

**IDENTIFIKASI LAKTOFERIN PADA KOLOSTRUM DAN SUSU
KAMBING DENGAN METODE *SINGLE RADIAL*
IMMUNODIFUSI DAN SDS-PAGE**

SKRIPSI

SLAMET MULYANTO



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2006**

RINGKASAN

SLAMET MULYANTO. D14202037. 2006. **Identifikasi Laktoferin pada Kolostrum dan Susu Kambing dengan Metode *Single Radial Immunodifusi* dan SDS-PAGE**. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Pembimbing Utama : Dr.Ir. Rarah R.A. Maheswari, DEA

Pembimbing Anggota : Irmanida Batubara, S.Si., M.Si

Kebutuhan akan pangan yang bergizi sangatlah penting untuk diwujudkan. Susu sebagai bahan sumber protein dapat dimanfaatkan untuk pemenuhan kebutuhan pangan bagi masyarakat. Kambing dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein hewani baik dari daging maupun susu yang dihasilkan. Kambing kacang merupakan plasma nutfah asli Indonesia sedangkan kambing Peranakan Etawah (PE) yaitu hasil persilangan kambing etawah dan kambing kacang dikembangkan sebagai salah satu kambing penghasil susu. Susu kambing yang mulai populer di masyarakat saat ini belum banyak dieksplorasi, sehingga kandungan yang ada didalamnya belum bisa dimanfaatkan dengan baik. Susu kambing dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit, sehingga menarik untuk diteliti kandungan antimikroba alaminya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi laktoferin pada kolostrum dan susu kambing dengan menggunakan metode *single radial immunodifusi* dan *SDS-PAGE*, serta membandingkan kandungan laktoferin pada susu kambing PE dan kambing kacang. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan dari bulan Juni sampai bulan Agustus 2006, di Lab. Mikrobiologi dan Bioteknologi, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB, Bagian Ilmu Produksi Ternak Perah, Fakultas Peternakan, IPB, Peternakan Rakyat, Kelurahan Babakan, Kecamatan Tenjo, Kabupaten Bogor dan PT Taurus Dairy Farm, Sukabumi.

Kolostrum dan susu dari bangsa kambing PE dan kambing kacang diidentifikasi dengan dua metode uji yaitu *Single Radial Immunodifusi* (SRID) dan elektroforesis SDS-PAGE. Uji SRID pada kolostrum dan susu kambing peranakan etawah (PE) menghasilkan cincin presipitan yang cukup besar masing-masing 1,39 mm dan 1,06 mm, sedangkan untuk susu kambing kacang tidak membentuk cincin presipitan. Hasil tersebut menunjukkan adanya kandungan laktoferin dalam kolostrum dan susu kambing PE serta secara semikuantitatif memperlihatkan konsentrasi laktoferin susu kambing PE lebih tinggi dibandingkan laktoferin pada susu kambing kacang. Elektroforesis dengan SDS-PAGE 7,5% memperlihatkan adanya pita laktoferin dari kolostrum dan susu kambing PE serta susu kambing kacang. Terlihatnya pita laktoferin pada uji ini mendukung hasil uji SRID tentang keberadaan laktoferin pada kolostrum dan susu kambing. Bobot molekul yang didapatkan 74,991 Da untuk kolostrum kambing PE dan 73,441 Da untuk susu kambing PE maupun kambing kacang.

Kata-kata kunci : susu kambing, laktoferin, *Single Radial Immunodiffusi* (SRID), SDS- PAGE

ABSTRACT

Identification of Lactoferrin from Colostrum and Milk of Goat by Single Radial Immunodiffusion and SDS-PAGE Methods

Mulyanto, S., R. R. A. Maheswari, and I. Batubara

Colostrum and milk from goat identified by two testing method which are Single Radial Immunodiffusi (SRID) test and identified by electrophoretic SDS-PAGE for two type of milk. The SRID result was colostrum and milk from etawah grade goat had a big presipited ring and it showed there is lactoferrin in colostrum and milk while milk from Kacang goat did not have presipited ring. This result identified the existence of lactoferrin in milk and colostrums. The result of presipited zone showed that, colostrum dan milk PE goat have lactoferrin concentration higher than kacang goat. Molecul weight of colostrum Etawah Grade is approximately 74,991 Da. In milk etawah grade and kacang goat 73 ,441kDa.

Keyword : goat, lactoferrin, Single Radial Immunodiffusi, SDS-PAGE

**IDENTIFIKASI LAKTOFERIN PADA KOLOSTRUM DAN SUSU
KAMBING DENGAN METODE *SINGLE RADIAL*
IMMUNODIFUSI DAN SDS-PAGE**

SLAMET MULYANTO

D14202037

**Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada
Fakultas Peternakan
Institut Pertanian Bogor**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2006**

**IDENTIFIKASI LAKTOFERIN PADA KOLOSTRUM DAN SUSU
KAMBING DENGAN METODE *SINGLE RADIAL*
IMMUNODIFUSI DAN SDS-PAGE**

Oleh

SLAMET MULYANTO

D14202037

**Skripsi ini telah disetujui dan disidangkan di hadapan
Komisi Ujian Lisan pada tanggal 29 September 2006**

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

**Dr. Ir. Rarah R. A. Maheswari, DEA.
NIP. 131 671 595**

**Irmanida Batubara, S.Si., M.Si.
NIP. 132 312 528**

**Dekan Fakultas Peternakan
Institut Pertanian Bogor**

**Dr. Ir. Ronny R. Noor, M.Rur.Sc.
NIP. 131 624 188**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 28 Januari 1984 di Boyolali Jawa Tengah. Penulis adalah anak keempat dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Abu Choiri dan Ibu Sri Purwani.

Pendidikan dasar diselesaikan pada tahun 1996 di SDN Bangsalan 2. Pendidikan lanjutan tingkat pertama diselesaikan pada tahun 1999 di SLTPN 1 Teras dan pendidikan menengah umum di SMU Bhinneka Karya 2, Boyolali. Penulis diterima sebagai mahasiswa pada Program Studi Teknologi Hasil Ternak, Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor melalui jalur Ujian Seleksi Masuk IPB (USMI) pada tahun 2002.

Selama mengikuti pendidikan, penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Produksi Ternak (HIMAPROTER), Forum Aktivitas Mahasiswa Muslim (FAMM) Al-An'aam dan DKM Al-Hurriyah. Penulis juga pernah menjadi asisten Mata Kuliah Dasar Mikrobiologi Hasil Ternak, Mikrobiologi Hasil Ternak dan Pendidikan Agama Islam.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, Rabb semesta alam yang senantiasa melimpahkan nikmat yang begitu besar dan tiada terhitung, sehingga skripsi ini dapat selesai. Sholawat dan salam semoga tercurah kepada *qudwah hasanah* kita Rosulullah Muhammad SAW pada keluarganya, sahabatnya dan umatnya hingga hari akhir. Skripsi ini yang berjudul "Identifikasi Laktoferin pada Kolostrum dan Susu Kambing dengan Metode *Single Radial Immunodifusi* dan SDS-PAGE", merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana di Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi laktoferin pada kolostrum dan susu kambing dengan menggunakan metode *single radial immunodifusi* dan *SDS-PAGE*, serta membandingkan konsentrasi laktoferin pada susu kambing PE dan kambing kacang. Penelitian ini dilakukan, karena selama ini susu kambing belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan pangan fungsional dan sumber protein hewani. Susu kambing mempunyai berbagai komponen yang dapat dimanfaatkan salah-satunya adalah laktoferin, yang secara alami terdapat dalam susu, dan dapat dimanfaatkan untuk memperkaya kandungan gizi dalam pangan.

Penulis menyadari bahwa masih jauh dari kesempurnaan karena adanya keterbatasan kemampuan penulis baik dari segi isi maupun penyajiannya. Penulis mengharapkan kritik dan masukan serta saran, sehingga dalam penulisan selanjutnya dapat lebih baik.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga selesainya penulisan ini, khususnya Penulis sampaikan kepada pembimbing yang telah meluangkan waktu dan sabar memberikan bimbingannya

Bogor, September 2006

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
ABSTRACT	ii
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
Kambing Perah	3
Kolostrum	3
Susu Kambing	5
Antimikroba	7
Laktoferin	7
<i>Single Radial Immunodiffusi (SRID)</i>	8
<i>Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)</i>	9
METODE	10
Lokasi dan Waktu	10
Materi	10
Bahan-bahan	10
Alat	10
Rancangan	11
Prosedur	11
Pengumpulan Sampel Kolostrum dan Susu Kambing.....	11
Pengukuran Nilai pH (BSN, 1992).....	11
Kadar Lemak Kolostrum dan Susu Metode Sokslet (BSN, 1998)	11
Pengukuran Kadar Protein Kolostrum dan Susu Metode <i>Kjeldahl</i> (BSN, 1998a)	12
Pemisahan Whey Kolostrum dan Susu Kambing (Yoshida <i>et al.</i> , 2000).....	13
Uji <i>Single Radial Immunodiffusi (SRID)</i> (Mancini <i>et al.</i> , 1965; Tsuji <i>et al.</i> , 1990)	13

Metode <i>Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i> (SDS-PAGE)	14
HASIL DAN PEMBAHASAN	15
Kualitas Kolostrum dan Susu Kambing	15
Pemisahan <i>Whey</i> Kolostrum dan Susu Kambing	16
Identifikasi Laktoferin Kolostrum Susu Kambing dengan Metode <i>Single Radial Immunodifusi</i> (SRID)	18
Identifikasi Laktoferin Kolostrum Susu Kambing dengan Metode <i>SDS-PAGE</i>	20
KESIMPULAN DAN SARAN	23
Kesimpulan	23
Saran	23
UCAPAN TERIMA KASIH	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Komposisi Gizi Susu Kambing Peranakan Etawah.....	5
2. Komposisi Susu pada Ternak dan Manusia.....	6
3. Uji Kualitas Kolostrum dan Susu Kambing	15
4. Hasil Uji <i>Single Radial Immunodiffusi</i>	18

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Diagram Alir Pemisahan <i>Whey</i> Kolostrum dan Susu	13
2. Hasil Pemisahan Krim ; a. Kolostrum ; b. Susu	17
3. Hasil Pemisahan Kasein ; a. Susu Kambing Kacang I ; b. Susu Kambing Kacang II; c. Susu Kambing Kacang III.....	17
4. Uji Immunodiffusi : a. Kolostrum Kambing PE : b. Susu Kambing PE : c. Susu Kambing Kacang : 1. Cincin Presipitan : 2. Lubang Sumur.....	29
5. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Kolostrum dan Susu Kambing PE serta Susu Kambing Kacang dengan Konsentrasi 7,5% ; 1. Susu Sapi; 2. Susu PE; 3. Susu Kambing Kacang I ; 4. Susu Kambing Kacang II ; 5. Susu Kambing Kacang III ; 6-8. Susu dengan Metode Domba ; 9. Marker ; 10. Standar Laktoferin.....	21

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Standar Komposisi Lemak, BKTL, Protein dan Organoleptik Susu Segar	30
2. Analisa Proksimat Kolostrum Dan Susu Kambing PE.....	30
3. Bahan-bahan Analisis Laktoferin dengan SDS PAGE.....	31
4. Gambar Proses Elektroforesis	33
5. Proses Denaturasi Protein oleh Merkaptotanol dan SDS.....	33
6. Kurva Normalitas Bobot Molekul Protein Standar	34
7. Berat Molekul Protein Standar	34
9. Gambar Sampel dan Alat Elektroforesis	35
8. Gambar Hasil SDS-PAGE 10%.....	35

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Masalah pangan menjadi masalah penting bagi manusia dewasa ini setelah munculnya masalah gizi buruk dan kekurangan pangan di beberapa daerah Indonesia. Gizi menjadi sesuatu yang penting karena zat gizi dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi tubuh. Perbaikan gizi untuk memenuhi kebutuhan masyarakat perlu diperhatikan dengan serius. Kebutuhan zat gizi penting terutama protein selain dikenal sebagai zat pembangun juga dapat meningkatkan kecerdasan. Protein dalam tubuh didapatkan dari bahan pangan yang berasal dari tumbuhan (protein nabati) atau yang berasal dari hewan (protein hewani).

Susu adalah salah satu sumber protein hewani yang sudah dikenal di masyarakat. Susu dengan kandungan nutrisi yang hampir lengkap dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kekurangan zat gizi dan juga sebagai pangan fungsional. Pemanfaatan kambing kacang dan kambing PE sebagai ternak lokal, dapat dijadikan alternatif untuk memenuhi kebutuhan gizi karena selain sebagai penghasil daging juga dapat menghasilkan susu. Susu kambing mempunyai kelebihan dalam bidang kesehatan diantaranya dipercaya mampu menyembuhkan penyakit TBC, diare, meningkatkan vitalitas bagi pria dan mempunyai pencernaan tinggi.

Susu kambing mengandung komponen-komponen yang dapat meningkatkan kualitas susu, salah satunya adalah laktoferin. Laktoferin merupakan salah satu komponen glikoprotein yang dapat mempunyai sifat antimikroba yang secara alamiah sudah ada dalam susu dan juga dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Kandungan laktoferin dalam susu dapat meningkatkan kualitas susu dari segi mikrobiologi. Pengembangan teknologi untuk menggali manfaat laktoferin telah berkembang dan salah satunya dengan mengisolasi laktoferin untuk bisa digunakan sebagai bahan tambahan pangan. Kandungan laktoferin pada susu manusia dan sapi telah banyak diteliti dengan menggunakan berbagai metode, diantaranya *SDS-PAGE* dan *single radial immunodifusi* (SRID), namun belum ada penelitian tentang kandungan laktoferin susu kambing. Identifikasi laktoferin susu kambing juga memungkinkan dengan menggunakan metode tersebut.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi laktoferin pada kolostrum kambing PE dan susu kambing PE serta kambing kacang dengan menggunakan metode *single radial immunodifusi* dan *SDS-PAGE*.

TINJAUAN PUSTAKA

Kambing Perah

Kambing perah merupakan jenis kambing yang dapat memproduksi susu dengan jumlah melebihi kebutuhan untuk anaknya. Kambing perah yang dipelihara biasanya adalah kambing lokal seperti Peranakan Etawah (PE). Kambing perah lain yang dipelihara adalah kambing saanen yang dapat hidup di daerah tropis (Davendra dan Burn, 1994).

Kambing PE merupakan hasil persilangan antara kambing saanen dengan kambing Etawah (Mulyono, 2003). Kambing Peranakan Etawah memiliki sifat diantara kedua tetuanya (Joesoep, 1986). Menurut Devendra dan Burn (1994) Kambing Peranakan Etawah telah ada kurang lebih 80 tahun yang lalu. Kambing PE mempunyai ciri yaitu ukuran tubuh kecil, fertilitas tinggi (Tomaszewska *et.al.*, 1993) hidung melengkung ke atas, telinga menggantung ke bawah dan sedikit kaku, warna bulu bervariasi dari hitam sampai coklat. Kambing PE jantan mempunyai bulu agak tebal dan agak panjang pada bagian bawah leher dan pundak, sedangkan betina agak panjang di bawah ekor searah garis kaki. Bobot hidup jantan sekitar 40 kg dan betina 35 kg (Mulyono., 2003).

Kambing kacang berasal dari Indonesia dan Malaysia. Karakteristik yang dimiliki oleh kambing kacang menurut Mulyono (2003), antara lain badan kecil dan pendek, tanduk melintir ke atas dan ke belakang, telinga tegak ke sisi, janggut pada jantan dan jarang pada betina, muka kelihatan lurus dan tirus, leher pendek dan bagian belakang lebih tinggi dari bahu rata ketinggian ialah 50-60 cm, kulit badan tipis, bulu kasar. Warna kambing kacang biasanya hitam, coklat, kadang kala terdapat totol-totol putih di kaki atau badan, kelahiran kembar, produksi susu 0,3 kg/hari dalam tiga bulan pertama dan 0,2 kg/hari dalam masa 4-6 bulan. Kambing kacang di daerah Jawa dikenal dengan sebutan kambing jawa. Kambing kacang tidak mempunyai garis keturunan khusus karena sebagian besar perkawinannya terjadi di tanah lapang (Mulyono, 2003).

Kolostrum

Kolostrum kadang disebut juga “susu ibu” adalah larutan kuning muda yang diproduksi kelenjar ambing selama jam pertama setelah melahirkan, biasanya mulai

diproduksi sebelum melahirkan dan terkumpul selama beberapa minggu terakhir kebuntingan (Brandano *et al.*, 2004). Kolostrum ini sangat bermanfaat bagi anak kambing yang baru lahir karena mengandung karbohidrat, protein, antibodi, mudah dicerna, mempunyai efek laktatif, kandungan imunitasnya tinggi dan mengandung sel darah putih (Wikipedia, 2004). Kolostrum disimpan dalam kelenjar ambing sekitar 2-3 hari terakhir masa kebuntingan dan disekresikan sekitar 2-3 hari pertama setelah melahirkan. Kolostrum tidak diproduksi kembali pada hari setelah ke-4 sampai ke-5 setelah melahirkan, karena susu sudah berubah menjadi susu penuh (Brandano *et al.*, 2004). Kolostrum mempunyai kandungan mineral yang tinggi seperti kalsium, fosfor, magnesium, besi, seng, Cu dan mangan, kandungan mineral tersebut akan menurun seiring dengan waktu setelah melahirkan (Kume dan Tanabe, 1993; Morgante, 2004; Brandano *et al.*, 2004).

Kolostrum induk terbatas dan yang menjadi masalah adalah jumlah anak yang dilahirkan dapat mempengaruhi kegagalan memperoleh kolostrum yang cukup bagi anak tersebut, karena jumlah kolostrum yang diproduksi tidak meningkat sebanding dengan jumlah anak. Kambing menghasilkan kolostrum relatif sedikit dengan rata-rata 0,5-2,5 liter/hari (Esfandiari, 2005).

Susu Kambing

Susu menurut Buckle *et al.* (1987), didefinisikan sebagai hasil sekresi kelenjar mamalia yang menyusui anaknya dan merupakan makanan yang sempurna karena sebagai zat gizi yang dibutuhkan manusia tersedia dalam susu. Susu yang berasal dari berbagai hewan pada umumnya mengandung unsur komponen yang sama, namun bervariasi dalam komposisi dan sifat fisiknya (Rahman *et al.*, 1992).

Susu kambing menurut SNI 01-3141-1998 adalah susu yang berasal dari ambing induk kambing yang sehat dan diperoleh dengan cara yang benar. Susu kambing merupakan hasil sekresi dari ambing kambing sebagai makanan anaknya. Susu kambing dapat dikonsumsi manusia seperti susu sapi. Susu kambing diyakini banyak orang memiliki khasiat menyembuhkan penyakit kuning, asma, eksim (penyakit kulit), migren, *bronchitis*, TBC, asam urat, impotensi dan darah tinggi (Tambing, 2004). Susu kambing juga dapat digunakan dalam industri kosmetik, diantaranya digunakan sebagai bahan baku pembuatan shampo, sabun, deodoran dan beberapa jenis krim untuk muka dan tubuh (Tambing, 2004). Susu kambing

mempunyai keistimewaan lain yaitu kaya dengan protein, enzim, vitamin A dan mengandung anti-arthritis (inflamasi sendi).

Komponen alami susu kambing terdiri atas air, lemak, protein, laktosa dan komponen lainnya yaitu garam, asam sitrat, enzim, vitamin gas dan fosfolipid (Spreer, 1998). Komponen yang terkandung dalam susu kambing PE tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Gizi Susu Kambing Peranakan Etawah

Komposisi gizi	Kandungan /100 gram susu
Air	83,0-87,5 g
Karbohidrat	4,6 g
Energi	67,0 kkal
Protein	3,3-4,9 g
Lemak	4,0-7,3 g
Kalsium	129,0 mg
Fosfor	106,0 mg
Vitamin A	185,0 IU (International Unit)
Tiamin	0,04 mg
Riboflavin	0,14 mg
Niasin	0,30 mg
Vitamin B12	0,07 mg

Sumber : Balitnak (2002) yang dikutip oleh Pana (2004)

Komposisi dan struktur lemak susu kambing dan sapi memiliki perbedaan. Butiran lemak susu kambing berukuran 2 μm , lebih kecil dari lemak susu sapi yaitu 2,5-3,5 μm . Ukuran lemak yang lebih kecil membuat susu kambing lebih cepat terdispersi dan campurannya lebih homogen (merata). Susu kambing juga mengandung asam orotik yang akan berpengaruh baik bagi pencegahan sindrom pelemakan hati. Nilai pH susu kambing dan susu sapi antara 6,4-6,7 (Pikiran Rakyat, 2004). Titik beku susu kambing memiliki kisaran rata-rata antara -0,537 sampai -0,646°C. Nilai pH susu kambing bervariasi antara 6,3-6,7 dengan rata-rata 6,53, sedangkan total asam tertitrasi (TAT) berkisar antara 0,10 % - 0,26 % (French, 1970).

Tabel 2. Komposisi Susu pada Ternak dan Manusia

Komposisi	Domba	Kambing	Sapi	Manusia
Air (%)	82,5	87,0	87,5	87,5
Total padatan (%)	17,5	13,0	12,5	12,5
Lemak (%)	6,5	3,5	3,5	4,4
Diameter globula lemak (μm)	4,0	3,9	4,4	-
Total Nitrogen (%)	5,5	3,5	3,2	1,1
Kasein (%)	4,5	2,8	2,6	0,4
Serum protein (%)	1,0	0,7	0,6	0,7
Laktosa (%)	4,8	4,8	4,7	6,9
Mineral (%)	0,92	0,80	0,72	0,30
Ca (mg/l)	193	134	119	32
Energi (kkal/l)	1050	650	700	690
Berat Jenis	1,037	1,032	1,032	1,015
Derajat keasaman ($^{\circ}\text{SH}$)	8,5	8,0	7,1	-
pH	6,65	6,60	6,50	6,85
Titik beku	-0,580	-0,570	-0,524	-

Sumber : Pulina dan Nudda, 2004

Hasil penelitian Razafindrakoto *et al.* (1994) menyatakan, bahwa susu kambing mempunyai nilai gizi serupa dengan susu sapi dan bisa digunakan sebagai suatu alternatif pengganti susu sapi untuk merehabilitasi anak-anak menderita gizi buruk. Kandungan protein susu kambing dan sapi relatif sama, meski unsur (alfa-s1) kasein pada susu sapi tidak ada pada susu kambing. Jumlah vitamin A susu kambing lebih banyak, demikian pula dengan vitamin B, terutama *riboflavin* dan niasin, meski harus diakui kandungan vitamin B6 dan B12 susu sapi lebih banyak (Razafindrakoto *et al.* 1994). Barrionuevo *et al.* (2002) menambahkan hewan percobaan yang diberi susu kambing menunjukkan tingkat cerna zat besi yang lebih tinggi dibanding diberi diet standar dan diet susu sapi. Efek menguntungkan dari susu kambing dibandingkan dengan susu sapi, memperlihatkan susu kambing dapat mencegah kekurangan zat besi pada pencernaan dan metabolisme zat besi pada hewan kontrol dan hewan dengan gejala malabsorpsi. Susu kambing juga kaya

kandungan mineral, kalsium, potasium, magnesium, fosfor, klorin dan mangan. Kandungan unsur natrium, besi, sulfur, seng dan mo lebih rendah. Perbandingan komposisi susu kambing, domba dan sapi tercantum dalam tabel 2.

Antimikroba

Zat antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba (Pelczar dan Reid, 1979). Antimikroba mempunyai sifat yang berbeda-beda. Menurut Fardiaz (1992), antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri), fungisidal (membunuh kapang), fungistatik (menghambat pertumbuhan kapang) dan germisidal (menghambat proses germinasi). Menurut Buckle *et al* (1987), berbagai logam, asam halogen, alkohol, fenol, detergen dan antibiotik mempunyai efek antimikroba yang biasa digunakan dalam industri bahan pangan. Zat antimikroba digunakan berdasarkan beberapa faktor antara lain bahan antimikroba, komposisi makanan, sistem pengawetan dan keefektifan antimikroba (Branen dan Davidson, 1983).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroba oleh antimikroba berupa perusakan dinding sel yang dapat mengakibatkan lisis, atau penghambatan sintesis komponennya, perubahan permeabilitas membran sitoplasma yang dapat menyebabkan terjadinya kebocoran zat nutrisi dari dalam sel, denaturasi protein dan perusakan sistem metabolisme dalam sel dengan menghambat kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1979). Keefektifan juga tergantung pada lokasi infeksi dan kemampuan antibiotik mencapai lokasi tersebut (Wikipedia Indonesia, 2004). Susu mempunyai komponen yang mempunyai sifat antimikroba yang dapat mengikat zat besi yang dibutuhkan mikroba untuk tumbuh seperti *E.coli* (Robblee *et al.*, 2003 ; Conner, 1993; Naidu, 2003; Takakura *et al.*, 2003).

Laktoferin

Laktoferin (Lf) merupakan glikoprotein pengikat besi (*ferrum*), yang pertama sekali diisolasi dari susu sapi dan selanjutnya dari ASI. Laktoferin ada dalam jumlah besar dan disekresi mamalia dalam susu, air mata, saliva, cairan seminal pada beberapa sel darah putih (Naim, 2003). Laktoferin mempunyai fungsi biologis yaitu sebagai antimikroba (Abe *et al.*, 1991). Laktoferin adalah bagian minor dari

komponen protein susu dengan jumlah asam amino sebanyak 703 asam amino (PDRhealth, 2005) dan mempunyai berat molekul 80 kilodalton yang berbentuk rantai polipeptida tunggal (Abe *et al.*, 1991). Konsentrasi laktoferin pada susu sapi rata-rata 0,2 g/l (Naim, 2003).

Laktoferin mempunyai tiga bentuk alamiah yang telah diisolasi yaitu *lactoferrin- α* , *lactoferrin- β* , *lactoferrin- γ* (PDRhealth, 2005). Kandungan LF- α dalam kolostrum lebih banyak dibandingkan LF pada susu normal. LF- α mempunyai kemampuan bakterisidal paling kuat terhadap bakteri terutama *E.coli* (Wei, *et al.*, 2001). Laktoferin menghambat bakteri dengan mengikat zat-zat besi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri terutama bakteri patogen (PDRhealth, 2005). Laktoferin alami bersifat bakteristatik terhadap sejumlah bakteri Gram negatif dengan kebutuhan zat besi tinggi dan juga terhadap beberapa bakteri Gram negatif seperti *S. aureus*, *Bacillus* dan *L. monocytogenes*. Bakteri asam laktat dalam lambung memiliki kebutuhan besi rendah dan secara umum tidak terpengaruh oleh laktoferin (PDRhealth, 2005).

Uji *Single Radial Immunodiffusi (SRID)*

Radial Immunodiffusi digunakan untuk mengukur kandungan laktoferin dan transferin pada sampel bebas lemak. Uji ini spesifik untuk menguji bermacam-macam serum protein yang direaksikan dengan antibodi tertentu (Kent Laboratories, 2006). RID juga bisa digunakan untuk memurnikan laktoferin, transferrin dan serum protein lainnya (Tsuji *et al.*, 1990). Metode ini dilakukan dengan mendifusikan immunoglobulin dalam agar yang telah dibuat sumur dan di konfrontasikan dengan antibodi spesifik yang telah dicampurkan dalam agar sebelum dituangkan ke dalam cawan (Kent Laboratories, 2006).

Reaksi antara laktoferin dan antitransferin akan menghasilkan cincin presipitan. Antibodi yang dicampur dalam agar, akan mulai membentuk cincin presipitan 10-20 jam setelah diujikan dengan serum protein (Kent Laboratories, 2006). Diameter yang dihasilkan berfungsi untuk menentukan konsentrasi laktoferin. Diameter dari sampel dan diameter dari cincin presipitan standar yang digunakan dibandingkan dan dapat digunakan untuk memberikan estimasi konsentrasi antibodi spesifik atau antigen. Cincin presipitan terbentuk karena reaksi antara antilaktoferin pada media dengan Lf yang terkandung dalam kolostrum (Tsuji *et al.*, 1990).

Elektroforesis Metode *Sodium Dodecyl Sulfate Poliacrylamide Gel Electroforesis* (SDS-PAGE)

Elektroforesis adalah cara yang digunakan untuk memisahkan makromolekul seperti asam nukleat dan protein (Sigma, 1988). Elektroforesis Poliakrilamid dengan penambahan larutan anion SDS dapat memisahkan subunit protein dan mengukur berat molekulnya (Sigma, 1988). Secara teknis menurut Wikipedia (2004) elektroforesis SDS-PAGE digunakan dalam biokimia dan biologi untuk memisahkan protein berdasarkan ukuran (kekuatan rantai polipeptida dan berat molekulnya). Umumnya sampel dijalankan dengan bantuan matriks seperti kertas, selulose-asetat, gel pati, agarosa atau gel poliakrilamid (Rubicky dan Purves, 2005). Pemisahan dibantu dengan agar poliakrilamid atau agarosa, sesuai dengan Rubicky dan Purves (2005) yang menyatakan bahwa agarosa dan poliakrilamid dapat digunakan untuk memisahkan molekul berdasarkan ukurannya.

Penggunaan SDS untuk mendenaturasi protein dan membagi protein menjadi beberapa massa. SDS dapat mengikat protein kira-kira 1,4 g SDS/1,0 g protein (pengikatannya bervariasi dari 1,1-2,2 g SDS/g protein) (Wikipedia, 2004). Elektroforesis dalam prakteknya dilakukan dengan bantuan listrik untuk menarik sampel dalam lubang (*stacking gel*) mengalir ke bawah (*running gel*). Kecepatan turunnya sampel dipengaruhi oleh medan listrik yang digunakan dan bentuk molekul, sifat hidrofobik relatif sampel dan kekuatan ion (Sigma, 1988).

Elektroforesis dilakukan melalui proses (a) *running*, untuk menjalankan sampel melewati matriks (gel) sehingga dapat terpisah berdasarkan bobot molekulnya, kemudian (b) fiksasi dengan menggunakan TCA untuk memfiksasi zona hasil *running*, (c) pewarnaan untuk mewarnai zona tempat jalannya sampel sehingga dapat dilihat hasil pemisahan berdasarkan bobot molekulnya (Sigma, 1988). Konsentrasi gel akrilamid berbeda menurut bobot molekul yang akan diukur. Konsentrasi 15% di bawah untuk memisahkan protein dengan BM di bawah 50000 Da, sedangkan konsentrasi di bawah 7% untuk memisahkan protein dengan BM di atas 500000 Da (Nielsen, 1999).

METODE

Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan dari bulan Juni sampai bulan Agustus 2006 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB, Bagian Ilmu Produksi Ternak Perah, Fakultas Peternakan, IPB, Laboratorium Pascasarjana Departemen Biokimia Fakultas MIPA, Peternakan Rakyat, Kelurahan Babakan, Kecamatan Tenjo, Kabupaten Bogor dan PT Taurus Dairy Farm, Sukabumi.

Materi

Bahan-bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku yaitu kolostrum dan susu kambing PE serta susu kambing kacang. Bahan kimia yang digunakan untuk isolasi laktoferin dan penentuan kadar laktoferin serta uji kualitas susu, bahan yang digunakan tersebut antara lain air deionisasi, HCl 1N, NaOH 1N, K₂SO₄, cupri sulfat, asam borat, larutan indikator Kjeldahl, Amonium sulfat 1,8M, Buffer fosfat 0,05 M, alkohol 70%, Akuades, formalin 40%, kalium oksalat, H₂SO₄, amil alkohol, larutan buffer pH 4 dan 7, indikator fenolftalein 1%. Media yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA), NaCl, *human antilactoferrin* dan *Agarrosa*, Tetramethylethylenediamine (TEMED), gel akrilamid, *Sodium dodecyl sulfate* (SDS), gliserol, Merkptoetanol, biru bromopenol, glisin, metanol, Coommasie Brilliant Blue, Tris pH 8,9 dan 6,7 dan heksana.

Alat-alat

Peralatan yang digunakan adalah *autoklaf*, *incubator*, *refrigerator*, *freezer*, Bunsen, *high speed centrifuge*, *magnetic stirrer*, kertas filter, penangas air, mikro pipet, tips mikro pipet, *butyrometer* penyumbat karet, laktodensimeter, pH meter, buret, gelas ukur, labu Erlenmeyer, tabung reaksi, timbangan analitik, alat destilasi, cawan Petri, labu Kjeldahl, jangka sorong, rak dan tabung reaksi serta kertas hisap.

Rancangan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan rancangan acak kelompok dengan jenis kambing sebagai kelompok (Steel dan Torie, 1995). Peubah diamati secara kualitatif, yaitu hasil uji *single radial immunodifusi*, uji *SDS-PAGE* dan kualitas kolostrum dan susu kambing. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif.

Prosedur

Sampel kolostrum dan susu kambing PE diambil dari PT Taurus Dairy Farm, Sukabumi, sedangkan sampel susu kambing kacang diambil dari peternakan rakyat Desa Babakan, Kecamatan Tenjo. Sampel kolostrum dan susu kambing PE merupakan sampel susu kandang, sedangkan susu kambing kacang merupakan sampel individu yang di perah dari tiga ekor kambing. Pemerahan dilakukan secara manual, susu dan kolostrum yang diperah dengan botol steril dan dibawa dengan menggunakan *cool box* ke laboratorium. Sampel tersebut kemudian diuji kualitas fisik, kimia dan biologi. Uji-uji yang dilakukan untuk menentukan kualitas susu antara lain uji fisik (warna, bau dan kekentalan), nilai pH, uji lemak dengan metode titrasi soskhlet henkel, uji kadar protein susu dengan metode Kjeldahl.

Uji Warna, Bau dan Kekentalan (BSN, 1998a). Sampel susu dilihat kelainan-kelainan yang terjadi terhadap warna dan baunya. Kekentalan dilihat dengan cara memiringkan tabung reaksi kemudian ditegakkan kembali, pada saat ditegakkan diperhatikan kecepatan turunnya sampel dan adanya butiran-butiran pada bagian dinding tabung reaksi.

Pengukuran Nilai pH (BSN, 1992). Sample susu sebanyak 10 ml dituangkan ke dalam gelas ukur. Sebelumnya pH meter dikalibrasi dengan memasukkannya ke dalam larutan *buffer* pH 4 dan 7. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan ujung elektroda pH meter ke dalam susu selama beberapa menit hingga nilai pH stabil, kemudian ujung elektroda dibilas dengan akuades setelah digunakan dan penggunaan selanjutnya dikalibrasi kembali untuk pengukuran kembali.

Uji Titrasi Soskhlet Henkel (BSN, 1998a). Sebanyak 50 ml sampel susu kambing diambil menggunakan pipet ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan

larutan fenolftalein sebanyak 2 ml. salah satu campuran pada labu Erlenmeyer dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,25 N hingga terbentuk warna merah muda yang tidak hilang lagi jika dikocok. Derajat Sohxlet Henkel (⁰SH) adalah banyaknya ml NaOH 0,25 N yang dipakai dikalikan dua.

Pengukuran Kadar Protein Susu dengan Metode Kjeldahl (BSN, 1992).

Sebanyak 5 ml susu, batu didih, 10g K₂SO₄ dan 0,25g CuSO₄ dimasukkan ke dalam labu kjeldahl, kemudian ditambahkan 20 ml H₂SO₄ dan dicampur dengan baik. Labu dipanaskan hingga tidak ada uap. Penjernihan diteruskan sampai mendidih dan sesekali labu diputar, setelah labu terlihat jernih dan tak berwarna pemanasan diteruskan selama 90 menit, kemudian didinginkan sampai suhu kamar, lalu di tambah 150 akuades dan beberapa butir batu gelas, campura dibiarkan hingga dingin. Pada Erlenmeyer yang berbeda, dimasukkan 150 asam borat, empat tetes indikator dan 80 ml larutan NaOH ditambahkan melalui dinding secara perlahan dengan hati-hati ke dalam labu Kjeldahl. Labu Kjeldahl dipasang pada alat destilasi, kemudian dipanaskan secara perlahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih. Panas diatur sampai terjadi proses destilasi (waktu minimal 20 menit). Menjelang berakhirnya proses destilasi erlenmeyer diletakkan pada tempat yang lebih rendah sehingga ujung pipa tidak menyentuh larutan asam borat lagi. Hasil destilasi didinginkan dan dijaga agar larutan asam borat tidak turut panas. Hasil destilasi di titrasi dengan HCl 0,1N. Prosedur yang sama dilakukan dengan akuades sebagai blanko. Perhitungannya dilakukan dengan cara :

$$\text{Kandungan protein (\%)} = \frac{1,4 \times N \times (A-B) \times 6,38}{C}$$

Keterangan : N : Normal HCl

A : Jumlah HCl untuk titrasi sampel (ml)

B : Jumlah HCl untuk titrasi blanko (ml)

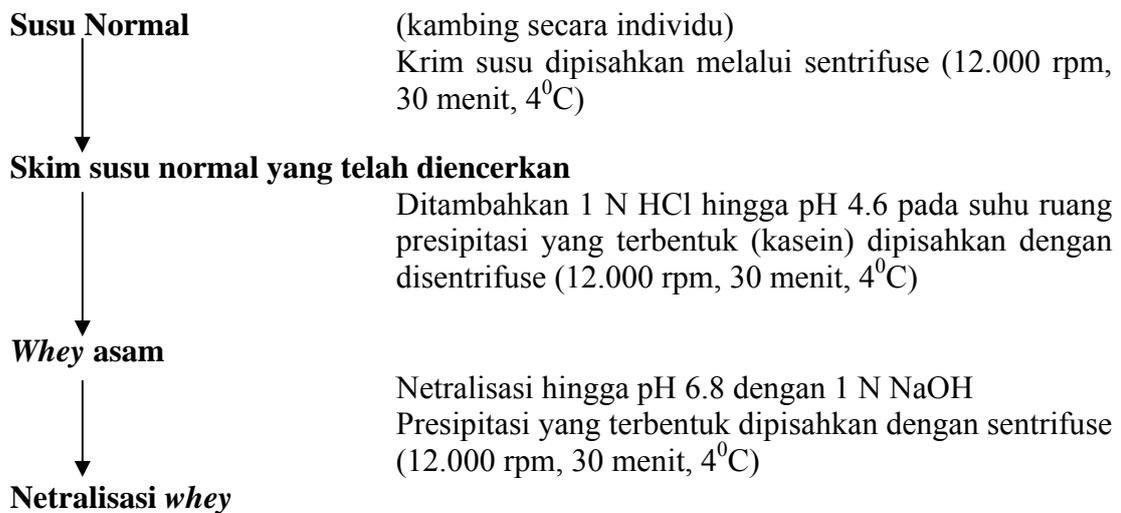
C : Berat contoh yang digunakan

1,4 : Berat dari N (secara analitik), ekuivalen untuk 1 ml HCl 0.1 N

Pengujian Kandungan Laktoferin

Pengujian selanjutnya untuk mengetahui kandungan laktoferin yang dilakukan dengan dua metode yaitu isolasi dan pengukuran laktoferin serta uji *Single Radial Immunodiffusi* (SRID).

Pemisahan Whey Kolostrum dan Susu (Yoshida *et al.*, 2000). Krim pada kolostrum dan susu dipisahkan dengan sentrifugasi (12.000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4 °C), susu skim yang diperoleh ini ditambahkan HCl 2 N hingga pH 4,6. Endapan kasein yang terbentuk dipisahkan dari *whey* dengan menggunakan sentrifugasi (12.000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4 °C). *Whey* asam ini dinetralisasi ke pH 6,8 dengan NaOH 1N dan disentrifugasi kembali (12.000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4 °C). Supernatan diambil dan disimpan di dalam freezer untuk digunakan pada analisis selanjutnya. Diagram alir pemisahan *whey* lebih lengkap ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Pemisahan *Whey*

Uji *Single Radial Immunodiffusi* (SRID) (Mancini *et al.*, 1965; Tsuji *et al.*, 1990). Kadar laktoferin di dalam air kolostrum dan susu diukur dengan metode *single radial immunodiffusi*. Antigen laktoferin didifusikan ke dalam agar yang telah dicampur antibodi, kemudian zona bening yang terbentuk dihitung dan diproporsionalkan dengan logaritma dari konsentrasi antigen. Selanjutnya sampel antigen yang belum

diketahui konsentrasinya dibandingkan dengan kurva yang telah dibuat dari antigen yang telah diketahui konsentrasinya.

Disiapkan 1 % agarose di dalam 0,05 M bufer fosfat pH 7,5 mengandung 0,1% (b/v) NaN_3 dan 2% anti-laktoferin (Sigma-Aldrich Co). Larutan agarosa dimasukkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 1,5 mm. Sumur pada gel dibuat dengan diameter 5 mm dengan jarak antar sumur 12 mm. Sebanyak 20 μl sampel *whey* yang akan diukur kandungan laktoferinnya dimasukkan ke dalam sumur. Sebagai standar, laktoferin dari susu sapi dan laktoferin dari kolostrum sapi (Sigma-Aldrich Co) masing-masing dengan konsentrasi 1,17 mg/ml dan 11,7 mg/ml dimasukkan ke dalam sumur.

Elektroforesis SDS-Page (Sigma, 1988). Sampel susu sebanyak 100 μl di tambahkan 50 μl *dissociated buffer*, kemudian dipanaskan selama tiga menit. Setelah dipanaskan ditambahkan 50 μl merkaptoetanol hingga terbentuk warna biru, kemudian dipanaskan kembali selama 5 menit dalam waterbath. Sampel sebanyak 20 μl dimasukkan ke dalam sumur gel akrilamid kemudian diatas gel dituangkan buffer elektroda untuk bagian katoda dan juga di bawahnya untuk bagian anoda. Elektroforesis dijalankan dengan arus 30 mA selama 2 jam. Turunnya sampel elektroforesis diawasi sampai 1 cm dari anoda (bagian bawah). Setelah selesai running, agar di ambil kemudian difiksasi dengan larutan TCA. Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel pada Coomassie Brilliant Blue R selama 3 jam atau dimalamkan. Setelah itu pewarnaan kembali dilakukan dengan merendam gel pada Coomassie Brilliant Blue R selama 3 jam. Setelah itu, dimasukkan ke dalam air (akuades). Pita protein yang terlihat akan berwarna biru. Hasil yang didapatkan kemudian diukur berdasarkan panjang pita protein kemudian dibandingkan dengan panjangnya migrasi protein (zonabiru) yang terbentuk.

$$R_f = \frac{\text{Panjang pita protein}}{\text{Panjang jalannya (zona biru) protein}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Kolostrum dan Susu Kambing

Hasil uji kualitas susu yang meliputi pengukuran kadar air, protein, lemak serta uji fisik kolostrum dan susu kambing (Tabel 3) masih sesuai dengan SNI 01-3141-1998 yaitu kadar lemak minimal 3,0% ; bahan kering tanpa lemak (BKTL) minimal 8,0% ; kadar protein minimal 2,7%, sedangkan untuk uji fisik warna, bau, rasa dan kekentalan tidak ada perubahan (BSN, 1998)

Tabel 3. Uji Kualitas Kolostrum dan Susu Kambing

Jenis Susu	Warna	Bau	Kekentalan	KA	Lemak	Protein
Kolostrum Kambing PE	Normal	Normal	Normal	81,74	6,33	5,46
Susu Kambing PE	Normal	Normal	Normal	88,47	4,33	2,68
Susu Kambing Kacang	Normal	Normal	Normal	-	-	4,094

Keterangan : KA = kadar air

Secara fisik (warna, bau dan kekentalan) kualitas kolostrum dan susu yang digunakan masih dalam keadaan baik. Warna tidak ada perubahan dari warna putih susu, namun warna kolostrum lebih kuning. Perbedaan warna antara kolostrum dan susu kambing dikarenakan komposisi di dalamnya yang berbeda. Kandungan lemak dan protein (kebanyakan serum protein) kolostrum yang lebih banyak dari susu normal (Fox dan Sweeney, 1998). Kekentalan sampel susu masih dalam kondisi baik, karena susu belum menggumpal (basi) yang diakibatkan oleh kontaminasi mikroorganisme. Bau susu kambing khas dengan bau prengus, namun hal tersebut tidak terlalu mempengaruhi kualitas, namun dapat mempengaruhi tingkat kesukaan.

Susu kambing kacang mempunyai kandungan protein lebih tinggi yaitu 4,095%, dibandingkan dengan susu kambing PE 2,68%. Data tersebut menunjukkan bahwa kadar protein susu kambing PE dan kambing kacang masih sesuai ketentuan SNI (Lampiran 1) dimana kandungan protein susu segar minimum 2,7% (BSN, 1998). Perbedaan yang terjadi pada susu kambing PE dan susu kambing kacang kemungkinan dipengaruhi oleh pakan yang dikonsumsi. Kambing kacang yang biasa digembalakan di sekitar pekarangan kemungkinan mengkonsumsi tanaman-tanaman yang merupakan pakan sumber protein seperti legum (Diggins dan Dundy, 1969) dan

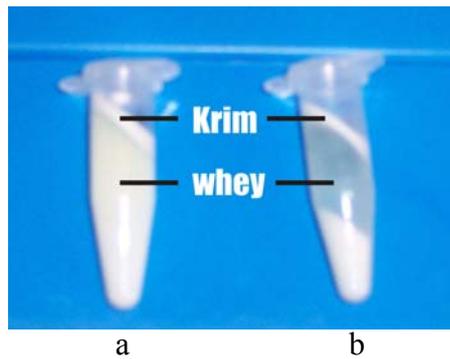
pengaruh genetik dari bangsa kambing. Kandungan lemak susu PE 4,33 %, hasil tersebut masih sesuai dengan standar SNI 01-3141-1998 yaitu kadar minimum lemak 3,0 % (BSN, 1998).

Kolostrum mempunyai kandungan protein dan lemak lebih tinggi dibandingkan susu yaitu 5,46 % dan 6,33%. Kolostrum yang merupakan susu awal mempunyai kandungan protein lebih tinggi dibandingkan dengan susu biasa (Walstra dan Jenness, 1984). Kolostrum mulai hari ke 4-5 berubah menjadi susu biasa, sekaligus mengubah komposisi zat yang terkandung di dalamnya menjadi komposisi susu biasa, seperti pernyataan Fox dan Sweeney (1998), bahwa kandungan lemak susu akan turun 4-6 hari setelah melahirkan. Variasi komposisi kolostrum dan susu dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain karakteristik individu, ras atau bangsa ternak, pakan yang dikonsumsi sebelum melahirkan, jarak periode kering kandang dan waktu pengambilan kolostrum setelah melahirkan (Pritche *et al.*, 1991; Kume dan Tanabe, 1993; Brandono *et al.*, 2004)

Pemisahan Whey Kolostrum dan Susu Kambing

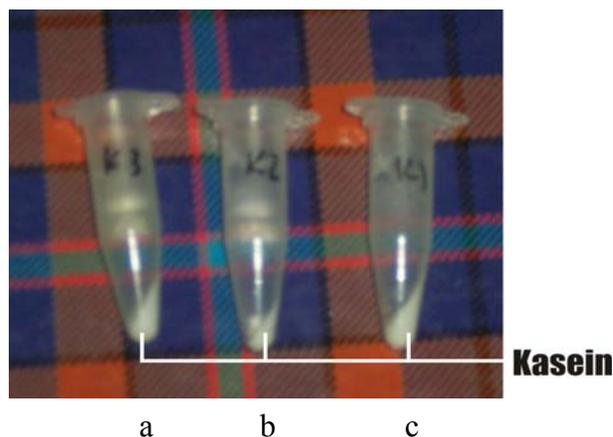
Protein susu mengandung kasein dan whey, kandungan kasein dalam susu sekitar 80%. *Whey* mengandung beberapa unit protein antara lain α -laktalbumin, β -laktoglobulin, serum albumin, laktoferin, dan bagian whey protein lain, pemisahan dapat dilakukan dengan menurunkan pH menjadi 4,6 (Walstra dan Jenness, 1984).

Hasil yang didapatkan dari pemisahan krim (Gambar 2), setelah disentrifuse krim menggumpal dan membentuk lapisan di bagian atas, sedangkan skim menjadi cairan bening. Pemisahan krim pada kolostrum menghasilkan cairan keruh namun krim bisa terpisah terlihat dengan terbentuknya gumpalan krim pada bagian atas kolostrum. Perbedaan berat jenis antara krim dan skim susu membuat keduanya dapat dipisahkan. Krim mempunyai berat jenis lebih rendah dibanding dengan skim (Muir, 1998). Berat jenis krim yang lebih kecil memudahkannya untuk dipisahkan dengan sentrifuse (diputar), suhu dan waktu sentrifuse juga berpengaruh terhadap pemisahan krim (Judkins dan Kenner, 1966).



Gambar 2. Hasil Pemisahan Krim Susu dengan Sentrifuse ;
a). Kolostrum ; b). Susu Kambing

Pemisahan kasein dilakukan dengan membuat susu menjadi asam, dengan menambahkan HCl 1 N hingga didapatkan pH 4,6. Pemisahan kasein (Gambar. 3) dengan menambahkan asam (HCl 0,1N) mengakibatkan kasein pecah dan mengumpal, sentrifuse berfungsi untuk mempercepat mengendapkan kasein sehingga pemisahan whey akan menjadi lebih mudah. Pemisahan ini membentuk endapan kasein dan whey susu yang berbentuk cairan bening. Pengendapan kasein, menurut Walstra dan Jenness (1984) akan terjadi pada pH 4-5 meliputi semua fraksi kasein kecuali beberapa turunan proteolitik. Hal ini terjadi karena kondisi asam akan menurunkan sifat kelarutan kasein. Penurunan ini disebabkan karena kasein telah mencapai titik isoelektrik yaitu pada pH 4,6 (Muir, 1998).



Gambar 3. Hasil Pemisahan Kasein Susu ; a). Susu Kambing Kacang I ;
b). Susu Kambing Kacang II ; c). Susu Kambing Kacang III

Tahap akhir pemisahan whey, dilakukan netralisasi *whey* dengan menambahkan NaOH 1N hingga tercapai pH netral sekitar 6,8. Pada tahap ini

diharapkan akan terjadi pemisahan globulin dan fraksi lain yang belum terpisah seperti immunoglobulin. Tahap terakhir pemisahan *whey*, masih terbentuk endapan dan gumpalan pada bagian atas, ini kemungkinan terjadi karena pemisahan yang belum sempurna pada tahap pemisahan krim maupun pemisahan kasein. *Whey* hasil pemisahan pada kolostrum terbentuk cairan keruh. Pengendapan lemak dan kasein yang belum sempurna bisa menyebabkan *whey* masih keruh, menurut Fox dan Sweeney (1998) pengendapan kasein akan lebih sempurna jika dilakukan pada suhu tinggi (30-37⁰C) dari pada suhu rendah (2⁰C), pengendapan pada suhu tinggi akan membuat kasein terpisah dari misel. Kecepatan sentrifuse kemungkinan mempengaruhi kesempurnaan proses pemisahan *whey*, pemisahan *whey* yang lakukan Yoshida *et al.*, 2000, menggunakan kecepatan sentrifuse 10.000g ≈15.000rpm, *whey* susu sapi dapat terpisah dengan baik.

Identifikasi Laktoferin Pada Kolostrum dan Susu Kambing dengan Metode *Single Radial Immunodifusi Test* (SRID)

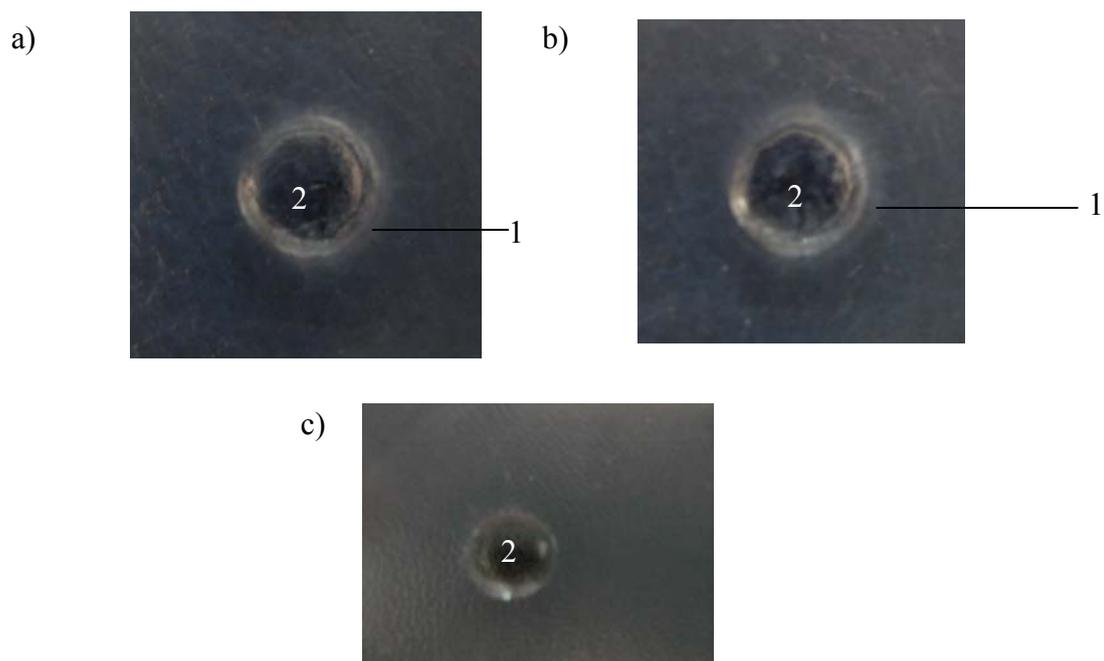
Metode *single radial Immunodifusi* digunakan untuk mengukur jumlah immunoglobulin dan bermacam-macam protein plasma. Terjadinya reaksi antara protein plasma dengan antigen yang dicampurkan pada agar akan membentuk cincin presipitan (Tsuji *et al.*,1990). Cincin presipitan yang terbentuk berwarna putih yang mengelilingi sumur. Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter cincin tersebut. Diameter cincin presipitan dari kolostrum dan susu kambing bisa dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 . Hasil Uji SRID pada Kolostrum dan Susu Kambing

Jenis Susu	Cincin Presipitan (mm)
Kolostrum PE	1,39
Susu PE	1,06
Susu Kambing Kacang	0

Identifikasi laktoferin dengan metode *Single Radial Immunodifusi*, dilakukan dengan mengkonfrontasikan antara laktoferin dengan antilaktoferin. Antilaktoferin yang digunakan adalah *human-antilactoferrin*. Laktoferin yang diuji berasal dari kolostrum dan susu kambing PE serta susu kambing kacang. Kendala yang dihadapi adalah belum diketahui secara pasti konsentrasi laktoferin dalam kolostrum dan susu kambing, karena dalam penggunaan harus disesuaikan dengan

antigen. Uji *Single Radial Immunodiffusi* pada kolostrum PE menunjukkan hasil dengan terbentuknya cincin presipitan sebesar 1,39 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kolostrum PE mengandung laktoferin cukup tinggi. Kolostrum menurut Walstra dan Jenness (1984), merupakan susu pertama yang disekresikan setelah melahirkan yang berbeda dengan susu normal dan mempunyai kandungan protein serum yang sangat tinggi. Laktoferin pada susu sapi akan berjumlah banyak saat 24 jam setelah melahirkan (Tsuji *et al.*, 1990). Cincin presipitan yang terbentuk diduga adalah laktoferin yang merupakan bagian dari serum protein, asumsi ini berdasarkan penggunaan antigen yang digunakan yaitu *human-antilactoferrin*. Laktoferin yang terkandung dalam kolostrum diperkirakan mempunyai konsentrasi lebih tinggi dari 11,7 mg/ml, karena identifikasi yang dilakukan menggunakan laktoferin murni dengan konsentrasi 11,7 mg/ml tidak dapat membentuk cincin presipitan di sekeliling sumur.



Gambar 4. Hasil Uji Immunodiffusi ; a). Kolostrum Kambing PE ;
b). Susu Kambing PE ; c). Susu Kambing Kacang ;
1. Cincin Presipitan ; 2. Lubang Sumur

Penelitian yang dilakukan oleh Tsuji *et al.* (1990), pada susu sapi dengan konsentrasi 11, 77 mg/ml dapat terdeteksi dengan metode *Single Radial Immunodiffusi*, namun

jika konsentrasinya lebih rendah atau sama dengan konsentrasi standar laktoferin murni, maka laktoferin pada tidak akan dapat dideteksi.

Susu PE mempunyai kandungan laktoferin yang jumlahnya cukup tinggi. Pernyataan tersebut berdasarkan hasil dari cincin presipitan yang terbentuk sebesar 1,06, sedangkan susu kambing kacang tidak membentuk cincin presipitan (0 mm). Berdasarkan standar dari laktoferin murni yang digunakan (11,7 mg/ml), hasil tersebut secara semikuantitatif dapat diperkirakan bahwa kandungan laktoferin dalam susu PE lebih tinggi dari 11,7 mg/ml, namun jika dibandingkan konsentrasi laktoferin pada kolostrum, konsentrasi laktoferin susu kambing PE lebih rendah. Konsentrasi laktoferin susu kambing kacang diperkirakan lebih rendah atau sama dengan 11,7 mg/ml berdasarkan standar laktoferin standar murni yang digunakan yaitu 11,7 mg/ml. Laktoferin pada kolostrum susu sapi mempunyai konsentrasi 1250 mg/kg, dalam susu normal konsentrasi laktoferin lebih rendah dari 100 mg/kg (Fox dan Sweeney, 1998). Konsentrasi laktoferin akan menurun setiap hari setelah melahirkan (Tsuji *et al.*, 1990). Kandungan laktoferin pada ternak bervariasi antara 17,1 sampai 129 mg/l selama periode laktasi normal (Yoshida *et al.*, 2000).

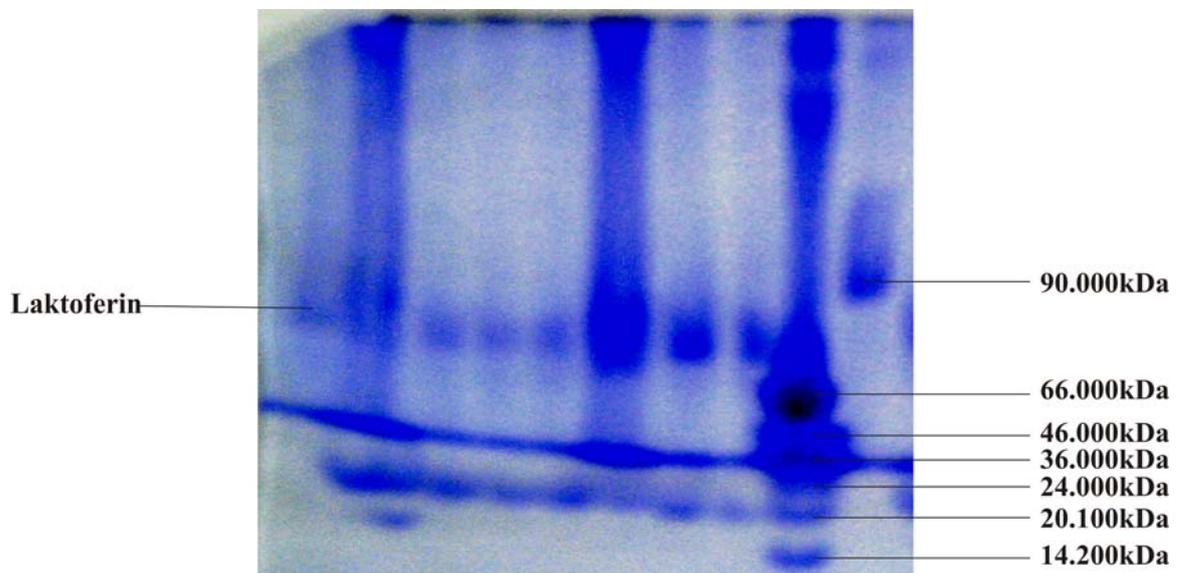
Identifikasi Kandungan Laktoferin dari Kolostrum dan Susu Kambing dengan Metode SDS-PAGE

Identifikasi dengan elektroforesis SDS-PAGE biasanya dipergunakan untuk memisahkan subunit-subunit yang terkandung dalam protein serta memperkirakan berat molekulnya dengan tingkat kesalahan 5% (Sigma, 1988). Pita protein yang muncul pada proses ini memperlihatkan pita protein dengan bobot molekul yang berbeda (Sigma, 1988). Subunit protein dengan dengan bobot molekul lebih besar akan muncul di bagian atas dari *running gel* sedangkan subunit dengan bobot molekul yang lebih rendah akan muncul di bagian bawah (Sigma, 1988).

Elektroferesis dengan SDS-PAGE dilakukan untuk memperkuat asumsi tentang keberadaan laktoferin pada kolostrum dan susu kambing khususnya susu kambing kacang yang pada uji RID tidak dapat dideteksi. Laktoferin pada susu kambing kacang yang tidak terdeteksi diduga karena konsentrasi yang terkandung di terlalu rendah sehingga tidak dapat bereaksi dengan antigen yang digunakan. Uji ini dapat digunakan untuk membuktikan keberadaan laktoferin dalam susu tersebut, karena uji ini dapat memisahkan subunit protein berdasarkan berat molekulnya. Berat

molekul Laktoferin menurut Hurley *et al.* (1993) berkisar antara 83 kDa-84 kDa. Laktoferin menurut Yoshida *et al.* (2000) di bagi menjadi dua tipe yaitu laktoferin-a dan laktoferin-b dengan bobot molekul masing-masing 84 kDa dan 80 kDa.

Hasil pengujian dengan elektroforesis yang ditampilkan pada gambar 5, memperlihatkan adanya pita yang diduga laktoferin pada kolostrum dan susu kambing PE serta kambing kacang. Pita protein yang terlihat pada susu kambing kacang berada lebih rendah dari pita protein standar laktoferin (90 kDa) namun berada di atas pita albumin (66 kDa) (Sigma, 1988).



Gambar 5. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Kolostrum dan Susu Kambing PE serta Susu Kambing Kacang dengan Konsentrasi 7,5% ;
1. Susu PE; 2. Kolostrum PE; 3. Susu Kambing Kacang I ;
4. Susu Kambing Kacang II ; 5. Susu Kambing Kacang III ;
6-8. Susu Domba ; 9. Marker ; 10. Standar Laktoferin

Pita laktoferin yang didapatkan mempunyai bobot molekul 73,441 kDa untuk susu kambing kacang dan susu kambing PE sedangkan untuk kolostrum PE bobot molekul yang didapatkan sebesar 74,991 kDa. Bobot molekul laktoferin menurut Yoshida *et al.* (2000) sekitar 80-84 kDa. Nibbering *et al.*(2001) menggunakan laktoferin dari susu manusia dengan bobot molekul 77.000 Da hasil pemurnian dengan menggunakan kromatografi penukar kation. Hasil SDS-PAGE mendukung keberadaan laktoferin yang terkandung dalam susu kambing kacang yang dalam uji *Single Radial Immunodiffusi* tidak dapat membentuk cincin presipitan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kolostrum dan susu kambing PE serta susu kambing kacang mempunyai kandungan laktoferin, namun konsentrasi laktoferin kolostrum dan susu PE secara semikuantitatif lebih tinggi dari kandungan laktoferin susu kambing kacang. Bobot molekul yang didapatkan dari kolostrum kambing PE yaitu 74,991 kDa sedangkan pada susu Kambing PE maupun kambing kacang sebesar 73,441 kDa.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang :

- Identifikasi dan pengukuran kadar laktoferin dengan metode lain yang lebih sesuai sehingga konsentrasi laktoferin dalam susu kambing dapat diketahui.
- Pengukuran laktoferin pada kolostrum dan susu kambing dengan waktu pemerahan yang berbeda
- Modifikasi ransum untuk meningkatkan kandungan laktoferin pada kolostrum dan susu kambing

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan Syukur kehadiran Allah SWT dengan karunia dan rahmat-Nya yang telah melimpahkan nikmat tak terhingga dan hanya dengan pertolongan-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Sholawat dan salam semoga tercurah kepada tauladan kita Rosulullah SAW, salam kepada keluarganya, sahabatnya dan umatnya yang istiqomah hingga hari akhir.

Skripsi ini Penulis persembahkan kepada kedua Orangtua yang telah memberikan pengorbanan luar biasa baik materi maupun motivasi. Ucapan terima kasih juga sampaikan kepada Dr. Ir. Rarah R. A. Maheswari, DEA dan Irmanida Batubara, S.Si., M.Si yang dengan sabar telah membimbing, mengarahkan, dan membantu penyusunan usulan proposal hingga tahap akhir penulisan skripsi. Saran-saran, nasehat dan ilmu yang telah terbagi merupakan pengalaman yang berharga bagi penulis. Ucapan terima kasih Penulis sampaikan juga kepada Dr.Ir. Tantan R. Wiradarya, PhD atas bimbingan akademik dan motivasinya kepada Penulis sampai akhirnya Penulis dapat menyelesaikan pendidikan.

Ucapan terima kasih Penulis sampaikan segenap pegawai Kelurahan Babakan dan Kecamatan Tenjo yang telah membantu dalam pengadaan bahan baku penelitian, Sekretaris Desa Babakan, Kecamatan Tenjo yang telah meluangkan waktu untuk menemani Penulis mengumpulkan sampel. Kepada teman-teman THT'39 atas motivasi yang diberikan, dan adik-adikku THT 40 dan 41. Kepada keluarga besar Bagian IPT-Perah, Joni Setiawan, Ari Retnowati, Upik Hidayat, temen-temen tim penelitian A2, Al-Izzah crew's, adik-adik AK-12 dan temen-temen yang telah membantu baik motivasi maupun materi selama penelitian.

Terakhir Penulis ucapkan terima kasih banyak kepada civitas akademika Fakultas Peternakan IPB. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi yang membacanya.

Bogor, September 2006

Penulis

DAFTAR PUSTAKA

- Abe H., H. Saito, H. Miyakawa, Y. Tayura, S. Shimamura, E. Nagao dan M. Tomita. 1991. Nutritional Science Laboratory Morinaga Milk Industry., Ltd. No. 1-83, Chome, Higashara, Zama-city, Kanagawa-Pref, Japan 228. Journal of Dairy Science. 74 : 65-71.
- Badan Standarisai Nasional (BSN). 1992. SNI 01-2891-1992 : Cara Uji Makanan dan Minuman. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standarisai Nasional (BSN). 1998. SNI 01-2782-1998 : Metode Pengujian Susu Segar. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standarisai Nasional (BSN). 1998. SNI 01-3141-1998 : Susu Segar. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Barrionuevo, M., M. J. M Alferez, I. L. Aliaga, M. R. S. Sampelayo dan M. S. Campos. 2002. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. J. Dairy Sci. 85:657–664.
- Brandano, P., S.P.G, Rasso dan A. Lanza. 2004. Feeding dairy lamb. **Dalam** : Pulina, G dan R. Bencini (Editor). Dairy Sheep Nutrition. CABI Publishing , Walingford.
- Branen, A. L. dan P.M. Davidson. 1983. Antimicrobial in Food. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Buckle, K. A, R. A. Edward, G. H. Fleet dan M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan, Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Conner, D. E. 1993. Naturally occurring compounds. **Dalam** : P. M. Davidson, A. L. Branen (Editors). Antimicrobial in Food. 2nd Edition. Marcel Dekker, inc., New York.
- Davendra, D., dan M. Burn. 1994. Produksi Kambing di Daerah Tropis. Terjemahan IDK Karya Putra. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Diggins, R. V dan C. E. Dundy. 1969. Dairy Production. Prectise-Hall, Inc, Englewood, New York.
- Esfandiari, A. 2005. Sapi asuh anak kambing, [Http:// www.ipb.ac.id/pariwara](http://www.ipb.ac.id/pariwara).
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pengolahan Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fox, P. F. dan M. L. H. McSweeney. 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry. Blackie Academic and Proffesional.
- Frenc, M. H. 1970. Observation of The Goat. FAO, Rome.

- Joesoep, E.T. 1986. Beberapa Parameter Genetik Sifat Kumulatif Kambing Peranakan Etawah. Tesis. Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Judkins, H.F. dan H.A. Keener. 1966. Milk Production and Processing. John Willey and sons, Inc. New York.
- Hurley, W. L., R. C. J. Grieve, C. E. Magura, H. M. Hegarty dan S. Zou. 1993. Electrophoretic comparisons of lactoferrin from bovine mammary secretions, milk neutrophils and human milk. *Journal of Dairy Science*. 76: 377-387.
- Kent Laboratories. 2006. Radial Immunodiffusion Plate Insert. http://www.kentlabs.com/rid_insert.html.
- Kume, S dan S, Tanabe. 1993. Comparison of lactoferrin content in colostrums between different cattle breeds. *J. Dairy Sci*. 73:125-128.
- Mancini, G., A. O. Carbonara dan J. F. Heremans. 1965. Immunochemical quantitations of antigen by sibgle radial immunodiffusion. *Immunochemistry*. 2:235.
- Morgante, M. 2004. Digestive disturbances and metabolic-nutritional disorders. **Dalam** : G. Pulina dan R. Bencini (Editors). Dairy Sheep Nutrition. CABI Publishing, Wallingford.
- Muir, D. D. 1998. Milk Chemistry dan nutritrive value. **Dalam**. Ralph, E. The Technology of Dairy Product and Processing. Blackie Academic and Proffesional.
- Mulyono, S. 2003. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya, Depok.
- Naim, M. 2003. Protein Antimikroba pada Susu. [Http://republika.or.id/-berita](http://republika.or.id/-berita).
- Naidu, A. S. 2003. Antimicrobials from animals. **Dalam** : S. Roller (Editor). Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Nibbering,P. H., E. Ravensbergen, M. M. Welling, L. A. van Berkel, P. H. C. van Berkel, E. K. J. Pauwels, dan J. H. Nuijens. 2001. Human lactoferrin and peptides derived from its n terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria. *Infection and Immunity*. 69 (3): 1469-1476.
- Pana, Z. K. 2004. Perbandingan pengaruh susu kambing dan susu kuda sumbawa terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in Vitro*. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- PDRhealt. 2005. Lactoferrin. [Http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrug-profiles/Nutsupdrugs](http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrug-profiles/Nutsupdrugs).

- Pritchett, L. C., C. C. Gay, T. E. Besser dan D. D. Hancock. 1991. Management and production factors influencing immunoglobulin G₁ concentration in colostrum from holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 74:2336-2341.
- Pulina, G. dan A. Nudda. 2004. Milk production. **Dalam** : G. Pulina dan R. Bencini (Editors). *Dairy Sheep Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford
- Rahman, A., S. Fardiaz, W.P. Rahayu dan C.C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Pusat Antar Universitas-Pangan dan Gizo, Institut Pertanian Bogor.
- Razafindrakoto, O., N. Ravelomanana, A. Rasolofo, R. D. Rakotoarimanana, P. Gourgue, P. Coquin, A. Briend dan J. F. Desjeux. 1994. Goat's milk as a substitute for cow's milk in undernourished children: a randomized double-blind clinical trial. *J. Dairy Sci*. 94(1): 65-69.
- Robblee, E. D., P. S. Erickson, N. L. Whitehouse, A. M. McLaughlin, C. G. Schwab, J. J. Rejman, dan R. E. Rompala. 2003. Supplemental laktoferrin improves health and growth of holstein calves during the preweaning phase^{1,2}. *J. Dairy Sci*. 86:1458–1464.
- Sigma Chemical Company. 1998. SDS Molecular Weight Marker in Discontinuous Buffer. Technical Buletin. MWS-877L.
- Spreer, E. 1998. *Milk and Dairy Product Technology*. Translated: A. Mixa. Marcel Dekker, inc., New York.
- Steel, R.G.D dan J.H.Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik : Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan : B. Sumatri. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Takakura, N., H. Wakabayashi, H. Ishibashi, S. Teraguchi, Y. Tamura, H. Yamaguchi, dan S. Abe .2003. Oral laktoferrin treatment of experimental oral candidiasis in mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47(8):2619–2623.
- Tambing S.N. 2004. Susu Kambing. www.jphpk.gov.my/Malay/susukambing.
- Tomaszewska, M.W, I.M. Mastika, A. Djajanegara, S. Gardiner, dan T.R. Wiradarya. 1993. *Produksi Kambing dan Domba di Indonesia*. Sebelas Maret University Press. Surakarta.
- Tsuji, S., Y. Hirata dan F Mukai. 1990. Comparison of laktoferrin content in colostrum between differencnt cattle breeds. *Journal of Dairy Science*. 73:125-128.
- Yoshida, S., Z. Wei, Y. Shinmura dan N. Fukuga. 2000. Separation of laktoferrin-a and -b from bovine colostrums. *J. Dairy Sci*. 83 : 2211-2215.

Walstra, P. dan R. Jenness. 1984. Dairy Chemistry and Physics. John and Wiley and sons, Inc. New York.

Wei, Z, T. Nishimura dan S. Yoshida. 2001. Characterization of glycan in lactoferrin isoform, lactoferrin-a. J. Dairy Sci. 84 : 2584-2590.

Wikipedia Indonesia. 2004. SDS-PAGE. [Http: //en.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE](http://en.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE) .

Wikipedia Indonesia. 2004. Antibiotik. [Http: //id.wikipedia.org/wiki/antibiotik](http://id.wikipedia.org/wiki/antibiotik) .

LAMPIRAN

Lampiran 1. Standar Komposisi Lemak, BKTL, Protein dan Organoleptik Susu Segar

Komposisi	Jumlah
Kadar lemak minimum	3,0%
Kadar bahan kering tanpa lemak	8,0%
Kadar protein minimum	2,7%
Warna, bau dan rasa	tidak ada perubahan

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (1998)

Lampiran 2. Hasil Analisa Proksimat Kolostrum dan Susu Kambing PE

Sample	Ka	Abu		Lemak		Protein	
		B. segar	B. kering	B. segar	B. kering	B. segar	B. kering
	(%).....					
Kol.PE	81,74	0,66	0,36	6,33	34,67	5,46	29,90
Susu PE	88,47	0,72	0,38	4,33	37,55	2,68	23,24

Lampiran 3. Bahan-bahan Analisis Laktoferin dengan SDS-PAGE

1. Akrilamid/Bis 30%

Akrilamidat sebanyak 30 g dan N,N,-Bis-methylene-acrylamide sebanyak 0,8 g dilarutkan dalam 100 ml akuades, saring dan simpan pada suhu 4°C.

2. Tris-HCl 0,5 M pH 8,8.

Tris Base sebanyak 6,06 g dilarutkan dalam 40 ml akuades. Diatur pH hingga 8,8 dengan HCl 1 N. Tepatkan hingga 100 ml dengan akuades dan simpan pada suhu 4°C.

3. Tris-Glycine pH 8,3.

Tris Base sebanyak 12 g dan 57,6 g glycine dilarutkan dalam 1.900 ml akuades. Diatur pH hingga 8,3 dengan HCl 1 N. Tepatkan hingga 2.000 ml dengan akuades dan simpan pada suhu 4°C.

4. Sodium dodesil sulfat (SDS) 10 %.

SDS sebanyak 10 g dilarutkan ke dalam 75 ml akuades, diaduk perlahan hingga homogen. Tepatkan hingga 100 ml dengan akuades.

5. Ammonium persulphate.

Ammonium persulphate sebanyak 0,5 g dilarutkan ke dalam 4,5 ml akuades. Selalu dibuat baru setiap pengujian.

6. Larutan fiksasi.

12% Trichloroacetic acid (TCA)

7. Larutan Pewarna (Staining).

Coomassie Blue R-250 sebanyak 0,125 g ditambahkan ke dalam 1000 ml larutan metanol:akuades:asam asetat (5:4:1).

8. Larutan Destaining metanol.

Metanol:akuades:asam asetat (5:4:1)

9. Komposisi Reservoir Buffer pH 8,3

Nama Bahan	Jumlah
Akuades	8.900 ml
Tris-Glycine stock	1000 ml
Sodium dodesil sulfat (SDS) 10 %	100 ml

10. Komposisi Dissociation buffer

Nama Bahan	Jumlah
Akuades	10,0 ml
Tris-HCl 0,5 M pH 8,8	5,0 ml
Glycerine	5,0 ml
Sodium dodesil sulfat (SDS) 10 %	10,0 ml
Mercapto ethanol	0,5 ml
Bromophenolblue 5 % (b/v)	0,5 ml

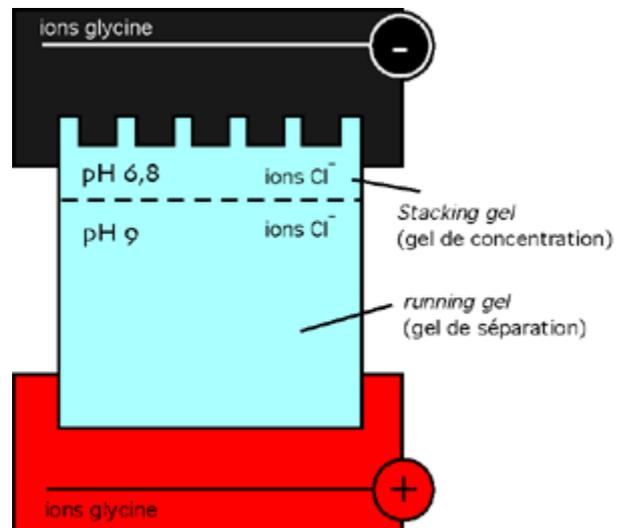
11. Komposisi Running Gel

Nama Bahan	Gel 7,5%	Gel 10%
Akuades	24,4 ml	20,4 ml
Tris-HCl 3,0 M pH 8,9	5,0 ml	5,0 ml
Sodium dodesil sulfat (SDS) 10%	0,4 ml	0,4 ml
Akrilamida/Bis 30%	10 ml	14 ml
Ammonium persulfat 10%	0,4 ml	0,4 ml
N'N'N'N Tetramethylethylene diamine (TEMED)	0,02 ml	0,02 ml

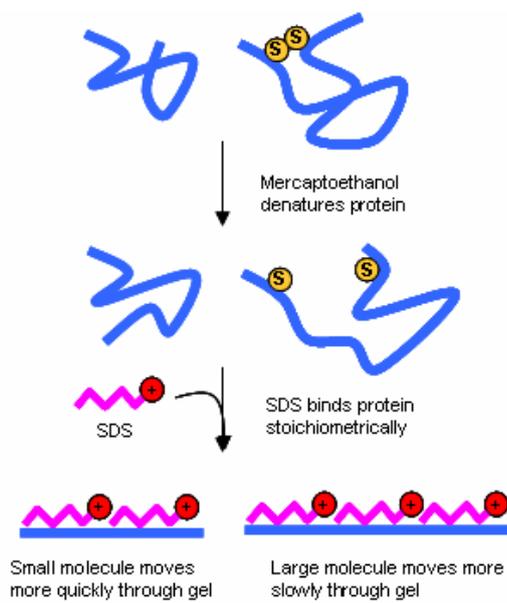
12. Stacking Gel 3%

Nama Bahan	Jumlah
Akuades	7,54 ml
Tris-HCl 0,5 M pH 7,0	1,25 ml
Sodium dodesil sulfat (SDS) 10%	0,1 ml
Akrilamida/Bis 30%	1,0 ml
Ammonium persulfat 10%	0,1 ml
N'N'N'N Tetramethylethylene diamine (TEMED)	0,005 ml

Lampiran 3

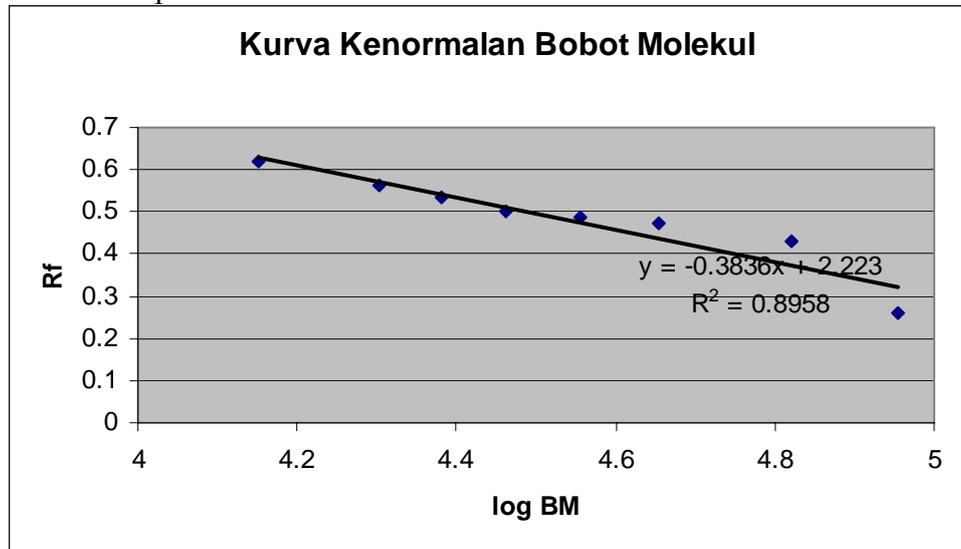


Gambar 4. Elektroforesis



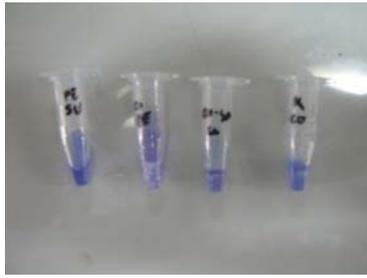
Lampiran 5. Proses Denaturasi Protein oleh Merkaptotetanol dan SDS

Lampiran 6. Kurva Normalitas Bobot Molekul Protein Standar

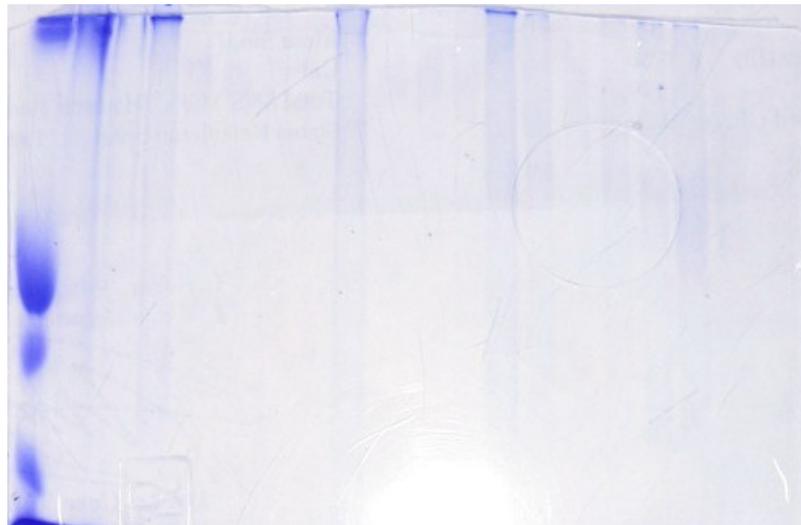


Lampiran 7. Berat Molekul Protein Standar

Jenis Protein	Bobot Molekul	Relative Mobility (Rf)
Lactoferrin, bovine milk	90.000	0,2587
Bovine Albumin	66.000	0,4285
Egg Albumin	45.000	0,4714
Glyceraldehydes-3-phosphate, rabbit muscle	36.000	0,4857
Carbonic anhydrase, Bovine erythrocytes	29.000	0,5000
Trypsinogen, Bovine pancreas	24.000	0,5357
Trypsin inhibitor, soybean	20.100	0,5642
α -Lactalbumin, bovine milk	14.200	0,6214



Lampiran 8. Gambar Sampel dan Alat Elektroforesis



Lampiran 9. Gambar Hasil SDS-PAGE 10%

