

LAPORAN TEKNIS 2015

17/AIR 3/OT 02 02/01/2016

DATA RISET KARAKTERISASI VAKSIN RADIASI  
MASTITIS, BRUCELLOSIS DAN SPESIFISITAS PSPB

B.J. Tuasikal, T. Handayani, D. Priyoatmojo,  
A.C. Trinugraha, N. Lelananingtyas, Dinardi



PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI  
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
2016

LAPORAN TEKNIS 2015

17/AIR 3/OT 02 02/01/2016

DATA RISET KARAKTERISASI VAKSIN RADIASI  
MASTITIS, BRUCellosIS DAN SPESIFISITAS PSPB

B.J. Tuasikal, T. Handayani, D. Priyoatmojo,  
A.C. Trinugraha, N. Lelananingtyas, Dinardi

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Pertanian



Dr. drh. Boky Jeanne Tuasikal, M.Si  
NIP. 19630813 198902 2 001

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan  
Radiasi



Dr. Hendig Winarno, M.Sc  
NIP. 19600524 198801 1 001

# DATA RISET KARAKTERISASI VAKSIN RADIASI MASTITIS, BRUCELLOSIS DAN APESIFILITAS KIT RIA PSPB

B.J. Tuasikal, T. Handayani, D. Priyoatmojo, A.C. Trinugraha, N. Lelaningtyas, Dinardi

## ABSTRAK

Radiasi sinar gamma dapat dimanfaatkan dalam pembuatan vaksin iradiasi untuk pencegahan penyakit radang ambing (mastitis) dan penyakit keluron menular (brucellosis) pada ternak. Selain itu, aplikasi teknologi nuklir dapat diterapkan pula pada teknik pelabelan isotop untuk Radioimmunoassay (RIA) sebagai diagnosa kebuntingan dini pada ternak ruminansia. Bakteri penyebab penyakit ternak mastitis subklinis dan brucellosis diradiasi dengan sinar gamma yang bertujuan untuk melemahkan dan memperoleh strain yang tingkat patogenitasnya sangat berkurang, namun tetap mampu merangsang timbulnya kekebalan pada tubuh ternak terhadap penyakit. Pada uji lapang terbatas kandidat vaksin radiasi mastitis menggunakan hewan model sapi perah. Hewan percobaan divaksinasi dengan SGB iradiasi pada taraf LD<sub>50</sub>, dengan dosis  $3 \times 10^8$  cfu/ ekor, kemudian dibooster sebanyak 3 kali. Sapi yang tidak divaksin digunakan sebagai hewan kontrol. Dari hasil pemeriksaan darah, diketahui nilai rata-rata eritrosit sebesar  $7,1 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> dan leukosit  $6,8 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> yang mana kedua nilai tersebut masih dalam kisaran normal. Hal ini menunjukkan bahwa sapi yang divaksin dengan vaksin iradiasi mastitis tidak menyebabkan anemia pada hewan percobaan. Brucellosis merupakan penyakit menular pada hewan dan manusia yang disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus* dan hampir seluruh propinsi di Indonesia sudah tertular oleh penyakit ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. abortus* mampu beradaptasi pada kondisi aerobik. Karakterisasi Bakteri *B. abortus* pasca iradiasi pada dosis 0 -500 Gy terlihat tumbuh di TSA dan memiliki aktivitas metabolik. Kegiatan pengembangan deteksi kebuntingan dini dengan RIA (radioimmunoassay) PSPb (Pregnancy Specific Protein type b) pada ternak ruminansia yaitu melakukan pelabelan antigen senyawa spesifik kebuntingan tipe b (PSPb) sebagai tracer I131-pspb dengan menggunakan metode chloramines T. Hasil yang diperoleh yaitu Jumlah radio isotop yang berikatan dengan protein PSPb diperkirakan sekitar 8% dari jumlah total radio isotop yang ditambahkan.

Kata Kunci: Mastitis, Brucellosis, Vaksin Radiasi, RIA-PSPb

## PENDAHULUAN

Dalam rangka membangun keberhasilan suatu peternakan maka faktor kesehatan memiliki peran yang penting. Status kesehatan hewan berkaitan dengan penyakit hewan menular (PHM), penyakit hewan non infeksi yang berdampak ekonominya tinggi, dan gangguan reproduksi yang berdampak pada rendahnya *service per conception*, panjangnya calving interval, rendahnya angka kelahiran dan kemajiran.

Peningkatan kesehatan hewan dapat memberikan kontribusi kesehatan dan kesejahteraan masyarakat melalui meningkatnya tenaga kerja peternakan, pendapatan dan kesejahteraan para peternak. Program peningkatan kesehatan hewan dilakukan melalui vaksinasi, surveylan penyakit hewan, pengawasan dan pemberantasan, investigasi penyakit dan pemeriksaan hewan sebelum dipindahkan.

Penyakit brucellosis atau yang dikenal sebagai penyakit keluron menular menimbulkan keguguran pada umur kebuntingan tertentu. Selain itu beberapa penyakit subklinis seperti mastitis sulit diketahui oleh peternak, dan baru dapat diketahui apabila keadaannya sudah parah. Dengan diketahuinya gejala dini melalui deteksi/ identifikasi penyakit (menggunakan reagen diagnostik), maka peternak dapat menyelamatkan ternak yang masih sehat dengan tindakan preventif misalnya dengan cara vaksinasi. Dalam upaya pengembangan vaksin, teknik nuklir khususnya radiasi sinar gamma dapat digunakan untuk menurunkan virulensi atau patogenitas agen penyakit tetapi masih mampu menstimulasi kekebalan pada ternak terhadap infeksi ganas (Smith 1992).

Kelompok Kesehatan dan Reproduksi Ternak PAIR menggunakan radiasi sinar gamma

pada pengembangan vaksin iradiasi untuk pencegahan penyakit radang ambing (mastitis) dan penyakit keluron menular (brucellosis) pada ternak. Sinar Gamma telah digunakan untuk berbagai vaksin (IAEA, 2010). Teknik iradiasi memberikan keuntungan dapat memperpendek waktu pasase dalam mendapatkan bahan vaksin dibanding dengan teknik konvensional.

Selain itu pemanfaatan aplikasi teknik nuklir digunakan untuk peningkatan efisiensi reproduksi ternak melalui teknik Radio immunoassay (RIA), khususnya RIA untuk mendeteksi hormon progesteron (P4). Aplikasi RIA progesteron yang dilakukan pada sapi perah di Kabupaten Garut menunjukkan waktu deteksi yang lebih cepat (21 hari pasca IB) bila dibandingkan dengan deteksi kebuntingan konvensional yang dilakukan dengan palpasi rektal (Tjiptosumirat dkk 2008). Selain hormon, telah diketahui suatu protein yang dapat mengindikasikan kebuntingan dini pada ternak ruminansia yaitu protein spesifik kebuntingan B (*pregnancy specific protein-b: PSPb*) yang merupakan glikoprotein plasenta sehingga disebut juga dengan nama PAG (*pregnancy associated glycoprotein*). PSPB disekresikan pada sirkulasi induk bunting (maternal) pada minggu ke 3 setelah perkawinan sehingga dapat digunakan sebagai penanda kebuntingan pada ternak ruminansia (Butler dkk 1982 dan Julie Pare dkk 2008).

Kegiatan dengan aplikasi teknik nuklir yang dilakukan ini pada akhirnya diharapkan dapat meningkatkan produksi ternak yang sehat dan berdampak pada peningkatan ketersediaan pangan serta mendukung program Landmark BATAN dalam bidang Pangan (Pertanian / Peternakan).

## MATERI DAN METODE

Kegiatan meliputi 3 subkegiatan yaitu :

### 1. Uji lapang terbatas kandidat vaksin radiasi mastitis pada ternak ruminansia

Pada penelitian kali ini menggunakan sapi perah peranakan *friesian holstein* sebagai hewan percobaan yang dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan. Kelompok pertama untuk kelompok vaksin (V) yang diberi SGB iradiasi secara subkutan dengan dosis  $10^8$  cfu/ml sebanyak 4 ml/ sapi, sedangkan kelompok kedua adalah kelompok kontrol (K) yaitu hewan normal yang tidak diberi vaksin SGB iradiasi. Vaksin diberikan pada masa kering kandang dengan pemberian booster 3 kali sebelum hewan melahirkan. Pengambilan sampel darah dilakukan tiap 2 minggu sekali (Crowther 2010). Pemeriksaan eritrosit dan leukosit dilakukan dengan menggunakan kamar hitung improved neubauer.

Pemeriksaan eritrosit dilakukan dengan cara mengambil darah hewan percobaan dengan menggunakan syringe 10 ml, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung yang mengandung anti koagulan. Darah dipipet dengan pipet eritrosit sampai tanda 0.5 kemudian ditambahkan dengan Larutan Hayem hingga 101. Lalu dikocok sampai homogen, dan dibiarkan selama 15 menit. Darah yang didalam pipet eritrosit dimasukkan ke dalam bilik hitung neubauer, kemudian dengan bantuan mikroskop pada pembesaran 1000 kali eritrosit dapat dihitung. Hasil dari perhitungan dari kelima kotak dibagi 5 dikali dengan  $10.000/\text{mm}^3$ .

Sedangkan pemeriksaan leukosit dilakukan dengan cara menghisap darah hewan percobaan dengan pipet thoma leukosit sampai tanda garis tanda 0,5 tepat. Hapus kelebihan darah yang

melekat pada bagian luar pipet. Hisaplah larutan turk sampai tanda 11. Kedua ujung pipet di tutup dengan menggunakan jari lalu kocok sampai darah dan larutan turk homogen. Teteskan ke dalam kamar hitung dan hitung dalam 4 bidang besar.

Pemeriksaan PCV dilakukan dengan mengambil darah sebanyak 2/3 dari panjang tabung hematocrit yang berukuran 75 mm x 1 mm. Bersihkan tabung hematocrit dari sisa-sisa darah sampai bersih dengan memakai kertas tissue lalu sumbat dengan plasticin. Masukkan kedalam sentrifuge/ haemofuge dengan posisi tabung tertutup sebelah luar dan yang terbuka ke arah dalam kemudian haemofuge di hidupkan selama 10 menit. Tabung diangkat dari haemofuge, persentase PCV dapat dibaca sesuai yang tertera pada alat penghitung hematocrit.

Untuk mengetahui konsentrasi Hb darah dengan cara memasukkan 5 tetes HCl 0,1N ke dalam tabung pengencer Hemometer. Isaplah darah (kapiler, EDTA/Oxalat) dengan pipet HB sampai garis tanda 20 $\mu$ l, hapus darah yang melekat pada sebelah luar ujung pipet. Alirkan darah dari pipet kedalam dasar tabung pengencer yang berisi HCl 0,1N. Angkat pipet sedikit, lalu isap HCl 0,1N yang jernih ke dalam pipet 2-3 kali untuk membersihkan darah yang masih tertinggal di pipet. Campur isi tabung itu supaya darah dan HCl bersenyawa, warna campuran menjadi coklat tua. Tambahkan aquadest setetes demi setetes, aduk dengan batang pengaduk. Baca kadar Hb dalam gram/100 ml darah.

## **2. Karakterisasi *B. abortus* iradiasi isolat lapang**

### **Persiapan media untuk pertumbuhan**

Sebanyak 20 gr TSA dilarutkan dengan 500 ml aquades dalam tabung Erlenmeyer lalu ditambahkan Bacto Agar sebanyak 10% kemudian larutan dipanaskan sampai larut sempurna. Larutan diatur tingkat keasamannya sehingga memiliki pH sebesar 7,3 dengan menambahkan NaOH. Selanjutnya larutan media disterilisasi dengan autoclave 121 °C, selama 15 menit.

Media TSA yang belum beku sebanyak 20 ml dituang ke cawan Petri untuk membuat agar plate sedangkan untuk membuat agar miring tabung diisi dengan 20 ml TSA selanjutnya dimiringkan sampai TSA membeku.

### **Pembebasan ketergantungan CO<sub>2</sub> *B. abortus***

Kultur *B. abortus* diadaptasikan pada kondisi tanpa CO<sub>2</sub> dengan cara kuman *B. abortus* diperbanyak pada TSA dan dibuat konsentrasi yang pekat kemudian sedikit demi sedikit pada waktu inkubasi konsentrasi CO<sub>2</sub> diturunkan sampai diperoleh koloni yang bertahan hidup tanpa penambahan CO<sub>2</sub>.

### **Subkultur *B. abortus* dan radiasi**

Isolat *B. abortus* disubkultur dengan menginokulasikan isolat ke TSA plate. Inkubasi selama 3 hari, plate diletakkan pada posisi terbalik. Iradiasi dilakukan dosis 0, 100, 200, 300, 400 dan 500 Gy .

### **Karakterisasi dengan uji aktivitas metabolic bakteri**

Aktivitas metabolik dilakukan dengan menggunakan reagen Alamar Blue Dye. 100  $\mu$ l sampel bakteri iradiasi dimasukkan kedalam plate. Sebagai kontrol positif menggunakan sampel bakteri tidak diiradiasi dan kontrol negatif menggunakan larutan TSB. Plate diinkubasi pada 37°C + 5% CO<sub>2</sub> selama 30

menit kemudian ditambahkan 10  $\mu$ l reagen pada tiap sumur (*well*) Alamar Blue. Plate diinkubasi selama 1 jam dan hasilnya dibaca dengan membandingkan kontrol negatif.

### **3. Pelabelan Antigen Senyawa Spesifik Kebuntingan tipe B (PSPb) Sebagai Tracer $^{131}$ I-PSPB untuk kit RIA PSPb**

#### **Pembuatan Ekstrak Kotiledon**

Kotiledon diperoleh dari plasenta sapi perah bunting, hasil samping RPH. Plasenta kemudian disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  sampai dengan digunakan. Kotiledon dipisahkan dari plasenta menggunakan pinset dan pisau *scalpel*. Plasenta dibersihkan dengan akuades dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai digunakan dalam pembuatan ekstrak kotiledon. Ekstrak kotiledon dibuat mengikuti metode Samik *et al* (2008). Kotiledon dipisahkan dari plasenta dengan menggunakan *scalpel*. Kotiledon dicuci dengan NaCl 0,9 % serta ditambahkan buffer fosfat 0,01M dengan perbandingan antara buffer dan jaringan 5:1 (v:w). Selanjutnya, larutan diaduk menggunakan *stirrer* sambil ditambahkan *Phenylmethanesulfonyl fluoride* (PMSF) 0,2M dan sodium EDTA 0,2%. Larutan kotiledon kembali diaduk menggunakan *stirrer* pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  dan disentrifus pada 13000 rpm selama 60 menit untuk diambil supernatannya. Supernatan ditambahkan asam fosfat sampai pH 4,5 dan kembali disentrifus pada 13000 rpm selama 60 menit untuk diambil supernatannya. pH supernatan dibuat 7,6 dengan menambahkan 0,5 M KOH.

#### **Pengukuran Protein Total**

Pengukuran total protein dilakukan dengan metode Lowry yang merupakan pengembangan dari metode Biuret. Pengukuran protein dilakukan dengan menyiapkan larutan standar protein dengan konsentrasi 20; 40; 80; 100; dan 200 mg/L. Sejumlah 1 mL sampel atau standar ditambahkan 1 mL NaOH 2N. Hidrolisis pada  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit pada penangas air kemudian didinginkan pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan 5 mL reagen pembentuk kompleks dan larutan dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sejumlah 0,5 ml kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer*, dan didiamkan selam 30-60 menit. Pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer dan nilai protein ditentukan melalui kurva standar.

#### **Radioiodinasi PSPB (bovine Pregnancy Specific Protein B) menggunakan radio isotop Iodium-131 dengan metode Chloramine T**

Pelabelan protein menggunakan radios isotop dilakukan mengikuti metode yang dideskripsikan oleh Bailey (1990). Pengukuran dilakukan dengan alat Gamma counter.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dari hasil pemeriksaan darah, diperoleh nilai rata-rata eritrosit sebesar  $7,1 \times 10^6 \text{ sel/ mm}^3$  dan leukosit  $6,8 \times 10^3 \text{ sel/ mm}^3$  (Tabel 1). Kedua nilai tersebut masih dalam kisaran normal dimana nilai normal untuk eritrosit yaitu  $5-10 \times 10^6 \text{ sel/ mm}^3$  dan leukosit  $4-12 \times 10^3 \text{ sel/ mm}^3$ . Hal ini menunjukkan bahwa sapi yang divaksin tidak mempengaruhi nilai eritrosit maupun leukosit.

Tabel 1. Profil Eritrosit dan Leukosit Sapi Perah kelompok perlakuan kontrol dan vaksin

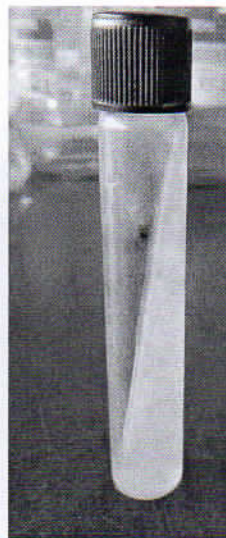
Kelompok Kambing	Eritrosit ( $\times 10^6$ sel/ $\text{mm}^3$ )	Leukosit ( $\times 10^3$ sel/ $\text{mm}^3$ )
Kontrol	7,0	6,7
Vaksin	7,2	6,8

Sementara untuk nilai PCV diperoleh nilai rata-rata PCV sebesar 27,5% dan Hb 11,9  $\frac{\text{g}}{\text{dl}}$  (Tabel 2). Nilai-nilai tersebut masih dalam batas normal yaitu untuk PCV 24-46% dan Hb 11-17  $\frac{\text{g}}{\text{dl}}$ . Hal ini menunjukkan bahwa sapi perah yang divaksin dengan vaksin iradiasi mastitis tidak menyebabkan anemia pada hewan percobaan.

Tabel 2. Profil PCV dan Hb Sapi Perah kelompok perlakuan kontrol dan vaksin

Kelompok Kambing	PCV (%)	Hb (g/ dl)
Kontrol	27,7	12,6
Vaksin	27,2	11,2

Manajemen kebersihan kandang dan pekerja masih menjadi kunci keberhasilan penanganan kasus mastitis. Kebersihan yang buruk akan menyebabkan bakteri penyebab mastitis berkembang biak. Deteksi mastitis subklinis pada ruminansia juga dilakukan dengan cara tidak langsung seperti uji dengan CMT maupun penghitungan sel somatik (Shearer and Haris 2003).



Gambar 1. Kultur *B. abortus* pada media Tryptic Soya Agar

*B. abortus* isolat lapang umumnya dikategorikan bersifat virulen dan pada pertumbuhannya memerlukan  $\text{CO}_2$  5-10%. Pada penelitian ini dilakukan pembebasan ketergantungan bakteri pada  $\text{CO}_2$ . *B. abortus* dipasase pada media TSA beberapa kali sehingga pada akhirnya diperoleh *B. abortus* bebas  $\text{CO}_2$ . Pembebasan ketergantungan  $\text{CO}_2$  bertujuan untuk mengurangi tingkat virulensi isolat bakteri dan

memudahkan dalam produksi vaksin apabila bakteri berada pada lingkungan aerobik. Gambar 1. Menunjukkan *B. abortus* tumbuh pada lingkungan aerob.

Hasil pengamatan kultur bakteri paska iradiasi menunjukkan bahwa pada rentang dosis 100 – 500 Gy masih terdapat pertumbuhan bakteri (Tabel 3). Sedangkan untuk mengetahui aktivitas metabolik bakteri dilakukan pengujian menggunakan alamar blue dye (Gambar 2). Sistem ini menggabungkan indikator oksidasi-reduksi (Redoks) pada fluoresensi dan perubahan warna yang diakibatkan pertumbuhan sel. Adanya perubahan warna mengindikasikan sel bakteri masih mempunyai aktivitas. Pada pengamatan *B. abortus* 0 Gy terlihat masih ada pertumbuhan. Hal tersebut sesuai dengan pengamatan pada uji aktivitas metabolik, dimana pada kontrol positif (0 Gy) terlihat adanya perubahan warna (merah) dibandingkan kontrol negatif (warna ungu) yang mengindikasikan bahwa bakteri mempunyai kativitas metabolik. Demikian pula pada bakteri yang diiradiasi pada dosisi 100 – 500 Gy, hasil kultur pada media TSA menunjukkan pertumbuhan bakteri. Dan pada pengujian aktivitas metabolik terlihat adanya perubahan warna menjadi pink.

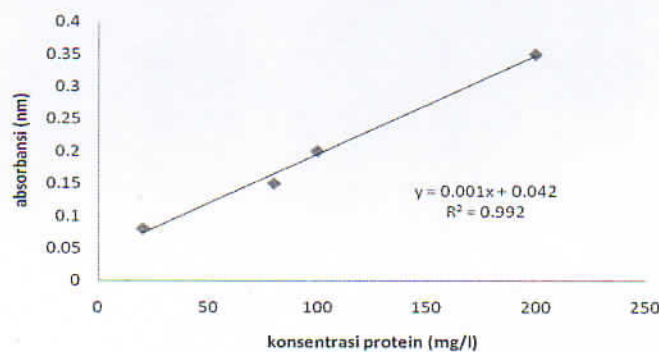
Tabel 3. Pengamatan pertumbuhan *B. abortus* pada dosis iradiasi 0 - 500 Gy

Dosis (Gy)	Pengamatan pertumbuhan bakteri
0	Tumbuh
100	Tumbuh
200	Tumbuh
300	Tumbuh
400	Tumbuh
500	Tumbuh



Gambar 2. Karakterisasi *B. abortus* menggunakan Alamar blue dye

(A1-2 = Media TSB; A3-4 = media Alamar blue dye; A5-6 = Media TSA + Alamar blue dye; A7-8= kontrol positif (0 Gy); A9-10= *B. abortus* iradiasi 100 Gy; A11-12= *B. abortus* iradiasi 200 Gy; B1-2= *B. abortus* iradiasi 300 Gy; B3-4= *B. abortus* iradiasi 400 Gy; B5-6= *B. abortus* iradiasi 500 Gy).



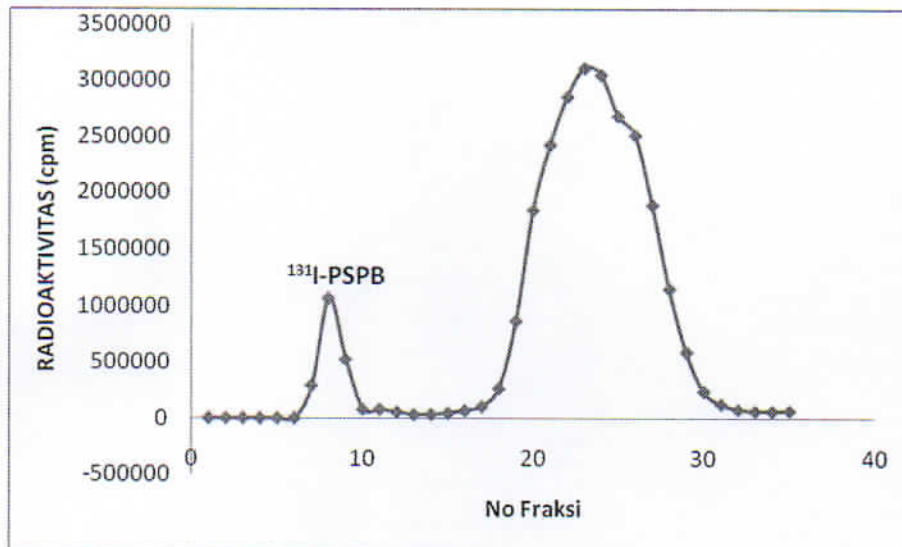
Gambar 3. Kurva standar protein pada pengukuran protein metode Lowry

Hasil pengukuran radio aktivitas menunjukkan bahwa puncak dari  $^{131}\text{I}$ -PSPB terjadi pada fraksi



nomor 7 sampai dengan 9 (puncak pertama) dan puncak kedua yang lebih dominan merupakan sisa dari iodium 131 yang tidak terpakai dari proses radio iodinasi (Gambar 4).

Dari pengukuran radio aktivitas tersebut, jumlah radio isotop yang berikatan dengan protein diperkirakan sekitar 8% dari jumlah total radio isotop yang ditambahkan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi ikatan yang baik antara radio isotop pada residu tyrosin protein PSPB, namun formulasi antara protein, oksidator (chloramine T) dan radio isotop masih perlu untuk disesuaikan lagi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai formulasi baku perunut  $^{131}\text{I}$ -PSPB dalam prosedur RIA PSPB untuk diagnose kebuntingan dini pada ternak sapi.



Gambar 4. Radio aktivitas perunut  $^{131}\text{I}$ -PSPB hasil radio iodinasi dengan metode chloramine T

## KESIMPULAN

Dari 3 subkegiatan tersebut dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil uji lapang terbatas pada ruminansia menunjukkan bahwa vaksin iradiasi SGB pada sapi perah tidak mempengaruhi nilai eritrosit dan leukosit serta tidak menyebabkan gejala anemia sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksin iradiasi SGB tidak mengganggu gambaran darah kambing.
2. *B. abortus* mampu beradaptasi pada kondisi aerobik. Hasil karakterisasi Bakteri *B. abortus* paska iradiasi pada dosis 0 -500 Gy masih tumbuh dan mempunyai aktivitas metabolik. Namun data pada penelitian ini masih bersifat kualitatif, dan data kuantitatif dapat dilakukan dengan mengukur fluorometrik pada panjang gelombang tertentu sehingga diketahui nilai aktivitas metabolik bakteri dengan perlakuan dosis radiasi berbeda.
3. Jumlah radio isotop yang berikatan dengan protein PSPb diperkirakan sekitar 8% dari jumlah total radio isotop yang ditambahkan sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menentukan formulasi antara protein, oksidator (chloramine T) dan radio isotop.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Samik. Identifikasi Pregnancy Associated Glycoprotein (PAG) Dari Air Susu Sapi Perah Bunting. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan* Vol. 4, No. 1, Februari 2011.
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Vengr JM. 1988. *Techniques for The Brucellosis Laboratory*. Paris: Institute National De La Recherche Agronomique
- Arifin, M., E. Pudjiastuti, B.J. Tuasikal, E. Yulia, "Pengaruh irradiasi terhadap Immunogenitas *Brucella abortus*", Risalah Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi untuk Litbang bidang Pertanian, Peternakan, Industri dan Lingkungan dalam Pembangunan Nasional, P3TIR-BATAN, Jakarta 17-18 Februari 2004.
- Arifin, M., Enuh R.J., B.J.Tuasikal, Pujiatmoko, "Pengamatan Serologi dan Patologi pada sapi Peranakan Ongole (PO) yang diinokulasi dengan metaserkaria *Fasciola gigantica* irradiasi", Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Usaha Peternakan Berdaya Saing di Lahan Kering, Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta, 2005.
- Butler JE, amilton WC, Sasser RG, Ruder CA, Hass GM, William RJ. *Detection and Partial Characterization Of Two Bovine Pregnancy-Specific Protein*. *Boil Reprod* 1982; 26:975-933.
- Diano, M., Le Bivic, A. and Hirn, M. A Method for Production of Highly Specific Polyclonal Antibodies. *Analytical Biochemistry*; 166: 224-229, 1987.
- Diwyanto, K., Bahri, S., dan Masbulan, R., Ketersediaan dan kebutuhan teknologi peternakan dan veteriner dalam upaya meningkatkan ketahanan pangan., Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner BPT Ciawi Bogor (2000).
- Ghaffar A. 2010. *Bacteriology. Zoonoses Listeria, Franciella, Brucella, Bacillus and Yersina*. Chapter seven. *Microbiology and immunology on line*. Microbiology and immunology on line. The University of South Carolina.
- Indrawati, A. Pembuatan Antibodi Monoklonal Terhadap Immunoglobulin M (Ig M) Manusia. Tesis Magister Program Studi Ilmu Biomedik, FK UI; 12-14, 1998.
- Julie Pare, Marie Helena, Paul Rouillier, Marc-André Sirard. Evaluation of the DG29 test for early detection of pregnancy in cattle. *Can Vet J* 2008; 49:1119-1121.
- Kimoto, T., *FAO Strategies for collaboration with the government of Indonesia on Animal production and Veterinary sciences.*, Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, BALITNAK, Ciawi, Bogor, 2002.
- Lynch RA, Alexander BM, Sasser RG. The cloning and expression of the bovine pregnancy specific protein B (PSPB) gene. *Boil Reprod* 1992;46 (suppl 1):73.
- Morgan WJB. 1982. *Brucella abortus*. In *Handbuch der bakteriellen infektionen bei Tieren*. VEB Gustav Fischer Verlag Jena. German
- OIE World Organization for Animal Health. 2009. *OIE Terrestrial Manual Chapter 2 . 4 . 3 . Bovine brucellosis*. [www.oie.int](http://www.oie.int)
- Partadiredja , M., Potensi, Peluang dan Prospek Perguruan Tinggi Dalam Memenuhi Kebutuhan Vaksin dan Bahan Biologik Veteriner Lain di Indonesia. *Lokakarya Puslitbangnak, Balitbangtan Bogor* (1999).
- Permentan PERATURAN MENTERI PERTANIAN. 2010. Permentan Nomor 16/Permentan/OT.140/1/2010. *Pedoman Identifikasi dan Pengawasan Ternak Ruminansia Besar*

- Setiati, E.T. Purifikasi Ovine Pregnancy associated Glycoprotein (ovPAG) dalam Kotiledon Plasenta dan Pengukuran Konsentrasinya dalam Urine domba Garut. Ringkasan Disertasi. Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor. 2010
- Shearer JK and Harris B Jr. 2003. Mastitis in dairy goats. University of Florida, Ifas extention. <http://edis.ifas.ufl.edu>. [28 Juli 2010].
- Smith, N.C., "Concepts and strategies for anti-parasite immunoprophylaxis and therapy", *Int. J. for Par.* 22 (1992)
- Sudibyo, A., Adin, P., Darodjat, M., dan Supar., "Pengembangan Vaksin Oral Brucellosis: Tingkat Proteksi Vaksin B. suis Galur 2 Terhadap Tantangan B suis Isolat Lapang Pada Marmot.", Seminar Hasil Hasil Penelitian Veteriner (Risalah Pertemuan Ilmiah, Bogor 1998) BALITVET Bogor (1998) 51.
- Sudradjat, S., Strategi peningkatan ketahanan pangan nasional bidang peternakan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, BPT Ciawai Bogorr (2000).
- Tjiptosumirat, T., B.J.Tuasikal, N. Lelaningtyas, "Radioimmunoassay (RIA) Progesteron untuk Diagnosis Kegagalan Inseminasi Buatan pada Ternak Sapi Perah", Prosiding Presentasi Ilmiah Keselamatan Radiasi dan Lingkungan X, Jakarta 14 Desember 2004, Puslitbang Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir, BATAN, 2005.
- Tjiptosumirat, T., I. Sugoro dan N. Lelaningtyas. Identifikasi Senyawa Protein Spesifik Kebuntingan Tipe B (Pspb) Hasil Filtrasi Dengan Sephadex-Gel 75 Sebagai Bahan Senyawa Deteksi Kebuntingan Dini. Prosiding Seminar ilmiah Hasil Penelitian Aplikasi isotop dan Radiasi. (2008). 393-399.
- Tuasikal B.J., T.Tjiptosumirat, R.Kukuh, "Studi Gangguan Reproduksi Sapi Perah dengan Teknik Radioimmunoassay (RIA) Progesteron", Risalah Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi untuk Litbang bidang Pertanian, Peternakan, Industri dan Lingkungan dalam Pembangunan Nasional, P3TIR-BATAN, Jakarta 17-18 Februari 2004.
- WHO World Health Organization. 1997. The Development of New/Improved Brucellosis Vaccines: Report of WHO Meeting. Geneva, Switzerland
- Yadi Suryadi, Ifa Manzila, Alina Akhdiya, dan Etty Pratiwi. Produksi dan Evaluasi Antibodi Poliklonal untuk Deteksi Toksin *Photorhabdus* spp. *Jurnal AgroBiogen* 2(1):16-23.