

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	5
I.3 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS	6
II.1 Tinjauan Pustaka	6
III.1.1 Gelatin	6
III.1.2 Analisis gelatin berbasis protein	8
III.1.3 Analisis Gelatin Berbasis DNA	23
II.2 Perumusan Hipotesis	27
II.2.1 Perumusan hipotesis 1	28
II.2.2 Perumusan hipotesis 2	28
II.2.3 Perumusan hipotesis 3	28
II.2.4 Rancangan penelitian	29
BAB III. METODE PENELITIAN	31
III.1 Alat dan Bahan	31
III.1.1 Alat	31
III.1.2 Bahan	32
III.2 Prosedur Kerja	32
III.2.1 Identifikasi gelatin dengan LC-HRMS	32
III.2.2 Identifikasi gelatin dengan RT-PCR	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
IV.1 Identifikasi Gelatin dengan LC-HRMS	37
IV.1.1 Analisis <i>in silico</i>	37
IV.1.2 Hidrolisis enzimatis gelatin	42
IV.1.3 Pemisahan peptida dengan LC	44
IV.1.4 Analisis peptida dengan MS	44
IV.1.5 Analisis bioinformatik	47
IV.2 Identifikasi Gelatin dengan RT-PCR	61
IV.2.1 Kontrol positif dan kontrol negatif	61
IV.2.1 Analisis gelatin dengan RT-PCR	64
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	68
V.1 Kesimpulan	68
V.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	75

DAFTAR TABEL

Tabel	II.1	Massa asam amino (ExpASy)	10
Tabel	II.2	Komposisi asam amino gelatin dan kolagen, per 1000 residu (Rose, 1987)	11
Tabel	III.1	Data komposisi gelatin (%v/v) yang digunakan pada pembuatan standar gelatin babi	33
Tabel	III.2	Gradien fasa gerak	34
Tabel	IV.1	Jumlah peptida hasil <i>proteotypic in silico</i>	41
Tabel	IV.2	Peptida spesifik babi dan peptida spesifik sapi hasil pemotongan kolagen $\alpha 1(I)$ dengan <i>software</i> PeptideMass	41
Tabel	IV.3	Peptida spesifik babi dan peptida spesifik sapi hasil pemotongan kolagen $\alpha 2(I)$ dengan <i>software</i> PeptideMass	42
Tabel	IV.4	Peptida spesifik yang teridentifikasi pada masing-masing sampel	47
Tabel	IV.5	Perbandingan peptida babi GPPGSAGAPGK dan sapi GPPGSAGSPGK	48
Tabel	IV.6	Fragmen teoritis ion b dan y dari peptida spesifik babi GPPGSAGAPGK	49
Tabel	IV.7	Fragmen teoritis ion b dan y dari peptida spesifik sapi GPPGSAGSPGK	50
Tabel	IV.8	Perbandingan peptida babi SGDRGETGPAGPAGPVGPGAR dan sapi SGDRGETGPAGPAGPIGPGAR	53
Tabel	IV.9	Perbandingan peptida babi GESGPAGPPGAPGAPGPGVGPAGK dan sapi GETGPAGPPGAPGAPGPGVGPAGK	54
Tabel	IV.10	Perbandingan peptida babi SAGISVPGPMGPGSGPR dan sapi STGISVPGPMGPGSGPR	56
Tabel	IV.11	Fragmen teoritis ion b dan y dari peptida spesifik babi SAGISVPGPMGPGSGPR	57
Tabel	IV.12	Intensitas fragmen 1466,74202 Da	60
Tabel	IV.13	Analisis kuantitatif isolat DNA kontrol positif dan kontrol negatif dengan spektrofotometer UV-VIS	62
Tabel	IV.14	Analisis kuantitatif isolat DNA sampel gelatin babi dengan spektrofotometer UV-VIS	64
Tabel	IV.15	Analisis kuantitatif isolat DNA sampel gelatin sapi dengan spektrofotometer UV-VIS	64
Tabel	IV.16	Nilai Ct untuk sampel gelatin babi	65
Tabel	IV.17	Nilai Ct untuk sampel gelatin sapi	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	II.1	Jenis-jenis asam amino	9
Gambar	II.2	Contoh diagram alir analisis proteomik dengan menggunakan MS (Steen dan Mann, 2004)	13
Gambar	II.3	Daerah pemotongan tripsin	15
Gambar	II.4	Hidrolisis tripsin pada polipeptida	15
Gambar	II.5	Struktur alat Q- Exactive (Michalsk dkk., 2011)	18
Gambar	II.6	Fragmentasi pada Q-Exactive (Michalsk dkk., 2011)	19
Gambar	II.7	Pola fragmentasi peptida (Roepstorff dan Fohlmann, 1984; Biemann, 1992)	20
Gambar	II.8	Penomoran pada fragmentasi peptida (Steen dan Mann, 2004)	20
Gambar	II.9	Ion-ion yang dihasilkan oleh fragmentasi peptida	21
Gambar	II.10	Cara kerja Algorima Pepsearch (Steen dan Mann, 2004)	22
Gambar	II.11	Proses PCR (Lubis dkk., 2016)	25
Gambar	II.12	Ringkasan proses RT-PCR (Lubis dkk., 2016)	26
Gambar	II.13	Diagram alir identifikasi gelatin dengan LC-HRMS	30
Gambar	II.14	Diagram alir identifikasi gelatin dengan RT-PCR	30
Gambar	IV.1	Pensejajaran urutan asam amino kolagen $\alpha 1(I)$ babi dan sapi	38
Gambar	IV.2	Pensejajaran urutan asam amino kolagen $\alpha 2(I)$ babi dan sapi	39
Gambar	IV.3	Kromatogram gelatin babi dan gelatin sapi	46
Gambar	IV.4	TIC gelatin babi; TIC gelatin sapi; XIC MS ¹ peptida spesifik babi GPPGSAGAPGK; XIC MS ¹ peptida spesifik sapi GPPGSAGSPGK	49
Gambar	IV.5	MS ² dari peptida GPPGSAGAPGK pada sampel gelatin babi	50
Gambar	IV.6	MS ² dari peptida GPPGSAGSPGK pada sampel gelatin sapi	51
Gambar	IV.7	XIC fragmen 301,18703 Da; 372,22415 Da; 388,21906 Da dari gelatin babi dan sapi	52
Gambar	IV.8	XIC fragmen 556,32017 Da; 655,38858 Da; 669,40424 Da dari gelatin babi dan sapi	53
Gambar	IV.9	XIC fragmen 779,44101 Da; XIC fragmen 878,40027 Da dan 892,41592 dari gelatin babi dan sapi	54
Gambar	IV.10	TIC sampel gelatin babi 1%; TIC sampel gelatin babi 10%; TIC sampel gelatin babi 50%	55
Gambar	IV.11	XIC Peptida MS ¹ Peptida spesifik babi SAGISVPGPMGPGS GPR 1466,74166 Da dan XIC fragmen ion 159,07642 Da	57
Gambar	IV.12	MS ² peptida 1466,74202 Da	58
Gambar	IV.13	XIC fragmen 159,07642 Da dari peptida SAGISVPGPMGPGS GPR pada semua sampel	59
Gambar	IV.14	Kurva persentase gelatin babi versus intensitas puncak	60

Gambar	IV.15	Analisis kualitatif isolat DNA kontrol positif dan kontrol negatif dengan elektroforesis gel agarosa	62
Gambar	IV.16	Kurva amplifikasi dengan RT-PCR: kontrol positif dan kontrol negatif	63
Gambar	IV.17	Kurva amplifikasi dengan RT-PCR sampel gelatin babi B1-B5	65
Gambar	IV.18	Kurva amplifikasi dengan RT-PCR sampel DNA sapi S1-S5	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	1.	Urutan asam amino kolagen $\alpha 1(I)$ dan $\alpha 2(I)$ babi	75
Lampiran	2.	Urutan asam amino kolagen $\alpha 1(I)$ dan $\alpha 2(I)$ sapi	76
Lampiran	3.	Pensejajaran urutan asam amino $\alpha 1(I)$ sapi dan babi	77
Lampiran	4.	Pensejajaran urutan asam amino $\alpha 2(I)$ sapi dan babi	79
Lampiran	5.	Daftar peptida hasil digesti tripsin <i>in silico</i> kolagen $\alpha 1(I)$	81
Lampiran	6.	Daftar peptida hasil digesti tripsin <i>in silico</i> kolagen $\alpha 2(I)$	82
Lampiran	7.	TIC gelatin	83