



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, SH.
Tembalang
Semarang 50275
Jawa Tengah

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES ISOLASI LAKTOFERIN DAN LAKTOPEROKSIDASE
DARI KOLOSTRUM KAMBING PERANAKAN ETTAWA RAS
KALIGESING

Inventor : Dian Wahyu Harjanti
Ahmad Nimatullah Al-Baarri

Tanggal Penerimaan : 20 Desember 2017

Nomor Paten : IDP000063146

Tanggal Pemberian : 03 Oktober 2019

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000063146 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 03 Oktober 2019

(31) Klasifikasi IPC⁸ : A 23L 33/19(2016.01), A 61K 38/40(2006.01), A 61K 35/20(2006.01)

(32) No. Permohonan Paten : P00201709334

Tanggal Penerimaan: 20 Desember 2017

Data Prioritas :

(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

Tanggal Pengumuman: 06 Juli 2018

Dokumen Pemandang:

00199201831

00200600236

00201100190

00201100908

00201304711

00201404100

00201407263

00201508181

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, SH.
Tembalang
Kota Semarang 50275
Tengah

(72) Nama Inventor :
Dian Wahyu Harjanti, ID
Ahmad Nimatullah Al-Baarri, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Ahmad Muniri

Jumlah Klaim : 3

Invensi : PROSES ISOLASI LAKTOFERIN DAN LAKTOPEROKSIDASE DARI KOLOSTRUM KAMBING PERANAKAN ETTAWA RAS KALIGESING

ini berhubungan dengan proses isolasi laktoferin dan laktoferoksidase dari kolostrum kambing PE Kaligesing. Proses isolasi terdiri mengumpulkan kolostrum. Kolostrum dihangatkan didalam waterbath 35°C, ditambah 50 ml 0,02% enzim rennet (w/v) dan diinkubasi. Selanjutnya, disaring dengan cloth steril dua kali dan disentrifugasi dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 10°C selama 15 menit. Masukkan kedalam SP Sepharose Fast Flow Column. Sebanyak 300 ml 0,4 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M phosphate buffer dan dimasukkan kedalam resin. Isolat laktoferoksidase ditampung kedalam penampung steril. Laktoferoksidase yang dihasilkan karakteristik : konsentrasi 230,8 mg/L dan bobot molekul 72 kDa. Selanjutnya sebanyak 300 ml 1 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M phosphate buffer (pH 7,0) dan dimasukkan kedalam resin yang sama. Laktoferin yang dihasilkan memiliki karakteristik : konsentrasi 230,8 mg/L, konsentrasi Fe dalam filtrat laktoferin sebesar 2,5959 ppm dan bobot laktoferin 75 kDa. Tujuan dari invensi ini adalah dengan proses isolasi laktoferin dan laktoferoksidase, mengetahui karakteristiknya dan menyediakan isolat laktoferin dan laktoferoksidase untuk industri obat dan pangan.



Deskripsi

PROSES ISOLASI LAKTOFERIN DAN LAKTOPEROKSIDASE DARI KOLOSTRUM KAMBING PERANAKAN ETTAWA RAS KALIGESING

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari kolostrum kambing perah Peranakan Ettawa ras Kaligesing.

Latar Belakang Invensi

10 Indonesia adalah negara mega biodiversity yang mempunyai keanekaragaman hayati, baik tumbuhan maupun hewan (termasuk ternak). Indonesia memiliki potensi yang luas dengan berbagai ternak lokal. Ternak penghasil susu di Indonesia diantaranya adalah sapi Frisian Holsten, kambing Peranakan Etawa (PE),
15 kerbau Murrah dan kuda perah Sumbawa. Kambing PE di Indonesia terdiri dari dua ras, yaitu ras Kaligesing (bulu berwarna hitam-putih) dengan populasi tertinggi dengan harga jual susu dan harga ternak yang tinggi, dan kambing PE ras Senduro (bulu berwarna putih). Kambing PE ras Kaligesing pada awalnya
20 dikembangkan di daerah Kaligesing Purworejo dan saat ini sudah mulai dikembangkan didaerah lain. Susu kambing PE paling banyak diminati oleh masyarakat karena diyakini berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti gangguan pernafasan dan pencernaan.

#

Beberapa bahan aktif dalam susu yang mulai banyak diketahui manfaat klinis dan prospek di bidang kesehatan dan industri pangan adalah laktoferin dan laktoperoksidase. Laktoferin adalah glikoprotein yang dapat mengikat zat besi (Fe) dan terdapat dalam jumlah tinggi dalam kolostrum. Laktoferin memiliki aktivitas bakteriostatik (antibakteri) yang kuat karena mampu mengikat ion metal yang vital bagi makhluk hidup, seperti ion Fe^{3+} . Bakteri dapat mati karena kekurangan ion Fe^{3+} . Selain sebagai bakteriostatik, laktoferin juga memiliki potensi sebagai antiperadangan (antiinflamasi). Selain memiliki daya antibakterial, laktoferin sudah diketahui mempunyai daya antiviral dan digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit seperti yang telah dipatenkan dengan US Patent No. US 20170128548 berjudul "Lactoferrin supplementation and diarrhea" tanggal 11 Mei 2017, serta US Patent No. US 20170182132 berjudul "Use of nutritional compositions including lactoferrin in supporting resistance to disease and conditions" tanggal 26 Juni 2017. Sedangkan laktoperoksidase merupakan enzim yang diketahui banyak ditemukan dalam susu. Laktoperoksidase mempunyai cara kerja yang unik dan berbeda dengan enzim susu lainnya. Laktoperoksidase mengkatalisa reaksi antara *hydrogen peroxide* (H_2O_2) dan *thiocyanate* (SCN^-) yang secara natural terdapat dalam susu menjadi senyawa yang dinamakan hipothiocyanite ($OSCN^-$). Proses katalisis yang dilakukan oleh laktoperoksidase dalam

rangka memproduksi OSCN⁻ dinamakan laktoperoksidase system. Senyawa OSCN⁻ ini adalah senyawa yang bertanggung jawab untuk membunuh bakteri, fungi, dan virus dengan merusak gugus sulfhidril (gugus S-H) dari membran sel, yang mengakibatkan

5 pada kerusakan vital membran sel yang pada akhirnya akan membawa pada kematian sel. Laktoperoksidase sistem saat ini telah digunakan sebagai agen anti mikroorganisme patogen alami yang telah banyak digunakan oleh industri-industri pangan di dunia untuk mencegah terjadinya *foodborne disease* dan menjaga

10 keamanan produk pangan. Fungsi biologis seperti aktivitas antibacterial, antiviral, antioksidan dan immunoregulatori telah diketahui (British Journal of Nutrition, England, Vol. 84, 2000, p.S19 to S25, dan Life Sciences, England, Vol. 43, 1988, p.739 to 745). Sedangkan Engelmayer et al dalam Paten

15 No. US8247373 B2 melakukan invensi penggunaan laktoferin sebagai obat penyembuh luka. Aplikasi laktoperoksidase pada industri pangan dan kesehatan diantaranya diketahui pada Japanese Patent No. 3103615 berjudul "preventive and therapeutic agent for infectious disease with pathogenic germs

20 added to formula feed for cultured aquatic animals"; Japanese Patent No. 3103167 berjudul "an aging preventing agent"; Japanese Patent No. 2840795 berjudul "therapeutic agent for corneal disorder".

Paten untuk isolasi laktoferin telah dilakukan oleh

25 Perraudin et al. dalam Paten No. EP2391225 A1 dengan metode

melarutkan bahan pada temperature tidak lebih dari 50C, selanjutnya purifikasi pada exchange resin ada pH antara 4-9. Sedangkan Nuijens et al. dalam Paten No. US5861491 A melakukan separasi dan purifikasi laktoferin manusia dan laktoferin dari susu sapi menggunakan 40 mM NaPO₄ buffer untuk laktoferin manusia dan 1M NH₄ SO₄ untuk laktoferin susu sapi.

Invensi sebelumnya belum dilaporkan mengenai isolasi, purifikasi dan karakterisasi (bobot molekul dan konsentrasi) laktoferin dan laktoperoksidase dari ternak lokal Indonesia yaitu Kambing Peranakan Etawa ras Kaligesing.

Invensi sebelumnya yang telah dilakukan juga belum memperlihatkan adanya upaya untuk memaksimalkan produksi laktoferin dan laktoperoksidase. Padahal, laktoferin dan laktoperoksidase merupakan bahan alami yang telah terbukti manfaatnya dalam bidang kesehatan dan pangan di dunia. Laktoferin dan laktoperoksidase dari kambing lokal Indonesia yaitu Kambing PE ras Kaligesing mempunyai peluang dimanfaatkan secara luas dalam skala industri obat dan pangan.

Publikasi kami sebelumnya Harjanti et al. (2017) pada Advanced Science Letter Vol 23 p3321-3324 melaporkan bahwa laktoferin dan laktoperoksidase kambing PE ras Kaligesing sebaiknya diisolasi pada hari pertama post partus karena konsentrasinya lebih tinggi jika dibandingkan hari kedua dan selanjutnya. Namun demikian, publikasi kami tersebut belum

menampilkan perbedaan metode isolasi yang mampu mendapatkan laktoferin dan laktoperoksidase dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari sample susu atau kolostrum yang sama.

Invensi yang diajukan ini adalah prosedur isolasi untuk produksi laktoferin dan laktoperoksidase Kambing PE ras Kaligesing.

Uraian Singkat Invensi

Tujuan dari invensi ini adalah berkenaan dengan proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase kolostrum Kambing PE ras Kaligesing.

Tujuan lainnya adalah untuk mengetahui karakteristik laktoferin dan laktoperoksidase dari ternak perah local Indonesia yaitu kambing Peranakan Etawa ras Kaligesing.

Tujuan lainnya adalah menyediakan isolat laktoferin dan laktoperoksidase untuk industri obat dan pangan

Proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari kolostrum kambing Peranakan etawa ras Kaligesing yang terdiri dari mengumpulkan kolostrum kambing PE Kaligesing, yaitu kolostrum hari pertama dan kedua post-partus yang berwarna kuning-orange. Kolostrum dihangatkan didalam waterbath suhu 35°C. Selanjutnya ditambahkan 50 ml 0,02% enzim rennet (w/v) dan diinkubasi selama 30 menit. Kolostrum disaring menggunakan cloth steril sebanyak dua kali dan disentrifugasi dengan

kecepatan 60 rpm pada suhu 10°C selama 15 menit hingga dihasilkan whey. Selanjutnya whey dimasukkan kedalam SP Sepharose Fast Flow Column. Sebanyak 300 ml 0,4 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M Phosphate buffer (pH 7) dan selanjutnya dimasukkan kedalam resin. Filtrat yang mengandung isolat laktoperoksidase ditampung kedalam penampung steril dengan bantuan peristaltic pump. Laktoperoksidase yang dihasilkan memiliki karakteristik : konsentrasi 230,8 mg/L dan bobot molekul 72 kDa. Selanjutnya sebanyak 300 ml 1 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M Phospahte buffer (pH 7,0) dan selanjutnya dimasukkan kedalam resin yang sama. Selanjutnya filtrat yang mengandung isolat laktoferin ditampung didalam penampung steril dengan bantuan peristaltic pump. Laktoferin dihasilkan memiliki karakteristik : konsentrasi 169,2 mg/L, konsentrasi Fe dalam filtrat laktoferin sebesar 2,5959 ppm dan bobot laktoferin 75 kDa.

Uraian Lengkap Invensi

Telah dilakukan penelitian isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari kolostrum kambing PE ras kaligesing dengan perbedaan prosedur teknik penyaringan. Keunggulan prosedur isolasi dengan teknik penyaringan ganda adalah menghasilkan isolat laktoferin dan laktoperoksidase dengan konsentrasi yang tinggi.

Kolostrum yang digunakan untuk menghasilkan laktoferin dan laktoperoksidase dalam konsentrasi tinggi adalah kolostrum

dari hari pertama dan kedua post-partus yang berwarna kuning-orange. Kolostrum dihangatkan didalam waterbath suhu 35°C. Selanjutnya ditambahkan 50 ml 0,02% enzim rennet (w/v) dan diinkubasi selama 30 menit. Kolostrum selanjutnya disaring menggunakan cloth steril sebanyak dua kali dan disentrifugasi dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 10°C selama 15 menit. Whey yang tersaring sebanyak 1 liter (dari 2 liter kolostum). Whey yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam SP Sepharose Fast Flow Column. Selanjutnya sebanyak 300 ml 0,4 M NaCl yang dilarutkan kedalam 0,1 M Phosphate buffer (pH 7) dan dialirkan kedalam resin. Filtrat yang mengandung laktoperoksidase ditampung kedalam penampung steril dengan bantuan peristaltic pump. Selanjutnya kedalam resin yang sama dimasukkan larutan 300 ml 1 M NaCl yang telah dilarutkan kedalam 0,1 M Phospahte buffer (pH 7,0). Menggunakan prosedur yang sama dengan bantuan peristaltic pump, filtrat yang dihasilkan ditampung kedalam penampung steril. Eluate tersebut adalah isolat laktoferin.

Hasil pengujian konsentrasi dan bobot molekul laktoferin dan laktoperoksidase kambing PE ras Kaligesing dengan prosedur tersebut dihasilkan isolate laktoferin dan lakoperoksidase sebagai berikut:



	Data isolat laktoferin dan laktoperoksidase
Konsentrasi Laktoferin (mg/L)	169,2 mg/L
Konsentrasi Fe dalam filtrat laktoferin	2,5959 ppm
Konsentrasi laktoperoksidase	230,8 mg/L
Bobot molekul laktoferin	75 kDa
Bobot molekul laktoperoksidase	72 kDa

5

10

15

Klaim :

1. Proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari kolostrum kambing Peranakan etawa ras Kaligesing yang terdiri dari :
 - 5 a. mengumpulkan kolostrum kambing PE Kaligesing, yaitu kolostrum hari pertama dan kedua post-partus yang berwarna kuning-orange;
 - b. menghangatkan kolostrum didalam waterbath suhu 35°C;
 - c. menambahkan 50 ml 0,02% enzim rennet (w/v) dan
10 diinkubasi selama 30 menit;
 - d. menyaring kolostrum menggunakan cloth steril sebanyak dua kali dan disentrifugasi dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 10°C selama 15 menit hingga dihasilkan whey;
 - e. memasukkan whey kedalam SP Sepharose Fast Flow Column;
 - 15 f. melarutkan 300 ml 0,4 M NaCl kedalam 0,1 M Phosphate buffer (pH 7) dan selanjutnya memasukkan kedalam resin;
 - g. menampung filtrat yang mengandung isolat laktoperoksidase kedalam penampung steril dengan
20 bantuan peristaltic pump;
 - h. melarutkan 300 ml 1 M NaCl kedalam 0,1 M Phospahte buffer (pH 7,0) dan selanjutnya memasukkan kedalam resin yang sama;

i. menampung filtrat yang mengandung isolat laktoferin
kedalam penampung steril dengan bantuan peristaltic
pump;

2. Proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari
5 kolostrum kambing Peranakan etawa ras Kaligesing sesuai
klaim (1) dimana laktoferin dihasilkan dengan
karakteristik : konsentrasi 169,2 mg/L, konsentrasi Fe
dalam filtrat laktoferin sebesar 2,5959 ppm dan bobot
laktoferin 75 kDa.
- 10 3. Proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari
kolostrum kambing Peranakan etawa ras Kaligesing sesuai
klaim (1) dimana laktoperoksidase dihasilkan dengan
karakteristik : konsentrasi 230,8 mg/L dan bobot molekul
72 kDa.

15

20

25

✱

Abstrak**PROSES ISOLASI LAKTOFERIN DAN LAKTOPEROKSIDASE DARI KOLOSTRUM
KAMBING PERANAKAN ETTAWA RAS KALIGESING**

5 Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase dari kolostrum kambing PE Kaligesing. Proses isolasi terdiri dari mengumpulkan kolostrum. Kolostrum dihangatkan didalam waterbath 35°C, ditambah 50 ml 0,02% enzim rennet (w/v) dan diinkubasi 30 menit. Selanjutnya, disaring
10 dengan cloth steril dua kali dan disentrifugasi dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 10°C selama 15 menit. Whey dimasukkan kedalam SP Sepharose Fast Flow Column. Sebanyak 300 ml 0,4 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M phosphate buffer (pH 7,0) dan dimasukkan kedalam resin. Isolat laktoperoksidase
15 ditampung kedalam penampung steril. Laktoperoksidase yang dihasilkan memiliki karakteristik : konsentrasi 230,8 mg/L dan bobot molekul 72 kDa. Selanjutnya sebanyak 300 ml 1 M NaCl dilarutkan kedalam 0,1 M phospahte buffer (pH 7,0) dan dimasukkan kedalam resin yang sama. Laktoferin yang dihasilkan
20 memiliki karakteristik : konsentrasi 169,2 mg/L, konsentrasi Fe dalam filtrat laktoferin sebesar 2,5959 ppm dan bobot laktoferin 75 kDa. Tujuan dari invensi ini adalah berkenaan dengan proses isolasi laktoferin dan laktoperoksidase, mengetahui karakteristiknya dan menyediakan isolat laktoferin
25 dan laktoperoksidase untuk industri obat dan pangan.

KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN, DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU DAN RAHASIA DAGANG

Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
 Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDP000063146 Tanggal diberi : 03/10/2019 Jumlah Klaim : 3
 Nomor Permohonan : P00201709334 IPAS Filing Date : 20/12/2017
 Entitlement Date : 20/12/2017

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	20/12/2017-19/12/2018	02/04/2020	0	3	0	0	0	0	0
2	20/12/2018-19/12/2019	02/04/2020	0	3	0	0	0	0	0
3	20/12/2019-19/12/2020	02/04/2020	0	3	0	0	0	0	0
4	20/12/2020-19/12/2021	21/11/2020	0	3	0	0	0	0	0
5	20/12/2021-19/12/2022	21/11/2021	0	3	0	0	0	0	0
6	20/12/2022-19/12/2023	21/11/2022	1.500.000	3	450.000	1.950.000	0	0	1.950.000
7	20/12/2023-19/12/2024	21/11/2023	2.000.000	3	600.000	2.600.000	0	0	2.600.000
8	20/12/2024-19/12/2025	21/11/2024	2.000.000	3	600.000	2.600.000	0	0	2.600.000
9	20/12/2025-19/12/2026	21/11/2025	2.500.000	3	750.000	3.250.000	0	0	3.250.000
10	20/12/2026-19/12/2027	21/11/2026	3.500.000	3	750.000	4.250.000	0	0	4.250.000
11	20/12/2027-19/12/2028	21/11/2027	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
12	20/12/2028-19/12/2029	21/11/2028	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
13	20/12/2029-19/12/2030	21/11/2029	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
14	20/12/2030-19/12/2031	21/11/2030	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
15	20/12/2031-19/12/2032	21/11/2031	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
16	20/12/2032-19/12/2033	21/11/2032	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
17	20/12/2033-19/12/2034	21/11/2033	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
18	20/12/2034-19/12/2035	21/11/2034	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
19	20/12/2035-19/12/2036	21/11/2035	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000
20	20/12/2036-19/12/2037	21/11/2036	5.000.000	3	750.000	5.750.000	0	0	5.750.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 31/10/2019 (tahun ke-1 s.d 3) adalah sebesar 0

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Permohonan penundaan pembayaran biaya tahunan akan diterima apabila diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan berikutnya, dan bukan merupakan pembayaran biaya tahunan pertama kali.
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus