-1</sup>	3295,1 cm <sup>-1</sup>	3434,9 cm <sup>-1</sup>
2.	C=CH	-	-	-	-	-	-	3009,3 cm <sup>-1</sup>
3.	CH <sub>3</sub> stretch	2931,4 cm <sup>-1</sup>	2931,6 cm <sup>-1</sup>	2934,0 cm <sup>-1</sup>	2963,3 cm <sup>-1</sup>	2933,6 cm <sup>-1</sup>	2961,5 cm <sup>-1</sup>	2926,6 cm <sup>-1</sup>
4.	C=C Stretch	2131,1 cm <sup>-1</sup>	2139,1 cm <sup>-1</sup>	2154,5 cm <sup>-1</sup>	2114,1 cm <sup>-1</sup>	2134,8 cm <sup>-1</sup>	2131,3 cm <sup>-1</sup>	2131,2 cm <sup>-1</sup>
5.	Ester C=O stretch	-	-	-	-	-	-	1742,4 cm <sup>-1</sup>
6.	C=O stretch	1643,3 cm <sup>-1</sup>	1646,4 cm <sup>-1</sup>	1647,1 cm <sup>-1</sup>	1654,5 cm <sup>-1</sup>	1639,7 cm <sup>-1</sup>	1649,8 cm <sup>-1</sup>	1652,1 cm <sup>-1</sup>
7.	N-H (bend)	1544,5 cm <sup>-1</sup>	-	-	1535,7 cm <sup>-1</sup>	-	1535,4 cm <sup>-1</sup>	1540,0 cm <sup>-1</sup>
8.	COOH bend/stretch	1443,9 cm <sup>-1</sup>	1419,9 cm <sup>-1</sup>	1437,3 cm <sup>-1</sup>	1441,0 cm <sup>-1</sup>	1414,8 cm <sup>-1</sup>	1448,6 cm <sup>-1</sup>	1451,5 cm <sup>-1</sup>
9.	CH=O	1399,6 cm <sup>-1</sup>	-	-	-	-	1395,5 cm <sup>-1</sup>	1399,1 cm <sup>-1</sup>
10	C-N	1317,8 cm <sup>-1</sup>	1371,5 cm <sup>-1</sup>	1377,0 cm <sup>-1</sup>	-	1319,4 cm <sup>-1</sup>	1314,7 cm <sup>-1</sup>	1323,4 cm <sup>-1</sup>

11	C-O	1034,8 cm <sup>-1</sup>	1019,7 cm <sup>-1</sup>	1071,8 cm <sup>-1</sup>	1125,6 cm <sup>-1</sup>	1028,5 cm <sup>-1</sup>	1072,8 cm <sup>-1</sup>	1027,1 cm <sup>-1</sup>
----	-----	-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------

---

Sumber : Hamzah *et al.*, 2013.



Dapat dilihat pada Tabel 5. bahwa perbedaan antara sarang walet asli dengan sarang walet palsu dari bilangan gelombang dan gugus fungsinya. Untuk sarang walet asli tidak mempunyai gugus fungsi C=CH dan ester C=O stretch. Sarang walet yang dipalsukan dengan kulit babi secara keseluruhan mempunyai gugus fungsi C=CH serta gugus fungsi C-N yang nilai bilangan gelombangnya lebih besar bila dibandingkan dengan sarang walet asli. Bilangan gelombang yang terbaca pada sarang walet palsu di setiap gugus fungsi hampir mirip dengan sarang walet asli dikarenakan adanya beberapa kemiripan kandungan komponen antara sarang walet dengan *adulterant* terutama pada kandungan asam aminonya (Lee et al., 2017).

Pada Tabel 5 juga dapat dilihat bawa sarang walet asli dengan sarang walet yang dicampurkan dengan *adulterant* berupa kulit babi mempunyai kesamaan bilangan gelombang pada gugus fungsi CH=O, hal ini disebabkan karena adanya kesamaan komponen antara sarang walet dengan kulit babi. Selain itu juga campuran sarang walet dengan *adulterant* kulit babi menunjukkan bilangan gelombang pada gugus fungsi ester C=O stretch dikarenakan adanya kandungan asam amino yang terbaca pada gugus fungsi (Lee et al., 2017).

Penelitian dari Set (2012), menggunakan FTIR *portable* yang dalam proses pendeteksian tidak membutuhkan penghancuran sampel hanya langsung ditempelkan pada sampel sarang walet hal ini lebih praktis bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hamzah *et al.*, (2013) yang menggunakan FTIR konvensional yang mengharuskan adanya penghancuran sampel sebagai perlakuan pendahuluan.

Penelitian keduanya, mampu mendeteksi pemalsuan sarang walet yang dilihat dari adanya perbedaan bilangan gelombang antara sarang walet asli dengan yang palsu serta gugus fungsi yang terbaca sebagai bentuk hasil pendeteksian yang tepat dan valid.

#### **4.1.2 Spektroskopi Raman**

Spektroskopi raman merupakan teknik yang menjelaskan vibrasi molekul yang berasal dari hamburan berupa sebagai kecil cahaya yang dihasilkan dari partikel-partikel yang terkandung dalam sampel. Raman spektroskopi memiliki beberapa kelebihan seperti memiliki resolusi spasial 1  $\mu\text{m}$  yang dapat difokuskan pada titik yang mungkin terdapat pada sampel sehingga memudahkan untuk mengetahui adanya kontaminasi, kotoran atau partikel sejenisnya yang tidak diharapkan pada sampel, dapat digunakan pada sampel buram dan tidak terpengaruh oleh



kelembapan dalam sampel. Penggunaan spektroskopi raman digunakan untuk mendeteksi keberadaan bahan *adulterant* tipe II (sukrosa, glukosa, monosodium glutamat dan *hydrolysed marine collagen*) pada sarang walet spesies *Aerodramus fuciphaga*. Hasil penelitiannya membuktikan bahwa, metode spektroskopi raman dapat mendeteksi bahan *adulterant* tipe 2 dengan adanya kemunculan garis baru yang terdeteksi dalam metode spektroskopi raman yang dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Spektra raman *adulterant* tipe II

<i>Adulterant</i> tipe II	Rentang frekuensi ( $\text{cm}^{-1}$ ) dimana spektra raman berbeda secara signifikan dengan sarang walet asli	Garis baru ( $\text{cm}^{-1}$ )
glukosa	1425-1300, 1160-1050, 925-780	1115 (vs), 1060 (m), 900 (s), 825 (s)
sukrosa	1425-1300, 1165-1050, 925-780	1135 (m), 830 (s)
Kolagen terhidrolisi	1425-1300, 1130-1050, 960-890	1406 (w), 1323 (m), 1100 (m), 920 (m)
Monosodium glutamat	1430-1300, 970-910	1410 (m), 1341 (m), 940 (m)

Sumber : (Shim *et al.*, 2016)

Pada Tabel 6. Ditunjukkan terjadi peningkatan berat awal sarang yang disebabkan adanya penyerapan larutan *adulterant* ke dalam struktur hidrogel sarang walet. Selain itu, hasil menunjukkan munculnya garis raman baru yakni intensitas raman pita  $1130 \text{ cm}^{-1}$  pada glukosa dan  $850 \text{ cm}^{-1}$  pada sukrosa dengan gugus CH deformasi. sedangkan untuk spektrum raman sarang walet dengan kolagen laut mempunyai kesamaan spektral sebesar  $1323 \text{ cm}^{-1}$  yang disebabkan adanya kandungan asam amino yang serupa dengan sarang walet asli. Sedangkan untuk spektrum raman sarang walet dengan monosodium glutamat mempunyai kesamaan sebesar  $1341 \text{ cm}^{-1}$  karena tidak ada pita protein atau sakarida yang kuat dalam monosodium glutamat.

Penelitiannya Shim *et al.*, (2016), juga menggunakan bahan *adulterant* tipe I, yang menggambarkan pengelompokan berdasarkan kandungan dari tiap bahan *adulterant* seperti

polisakarida (berupa jamur tremela, agar, dan *hydrolysed marine collagen*) dengan penanda tanpa adanya ikatan pita amida dan kelompok polipeptida (berupa kulit babi, dan isi perut ikan) dengan penanda adanya ikatan pita amida yang kuat. Penelitian tersebut, juga memaparkan bahwa spektroskopi raman dapat menjadi peluang metode pelengkap spektroskopi FTIR dengan hasil pendeteksian berupa kemunculan garis baru sebagai bentuk adanya pemalsuan, namun dalam pendeteksiannya sulit menjelaskan gugus fungsi yang terbaca pada bilangan gelombang serta garis baru yang terbentuk (Shim *et al.*, 2016).

#### 4.2 Metode Analisis thermal

Metode analisis thermal digunakan untuk mengidentifikasi dan mengautentikasi sarang walet yakni analisis termal. Penggunaan analisis thermal menjadi metode pertama dalam mempelajari karakteristik dekomposisi termal sarang walet, *adulterant* tipe I, campuran antara sarang walet dengan *adulterant* tipe II (Shim *et al.*, 2017). Metode analisis termal yang digunakan dalam identifikasi dan autentifikasi pemalsuan sarang walet yakni dengan menggunakan metode TG/DTG (Shim *et al.*, 2017).

Metode analisis thermal TG (*transition glass*) /DTG (*differential thermal glass*) merupakan metode yang digunakan untuk mengukur perubahan transisi fisik (ke fase gas) dan dekomposisi suatu material yang diukur sebagai berat kehilangan massa bahan (Chua *et al.*, 2014). Kelebihan analisis thermal yakni hanya membutuhkan sampel dengan ukuran yang kecil dan jumlah yang tidak terlalu banyak.

Penelitian Shim *et al.*, (2017), menyebutkan bahwa penggunaan suhu pada analisis thermal menghasilkan kenaikan DTG secara maksimal pada suhu yang lebih rendah dengan *adulterant* berupa rumput laut, agar, dan jamur tremela yang merupakan polisakarida bila dibandingkan dengan kulit babi dan *fish bladder* yang sebagian besar merupakan polipeptida.

Berdasarkan kurva DTG disebutkan bahwa sarang walet mempunyai kadar air total sebesar 12,6%. Peningkatan suhu mempengaruhi pergerakan kurva campuran antara sarang walet dengan *adulterant*. Pada suhu 200-220<sup>0</sup>C terjadi dekomposisi dan peleburan pada sampel. Kurva sarang walet yang dicampur dengan monosodium glutamat relatif stabil (tidak banyak mengalami perubahan fase atau bentuk) pada suhu 200-300<sup>0</sup>C tidak seperti dengan kurva campuran antara sarang walet dengan glukosa atau sarang walet dengan sukrosa. Untuk monosodium glutamat pada

suhu 300-350<sup>0</sup>C terbentuknya gelombang pada kurva yang disebabkan adanya peningkatan konsentrasi monosodium glutamat yang dikaitkan dengan dekomposisi glutamat yang terhidrasi.

Tabel 7. Perbandingan kurva DTG antar *adulterant* tipe II

<i>Adulterant</i> tipe II	Rentang suhu ( <sup>0</sup> C) kurva DTG berbeda antara sarang walet asli palsu dengan sarang walet asli asli
glukosa	175-220 (garis baru) ; 250-350 (penurunan tinggi pita)
sukrosa	185-250 (garis baru) ; 250-350 (penurunan tinggi pita)
kolagen	200-240 (garis baru) ; 250-350 (pemanjangan pita)
Monosodium glutamat	175-220 (garis baru): 250-350 (pemanjangan pita dengan gelombang)

Sumber : (Shim *et al.*, 2017).

Pada tabel diatas, dinyatakan bahwa pada suhu 220<sup>0</sup>C dan 350<sup>0</sup>C terjadi pembentukan garis baru dan penurunan tinggi pita pada glukosa dan sukrosa. Sedangkan untuk kolagen, terbentuk pita baru dan pita memanjang pada suhu 240-350<sup>0</sup>C. Untuk monosodium glutamat, terbentuk pita baru dan pita yang semakin melebar dengan sedikit gelombang pada kisaran suhu 220-350<sup>0</sup>C (Shim *et al.*,2017).

Analisis thermal dalam pendeteksian pemalsuan sampel sarang walet merupakan metode terbaru dengan menggunakan media berupa panas. Panas yang dihasilkan dapat mengubah dekomposisi kimia pada *adulterant* berupa kehilangan massa. Pada penelitiannya, menyebutkan bahwa tidak adanya perlakuan pendahuluan pada sampel serta metodenya cocok digunakan untuk sampel dalam jumlah yang kecil.

#### 4.3 Kombinasi beberapa metode

Metode kombinasi beberapa metode merupakan metode yang terdiri atas berbagai macam pengujian (yang terdiri dari 2 hingga lebih pengujian) yang di gabungkan dengan tujuan untuk dapat menganalisis secara cepat, tepat dan akurat (Dai *et al.*, 2021). Metode gabungan ini merupakan metode yang bukan hanya saja dapat mengidentifikasi pemalsuan sarang walet tetapi juga dapat menjadi suatu metode andalan untuk mengautentikasi sarang walet lanjutan melalui pengujian selanjutnya dalam 1 rangkaian metode.

Pemilihan berbagai pengujian untuk dapat dijadikan dalam 1 metode kombinasi beberapa metode setidaknya mempunyai kualifikasi seperti pengujian berikutnya berkaitan atau dapat memfasilitasi pengujian sebelumnya sehingga tidak adanya hambatan atau kekeliruan dalam hasil yang nantinya dapat memperlambat proses identifikasi dan autentikasi sarang walet (Jamalluddin *et al.*, 2019). Kelebihan dari kombinasi beberapa metode yakni pengujiannya lebih akurat namun kekurangannya dapat menimbulkan rasa bosan dan lelah bagi penguji dikarenakan proses yang cukup panjang untuk mendapatkan hasil dari pengujian autentikasi (Lee *et al.*, 2017).

#### **4.3.1 Uji GC-MS, ESEM dan Immunoblotting**

Metode kombinasi yang pertama terdapat GC-MS, ESEM, dan *Immunoblotting*. Analisis dilakukan dengan pengujian GC-MS terlebih dahulu, hasil dari analisisnya berupa kandungan komponen NANA (*N-Acetylneuraminic acid*) dan kandungan monosa sebagai referensi keaslian sarang walet, lalu dilanjutkan dengan pengujian ESEM yang berguna untuk pengamatan visual dari permukaan sampel sarang walet dan diakhiri dengan *Immunoblotting* dengan sasaran untuk mengamati adanya kandungan EGF (*epidermal growth factor*) yang menjadi komponen utama selain komponen NANA yang ada dalam ekstrak sarang walet (Yang *et al.*, 2014).

Menurut penelitian Yang *et al.*, (2014), gabungan pengujian GC-MS, ESEM dan *Immunoblotting* digunakan untuk pendeteksian pemalsuan dan tindakan autentikasi. Hasil pengujian dengan GC-MS menyatakan bahwa sarang walet yang dipalsukan (dengan agar, jelly fungus dan kulit babi) tidak mempunyai N-Acetyl-D-glucosamine dan N Acetylneuraminic acid dengan struktur yang tampak seperti butiran, sedangkan untuk sarang walet asli mengandung setidaknya 5 komponen monosakarida (D-Mannose, D-Galactose, N-Acetyl-D-galactosamine, N-Acetyl-D-glucosamine dan N Acetylneuraminic acid) dengan struktur yang tampak berjaring.

Hasil mikrograf elektron dari pengujian ESEM menyatakan bahwa sarang walet yang asli memiliki bentuk struktur mikro 3 dimensi dengan bentuk agak mencekung sedangkan sarang walet yang dipalsukan mempunyai bentuk yang berbeda-beda tergantung dari bahan *adulterant* yang digunakan contohnya berbentuk bulat cembung dan memanjang.

Hasil dari pengujian metode kombinasi beberapa metode akhir yakni metode EGF (*epidermal growth factor*) immunoblotting assay, menunjukkan bahwa metode EGF tidak dapat menampilkan hasil deteksi pada sarang walet yang dipalsukan dikarenakan metode ini hanya cocok untuk

mendeteksi sarang walet asli atau disebabkan adanya perbedaan sub-unit EGF pada kulit babi dengan sarang walet asli (Herbst, 2004) dan (Yang *et al.*, 2014).

#### **4.3.2 Gabungan elektroforesis gel dan kromatografi cair**

Metode kombinasi yang kedua merupakan gabungan dari pengujian elektroforesis gel dan kromatografi cair. Analisis dilakukan terlebih dahulu dengan pengujian elektroforesis gel dengan hasil bentuk pita profil protein antara sarang walet dengan bahan *adulterant* lalu dilanjutkan dengan pengujian kromatografi cair dengan hasil analisis perbandingan kandungan asam amino sarang walet (Hun *et al.*, 2016a).

Menurut penelitian (Hun *et al.*, 2016a), gabungan ke-2 pengujian ini digunakan untuk pendeteksian bahan *adulterant* pada sarang walet. Berdasarkan penelitian (Hun *et al.*, 2016a), menyatakan bahwa sarang walet asli mempunyai 9 pita protein pada 30 kDa, 42 kDa, 65 kDa, 98 kDa, 135 kDa dan 245 kDa. Pada *adulterant* jamur putih mempunyai 3 pita profil protein redup pada 22, 35 dan 75 kDa, *adulterant* putih telur mempunyai dua pita profil protein sebagai profil dominan yakni pada 35 dan 75 kDa, dan yang terakhir *adulterant* berupa isi perut ikan yang tidak mempunyai pita profil protein sekalipun telah dilakukannya pengenceran.

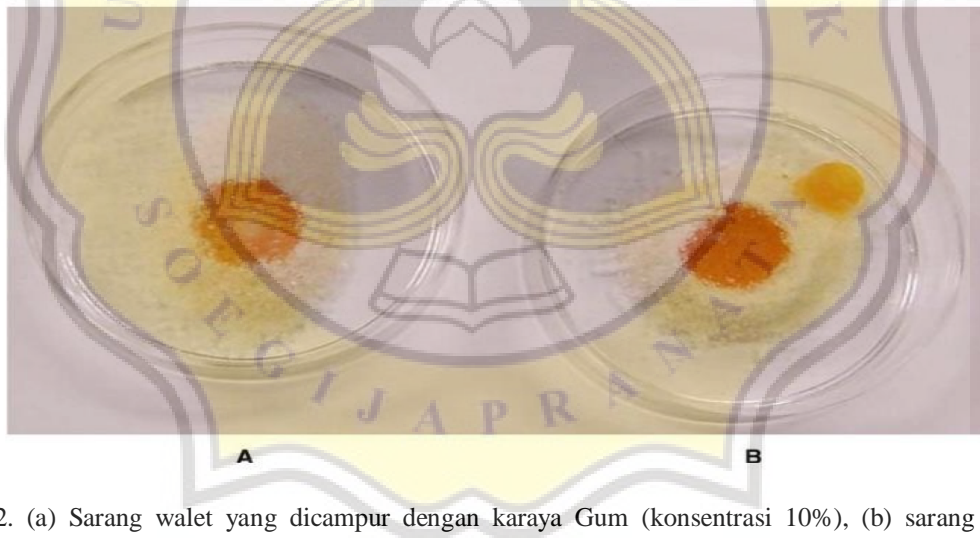
Dilanjutkan dengan pengujian dengan menggunakan kromatografi cair yang berdasarkan pada penetapan kadar dan kandungan komponen asam amino pada sarang walet dan bahan *adulterantnya* yang dijadikan sebagai pembeda antara sarang walet asli dengan bahan *adulterant*. Hasil dari metode kromatografi cair menyatakan bahwa sarang walet asli mempunyai 18 jenis asam amino yakni Val, Met, Cys, Asp, Glu, Ser, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, NH<sub>3</sub>, Tyr, Iso, Leu, Phe dan Lys. Sedangkan pada *adulterant* jamur putih mempunyai kesamaan kandungan NH<sub>3</sub> pada sarang walet, *adulterant* isi perut ikan mengandung 6 jenis asam amino yakni Asp, glu, His, Arg, Pro dan Lys dan *adulterant* putih telur mengandung 16 jenis asam amino dengan Asp, Glu, Leu, dan Lys dalam jumlah besar.

#### **4.4 Uji Asam Xanthoprotein**

Uji asam xanthoprotein merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan asam amino kelompok benzena (berupa tirosin, triptofan, atau fenilalanin) yang terkandung dalam suatu protein pada bahan atau sampel (Marccone, 2005). Uji asam xantoprotein menggunakan reagen berupa asam nitrat pekat yang diteteskan pada sampel. Ketika sampel mengandung cincin benzena,

akan terdapat endapan putih yang semakin lama akan mengeluarkan warna kuning pekat sewaktu dipanaskan. Uji asam xantoprotein juga dapat dipergunakan dalam mengidentifikasi keaslian sarang walet dengan menggunakan beberapa potongan sampel sarang walet dan sarang walet yang diklaim sebagai sarang walet palsu.

Berdasarkan penelitian Marcone (2005), parameter uji *adulterant* dapat melalui uji asam xantoprotein yang dalam cara kerja analisisnya meneteskan asam nitrat pada sampel sarang walet dengan sampel sarang walet yang telah dicampur dengan karaya gum sebanyak 10% yang diletakkan di petridish lalu diamati perubahan warnanya dan dibandingkan. Warna yang timbul antara kedua sampel menunjukkan warna yang hampir sama yakni kuning namun jika diperhatikan dan dibandingkan terdapat perbedaan yang tidak terlalu terlihat mencolok. Untuk sampel yang dipalsukan umumnya mempunyai warna kuning yang tidak terlalu pekat, berbeda dengan sampel sarang walet asli yang memunculkan warna kuning pekat yang artinya sarang walet mengandung komponen asam amino gugus aromatic (seperti triptofan dan tirosin). Warna yang ditimbulkan merupakan hasil reflektor.



Gambar 2. (a) Sarang walet yang dicampur dengan karaya Gum (konsentrasi 10%), (b) sarang walet asli (Marcone,2005)

Menurut Marcone (2005), menyatakan bahwa penggunaan metode uji asam xanthoprotein digunakan untuk membandingkan kandungan protein dengan menggunakan reagen pada sarang walet asli dengan yang palsu. Hasil dari penelitiannya, hanya bergantung pada warna yang dimunculkan dengan mengandalkan panca indera untuk membandingkan perbedaan warna sarang walet asli dengan palsu.