

UJI REAKTIVITAS PROTEIN 30 kDA BAKTERI Aeromouns hydrophila YANG DIISOLASI DARI IKAN AIR TAWAR DENGAN TEKNIK INDIRECT ELISA

by Endang Suprihati

Submission date: 09-Aug-2021 02:04PM (UTC+0800)

Submission ID: 1629443662

File name: Uji_reaktivitas_protein_30_kDA....pdf (1.48M)

Word count: 3036

Character count: 18589

UJI REAKTIVITAS PROTEIN 30 kDA BAKTERI *Aeromonas hydrophila* YANG
DIISOLASI DARI IKAN AIR TAWAR DENGAN TEKNIK INDIRECT ELISA
REACTIVITY TEST OF 30 kDA PROTEIN *Aeromonas hydrophila*, ISOLATED BY
FRESHWATER FISH WITH INDIRECT ELISA

Dwi Ratna Aristantya¹⁾, M. Gandul Atik Yuliani²⁾, Endang Suprihati³⁾

¹⁾Mahasiswa, ²⁾Dosen

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C UNAIR, Jl. Mulyorejo-Surabaya 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993015

Email : jbmvnunair@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the reactivity of 30 kDa protein *Aeromonas hydrophila*. The reactivity is indicated by a binding between the antigen and antibody of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) that is based in the optical density score in indirect ELISA technique. The isolated *Aeromonas hydrophila* was characterized in previous research using Western-Blot and SDS-PAGE method, produced *Aeromonas hydrophila* protein that stated in 30 kDa has potential immunogenic. Three male rabbits immunized with 1 ml of adjuvant as control, 10^8 cfu/ml whole protein of *Aeromonas hydrophila* as P1 and 2.5×10^7 IU/ml of protein 30 kDa *Aeromonas hydrophila* as P2 respectively. Immunization was done four times with an interval of 14 days. Antibody titer tested by indirect ELISA technique from collected serum. The result showed that the antibody titer after immunization IV (1.550) higher than after immunization I (1.341) and pre-immune (1.219).

Keywords : *Aeromonas hydrophila*, protein, immunization, ELISA

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui reaktivitas protein 30 kDa bakteri *Aeromonas hydrophila*. Reaktivitas dapat diketahui dengan terbentuknya ikatan antara antigen protein dan antibodi dari kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) berdasarkan nilai optical density dari teknik indirect ELISA. Bakteri *Aeromonas hydrophila* diisolasi dari ikan air tawar mengalami karakterisasi protein pada penelitian sebelumnya dengan metode Western Blot dan SDS-PAGE menghasilkan protein 30 kDa memiliki kemampuan imunogenik. Tiga kelinci jantan masing-masing mendapat perlakuan imunisasi dengan adjuvant 1 ml sebagai kontrol, 10^8 CFU/ml whole protein *Aeromonas hydrophila* sebagai P1 dan 2.5×10^7 IU/ml protein 30 kDa *Aeromonas hydrophila* sebagai P2. Imunisasi dilakukan empat kali dengan interval 14 hari. Antibodi yang dipanen dari serum kemudian diuji dengan teknik indirect ELISA. Hasil yang diperoleh menunjukkan titer antibodi P2 pasca imunisasi IV (1.550) lebih tinggi daripada pasca imunisasi I (1.341) dan pre-imunisasi (1.219).

Kata kunci : *Aeromonas hydrophila*, protein, imunisasi, ELISA.

Pendahuluan

Motile Aeromonas Septicemia (MAS) merupakan penyakit serius yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menyerang semua jenis ikan air tawar di daerah tropis. Penyakit ini akan mewabah pada saat kondisi tubuh ikan menurun akibat stress dan terjadi penurunan kualitas air. Penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydro-*

phila mudah dikenali karena adanya luka-luka eksternal pada permukaan tubuh, rusaknya ekor dan sirip serta septikemik hemoragika. Septikemia hemoragika ditandai dengan adanya lesi kecil pada permukaan tubuh yang sering disertai dengan pengelupasan sisik, perdarahan insang dan anus, ulcer, abses, exoptalmia dan kembang (*dropsy*). Organ internal dijumpai aku-

mulasi cairan nanah, anemia, dan merusakkan beberapa organ terutama ginjal dan hati (Irianto, 2003).

Selama ini penanganan bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan cara pemberian antibiotik. Namun, menurut Azmijah dan Yuliani pada hasil laporan penelitian (2014) menyebutkan bahwa terjadi resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap antibiotik sehingga langkah lain yang dapat dilakukan dalam pencegahan MAS adalah dengan vaksinasi (Galina *et al.*, 2009). Vaksinasi merupakan salah satu cara penanggulangan yang efektif dan efisien untuk mengatasi penyakit MAS karena dapat meningkatkan kekebalan pada tubuh ikan terhadap serangan penyakit tertentu selama beberapa waktu sehingga angka kematian dapat ditekan sekecil mungkin (Nur, 2006). Vaksinasi akan merangsang munculnya respon imun spesifik, khususnya respon imun humoral (antibodi) yang timbul terhadap antigen tertentu (Harti, 2013). Terlebih apabila vaksin dilakukan penambah *adjuvant* yang dapat meningkatkan potensi sistem imun serta menambah lamanya perlindungan terhadap suatu infeksi penyakit pada hewan dan manusia (Rajput, 2007) sehingga akan terjadi kontak lebih lama dengan makrofag dan limfosit (Hadie dkk., 2010).

Reaktivitas dari ikatan antara antigen dan antibodi yang terbentuk pasca vaksinasi dapat dibuktikan dengan uji serologis. Teknik uji serologis yang banyak dipakai adalah *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dimana dalam pengembangan diagnostik infeksi bakteri perlu disediakan antigen yang spesifik. Untuk mendapatkan antigen yang spesifik tersebut harus memenuhi syarat-syarat tertentu seperti: antigen harus imunogenik dan mampu menginduksi respon antibodi inangnya, metode uji harus sensitif, antigen harus unik agar mempunyai spesifitas yang tinggi (Rantam, 2003). Pada hasil penelitian sebelumnya oleh

Yuliani dan Herupradoto (2010) dengan uji *Western Blot* dihasilkan pita protein dengan berat molekul 30 kDa yang mampu mengenali antibodi. Ditunjukkan dengan terbentuknya suatu garis pita (*band*) yang jelas dan kemungkinan merupakan imunodominan sehingga mampu memicu respon imun. Dilanjutkan dalam karakterisasi SDS-PAGE dinyatakan bahwa protein *S-layer* dari *Aeromonas hydrophila* yang termarker pada 30 kDa dinilai mempunyai kemampuan imunogenik. Hal ini sesuai dengan pendapat Baratawidjaja (2010) bahwa imunogen yang efektif mempunyai berat molekul (BM) lebih besar dari 10 kDa.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Laboratorium Patologi Klinik Veteriner, Kandang Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan serta *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juli - Desember 2015.

Penelitian ini menggunakan tiga ekor kelinci jantan galur lokal umur 5 bulan dengan rerata berat 2 kg yang belum pernah diberikan vaksinasi sebelumnya dan dinyatakan sehat. Bahan yang digunakan untuk vaksinasi adalah bakterin (*whole protein*) dan protein 30 kDa kuman *Aeromonas hydrophila* hasil Elusi pada penelitian sebelumnya, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) dan *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA).

Bahan-bahan yang digunakan untuk imunisasi adalah kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan sebanyak tiga ekor berumur lima bulan hingga tujuh bulan dan berat badan berkisar dua sampai tiga kilogram, aquadest, kapas, dan alkohol 70%. Bahan - bahan untuk uji reaktivitas dengan teknik *indirect* ELISA adalah antigen (protein *Aeromonas hydrophila*), substrat, PBS Tween, skim milk, enzim *Alkali Phosphatase*, buffer substrat p-NPP, larutan *stopper* NaOH 3N, serum darah kelinci.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spuit *disposable* 1 ml dan 3 ml untuk tindakan pengambilan sampel darah dan imunisasi. Sentrifus sebagai alat pemusing untuk mendapatkan serum darah kelinci. Tabung sentrifus sebagai tempat suspensi. *Microtube* sebagai tempat penyimpanan sediaan protein dan serum darah kelinci. Tabung *eppendorf*, vortex, *microplate* sebagai pengikat benda padat dari serum darah kelinci. Inkubator, *spectrophotometer*, *ELISA reader*, kassa steril, dan kamera digital sebagai alat dokumentasi.

Metode Penelitian

Pasca dilakukan isolasi dan kultur bakteri *Aeromonas hydrophila* yang berasal dari ikan air tawar, pembuatan homogenat protein 30 kDa dilakukan dengan teknik Sonikasi. *Aeromonas hydrophila* dicuci dengan PBS lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Pelet *Aeromonas hydrophila* dilarutkan dengan PBS 1 ml kemudian disonikasi pada 20 Hz selama 4x4 menit dengan interval waktu 2 menit. Supernatan diambil dan dipusingkan kembali pada 8000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh selanjutnya disimpan untuk bahan analisis protein. Untuk menentukan konsentrasi homogenat protein antigen yang diperoleh dari *Aeromonas hydrophila* digunakan metode *Bradford Protein Assay* dan dibaca dengan spektrofotometer (Bijanti dkk, 2011).

Dilanjutkan dengan karakterisasi protein antigen berdasarkan berat molekul yang dilakukan dengan analisis protein menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamid Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Pada SDS-PAGE, protein dielektroforesis dalam detergen ionik, yaitu *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) yang akan mengikat residu hidrofobik dari bagian belakang peptida secara komplit dan protein SDS-komplek migrasi melalui poliakrilamid tergantung dari berat molekulnya (Rantam,

2003). Pada akhirnya akan didapatkan pita band dari protein *Aeromonas hydrophila* dengan berat molekul 30 kDa.

Imunisasi pada Kelinci

Tiga ekor kelinci yang belum pernah divaksin mendapat perlakuan injeksi larutan 1 ml *adjuvant* sebagai P0, injeksi bakterin sebagai P1, dan injeksi protein 30 kDa *Aeromonas hydrophila* sebagai P2 pada daerah sub kutan. Sebelum dilakukan imunisasi, awal mula diambil darah pada kelinci melalui vena *auricularis* sebagai kontrol. Imunisasi awal dilakukan pada minggu pertama menggunakan larutan bakterin 1 ml dengan dosis 10^8 CFU/ml yang telah ditambahkan CFA 1 ml untuk P1 dan larutan protein 30kDa *Aeromonas hydrophila* 1 ml dengan dosis $2,5 \times 10^7$ IU/ml ditambah 1 ml CFA untuk P2 (perbandingan 1:1). Imunisasi ulang (*booster*) pertama dilakukan pada minggu ketiga, minggu kelima untuk *booster* 2, dan minggu ketujuh untuk *booster* 3 dengan dosis yang sama diberikan saat imunisasi awal serta ditambah IFA.

Koleksi Sampel Serum Darah Kelinci

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 0, 14, 28, 42 dan 56 sebanyak 2 ml melalui vena *auricularis* pada kelinci sebelum dilakukan *booster*, kemudian darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan serum yang mengandung antibodi poliklonal anti-*Aeromonas hydrophila* 30kDa. Serum disimpan dalam freezer, berikutnya akan diuji reaktivitasnya dengan metode *indirect-ELISA*.

Uji reaktivitas protein 30kDa dengan *Indirect ELISA*

Prinsip teknik *indirect-ELISA*, yaitu mereaksikan antigen sampel dengan serum mengandung antibodi yang akan ditera kemudian ditambahkan konjugat (anti IgG yang berlabel enzim) dan terakhir ditambahkan substrat.

Pada metode ini 10 µg/ml antigen diikat pada benda padat (mikroplate)

sebanyak 50 μ l dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 24 jam. Mikroplate dicuci sebanyak tiga kali dengan PBS Tween dan diblok dengan skim milk 4% serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Selanjutnya mikroplate dicuci kembali, kemudian ditambahkan antibodi pertama yang akan ditera dengan konsentrasi 1/100 dan 1/200. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Antibodi pertama ini tidak berlabel, selanjutnya dicuci dan ditambahkan antibodi kedua (konjugat) yang dilabel enzim, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Konjugat yang digunakan adalah konjugat Rabbit anti Bovine IgG yang dilabel dengan enzim *Alkaline Phosphatase* (AP). Terakhir ditambahkan buffer substrat p-NPP dan disimpan dalam ruangan gelap selama 1 jam. Penambahan substrat ini menyebabkan perubahan warna kibat bereaksi dengan enzim. Perubahan warna sesuai dengan jumlah enzim yang diikat dan kadar antibodi. Tahapan selanjutnya ditambahkan larutan *stopper* NaOH 3N untuk menghentikan reaksi (Bijanti dkk, 2011). Interpretasi *indirect* ELISA dapat dilakukan baik secara kualitatif (dengan mata telanjang/visual) atau secara kuantitatif (dengan *spectrophotometer*). Secara kualitatif dibaca dengan melihat perubahan warna antara kelompok yang diperiksa dengan kelompok kontrol. Sedangkan secara kuantitatif dibaca dengan *spectrophotometer-ELISA reader* dengan panjang gelombang 405 nm berdasarkan pada nilai absorben *Optical Density* (OD) (Rantam, 2003; Suwarno dkk., 2003; Khatun *et al.*, 2009).

Titer antibodi menunjukkan negatif jika hasil pembacaan ELISA antara kelinci kontrol dan kelinci yang diimunisasi diperoleh nilai *optical density* (OD) yang hampir sama. Titer antibodi menunjukkan hasil positif bila nilai OD kelinci imunisasi lebih tinggi atau minimal dua kali dari nilai OD dari kelinci kontrol (Wahyuningsih dkk, 2009).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratoris dengan menggunakan tiga perlakuan. Perlakuan yang diterapkan, yaitu :

P0 = injeksi dengan *adjuvant*

P1 = imunisasi dengan bakterin *Aeromonas hydrophila*

P2 = imunisasi dengan protein 30kDa *Aeromonas hydrophila*

Hasil dan Pembahasan

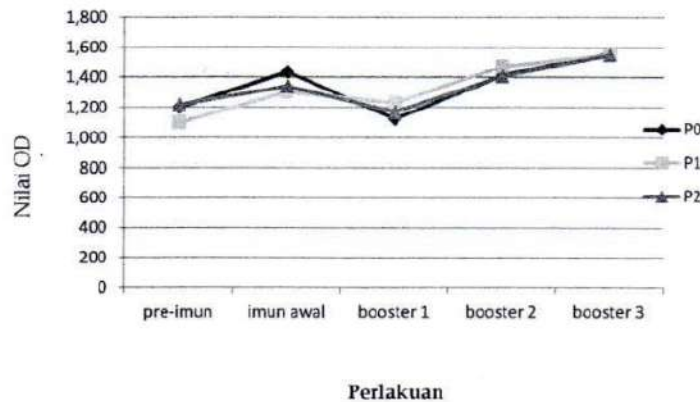
Hasil dari *indirect-ELISA* kemudian dibaca pada *ELISA-reader* dengan panjang gelombang 405 nm sehingga diperoleh nilai *optical density* (OD) pada Tabel 1.

Minggu pertama, perlakuan P0 dimana kelinci disuntikkan oleh *adjuvant* tanpa antigen, P1 yang diimunisasi bakterin dan P2 yang diimunisasi dengan protein spesifik *Aeromonas hydrophila* pada minggu pertama sejak imunisasi awal mengalami kenaikan nilai OD (1,434; 1,303; 1,341) meskipun peningkatan tidak mencapai dua kali nilai OD pre-imun. Namun tetap saja hal ini menunjukkan mulai terbentuknya antibodi akibat imunisasi *adjuvant*, bakterin dan protein spesifik *Aeromonas hydrophila*. Antibodi tersebut didapatkan karena *adjuvant*, bakterin dan protein spesifik *Aeromonas hydrophila* menstimulir sistem imun. Proses imunisasi awal digunakan CFA karena dapat menimbulkan efek antigen menjadi lebih kuat dalam menghasilkan respon imun sekunder 10 kali lebih tinggi daripada respon imun primer, dapat meningkatkan kekebalan seluler dan humoral dengan mengaktifkan sel Th untuk merangsang sel B memproduksi antibodi (Smith, 1995). Menurut Rantam (2003) bahwa antibodi akibat imunisasi awal dapat timbul 10 - 14 hari pasca imunisasi awal.

Minggu ketiga dilakukan *booster* pertama dengan penambahan *adjuvant* IFA. Tampak semua kelompok kelinci mengalami penurunan respon imun

Tabel 1. Hasil nilai OD pada *indirect-ELISA*

Perlakuan	Protein	Pre imunisasi	Imunisasi awal	Booster 1	Booster 2	Booster 3
P0	Adjuvant	1,201	1,434	1,127	1,413	1,560
P1	Whole protein	1,103	1,303	1,232	1,472	1,552
P2	30 kDa	1,219	1,341	1,174	1,407	1,550



Gambar 1. Grafik nilai OD hasil *indirect ELISA*

secara perlahan (1,127; 1,232; 1,174). Hal ini menandakan bahwa antigen yang masuk ke tubuh bekerja menstimulasi kekebalan dengan memproduksi antibodi sampai antigen tersebut mulai menghilang dari dalam tubuh. Secara alami, antibodi akan turun seiring dengan waktu sehingga perlu adanya dilakukan pengulangan atau *booster* untuk tetap menjaga kestabilan sistem imun.

Minggu kelima setelah dilakukan *booster* kedua pada kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan nilai OD dibandingkan dengan minggu ketiga (1,413; 1,472; 1,407). Namun tetap belum didapatkan dua kali nilai OD pre-immun. Pemberian *booster* pada waktu yang tepat digunakan untuk meningkatkan

konsentrasi antibodi dengan segera sehingga didapatkan *high level antibody* pada waktu yang cukup lama. Imunisasi secara berulang dengan selang waktu tertentu akan meningkatkan respon imun suatu individu. Penyuntikan suatu molekul antigen berarti mengaktifkan respon humoral yang akan menstimulasi sejumlah klon limfosit B yang spesifik terhadap antigen dari molekul tersebut sehingga menyebabkan masing-masing sel akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi imunoblast dan sentroblast. Imunoblast akan berkembang menjadi limfoblast dan determinasi menjadi sel plasma yang tidak membelah lagi sebagai pabrik antibodi. Sentroblast akan menjadi sel memori yang dapat meningkatkan respon imun

pada kontak berikutnya dengan antigen yang sama (Rantam, 2003).

Minggu ketujuh pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan nilai OD antibodi pasca dilakukan *booster* ketiga. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi antibodi yang didapat terjadi peningkatan (1,560; 1,552; 1,550) dan masih terlihat adanya pengaruh dari *booster* sebelumnya. Nilai OD terjadi peningkatan yang cukup stabil mengakibatkan sel T teraktifasi lebih banyak terhadap antigen yang sudah diproses oleh APCs. Jika APCs mempresentasikan antigen yang berikatan dengan sistem MHC-II, maka yang distimulasi adalah sel Th yang mengaktifasi interferon- γ dan berfungsi menstimulasi sel B sehingga produksi antibodi lebih banyak.

Menurut Rantam (2003) dan Rifai (2011) bahwa antigen yang masuk ke dalam tubuh akan bekerja menginduksi sel memori, yaitu antibodi yang dibentuk setelah proses penyembuhan yang bersifat protektif jika terserang oleh agen infeksi yang sama organisasinya sehingga respon imun akan bergerak naik dengan cepat jika terjadi kontak dengan agen infeksius yang sama.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa reaktivitas berhasil ditunjukkan oleh bakterin maupun protein spesifik *Aeromonas hydrophila* meskipun belum positif bersifat imunogenik. Aktivitas dari ikatan antigen dan antibodi yang terbentuk pada penyutikan bakterin dan protein spesifik *Aeromonas hydrophila* dapat dinyatakan mempunyai sifat imunogenik yang baik apabila nilai OD yang didapatkan minimal satu setengah hingga dua kali nilai OD pre-imun (Rantam, 2003). Peningkatan yang diharapkan bisa dilakukan dengan pengoreksian proses pembuatan bakterin dan protein, jumlah dosis protein yang diimunisasi beserta dosis *adjuvant* yang ditambahkan ke dalam campuran protein karena salah satu cara untuk memperkuat sistem imunogenisitas vaksin adalah dengan penambahan

adjuvant (Ria, 2013). Diikuti pemilihan hewan coba bersertifikat *specific pathogen free* sehingga keadaan hewan coba saat dilakukan penelitian hingga koleksi sampel betul-betul dalam keadaan yang prima.

Kesimpulan

Protein spesifik *Aeromonas hydrophila* 30 kDa dapat terdeteksi pada teknik *indirect*-ELISA meskipun belum positif mempunyai sifat imunogenik berdasarkan peningkatan nilai OD.

Daftar Pustaka

- Austin, B. dan D.A. Austin. 1993. *Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish*. 2nd Edition. Ellis Horwood. New York. 171-177.
- Azmijah, A dan Yuliani, M.G. 2014. Laporan Penanggulangan Ulcer Diseases (Aeromoniasis) Melalui Kandidat Vaksin Sub Unit Pada Ikan Air Tawar. Airlangga University.
- Baratawidjaja, K.G. 2010. *Immunologi Dasar*. Edisi Ketujuh. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 22-29
- Bijanti, R., Yuliani, M.G. dan Masningsih, W. 2011. *Antigenicity protein of Aeromonas hydrophila caused ulcer disease on Goldfish (Cyprinus carpio linn) using indirect ELISA technique*. Airlangga University. Surabaya.
- Burgess, G.W. 1995. *Teknologi ELISA Dalam Diagnosis dan Penelitian*. Edisi Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 9-10.
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish: an overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 669-676.
- Harti, A. S. 2013. *Imunologi Dasar dan Imunologi Klinis*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 22-23.

- Hadie, W., Angela, M. L., Sularto, dan Evi, T. 2010. Imunitas Maternak Terhadap *Aeromonas hydrophila*: Pengaruhnya Terhadap Fekunditas dan Daya Tetas Ikan Patin Siam (*Pangasionodon hypophthalmus*). Pusat Riset Perikanan Budidaya: Jakarta Selatan. J. Ris. Akuakultur (8): 229-235.
- Heradoto, B. A dan Yuliani, G. A. 2010. Karakterisasi Protein Spesifik *Aeromonas hydrophila* Penyebab Penyakit Ulser pada Ikan Mas. Jurnal Veteriner. 11(3): 158-162
- Irianto, A. 2003. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Kamiso, H. N., Alim, I., Triyanto, Muhammad, M dan Lili, S. 2005. Efektifitas Vaksin Polivalen Untuk Pengendalian Vibriosis Pada Kerapu Tikus (*Cromileptesaltivelis*). Jurnal Perikanan (J.Fish Sci) 8 (2): 95-100.
- Nurhidriyani. 2006. Respon Humoral Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linne.) yang Divaksinasi Dengan Konsentrasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Yang Berbeda. Warta-WIPTEK. 14(2) 76-85
- Radji, M. 2010. Imunologi dan Virologi. PT. Isfi Penerbitan: Jakarta Barat. 323
- Rantam, F.A. 2003. Imunologi Terpadu (Komunikasi Sel Imun). Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya. 1-5, 18, 32-43.
- Rantam, F.A. 2003. Metode Imunologi. Airlangga University Press. Surabaya. 3-88.
- Rajput, Z. Iqbal., HU,S., Xiao,C., dan Arijio, A.G. 2007. Adjuvant Effects Of Saponins On Animal Immune Responses. *Journal of Zhejiang University Science B*. 8(3):153-161
- Rifai, M. 2011. Konsep Dasar Imunologi. Brawijaya University. Malang. 35-40.
- Soeripto.2002. Pendekatan Konsep Kesehatan Hewan Melalui Vaksinasi. *Jurnal Litbang Pertanian*, 21(2): 48-55.
- Suwarno, R. Ernawati, A.P. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F.A. Rantam. 2010. Prinsip Dasar, Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. *Laboratorium Virologi Dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Univeritas Airlangga. Surabaya*. 1-10.
- Wahyuningsih, S.P.A., Hayati, A., Imam, M. 2009. Titer Antibodi Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Jantan Setelah Imunisasi Dengan Protein Membran Spermatozoa. *J. Penelit. Med. Eksakta*. 8(3): 201-209.

UJI REAKTIVITAS PROTEIN 30 kDA BAKTERI Aeromouns hydrophila YANG DIISOLASI DARI IKAN AIR TAWAR DENGAN TEKNIK INDIRECT ELISA

ORIGINALITY REPORT

18%

SIMILARITY INDEX

17%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	download.garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	5%
2	jurnal.fp.unila.ac.id Internet Source	2%
3	media.neliti.com Internet Source	2%
4	jai.aquaculture-mai.org Internet Source	1%
5	rahmanoke003.blogspot.com Internet Source	1%
6	de.scribd.com Internet Source	1%
7	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	1%
8	journal.ipb.ac.id Internet Source	1%

repository.ub.ac.id

9	Internet Source	1 %
10	www.affaveti.org Internet Source	<1 %
11	jurnalmka.fk.unand.ac.id Internet Source	<1 %
12	Muhammad Bunyamin. "Produksi Serum Rabbit Anti-Catfish Terhadap Penyakit Motile Aeromonas Septicemia (MAS) Pada Ikan Patin Siam (<i>Pangasius hypophthalmus</i>)", JURNAL MINA SAINS, 2017 Publication	<1 %
13	Syohibahttul Islamiyah BAHAR, Esti HARPENI, Eko EFFENDI. "Respon Imun Spesifik Larva Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) melalui Imunitas Maternal yang Diberi Vaksin Inaktif Whole Cell <i>Aeromonas salmonicida</i> ", Biospecies, 2017 Publication	<1 %
14	pt.scribd.com Internet Source	<1 %
15	id.123dok.com Internet Source	<1 %
16	journal.unhas.ac.id Internet Source	<1 %
17	IGRM Temaja, G. Suastika, S.H. Hidayat, U. Kartosuwondo. "PRODUKSI ANTISERUM DAN	<1 %

KAJIAN SEROLOGI CHRYSANTHEMUM B
CARLAVIRUS (CVB)", Jurnal Hama dan Penyakit
Tumbuhan Tropika, 2010

Publication

18

text-id.123dok.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On