

INTISARI

Perkembangan inovasi dalam pengolahan makanan dan kosmetik telah menghasilkan produk dengan komposisi yang semakin kompleks, termasuk penggunaan gelatin. Penentuan sumber gelatin menjadi penting sesuai amanat Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang jaminan produk halal. Penelitian ini bertujuan mengembangkan dua metode analisis untuk memperoleh hasil yang valid dalam mendeteksi komponen nonhalal, terutama dalam jumlah kecil atau pada produk yang telah mengalami proses pengolahan tinggi. Pendekatan yang digunakan meliputi analisis proteomik berbasis *Untargeted Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS) dan analisis DNA menggunakan *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Metode analisis menggunakan pendekatan proteomik berbasis *untargeted* LC-HRMS dengan mode ionisasi positif digunakan untuk mengidentifikasi peptida *marker* yang potensial dalam membedakan gelatin babi dan gelatin sapi. Analisis diawali dengan ekstraksi enzimatis menggunakan tripsin, yang secara spesifik memotong ikatan peptida. Urutan asam amino dari peptida-peptida diperoleh dengan mencocokkan spektrum *Total Ion Chromatogram* (TIC) dengan *database* FASTA *Sus scrofa* dan *Bos taurus* menggunakan software *Proteome Discoverer*. Analisis gelatin babi dengan RT-PCR menggunakan primer D-Loop 108, yang telah divalidasi sebelumnya. Selanjutnya dilakukan BLAST melalui NCBI untuk mengkonfirmasi urutan sekuens yang diuji dengan *database* yang tersedia. Sebelum diaplikasikan pada sampel pasaran, dilakukan validasi ulang untuk menentukan suhu optimum penempelan primer, mengkonfirmasi spesifitas primer, serta menentukan konsentrasi terkecil DNA gelatin babi yang masih dapat diamplifikasi, linearitas (R^2), prosentase efisiensi (%E) dan koefisien variasi (%CV).

Metode analisis *Untargeted* LC-HRMS berhasil mengidentifikasi peptida *marker*, yaitu 9 peptida *marker* gelatin babi dan 5 peptida *marker* gelatin sapi. Hasil skrining awal menunjukkan adanya sampel pasaran yang terdeteksi mengandung peptida *marker* babi. Namun, temuan ini belum dapat dijadikan dasar pengambilan keputusan karena peptida *marker* harus divalidasi terlebih dahulu. Metode analisis RT-PCR dengan primer D-Loop 108 secara spesifik mampu mengidentifikasi DNA gelatin babi pada suhu penempelan optimum 58,4°C. Hasil validasi ulang telah memenuhi kriteria dan aplikasi pada sampel pasaran menunjukkan tidak ada produk yang mengandung babi. Adanya perbedaan hasil *untargeted* LC-HRMS dengan RT-PCR menunjukkan bahwa pada analisis autentikasi kehalalan sumber gelatin, diperlukan kombinasi dua atau lebih metode dengan pendekatan yang berbeda untuk meningkatkan akurasi hasil.

Kata kunci: produk makanan, kosmetik, gelatin babi, *untargeted* LC-HRMS, *Real Time* PCR.

ABSTRACT

The development of innovation in food and cosmetic processing has produced products with increasingly complex compositions, including the use of gelatin. Determining the source of gelatin is important according to the mandate of Law Number 33 of 2014 concerning the guarantee of halal products. This study aims to develop two analytical methods to obtain valid results in detecting non-halal components, especially in small amounts or in products that have undergone high processing. The approaches used include proteomic analysis based on Untargeted Liquid Chromatography - High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) and DNA analysis using Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

The analytical method using the proteomic approach based on untargeted LC-HRMS with positive ionization mode is used to identify potential marker peptides in distinguishing porcine gelatin and bovine gelatin. The analysis begins with enzymatic extraction using trypsin, which specifically cuts peptide bonds. The amino acid sequence of the peptides is obtained by matching the Total Ion Chromatogram (TIC) spectrum with the FASTA *Sus scrofa* and *Bos taurus* databases using Proteome Discoverer software. Pork gelatin analysis with RT-PCR using D-Loop 108 primers, which have been previously validated. Furthermore, BLAST was performed through NCBI to confirm the sequence sequences tested with the available database. Before being applied to market samples, revalidation was carried out to determine the optimum primer attachment temperature, confirm the primer specificity, and determine the smallest concentration of porcine gelatin DNA that could still be amplified, linearity (R^2), percentage efficiency (%E) and coefficient of variation (%CV).

The untargeted LC-HRMS analysis method successfully identified marker peptides, namely 9 porcine gelatin marker peptides and 5 bovine gelatin marker peptides. Initial screening results showed that there were market samples detected containing porcine marker peptides. However, this finding cannot be used as a basis for decision making because the marker peptides must be validated first. The RT-PCR analysis method with D-Loop 108 primers was specifically able to identify porcine gelatin DNA at an optimum attachment temperature of 58.4°C. The revalidation results have met the criteria and application to market samples showed that there were no products containing pork. The difference in the results of untargeted LC-HRMS with RT-PCR shows that in the analysis of halal authentication of gelatin sources, a combination of two or more methods with different approaches is needed to improve the accuracy of the results.

Key words: food products, cosmetics, porcine gelatin, untargeted LC-HRMS, Real Time PCR