

**KARAKTERISASI STABILITAS PROTEIN DAN PROFIL
FISIKOKIMIA PLASMA KUDA HIPERIMUN
PADA VARIASI SUHU PENYIMPANAN**

SKRIPSI

**MIRANDA WULANDARI
A243004**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

LEMBAR PENGESAHAN

**KARAKTERISASI STABILITAS PROTEIN DAN PROFIL
FISIKOKIMIA PLASMA KUDA HIPERIMUN PADA
VARIASI SUHU PENYIMPANAN**

**MIRANDA WULANDARI
A243004**

Juli 2026

Disetujui Oleh:

Pembimbing



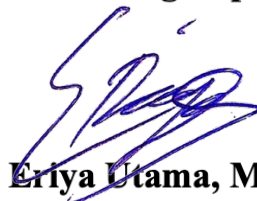
apt. M. Hilmi F., M. Farm

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si.

Pembimbing Lapangan



Eriya Utama, M.Sc.

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

PERSEMBAHAN

Karya ini saya persembahkan kepada kedua orang tua tercinta, keluarga, dan orang-orang terdekat yang dengan doa, cinta, dan dukungannya telah menjadi bagian dari setiap Langkah perjuangan saya hingga skripsi ini dapat terselesaikan.

ABSTRAK

Plasma kuda hiperimun merupakan bahan baku penting dalam produksi Serum Anti Bisa Ular (SABU) karena mengandung imunoglobulin G (IgG) sebagai sumber antibodi yang dapat diproses menjadi fragmen F(ab')₂. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh suhu penyimpanan terhadap profil fisikokimia plasma dan stabilitas protein IgG. Sampel plasma disimpan pada suhu 2–8 °C, 20–25 °C, dan 37 °C, kemudian dianalisis melalui organoleptis, pH, konduktivitas, OD280, OD600, Dynamic Light Scattering (DLS), SDS-PAGE non-reduksi, densitometri, dan RP-HPLC. Data OD280, OD600, dan DLS dianalisis menggunakan Two Way ANOVA, sedangkan SDS-PAGE/densitometri dan RP-HPLC dianalisis secara semikuantitatif dan deskriptif. Hasil menunjukkan bahwa organoleptis, pH, konduktivitas, dan OD600 relatif stabil selama penyimpanan, sedangkan OD280, DLS, SDS-PAGE/densitometri, dan RP-HPLC menunjukkan perubahan profil protein, partikel, dan kromatogram. Perubahan paling nyata terjadi pada suhu 37 °C. Berdasarkan parameter yang diuji, suhu 2–8 °C merupakan kondisi penyimpanan yang paling mendukung, terutama ditunjukkan oleh OD600 yang relatif stabil serta pita protein pada wilayah IgG utuh 150 kDa ± 10 kDa yang masih terdeteksi hingga minggu ke-8. Hasil ini dapat menjadi dasar awal pertimbangan batas waktu penyimpanan sementara plasma sebelum produksi SABU, tetapi belum menetapkan umur simpan definitif.

Kata kunci: plasma kuda hiperimun, IgG, stabilitas protein, suhu penyimpanan, SABU.

ABSTRACT

Hyperimmune horse plasma is an important raw material in the production of Snake Antivenom Serum (SABU) because it contains immunoglobulin G (IgG), which can be processed into F(ab')₂ fragments. This study aimed to evaluate the effect of storage temperature on the physicochemical profile of plasma and IgG protein stability. Plasma samples were stored at 2–8 °C, 20–25 °C, and 37 °C, then analyzed using organoleptic observation, pH, conductivity, OD280, OD600, Dynamic Light Scattering (DLS), non-reducing SDS-PAGE, densitometry, and RP-HPLC. OD280, OD600, and DLS data were analyzed using Two Way ANOVA, while SDS-PAGE/densitometry and RP-HPLC were analyzed semiquantitatively and descriptively. The results showed that organoleptic properties, pH, conductivity, and OD600 were relatively stable during storage, whereas OD280, DLS, SDS-PAGE/densitometry, and RP-HPLC showed changes in protein, particle, and chromatogram profiles. The most noticeable changes occurred at 37 °C. Based on the tested parameters, 2–8 °C was the most supportive storage condition, mainly indicated by relatively stable OD600 values and the protein band in the intact IgG region of 150 kDa ± 10 kDa that was still detected until week 8. These results can serve as an initial basis for temporary plasma storage before SABU production, but have not established a definitive shelf life.

Keywords: *hyperimmune horse plasma, IgG, protein stability, storage temperature, SABU.*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, karunia, dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Stabilitas Protein dan Profil Fisikokimia Plasma Kuda Hiperimun Pada Variasi Suhu Penyimpanan” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Muhammad Hilmi Fathurrahman M. Farm., Nur Asni Setiani, M. Si., dan dosen pembimbing lapangan Eriya Utama, M.Sc. yang telah memberikan arahan, koreksi, serta bimbingan ilmiah secara sabar dan konsisten selama proses penelitian.

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh banyak bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk belajar dan menimba ilmu di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik, yang telah memberikan dukungan akademik selama proses perkuliahan.
3. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, yang telah memberikan dukungan akademik selama proses perkuliahan.
4. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, yang telah berperan penting dalam mendukung proses perkuliahan dan pembelajaran.
5. Pimpinan dan seluruh staf Laboratorium Kimia Analisis STFI atas bantuan fasilitas dan juga bimbingannya selama penggunaan instrumen HPLC.
6. Pimpinan dan seluruh staf Laboratorium PT. Bio Farma, atas kesempatan, fasilitas, serta bantuan teknis yang telah diberikan selama proses penelitian.
7. Keluarga tercinta, yang senantiasa memberikan doa, semangat, dan dukungan moril maupun materil dalam setiap langkah penulis.
8. Rekan, sahabat seperjuangan, dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan karya ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi

pembaca serta menjadi kontribusi ilmiah di bidang farmasi, khususnya dalam pengembangan dan pengendalian mutu produk biologis.

Bandung, Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Plasma Darah dan Komponennya	4
2.2 Plasma Kuda Hiperimun sebagai Bahan Baku SABU	4
2.3 Immunoglobulin G (IgG)	5
2.4 Komposisi Plasma Hiperimun (Buffer Sitrat dan Kresol)	6
2.5 Stabilitas Protein Plasma	6
2.6 Parameter Evaluasi Stabilitas Plasma	7
2.6.1 Uji Organoleptis	7
2.6.2 Uji pH	7
2.6.3 Uji Konduktivitas	7
2.6.4 Absorbansi UV 280 nm (OD280)	7
2.6.5 Uji Kekeruhan (OD600) (<i>Turbidity Test</i>)	8
2.6.6 Penentuan Konsentrasi Protein untuk SDS-PAGE	8
2.6.7 <i>Dynamic Light Scattering</i> (DLS)	9
2.6.8 Profil Protein (SDS-PAGE)	9

2.6.9 Uji Densitometri	9
2.6.10 <i>Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography</i> (RP-HPLC)	9
BAB III TATA KERJA	11
3.1 Alat	11
3.2 Bahan	11
3.3 Metode Penelitian	11
3.3.1 Preparasi Sampel	11
3.3.2 Uji Organoleptis	12
3.3.3 Uji pH	12
3.3.4 Uji Konduktivitas	12
3.3.5 Uji OD280 dan OD600	12
3.3.6 Penentuan Konsentrasi Protein untuk SDS-PAGE	12
3.3.7 Uji SDS-page (<i>non-reduce</i>)	13
3.3.8 Uji Densitometri	14
3.3.9 Uji Dynamic Light Scattering (DLS)	14
3.3.10 Uji RP-HPLC	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Uji Organoleptis	16
4.2 Uji pH dan Konduktivitas	18
4.3 Uji OD280 dan OD600	19
4.4 Uji <i>Dynamic Light Scattering</i> (DLS)	20
4.5 Uji SDS-PAGE dan Densitometri	22
4.6 Uji <i>Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography</i> (RP-HPLC)	26
4.7 Evaluasi Terpadu Stabilitas Plasma pada Suhu Berbeda	31
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA	34
5.1 Simpulan	34
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	34
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.2 Hasil Uji Organoleptis	16
4.3 Hasil <i>Two Way ANOVA</i> Uji OD280 dan OD600	20
4.4 Hasil <i>Two Way ANOVA Z-average</i> dan PDI	21
4.5 Nilai intensitas pita IgG (%) pada wilayah 150 kDa $\pm$ 10 kDa berdasarkan hasil densitometri SDS-PAGE non-reduksi.....	24
4.6 Ringkasan hasil PCA berdasarkan distribusi %Area RP-HPLC	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Komponen darah setelah pemisahan sentrifugasi	4
2.3 Struktur IgG (Janeway <i>et al.</i> , 2001)	5
4.2 (a) Hasil Uji pH dan (b) Konduktivitas	18
4.3 (a) Grafik Pengaruh Suhu dan Minggu Penyimpanan Terhadap Nilai OD280 dan (b) Grafik Pengaruh Suhu dan Minggu Penyimpanan Terhadap Nilai OD600.....	19
4.3 (a) Grafik pengaruh suhu dan minggu penyimpanan terhadap nilai DLS_ <i>Z-average</i> dan (b) Grafik pengaruh suhu dan minggu penyimpanan terhadap Nilai DLS_ <i>PDI</i>	21
4.5.1 Hasil SDS-PAGE non-reduksi dan densitometri plasma kuda hiperimun pada suhu 2–8 °C.	23
4.5.2 (a) Hasil SDS-PAGE non-reduksi dan densitometri plasma kuda hiperimun pada suhu 20–25 °C.	23
4.5.3 (a) Hasil SDS-PAGE non-reduksi dan densitometri plasma kuda hiperimun pada suhu 37 °C.	23
4.5.4 Grafik pengaruh suhu dan waktu penyimpanan (minggu) terhadap nilai intensitasi IgG(%)	26
4.6.1 <i>Score plot</i> PCA berdasarkan pola kromatogram %Area RP-HPLC	28
4.6.2 Dendrogram <i>hierarchical cluster analysis</i> berdasarkan pola kromatogram %Area RP-HPLC	29
4.6.3 <i>Loading plot</i> PCA berdasarkan wilayah waktu retensi RP-HPLC.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Uji pH Dan Konduktivitas.....	40
2. Hasil Uji OD280	41
3. Hasil Uji OD600	43
4. Hasil Uji <i>Dynamic Light Scattering</i> (DLS)	45
5. Hasil Uji RP-HPLC	46
6. Hasil Uji RP-HPLC – PCA.....	65

DAFTAR PUSTAKA

- Alonso Villela, S.M. *et al.* (2020) “A protocol for recombinant protein quantification by densitometry,” *MicrobiologyOpen*, 9(6), pp. 1175–1182. Available at: <https://doi.org/10.1002/mbo3.1027>.
- Anthis, N.J. and Clore, G.M. (2013) “Sequence-specific determination of protein and peptide concentrations by absorbance at 205 nm,” *Protein Science*, 22(6), pp. 851–858. Available at: <https://doi.org/10.1002/pro.2253>.
- Chouchane, K. *et al.* (2022) “Insulin aggregation starts at dynamic triple interfaces, originating from solution agitation,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 214, p. 112451. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112451>.
- Cortés-Ríos, J. *et al.* (2020) “Protein quantification by bicinchoninic acid (BCA) assay follows complex kinetics and can be performed at short incubation times,” *Analytical Biochemistry*, 608, p. 113904. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113904>.
- Geyer, P.E. *et al.* (2016) “Plasma Proteome Profiling to Assess Human Health and Disease,” *Cell Systems*, 2(3), pp. 185–195. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2016.02.015>.
- Ghebreyesus, T. (2019) “Snakebite Envenoming - WHO.” Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515641>.
- Jacobs, R. *et al.* (2024) “Optimizing Continuous Renal Replacement Therapy with Regional Citrate Anticoagulation: Insights from the ORCA Trial—A Retrospective Study on 10 Years of Practice,” *Life*, 14(10), p. 1304. Available at: <https://doi.org/10.3390/life14101304>.
- Janeway, C.J. *et al.* (2001) *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th ed. New York: Garland Science. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27144/> (Accessed: June 20, 2026).
- Kirley, T.L. and Norman, A.B. (2018) “Unfolding of IgG domains detected by non-reducing SDS-PAGE,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 503(2), pp. 944–949. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.100>.

- Kurtović, T. *et al.* (2020) “Streamlined downstream process for efficient and sustainable (Fab’)₂ antivenom preparation,” *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 26, p. e20200025. Available at: <https://doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2020-0025>.
- Le Basle, Y. *et al.* (2020) “Physicochemical Stability of Monoclonal Antibodies: A Review,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(1), pp. 169–190. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.08.009>.
- Liang, X. *et al.* (2025) “Quality assessment from biobank plasma and serum specimens: a systematic review,” *PeerJ*, 13, p. e20122. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.20122>.
- Lu, L.L. *et al.* (2018) “Beyond binding: antibody effector functions in infectious diseases,” *Nature Reviews Immunology*, 18(1), pp. 46–61. Available at: <https://doi.org/10.1038/nri.2017.106>.
- Lv, X. *et al.* (2022) “Application of HPLC Fingerprint Combined with Chemical Pattern Recognition and Multi-Component Determination in Quality Evaluation of *Echinacea purpurea* (L.) Moench,” *Molecules*, 27(19), p. 6463. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27196463>.
- Mateljak Lukačević, S. *et al.* (2020) “Quality-Related Properties of Equine Immunoglobulins Purified by Different Approaches,” *Toxins*, 12(12), p. 798. Available at: <https://doi.org/10.3390/toxins12120798>.
- Mateljak Lukačević, S. *et al.* (2022) “Roughness of Production Conditions: Does It Really Affect Stability of IgG-Based Antivenoms?,” *Toxins*, 14(7), p. 483. Available at: <https://doi.org/10.3390/toxins14070483>.
- Mestareehi, A.H. (2025) “Optimized and Validated Stability-Indicating RP-HPLC Method for Comprehensive Profiling of Process-Related Impurities and Stress-Induced Degradation Products in Rivaroxaban (XARELTO)®,” *International Journal of Molecular Sciences*, 26(10), p. 4744. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms26104744>.
- Muharram, M.M. and Abdel-Kader, M.S. (2017) “Utilization of gel electrophoreses for the quantitative estimation of digestive enzyme papain,” *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(3), pp. 359–364. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.09.002>.

- Nowak, C. *et al.* (2017) “Forced degradation of recombinant monoclonal antibodies: A practical guide,” *mAbs*, 9(8), pp. 1217–1230. Available at: <https://doi.org/10.1080/19420862.2017.1368602>.
- Nuwarda, R.F., Ramadhania, Z.M. and Novianti, M.T. (2024) “The Stability of Protein Therapeutics: A Significant Challenge in the Formulation of Biopharmaceuticals,” *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 6(2), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.24198/ijpst.v6i2.56009>.
- Patra, A. *et al.* (2021) “Assessment of quality and pre-clinical efficacy of a newly developed polyvalent antivenom against the medically important snakes of Sri Lanka,” *Scientific Reports*, 11(1), p. 18238. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97501-2>.
- Rao, P.S. *et al.* (2024) “A Facile RP-HPLC Method for the Determination of Capmatinib in Human Plasma: Development and Validation.”
- Rosita, L., Cahya, A.A. and Arfira, F.R. (2019) “Hematologi Dasar.” Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Saito, S. *et al.* (2020) “Engineering a human IgG2 antibody stable at low pH,” *Protein Science*, 29(5), pp. 1186–1195. Available at: <https://doi.org/10.1002/pro.3852>.
- Shmool, T.A. *et al.* (2022) “Ionic Liquid-Based Strategy for Predicting Protein Aggregation Propensity and Thermodynamic Stability,” *JACS Au*, 2(9), pp. 2068–2080. Available at: <https://doi.org/10.1021/jacsau.2c00356>.
- Stetefeld, J., McKenna, S.A. and Patel, T.R. (2016) “Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences,” *Biophysical Reviews*, 8(4), pp. 409–427. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>.
- Štimac, A. *et al.* (2022) “Development of Improved High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of Residual Caprylic Acid in Formulations of Human Immunoglobulins,” *Molecules*, 27(5), p. 1665. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27051665>.
- Tan, C.H. *et al.* (2016) “Assessing SABU (Serum Anti Bisa Ular), the sole Indonesian antivenom: A proteomic analysis and neutralization efficacy

- study,” *Scientific Reports*, 6(1), p. 37299. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep37299>.
- “ThermoFisher Scientific - SDS Page Protocols” (2026) *SDS PAGE Protocols*. Available at: <https://www.thermofisher.com/id/en/home/references/protocols/proteins-expression-isolation-and-analysis/sds-page-protocol.html>.
- Vargas, M. *et al.* (2021) “Current Industrial Production of Snake Antivenoms,” in S. P. Mackessy, *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*. 2nd ed. Edited by S. P. Mackessy. Second edition. | Boca Raton : CRC Press, 2021.: CRC Press, pp. 485–498. Available at: <https://doi.org/10.1201/9780429054204-37>.
- WHO Team (2013) *Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins*. World Health Organization (Annex 5, TRS No 1004).
- Wu, L. *et al.* (2016) “Aggregation of egg white proteins with pulsed electric fields and thermal processes,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10), pp. 3334–3341. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7512>.
- Yen, L. *et al.* (2025) “Considerations on the stability of IgG antibody in clinical specimens,” *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 37(1), pp. 13–26. Available at: <https://doi.org/10.1177/10406387241296848>.
- Yuliandari, A. *et al.* (2023) “EVALUATION OF PLATELET RICH PLASMA (PRP) PREPARATION PROCEDURE,” *JURNAL ANALIS LABORATORIUM MEDIK*, 8(2), pp. 94–100. Available at: <https://doi.org/10.51544/jalm.v8i2.4509>.