

**ISOLASI ANTIBODI POLIKLONAL HSP70 *Gallus gallus* “IN
HOUSE” MENGGUNAKAN KOMBINASI AMMONIUM
SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75**

PUBLIKASI ILMIAH

Diserahkan Guna untuk Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan untuk
Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan



NUR AWALIAH

B1D018208

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

FAKULTAS PETERNAKAN

UNIVERSITAS MATARAM

MATARAM

2023

**ISOLASI ANTIBODI POLIKLONAL HSP70 *Gallus gallus* “IN
HOUSE” MENGGUNAKAN KOMBINASI AMMONIUM
SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75**

PUBLIKASI ILMIAH

OLEH

**NUR AWALIAH
B1D018208**

Diserahkan Guna untuk Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan untuk
Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

**Menyetujui
Pada Tanggal: 29 Agustus 2023
Pembimbing Utama**



**Prof. Ir. Sulaiman N. Depamede, M.Biotech., Ph.D
NIP. 195904301987031001**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM**

2023

ISOLASI ANTIBODI POLIKLONAL HSP70 *Gallus gallus* “IN HOUSE” MENGGUNAKAN KOMBINASI AMMONIUM SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi antibodi poliklonal HSP70 dari serum kelinci yang diimunisasi dengan HSP70 *Gallus gallus* sintetik. Isolasi dilakukan menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram. Isolasi antibodi menggunakan garam Ammonium Sulfat, karena kelarutannya sangat tinggi dan relatif murah. Penambahan Ammonium Sulfat pada tahap isolasi protein berfungsi untuk mengendapkan molekul-molekul protein dari sampel serum kelinci. Isolasi dengan menggunakan Ammonium Sulfat 50% menghasilkan endapan lebih banyak dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75 menghasilkan fraksi sebanyak 20 *tube* dengan total volume fraksi 12,5 ml, terdiri atas 1 ml pada masing-masing tabung fraksi dengan kode 1FK-5FK dan 0,5 ml pada tabung fraksi 6FK-20FK. Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa secara deskriptif terdapat perbedaan jumlah pita antara antibodi sebelum dimurnikan (serum asli) dan sesudah dilakukan isolasi menggunakan Ammonium Sulfat 50%, dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75. Pada serum kelinci asli terdapat 8 pita protein, pada penambahan Ammonium Sulfat 50% terdapat 7 pita protein dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75 pada fraksi terdapat 5 pita protein (fraksi F8) dan 2 pita protein (F11). Kesimpulan dari penelitian ini adalah antibodi poliklonal HSP-70 dapat diisolasi menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75. Purifikasi menggunakan kolom Sephadex G75 memberikan hasil yang lebih murni.

Kata kunci: *Antibodi HSP-70, Ammonium Sulfat, Sephadex G75, SDS – PAGE*

**ISOLATION OF POLYCLONAL ANTIBODIES HSP70 *Gallus*
Gallus “*INHOUSE*” USING A COMBINATION OF 50%
AMMONIUM SULFATE**

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate HSP70 polyclonal antibodies from rabbit serum immunized with synthetic *Gallus gallus* HSP70. Isolation was done using a combination of 50% Ammonium Sulfate and Sephadex G75 column. This research was conducted at the Microbiology and Biotechnology Laboratory, Faculty of Animal Husbandry, Mataram University. Antibody isolation uses Ammonium Sulfate salt, because its solubility is very high and relatively cheap. The addition of Ammonium Sulfate at the protein isolation stage serves to precipitate protein molecules from rabbit serum samples. Isolation using 50% Ammonium Sulfate produces more precipitate and after being passed on a Sephadex G75 column produces 20 tubes of fractions with a total fraction volume of 12.5 ml, consisting of 1 ml in each fraction tube with the code 1FK-5FK and 0.5 ml in the 6FK-20FK fraction tube. The results of SDS-PAGE analysis showed that descriptively there were differences in the number of bands between antibodies before purification (native serum) and after isolation using 50% Ammonium Sulfate, and after being passed on a Sephadex G75 column. In the original rabbit serum, there were 8 protein bands, in the addition of 50% Ammonium Sulfate there were 7 protein bands and after passing on the Sephadex G75 column in the fraction there were 5 protein bands (fraction F8) and 2 protein bands (F11). The conclusion of this study is that HSP-70 polyclonal antibody can be isolated using a combination of 50% Ammonium Sulfate and Sephadex G75 column. Purification using Sephadex G75 column gives purer protein results.

Key words: HSP-70 antibody, Ammonium Sulfate, Sephadex G75, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Heat Shock Protein (HSP) merupakan protein yang memegang peranan penting dalam mempertahankan homeostasis seluler dan melindungi sel dari kondisi kronis dan akut, akibat stres yang ditimbulkan oleh faktor pencetus lain selain panas seperti anoksia, iskemia, ion logam berat, etanol, nikotin, stres bedah dan agen virus (Cahyadi *et al.*, 2004).

Stres panas menjadi masalah penting bagi industri unggas di negara tropis termasuk Indonesia. Hal ini karena stres panas memberikan dampak negatif terhadap kinerja produksi, kinerja reproduksi, respon fisiologis, dan imunitas unggas (Hao & Gu 2014). Kondisi biologis seperti ini menyebabkan ternak unggas dalam kondisi panas mengalami kesulitan membuang panas tubuhnya ke lingkungan. Akibatnya, ternak unggas yang dipelihara di daerah tropis rentan terhadap bahaya stres panas. Stres dapat didefinisikan sebagai suatu kondisi pada ternak yang menyebabkan meningkatnya suhu atau stresor lain yang berasal dari luar ataupun dari dalam tubuh ternak (Ewing *et al.*, 1999).

Menurut Tabiri *et al* (2000), stres panas menyebabkan berbagai macam penyakit yang menyerang ternak unggas sehingga dapat menghambat laju pertumbuhan dan produksi daging dan pada akhirnya keuntungan yang diperoleh semakin menurun. Stres panas pada organisme hidup membuat sintesis sebagian protein akan tertunda, namun sekelompok protein yang dikenal sebagai *Heat Shock Protein* (HSP) akan disintesis dengan cepat sebagai respon tubuh terhadap stress panas itu sendiri (Jaiswal *et al.*, 2017). HSP memainkan peran penting sebagai pendamping molekuler esensial selama perakitan dan pembongkaran protein, pelipatan dan pembukaan protein, translokasi, dan

interaksi dengan protein yang rusak di bawah berbagai tekanan fisiologis lingkungan (Larkins, 2012).

Terdapat berbagai macam jenis HSP dan Heat Shock Protein-70 (HSP-70) merupakan HSP yang paling sering dipelajari mengenai stress panas (Khan *et al.*, 2016). HSP-70 berfungsi dalam melindungi organisme dari dampak negatif stres panas, salah satunya efek toksik, melalui peningkatan sistem kekebalan tubuh dan aktivitas enzim antioksidan (Huang *et al.*, 2012).

HSP70 berperan sebagai perantara bahwa hewan atau ternak mengalami stress panas, yang berpengaruh terhadap kualitas daging. Baik buruknya kualitas daging antara lain dapat dilihat dari ekspresi HSP70 (Cecep *et al.*, 2020). Untuk melihat hal tersebut, diperlukan alat yang digunakan untuk mendeteksinya. Salah satunya adalah dengan metode imunoesai yang membutuhkan antibodi terhadap HSP70. Saat ini antibodi poliklonal terhadap HSP70 sudah dibuat di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Unram menggunakan kelinci lokal yang diimunisasi dengan HSP70 sintetik (Depamede dkk. 2022). Muharram (2022) pada penelitiannya sudah memurnikan antibodi yang terdapat dalam serum kelinci terhadap antibodi HSP70 pasca vaksinasi menggunakan vaksin HSP70 sintetik. Dalam penelitian tersebut dia melakukan pemurniaan menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 25% dan 50% akan tetapi hasilnya belum optimal. Untuk itu perlu dilakukan penelitian menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 dengan harapan dapat memberi hasil yang lebih baik.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada

bulan Januari – Maret 2023, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram.

Materi Penelitian

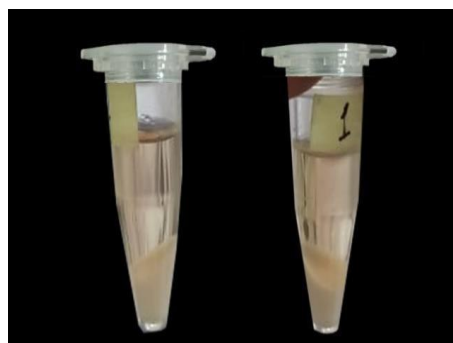
Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah serum kelinci lokal hasil multi imunisasi (imunisasi berulang) menggunakan vaksin sintetik fragmen peptida HSP70 *Gallus gallus*, Ammonium Sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Sephadex G-75, BSA (*Bovine Serum Albumin*) 1 mg/ml, Saline (NaCl 0,9%), reagen Bradford, *running buffer*, *Coommasie brilliant blue* (CBB).

Alat Penelitian

Tip, es batu dalam ice box, mikrotube, mikropipet, sentrifius, beaker gelas, gelas ukur, *electrophoresis power supply*, shaker, multiwell plate, incubator, dan glove.

Pemurnian Antibodi HSP70 Menggunakan Ammonium Sulfat 50%

Serum diambil sebanyak 1 ml, kemudian didistribusikan ke dalam 2 tube, selanjutnya diisolasi dengan ammonium sulfat 50% masing-masing sebanyak 0,5 ml ke tabung yang berisi sampel serum kelinci dan diberi label 1 dan 2, sampel diinkubasi ke dalam es batu yang ada dalam *ice box* selama 60 menit, sambil divortex setiap 10 menit sambil divortex setiap 10 menit. Setelah itu disentrifius dengan kecepatan maximal (12.000 rpm) selama 5 menit. Diperoleh endapan (Gambar 1) yang selanjutnya dilarutkan dengan NaCl 0,9% masing-masing 0,25 ml per tabung.



Gambar 1. Isolasi dengan Ammonium Sulfat 50%

Setelah endapan 1 dan 2 larut kemudian digabung dalam 1 tabung dan ditambahkan 10 micro *ponceau* sebagai pewarna atau penanda pada isolasi menggunakan kolom sephadex G75.

Pemurnian Antibodi HSP70 Menggunakan Kolom Sephadex G75

Disiapkan kolom Sephadex G75. Transfer 10 ml Sephadex G75 ke kolom dan tutup ujung kolom. Dilakukan pencucian kolom Sephadex G75 sebanyak 2 tahapan yakni dengan NaCl 0,5 M 10 ml, dilanjutkan dengan NaCl 0,9% 30 ml. Pasca pencucian tahap kedua, ditambahkan larutan pellet/endapan (1+2) dengan volume 0,5 ml di atas permukaan Sephadex G75. Setelah larutan terserap oleh Sephadex G75, sesaat sebelum kolom kering, tambahkan 1 ml NaCl ke atas Sephadex G75 dengan hati-hati agar G75 tidak berhamburan.

Disiapkan 20 tube dan diberi nomor/kode 1 FK, 2 FK, 3 FK, 4 FK, 5 FK, 6 FK, 7 FK, 8 FK, 9 FK, 10 FK, 11 FK, 12 FK, 13 FK, 14 FK, 15 FK, 16 FK, 17 FK, 18 FK, 19 FK, 20 FK. Tampung tetesan dari kolom masing-masing 1 ml dalam tabung mikro untuk nomor/kode 1 FK-5 FK dan 0,5 ml untuk nomor/kode 6 FK- 20 FK. Melakukan pembacaan gradasi warna konsentrasi protein antibodi HSP70 menggunakan *microplate* yang mengandung reagen Bradford.

Pengukuran Berat Molekul Sampel

Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel elektroforesis (SDS-PAGE) dibuat dengan konsentrasi *separating gel* (gel pemisah) 10% dan *stacking gel* (gel pengumpul) 3,5 %.

Penyiapan sampel untuk proses SDS-PAGE dapat dilihat pada Tabel 1. Disiapkan semua sampel pada *tube* sesuai urutan *tube*. Dimasukkan masing-masing *loading buffer* ke semua *tube* sesuai urutan *tube* kemudian ditambahkan saline ke *tube* nomor 1 dan ditambahkan sampel ke *tube* yang telah diisi *loading buffer* dan NaCl 0,9% sesuai Tabel 1.

Panaskan sampel di atas kompor listrik dengan suhu 100°C/mendidih selama 4 menit kecuali marker protein. Transfer sampel ke *glass plate* yang berisi gel. Dimasukkan *glass plate* yang berisi sampel ke dalam *chamber* kemudian menuangkan elektroforesis buffer. Sampel dimasukkan pada lubang gel pertama sampai ke empat kemudian marker dimasukkan ke lubang gel selanjutnya yaitu pada lubang gel ke lima. Running dilakukan dengan

menjalankan *power supply* dengan *voltase* 100 V dan kuat arus 48 mA selama 2 jam. Setelah marker dan sampel turun, gel dilepas secara perlahan kemudian n diletakkan di dalam wadah plastik.

Pewarnaan gel dilakukan dengan menuangkan larutan pewarna atau *staining* ke dalam wadah yang berisi gel kemudian digoyang diatas shacker selama kurang lebih 19 jam atau semalaman. Setelah pewarnaan selesai, dilanjutkan dengan pelunturan atau *destaining*. Sisa larutan *staining* dimasukkan ke dalam *falcon* kemudian gel dituangkan larutan *destaining* sampai menutupi gel lalu digoyang di atas shacker sampai pita protein terlihat. *Destaining* bertujuan untuk menghilangkan sisa CBB dan memperjelas *bands* protein yang terbentuk. Setelah itu dilakukan pencucian menggunakan dH2O untuk menghilangkan sisa larutan *destaining*. Setelah pita protein terlihat, gel diletakkan di atas lampu box untuk difoto.

Tabel 1. Tahap pengerjaan SDS-PAGE

No	Sampel	NaCl 0,9% (saline)	LB 5x (μ l)	Sampel (μ l)	Apply (μ l)
1	Antibodi HSP70 asli	30	10	10	12,5
2	HSP70 + Ammonium Sulfat 50%	25	10	15	12,5
3	Fraksi 8	0	10	40	12,5
4	Fraksi 11	0	10	40	12,5
5	Marker Smobio	0	0	0	5

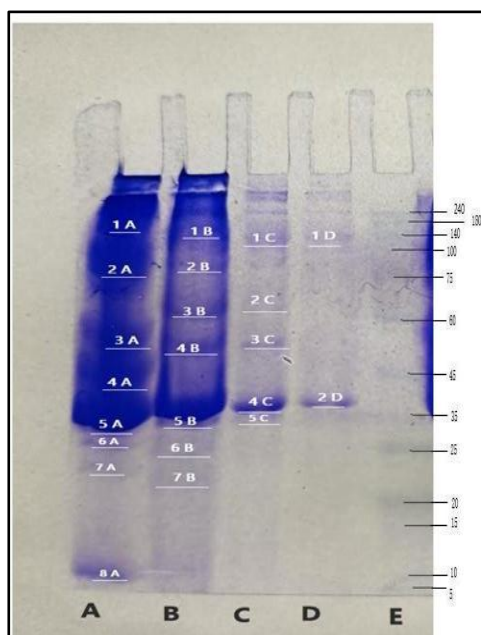
SDS-PAGE dikerjakan sesuai dengan 4 tahapan terdiri dari penyiapan gel, penyiapan sampel, proses elektroforesis dan penentuan berat molekul protein. Lewatkan standar sampel pada 1 gel yang sama, proses gel sampai mendapatkan warna-warna pita yang optimum. Berdasarkan hasil cetak, tetapkan ukuran berat molekul pita-pita standar sesuai petunjuk pabrik yang telah

ditentukan. Gunakan penggaris untuk mengukur jarak pergerakan dari dasar sumuran sampai bawah. Ukur pergerakan masing-masing pita kemudian hitung nilai Rf untuk masing-masing pita. Dilihat jumlah pita protein yang berbeda antara serum kelinci yang mengandung anti HSP70 sebelum dimurnikan (A), setelah dimurnikan dengan 50% Ammonium Sulfat (B), dan setelah

dimurnikan dengan kombinasi Ammonium Sulfat dan Sephadex G75 (sumuran C dan D). Pada sumuran A terdapat 8 pita protein, sumur B 7 pita protein dan sumur C dan D masing-masing 5 dan 2 pita protein.

Menurut Kirley *et al.*, (2018) SDS PAGE merupakan metode sederhana dan relatif umum untuk menganalisis tingkat kemurnian antibodi atau protein. Secara umum semakin sedikit jumlah pita protein yang terbentuk menunjukkan protein tersebut semakin murni. Akan tetapi untuk memastikan apakah protein tersebut adalah protein target yang akan dimurnikan, maka perlu dihitung ukuran berat molekul dari pita protein tersebut. Dalam penelitian ini, berat molekul pita-pita protein yang terbentuk pada masing-masing sumuran dihitung berdasarkan persamaan kurva kalibrasi antara nilai Rf (*Retardation Factor*) dan log berat molekul (BM) marker yang disajikan pada Tabel 3 diperoleh persamaan garis regresi logaritma $y = -1,4707x + 2,3166$. Perhitungan ini dilakukan dengan program *Exel for Window*.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 2. Hasil uji SDS-PAGE

Keterangan Gambar 2:

- A = Antibodi HSP 70 Asli
- B = Antibodi HSP 70 + Ammonium Sulfat 50%
- C = Fraksi Nomor 8
- D = Fraksi Nomor 11
- E = Marker Protein

Pada Gambar 2 dapat dilihat jumlah pita protein yang berbeda antara serum kelinci yang mengandung anti HSP70 sebelum dimurnikan (A), setelah dimurnikan dengan 50% Ammonium Sulfat (B), dan setelah dimurnikan dengan kombinasi Ammonium Sulfat dan Sephadex G75 (sumuran C dan D). Pada sumuran A terdapat 8 pita protein, sumur B 7 pita protein dan sumur C dan D masing-masing 5 dan 2 pita protein.

Menurut Kirley *et al.*, (2018) SDS PAGE merupakan metode sederhana dan relatif umum untuk menganalisis tingkat kemurnian antibodi atau protein. Secara umum semakin sedikit jumlah pita protein yang terbentuk menunjukkan protein tersebut semakin murni. Akan tetapi untuk memastikan apakah protein tersebut adalah protein target yang akan dimurnikan, maka perlu dihitung ukuran berat molekul dari pita protein tersebut.

Dalam penelitian ini, berat molekul pita-pita protein yang terbentuk pada masing-masing sumuran dihitung berdasarkan persamaan kurva kalibrasi antara nilai Rf (*Retardation Factor*) dan log berat molekul (BM) marker yang disajikan pada Tabel 2 diperoleh persamaan garis regresi logaritma $y = -1,4707x + 2,3166$. Perhitungan ini dilakukan dengan program *Exel for Windows*.

Dari hasil penelitian ini yang dilakukan pada sampel hasil *running* (Gambar 6) nampak bahwa secara deskriptif terdapat perbedaan jumlah pita protein antara sebelum (sumuran A) dan sesudah dilakukan pemurnian dengan Ammonium Sulfat (sumuran B) serta

setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75 (C dan D). Pada sumuran A teridentifikasi 8 pita protein dengan berat molekul yaitu 145 kDa (1A), 78 kDa (2A), 55 kDa (3A), 37 kDa (4A), 26 kDa (5A), 25 kDa (6A), 22 kDa (7A), dan 7 kDa (8A). Pada sumuran B teridentifikasi 7 pita protein yakni 133 kDa (1B), 89 kDa (2B), 63 kDa (3B), 50 kDa (4B), 29 kDa (5B), 24 kDa (6B), dan

21kDa (7B). Pada sumuran C (Fraksi 8) teridentifikasi 5 pita protein dengan berat molekul masing-masing yaitu 122 kDa (1C), 63 kDa (2C), 50 kDa (3C), 37 kDa (4C), dan 32 kDa (5C). Kemudian sumuran D (Fraksi F11) teridentifikasi 2 pita protein yang terekspresi dengan berat molekul masing- masing yaitu 122 kDa (1D), dan 38 kDa (2D).

Tabel 2. Hasil Estimasi Berat Molekul Sampel

No.	Nama Pita	Panjang Pita	Rf	Log MW	MW (kDa)
1	1A	0,8	0,103	2,163	145,81
2	2A	2,2	0,285	1,896	78,777
3	3A	3	0,389	1,743	55,411
4	4A	3,9	0,506	1,571	37,299
5	5A	4,7	0,610	1,418	26,236
6	6A	4,8	0,623	1,399	25,107
7	7A	5,1	0,662	1,342	22,003
8	8A	7,5	0,974	0,884	7,657
9	1B	1	0,129	2,125	133,53
10	2B	1,9	0,246	1,953	89,887
11	3B	2,7	0,350	1,800	63,226
12	4B	3,2	0,415	1,705	50,745
13	5B	4,4	0,571	1,476	29,936
14	6B	4,9	0,636	1,380	24,027
15	7B	5,2	0,675	1,323	21,057
16	1C	1,2	0,155	2,087	122,29
17	2C	2,7	0,350	1,800	63,226
18	3C	3,2	0,415	1,705	50,745
19	4C	3,9	0,506	1,571	37,299
20	5C	4,2	0,545	1,514	32,688
21	1D	1,2	0,155	2,087	122,29
22	2D	3,8	0,493	1,590	38,976

Berdasarkan penelitian ini, terdapat jumlah pita protein yang berbeda-beda antara antibodi HSP 70 sebelum dimurnikan, antibodi HSP70 sesudah dimurnikan menggunakan Ammonium Sulfat 50% serta antibodi setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75. Pada antibodi HSP70 sebelum dimurnikan terdapat pita protein sebanyak 8 pita protein, kemudian sesudah dimurnikan menggunakan

Ammonium Sulfat 50% terlihat jumlah pita protein berkurang yaitu menjadi 7 pita protein, serta setelah dimurnikan dengan Sephadex G75 jumlah pita protein menjadi 5 pita protein pada F8 dan 2 pita protein pada fraksi F11. Menurut Yunus (2007), ada atau tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu menunjukkan ada atau tidaknya protein yang bermigrasi dan berhenti pada jarak tersebut selama proses SDS-PAGE. Pada

penelitian Wibi (2022), mengenai purifikasi antibodi poliklonal *heat shock protein-70* (HSP-70) menggunakan Ammonium Sulfat 25% dan 50% ditemukan 7 pita protein yang menonjol dengan berat molekul yaitu 10, 18, 25, 35, 41, 61, 75, 180 kDa. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 pada isolasi anti HSP70 memberi hasil lebih optimal. Hal ini dapat diketahui dari adanya 5 pita protein pada fraksi F8 dengan berat molekul 32, 37, 50, 63, 122 kDa, dan 2 pita protein pada fraksi F11 memiliki dengan berat molekul masing-masing yaitu 38 dan 122 kDa seperti pada penelitian-penelitian yang menggunakan ammonium sulfat 25% dan 50%. Pada penelitian ini kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 menghasilkan tingkat kemurnian protein yang cukup tinggi yang terlihat pada jumlah pita pada fraksi F8 dan F11 pada sumuran C dan D (Gambar 6). Berat molekul relatif dari pita-pita protein tersebut masing-masing adalah 4C (37 kDa) dan 2D (38 kDa).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa antibodi HSP70 yang diisolasi dari serum kelinci yang divaksinasi berulang menggunakan vaksin HSP70 *gallus-gallus* sintetik menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 memberikan tingkat kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan serum asli. Terdapat 8 pita protein pada antibodi HSP70 sebelum ditambahkan Ammonium Sulfat 50%, 7 pita protein teridentifikasi pada antibodi HSP70 sesudah ditambahkan Ammonium Sulfat 50%. Selanjutnya pada pemurnian menggunakan Sephadex G75 pasca Ammonium Sulfat 50% pada fraksi F8 ditemukan 5 pita protein masing-masing

dengan berat molekul relatif yaitu 122, 63, 50, 37 dan 32 kDa dan pada fraksi F11 terdapat 2 pita protein masing-masing 122 kDa dan 38 kDa. Pada penelitian ini protein-protein tersebut belum diidentifikasi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, khususnya untuk menganalisis, mengidentifikasi, dan menguji aktivitas spesifik hasil isolasi antibodi poliklonal HSP70 yang dimurnikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanu S, Rifai AB, Yulianah L, Dwiwahyu P. 2015. Evaluation of coagulation test kit for red sea bream iridovirus. *Journal of Agricultural Science and Technology B* 5:437–440.
- Cahyadi H, Tyasrini E, Lucianus J., 2004. Peranan heat shock protein pada patogenesis penyakit infeksi dan penyakit autoimun. *Journal Kedokteran Maranatha*. 3(2):110-6.
- Cecep Hidayat, Komarudin dan E Wina. 2020. Mitigasi Stress Panas pada Ayam Broiler dengan Ekspresi Gen Heat Shock Protein 70 sebagai Indikatornya. *WARTAZOA* Vol. 30 (4): 177-188.
- Chen H, Adam A, Cheng Y, Tang S, Hartung J, Bao E. 2015. Localization and expression of heat shock protein 70 with rat myocardial cell damage induced by heat stress in vitro and in vivo. *Mol Med Rep*. 11:2276– 2284.
- Dukay B, Csoboz B, Tóth ME. 2019. Heat-shock proteins in neuroinflammation. *Front Pharmacol*. 10:920.
- Ewing SA, Donald C, Lay J, Von Borrel E. 1999. *Farm animal well-being: stress physiology, animal behaviour and environmental design*. Upper Saddle River (New Jersey): Prentice Hall.
- Hao Y, Gu XH. 2014. Effects of heat

- shock protein 90 expression on pectoralis major oxidation in broilers exposed to acute heat stress. *Poult Sci.* 93:2709–2717.
- Hidayat. 2011. "Studi Optimasi Proses Biosulublisasi Batu Bara Oleh Kapang Hasil Isolasi dari Pertamabangan Batu Bara Sumatera Selatan Berdasarkan Karakteristik Enzim Ekstraseluler Produk yang Dihasilkan". Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. 2012. The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanism to therapeutic oppurtunities. *Antioxidant Redox Signal.* 16:705-743.
- Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. 2012. The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants Redox Signal.* 16:705–743.
- Ikwegbue PC, Masamba P, Oyinloye BE, Kappo AP. 2018. Roles of heat shock proteins in apoptosis, oxidative stress, human inflammatory diseases, and cancer. *Pharmaceuticals.* 11:1–18.
- Jaiswal SK, Raza M, Uniyal S, Chaturvedani A, Sahu V, Dilliwar L. 2017. Heat Stress and its relation with expression of heat shock proteins in poultry. *Int J Sci Env Tech.* 6:159-166.
- Keenan, R. 1992. *Biokimia Laboratorium.* Jakarta: Erlangga.
- Khan AZ, Khumbar S, Hamid M, Afzal S, Parveen F, Liu YShu H, Mengistu BM, Huang K. 2016. Effects of selenium-enriched probiotics on heart lesions by influencing the Mrna expression of selenoproteins and heat shock proteins in heat stressed broiler chickens. *Pak Vet J.* 36:460-464.
- Kirley TL, Norman AB. 2018. Unfolding of IgG domains detected by non-reducing SDS-PAGE. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Sep 5;503(2):944-949. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.100. Epub 2018 Jun 23. PMID: 29932917; PMCID: PMC6095737.
- Larkins, N. T., R. M. Murphy, and G. D. Lamb. 2012. Influences of temperature, oxidative stress, and phosphorylation on binding of heat shock proteins in skeletal muscle fibers. *Am. J. Physiol-cell. Ph.* 303:C654–C665.
- Rantam, F. A. 2003. *Metode Imunologi.* Airlangga University Press. Surabaya
- Wongsosupantio S. 1990. *Pedoman Kuliah Elektroforesis Gel Protein.* Pusat Antar University-Bioteknologi UGM. Yogyakarta. Hal 8-26
- Singh RK, Jaishankar J, Muthamilarasan M, Shweta S, Dangi A, Prasad M. 2016. Genome-wide analysis of heat shock proteins in C 4 model, foxtail millet identifies potential candidates for crop improvement under abiotic stress. *Sci Rep.* 6:32641.
- Tabiri HY, Sato K, Takashi K, Toyomizu M, Akiba Y. 2000. Effect of acut heat stress on plasma amino acid concentrations of broiler chickens. *Japan Poult Sci.* 37:86-94.
- Tanjung, Y, L., R., dan Y, Kusnandi. 2014. Biskuit Bebas Gluten dan Bebas Kasein Bagi Penderita Autis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 3(1): 11-12. TIBS 16:135-40.