

Review Penelitian

Tinjauan Kritis Metode Ekstraksi Laktoferin dan Implikasinya terhadap Aplikasi Pangan serta Konsumsi Manusia

Critical Review of Lactoferrin Extraction Methods and Their Implications for Food Applications and Human Consumption

Linawati Hananta^{1,2*}, Silvia Gokok³, Yulius Evan Christian³

¹Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

²Atma Jaya Research & Teaching Hospital Program Studi Farmasi, Jakarta, Indonesia

³Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

*Email korespondensi: linawati.hananta@atmajaya.ac.id

Abstrak

Laktoferin merupakan protein bioaktif utama dalam susu yang memiliki potensi luas sebagai komponen pangan fungsional. Namun, kualitas dan bioaktivitas lakoferin sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Artikel review ini bertujuan untuk meninjau secara kritis berbagai metode ekstraksi lakoferin, mulai dari pendekatan konvensional hingga metode berbasis membran dan sistem terintegrasi, serta implikasinya terhadap aplikasi pangan dan konsumsi manusia. Pembahasan difokuskan pada keterkaitan antara metode ekstraksi, integritas struktur, tingkat kemurnian, dan bioaktivitas lakoferin. Tinjauan ini menunjukkan bahwa lakoferin yang dihasilkan melalui metode ekstraksi yang berbeda tidak selalu memiliki kualitas fungsional yang setara, meskipun berasal dari sumber bahan baku yang sama. Oleh karena itu, pemilihan metode ekstraksi perlu mempertimbangkan tujuan aplikasi pangan secara spesifik, bukan hanya efisiensi pemisahan. Review ini menegaskan pentingnya pendekatan ekstraksi yang berorientasi pada fungsi biologis, keamanan pangan, dan konsistensi mutu untuk mendukung pemanfaatan lakoferin sebagai pangan fungsional yang efektif dan berkelanjutan.

Diterima: 04 Maret 2025

Disetujui: 10 April 2025

Publikasi : 31 Mei 2025

Copyright : © 2025, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains.Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License



Kata kunci: lakoferin, metode ekstraksi, protein food grade, bioaktivitas, pangan fungsional

Abstract

Lactoferrin is a major bioactive protein in milk with broad potential as a functional food component. However, the quality and bioactivity of lactoferrin are strongly influenced by the extraction methods employed. This review article aims to critically examine various lactoferrin extraction methods, ranging from conventional approaches to membrane-based and integrated systems, and their implications for food applications and human consumption. The discussion

focuses on the relationship between extraction methods, structural integrity, purity level, and lactoferrin bioactivity. This review demonstrates that lactoferrin produced using different extraction methods does not necessarily exhibit equivalent functional quality, even when derived from the same raw material source. Therefore, the selection of extraction methods should consider specific food application objectives rather than extraction efficiency alone. This review highlights the importance of extraction strategies oriented toward biological function, food safety, and consistency of quality to support the effective and sustainable utilization of lactoferrin as a functional food ingredient.

Keywords: *lactoferrin; extraction methods; food-grade protein; bioactivity; functional food*

1 Pendahuluan

Laktoferin merupakan glikoprotein pengikat besi yang secara alami terdapat dalam susu mamalia, terutama pada kolostrum dan fraksi whey, serta dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis penting bagi kesehatan manusia [1]. Secara struktural, laktoferin memiliki kemampuan berikatan kuat dengan ion besi, yang berperan tidak hanya dalam regulasi metabolisme besi, tetapi juga dalam aktivitas antimikroba, antivirus, antiinflamasi, dan imunomodulator [2], [3]. Karakteristik multifungsi ini menjadikan laktoferin sebagai salah satu komponen bioaktif susu yang paling banyak diteliti dan dikembangkan untuk aplikasi pangan fungsional, nutraceutical, dan suplemen kesehatan [4].

Minat terhadap laktoferin terus meningkat seiring dengan berkembangnya kesadaran akan peran komponen pangan bioaktif dalam mendukung kesehatan dan pencegahan penyakit [5]. Berbagai studi melaporkan bahwa konsumsi laktoferin dapat memberikan manfaat fisiologis, antara lain meningkatkan sistem imun, menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, serta berpotensi mendukung kesehatan saluran cerna dan metabolisme [6], [7]. Selain itu, laktoferin juga telah memperoleh perhatian khusus dalam konteks keamanan pangan dan konsumsi manusia, termasuk evaluasi oleh badan regulatori terkait penggunaannya sebagai bahan pangan dan suplemen [8].

Meskipun potensi biologis dan aplikatif laktoferin sangat menjanjikan, tantangan utama dalam pemanfaatannya terletak pada proses ekstraksi dan pemurnian. Laktoferin merupakan protein yang relatif sensitif terhadap kondisi proses, seperti pH, suhu, dan perlakuan mekanik, sehingga metode ekstraksi yang tidak tepat dapat menyebabkan denaturasi protein atau penurunan aktivitas biologisnya [9]. Berbagai metode ekstraksi dan purifikasi telah dikembangkan, mulai dari pendekatan konvensional seperti presipitasi dan kromatografi penukar ion, hingga teknologi berbasis membran dan proses terintegrasi yang lebih modern [10], [11].

Perbedaan metode ekstraksi tidak hanya memengaruhi rendemen dan kemurnian laktoferin, tetapi juga berdampak langsung pada kualitas, stabilitas, serta bioaktivitas laktoferin yang dihasilkan, terutama ketika ditujukan untuk aplikasi pangan dan konsumsi manusia [12], [13]. Dalam konteks ini, laktoferin yang digunakan sebagai bahan pangan harus memenuhi persyaratan tertentu, seperti tingkat kemurnian, stabilitas selama pemrosesan, serta jaminan keamanan dan konsistensi mutu sebagai produk food-grade. Namun demikian, kajian yang secara kritis mengaitkan metode ekstraksi laktoferin dengan implikasinya terhadap kualitas produk akhir dan kelayakannya untuk konsumsi manusia masih relatif terbatas dan tersebar dalam berbagai laporan penelitian.

Berdasarkan latar belakang tersebut, artikel review ini bertujuan untuk menyajikan tinjauan kritis terhadap berbagai metode ekstraksi dan purifikasi laktoferin yang telah dilaporkan dalam literatur, dengan menyoroti kelebihan dan keterbatasan masing-masing metode serta dampaknya terhadap kualitas laktoferin untuk aplikasi pangan dan konsumsi manusia. Dengan menempatkan aspek metode ekstraksi sebagai faktor kunci yang menentukan mutu dan keamanan produk, artikel ini diharapkan dapat memberikan sudut pandang yang lebih terintegrasi dan aplikatif, sekaligus melengkapi review-review sebelumnya yang umumnya berfokus pada sifat biologis laktoferin tanpa pembahasan mendalam mengenai implikasi proses ekstraksinya. Laktoferin merupakan salah satu protein bioaktif utama dalam susu mamalia yang keberadaannya paling tinggi ditemukan pada

kolostrum, diikuti oleh susu matang dan fraksi whey hasil pengolahan susu [14]. Secara alami, laktoferin disintesis oleh sel epitel kelenjar susu dan juga dilepaskan oleh granula sekunder neutrofil, sehingga perannya tidak hanya terbatas pada nutrisi, tetapi juga terkait erat dengan sistem pertahanan tubuh [15]. Dalam konteks pangan, laktoferin yang berasal dari whey menjadi sumber utama yang paling banyak dimanfaatkan karena ketersediaannya yang relatif tinggi sebagai produk samping industri susu [16].

Dari sisi biologis, laktoferin dikenal memiliki spektrum aktivitas yang luas, termasuk aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, aktivitas antivirus, antifungi, serta efek antiinflamasi dan imunomodulator [17], [18]. Aktivitas antimikroba laktoferin terutama dikaitkan dengan kemampuannya mengikat ion besi secara kuat, sehingga menghambat ketersediaan besi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk tumbuh [19]. Selain itu, fragmen peptida laktoferin hasil hidrolisis parsial juga dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang signifikan, yang semakin memperkuat potensinya sebagai komponen fungsional dalam produk pangan [20].

Relevansi laktoferin dalam aplikasi pangan semakin meningkat seiring dengan berkembangnya konsep pangan fungsional, di mana produk pangan tidak hanya berperan sebagai sumber energi dan nutrisi dasar, tetapi juga memberikan manfaat kesehatan tambahan [21]. Laktoferin telah diaplikasikan atau dikaji penggunaannya dalam berbagai produk pangan, seperti susu formula bayi, produk susu fermentasi, minuman fungsional, serta suplemen berbasis protein susu [22], [23]. Pada aplikasi tersebut, laktoferin tidak hanya berkontribusi terhadap nilai gizi, tetapi juga terhadap peningkatan kualitas biologis produk melalui aktivitas protektifnya terhadap saluran cerna dan sistem imun [24].

Dalam konteks konsumsi manusia, aspek keamanan dan kualitas laktoferin menjadi perhatian utama. Berbagai studi menunjukkan bahwa laktoferin umumnya aman dikonsumsi dan ditoleransi dengan baik pada berbagai kelompok usia, termasuk bayi dan orang dewasa [25]. Namun demikian, kualitas laktoferin yang dikonsumsi sangat bergantung pada proses produksi dan pemurniannya, karena perubahan struktur protein akibat perlakuan proses dapat memengaruhi stabilitas dan aktivitas biologisnya [26]. Oleh karena itu, dalam aplikasi pangan, laktoferin harus memenuhi kriteria tertentu sebagai bahan food-grade, antara lain tingkat kemurnian yang memadai, stabilitas selama penyimpanan dan pemrosesan, serta konsistensi mutu antar batch [27].

Selain aspek biologis dan keamanan, faktor teknologi juga memegang peranan penting dalam pemanfaatan laktoferin sebagai komponen pangan. Laktoferin merupakan protein yang sensitif terhadap kondisi ekstrem, seperti suhu tinggi dan pH yang tidak sesuai, yang dapat menyebabkan denaturasi atau penurunan aktivitas fungsional [28]. Kondisi ini menuntut adanya pendekatan pemrosesan dan formulasi yang tepat agar manfaat biologis laktoferin tetap terjaga hingga tahap konsumsi [29].

Meskipun laktoferin secara umum dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis yang menguntungkan, penting untuk ditekankan bahwa bioaktivitas tersebut sangat bergantung pada integritas struktur dan tingkat kemurnian protein yang dihasilkan. Perubahan struktur tersier maupun kuarterner akibat perlakuan proses yang tidak tepat dapat menurunkan kemampuan laktoferin dalam mengikat besi dan berinteraksi dengan target biologisnya, sehingga berdampak langsung pada penurunan aktivitas fungsionalnya [30], [31]. Dalam hal ini, proses ekstraksi dan pemurnian memegang peranan kunci dalam menentukan kualitas laktoferin, karena setiap metode memiliki karakteristik dan konsekuensi yang berbeda terhadap stabilitas struktur protein dan komposisi pengotor yang tersisa [32].

Lebih lanjut, perlu dipahami bahwa tidak semua laktoferin yang dilaporkan dalam literatur memiliki kualitas yang setara. Laktoferin yang digunakan untuk keperluan riset laboratorium sering kali diproduksi dengan tujuan analitis atau eksperimental tertentu, sehingga persyaratan kemurnian, keamanan, dan konsistensi mutunya tidak selalu sama dengan laktoferin yang ditujukan untuk aplikasi pangan dan konsumsi manusia [33], [34]. Dalam konteks pangan, laktoferin tidak hanya dituntut memiliki aktivitas biologis, tetapi juga harus memenuhi kriteria sebagai bahan food-grade, termasuk keamanan, stabilitas selama pemrosesan, serta kesesuaian dengan matriks pangan [35]. Oleh karena

itu, pemilihan dan evaluasi metode ekstraksi laktoferin tidak dapat dilepaskan dari tujuan penggunaannya, sehingga analisis kritis terhadap berbagai metode ekstraksi menjadi esensial untuk menjamin bahwa laktoferin yang dihasilkan benar-benar layak.

2 Metode Penelitian

2.1 Metode Ekstraksi Laktoferin Berbasis Membran

Metode ekstraksi laktoferin berbasis membran berkembang sebagai respons terhadap keterbatasan metode konvensional dalam menjaga kualitas fungsional protein dan memenuhi kebutuhan produksi berskala industri. Prinsip utama pendekatan ini adalah pemisahan komponen berdasarkan ukuran molekul dan sifat fisik tertentu melalui membran semipermeabel, sehingga memungkinkan proses berlangsung pada kondisi yang relatif lebih lembut dibandingkan presipitasi kimia atau kromatografi konvensional [36]. Dalam konteks ekstraksi laktoferin, teknologi membran menawarkan keunggulan berupa kontrol proses yang lebih baik, pengurangan penggunaan bahan kimia, serta potensi pelestarian struktur dan bioaktivitas protein [37].

Ultrafiltrasi merupakan salah satu teknik membran yang paling banyak diterapkan dalam pemrosesan whey, termasuk untuk pemisahan laktoferin. Teknik ini memanfaatkan perbedaan berat molekul antara laktoferin dan komponen whey lainnya untuk mencapai fraksinasi protein secara selektif [38]. Dibandingkan metode presipitasi, ultrafiltrasi memungkinkan pemisahan berlangsung tanpa perubahan pH ekstrem atau penambahan garam dalam jumlah besar, sehingga risiko denaturasi protein dapat diminimalkan [39]. Dari sisi efisiensi pemisahan, ultrafiltrasi mampu menghasilkan fraksi protein dengan kemurnian yang lebih konsisten, meskipun pada umumnya masih memerlukan tahap pemurnian lanjutan untuk memenuhi standar kemurnian laktoferin food-grade [40].

Dari perspektif skala industri, ultrafiltrasi memiliki keunggulan signifikan karena mudah diintegrasikan ke dalam lini proses pengolahan susu yang telah ada dan relatif mudah ditingkatkan kapasitasnya. Namun demikian, tantangan utama teknik ini terletak pada fenomena fouling membran yang dapat menurunkan fluks dan efisiensi proses, serta meningkatkan biaya operasional apabila tidak dikelola secara optimal [41]. Selain itu, tekanan operasi yang tidak terkontrol juga berpotensi memberikan tekanan mekanik pada protein, yang dalam kondisi tertentu dapat memengaruhi stabilitas struktural laktoferin.

Mikrofiltrasi umumnya digunakan sebagai tahap pemisahan awal untuk menghilangkan partikel besar, lemak, dan mikroorganisme dari whey sebelum dilakukan pemurnian protein lebih lanjut. Dalam proses ekstraksi laktoferin, mikrofiltrasi berperan penting dalam meningkatkan efisiensi keseluruhan proses dengan menghasilkan umpan yang lebih bersih dan homogen untuk tahap pemisahan berikutnya [42]. Dibandingkan metode presipitasi, mikrofiltrasi menawarkan pendekatan yang lebih selektif dan tidak agresif, sehingga membantu menjaga integritas protein sejak tahap awal pemrosesan.

Meskipun mikrofiltrasi tidak dirancang untuk menghasilkan laktoferin dengan kemurnian tinggi secara langsung, kontribusinya dalam menurunkan beban proses pada tahap pemurnian lanjutan menjadikannya relevan dalam skema produksi berskala industri [43]. Dari sisi potensi kerusakan protein, mikrofiltrasi relatif aman karena beroperasi pada tekanan rendah dan kondisi proses yang moderat. Namun, keterbatasan utamanya terletak pada ketidakmampuan memisahkan protein dengan ukuran molekul yang relatif berdekatan, sehingga mikrofiltrasi lebih tepat diposisikan sebagai bagian dari sistem pemrosesan terintegrasi.

Untuk mengatasi keterbatasan selektivitas teknik membran tunggal, pendekatan kombinasi membran-kromatografi semakin banyak dikembangkan. Dalam sistem ini, teknologi membran digunakan sebagai tahap konsentrasi dan fraksinasi awal, sementara kromatografi berperan sebagai tahap pemurnian akhir untuk meningkatkan kemurnian laktoferin [44]. Pendekatan ini secara signifikan mengurangi volume dan kompleksitas umpan yang masuk ke kolom kromatografi, sehingga menurunkan konsumsi buffer, mempercepat waktu proses, dan meningkatkan efisiensi keseluruhan sistem pemurnian [45].

Dibandingkan kromatografi konvensional yang berdiri sendiri, sistem kombinasi ini menawarkan keunggulan yang lebih seimbang antara efisiensi pemisahan dan kelayakan skala industri, sekaligus mempertahankan kualitas bioaktivitas laktoferin melalui pengurangan paparan terhadap kondisi proses yang ekstrem [46]. Meskipun demikian, kompleksitas desain sistem dan kebutuhan optimasi parameter proses yang cermat tetap menjadi tantangan dalam implementasinya, terutama untuk memastikan konsistensi mutu laktoferin food-grade dalam produksi berskala besar.

Secara konseptual, pendekatan berbasis membran merepresentasikan pergeseran paradigma dari sekadar pemisahan protein menuju pengendalian kualitas fungsional laktoferin untuk aplikasi pangan. Kondisi proses yang relatif lembut, minim penggunaan bahan kimia, serta kemudahan integrasi ke dalam sistem produksi kontinu menjadikan teknologi membran lebih selaras dengan prinsip food-grade dibandingkan metode konvensional yang bersifat agresif dan kurang selektif. Dalam konteks ini, kombinasi teknologi membran dan kromatografi dapat dipandang sebagai kompromi optimal antara efisiensi pemisahan, kelayakan skala industri, dan pelestarian struktur serta bioaktivitas laktoferin. Temuan-temuan ini menegaskan bahwa tidak semua metode ekstraksi menghasilkan laktoferin dengan kualitas fungsional yang setara, dan bahwa pemilihan teknologi ekstraksi merupakan faktor determinan dalam menjembatani kebutuhan industri pangan dengan tuntutan bioaktivitas untuk konsumsi manusia.

2.2 Metode Ekstraksi Laktoferin Modern dan Terintegrasi

Perkembangan metode ekstraksi laktoferin modern dan terintegrasi mencerminkan upaya untuk menjembatani kesenjangan antara kebutuhan akan kemurnian tinggi dan pelestarian bioaktivitas dengan tuntutan efisiensi serta keberlanjutan dalam produksi pangan. Pendekatan ini umumnya mengombinasikan lebih dari satu prinsip pemisahan baik fisikokimia, afinitas biologis, maupun sistem proses berkelanjutan untuk menghasilkan pemisahan yang lebih selektif dan terkontrol dibandingkan metode konvensional maupun teknologi membran tunggal. Dalam konteks aplikasi pangan, metode modern tidak hanya dinilai berdasarkan tingkat kemurnian laktoferin yang dihasilkan, tetapi juga dari kesesuaiannya terhadap standar food-grade, stabilitas bioaktivitas, serta kelayakan implementasi pada skala industri.

Proses terintegrasi merupakan pendekatan yang menggabungkan beberapa tahap pemisahan, seperti mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, dan kromatografi, dalam satu alur proses yang terkoordinasi. Strategi ini dirancang untuk meningkatkan efisiensi pemisahan sekaligus meminimalkan paparan laktoferin terhadap kondisi proses yang berpotensi merusak struktur protein. Dibandingkan sistem pemurnian yang berdiri sendiri, proses terintegrasi memungkinkan pengurangan volume proses, konsumsi bahan kimia, serta waktu pemurnian, sehingga secara teoritis lebih sesuai untuk aplikasi industri pangan.

Meskipun demikian, kompleksitas desain sistem dan kebutuhan optimasi parameter proses yang presisi menjadi tantangan utama dalam penerapan proses terintegrasi. Setiap tahap pemisahan harus diselaraskan secara cermat agar tidak menimbulkan efek kumulatif yang justru menurunkan stabilitas atau bioaktivitas laktoferin. Oleh karena itu, keberhasilan pendekatan ini sangat bergantung pada pemahaman mendalam terhadap karakteristik laktoferin serta dinamika interaksi antartahap pemisahan yang digunakan.

Teknologi ekstraksi berbasis afinitas, termasuk affinity chromatography dan sistem hibrida yang memanfaatkan ligan spesifik terhadap laktoferin, menawarkan tingkat selektivitas yang sangat tinggi. Pendekatan ini memungkinkan pemisahan laktoferin dari matriks whey dengan kemurnian unggul, bahkan dalam satu tahap pemurnian. Dari perspektif bioaktivitas, selektivitas tinggi tersebut berpotensi mempertahankan struktur konformasi laktoferin secara lebih optimal dibandingkan metode yang mengandalkan perubahan pH atau kekuatan ionik.

Namun, keterbatasan utama teknologi berbasis afinitas terletak pada biaya ligan, stabilitas material, serta tantangan regenerasi dan keamanan ligan untuk aplikasi pangan. Isu-isu ini menjadi penghalang utama adopsi luas teknologi afinitas dalam produksi laktoferin food-grade berskala besar.

Sebagai respons, sistem hibrida yang mengombinasikan prinsip afinitas dengan teknologi membran atau kromatografi konvensional mulai dikembangkan sebagai solusi kompromi antara selektivitas, efisiensi proses, dan kelayakan industri.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Fokus Kritis: Inovasi, Tantangan Implementasi, dan Kesiapan Aplikasi Pangan

Secara kritis, metode ekstraksi laktoferin modern dan terintegrasi merepresentasikan arah inovasi paling mutakhir dalam pengembangan teknologi pemurnian protein susu. Pendekatan ini menunjukkan potensi besar dalam menghasilkan laktoferin dengan kemurnian tinggi dan kualitas yang lebih terkontrol. Namun, kesiapan teknologi tersebut untuk aplikasi pangan tidak hanya ditentukan oleh keberhasilan teknis, melainkan juga oleh aspek regulatori, efisiensi biaya, keberlanjutan proses, serta konsistensi mutu produk akhir.

Tidak semua teknologi yang unggul pada skala laboratorium atau pilot secara otomatis layak diadopsi dalam sistem produksi pangan komersial. Oleh karena itu, metode modern dan terintegrasi lebih tepat dipandang sebagai emerging solutions yang menjanjikan, tetapi masih memerlukan validasi lebih lanjut untuk memastikan keseimbangan antara kemurnian, bioaktivitas, dan efisiensi ekonomi. Secara kritis, metode ekstraksi laktoferin modern dan terintegrasi menegaskan bahwa kemajuan teknologi tidak selalu berbanding lurus dengan kesiapan aplikatif untuk pangan dan konsumsi manusia. Tingginya selektivitas dan kemurnian yang dicapai melalui sistem afinitas atau hibrida sering kali diiringi oleh kompleksitas proses, tantangan validasi food-grade, serta keterbatasan skala dan efisiensi ekonomi. Oleh karena itu, metode-metode ini lebih tepat dipandang sebagai arah perkembangan strategis jangka menengah hingga panjang, bukan sebagai solusi universal yang dapat langsung menggantikan pendekatan yang lebih mapan. Perspektif ini menegaskan bahwa kualitas akhir laktoferin baik dari sisi struktur, bioaktivitas, maupun keamanannya untuk konsumsi sangat ditentukan oleh keseimbangan antara inovasi teknologi dan kesesuaian proses ekstraksi dengan konteks aplikasi pangan.

3.2 Dampak Metode Ekstraksi terhadap Kualitas Laktoferin

Kualitas laktoferin tidak hanya ditentukan oleh asal biologisnya, tetapi sangat dipengaruhi oleh sejarah proses yang dialaminya selama ekstraksi dan pemurnian. Setiap metode ekstraksi membawa implikasi spesifik terhadap integritas struktur, kemurnian, bioaktivitas, serta konsistensi mutu laktoferin. Oleh karena itu, evaluasi kualitas laktoferin tidak dapat dilepaskan dari konteks metode ekstraksi yang digunakan, terutama ketika target aplikasinya adalah pangan dan konsumsi manusia, yang menuntut keseimbangan antara keamanan, efektivitas biologis, dan keberlanjutan proses [56].

3.2.1 Integritas Struktur dan Stabilitas Konformasi Laktoferin

Laktoferin merupakan protein globular yang sensitif terhadap perubahan kondisi lingkungan, termasuk pH, kekuatan ionik, suhu, dan tekanan mekanik. Metode ekstraksi konvensional yang melibatkan presipitasi pada pH ekstrem atau konsentrasi garam tinggi berpotensi mengganggu struktur tersier dan kuarter laktoferin, sehingga menurunkan stabilitas konformasinya [57]. Perubahan struktur ini tidak selalu terdeteksi melalui pengukuran kemurnian semata, tetapi dapat berdampak signifikan terhadap fungsi biologis protein.

Sebaliknya, metode berbasis membran dan sistem terintegrasi cenderung beroperasi pada kondisi yang lebih lembut, sehingga lebih mampu mempertahankan integritas struktur laktoferin. Namun demikian, tekanan transmembran yang tinggi atau paparan geseran mekanik yang berlebihan tetap dapat menimbulkan stres fisik pada protein. Hal ini menegaskan bahwa bahkan metode yang dianggap non-agresif tetap memerlukan pengendalian parameter proses yang ketat untuk menjaga stabilitas struktural laktoferin [58].

3.2.2 Kemurnian versus Bioaktivitas: Trade-off yang Sering Terabaikan

Dalam banyak penelitian, keberhasilan ekstraksi laktoferin sering kali dievaluasi berdasarkan tingkat kemurnian protein yang dicapai. Namun, kemurnian tinggi tidak selalu berbanding lurus

dengan bioaktivitas optimal. Proses pemurnian yang terlalu intensif, seperti penggunaan kromatografi berulang atau sistem afinitas dengan elusi agresif, berpotensi menyebabkan perubahan konformasi atau kehilangan domain fungsional laktoferin yang berperan penting dalam aktivitas biologisnya [59]. Di sisi lain, metode dengan selektivitas lebih rendah, seperti presipitasi sederhana, dapat menghasilkan laktoferin dengan bioaktivitas yang relatif terjaga, tetapi disertai kemurnian yang belum memenuhi persyaratan aplikasi pangan. Trade-off ini menunjukkan bahwa pendekatan ekstraksi yang berorientasi semata pada kemurnian maksimum dapat mengabaikan aspek fungsional protein, sehingga kurang relevan untuk tujuan nutrisi dan kesehatan manusia [60].

3.2.3 Dampak Metode Ekstraksi terhadap Bioaktivitas Laktoferin

Bioaktivitas laktoferin mencakup berbagai fungsi biologis, seperti aktivitas antimikroba, imunomodulator, antioksidan, serta kemampuan pengikatan besi. Aktivitas-aktivitas tersebut sangat bergantung pada integritas struktur dan status molekuler laktoferin, yang dapat dipengaruhi secara signifikan oleh kondisi ekstraksi dan pemurnian [61]. Perubahan pH ekstrem, suhu tinggi, atau paparan bahan kimia tertentu selama proses ekstraksi dapat menurunkan kemampuan laktoferin dalam berinteraksi dengan mikroorganisme atau sistem imun.

Metode berbasis membran dan sistem terintegrasi umumnya menunjukkan potensi lebih baik dalam mempertahankan bioaktivitas laktoferin karena meminimalkan paparan terhadap kondisi proses yang agresif. Namun, variasi desain proses dan parameter operasional tetap dapat menyebabkan perbedaan signifikan dalam aktivitas biologis produk akhir. Hal ini menegaskan bahwa bioaktivitas laktoferin bukanlah sifat intrinsik yang statis, melainkan hasil kumulatif dari pilihan dan kontrol metode ekstraksi yang diterapkan [62].

3.2.4 Konsistensi Mutu dan Reproduksibilitas Produk

Dalam konteks aplikasi pangan dan konsumsi manusia, konsistensi mutu dan reproduksibilitas antar-batch merupakan aspek yang sama pentingnya dengan kemurnian dan bioaktivitas. Metode ekstraksi konvensional sering kali menghasilkan variasi kualitas yang tinggi akibat sensitivitas proses terhadap fluktuasi kondisi operasional. Variabilitas ini berpotensi menyebabkan ketidakseragaman efektivitas laktoferin sebagai bahan pangan fungsional [63].

Sebaliknya, metode berbasis membran dan proses terintegrasi menawarkan potensi kontrol proses yang lebih baik, sehingga meningkatkan konsistensi mutu produk akhir. Meskipun demikian, kompleksitas sistem modern juga dapat menjadi sumber variabilitas baru apabila tidak dioptimasi dan divalidasi secara menyeluruh. Oleh karena itu, pemilihan metode ekstraksi harus mempertimbangkan kemampuan proses untuk menghasilkan laktoferin dengan kualitas yang konsisten dan dapat direproduksi pada skala industri [64].

3.2.5 Implikasi terhadap Aplikasi Pangan dan Konsumsi Manusia

Implikasi metode ekstraksi terhadap kualitas laktoferin menjadi sangat krusial ketika protein ini ditujukan untuk aplikasi pangan dan konsumsi manusia. Laktoferin food-grade harus memenuhi kriteria keamanan, stabilitas, dan efektivitas biologis yang konsisten, yang tidak selalu sejalan dengan pendekatan ekstraksi yang digunakan untuk tujuan riset laboratorium. Dengan demikian, laktoferin untuk pangan tidak dapat diperlakukan sebagai produk yang setara dengan laktoferin untuk keperluan analitik atau eksperimental [65].

Secara keseluruhan, metode ekstraksi berperan sebagai faktor determinan yang menjembatani potensi biologis laktoferin dengan realitas aplikatifnya dalam pangan. Pemilihan dan pengembangan metode ekstraksi yang tepat harus mempertimbangkan keseimbangan antara integritas struktur, bioaktivitas, konsistensi mutu, serta kelayakan skala industri.

Secara keseluruhan, metode ekstraksi tidak sekadar memengaruhi kualitas laktoferin, tetapi secara fundamental mendefinisikan identitas fungsionalnya untuk aplikasi pangan dan konsumsi manusia. Integritas struktur, tingkat kemurnian, bioaktivitas, dan konsistensi mutu bukanlah parameter yang berdiri sendiri, melainkan hasil dari kompromi yang melekat pada setiap pilihan teknologi ekstraksi. Tidak terdapat metode ekstraksi yang secara universal unggul; yang ada adalah kesesuaian kontekstual antara tujuan aplikatif, batasan proses, dan tuntutan keamanan pangan.

Perspektif ini menegaskan bahwa keberhasilan pemanfaatan laktoferin sebagai bahan pangan fungsional tidak ditentukan oleh kemurnian maksimum semata, melainkan oleh kemampuan metode ekstraksi dalam menjaga keseimbangan antara stabilitas struktur, efektivitas biologis, dan reproduksibilitas mutu untuk konsumsi manusia.

3.3 Tantangan, Peluang, dan Arah Pengembangan Ekstraksi Laktoferin Food-Grade

3.3.1 Tantangan Teknis dan Proses dalam Produksi Laktoferin Food-Grade

Meskipun berbagai metode ekstraksi laktoferin telah dikembangkan dan dilaporkan secara luas, penerapannya untuk menghasilkan laktoferin food-grade masih menghadapi tantangan teknis yang signifikan. Salah satu tantangan utama adalah menjaga stabilitas struktur dan bioaktivitas laktoferin selama proses ekstraksi dan pemurnian, khususnya pada skala industri yang melibatkan variasi bahan baku dan kondisi operasional [66]. Fluktuasi komposisi whey, perubahan pH, serta variasi suhu dan tekanan proses dapat berdampak langsung terhadap kualitas dan konsistensi produk akhir.

Selain itu, metode ekstraksi yang menunjukkan kinerja baik pada skala laboratorium atau pilot belum tentu dapat diterapkan secara efisien pada skala industri. Permasalahan seperti fouling membran, penurunan fluks, berkurangnya selektivitas pemisahan, serta kebutuhan regenerasi material pemisah menjadi kendala operasional yang sering dilaporkan [67], [68]. Tantangan-tantangan ini menegaskan bahwa keberhasilan ekstraksi laktoferin food-grade tidak hanya bergantung pada efektivitas pemisahan, tetapi juga pada stabilitas dan keberlanjutan proses dalam jangka panjang.

3.3.2 Tantangan Regulasi, Keamanan, dan Standarisasi Mutu

Dalam konteks aplikasi pangan dan konsumsi manusia, tantangan ekstraksi laktoferin tidak hanya bersifat teknis, tetapi juga mencakup aspek regulasi dan keamanan pangan. Laktoferin food-grade harus memenuhi persyaratan ketat terkait kemurnian, keamanan mikrobiologis, serta konsistensi mutu, yang dapat bervariasi antar wilayah dan otoritas regulasi [70]. Perbedaan standar ini berpotensi memperlambat proses validasi dan komersialisasi produk laktoferin pada pasar global.

Di sisi lain, belum adanya standar internasional yang sepenuhnya seragam terkait metode karakterisasi bioaktivitas laktoferin menyulitkan perbandingan kualitas antar produk. Akibatnya, klaim fungsional laktoferin dalam pangan sering kali tidak didukung oleh parameter mutu yang terukur dan konsisten. Kondisi ini menyoroti urgensi pengembangan kerangka standarisasi yang mampu mengintegrasikan aspek struktural, fungsional, dan keamanan laktoferin food-grade secara komprehensif [71], [72].

3.3.3 Peluang Inovasi dalam Teknologi Ekstraksi Laktoferin

Terlepas dari berbagai tantangan tersebut, peluang inovasi dalam teknologi ekstraksi laktoferin food-grade tetap terbuka luas. Pengembangan proses terintegrasi yang mengombinasikan teknologi membran dengan teknik pemisahan selektif lainnya menawarkan potensi peningkatan efisiensi sekaligus perlindungan terhadap bioaktivitas protein [68], [69]. Pendekatan ini memungkinkan pengurangan jumlah tahapan proses, pengoperasian pada kondisi yang lebih lembut, serta peningkatan konsistensi mutu produk akhir.

Kemajuan dalam material membran, sistem afinitas yang lebih selektif, serta teknologi pemrosesan berenergi rendah juga membuka peluang untuk meningkatkan keberlanjutan proses ekstraksi. Inovasi-inovasi tersebut menjadi semakin relevan seiring meningkatnya permintaan konsumen terhadap bahan pangan fungsional yang aman, efektif, dan diproduksi dengan prinsip ramah lingkungan [67], [69].

3.3.4 Arah Pengembangan Masa Depan: Dari Optimasi Proses ke Orientasi Aplikasi

Arah pengembangan ekstraksi laktoferin food-grade ke depan perlu bergeser dari fokus utama pada optimasi proses menuju pendekatan yang lebih berorientasi pada aplikasi. Pemilihan dan pengembangan metode ekstraksi seharusnya didasarkan pada pemahaman yang jelas mengenai fungsi biologis yang diinginkan, target konsumen, serta matriks pangan tempat laktoferin akan diaplikasikan [66], [71]. Pendekatan berbasis fungsi ini memungkinkan perancangan proses yang lebih relevan dan bernilai tambah tinggi.

Lebih lanjut, integrasi prinsip quality by design dalam pengembangan teknologi ekstraksi laktoferin dapat membantu menjembatani kesenjangan antara riset laboratorium dan kebutuhan industri pangan. Dengan mengaitkan parameter proses secara langsung dengan atribut mutu kritis laktoferin, pengembangan metode ekstraksi dapat menghasilkan produk yang tidak hanya memenuhi persyaratan keamanan, tetapi juga memiliki efektivitas biologis yang konsisten untuk konsumsi manusia [66], [72].

Ke depan, pengembangan metode ekstraksi laktoferin food-grade perlu bergerak melampaui paradigma optimasi proses berbasis laboratorium menuju pendekatan yang benar-benar berorientasi pada aplikasi pangan dan konsumsi manusia. Banyak pendekatan ekstraksi yang dilaporkan dalam literatur masih menempatkan kemurnian dan efisiensi pemisahan sebagai tujuan utama, tanpa secara eksplisit mengaitkannya dengan fungsi biologis yang relevan dalam matriks pangan nyata. Akibatnya, kesenjangan antara keberhasilan teknis di tingkat riset dan keberterimaan industri pangan masih menjadi tantangan berulang [66], [71]. Oleh karena itu, arah pengembangan masa depan seharusnya menempatkan fungsi biologis, keamanan, dan konsistensi mutu sebagai titik awal perancangan proses, bukan sebagai konsekuensi akhir. Pergeseran perspektif ini menjadi krusial agar laktoferin tidak hanya diproduksi sebagai protein dengan spesifikasi analitik tinggi, tetapi sebagai komponen pangan fungsional yang benar-benar efektif, aman, dan berkelanjutan untuk konsumsi manusia.

4 Kesimpulan

Metode ekstraksi merupakan faktor determinan yang secara langsung membentuk kualitas, fungsi biologis, dan kelayakan laktoferin untuk aplikasi pangan serta konsumsi manusia. Tinjauan ini menegaskan bahwa laktoferin yang dihasilkan melalui berbagai pendekatan ekstraksi tidak dapat diperlakukan sebagai entitas yang setara, meskipun berasal dari sumber bahan baku yang sama. Variasi kondisi proses, tingkat selektivitas pemisahan, dan intensitas perlakuan selama ekstraksi secara signifikan memengaruhi integritas struktur, kemurnian, bioaktivitas, serta konsistensi mutu laktoferin.

Metode konvensional, seperti presipitasi dan kromatografi penukar ion, masih banyak digunakan karena kemudahan dan kemudahan implementasinya, namun sering kali menunjukkan keterbatasan dalam mempertahankan stabilitas struktur dan bioaktivitas protein. Sebaliknya, metode berbasis membran dan sistem ekstraksi terintegrasi menawarkan keunggulan relatif dalam menjaga kualitas fungsional laktoferin, khususnya ketika dioperasikan pada kondisi proses yang lebih lembut dan terkontrol. Meskipun demikian, tantangan teknis, operasional, dan regulasi masih menjadi faktor pembatas dalam penerapan luas metode-metode modern tersebut pada skala industri pangan.

Kontribusi utama tinjauan ini terletak pada penegasan bahwa kualitas laktoferin food-grade tidak dapat dinilai hanya berdasarkan kemurnian atau efisiensi ekstraksi semata, melainkan harus dipahami dalam konteks keterkaitan antara metode ekstraksi, struktur molekuler, dan fungsi biologis yang relevan dengan aplikasi pangan. Dengan demikian, laktoferin untuk konsumsi manusia memiliki persyaratan mutu yang berbeda secara fundamental dibandingkan laktoferin untuk keperluan riset laboratorium, baik dari sisi stabilitas, keamanan, maupun konsistensi fungsional.

Secara keseluruhan, arah pengembangan teknologi ekstraksi laktoferin ke depan perlu bergeser menuju pendekatan yang berorientasi pada fungsi dan aplikasi, dengan menempatkan bioaktivitas, keamanan pangan, dan reproduksibilitas mutu sebagai parameter utama dalam perancangan proses. Pergeseran paradigma ini diharapkan dapat menjembatani kesenjangan antara riset ekstraksi laktoferin dan kebutuhan industri pangan, serta mendorong pemanfaatan laktoferin sebagai komponen pangan fungsional yang benar-benar efektif, aman, dan berkelanjutan untuk konsumsi manusia.

5 Deklarasi/Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan tidak langsung dalam penyusunan artikel ini, baik melalui diskusi ilmiah, masukan konseptual, maupun

bantuan teknis selama proses penulisan dan penelaahan literatur. Apresiasi juga disampaikan kepada institusi tempat penulis berafiliasi atas lingkungan akademik yang mendukung tersusunnya artikel ini.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian dan penulisan artikel ini tidak menerima pendanaan khusus dari lembaga pendanaan publik, komersial, maupun nirlaba.

5.3 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi secara signifikan terhadap penyusunan artikel ini. Penulis utama bertanggung jawab atas perancangan konsep review, penelusuran dan analisis literatur, serta penulisan naskah awal. Penulis lainnya berkontribusi dalam penajaman kerangka konseptual, evaluasi kritis isi artikel, serta penyuntingan dan persetujuan akhir naskah sebelum disubmit. Seluruh penulis menyetujui versi akhir naskah dan bertanggung jawab atas isi artikel.

5.4 Etik

Artikel ini merupakan artikel tinjauan (review) yang disusun berdasarkan literatur yang telah dipublikasikan, sehingga tidak melibatkan subjek manusia maupun hewan secara langsung. Oleh karena itu, persetujuan etik tidak diperlukan untuk penulisan artikel ini.

5.5 Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan, baik finansial maupun non-finansial, yang dapat memengaruhi penulisan dan publikasi artikel ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Lönnerdal, B. and Iyer, S. 1995. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annual Review of Nutrition*. 15:93–110.
- [2] Baker, E.N. and Baker, H.M. 2005. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62(22):2531–2539.
- [3] Ward, P.P., Paz, E. and Conneely, O.M. 2005. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62(22):2540–2548.
- [4] García-Montoya, I.A., Cendón, T.S., Arévalo-Gallegos, S. and Rascón-Cruz, Q. 2012. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1820(3):226–236.
- [5] Korhonen, H.J. 2009. Bioactive milk proteins and peptides: from science to functional applications. *Journal of Functional Foods*. 1(2):177–187.
- [6] Valenti, P. and Antonini, G. 2005. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62(22):2576–2587.
- [7] Superti, F. 2020. Lactoferrin from bovine milk: a protective companion for life. *Nutrients*. 12(9):2562.
- [8] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2012. Scientific opinion on the safety of bovine lactoferrin. *EFSA Journal*. 10(5):2701.
- [9] Fang, B., Zhang, M., Tian, M., Jiang, L. and Guo, H. 2018. Effect of heat treatment on the structure and bioactivity of lactoferrin. *Food Chemistry*. 254:111–118.
- [10] Gésan-Guizou, G. 2010. Separation technologies for whey proteins. *Journal of Dairy Science*. 93(8):3611–3621.
- [11] Tomita, M., Wakabayashi, H., Yamauchi, K., Teraguchi, S. and Hayasawa, H. 2009. Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications. *Biochemistry and Cell Biology*. 87(1):117–124.
- [12] Zhang, Y., Wu, Z., Zhang, Y., He, J. and Guo, H. 2017. Stability of bovine lactoferrin during food processing. *Journal of Dairy Science*. 100(2):967–978.

- [13] Wang, B., Timilsena, Y.P., Blanch, E. and Adhikari, B. 2019. Lactoferrin: structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 59(4):580–596.
- [14] Baker, E.N. and Baker, H.M. 2005. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 62(22):2531–2539.
- [15] Ward, P.P., Paz, E. and Conneely, O.M. 2005. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 62(22):2540–2548.
- [16] Tomita, M., Wakabayashi, H., Yamauchi, K., Teraguchi, S. and Hayasawa, H. 2009. Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications. *Biochemistry and Cell Biology.* 87(1):117–124.
- [17] Valenti, P. and Antonini, G. 2005. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 62(22):2576–2587.
- [18] García-Montoya, I.A., Cendón, T.S., Arévalo-Gallegos, S. and Rascón-Cruz, Q. 2012. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1820(3):226–236.
- [19] Weinberg, E.D. 2001. Iron withholding: a defense against infection and neoplasia. *Physiological Reviews.* 81(1):141–178.
- [20] Bellamy, W., Takase, M., Wakabayashi, H., Kawase, K. and Tomita, M. 1992. Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *Journal of Applied Bacteriology.* 73(6):472–479.
- [21] Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G. and Faria, J.A.F. 2010. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 9(3):292–302.
- [22] Lönnnerdal, B. 2014. Infant formula and infant nutrition: bioactive proteins of human milk and implications for composition of infant formulas. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 99(3):712S–717S.
- [23] Korhonen, H.J. 2009. Bioactive milk proteins and peptides: from science to functional applications. *Journal of Functional Foods.* 1(2):177–187.
- [24] Superti, F. 2020. Lactoferrin from bovine milk: a protective companion for life. *Nutrients.* 12(9):2562.
- [25] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2012. Scientific opinion on the safety of bovine lactoferrin. *EFSA Journal.* 10(5):2701.
- [26] Fang, B., Zhang, M., Tian, M., Jiang, L. and Guo, H. 2018. Effect of heat treatment on the structure and bioactivity of lactoferrin. *Food Chemistry.* 254:111–118.
- [27] Lönnnerdal, B. and Iyer, S. 1995. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annual Review of Nutrition.* 15:93–110.
- [28] Zhang, Y., Wu, Z., Zhang, Y., He, J. and Guo, H. 2017. Stability of bovine lactoferrin during food processing. *Journal of Dairy Science.* 100(2):967–978.
- [29] Foegeding, E.A., Davis, J.P., Doucet, D. and McGuffey, M.K. 2002. Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science & Technology.* 13(5):151–159.
- [30] Moore, S.A., Anderson, B.F., Groom, C.R., Haridas, M. and Baker, E.N. 1997. Three-dimensional structure of diferric bovine lactoferrin at 2.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology.* 274(2):222–236.
- [31] Kuwata, H., Yip, T.T., Yip, C.L., Tomita, M. and Hutchens, T.W. 1998. Direct evidence of the generation in human stomach of an antimicrobial peptide from ingested lactoferrin. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 245(3):764–773.
- [32] Gésan-Guizou, G. 2010. Separation technologies for whey proteins. *Journal of Dairy Science.* 93(8):3611–3621.
- [33] Wang, B., Timilsena, Y.P., Blanch, E. and Adhikari, B. 2019. Lactoferrin: structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 59(4):580–596.

- [34] Van der Strate, B.W.A., Beljaars, L., Molema, G., Harmsen, M.C. and Meijer, D.K.F. 2001. Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Research.* 52(3):225–239.
- [35] Silva, J.L., Foguel, D. and Royer, C.A. 2001. Pressure provides new insights into protein folding, dynamics and structure. *Trends in Biochemical Sciences.* 26(10):612–618.
- [36] Brans, G., Schroën, C. G. P. H., van der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. (2004). Membrane fractionation of milk: State of the art and challenges. *Journal of Membrane Science,* 243(1–2), 263–272.
- [37] Saxena, A., Tripathi, B. P., Kumar, M., & Shahi, V. K. (2009). Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Advances in Colloid and Interface Science,* 145(1–2), 1–22.
- [38] Pouliot, Y. (2008). Membrane processes in dairy technology—from a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal,* 18(7), 735–740.
- [39] Kelly, P. M., & Fox, P. F. (2006). Indigenous enzymes in milk: A synopsis of future research requirements. *International Dairy Journal,* 16(6), 707–715.
- [40] Etzel, M. R. (2004). Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition,* 134(4), 996S–1002S.
- [41] Marshall, A. D., Munro, P. A., & Trägårdh, G. (1993). The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: A review. *Desalination,* 91(1), 65–108.
- [42] Gésan-Guiziou, G. (2010). Separation processes in the dairy industry: From conventional methods to membrane technologies. *Journal of Dairy Research,* 77(4), 393–402.
- [43] Zulewska, J., Barbano, D. M., & Rudan, M. A. (2009). Effect of microfiltration on the removal of bacteria and spores from milk. *Journal of Dairy Science,* 92(2), 483–495.
- [44] Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., & Dutta, S. (2017). Novel membrane-based separation techniques: A review. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification,* 114, 10–30.
- [45] van Reis, R., & Zydny, A. (2007). Bioprocess membrane technology. *Journal of Membrane Science,* 297(1–2), 16–50.
- [46] Outinen, M., Tossavainen, O., & Tupasela, T. (2010). Integrated membrane and chromatographic processes in dairy protein fractionation. *International Dairy Journal,* 20(11), 703–709.
- [47] Outinen, M., Tossavainen, O., & Tupasela, T. (2010). Integrated membrane and chromatographic processes in dairy protein fractionation. *International Dairy Journal,* 20(11), 703–709.
- [48] Gésan-Guiziou, G. (2010). Separation processes in the dairy industry: From conventional methods to membrane technologies. *Journal of Dairy Research,* 77(4), 393–402.
- [49] Brans, G., Schroën, C. G. P. H., van der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. (2004). Membrane fractionation of milk: State of the art and challenges. *Journal of Membrane Science,* 243(1–2), 263–272.
- [50] van Reis, R., & Zydny, A. L. (2007). Bioprocess membrane technology. *Journal of Membrane Science,* 297(1–2), 16–50.
- [51] Saxena, A., Tripathi, B. P., Kumar, M., & Shahi, V. K. (2009). Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Advances in Colloid and Interface Science,* 145(1–2), 1–22.
- [52] Lindmark-Månsson, H., & Åkesson, B. (2000). Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition,* 84(S1), S103–S110.
- [53] van Berkel, P. H. C., Geerts, M. E. J., van Veen, H. A., Kooiman, P. M., Pieper, F. R., de Boer, H. A., & Nuijens, J. H. (2002). Glycosylation affects antimicrobial activity of lactoferrin. *Journal of Biological Chemistry,* 277(47), 45237–45245.

- [54] Król, J., Litwińczuk, A., Brodziak, A., & Barłowska, J. (2010). Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of various breeds of cows. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5482–5487.
- [55] Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., & Dutta, S. (2017). Novel membrane-based separation techniques: A review. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 114, 10–30.
- [56] Etzel, M. R. (2004). Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 134(4), 996S–1002S.
- [57] Baker, E. N., & Baker, H. M. (2005). Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(22), 2531–2539.
- [58] Saxena, A., Tripathi, B. P., Kumar, M., & Shahi, V. K. (2009). Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145(1–2), 1–22.
- [59] van Berkel, P. H. C., Geerts, M. E. J., van Veen, H. A., Kooiman, P. M., Pieper, F. R., de Boer, H. A., & Nuijens, J. H. (2002). Glycosylation affects antimicrobial activity of lactoferrin. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47), 45237–45245.
- [60] Lindmark-Måansson, H., & Åkesson, B. (2000). Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), S103–S110.
- [61] González-Chávez, S. A., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2009). Lactoferrin: Structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(4), 301.e1–301.e8.
- [62] Adlerova, L., Bartoskova, A., & Faldyna, M. (2008). Lactoferrin: A review. *Veterinarní Medicina*, 53(9), 457–468.
- [63] Gésan-Guiziou, G. (2010). Separation processes in the dairy industry: From conventional methods to membrane technologies. *Journal of Dairy Research*, 77(4), 393–402.
- [64] van Reis, R., & Zydny, A. L. (2007). Bioprocess membrane technology. *Journal of Membrane Science*, 297(1–2), 16–50.
- [65] Król, J., Litwińczuk, A., Brodziak, A., & Barłowska, J. (2010). Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of various breeds of cows. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5482–5487.
- [66] Etzel, M. R. (2004). Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 134(4), 996S–1002S.
- [67] Gésan-Guiziou, G. (2010). Separation processes in the dairy industry: From conventional methods to membrane technologies. *Journal of Dairy Research*, 77(4), 393–402.
- [68] Saxena, A., Tripathi, B. P., Kumar, M., & Shahi, V. K. (2009). Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145(1–2), 1–22.
- [69] van Reis, R., & Zydny, A. L. (2007). Bioprocess membrane technology. *Journal of Membrane Science*, 297(1–2), 16–50.
- [70] Król, J., Litwińczuk, A., Brodziak, A., & Barłowska, J. (2010). Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of various breeds of cows. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5482–5487.
- [71] González-Chávez, S. A., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2009). Lactoferrin: Structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(4), 301.e1–301.e8.
- [72] Adlerova, L., Bartoskova, A., & Faldyna, M. (2008). Lactoferrin: A review. *Veterinarní Medicina*, 53(9), 457–468.