

PELESTARIAN DAN PEMANFAATAN SUMBER DAYA GENETIK MIKROBA DI BBALITVET

Siti Chotiah

*Balai Besar Penelitian Veteriner
Jl. R.E. Martadinata 30, Bogor 16114*

ABSTRAK

Sumber daya genetik mikroba bukan hanya sebagai aset negara yang berharga akan tetapi juga memegang peranan yang luar biasa di berbagai bidang kehidupan manusia. Peranannya akan lebih penting bila dihubungkan dengan perkembangan bioteknologi karena mikroba melalui rekombinasi DNA, fusi sel dan teknik bioproses terbukti memegang peranan besar dalam dunia industri, pertanian, kesehatan dan lingkungan. Oleh karena itu keberadaannya perlu dilestarikan supaya tidak merusak lingkungan hidup dan dapat dimanfaatkan untuk mensejahterakan masyarakat terutama masyarakat pedesaan. Sebagai luaran dari hasil-hasil penelitian di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor yang berupa mikroba potensial dan bernilai ekonomis, merupakan aset negara yang tersimpan di Unit BBalitvet *Culture Collection*. Unit tersebut bertanggung jawab untuk menjaga kelestariannya. Oleh karena mikroba koleksi Bbalitvet didalam penangannya mempunyai tingkat bahaya maka diperlukan kehati-hatian didalam pengelolaannya. Distribusi masuk dan keluarnya koleksi sesuai aturan baku yang telah ditetapkan berdasarkan surat keputusan. Teknologi vaksin, perangkat diagnostik dan probiotik telah dihasilkan untuk menangani kasus penyakit dan mempertahankan kesehatan ternak sehingga produksinya dapat ditingkatkan.

Kata kunci: Mikroba, DNA, fusi sel, teknik bioproses, Bbalitvet.

PENDAHULUAN

Mikroba atau mikroorganisme merupakan jasad renik yang tidak kasat mata menjadi abstrak bagi kebanyakan orang awam. Sebagian pakar ilmu pengetahuan alam juga kurang memberi perhatian bahkan tidak menyadari peran mikroba yang luar biasa bagi kehidupan alam dikarenakan dunia mikroba kurang gemerlap dan kurang cukup terpapar. Bahkan sampai sekarangpun sangat sedikit informasi mengenai jumlah keragaman dan peran mikroba yang secara alami berserakan di jagad raya. Keragaman mikroba jauh lebih luas dibandingkan dengan keragaman hewan dan tumbuhan. Diperkirakan hanya sebagian kecil saja mikroba yang ada di alam dapat kita pelajari karena dapat dibiakan di laboratorium. Dengan menggunakan teknik ekstraksi DNA atau RNA langsung dari lingkungan, kita dapat mengklasifikasikan organisme yang ada dan hidup di lingkungannya tetapi tidak dapat di kembang biakan di laboratorium. Hasil penelitian PACE *et al.* (1985) telah memaparkan keragaman yang luar biasa pada berbagai bentuk kehidupan mikroorganisme,

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati yang sangat tinggi di dunia, sehingga para ahli menyebut Indonesia sebagai kawasan *mega biodiversity*. Keanekaragaman hayati tersebut meliputi keanekaragaman ekosistem, spesies dan variabilitas genetik dari tumbuhan, hewan serta jasad renik. Dalam UU No. 18 tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan menyebutkan sumber daya genetik (SDG) adalah material tanaman, hewan dan jasad renik yang mengandung unit-unit yang berfungsi sebagai

pembawa sifat keturunan baik yang bernilai aktual maupun potensial untuk menciptakan galur, rumpun atau spesies baru.

Dalam menghadapi era globalisasi, (SDG) mikroba sangat penting karena akan mempunyai peluang besar dalam pembangunan ekonomi di Indonesia dimasa mendatang. Hal ini akan lebih penting lagi bila dihubungkan dengan perkembangan bioteknologi, karena mikroba melalui rekombinasi DNA, fusi sel dan teknik bioproses terbukti memegang peranan besar dalam dunia industri, pertanian, kesehatan dan lingkungan. Mikroba tidak hanya dipergunakan untuk proses konvensional seperti *brewing* dan *baking*, fermentasi tradisional (tempe, kecap, oncom, tauco), produksi asam organik (asam cuka, asam laktat), asam amino (glutamat) dan produksi obat-obatan (antibiotik, vaksin) tetapi juga dipergunakan sebagai sumber genetik untuk berbagai keperluan khususnya dalam merakit jasad hidup transgenik. Untuk itu potensi SDG mikroba harus terus digali sehingga akhirnya dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang dapat mensejahterakan penduduk di dunia.

Pemerintah daerah di Indonesia harus mengetahui potensi daerahnya masing-masing terutama bahan mentah yang bisa ditingkatkan nilai tambahnya dengan bantuan mikrobiologi untuk menambah penghasilan masyarakat terutama masyarakat pedesaan agar kesejahteraannya meningkat. Setiap daerah harus sadar akan kekayaan SDG yang ada, bahan-bahan limbah yang dimiliki dan melestarikan mikroba potensial unggul untuk dimanfaatkan

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang kesehatan hewan itu sendiri akan menjadi tantangan bagi para pemulia SDG mikroba bidang Veteriner dan koleksi kultur dimasa mendatang. Teknologi pembuatan vaksin dan perangkat diagnostik untuk mendeteksi dan mencegah bermacam-macam penyakit yang dapat terjadi pada ternak baik ternak yang sudah ada di Indonesia maupun import akan berkembang pesat seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Sejalan dengan perkembangan bioteknologi tersebut, semakin disadari akan pentingnya menjaga kelestarian SDG mikroba yang kita miliki terutama yang bernilai ekonomi dan potensial.

Tulisan ini disampaikan dengan tujuan untuk mengulas pengelolaan SDG mikroba yang ada di Bbalitvet supaya tetap lestari dan dapat dimanfaatkan tidak hanya sebagai bahan rujukan di laboratorium dan pendidikan di perguruan tinggi, tetapi juga untuk penyediaan bahan vaksin, bahan perangkat diagnosa, bahan probiotik dan bahan penelitian yang berkaitan dengan produktivitas dan penyakit pada ternak serta hewan lain.

PELESTARIAN SDG MIKROBA DI BBALITVET

Unit Koleksi SDG Mikroba di BBalitvet

Balai Penelitian Veteriner satu-satunya institusi bidang veteriner yang mempunyai unit koleksi mikroba yang disebut BBalitvet *Culture Collection* (BCC). Unit ini bertanggung jawab untuk menjaga kelestarian SDG mikroba yang ada di balai, yang sudah dirintis sejak tahun 1982. Pelestarian mikroba veteriner sudah dilakukan sejak pemerintahan kolonial Belanda terlihat dengan adanya dokumen yang menunjukkan beberapa isolat koleksi BCC telah diisolasi oleh Cranevellt sejak tahun 1931 di Bogor. Jumlah koleksi mikroba veteriner menurut publikasi dalam katalog koleksi BCC tahun 2011 (Hotiah *et al.*, 2011) sebanyak 1493 isolat yang terdiri atas 1023 isolat bakteri, 129 isolat cendawan, 78 isolat virus dan 200

isolat protozoa yang sebagian besar diperoleh dari kasus penyakit pada ternak dari berbagai penjuru Indonesia, sedangkan selebihnya berasal dari luar negeri yang digunakan sebagai bahan rujukan. Jumlah koleksi plasma nutfah mikroba veteriner (indigenous) itu sendiri tercatat ada 1119 isolat yang terdiri dari 712 isolat (30 genus dan 118 spesies) bakteri, 129 isolat (17 genus dan 42 spesies) cendawan, 78 isolat virus dan 200 isolat protozoa (1 genus dan 1 spesies).

Eksplorasi dan Karakterisasi Koleksi SDG Mikroba di BBalitvet

Eksplorasi SDG mikroba koleksi BCC sebagian dilakukan secara aktif, dengan mengambil inang atau habitatnya dari lapangan sebagai sampel dalam suatu survei penelitian atau kasus penyakit di seluruh wilayah Indonesia Kemudian di laboratorium masing-masing disiplin ilmu diidentifikasi sesuai dengan metode standar dan dikarakterisasi lebih lanjut Karakterisasi yang lazim dilakukan pada SDG mikroba veteriner pada umumnya berupa identifikasi sampai ketinggian spesies berdasarkan standar acuan (Loder, 1974; Betty dan Walker, 1975; Carter, 1973; Levett, 1991; Quinn *et al.*, 2002.; Barrow *et al.*, 2003;. Penentuan tipe dan varian secara serologis sudah banyak dilakukan terhadap beberapa jenis bakteri tertentu, misalnya *Salmonella enterica*, *Eschericia coli*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus paragalarum*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Leptospira interrogans* dan lainnya. Sedangkan penentuan tipe dilihat dari jenis toksin yang diproduksi telah dilakukan pada bakteri *Clostridium perfringens* Karakteristik secara genetik membran protein virus avian influenza sub tipe H5N1 telah dilakukan oleh Dharmayanti *et al.* (2010) dan Sukanto (1998) telah melakukan karakteristik secara molekuler terhadap *Trypanosoma evansi*.

Konservasi SDG Mikroba di BBalitvet

Konservasi koleksi mikroba veteriner baik yang sudah dikarakter maupun yang belum, dilakukan secara eks situ menurut sifat dan jenis mikroba mulai dari cara yang sederhana berjangka pendek sampai dengan cara yang terbaik saat ini dengan daya simpan berjangka panjang. Syarat utama dalam penyimpanan mikroba adalah harus murni, viabilitas memenuhi syarat dan tidak merubah karakter. Teknik yang diterapkan untuk menyimpan koleksi SDG mikroba di BBalitvet BCC sebagian besar adalah memakai teknik *preeze-drying* dan *cryopreservation* pada suhu -70°C atau pada suhu -187°C (nitrogen cair). Kedua teknik ini dapat menyimpan mikroba dalam jangka waktu sampai puluhan tahun, akan tetapi diperlukan biaya mahal dan menggunakan alat yang khusus. Penyimpanan dengan cara sederhana yaitu dengan memindah biakan berulang (subkultur) hanya dilakukan pada penyimpanan bakteri *Leptospira*. Teknik *preeze-drying* sebagian besar dilakukan untuk koleksi bakteri, virus, kapang dan khamir, kemudian penyimpanannya dilakukan pada suhu -20°C sampai dengan 5°C tergantung kepada sifat mikroba. Sedangkan teknik *cryopreservation* dalam nitrogen cair dilakukan untuk penyimpanan koleksi mikroba yang tidak tahan terhadap perlakuan dengan teknik *preeze-drying* misalnya protozoa Setiap mikroba koleksi BCC setelah mengalami proses *preeze-drying* maupun *cryopreservation*, sebelum disimpan terlebih dahulu harus diuji viabilitas dan kemurnian, sehingga koleksi yang disimpan adalah koleksi yang sudah siap untuk dimanfaatkan.

Data Pasport Koleksi SDG Mikroba di BBalitvet

Masing-masing mikroba koleksi BCC didokumenkan di dalam sistem pangkalan data yang menggunakan program Microsoft Access melalui formulir isian yang baku. Pengisian data mikroba kedalam formulir isian dilakukan oleh depositor dalam hal ini peneliti yang menagani mikroba yang bersangkutan dibantu oleh petugas BCC. Sedangkan pemasukan data kedalam komputer dilakukan oleh petugas BCC. Informasi yang ada didalam formulir isian meliputi nama dan alamat unit kerja depositor, nama isolat beserta nama lain, sejarah asal isolat (isolasi sendiri, membeli atau hasil pertukaran), nama dan tanggal isolasi dan identifikasi, cara eksplorasi (lokasi pengambilan sampel dan nama inang atau habitatnya), cara menyimpan isolat, karakteristik isolat, dan sifat-sifat lainnya. Data yang masuk kedalam komputer BCC diolah untuk dijadikan daftar koleksi (katalog) mikroba secara alfabetis dan numerik dari setiap isolat diberi nomor BCC, dan diakhir tahun dapat diterbitkan katalog tahunan. Setiap ada perubahan data dan informasi mengenai suatu isolat didalam kurun waktu pengolahan selalu diadakan perbaikan (editing), sehingga pada tahun berikutnya katalog yang diterbitkan merupakan revisi katalog tahun sebelumnya. Dengan demikian, pembaca katalog akan disuguhi data terbaru dari isolat koleksi yang siap untuk dimanfaatkan. Didalam katalog, data isolat koleksi disusun kedalam kolom-kolom dan setiap isolat koleksi didahului oleh nomor BCC, kemudian nama ilmiah yang terdiri atas nama genus dan nama spesies, lalu diikuti oleh nama atau nomor galur jika ada. Pada kolom terakhir diuraikan ringkasan sejarah dari masing-masing isolat koleksi, yang meliputi host dan habitat tempat asal isolat koleksi itu diisolasi, lokasi/daerah asal pengisolasian, nama pengisolasi dan pengidentifikasi beserta alamatnya, rujukan dan nomor-nomor koleksi kultur lain jika ada.

Pemeliharaan Koleksi SDG Mikroba di BBalitvet

Dalam pemeliharaan setiap mikroba koleksi BCC dilakukan “kontrol kualitas” yang meliputi uji viabilitas, kemurnian dan reidentifikasi yang dilakukan oleh peneliti pakarnya. Mikroba memiliki sifat-sifat yang sangat beragam oleh karena itu interval waktu pengujian kontrol kualitas dari masing-masing jenis koleksi tidak sama. Untuk setiap koleksi yang akan dilakukan kontrol kualitas dikirimkan ke kelompok peneliti menggunakan formulir baku dan hasil kontrol kualitas akan dikirimkan ke BCC menggunakan formulir baku yang berbeda. Hasil tersebut akan direkam kedalam pangkalan data di komputer dan formulir yang telah diisi akan didokumenkan di BCC.

Distribusi Koleksi SDG Mikroba di BBalitvet

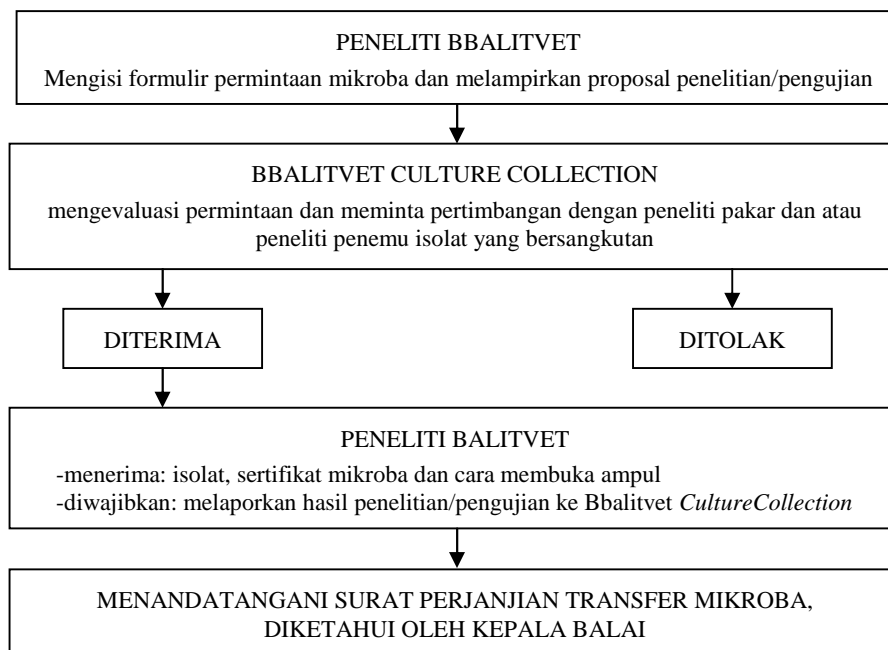
SDG mikroba merupakan bagian dari sumber daya hayati sehingga pendistribusianya harus diatur berdasarkan undang-undang. Sejumlah kesepakatan untuk mengamankan diversitas biologik yang makin hari makin mencemaskan karena ulah manusia dan mencegah penyalahgunaan dan kepunahan materi biologi yang justru dapat memberikan kesejahteraan kepada manusia telah ditandatangani oleh beberapa negara. Konvensi CBD yang diselenggarakan pada tahun 1992 di Rio de Janeiro merupakan konvensi pertama yang mengaku keberadaan keanekaragaman hayati. Indonesia melalui UU No. 5 tahun 1994 telah meratifikasi konvensi tersebut. Meskipun istilah mikroorganisme juga disebut dalam CBD, akan tetapi penataan yang mantap belum ada, sampai sekarang sebagian besar hukum baru menyangkut

tumbuhan dan hewan. Untuk menyempurnakan isi konvensi, meminimalkan dampak negatif dan memudahkan pelaksanaan CBD bagi negara-negara yang menyepakati-nya terbentuklah kesepakatan baru disebut proyek MOSAICC (*Microorganisms Sustainable Use And Access Regulation International Code Of Conduct*) yang diikuti oleh beberapa negara diantaranya Indonesia (diwakili oleh Universitas Indonesia *Culture Collection*). Peraturan-peraturan dalam MOZAICC semuanya mengikuti yang tercantum dalam CBD, sehingga Mozaicc adalah CBD untuk mikroorganisme (Desmeth, 1999). Bagi Indonesia, rekomendasi MOZAICC sangat membantu untuk menelusur kemana dan dimana isolat-isolat *indigenous* kita berada, dipakai untuk apa, adakah keuntungan yang sudah diperoleh dari isolat tersebut, karena penjelasan *material transfer agreement* (MTA) sudah disusun atau tercantum dalam dokumen tersebut. Sayangnya sampai saat ini unda-undang di negara kita belum ada yang mengatur tentang mikroorganisme.

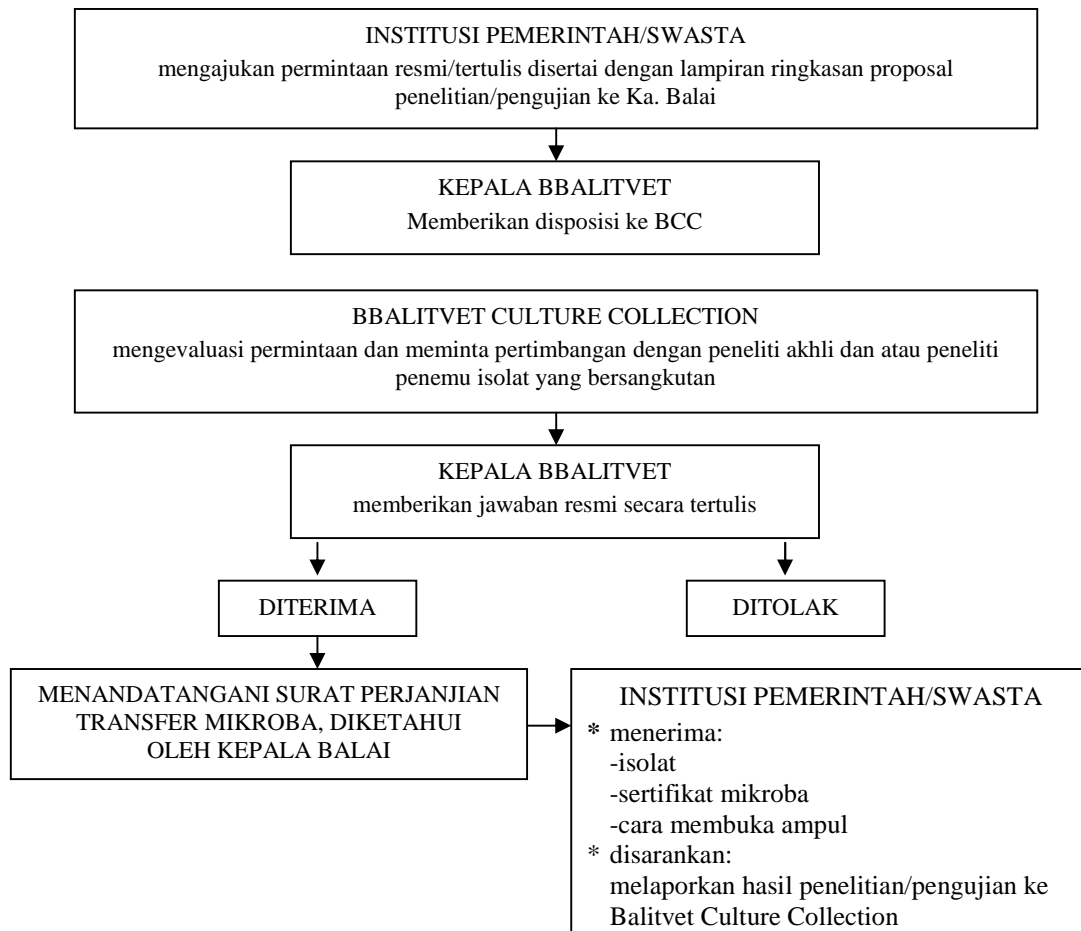
Di Indonesia sudah dibentuk suatu Forum Komunikasi Mikroorganisme (FORKOMIKRO) yang anggotanya terdiri dari para kurator *Culture Collection* di Indonesia dan BCC merupakan salah satu anggotanya. Dalam setiap pertemuan Forum ini diisi acara saling tukar menukar pengalaman dalam pengelolaan koleksi kuturnya masing-masing. Pada dasarnya belum ada keseragaman didalam pengelolaan koleksinya, masing-masing masih menggunakan caranya sendiri tergantung dari fasilitas yang ada di masing-masing *culture collection*.

Koleksi SDG mikroba veteriner yang ada di BCC dapat dimanfaatkan oleh peneliti yang ada di Balitvet atau institusi lain diluar Balitvet, baik itu swasta maupun pemerintah. Oleh karena mikroba koleksi Balitvet mempunyai tingkat bahaya didalam penanganannya maka diperlukan kehati-hatian didalam pengeluaran/pendistribusiannya. Untuk itu telah dibuat suatu aturan yang dibuat oleh Balai dengan S.K. Kepala Balai Penelitian Veteriner Nomor: KP. 150.0207.9.2. 1256 tahun 2002 sebagai berikut:

A. Permintaan, pengeluaran dan penggunaan plasma nutfah mikroba veteriner untuk keperluan internal BBalitvet



B. Permintaan, pengeluaran dan penggunaan plasma nutfah mikroba veteriner untuk keperluan diluar BBalitvet



PEMANFAATAN SDG MIKROBA DI BBALITVET

SDG mikroba yang ada di BBalitvet sangat diperlukan tidak hanya sebagai bahan rujukan di laboratorium dan pendidikan di perguruan tinggi, tetapi juga untuk penyediaan bahan vaksin, bahan perangkat diagnosa, bahan probiotik dan bahan penelitian yang berkaitan dengan penyakit pada ternak dan hewan lain. Teknologi veteriner yang menggunakan SDG mikroba *indigenous* di Balitvet antara lain:

1. Vaksin virus ND peroral pada ayam buras di Indonesia (Ronoharjo *et al.*, 1988; Darminto *et al.*, 1989; Ronoharjo *et al.*, 1992).
2. Vaksin virus ND inaktif mengandung virus ND isolat lokal galur velogenik (ganas) dan galur Ita yang telah dilemahkan (Darminto, 1992; Darminto dan Ronoharjo, 1996).
3. Vaksin isolat lokal virus IBD inaktif. (Parede, 1996).
4. Vaksin virus Infectious Bronchitis (IB) inaktif mengandung isolat lokal IB I-37, I-69, dan PTS-3 (Darminto, 1999; Indriani dan Darminto, 2001).
5. Vaksin virus Avian Influenza (AI) isolat lokal (Indriani *et al.*, 2005).
6. Vaksin bakteri isolat lokal *Pasteurella multocida* untuk mencegah kolera unggas (Supar *et al.*, 2001a; Supar *et al.*, 2001b).

7. Vaksin clostridial necrotic enteritis pada unggas mengandung toksoid *Clostridium perfringens* tipe A dan C (Natalia, 2003).
8. Vaksin bakteri ETEC dan EPEK pada sapi mengandung isolat lokal *Eschericia coli* enterotoksigenik yang memiliki antigen perlekatan *E. coli* K99 dan *E. Coli* enteropato-genik. (Supar *et al.*, 1998).
9. Vaksin bakteri CLOSTVAC-MULTI berisi toksoid isolat lokal bakteri *Clostridium perfringens* tipe A, C dan D pada sapi (Natalia *et al.*, 1996).
10. Vaksin bakteri *P. multocida* tipe B2 isolat lokal untuk vaksin SE pada sapi (Chancellor *et al.*, 1999).
11. Vaksin bakteri ETEC untuk babi mengandung bakteri isolat lokal *Eschericia coli* yang memiliki antigen K88, K99, F41 dan 987 P. (Supar dan Hirst, 1990; Supar dan Hirst, 1991).
12. Vaksin Erysipelas untuk babi menggunakan isolat lokal *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotipe 2. (Chotiah, 2001; Chotiah, 2004).
13. Teknologi uji aglutinasi lateks untuk mendiagnosis penyakit ngorok (Septicaemia epizootica) (Natalia, 2001).
14. Teknologi pemeriksaan antibodi virus AI metode *Hemaglutinasi Inhibisi*. (Indriani *et al.*, 2004).
15. Teknologi deteksi virus AI pada sediaan organ dengan teknik immunohistokimia (Damayanti *et al.*, 2004).
16. Teknologi analisis genetik virus AI dengan uji PCR dan ELISA antigen (Dharmayanti *et al.*, 2005).
17. Teknologi identifikasi cepat *Bacillus anthracis* dengan direct fluorescent antibody assay (Natalia dan Adji, 2007).
18. Penggunaan probiotik dengan isolat lokal untuk pengendalian Clodtridial Necrotic Enteritis.

Pada ayam pedaging (Natalia dan Priadi, 2005).

Sedangkan Teknologi yang menggunakan SDG mikroba koleksi Bbalitvet yang telah mendapat paten dipaparkan didalam Tabel 1 dan yang sedang dalam proses paten dipaparkan didalam Tabel 2.

Koleksi SDG mikroba di BCC telah dimanfaatkan untuk pendidikan, penelitian, acuan pada pengujian di laboratorium, bahan baku pembuatan vaksin untuk pencegahan penyakit ternak atau hewan lain, bahan baku perangkat diagnostik untuk mendeteksi antibodi terhadap suatu penyakit pada ternak maupun hewan lain atau mendeteksi antigen pada bahan pangan asal ternak, sebagai bahan pembuat serum hiperimun untuk pengobatan suatu penyakit pada

Tabel 1. Teknologi yang menggunakan SDG mikroba koleksi Bbalitvet yang telah mendapat paten.

Produk teknologi	No. Paten	Penemu
Vaksin infectious bronchitis (IB) isolat lokal	S 20000246	Dr. Darminto
Vaksin enterotoksigenik <i>E. coli</i> multi-valen untuk babi	S 20000247	Dr. Supar, MS
Antigen berwarna pullorum polivalen untuk unggas	S 20000248	J. Sri Poernomo, BSc
Vaksin tetelo inaktif isolat lokal	P 0200100757	Dr. Darminto dan Dr. Purnomo Ronohardjo
Vaksin tetelo aktif galur Balai Penelitian Veteriner 2 (RIVS2)	P 0200100756	Dr. Purnomo Ronohardjo dan Dr. Darminto
Vaksin verotoksigenik <i>E. coli</i> untuk sapi	P 0200100755	Dr. Supar, MS
Vaksin snot trivalen isolat lokal untuk unggas	P 0200300437	J. Sri Poernomo, BSc

Sumber: Balai Penelitian Veteriner, 2004.

Tabel 2. Teknologi yang menggunakan SDG mikroba koleksi BBalitvet yang sedang dalam proses paten.

Produk teknologi	No. Paten	Penemu
Formulasi nematofagus (<i>Dudingtonia flagran</i>) pada ternak ruminansia	P00201200900	Dr.Riza ZA
Formulasi suplemen probiotik (<i>Saccharomyces cereviciae</i>) untuk ternak dan ikan	P00201200898	Dr. Riza ZA dan Rantan Krisnan Spt,MSi

ternak atau hewan lain, dan sebagai uji tantang untuk mengetahui efektifitas suatu vaksin untuk pencegahan penyakit pada ternak dan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai Penelitian Veteriner. 2004. Vaksin Hasilhasil Penelitian Balai Penelitian Veteriner.
- Barrow, G.I. and R.K.A. Feltham. 2003. *Cowan And Steel`S Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3rd ed. Cambridge University Press, UK. pp. 118-119.
- Batty, I. and P.D. Walker. 1975. Colonial Morfology ang Fluorescent Labelled Antibody Stains in the Identifikaton of Species of the Genus Clostridia. *J.Appl. Bacteriol.* 28:112.
- Carter, G.R. 1973. *Diagnostic Procedure in Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Charles C. Thomas Publish, Springfield, Illinois, USA.
- Chancellor R., S. Bahri, Y. Setiadi, dan Supartono. 1999. Vaksin Septichaemia Epizootica (SE) bivalen isolat lokal untuk sapi dan kerbau.Teknologi Unggulan Pemacu Pembangunan Pertanian. 2:51-60.
- Chotiah, S., Kusmiyati, L. Natalia, A. Priadi, N.L.P.I. Damayanti, R. Indriani, M. Saepulloh, R.Z.Hmad, dan A. H. Whardana. 2011. Konservasi dan Karakterisasi 100 Isolat Lokal Mikroba Veteriner yang Berpotensi Sebagai Kandidat Vaksin, Bahan Diagnostik dan Probiotik *Laporan Akhir Tahun 2011*. Balai Penelitian Veteriner. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Chotiah, S. 2001. Studi vaksin erysipelas isolat lokal: I. Tanggap kebal mencit dan babi vaksinasi terhadap uji tantang isolat lokal *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotipe-serotipe 1 dan 2. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor, 17-18 September 2001. p. 520-526.
- Chotiah, S. 2008. Studi vaksin: Imunogenisitas tiga fraksi kultur isolat lokal *Erysipelothrix rhusiopathiae* sero tipe 2 pada babi. *JITV* 13(1):75-81.
- Damayanti. R., N.L.P.I. Dharmayanti, R. Indriani, A. Wiyono, dan Darminto. 2004. Deteksi Virus *Avian Influenza* Subtipe H5N1 pada Organ Ayam yang Terserang Flu Burung Sangat Patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan Teknik Imunohistokimia. *JITV*. 9(3):197-203.
- Darminto, P. Purnomo, N. Suryana, M. Abubakar, dan Kusmaedi. 1989. Vaksinasi Penyakit Newcastle melalui Makanan: Studi Pendahuluan Pemakaian Virus Penyakit Newcastle Tahan Panas (RIVS)V4 Sebagai Vaksin Di Laboratorium. *Penyakit Hewan*. XI(37):35-39.
- Darminto, 1992. Efisiensi Vaksinasi Penyakit Tetelo (*Newcastle Disease*) Pada Ayam Broiler.*Penyakit Hewan* XXIV(43):4-8.
- Darminto dan P. Ronohardjo. 1996. Vaksin *Newcastle Disease* Inaktif Berasal Dari Virus Isolat Lokal Galur Velogenik. *JITV* 2(1):42-49.
- Darminto. 1999. Pengembangan vaksin *infectious bronchitis* inaktif isolat lokal. *JITV* 4(2):113-120.
- Desmeth, P. 1999. Microorganisms Sustainable use and Access Regulation International Code and Conduct. MOSAICC. Directorate General XII Science, Research and Development of the Commission of the European Union. Belgian Coordinated Collections of Microorganisms, Brussels, Belgium.
- Dharmayanti, N.L.P.I., D.A. Hewajuli, A. Ratnawati, R. Indriani, dan Darminto. 2010. Karakter Genetik Protein Membran virus avian influenza subtipe H5N1. *JITV* 15(3):231-239.
- Indriani, R. dan Darminto. 2001. Respons Antibodi dan Proteksi Vaksin Inaktif *Infectious Bronchitis* Isolat Lokal Pada Ayam Petelur. *JITV* 6(2):134-140.

- Indriani, R., N.L.P.I. Dharmayanti, L. Parede, A. Wiyono, dan Darminto. 2004. Deteksi Respon Antibodi dengan Uji Hemagglutinasinya Inhibisi dan Titer Proteksi terhadap Virus *Avian influenza* Subtipe H5N1. *JITV*. 9(3):204-209.
- Levett. P.N. 1991. *Anaerobic Microbiology, A Practical Approach*. IRL Press at Oxford University Press. UK.
- Loder, J. 1974. *The Yeasts a taxonomic study*. Nort Holland Publishing Company. Amesterdam.
- Natalia, L., Sudarisman, dan M. Darodjat. 1996. Pencegahan Erotoksemia Pada Sapi Yang Ditransportasikan Antarpulau. *JITV* . 2(1):54-59.
- Natalia, L. 2001. Uji aglutinasi lateks untuk mendiagnosis penyakit ngorok (*Septicaemia epizootica*) di lapangan. *JITV* 6 (3):151-158.
- Natalia, L. 2003. Pengembangan vaksin clostridial necrotic enteritis. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 29-30 September 2003. hlm. 417-423.
- Natalia, L. dan A. Priadi. 2005. Penggunaan probiotik untuk pengendalian clostridial necrotic enteritis pada ayam pedaging. *JITV* 10:71-78.
- Natalia, L. and R. Setya Adji. 2007. Rapid identification of *Bacillus anthracis* by cell wall and capsule components direct fluorescent antibody assay. *JITV* 13(2):140-149.
- Pace, N.R., D.A. Stahl, D.J. Lane, and J.G. Oslen. 1985. Analyzing natural microbial populations by rRNA sequences. *ASM NEWS*. 51:4-12.
- Parede, L. 1996. Penelitian Tentang Pembuatan Master Seed Vaksin Hidup Virus Gumboro (*Infectious Bursa Disease*) Dari Isolat Lokal Virus Gumboro. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Ronoharjo, P., Darminto. dan M.I. Dirja, 1988. Oral Vaccination Against Newcastle Diseases In Kampong Chicken In Indonesia. In: Poultry Disease. Proceeding 112 the Asian Pasific Poultry Health Contfrence. Surfers Paradise, Australia. pp. 473-480.
- Ronoharjo, P., Darminto, A. Sarosa, dan L. Parede. 1992.1992. Vaksinasi Penyakit Tetelo Secara Oral Pada Ayam Buras: Uji Efikasi Laboratorium dan Uji Lapang Di Beberapa Daerah Di Indonesia Dalam Rangka Pemantapan Studi. *Penyakit Hewan*. 24(43A):1-9.
- Sukanto, I.P. 1998. Molecular Characterisation of *Trypanosoma evansi* Stock Fron Indonesia. Tesis dalam mengambil gelar Doktor di Universitas Edinburg.
- Supar and R.G. Hirst. 1990. Development of a whole cell vaccine from *Escherichia coli* being K88, K99, F41 and 987P fimbrial antigens: Vaccine field trials to control piglets neonatal coli-bacillosis. *Penyakit Hewan* . 12(40):69-75.
- Supar and R.G. Hirst. 1991. Development of a whole cell vaccine from *Escherichia coli* being K88, K99, F41 and 987P fimbrial antigens: The relationships between colostrums al IgA and IgG antifimbrial antibodies and protection . *Penyakit Hewan*. 23(42):1-11.
- Supar, Kusmiyati, dan M.B. Poerwadikarta. 1998. Aplikasi vaksin enterotoksigenik *Echerichia coli* (Etec) K 99, F41 polivalen pada induk sapi perah bunting dalam upaya pengendalian kolibasilosis dan kematian pedet neonatal. *JITV*. 3(1):27-33.
- Supar, Y. Setiadi, Djaenuri, N. Kurniasih, B. Poerwadikarta, dan Sjafei. 2001a. Pengembangan Vaksin Kolera Unggas: I. Proteksi Vaksin *Pasteurella multocida* Isolat Lokal Pada Ayam terhadap Uji Tantang Galur Homolog nan Heterolog. *JITV*.6(1):59-67.
- Supar, Y. Setiadi, Djaenuri, N. Kurniasih, B. Poerwadikarta, dan Sjafei. 2001. 2001b. Pengembangan Vaksin Kholera Unggas: II. Patogenitas dan Daya Proteksi Vaksin *Pasteurella multocida* Isolat Lokal Pada Itik Percobaan. *JITV*. 6(2):120-125.
- Quinn, P.J., B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly, and F.C. Leonard. 2002. Veterinary Microbiology and Mycrobial Disease: Enterobacteriaceae. Blackwell Press, Oxsford, UK. pp. 84-123.