

## Identifikasi Peptida Spesifik Pada Gelatin Babi Menggunakan *Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS)

Ery Nourika Alfiraza  
15/388420/PPA/04859

### INTISARI

Gelatin babi mendominasi pasar daripada gelatin jenis lain, karena gelatin babi mempunyai sifat yang unggul dengan harga yang lebih murah. Hal ini tentu menjadi masalah terutama karena babi merupakan spesies nonhalal yang tidak boleh dikonsumsi oleh masyarakat golongan tertentu, seperti muslim. Pada penelitian ini, dilakukan identifikasi spesies gelatin dengan menggunakan peptida marker spesifik. Secara teoritis, gelatin mengandung kolagen tipe I yang terdegradasi. Analisis pensejajaran menunjukkan bahwa protein kolagen tipe I  $\alpha 1$  dan  $\alpha 2$  dari babi dan sapi tidak identik satu sama lain, sehingga dapat dijadikan dasar untuk diferensiasi spesies pada analisis identifikasi gelatin. Prediksi peptida marker dilakukan *secara in silico* berdasarkan pemotongan tripsin pada protein kolagen tipe I  $\alpha 1$  dan  $\alpha 2$  dari babi dan sapi. Analisis eksperimental dilakukan dengan digesti protein gelatin dengan enzim tripsin pada suhu 37 °C selama 24 jam, dan campuran peptida dianalisis dengan LC-HRMS. Kromatografi dilakukan dengan gradien 90 menit dengan menggunakan kolom C18 Acclaim® PepMap RSLC pada laju alir 0,3  $\mu\text{L}/\text{menit}$ . *Mass Spectrometry* (MS) dioperasikan pada mode full-MS / dd-MS<sup>2</sup>, dimana full-MS dilakukan pada resolusi tinggi dan massa akurat. Setelah analisis komprehensif menggunakan LC-HRMS dan analisis bioinformatik, diperoleh peptida marker spesifik babi SAGISVPGPMGPSGPR (1466.74166 Da) dari kolagen  $\alpha 1$  babi, dengan fragmen ion spesifik 159,07842 Da. Peptida dan fragmen peptida tersebut dapat mendeteksi hingga 1% gelatin babi dalam campuran gelatin. Peptida dan fragmen peptida spesifik tersebut dapat digunakan sebagai marker pada analisis peptida target (*targeted analysis*) pada analisis identifikasi gelatin. Metode ini diharapkan mampu mengatasi kekurangan dari metode analisis identifikasi gelatin dengan RT-PCR, yang masih memberikan hasil misdeteksi berupa *false positive*.

Kata kunci : gelatin babi, LC-HRMS, peptida spesifik

## **Identification of Spesific Peptide from Porcine Gelatin Using Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS)**

Ery Nourika Alfiraza  
15/388420/PPA/04859

### **ABSTRACT**

Porcine gelatin dominate gelatin market because of its properties and lesser price. The species origin of gelatin has become concern because of religious viewpoint. It is necessary to develop a method to differentiate porcine from bovine gelatin. In this study, gelatin were identified using specific peptide. Theoretically, gelatin contains peptides from the degraded collagen type I. An alignment of sequences of collagen type I  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  from porcine and bovine gelatin indicated that collagen from both species are not identical. The amino acids difference can be used for differential analysis of gelatin species identification. Collagen type I  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  were analysed in silico in order to generate tryptic peptide mass list. Bovine and porcine gelatin were digested at 37 °C for 24 hours by trypsin and peptides in the digested mixtures were analysed by LC-HRMS to detect marker peptide specific for porcine gelatin. Chromatography was achieved using a 90-min gradient along with C18 Acclaim® PepMap RSLC column at flow rate of 0.3  $\mu\text{L}/\text{min}$ . The MS was operated in full-MS / dd-MS<sup>2</sup> in which full-MS was operated in high resolution and accurate mass. Following a comprehensive analysis of LC-HRMS and bioinformatics, a spesific peptide from  $\alpha 1(I)$  porcine collagen was detected and identified in porcine gelatin. The spesific peptide SAGISVPGPMGPGPR (1466.74166 Da), with spesific ion fragment 159.07842 Da can detect down to 1% porcine gelatin in gelatin mixtures. Therefore, these spesific peptide and peptide fragment can be used as marker in targeted analysis of gelatin identification. Hopefully, this proposed method can overcome the drawback of gelatin identification with RT-PCR method, which still resulting some false positive misdetections.

Keywords: porcine gelatin, LC-HRMS, spesific peptide