

86

**LAPORAN HASIL PENELITIAN FUNDAMENTAL
TAHAP I**



**PENYEDIAAN, PEMURNIAN DAN SENSITIVITAS
ANTISERUM POLIKLONAL LOKAL
SEBAGAI BAHAN UJI IMUNOKIMIA LEMAK HEWANI**

**OLEH
DRA. MURNIATY SIMORANGKIR, MS
DRA. ERLINTAN SINAGA, MKES**

Dibiayai Oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional, Sesuai dengan Surat Perjanjian Hibah Penugasan Penelitian Fundamental No. 199/SP2H/PL/Dit. Litabmas/IV/2011 Tanggal 14 April 2011

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN KIMIA
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
2011**

**HALAMAN PENGESAHAN USUL PENELITIAN
FUNDAMENTAL TAHAP II**

1. Judul Penelitian : **PENYEDIAAN, PEMURNIAN DAN SENSITIVITAS ANTISERUM POLIKLONAL LOKAL SEBAGAI BAHAN UJI IMUNOKIMIA LEMAK HEWAN**


Peneliti Utama

- a. Nama Lengkap : **Dra. Murniaty Simorangkir.MSi**
 - b. Jenis Kelamin : **Perempuan**
 - c. NIP : **195905041984032001**
 - d. Pangkat/Golongan : **Pembina Utama Muda/IV/C**
 - e. Jabatan Struktural : **-**
 - f. Jabatan Fungsional : **Lektor Kepala**
 - g. Fakultas/Jurusan : **FMIPA/Kimia**
 - h. Pusat Penelitian : **Lembaga Penelitian Unimed**
 - i. Alamat : **Jl.William Iskandar Psr V Medan Estate
Kotak Pos No. 1589 Medan (20221)**
 - j. Telefon/Faks : **(061) 613365 - 613319/Faks No. (061)614002 - 613319**
 - k. Alamat Rumah : **Jl.Sei Siguti No. 35 Medan Petisah**
 - l. Telefon/Faks : **(061) 4569839**
 - m. E-mail : **murnisimor@gmail.com**
- 2. Usul Jangka Waktu Penelitian** : **dua tahun**
- 3. Pembiayaan**

Biaya Dikti

- a. Biaya Tahun I : **Rp. 36.500.000,- (Disetujui tahun 2011)**
- b. Biaya Tahun II : **Rp. 40.000.000,- (Diusulkan untuk Tahun Anggaran 2012)**

c. Biaya dari Instansi Lain : -

Mengesahui,
Dekan FMIPA Unimed

Prof. Drs. Murniah, MSc,PhD
NIP.195908051986011001

Medan, 14 November 2011
Ketua Peneliti


Dra. Murniaty Simorangkir. MSi
NIP. 195905041984032001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Medan

DR. Ridwan Abd. Sani.MSi
NIP.196401011988031002

RINGKASAN

PENYEDIAAN, PEMURNIAN DAN SENSITIVITAS ANTISERUM POLIKLONAL LOKAL SEBAGAI BAHAN UJI IMUNOKIMIA LEMAK HEWANI*

Murniaty Simorangkir dan Erlintan Sinaga**

Beredarnya daging babi dan celeng di pasar-pasar, bakso babi, dendeng babi selama bulan Ramadhan, adanya produk kosmetik menggunakan asam lemak babi dan gliserin menuntut perlu dikembangkan metode identifikasi spesies asal lemak hewani dan komponen lemak untuk menjamin keamanan dan kehalalan serta melindungi konsumen dari pemalsuan informasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cara penyediaan dan pemurnian antiserum poliklonal lokal sebagai bahan uji imunokimia spesies asal lemak daging hewani dan komponennya yang mempunyai sensitivitas tinggi.

Penelitian direncanakan berlangsung dua tahap yaitu tahap I tentang cara menyediakan dan mengukur titer antilemak hewani (lokal) dan tahap II tentang pemurnian dan pengukuran sensitivitas antilemak hewani (lokal) tersebut pada pengujian spesies asal lemak daging hewani. Tahap I telah selesai dilakukan di Laboratorium Biokimia Unimed dan tahap II direncanakan dilakukan di Laboratorium Biokimia Unimed dan Laboratorium Biokimia IPB Bogor.

Hasil penelitian tahap I, telah dapat disediakan antilemak hewani dan antiserum hewani melalui penyuntikan lemak dan serum hewani asing pada kelinci. Antilemak hewani tersebut adalah antilemak babi, antilemak celeng, antilemak sapi, antilemak tikus dan antiserum babi, antiserum celeng, antiserum sapi dan antiserum tikus. Besar titer antilemak hewani adalah rata-rata 4, kecuali titer antilemak tikus adalah 2. Sedangkan titer antiserum hewani lebih besar dari antilemak yaitu rata-rata 8, kecuali titer antiserum tikus adalah 4. Titer antiserum menunjukkan faktor pengenceran antiserum (antibodi) yang masih mampu bereaksi dengan antigen secara *in vitro*. Penelitian selanjutnya direncanakan untuk memurnikan antilemak dan antiserum hewani tersebut dan mengukur sensitivitasnya sebagai bahan uji pada pengujian lemak dan komponen lemak hewani secara imunokimia.

* Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional, Sesuai dengan Surat Perjanjian Hibah Penugasan Penelitian Fundamental No. 199/SP2H/PL/Dit. Litabmas/TV/2011 Tanggal 14 April 2011

** Murniaty Simorangkir adalah Dosen Jurusan Kimia dan Erlintan Sinaga adalah Dosen Biologi FMIPA UNIMED

SUMMARY

PROVISION, PURIFICATION OF POLYCLONAL ANTISERA LOCAL AND SENSITIVITY TEST AS IMUNOKIMIA ANIMAL FATS *

By
Murniaty Simorangkir dan Erlintan Sinaga**

Circulation of pork and boar in these markets, pork meatballs, pork jerky during the month of Ramadan, the cosmetic products using pork fat acids and glycerine demanding species identification methods must be developed from animal fat and fat components to ensure the safety and halal and protect consumers from fraud of information. This study aims to determine how supply and purification of polyclonal antisera locally as the test material imunokimia animal species origin of meat fat and its components that have a high sensitivity. The study is expected to last two stages of phase I on how to provide and measure the titer antilemak animal (local) and phase II of the purification and measurement sensitivity antilemak animal origin (local) on the test animal species origin of meat fat. Tahap I telah selesai dilakukan di Laboratorium Biokimia Unimed dan tahap II direncanakan dilakukan di Laboratorium Biokimia Unimed dan Laboratorium Biokimia IPB Bogor. The results of Phase I, has to be provided antilemak animal and animal antisera through the injection of foreign animal fat and serum in rabbits. Antilemak antilemak animal is a pig, boar antilemak, antilemak cow, antilemak rat and pig antiserum, antiserum boar, bovine antiserum and rat antiserum. Large animal antilemak titer is an average of 4, except titer antilemak mice is 2. While the animal antisera titer greater than antilemak is an average of 8, except for rat antiserum titer is 4. Antiserum showed titer antiserum dilution factor (antibodies) are still able to react with antigens *in vitro*. Future studies are planned to purify antilemak and animal antisera and measuring sensitivity as a test substance on the testing of fats and animal fats are imunokimia components.

* Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional, Sesuai dengan Surat Perjanjian Hibah Penugasan Penelitian Fundamental No. 199/SP2H/PL/Dit. Litabmas/IV/2011 Tanggal 14 April 2011

** Murniaty Simorangkir adalah Dosen Jurusan Kimia dan Erlintan Sinaga adalah Dosen Biologi FMIPA UNIMED

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat rahmat dan karunianya penelitian Fundamental Tahap I dengan judul “ Penyediaan, Pemurnian dan Sensitivitas Antiserum Poliklonal Lokal Sebagai Bahan Uji Immunokimia Lemak Hewani “ telah selesai dilakukan untuk tahap I.

Terlaksananya penelitian ini adalah berkat bantuan dan kerjasama yang baik antara Tim Peneliti dengan berbagai pihak. Olehkarena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Direktur Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah menyediakan dana untuk penelitian ini.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan beserta staff, atas bantuan administrasi dan informasi yang telah diberikan.
3. Kepala Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Medan yang memberikan izin pelaksanaan penelitian di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Medan.
4. Mahasiswa yang turut terlibat dalam penelitian ini.
5. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari hasil penelitian ini belum sempurna, oleh karena itu kami sangat mengharapkan penelitian Tahap I ini dapat dilanjutkan pada Tahap II. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat dalam usaha pengembangan teknik determinasi lemak hewani, khususnya dalam usaha penyediaan bahan uji lokal lemak hewani.

Medan, Nopember 2011

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI		i
HALAMAN PENGESAHAN		ii
RINGKASAN		iii
SUMMARY		iv
PRAKATA		v
DAFTAR TABEL		vi
DAFTAR GAMBAR		
DAFTAR LAMPIRAN		
I. PENDAHULUAN		
A. Latar Belakang Penelitian		1
B. Perumusan Masalah		1
		3
II. TINJAUAN PUSTAKA		
A. Metode Pengujian Lemak		4
B. Uji Imunokimia		4
C. Antiserum Poliklonal		5
D. Penyediaan dan Pemurnian Antiserum		6
E. Hewan Percobaan		8
		9
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN		
A. Tujuan Penelitian		14
B. Manfaat Penelitian		14
		14
IV. METODE PENELITIAN		
A. Desain Penelitian		15
B. Alat dan Bahan		15
C. Tahap Penelitian		16
C. Prosedur Penelitian Tahun I		16
		18
V. HASIL DAN PEMBAHASAN		
A. Penyediaan Antigen Ekstrak Lemak Hewani		24
B. Penyediaan Antiserum Lemak Hewani		24
C. Titer Antiserum		24
		25
VI. KESIMPULAN DAN SARAN		
A. Kesimpulan		32
B. Saran		32
		32
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
5.1. Titer Antilemak Sapi dan Tikus	26
5.2. Titer Antilemak Babi dan Celeng	28
5.3. Titer Antiserum Babi dan Celeng	29
5.4. Titer Antiserum Sapi dan Tikus	31
5.5. Titer Antilemak Hewani dan Antiserum Hewani	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
2.1. Struktur IgG	7
2.2. Babi dan Anaknya	9
2.3. Lemak Babi	10
2.4. Celeng atau Babi Hutan	11
2.5. Kelinci	12
4.1. Desain Penelitian	15
5.1. Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng	24
5.2. Hasil Ekstraksi Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng	24
5.3. Hasil Uji Immunodifusiganda Anti Lemak Sapi	25
5.4. Hasil Uji Immunodifusiganda Anti Lemak Tikus	26
5.5. Hasil Uji Immunodifusiganda Anti Lemak Babi	27
5.6. Hasil Uji Immunodifusiganda Anti Lemak Celeng	27
5.7. Hasil Uji Immunodifusiganda Antiserum Babi	28
5.8. Hasil Uji Immunodifusiganda Antiserum Celeng	29
5.9. Hasil Uji Immunodifusiganda Antiserum Sapi	30
5.10. Hasil Uji Immunodifusiganda Antiserum Tikus	30

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran

Halaman

- | | |
|--|----|
| 1. Personalia Tenaga Peneliti | 35 |
| 2. Foto Dokumentasi Sebagian Kegiatan Penelitian | 37 |
| 3. Artikel Ilmiah Yang Akan Terbit | 38 |
| 4. Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) | 51 |



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Beredarnya daging babi dan celeng atau babi hutan di pasar-pasar Jakarta selama bulan Ramadhan dan menjelang Idul Fitri (Republika, 23 Agustus 2008), beredarnya bakso babi di kota Bengkulu (Bengkulu Ekspres, 13 Juni 2009), ditemukannya dendeng babi campur daging babi di Malang (Kompas, 6 April 2009), adanya produk kosmetik antara lain shampo, conditioner, body lotion, alas bedak dan krim anti kerut yang menggunakan asam lemak babi untuk memberikan efek tampilan bersinar serta penggunaan glyserin dari lemak babi dalam pembuatan produk pasta gigi (Ahmad 2006), menuntut perlu dikembangkan metode identifikasi spesies asal lemak hewani dan komponen lemak untuk menjamin keamanan dan kehalalan serta melindungi konsumen dari pemalsuan informasi.

Beberapa metode analisa lemak sudah banyak dikembangkan, antara lain adalah metode kimia kromatografi GLC (terbatas untuk bahan yang mudah menguap), HPLC (terbatas untuk lipid yang memiliki volatil rendah), metode mikroskopis (SEM), FTIR Spectroscopy, Elektrinic nose berdasarkan karakteristik zat bau (odour), DSC (*Differential scanning calorimetry*) berdasarkan perubahan panas, imunokimia (imunodifusiganda dan Elisa) dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yaitu metode replikasi DNA secara enzimatik tanpa menggunakan organisme yang membutuhkan biaya dan waktu lebih lama.

Secara biokimia, telah dilakukan beberapa metode identifikasi spesies daging, antara lain metode ELISA yang memerlukan bahan indicator yang relative mahal untuk uji spesies daging dan hanya terbatas di UPTD Kesmavet Provinsi dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang hanya terbatas di BPOM RI Jakarta (Bengkulu ekspres, 13 Juni 2009). Oleh karena itu perlu dikembangkan metode deteksi spesies asal lemak daging antara lain dengan metode imunodifusi ganda yang menggunakan bahan uji antiserum lokal. Metode imunodifusiganda juga merupakan metode biokimia yang berdasarkan reaksi spesifik antiserum dengan antigen lemak untuk menguji spesies asal lemak hewani (Wilks, 1982). Metode lainnya sukar untuk membedakan lemak hewani dengan lemak sintesis. Interaksi spesifik antara antigen dan antibodi (antiserum) merupakan dasar metode imunokimia (Harlow dan Lane, 1988) yang terdiri atas dua bagian yaitu, interaksi primer dan sekunder. Interaksi primer berada pada tingkat molekuler dan tidak terlihat dengan nyata sehingga

memerlukan indikator (teknik RIA, ELISA dan imunofluoresensi) yang biasanya digunakan untuk antibodi yang kadarnya rendah. Teknik RIA, ELISA dan imunofluoresensi, selain membutuhkan antiserum, juga memerlukan bahan indikator yang relatif mahal agar interaksi antigen dan antiserum dapat diamati. Sedangkan interaksi antigen-antibodi sekunder mengakibatkan terjadinya aglutinasi (presipitasi). Interaksi sekunder ini merupakan teknik dasar uji imunokimia secara *in vitro* melalui media agar (Catty, 1988). Metode imunodifusi ganda tidak memerlukan bahan indikator untuk mengamati interaksi antigen dengan antiserum, cukup hanya memberi pewarna sehingga biayanya relatif lebih murah.

Keberhasilan suatu teknik imunokimia ditentukan oleh jenis antigen dan kemurnian /ketersediaan antiserum sebagai bahan uji. Antiserum adalah antibodi yang diperoleh dari serum hewan yang merupakan hasil respon kekebalan hewan tersebut terhadap antigen yang menginduksinya. Antiserum merupakan protein fraksi gama globulin serum yang dapat difraksinasi dari protein serum lain untuk memperoleh antiserum murni. Kebanyakan antiserum yang tersedia secara komersil diperoleh dari serum darah hewan (kelinci). Antiserum ini belum diproduksi secara komersil di Indonesia. Oleh karena itu penyediaan dan pemurnian antiserum sangat menentukan keberhasilan teknik imunokimia uji protein daging hewani dan produk olahannya.

Keberhasilan metode imunokimia dalam mengidentifikasi daging hewan ditentukan oleh jenis antigen dan kemurnian serta ketersediaan bahan uji antiserum (Johnson dan Thorpe, 1987). Kebanyakan antiserum yang tersedia secara komersil diperoleh dari serum kelinci, tetapi belum diproduksi di Indonesia. Antiserum lokal yang diperoleh dari serum kelinci yang telah disuntik dengan serum hewan lain dan ekstrak protein daging bersifat spesifik terhadap sampel protein daging pada uji imunodifusi ganda (Simorangkir, 2008). Hasil penelitian Nayar dan Govindarajulu (2003), antiserum yang diperoleh dari biri-biri yang disuntik campuran ekstrak protein daging segar dan serum, menghasilkan antiserum yang spesifik terhadap protein daging dan mampu mendeteksi 7 % campuran daging. Menurut Swarts dan Wilks (1982) metode imunodifusi ganda dapat mendeteksi pencampuran daging hingga 5-20 %, tergantung sensitivitas antiserum yang digunakan. Hasil penelitian Simorangkir dan Sidabutar (2004), determinasi protein hewan dan kedelai secara imunokimia dengan menggunakan antiserum lokal yang belum dimurnikan menunjukkan sensitivitas rendah yaitu hanya mampu mendeterminasi pencampuran protein daging sebesar 50%. Sedangkan menurut

Swarts dan Wilks (1982) metode imunodifusi ganda dapat mendeteksi pencampuran daging hingga 5-20 %, tergantung sensitivitas antiserum yang digunakan.

Antiserum merupakan protein fraksi γ Globulin yang dapat difraksinasi dari protein serum lain, yang disebut juga dengan imunoglobulin. Dengan mempertimbangkan sifat fisik, kimiawi, dan listrik protein imunoglobulin, teknik isolasi imunoglobulin dapat dilakukan dengan tetap menjaga aktifitas dan strukturnya tidak berubah. Kemurnian antiserum sangat menentukan keberhasilan pengujian secara imunodifusi ganda.

Antiserum dapat diperoleh dari serum darah kelinci yang telah disuntik dengan antigen. Kelinci sering dibuat sebagai media dalam penelitian ini dikarenakan kelinci merupakan hewan mamalia yang mempunyai daya tahan tubuh yang tinggi, sehingga cukup kuat terhadap serangan penyakit dan mampu hidup pada kondisi dibawah normal. Selain itu kelinci adalah hewan yang jinak, tidak sulit untuk memeliharanya, dan pengambilan darahnya pun tidak sulit (Sarwono, 2001). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan metode identifikasi lemak hewani secara imunokimia dengan menggunakan antiserum lokal yang diperoleh dari kelinci yang diinduksi dengan lemak hewani asing.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan hal di atas, masalah penelitian ini dirumuskan sebagai berikut : 1) Bagaimana cara memperoleh antiserum poliklonal lokal sebagai bahan uji imunokimia lemak hewani, 2) Bagaimana cara memurnikan antiserum poliklonal lokal lemak hewani untuk memperoleh sensitivitas yang tinggi sebagai bahan uji lemak hewani secara imunokimia, 3) Berapa besar sensitivitas antiserum poliklonal lokal murni tersebut sebagai bahan uji imunokimia lemak hewani.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Metode Pengujian Lemak

Beredarnya daging babi dan celeng atau babi hutan di pasar-pasar Jakarta selama bulan Ramadhan dan menjelang Idul Fitri (Republika, 23 Agustus 2008), beredarnya bakso babi di kota Bengkulu (Bengkulu Ekspres, 13 Juni 2009), ditemukannya dendeng babi campur daging babi di Malang (Kompas, 6 April 2009), adanya produk kosmetik antara lain shampo, conditioner, body lotion, alas bedak dan krim anti kerut yang menggunakan asam lemak babi untuk memberikan efek tampilan bersinar serta penggunaan glyserin dari lemak babi dalam pembuatan produk pasta gigi (Ahmad 2006), menuntut perlu dikembangkan metode identifikasi spesies asal lemak hewani dan komponen lemak untuk menjamin keamanan dan kehalalan serta melindungi konsumen dari pemalsuan informasi.

Beberapa metode analisa lemak sudah banyak dikembangkan, antara lain adalah metode kimia kromatografi GLC (terbatas untuk bahan yang mudah menguap), HPLC (terbatas untuk lipid yang memiliki volatil rendah), metode mikroskopis (SEM), FTIR Spectroscopy, Elektronic nose berdasarkan karakteristik zat bau (odour), DSC (*Differential scanning calorimetry*) berdasarkan perubahan panas, imunokimia (imunodifusiganda dan Elisa) dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yaitu metode replikasi DNA secara enzimatik tanpa menggunakan organisme yang membutuhkan biaya dan waktu lebih lama.

Secara biokimia, telah dilakukan beberapa metode identifikasi spesies daging, antara lain metode ELISA yang memerlukan bahan indikator yang relative mahal untuk uji spesies daging dan hanya terbatas di UPTD Kesmavet Provinsi dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang hanya terbatas di BPOM RI Jakarta (Bengkulu ekspres, 13 Juni 2009). Oleh karena itu perlu dikembangkan metode deteksi spesies asal lemak daging antara lain dengan metode imunodifusiganda yang menggunakan bahan uji antiserum lokal. Metode imunodifusiganda merupakan salah satu dari uji imunokimia.

B. Uji Imunokimia

Dari beberapa analisa lemak yang sudah banyak dikembangkan, metode imunokimia akhir-akhir ini sering digunakan. Metode imunokimia juga merupakan metode biokimia yang berdasarkan reaksi spesifik antiserum dengan antigen lemak

untuk menguji spesies asal lemak hewani (Wilks, 1982). Metode lainnya sukar untuk membedakan lemak hewani dengan lemak sintesis.

Interaksi spesifik antara antigen dan antibodi (antiserum) merupakan dasar metode imunokimia (Harlow dan Lane, 1988) yang terdiri atas dua bagian yaitu, interaksi primer dan sekunder. Interaksi primer berada pada tingkat molekuler dan tidak terlihat dengan nyata sehingga memerlukan indikator (teknik RIA, ELISA dan imunofluoresensi) yang biasanya digunakan untuk antibodi yang kadarnya rendah. Teknik RIA, ELISA dan imunofluoresensi, selain membutuhkan antiserum, juga memerlukan bahan indikator yang relatif mahal agar interaksi antigen dan antiserum dapat diamati. Sedangkan interaksi antigen-antibodi sekunder mengakibatkan terjadinya aglutinasi (presipitasi). Interaksi sekunder ini merupakan teknik dasar uji imunokimia secara *in vitro* melalui media agar (Catty, 1988). Metode imunodifusi ganda tidak memerlukan bahan indikator untuk mengamati interaksi antigen dengan antiserum, cukup hanya memberi pewarnaan sehingga biayanya relatif lebih murah.

Keberhasilan suatu teknik imunokimia ditentukan oleh jenis antigen dan kemurnian /ketersediaan antiserum sebagai bahan uji. Antiserum adalah antibodi yang diperoleh dari serum hewan yang merupakan hasil respon kekebalan hewan tersebut terhadap antigen yang menginduksinya. Antiserum merupakan protein fraksi gama globulin serum yang dapat difraksinasi dari protein serum lain untuk memperoleh antiserum murni. Kebanyakan antiserum yang tersedia secara komersil diperoleh dari serum darah hewan (kelinci). Antiserum ini belum diproduksi secara komersil di Indonesia. Oleh karena itu penyediaan dan pemurnian antiserum sangat menentukan keberhasilan teknik imunokimia uji protein daging hewani dan produk olahannya.

Keberhasilan metode imunokimia dalam mengidentifikasi daging hewani ditentukan oleh jenis antigen dan kemurnian dan ketersediaan bahan uji antiserum (Johnson dan Thorpe, 1987). Kebanyakan antiserum yang tersedia secara komersil diperoleh dari serum kelinci, tetapi belum diproduksi di Indonesia. Antiserum lokal yang diperoleh dari serum kelinci yang telah disuntik dengan serum hewan lain dan ekstrak protein daging bersifat spesifik terhadap sampel protein daging pada uji imunodifusi ganda (Simorangkir, 2008). Hasil penelitian Nayar dan Govindarajulu (2003), antiserum yang diperoleh dari biri-biri yang disuntik campuran ekstrak protein daging segar dan serum, menghasilkan antiserum yang spesifik terhadap protein

daging dan mampu mendeteksi 7 % campuran daging. Menurut Swarts dan Wilks (1982) metode imunodifusi ganda dapat mendeteksi pencampuran daging hingga 5-20 %, tergantung sensitivitas antiserum yang digunakan. Hasil penelitian Simorangkir dan Sidabutar (2004), determinasi protein hewan dan kedelai secara imunokimia dengan menggunakan antiserum lokal yang belum dimurnikan menunjukkan sensitivitas rendah yaitu hanya mampu mendeterminasi pencampuran protein daging sebesar 50%. Sedangkan menurut Swarts dan Wilks (1982) metode imunodifusi ganda dapat mendeteksi pencampuran daging hingga 5-20 %, tergantung sensitivitas antiserum yang digunakan.

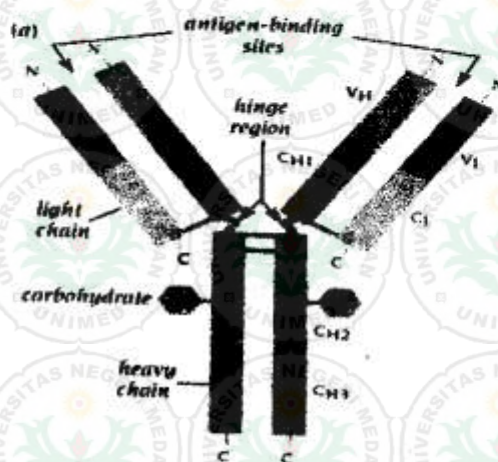
Antiserum merupakan protein fraksi γ Globulin yang dapat difraksinasi dari protein serum lain, yang disebut juga dengan imunoglobulin. Dengan mempertimbangkan sifat fisik, kimiawi, dan listrik protein imunoglobulin, teknik isolasi imunoglobulin dapat dilakukan dengan tetap menjaga aktifitas dan strukturnya tidak berubah. Kemurnian antiserum sangat menentukan keberhasilan pengujian secara imunodifusi ganda.

Antiserum dapat diperoleh dari serum darah kelinci yang telah disuntik dengan antigen. Kelinci sering dibuat sebagai media dalam penelitian ini dikarenakan kelinci merupakan hewan mamalia yang mempunyai daya tahan tubuh yang tinggi, sehingga cukup kuat terhadap serangan penyakit dan mampu hidup pada kondisi dibawah normal. Selain itu kelinci adalah hewan yang jinak, tidak sulit untuk memeliharanya, dan pengambilan darahnya pun tidak sulit (Sarwono, 2001). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan metode identifikasi lemak hewani secara imunokimia dengan menggunakan antiserum lokal.

C. Antiserum Poliklonal

Antiserum poliklonal adalah antibodi yang diperoleh dari serum hewan yang merupakan hasil respon kekebalan hewan tersebut terhadap antigen poliklonal yang menginduksinya (Male, 1986). Antiserum merupakan protein fraksi gama globulin serum yang dapat difraksinasi dari protein serum lain. Secara struktural, antibodi (immunoglobulin gama = IgG) merupakan molekul protein berbentuk Y yang mengandung empat rantai polipeptida dan mempunyai sisi pengikat fragmen Fab (*Fragment antigen binding*) yang bersifat komplementer terhadap bentuk struktural spesifik molekul antigen dan satu fragmen Fc (*Fragment crystalline*) yang bersifat

gamma= IgG) merupakan molekul protein berbentuk Y yang mengandung empat rantai polipeptida dan mempunyai sisi pengikat fragmen Fab (*Fragment antigen binding*) yang bersifat komplementer terhadap bentuk struktural spesifik molekul antigen dan satu fragmen Fc (*Fragment crystalline*) yang bersifat antigen. Keragaman urutan asam amino kedua ujung fragmen Fab memberikan dasar struktural keragaman tempat pengikatan antigen (Mathews dan Holde, 1990). Keragaman tempat pengikat ini menyebabkan antibodi dapat mengikat beribu-ribu antigen (antigen poliklonal) yang sesuai dengan determinan antigen (epitop) yang menginduksinya.



Gambar 2.1. Struktur IgG
Sumber : Danial, 2008

IgG merupakan imunoglobulin yang melimpah di dalam peredaran tubuh, dihasilkan hanya dalam beberapa hari namun memiliki masa hidup berkisar antara beberapa minggu sampai beberapa tahun. IgG melindungi tubuh terhadap bakteri dan virus, serta menetralkan asam yang terkandung dalam racun. Berat molekul IgG adalah 150.000 Dalton.

IgG mempunyai dua tempat pengikatan antigen yang sama (divalen) dan dikenal 4 subkelas, yaitu IgG1, IgG2, IgG3 dan IgG4. Perbedaannya terletak pada rantai-H dengan beberapa fungsi biologis serta jumlah dan lokasi ikatan disulfida. IgG1 merupakan 65% dari keseluruhan IgG. IgG2 berguna untuk melawan antigen polisakarida dan menjadi pertahanan yang penting bagi inang untuk melawan bakteri

yang terbungkus. IgG mempunyai struktur dasar imunoglobulin yang terdiri dari 2 rantai berat H dan 2 rantai ringan L. Pada orang normal IgG merupakan 75% dari seluruh jumlah imunoglobulin (Danial, 2008).

D. Penyediaan dan Pemurnian Antiserum

Kebanyakan antiserum yang tersedia secara komersil diperoleh dari serum darah hewan (kelinci) yang telah diinduksi dengan antigen protein asing. Antiserum ini belum diproduksi secara komersil di Indonesia. Beberapa laboratorium di Indonesia telah mencoba mengisolasi dan memurnikan antiserum. Misalnya laboratorium Biokimia IPB Bogor telah mengisolasi dan memurnikan antiserum kambing dari kelinci (Husin, 1993). Hefni (1993) melaporkan bahwa kelinci yang disuntik dengan protein serum memberikan respon lebih baik dibandingkan penyuntikan dengan protein ekstrak daging. Simorangkir (1993) melaporkan antiserum imunoglobulin gama dari serum ayam kampung dan broiler yang telah diberi antigen vaksin NDV juga telah berhasil diisolasi dari protein serum kelinci melalui kromatografi pertukaran ion DEAE-Selulase. Antiserum babi dari kelinci yang telah disuntik dengan antigen serum babi telah berhasil diisolasi dari protein serum kelinci melalui kromatografi filtrasi gel sephadex G-200 (Simorangkir, 2000). Selain antiserum terhadap protein darah, antiserum terhadap antigen otot yang termostabil, juga telah berhasil dipreparasi Kang'ethe, et al. (1984) dan Hayden (1981). Hasil penelitian Nayar dan Govindarajulu (2003), antiserum yang diperoleh dari biri-biri yang disuntik campuran ekstrak protein daging segar dan serum, menghasilkan antiserum yang spesifik terhadap protein daging dan mampu mendeteksi 7 % campuran daging. Hasil penelitian Hayden (1981) dan Kang'ethe (1984), antiserum yang diperoleh dengan menggunakan antigen adrenal dan otot sapi yang dipanaskan, mampu mendeteksi sampel daging sapi masak. Keberhasilan suatu teknik imunokimia antara lain ditentukan oleh kemurnian, spesifisitas, afinitas, aviditas, ketersediaan dan tipe (monoklonal atau poliklonal) antiserum yang digunakan (Johnstone dan Thorpe, 1987). Oleh karena itu preparasi dan pemurnian antigen serum dan daging serta perparasi antiserum sangat menentukan keberhasilan teknik imunokimia untuk determinasi spesies daging hewan dan produk olahannya.

E. Hewan Percobaan

Babi (*Sus domesticus*), Celeng atau Babi Hutan (*Sus scrofa vittatus*) dan Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)

1. Babi (*Sus domesticus*)

Babi adalah sejenis hewan ungulata yang bermoncong panjang dan berhidung leper dan merupakan hewan yang aslinya berasal dari Eurasia. Kadang juga dirujuk sebagai *khinzir* (dalam bahasa Arab). Babi adalah omnivora, yang berarti mereka mengkonsumsi baik daging maupun tumbuh-tumbuhan.



Gambar 2.2. Babi dan anaknya

Sumber: Anonim 1, 2007

Klasifikasi ilmiah

Regnum	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Artiodactyla
Famili	: Suidae
Upamili	: Suinae
Genus	: Sus
Spesies	: <i>Sus domesticus</i>

Babi sendiri sebenarnya telah ditenak dan dikonsumsi selama ribuan tahun oleh kebanyakan orang Eropa dan orang Asia. Babi adalah makanan yang umum di nusantara sebelum masuknya agama Islam dari Timur Tengah. Beberapa suku bangsa di Indonesia yang masih menjalankan tradisi aslinya selain suku Tionghoa-Indonesia masih mengkonsumsi babi sebagai makanan kescharian, seperti suku Bali, Toraja, Papua, Batak, Manado, dll.

Dalam perdagangan, daging hewan ini terkadang dicampur oleh para pedagang dengan daging lain sehingga dapat merugikan para konsumen. Daging hewan ini juga memiliki kemiripan dengan daging hewan lain sehingga memungkinkan terjadinya pemalsuan terhadap daging ini sangat besar. Darah hewan ini dapat digunakan sebagai bahan untuk mendeteksi keberadaan proteinnya dalam campuran karena mengandung protein dan serum yang berbeda dan dapat di isolasi (Anonim 1, 2007).

Lemak Babi



Gambar 2.3. Lemak Babi
Sumber: Kummer, 2005

Lemak babi adalah lemak pada babi. Lemak babi biasanya digunakan untuk banyak makanan atau sebagai makanan yang mirip dengan mentega. Penggunaan lemak babi pada masakan telah dikurangi akibat dari masalah kesehatan dan memiliki gambaran yang buruk, namun banyak masakan dan toko kue menggunakannya. Lemak babi secara luas masih digunakan untuk memmanufakturkan sabun (Kummer, 2005).

Asam lemak bersama-sama dengan gliserol, merupakan penyusun utama minyak nabati atau lemak hewani dan merupakan bahan baku untuk semua lipida pada makhluk hidup. Asam ini mudah dijumpai dalam minyak masak (goreng), margarin, atau lemak hewan dan menentukan nilai gizinya. Secara alami; asam lemak bisa berbentuk bebas (karena lemak yang terhidrolisis) maupun terikat sebagai gliserida).

Fungsi lemak dalam tubuh dikenal sebagai 1) bahan bakar metabolisme seluler, 2) merupakan bagian pokok dari membran sel, 3) sebagai mediator atau *second messenger* aktivitas biologis antar sel, 4) sebagai isolasi dalam menjaga keseimbangan temperatur tubuh dan melindungi organ-organ tubuh dan 5) pelarut vitamin A, D, E, dan K agar dapat diserap tubuh.

Penambahan lemak dalam makanan memberikan efek rasa lezat dan tekstur makanan menjadi lembut serta gurih. Di dalam tubuh, lemak menghasilkan energi dua kali lebih banyak dibandingkan protein dan karbohidrat, yaitu 9 kkal/gram lemak yang dikonsumsi.

Dianjurkan konsumsi lemak sebesar 30% atau kurang untuk kebutuhan kalori setiap harinya, yang terdiri dari 10% asam lemak jenuh, 10% asam lemak tak jenuh tunggal dan 10% asam lemak tak jenuh ganda (Kummer, 2005).

2. Celeng atau Babi Hutan (*Sus scrofa vittatus*)

Babi hutan atau celeng adalah nenek moyang babi liar yang menurunkan babi ternak. Daerah penyebarannya adalah di hutan-hutan Eropa Tengah, Mediterania (termasuk Pegunungan Atlas di Afrika Tengah) dan sebagian besar Asia hingga paling Selatan di Indonesia. Ia termasuk familia *Suidae* yang mencakup *warthog* dan *bushpig* di Afrika, *pygmy hog* di utara India, dan *babirusa* di Indonesia. Habitat utama spesies ini adalah di kawasan tanah pamah. Kebiasaannya di kawasan tepi air yang memudahkan mereka menyondol tanah untuk mencari cacing tanah.

Babi hutan mempunyai ciri-ciri berat badan di antara 50-300 kg dan panjang badan diantara 1,0-1,8 m. Spesies ini mempunyai penglihatan yang kurang baik. Babi hutan termasuk jenis omnivora dan sering menyondol tanah untuk mencari cacing. Babi Hutan makan hampir semua barang yang ditemui, termasuk kacang, buah beri, akar, ubi, daging bangkai yang reput, sampah, serangga, dan reptilia kecil, serta juga anak-anak rusa dan kambing.



Gambar 2.4. Celeng atau Babi Hutan (Sumber: Anonim 2, 2008)

Klasifikasi ilmiah :

Regnum	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Artiodactyla
Famili	: Suidae
Genus	: Sus
Spesies	: <i>Sus scrofa</i>

Babi hutan mempunyai bulu dari bagian leher hingga ke bagian belakang. Bulu badannya kasar dan berwarna kehitaman bagi yang dewasa. Babi hutan sempat punah di Britania pada abad ke-17, tetapi populasinya telah kembali di beberapa tempat terutama di Weald akibat terlepas dari peternakan (Anonim 2, 2008).

3. Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)

Kelinci adalah hewan mamalia dari famili Leporidae, yang dapat ditemukan di banyak bagian bumi. Dulunya, hewan ini adalah hewan liar yang hidup di Afrika hingga ke daratan Eropa. Kelinci merupakan hewan liar yang telah dijinakkan sejak 2.000 tahun silam dengan tujuan keindahan, bahan pangan dan sebagai hewan percobaan. Hampir setiap negara di dunia memiliki ternak kelinci karena binatang ini memiliki adaptasi tubuh yang relatif tinggi sehingga mampu hidup hampir diseluruh bagian dunia (Anonim 3, 2009).



Gambar 2.5. Kelinci
Sumber: Anonim 3, 2009

Klasifikasi ilmiah

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Lagomorpha
Familia	: Leporidae

Data biologis kelinci adalah sebagai berikut:

- Lama hidup : 5-10 tahun
- Lama produksi : 1-3 tahun
- Umur dewasa : 4-10 tahun
- Umur dikawinkan : 6-12 bulan
- Ovulasi : terjadi saat kawin (9-13 jam kemudian)
- Fertilitas : 1-2 jam
- Volume darah : 40 mL/kg berat badan
- Bobot Dewasa : sangat bervariasi, tergantung pada ras, jenis

- | | |
|--------------------|-------------------------------------|
| | kelamin dan faktor pemeliharaan |
| • Masa bunting | : 28-35 hari (rata-rata 29-31 hari) |
| • Masa penyapihan | : 6-8 minggu |
| • Jumlah kelahiran | : 4-10 ekor (rata-rata 6-8) |

Hewan ini biasanya digunakan sebagai hewan percobaan pada pembuatan antiserum yang sudah berusia dewasa dengan umur 6 bulan, karena hewan ini mudah dipelihara di laboratorium, harganya murah, berumur panjang, dan mudah diperoleh darahnya melalui penyuntikan. Kelinci mempunyai keunggulan dalam cepatnya berkembang serta banyak memproduksi antiserum. Hal ini menjadi alasan kenapa kelinci sering dipergunakan sebagai media dalam percobaan (Sarwono, 2001).

Penyuntikan antiserum yang lebih baik adalah dibagian belakang telinga kelinci, karena dibelakang telinga kelinci banyak terdapat pembuluh darah. Setelah masa panen darah, cara pengambilan darah kelinci tersebut dibagian ujung telinga kelinci diolesi dengan alkohol sebelum pengambilan darah. Setelah itu darah dipanen dan ditampung dalam tabung, kemudian dioleskan alkohol pada bekas penyuntikan supaya darah kelinci yang masih mengalir ditelinga kelinci tersebut terhenti dan tidak mengalami infeksi (Sarwono, 2001).



III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui : 1) cara menyediakan antiserum poliklonal lokal lemmunokimia lemak hewani, 2) Besar titer antiserum poliklonal lokal lemak hewani yang disediakan, 3) Besar sensitivitas antiserum poliklonal lokal murni sebagai bahan uji imunokimia lemak hewani.

B. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai : 1) salah satu usaha penyediaan bahan uji imunokimia lokal lemak hewani yang belum diproduksi secara komersil di Indonesia dan masih merupakan barang import, 2) bahan pertimbangan dalam pengembangan teknik determinasi spesies asal lemak hewani, 3) bahan pertimbangan dalam pemurnian antiserum, 4) dalam rangka melindungi konsumen dari pemalsuan spesies/pemalsuan lemak hewani dan komponennya.

IV. METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Sesuai dengan tujuan penelitian ini yaitu untuk menyediakan antiserum lokal yang murni, spesifik dan sensitiv sebagai bahan uji imunokimia lemak daging hewani dan komponen lemak, penyediaan antiserum lokal dilakukan dengan mengambil serum kelinci yang telah diinduksi dengan antigen ekstrak lemak daging hewani beda spesies. Untuk membuktikan respon kelinci (terbentuk antiserum) terhadap antigen ekstrak lemak daging, dilakukan pengukuran titer antiserum. Pengukuran titer antiserum dilakukan secara *in vitro* pada media agar dengan menggunakan metode imunodifusiganda. Setelah terbukti terbentuk antiserum pada kelinci, maka dilakukan panen darah dan preparasi serum (Ini telah selesai dilakukan pada Tahun I). Pada tahun ke-II, selanjutnya dilakukan pemurnian antiserum dengan mengisolasi protein imunoglobulin serum kelinci dengan menggunakan metode kromatografi gel sephadex G-200, setelah proses "Salting out". Kemudian antiserum dianalisis dengan elektroforesis SDS-PAGE untuk tiap fraksi-fraksi pemisahan. Selanjutnya dilakukan pengujian sampel ekstrak lemak daging segar dari beberapa spesies hewan dengan menggunakan bahan uji antiserum lokal murni tersebut dengan menggunakan metode imunodifusiganda ouchterlony. Desain Penelitian adalah :



Gambar. 4.1. Desain Penelitian

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: disposable plastic syringe ukuran 3 mL, inkubator, blender, sentrifuse, cawan petri (diameter 15 cm, tebal 1,5 cm), penangas air, freezer, mikropipet, neraca analitik, penyedot agar (diameter 2mm), kantong dialysis, penyaring millipore, pisau steril, aluminium foil, kotak pelembab, labu erlenmeyer, gelas ukur, buret 50 ml berdiameter 1 cm, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volum, soxhlet, indikator universal, vial endoff, botol serum, kertas saring Wathman no 41, kertas label, vortex mixer, magnetik stirrer, spektronic- 20, evaporator, shaker, peralatan elektroforesis SDS-PAGE dan peralatan kandang kelinci dan satu set alat kromatografi gel.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: serum darah babi, serum darah celeng, lemak babi, lemak celeng, lemak tikus, lemak sapi, hewan kelinci untuk setiap perlakuan sebanyak 2 ekor, pakan kelinci. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Natrium azida (NaN_3), Natrium klorida (NaCl) 1%, alkohol 96%, buffer posfat 0,1 M (pH 8,2), bacto agarose, Bovine Serum Albumin (BSA), ammonium sulfat anhidrat, asam trikloroasetat, pewarna *coomasie blue* R-250, pereaksi Bradford, xilol, asam trikloroasetat, asam asetat (p), *Freund adjuvant*, n-heksan, kalium hydrogen posfat, methanol, sephadex G-200, aquabidestilata, TEMED, EDTA, 2-merkaptotanol, tris (hidroksimetil amino metan), SDS dan marker (standar protein).

C. Tahap Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Unimed dan Laboratorium Biokimia IPB Bogor, terdiri dari dua tahun/tahap yaitu :

Tahun I (Telah selesai dilaksanakan pada tahun 2011)

1. Persiapan

Pembuatan Larutan dan Media agar : Larutan Natrium Klorida (NaCl) 1% , Pereaksi Bradford, Larutan Standar Bovine Serum Albumin (BSA) 100 ppm, Larutan Buffer Posfat (pH 8,2), Larutan gel stainer dan Media agar.

Persiapan kandang kelinci dan hewan percobaan kelinci beserta pakannya.

Persiapan Antigen : Ekstraksi lemak dari daging babi, celeng, tikus dan sapi dan serum babi, celeng, tikus dan sapi.

2. Penyediaan antiserum

- a) Penyuntikan antigen ekstrak lemak pada kelinci dan booster (2004)
- b) Pengambilan darah kelinci.
- c) Preparasi serum (Modifikasi Hayden, 1981 dan Simorangkir,)
- d) Persiapan media agar untuk uji titer antiserum (Ouchterlony, 1953)
- e) Penentuan titer antiserum.
- f) Panen darah lalu dilakukan preparasi serum dan simpan beku antiserum yang diperoleh.

Tahun II (Akan dilaksanakan tahun 2012)

Isolasi/Pemurnian Antiserum Lemak Hewani

a. Pemurnian antiserum lemak hewani dengan metode "salting Out" dan dilanjutkan dengan metode Kromatografi Penyaringan Gel Sephadex G-200 (Heide dan Schwick, 1979; Boyer, 1986 dan Simorangkir, 1997).

b. Analisis Kemurnian Antiserum

Semua fraksi antiserum awal, fraksi hasil pemurnian salting out dan hasil pemurnian kromatografi dielektroforesis untuk mengetahui kemurnian antiserum dengan elektroforesis SDS-PAGE (Simorangkir, 1993).

Pengukuran kadar protein antiserum awal dan hasil pemurnian. (Bradford, 1976).

c. Uji Sensitivitas Antiserum Lemak Hewani (Murni)

Uji sensitivitas antiserum lemak hewani yang murni untuk pengujian sampel ekstrak lemak daging hewani secara imunodifusiganda (imunokimia) (Ouchterlony, 1953; Swart dan Wilks, 1982 ; Crimes dan Hitchcock, 1985).

Penyediaan ekstrak lemak daging sapi, babi, tikus dan celeng beserta komponennya.

Pengujian sensitivitas antiserum murni pada pengujian lemak daging hewani dan komponennya dengan metode imunodifusiganda (imunokimia), meliputi spesifik, substitusi dan pengukuran minimal konsentrasi sampel lemak.

D. Prosedur Penelitian Tahun I.

1. Persiapan Hewan Percobaan dan Bahan Kimia

Hewan percobaan 11 ekor kelinci berusia 3 bulan dengan berat badan sekitar 3 kg dimasukkan ke dalam kandang yang telah disucihamakan dan diberi makan sayuran dan jagung bertongkol secukupnya. Kelinci dibiarkan beradaptasi selama tiga hari sebelum diberi perlakuan (penyuntikan antigen ekstrak lemak hewani beda spesies).

Persiapan bahan kimia dan alat habis pakai yaitu pemesanan/inden dari Jakarta bahan kimia dan alat habis pakai yang tidak ada di Medan antara lain bacto agar, coomasi brilliant blue R-250, Freund adjuvan, natrium azida, vial-vial ependorf dan tips mikropipet.

2. Persiapan Antigen dan Larutan kimia

a. Antigen Ekstrak Lemak Babi (*Sus domesticus*)

Sebanyak 50 gram bagian jaringan lemak babi (*Sus domesticus*) dicuci dan dihaluskan, lalu dimasukkan dalam oven pada suhu 60°C selama 6 jam. Lemak yang sudah mencair dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan dengan n-heksan untuk memurnikan lemak. Kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk mengikat air dan disaring, diperoleh ekstrak lemak babi. Antigen ekstrak lemak babi disimpan pada lemari es (suhu rendah) sebelum digunakan.

b. Antigen Ekstrak Lemak Celeng (*Sus scrofa vittatus*)

Sebanyak 50 gram bagian jaringan lemak celeng (*Sus scrofa vittatus*) dicuci dan dihaluskan, lalu dimasukkan dalam oven pada suhu 60°C selama 6 jam. Lemak yang sudah mencair dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan dengan n-heksan untuk memurnikan lemak. Kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk mengikat air dan disaring, diperoleh ekstrak lemak babi. Antigen ekstrak lemak celeng disimpan pada lemari es (suhu rendah) sebelum digunakan.

c. Antigen Ekstrak Lemak Sapi (*Bos taurus*)

Sebanyak 50 gram jaringan lemak daging sapi (*Bos taurus*) dicuci dan dihaluskan, kemudian dimasukkan dalam beaker gelas dan diinkubasi dalam oven pada suhu 60°C selama 6 jam. Lemak yang sudah mencair dimasukkan dalam corong pisah dan kemudian ditambahkan n-heksan untuk memurnikan lemak. Kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk mengikat air dan disaring diperoleh ekstrak lemak sapi. Antigen ekstrak lemak sapi disimpan pada lemari es (suhu rendah) sebelum digunakan.

d. Antigen Ekstrak Lemak Tikus (*Rattus argentiventer*)

Sebanyak 50 gram jaringan lemak daging tikus sawah (*Bos taurus*) dicuci dan dihaluskan, kemudian dimasukkan dalam beaker gelas dan diinkubasi dalam oven pada suhu 60°C selama 6 jam. Lemak yang sudah mencair dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan dengan n-heksan untuk memurnikan lemak. Kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk mengikat air dan disaring diperoleh ekstrak lemak sapi. Antigen ekstrak lemak tikus sawah disimpan pada lemari es (suhu rendah) sebelum digunakan.

e. Antigen Serum Darah Sapi dan Tikus

Sebanyak 20 mL darah sapi/tikus segar dibiarkan pada suhu kamar selama 3 jam, kemudian diinkubasi 1 malam pada suhu 4°C. Sampel kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3.000 rpm. Cairan serum (supernatan) dipisahkan dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan yang sama. Cairan serum (supernatan) yang diperoleh sebanyak 10 mL berwarna kekuningan dipisahkan dan dimasukkan ke dalam vial-vial evendof berukuran 1,5 mL dan disimpan beku sebelum digunakan sebagai antisera.

f. Antigen Serum Darah Babi dan Celeng

Sebanyak 20 ml darah babi/celeng segar dibiarkan pada suhu kamar selama 3 jam, kemudian diinkubasi 1 malam pada suhu 4°C. Sampel kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3.000 rpm. Cairan serum (supernatan) dipisahkan dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan yang sama. Cairan serum (supernatan) yang diperoleh sebanyak 10 ml berwarna kekuningan dipisahkan dan dimasukkan ke dalam vial-vial evendof berukuran 1,5 ml dan disimpan beku sebelum digunakan sebagai antisera.

g. Persiapan Media Agar

Sebanyak 100 mL larutan NaCl 1% , ditambahkan dengan bacto agar 1 gram. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 100°C sampai semua tepung agar larut. Kemudian ditambahkan larutan natrium azida sebanyak 0.01 gram. Sebanyak 25 mL larutan agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga keras, kemudian dibuat sumur-sumur pada media agar tersebut.

h. Pembuatan Larutan

Larutan Natrium klorida (NaCl) 1% : Ditimbang sebanyak 5 gram NaCl dan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL. Kemudian dilarutkan dengan akuades hingga volume larutan 500 mL.

Pereaksi Barford : Ditimbang coomasie brilliant blue R-250 secukupnya dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan 20 mL metanol 95% dan 40 mL asam posfat 85% dan dilarutkan dengan akuades hingga volume larutan 100 mL.

Larutan Standar Bovine Serum Albumin (BSA) 100 ppm : Ditimbang 2,5 gram Bovine serum albumin (BSA) dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Kemudian dilarutkan dengan NaCl 1% hingga volume larutan 25 mL.

Larutan Buffer Posfat (pH 8,2) : Ditimbang 13,6014 gram $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL. Kemudian dilarutkan dengan akuades hingga tanda batas, pH diatur dengan penambahan NaOH 0,1 M tetes demi tetes sampai pH 8,2.

Larutan Gel Stainer : Ditimbang 0,0515 gram coomasie brillian blue R-250 dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan etanol 96% dan $\text{CH}_3\text{COOH}_{(p)}$, larutan tersebut disimpan satu malam, kemudian disaring dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

3. Penyediaan Antiserum Lemak Hewani (Modifikasi Hayden 1981 dan Simorangkir 2004).

a. Penyediaan Antiserum Babi dan Celeng

Setelah kelinci diadaptasi selama 3 hari, serum babi disuntikkan sebanyak 1 ml pada bagian punggung kelinci setelah diolesi lebih dahulu dengan alkohol. Kemudian sisa serum disimpan untuk penyuntikan ulang. Setelah 7 hari penyuntikan pertama, kemudian dilakukan penyuntikan ulang pada tempat yang sama dengan serum dan dosis yang sama.

Setelah 7 hari dari penyuntikan ulang kedua, darah kelinci diambil sebanyak 2 ml dan dipisahkan serumnya. Untuk mengidentifikasi apakah antiserum babi sudah terbentuk pada kelinci diuji dengan metode imunodifusi ganda.

Keterangan: Untuk penyediaan antiserum celeng dilakukan seperti prosedur di atas dengan kelinci yang berbeda.

b. Penyediaan Anti Lemak Babi dan Celeng (Modifikasi Hayden 1981 dan Simorangkir 2004).

Ekstrak lemak babi disuntikkan sebanyak 1 ml pada bagian punggung kelinci setelah diolesi dengan alkohol. Kemudian sisa ekstrak lemak disimpan untuk penyuntikan ulang. Setelah 7 hari penyuntikan pertama, kemudian dilakukan penyuntikan ulang pada tempat yang sama dengan dosis yang sama.

Setelah 7 hari dari penyuntikan ulang kedua, darah kelinci diambil sebanyak 2 ml dan dipisahkan serumnya. Untuk mengidentifikasi apakah anti lemak babi sudah terbentuk dapat diuji dengan metode imunodifusi ganda.

Keterangan: Untuk penyediaan anti lemak celeng dilakukan sama seperti di atas dengan kelinci yang berbeda.

c. Penyediaan Antiserum Sapi dan Tikus

Serum sapi disuntikkan sebanyak 1 mL pada bagian punggung kelinci setelah diolesi dengan alkohol. Kemudian sisa serum disimpan untuk penyuntikan ulang. Setelah 7 hari penyuntikan pertama, kemudian dilakukan penyuntikan ulang pada tempat yang sama dengan serum dan dosis yang sama.

Setelah 7 hari dari penyuntikan ulang kedua, darah kelinci diambil sebanyak 2 mL dan dipisahkan serumnya. Untuk mengidentifikasi apakah antiserum sapi sudah terbentuk dapat diuji dengan metode imunodifusi ganda.

Keterangan: Untuk penyediaan antiserum tikus dilakukan seperti prosedur di atas dengan kelinci yang berbeda.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penyediaan Antigen Ekstrak Lemak Hewani

Sampel lemak tikus, sapi, babi dan celeng sebelum diekstraksi adalah seperti pada Gambar 5.1. berikut.



Gambar 5. 1. Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng (kiri ke kanan)

Setelah dilakukan ekstraksi lemak, diperoleh seperti pada Gambar 5.2. berikut.



Gambar 5. 2. Hasil Ekstraksi Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng

Warna ekstrak lemak babi, celeng dan sapi berwarna putih, kecuali ekstrak lemak tikus berwarna putih kekuningan. Ekstrak lemak hewani ini akan digunakan sebagai antigen.

B. Penyediaan Antiserum Poliklonal Lemak Hewani

Antiserum poliklonal lokal lemak hewani yang disediakan pada penelitian ini diperoleh dari hasil respon kekebalan humoral kelinci yang telah diinduksi dengan antigen serum dan ekstrak jaringan lemak daging babi (*Sus domestica*), celeng (*Sus scrofa vittatus*), sapi (*Bos taurus*) dan tikus sawah (*Rattus argentiventer*).

Antiserum dan anti lemak sapi, tikus, babi dan celeng, terbentuk setelah penyuntikan ketiga, dimana pada tubuh kelinci tersebut disuntikkan masing-masing 1 mL serum darah sapi, tikus, babi dan celeng, 1 mL ekstrak lemak sapi, tikus, babi dan celeng dengan setiap kali penyuntikan adalah 1 mL. Pembentukan antiserum dan anti lemak sapi

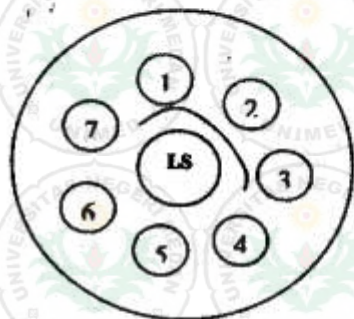
tikus, babi dan celeng dalam tubuh kelinci diketahui setelah diuji dengan metode imunodifusi ganda. Dalam uji ini terbentuk garis presipitasi warna putih pada media agar antara antiserum dan anti lemak sapi, tikus, babi dan celeng yang diperoleh dari serum kelinci dengan antigennya, menandakan telah terbentuknya anti serum dan anti lemak pada kelinci. Kemampuan kelinci membentuk antiserum terhadap berbagai jenis antigen, karena secara struktural antiserum (antibodi) merupakan protein imunoglobulin yang mempunyai keragaman urutan asam amino pada bagian kedua ujung fragmen Fab (Fragment antigen binding) yang bersifat komplementer terhadap bentuk struktural spesifik molekul antigen. Hal ini yang menyebabkan antiserum dapat terbentuk dan dapat mengikat beribu-ribu antigen (antigen poliklonal) yang sesuai dengan determinan antigen (epitop) yang menginduksinya.

C. Titer Antiserum

Titer antiserum menunjukkan besarnya pengenceran antiserum yang masih dapat membentuk presipitasi (bereaksi) dengan antigennya. Titer antiserum dapat ditentukan dengan metode imunodifusi ganda. Besar titer antiserum dari hasil uji imunodifusi ganda anti lemak dan antiserum tikus, sapi, babi dan celeng disajikan pada Gambar berikut.

1. Uji Titer Anti lemak Sapi dan Tikus

Hasil uji imunodifusi ganda anti lemak sapi dan tikus yang diperoleh dari serum kelinci dengan tanpa pengenceran sampai pengenceran 32 kali, dapat dilihat pada Gambar berikut :



Gambar 5. 3. Hasil Uji Imunodifusi Ganda Anti lemak Sapi



Gambar 5.4. Hasil Uji Imunodifusi Ganda Anti Lemak Tikus

- Keterangan:
- Sumur 1 : Anti lemak sapi/tikus tanpa pengenceran
 - Sumur 2 : Anti lemak sapi/tikus pengenceran 2 x
 - Sumur 3 : Anti lemak sapi/tikus pengenceran 4 x
 - Sumur 4 : Anti lemak sapi/tikus pengenceran 8 x
 - Sumur 5 : Anti lemak sapi/tikus pengenceran 16 x
 - Sumur 6 : Anti lemak sapi/tikus pengenceran 32 x
 - Sumur 7 : Anti lemak kontrol (tanpa penyuntikan)
 - Sumur tengah : Lemak sapi/tikus

Dari hasil uji imunodifusi ganda dapat dinyatakan bahwa anti lemak sapi dan tikus dapat membentuk presipitasi setelah diinkubasi selama 48 jam, dengan antigennya yaitu lemak sapi hingga pengenceran 4 kali (sumur 3) dan dengan lemak tikus hingga pengenceran 2 kali (sumur 2). Titer anti lemak sapi dan tikus disajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Titer Anti lemak Sapi dan Tikus dengan Metode Imunodifusi ganda

Titer Anti lemak (Pengenceran Kali)	Ekstrak Lemak Sapi (Antigen)	Ekstrak Lemak Tikus (Antigen)
1	+	+
2	+	+
4	+	-
8	-	-
16	-	-
32	-	-
Anti lemak kontrol	-	-

Keterangan ; + = terbentuk garis presipitasi - = tidak terbentuk presipitasi

Garis presipitasi yang terbentuk menunjukkan bahwa terjadinya interaksi yaitu reaksi difusi antara serum dan antiserum pada media agar serta membuktikan bahwa dalam tubuh kelinci telah terbentuk antiserum (antibodi) sapi dan tikus. Hal ini sesuai dengan pendapat (Girindra, 1986) yang menyatakan bahwa antibodi yang terbentuk hanya

dapat berinteraksi dengan antigen yang menginduksinya. Dalam pengujian titer antiserum ini terdapat perbedaan ketebalan presipitasi yang terbentuk, hal ini menandakan bahwa konsentrasi antiserum yang digunakan untuk uji berpengaruh terhadap hasil uji.

2. Uji Titer Anti lemak Babi dan Celeng

Hasil uji imunodifusi ganda anti lemak babi dan celeng yang diperoleh dari serum kelinci dengan tanpa pengenceran sampai pengenceran 32 kali, dapat dilihat pada gambar berikut



- Sumur 1 : Anti Lemak tanpa pengenceran
- Sumur 2 : Anti Lemak pengenceran 2x
- Sumur 3 : Pengenceran 4x
- Sumur 4 : Penceran 8x
- Sumur 5 : Pengenceran 16x
- Sumur 6 : Pengenceran 32x
- Sumur 7 : Anti serum kontrol
- Sumur Tengah : Ekstrak Lemak Babi

Gambar 5.5. Hasil Uji Imunodifusi Ganda Anti lemak Babi



- Sumur 1 : Anti Lemak tanpa pengenceran
- Sumur 2 : Anti Lemak pengenceran 2x
- Sumur 3 : Pengenceran 4x
- Sumur 4 : Penceran 8x
- Sumur 5 : Pengenceran 16x
- Sumur 6 : Pengenceran 32x
- Sumur 7 ; Anti serum kontrol
- Sumur Tengah : Ekstrak Lemak Celeng

Gambar 5.6. Hasil Uji Imunodifusi Ganda Anti lemak Celeng

Dari hasil uji imunodifusi ganda (Gambar 5.5 dan 5.6) dapat dinyatakan bahwa anti lemak babi dan anti lemak celeng dapat membentuk presipitasi setelah diinkubasi selama 48 jam, dengan antigennya yaitu anti lemak babi/celeng hingga pengenceran 4 kali (Tabel 5.2).

Tabel 5.2. Titer Anti lemak Babi dan Celeng dengan Metode Imunodifusi ganda

Titer Anti lemak (Pengenceran Kali)	Ekstrak Lemak Babi (Antigen)	Ekstrak Lemak Celeng (Antigen)
1	+	+
2	+	+
4	+	+
8	-	-
16	-	-
32	-	-
Anti lemak Kontrol	-	-

Keterangan ; + = terbentuk garis presipitasi - = tidak terbentuk presipitasi

Garis presipitasi yang terbentuk menunjukkan bahwa terjadinya interaksi yaitu reaksi difusi antara serum dan antiserum pada media agar serta membuktikan bahwa dalam tubuh kelinci telah terbentuk antilemak (antibodi) babi dan anti lemak celeng. Hal ini sesuai dengan pendapat Girindra (1986) yang menyatakan bahwa antibodi yang terbentuk hanya dapat berinteraksi dengan antigen yang menginduksinya. Dalam pengujian titer antiserum ini terdapat perbedaan ketebalan presipitasi yang terbentuk, hal ini menandakan bahwa konsentrasi antiserum yang digunakan untuk uji berpengaruh terhadap hasil uji.

3. Uji Titer Antiserum Babi dan Celeng

Hasil uji imunodifusi ganda antiserum babi dan celeng yang diperoleh dari serum kelinci dengan tanpa pengenceran sampai pengenceran 32 kali, dapat dilihat pada gambar berikut :



- Sumur 1 : Antiserum tanpa pengenceran
- Sumur 2 : Antiserum pengenceran 2x
- Sumur 3 : Pengenceran 4x
- Sumur 4 : Penceran 8x
- Sumur 5 : Pengenceran 16x
- Sumur 6 : Pengenceran 32x
- Sumur 7 : Anti serum kontrol
- Sumur Tengah : Serum Babi

Gambar 5.7. Hasil Uji Imunodifusiganda Antiserum Babi



- Sumur 1 : Anti Lemak tanpa pengenceran
- Sumur 2 : Anti Lemak pengenceran 2x
- Sumur 3 : Pengenceran 4x
- Sumur 4 : Penceran 8x
- Sumur 5 : Pengenceran 16x
- Sumur 6 : Pengenceran 32x
- Sumur 7 : Anti serum kontrol
- Sumur Tengah : Ekstrak Lemak Celeng

Gambar 5.8. Hasil Uji Imunodifusi Ganda Antiserum Celeng

Dari hasil uji imunodifusi ganda dapat dinyatakan bahwa antiserum babi dan celeng dapat membentuk presipitasi setelah diinkubasi selama 48 jam, dengan antigennya, yaitu serum babi dan celeng hingga pengenceran 8 kali (sumur 4).

Tabel 5.3. Titer Antiserum Babi dan Celeng dengan Metode Imunodifusi ganda

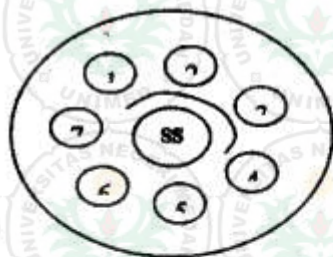
Titer Antiserum (Pengenceran Kali)	Serum Babi (Antigen)	Serum Celeng (Antigen)
1	+	+
2	+	+
4	+	+
8	+	+
16	-	-
32	-	-
Antiserum Kontrol	-	-

Keterangan ; + = terbentuk garis presipitasi - = tidak terbentuk presipitasi

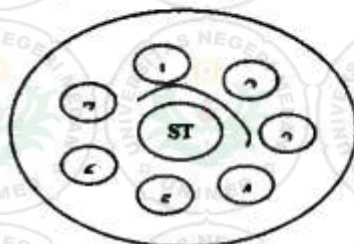
Garis presipitasi yang terbentuk menunjukkan bahwa terjadinya interaksi yaitu reaksi difusi antara serum dan antiserum pada media agar serta membuktikan bahwa dalam tubuh kelinci telah terbentuk antiserum (antibodi) babi dan celeng. Hal ini sesuai dengan pendapat Girindra (1986) yang menyatakan bahwa antibodi yang terbentuk hanya dapat berinteraksi dengan antigen yang menginduksinya. Dalam pengujian titer antiserum ini terdapat perbedaan ketebalan presipitasi yang terbentuk, hal ini menandakan bahwa konsentrasi antiserum yang digunakan untuk uji berpengaruh terhadap hasil uji.

4. Uji Titer Antiserum Sapi dan Tikus

Hasil uji imunodifusi ganda antiserum sapi dan tikus yang diperoleh dari serum kelinci dengan tanpa pengenceran sampai pengenceran 32 kali, dapat dilihat pada Gambar berikut:



Gambar 5.9. Hasil Uji Imunodifusi ganda Antiserum Sapi



Gambar 5.10. Hasil Uji Imunodifusi ganda Antiserum Tikus

- Keterangan:
- Sumur 1 = Antiserum sapi / tikus tanpa pengenceran
 - Sumur 2 = Antiserum sapi / tikus 2 x pengenceran
 - Sumur 3 = Antiserum sapi / tikus 4 x pengenceran
 - Sumur 4 = Antiserum sapi / tikus 8 x pengenceran
 - Sumur 5 = Antiserum sapi / tikus 16 x pengenceran
 - Sumur 6 = Antiserum sapi / tikus 32 x pengenceran
 - Sumur 7 = Antiserum kontrol (tanpa penyuntikan)
 - Sumur tengah = Serum sapi / tikus

Dari hasil uji imunodifusi ganda dapat dinyatakan bahwa antiserum sapi dan tikus dapat membentuk presipitasi setelah diinkubasi selama 48 jam, dengan antigennya, yaitu serum sapi hingga pengenceran 8 kali (sumur 4) dan serum tikus hingga 4 kali (sumur 3). Titer antiserum sapi dan tikus disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Titer Antiserum Sapi dan Tikus dengan Metode Imunodifusi ganda

Titer Antiserum (Pengenceran Kali)	Serum Sapi (Antigen)	Serum Tikus (Antigen)
1	+	+
2	+	+
4	+	+
8	+	+
16	-	-
32	-	-
Antiserum Kontrol	-	-

Keterangan ; + = terbentuk garis presipitasi ; - = tidak terbentuk presipitasi

Garis presipitasi yang terbentuk menunjukkan bahwa terjadinya interaksi yaitu reaksi difusi antara serum dan antiserum pada media agar serta membuktikan bahwa dalam tubuh kelinci telah terbentuk antiserum (antibodi) sapi dan tikus. Hal ini sesuai dengan pendapat (Girindra, 1986) yang menyatakan bahwa antibodi yang terbentuk hanya dapat berinteraksi dengan antigen yang menginduksinya. Dalam pengujian titer antiserum ini terdapat perbedaan ketebalan presipitasi yang terbentuk, hal ini menandakan bahwa konsentrasi antiserum yang digunakan untuk uji berpengaruh terhadap hasil uji.

Titer antilemak hewani dan antiserum secara keseluruhan disajikan pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Titer Anti Lemak Hewani dan Antiserum Hewani

Titer Antiserum (Pengenceran kali)	Antigen							
	Lemak				Serum			
	Sapi	Tikus	Babi	Celeng	Sapi	Tikus	Babi	Celeng
1	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+		+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	+	-	+	+
16	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-
Antiserum Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Antilemak hewani dan antiserum hewani telah dapat disediakan melalui penyuntikan lemak dan serum hewani asing pada kelinci.

Antilemak hewani yang disediakan adalah antilemak babi, antilemak celeng, antilemak sapi, antilemak tikus, antiserum babi, antiserum celeng, antiserum sapi dan antiserum tikus. Besar titer antilemak hewani adalah rata-rata 4 yaitu pengenceran antilemak sampai 4 kali, masih mampu membentuk presipitasi dengan antigennya (lemak), kecuali titer antilemak tikus adalah 2. Sedangkan titer antiserum hewani lebih besar dari antilemak yaitu rata-rata 8, kecuali titer antiserum tikus adalah 4.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian tahap II yaitu memurnikan antiserum yang telah diperoleh untuk meningkatkan sensitivitas antiserum sebagai bahan uji imunokimia lemak dan komponen lemak hewani dalam penentuan spesies asal lemak daging maupun substitusi lemak daging hewani. Keberhasilan suatu teknik imunokimia salah satu ditentukan oleh kemurnian antilemak/antiserum yang digunakan (Usul Penelitian Tahap II terlampir secara terpisah).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Adnan (2006), *Masyarakat Dihimbau Agar Hati-hati, Jangan Tergiur Dengan Harga Daging Murah*, <http://www.eramuslim.com/berita/bcz/drh> (akses : 21 Februari 2011, 11:20 Wib).
- Anonim 1, (2007), Babi, <http://id.wikipedia.org/wiki/babi> (akses : 22 Februari 2011, pukul 12:30 WIB).
- Anonim 2, (2008), Celeng, <http://id.wikipedia.org/wiki/celeng> (akses : 23 Februari 2011, pukul 13.15 WIB).
- Anonim 3, (2009), Kelinci, <http://id.wikipedia.org/wiki/kelinci> (akses : 23 Februari 2011, pukul 13.30 WIB).
- Bengkulu Ekspres, 13 Januari 2009.
- Boyer, (1986), *Modern Experimental Biochemistry*, The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc., Canada.
- Bradford, M., (1986), *A Rapid and Sensitive Methode for the Quantitation of quantities of Protein Utilising the Principle of Protein-dye Binding*, *Analitik Biochemistry*, 72, 248, 254. Microgram
- Catty, D. (1988). *Antibodies A Practical Approach*, Vol, 1 IRL Press, Washington DC.
- Crimes, A and C. Hitchcock, 1985, *Methodology for Meat Species Identification : A Review Meat Sci*, 15 : 215-224.
- Danial, (2008), antibodi, <http://pkukmweb.ukm.my/danial/strukturantibodi.html> (akses : 3 Maret 2011, pukul 12.15 WIB).
- Girindra, A. 1990. *Biokimia I*, Gramedia, Jakarta.
- Granner, D. K., Mayes, P.A., Murray, R.K., dan Rodwel, W.V., (2001), *Biokimia edisi 25*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Harper,
- Harlow, E. And D. Lane, (1998), *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Laboratory, New York. Harber
- Hayden, A.R. (1981). *Use of Antisera to Heat Stable Antigensfor Specie Identification in Thoroughly Cooked Beef Sausages*. *J. Food Sci.* 46: 1810- 1813. Identification in
- Husin, Stefanus (1993). *Pembentukan dan Pemurnian Antiserum Kambing Dari Yang Disuntik Serum Kambing.FMPA IPB Bogor*. Kelinci
- Irawati, Dahlia, (2009), *Dendeng Sapi Dicampur Daging Babi di Malang*, http://www.bengkuluexpress.com/verb3_online_version.html (accessed : Senin, 13 Januari 2009)
- Jhonstone, Albert and R. Thorpe.(1987). *Imunochemistry in Practice*. Blackwell Scientific Publication, London.
- Kang"ethe, E.K. Linqvist and J. Gathuma. (1984). *Imunological Reactions of Thermostable Muscle Antigens and Their Possible Use In Specification of Cooked and Fress Meat*. Proc. CEC Workshop on Biochemical Identification of Meat Species. Cooked
- Kompas, 6 April 2009.
- Kummer, Corby, (2005), *Methodology For Meat Species Identification : A Reviuw Meat Sci*. Reviuw Meat Sci.
- Male.D. (1986). *Immunologi; Anllustrated One Line*. Gower Medical Publishing Co Inc, New York. Co Inc,
- Mathews, C. And K. Van Holde, (2005), *Biochemistry*, the Benjamin/cummings Publishing co inc., New York.
- Nayar R. dan Govindarajulu, (2003), *Detection of Dog Meat in Model Meat Mixtures by Serological Test*, *Indian Vet. J.*, April, 2003 : 80 :328-331., Mixtures by
- and Technology Madras Veterinary College, Chennai. Department of Meat Science

- Nayar R. dan Govindarajulu, (2003), *Identification of Dog Meat by Serological Test*, Indian Vet. J., January; 80 :29-32., Department of Meat Science and Technology Madras Veterinary College, Chennai.
- Ouchterlony, O., (1953), *Antigen Antibody Reaction In Gels*, Act. Pathol, Microbiol, Scand. 32, 231
- Patterson, R.L., 1985, *Biochemical Identification of Meat Species*. Elsevier Applied Science Publisher, London and New York.
- Sarwono, B., (2001), *Kelinci Potong dan Hias*, PT. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Simorangkir, Murniaty, (1993). *Isolasi dan Identifikasi Immunoglobulin Gama (IgG) Serum Ayam Buras dan Ayam Ras dengan Metode Kromatografi Pertukaran Ion dan Imunokimia*. Tesis Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Simorangkir, Murniaty, (1997). *Isolasi Immunoglobulin Serum Kelinci yang Disuntik dengan Serum Babi Untuk Penyediaan Antiserum Babi*. Makalah Seminar Hasil Penelitian PPD-HEDS Universitas Riau, Pekanbaru.
- Simorangkir, Murniaty, (2000). *Isolasi Immunoglobulin Serum Kelinci Yang Disuntik Dengan Protein Babi Segar dan Dipanaskan Untuk Penyediaan Antiserum, Babi*. Makalah Seminar Hasil Penelitian PPD-HDES Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Simorangkir, Murniaty, dan Hudson Sidabutar, (2004), *Determinasi Protein Daging Secara Imunokimia dengan Menggunakan Antiserum Lokal*, Laporan Penelitian Universitas Negeri Medan, Kementerian Riset dan Teknologi RI.
- Simorangkir, Murniaty, (2008). *Pemurnian dan Sensitivitas Antiserum Anti-Kedelai Sebagai Bahan Uji Imunokimia Protein Nabati*, Jurnal Sains Indonesia, Vol.33/nomor 2/ Juli-Desember 2009/ISSN 1978-3841, hal. 129-138, FMIPA Unimed.
- Simorangkir, M., (2001), *Penggunaan Antiserum (Antibodi) Untuk Identifikasi Daging Metode Imunodifusi Ganda*, FMIPA IKIP Medan . Majalah Pendidikan Science No.02 Tahun XX, edisi Juli-September 1994.
- Swart, C And Wilks, (1982), *An Immunodiffusion Methode For The Origin of Meat Samples*, Departement Of Agriculture Veterinary Research Institute, Park Drive, Park Ville : 3052.
- Syarkawi, (2009), *Enam Produsen Bakso Babi Kabur*, <http://www.kompas.com/campur/daging/bengkutu/2009> (akses : Sabtu, 13 Juni 2011, 03.00.58)
- Tizard, L.R., (1982). *An Introduction to veterinary immunologi*. (M. Partodiredjo, cs).
- Zuhri, Yusi, (2009), *Dari Lemak Babi ke Piagam Kerja Sama*, <http://www.republika.com/forum/redaksi.html> (akses :Senin 23 Mei 2011 17:04:00 WIB)

**FOTO DOKUMENTASI SBN KEGIATAN PENELITIAN FUNDAMENTAL
"PEMURNIAN DAN SENSITIVITAS ANTISERUM POLIKLONAL LOKAL
SEBAGAI BAHAN UJI IMUNOKIMIA LEMAK HEWANI"**

Oleh

**Dra. Murniaty Simorangkir, MS dan Dra. Erlintan Sinaga, MS
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN, 2011**



Gambar 1. Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng.

Setelah dilakukan ekstraksi lemak, diperoleh seperti pada Gambar berikut.



Gambar 2. Hasil Ekstraksi Lemak Tikus, Sapi, Babi dan Celeng (Digunakan Sebagai Antigen).



Gambar 3. Penyuntikan Antigen Ekstrak Lemak Hewani Pada Kelinci.



Gambar 4. Pengambilan Sampel Antiserum Dari Darah Kelinci.



Gambar 5. Sampel Darah Kelinci



Gambar 6. Sampel Serum Kelinci



Gambar 7. Sampel Darah Kelinci



Gambar 8. Persiapan Media Agar



Gambar 9. Media Agar Uji Immunodi-
Fusiganda.



Gambar 10. Peneliti Sadang Mengisi Bahan
Antiserum pada Media Agar .



Gambar 12. Hasil Uji Titer Antiserum. Gambar 11. Inkubasi Media Uji Titer

LAMPIRAN 2.**RIWAYAT HIDUP KETUA PENELITIAN****Identitas :**

- a. Nama : Dra. Murniaty Simorangkir, MS
 b. NIP : 131413658
 c. Pangkat/Golongan : Pembina TK.I /IV/b
 d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 e. Tempat/Tanggal Lahir : Medan, 4 Mei 1959
 f. Alamat : Jl. Sei Siguti No. 26A Medan Potisah,
 Telp.(061) 4569839
 HP. 085297841760
 Email : murnisimor@gmail.com

Pendidikan :

Universitas/Lokasi	Gelar	Tahun Lulus	Bidang
IKIP Medan	Sarjana Pendidikan	1983	Pendidikan Kimia
IPB Bogor	Master	1993	Blokimia

Riwayat Pekerjaan :

Dosen Kimia FMIPA Universitas Negeri Medan sejak 1984 sampai dengan sekarang.

Hasil Penelitian :

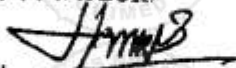
NO.	JUDUL	TAHUN
1.	Isolasi dan Identifikasi Immunoglobulin Gama (IgG) Serum Ayam Buras dab Ras Dengan Metode Kromatografi Pertukaran Ion dan Imunokimia (Tesis. Pascasarjana)	1993
2	Isolasi Immunoglobulin Serum Kelinci Yang Disuntik Dengan Serum Babi Untuk Penyediaan Antiserum Babi	1993
3	Isolasi Immunoglobulin Serum Kelinci Yang Disuntik Dengan Protein Babi Segar dan Dipanaskan Untuk Penyediaan Antiserum Babi	2000
	Pengaruh Penambahan Tepung daging Siput Murbei (Pomacea) Dalam Ransum Terhadap Pertambahan Berat Badan, Kadar Hemoglobin dan Protein Serum Ayam Broiler.	2001
1.	Pemurnian dan Sensitivitas Antiserum Anti-Kedelai Sebagai	2008

Bahan Uji Imunokimia Protein Nabati, *Jurnal Sains Indonesia*, Vol.33/nomor2/Juli-Desember 2009/ISSN 1978-3841, hal. 129-138, FMIPA Unimed.

Publikasi :

NO.	JUDUL
1.	Simorangkir, Murniaty. 1995. Isolasi dan Identifikasi Immunoglobulin Gama (Ig G) Serum Ayam Buras dan Ayam Ras Dengan Metode Kromatografi Pertukaran Ion dan Imunokimia, <i>Forum Pascasarjana IPB Bogor, NO. 1 Tahun ke-18, ISSN 0216 - 1886.</i>
2	Penggunaan Antiserum (Antibodi) Untuk Identifikasi Daging Dengan Metode Imunodifusi ganda, <i>Jurnal Pendidikan Science, Vol.25, No. 2B, Mei 2001</i> , hal .9-17, FMIPA Unimed.
3	Pemurnian dan Sensitivitas Antiserum Anti-Kedelai Sebagai Bahan Uji Imunokimia Protein Nabati, <i>Jurnal Sains Indonesia</i> , Vol.33/nomor2/Juli-Desember 2009/ISSN 1978-3841, hal. 129-138, FMIPA Unimed.

Medan, Nopember 2011.



Dra. Murniaty Simorangkir.MSi
NIP.195905041984032001

RIWAYAT HIDUP ANGGOTA PENELITI

Identitas :

- a. Nama** : Dra. Erlinta Sinaga, MKes
b. Pangkat/Golongan/NIP : Penata TK. III/d/131570425
c. Jabatan Fungsional : Lektor
d. Tempat/Tanggal Lahir : Medan, 25 Mei 1960
e. Alamat : Jl. Tuasan, No. 35 Medan Tembung.

Pendidikan :


	Gelar	Tahun Lulus	Bidang
IKIP Medan	Sarjana Pendidikan	1985	Pendidikan Biologi
USU	Master	2007	Biomedis/Fisiologi

Riwayat Pekerjaan : Dosen Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan sejak 1986 sampai dengan sekarang.

Hasil Penelitian :

NO.	JUDUL	KETERANGAN
1.	Potensi Serbuk Pegagan Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Ketua Peneliti
2.	Manfaat Serat Makanan Dari Bayam dan Kangkung Dalam Membantu Fungsi Pencernaan, Penurunan Kadar Kolesterol dan Respon Glukosa Darah Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>).	Ketua Peneliti
3.	Pengaruh Aktifitas Fisik Terhadap Siklus Estrus Mencit	Anggota Peneliti

Medan, NOKEM 2011
Anggota,


 Dra. Erlinta Sinaga, MKes

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
(STATE UNIVERSITY OF MEDAN)**

LEMBAGA PENELITIAN (RESEARCH INSTITUTE)

**Jl. W. Iskandar Par. V Kotak Pos No.1589 - Medan 20221 Telp. (061) 6636757, Fax. 6636757, atau (061) 6613365
Fw. 228 E-mail: penelitian.unimed@vsnho.com - penelitian.unimed@gmail.com**

SURAT PERJANJIAN PENGGUNAAN DANA (SP2D)

No. : 129 /UN33.8/PL/2011

Pada hari ini Rabu tanggal satu bulan Juni tahun dua ribu sebelas, kami yang bertanda tangan di bawah ini :

1. Dr. Ridwan Abd. Sani, M.Si :Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan, dan atas nama Rektor Unimed, dan dalam perjanjian ini disebut **PIHAK PERTAMA**.
2. Dra. Murniaty Simorangkir,MSI :Dosen FMIPA bertindak sebagai Peneliti/Ketua pelaksana penelitian, selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

Kedua belah pihak secara bersama-sama telah sepakat mengadakan Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) untuk melakukan penelitian yang dibiayai dari Dirjen Dikti Tahun anggaran 2011 sesuai surat perjanjian penugasan Nomor 199/SP2H/PL/Dit.Litabmas/IV/2011, tanggal 14 April 2011, DP2M Dikti Depdiknas untuk Penelitian **Fundamental** dengan ketentuan sebagai berikut :

**Pasal 1
JENIS PEKERJAAN**

PIHAK PERTAMA memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA**, dan **PIHAK KEDUA** menerima tugas tersebut untuk melaksanakan penelitian dengan judul: "Penyediaan, pemurnian dan sensitivitas antiserum poliklonal lokal sebagai bahan uji imunokimia lemak hewani " yang menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dengan masa kerja 5 (lima) bulan, terhitung mulai bulan Juli s/d Nopember 2011.

**Pasal 2
DASAR PELAKSANAAN PEKERJAAN**

Pekerjaan dilaksanakan oleh **PIHAK KEDUA** atas dasar ketentuan yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari SP2D ini, yaitu:

1. Sesuai dengan proposal yang diajukan
2. UU RI No. 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara
3. UU RI No. 1 Tahun 2004, tentang Perberdaharaan Negara
4. UU RI No. 15 Tahun 2004, tentang pemeriksaan pengelolaan dan tanggungjawab keuangan Negara.
5. DIPA No. 0541/023-04.1.01/00/2011, Tanggal 20 Desember 2010, DP2M.

**Pasal 3
PENGAWASAN**

Untuk pelaksanaan pengawasan dan pengendalian pekerjaan adalah Lembaga Penelitian Unimed dan Sistem pengendalian Internal (SPI) Unimed.

**Pasal 4
NILAI PEKERJAAN**

1. **PIHAK PERTAMA** memberikan dana penelitian tersebut pada pasal 1 sebesar Rp.36.500.000,- (Tiga puluh enam juta lima ratus ribu rupiah) secara bertahap.
2. Tahap pertama sebesar 70% yaitu Rp. 25.550.000,- (Dua puluh lima juta lima ratus lima puluh ribu rupiah) dibayarkan sewaktu Surat Perjanjian Penggunaan dana (SP2D) ini ditandatangani oleh kedua belah pihak.
3. Tahap kedua sebesar 30% yaitu Rp. 10.950.000,- (Sepuluh juta sembilan ratus lima puluh ribu rupiah) dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan laporan hasil penelitian dan bukti pengeluaran/penggunaan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA**.
4. **PIHAK KEDUA** membayar pajak (PPh) sebesar 15% dari jumlah dana penelitian yang diterima dan fotocopy bukti pembayaran diserahkan ke Lembaga penelitian 2 rangkap.

Pasal 5
JANGKA WAKTU PELAKSANAAN

1. PIHAK KEDUA menyelesaikan dan menyerahkan laporan hasil penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 SP2D ini selambat-lambatnya tanggal 14 Nopember 2011.

Pasal 6
LAPORAN

1. PIHAK KEDUA menyerahkan laporan kemajuan pelaksanaan penelitian paling lambat tanggal 08 Agustus 2011 dan PIHAK KEDUA menyampaikan draft laporan akhir penelitian paling lambat tanggal 17 Oktober 2011. Untuk pelaksanaan seminar yang dikordinasi oleh Lemlit dan laporan akhir penelitian sebagaimana disebut dalam pasal 1 sebanyak 8 (delapan) eksampul beserta Soft Copy.
2. PIHAK KEDUA harus menyampaikan naskah artikel hasil penelitian dalam bentuk compact disk (CD) untuk diterbitkan pada jurnal Nasional terakreditasi dan bukti pengiriman disertakan dalam laporan.
3. Sebelum laporan akhir penelitian diselesaikan PIHAK KEDUA melakukan diseminasi hasil penelitian melalui forum yang dikordinasikan oleh Lembaga Penelitian dengan kontribusi dana sebesar 1% dari jumlah dana penelitian yang tertulis dalam pasal 2 dan pembiayaannya dibebankan kepada PIHAK KEDUA.
4. Seminar penelitian dilakukan di Lembaga Penelitian dengan mengundang dosen dan mahasiswa sebagai peserta seminar lembaga penelitian.
5. Bahan pelaksanaan seminar dimaksud (makalah) disampaikan ke Lembaga Penelitian sebanyak 2 (dua) exemplar.
6. Bukti pengeluaran keuangan (kuitansi) dan RAB menjadi arsip pada PIHAK KEDUA dan 1 (satu) rangkap diserahkan ke Lembaga penelitian Unimed dalam bentuk laporan penggunaan dana penelitian paling lambat tanggal 10 Agustus 2011 yang pembiayaannya dibebankan kepada PIHAK KEDUA.
7. Dana penelitian tahap II tidak dapat dicairkan jika bukti pengeluaran keuangan belum diserahkan oleh peneliti, dan dikembalikan ke kas Negara jika melewati batas akhir SP2D.
8. Sistematika Laporan Akhir penelitian harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
Laporan hasil penelitian yang tersebut dalam pasal 4 harus memenuhi ketentuan sbb:
 - a. Bentuk kuwarto
 - b. Warna cover disesuaikan dengan ketentuan yang ditetapkan Ditjen Dikti
 - c. Dibawah bagian kulit/cover depan ditulis: Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, sesuai dengan surat Perjanjian Hibah Penugasan Penelitian Fundamental No. 199/SP2H/PL/Dit.Litabmas/IV/2011 tanggal 14 April 2011
 - d. Melampirkan Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) pada lampiran laporan.

Pasal 7
SANKSI

Apabila PIHAK KEDUA dalam penelitian tidak dapat menyelesaikan penelitian sebagaimana tersebut dalam pasal 5 maka PIHAK KEDUA dikenakan sanksi:

1. Denda sebesar 1 % perhari dengan maksimum denda sebesar 5 % dari nilai Surat Perjanjian Penggunaan dana (SP2D)
2. Tidak akan diikutsertakan dalam pelaksanaan penelitian atau kegiatan lainnya.
3. Apabila pelaksanaan program melalaikan kewajiban baik langsung atau tidak langsung yang merugikan keuangan negara diwajibkan mengganti kerugian yang dimaksud.
4. Apabila ketua peneliti berhalangan melaksanakan desiminasi karena suatu hal, maka wajib menunjuk salah seorang anggota yang mampu.

Pasal 8

Laporan Akhir Penelitian ini dibuat rangkap 5 (lima) dengan ketentuan sebagai berikut :

- 1 (satu) pada Perpustakaan Nasional
- 1 (satu) pada PDI (LIPI)
- 1 (satu) pada BAPENAS
- 1 (satu) perpustakaan perguruan tinggi
- 1 (satu) pada Lembaga Penelitian Unimed

Salinan surat perjanjian penggunaan dana (SP2D) ini diperbuat untuk diketahui dan dilaksanakan sebagaimana mestinya.

PIHAK KEDUA

Dra. Murniaty Simorangkir, MS
NIP. 195505041984032001

