

1 JUL 2003



PAMERAN

LAPORAN PENELITIAN STUDI KAJIAN WANITA
TAHUN ANGGARAN 2001

SELESAI

**KINETIK RESPON PRIMER DAN SEKUNDER SERUM AGLUTININ
ANTI-AEROMONAS HYDROPHILA PADA IKAN MAS
(CYPRINUS CARPIO L)**

Peneliti:

Ir. WAHYU TJAHHANINGSIH, M.Si.
Drh. DIDIK HANDIYATNO, M.S.
Drh. NANI SIANITA, SU

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 059/XXIII/--/2001 Tanggal 1 Januari 2001

Kontrak Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 10

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2001



LAPORAN PENELITIAN STUDI KAJIAN WANITA
TAHUN ANGGARAN 2001

**KINETIK RESPON PRIMER DAN SEKUNDER SERUM AGLUTININ
ANTI-AEROMONAS HYDROPHILA PADA IKAN MAS
(CYPRINUS CARPIO L)**

Peneliti:

Ir. WAHYU TJAHJANINGSIH, M.Si.

Drh. DIDIK HANDIYATNO, M.S.

Drh. NANIK SIANITA, SU

3000325023141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 059/XXIII/--/2001 Tanggal 1 Januari 2001

Kontrak Nomor : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 10

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2001



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

1-Puslit Pembangunan Regional
2-Puslit Obat Tradisional
3-Puslit Pengembangan Hukum
4-Puslit Lingkungan Hidup
5-Puslit Pengembangan Gizi
6-Puslit/Studi Wanita
7-Puslit Olah Raga
8-Puslit Bioenergi
9-Puslit Kependudukan dan Pembangunan
10-Puslit Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995346
E-mail: lpunair@rad.net.id - <http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223>

3000 325 023141

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1	a	Judul Penelitian	Kinetik Respon Primer dan Sekunder Serum Aglutinin Anti- <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio L</i>)
	b	Macam Penelitian	I / II / III
2		Kepala Proyek Penelitian	
	a	Nama Lengkap dan Gelar	Wahju Tjahjaningsih, Msi, Ir.
	b	Jenis Kelamin	Perempuan
	c	Pangkat/Golongan dan NIP	Penata Tk I / III-d / 131 569 345
	d	Jabatan Fungsional	Lektor
	e	Fakultas / Jurusan	Kedokteran Hewan / Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
	f	Universitas	Airlangga
	g	Bidang Ilmu Yang Diteliti	Imunologi
3		Jumlah Tim Peneliti	3 Orang
4		Lokasi Penelitian	Fakultas Kedokteran Hewan – UNAIR
5		Bila Penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan, sebutkan :	
	a	Nama Instansi	--
	b	Alamat	--
6		Jangka Waktu Penelitian	5 (lima) Bulan
7		Biaya yang diperlukan	Rp. 5.000.000,- (Lima Juta Rupiah)

Surabaya, 21 Desember 2001

Mengetahui :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan


Dr. Asmudiono, MS, Drh
NIP. 130 687 297

Ketua Peneliti,


Ir. Wahju Tjahjaningsih, Msi.
NIP. 131 569 345

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian UNAIR



Prof. Dr. H. Sarmanu, MS
NIP. 130/701 125



RINGKASAN

KINETIK RESPON PRIMER DAN SEKUNDER SERUM AGLUTININ ANTI-*Aeromonas hydrophila* PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L.) (Wahju Tjahjaningsih, Didik Handiyatno, Nanik Sianita, 2001, 26 halaman)

Pencegahan penyakit septikemia hemoragik bakterial yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* dengan pemberian vaksin yang mengandung bakterin melalui metode perendaman diharapkan dapat mengaktifkan sistem imun pada ikan, antara lain limfosit B yang berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel-sel memori dan sel-sel blast yang memproduksi dan men-sekresikan antibodi spesifik terhadap *Aeromonas*. Pada pemberian bakterin yang sama, maka kelompok sel memori akan dapat mengenali antigen bakterin tersebut, sehingga menimbulkan respon sekunder yang berlangsung lebih cepat dan lebih intensif dibanding respon primer. Pemilihan waktu pemaparan sekunder atau *booster* vaksinasi dapat mempengaruhi besarnya respon sekunder.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui : (1) kinetis dari respon imun primer dan sekunder pada ikan mas setelah dilakukan vaksinasi serta *booster* dengan bakterin *A. hydrophila*, (2) perbedaan titer antibodi serum pada respon sekunder minggu pertama setelah *booster* dengan titer antibodi serum pada respon primer minggu kelima, kesembilan, dan ketiga belas setelah vaksinasi yang pertama, serta (3) perbedaan titer antibodi serum saat titer antibodi tersebut mencapai puncaknya pada respon sekunder dengan titer antibodi serum pada respon primer pada minggu dimana titer antibodi pada respon sekunder tersebut mencapai puncaknya.

Vaksinasi ikan mas dengan bakterin *A. hydrophila* dilakukan dengan metode perendaman selama satu jam dengan dosis 10^8 sel/ml. Sedangkan vaksinasi ulang (*booster*) dilakukan pada minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas setelah vaksinasi yang pertama dengan dosis dan metode yang sama. Pengambilan serum dilakukan setiap minggu pada kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) dan kelompok ikan yang divaksin tanpa *booster* selama tujuh belas minggu. Sedangkan pengambilan serum pada kelompok *booster* mulai minggu pertama sampai minggu kelima setelah *booster* vaksinasi. Serum tersebut diukur titer antibodinya dengan uji aglutinasi secara mikro. Data titer antibodi serum selanjutnya dibuat grafik untuk mengetahui kinetis dari respon primer dan sekunder. Pengujian statistik dengan uji T *independent* terhadap data titer antibodi serum pada respon sekunder minggu pertama dan saat titer antibodi mencapai puncaknya dengan titer antibodi serum pada respon primer.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari kinetis respon primer, terlihat ada peningkatan titer antibodi serum hingga minggu kesembilan dan selanjutnya berfluktuasi hingga minggu ketujuh belas. Kinetis respon sekunder, terlihat ada peningkatan titer antibodi serum sampai minggu keempat setelah *booster* dan minggu kelima mulai terjadi penurunan titer antibodi. Hanya kelompok ikan mas yang mendapat *booster* minggu kedua belas yang mempunyai perbedaan titer antibodi sangat nyata ($p < 0,01$) pada respon sekunder minggu pertama dengan titer antibodi serum minggu ketiga belas pada respon primer dari kelompok ikan mas tanpa *booster*. Terdapat perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$) pada saat titer antibodi serum mencapai puncaknya, yaitu minggu keempat setelah *booster* pada respon sekunder dengan titer antibodi serum pada respon primer.

Pemberian *booster* vaksinasi tidak perlu dilakukan pada ikan mas yang dibudidayakan untuk tujuan konsumsi, sebaliknya bila untuk stok induk, sebaiknya dilakukan *booster* tiga bulan setelah vaksinasi *A. hydrophila* yang pertama, sehingga diharapkan benih ikan mas mempunyai antibodi maternal terhadap *A. hydrophila*.

(Lembaga Penelitian, Universitas Airlangga, Nomor Kontrak : 360/J03.2/PG/2001).

SUMMARY

KINETICS OF THE PRIMARY AND SECONDARY ANTI - *Aeromonas hydrophila* SERUM AGLUTININ IN CARP FISH (*Cyprinus carpio* L.)
(Wahju Tjahjaningsih, Didik Handiyatno, Nanik Sianita, 2001, 26 pages)

Prevention of bacterial haemorrhagic septicaemia diseases caused by *Aeromonas hydrophila* with vaccination by direct immersion in bacterin could activate immune system in fish for instance in B lymphocyte proliferation and differentiation into memory cells and blast cells which produce and secrete specific antibody against *Aeromonas*. In administration of the same bacterin memory cells, therefore, can recognize the bacteria and induce the secondary response which faster and more intensive than the primary one. Choice of secondary exposure time or booster vaccination can influence the magnitude of secondary response.

This research is purposed to find out : (1) kinetics of primary and secondary immune response in carp after vaccination and booster with *A. hydrophila* bacterin, (2) the difference between the serum antibody titers in first week of secondary response after booster and serum antibody titers in primary response of weeks 5, 9 and 13 after first vaccination, also (3) the difference between serum antibody titers at the moment of reaching the peak of secondary response with serum antibody titers in primary response as antibody titers of secondary response reach the peak.

Vaccination of carp with *A. hydrophila* bacterin is done with direct immersion for one hour using a dose of 10^8 cells/ml. Whereas booster at weeks 4, 8, and 12 after first vaccination were done with the same doses and methods. The serum samples were taken every weeks from control groups (non - vaccinated) and non-booster vaccinated groups as long as seventeen weeks. Whereas the serum samples from booster groups were taken at first week until fifth weeks after booster vaccination. Antibody titers were measured by agglutination in microtitre plates. The graphic then made from data of antibody titers to find out the kinetics of primary and secondary responses. Independent T test was used to compare the data of antibody titers in secondary response (first week and peak antibody titer) with antibody titers in primary response.

Based on this research it can be concluded that from kinetic of primary response, the antibody titers raised until week 9 and then there was a fluctuation until week 17 subsequently. The kinetics of secondary response shown a gradually raising of the antibody titers for 4 weeks after booster and then began to decline. Only the antibody titers at first week after booster vaccination at week 12 has a very significant difference ($p < 0,01$) with the antibody titers at week 13 in non - booster groups. There was a very significant difference ($p < 0,01$) between the peak of antibody titer at week 4 after booster and the antibody titers in primary response.

Booster vaccination is not recommended to the cultured carp, on the other hand it was necessary to make a booster three months after the first *A. hydrophila* vaccination for parents stock so that the fry could have maternal antibody against *A. hydrophila*.

(Research Institute, Airlangga University, Contract Number: 360/J03.2/PG/2001)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya, sehingga penelitian yang berjudul : KINETIK RESPON PRIMER DAN SEKUNDER SERUM AGLUTININ ANTI-*Aeromonas hydrophila* PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L.) dapat dilaksanakan dengan lancar.

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Med. dr. Puruhito, selaku Rektor Universitas Airlangga, Surabaya
2. Prof. Dr. H. Soedarto, DTM&H, PhD, selaku mantan Rektor Universitas Airlangga
3. Prof. Dr. drh. H. Sarmanu, MS, selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
4. Dr. drh. Ismudiono MS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
5. Semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa laporan ini masih belum sempurna. Untuk kesempurnaannya, penulis senantiasa menerima segala kritik atau saran yang dapat melengkapi buku laporan ini.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	3
I.3 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	8
III.1 Tujuan Penelitian	8
III.2 Manfaat Penelitian	8
IV. METODE PENELITIAN	9
IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	9
IV.2 Tahap Persiapan	9
IV.3 Tahap Penelitian	9
IV.3.1 Vaksinasi	9
IV.3.2 Pengambilan Serum dan Pengukuran Titer Antibodi	10
IV.4 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	10
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
V.1 Hasil Penelitian	12
V.2 Pembahasan	16
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	20
VI.1 Kesimpulan	20
VI.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	24

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Rata-Rata Titer Antibodi Serum (Log 2) Aglutinin Anti- <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Ikan Mas Kelompok Kontrol, Kelompok Tanpa <i>Booster</i> dan Kelompok <i>Booster</i>	13

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kinetis Respon Primer dan Sekunder Serum Aglutinin Anti - <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Ikan Mas	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji T <i>Independent</i> terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Kelima dan Minggu Kedelapan dari Kelompok tanpa <i>Booster</i> dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok <i>Booster</i> Keempat	25
2. Uji T <i>Independent</i> terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Kesembilan dan Minggu Keduabelas dari Kelompok tanpa <i>Booster</i> dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok <i>Booster</i> Minggu Kedelapan	26
3. Uji T <i>Independent</i> terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Ketigabelas dan Minggu Keenam belas dari Kelompok tanpa <i>Booster</i> dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok <i>Booster</i> Minggu Keduabelas	27



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

I. PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Timbulnya suatu penyakit dalam suatu sistem budidaya ikan merupakan akibat interaksi kompleks antara inang (ikan), jasad patogen dan lingkungan yang tidak seimbang. Kondisi ini biasanya terjadi pada usaha budidaya ikan secara intensif dengan kepadatan tinggi, pemberian pakan buatan, perubahan kondisi lingkungan yang menyebabkan ikan mudah sekali stres dan menurunnya sistem pertahanan tubuh ikan terhadap serangan patogen.

Stres akibat menurunnya kondisi lingkungan merupakan pemacu utama bagi timbulnya penyakit parasiter, bakterial dan viral (Wasito, 1995). Salah satu penyakit bakterial yang sering merupakan kendala dalam budidaya ikan air tawar adalah penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *Aeromonas* tersebut umumnya hidup di air tawar, tanaman air dan tubuh ikan, sehingga mempunyai peluang untuk dapat menginfeksi (Austin dan Austin, 1987), apalagi bakteri *A. hydrophila* dikenal sebagai patogen oportunistik pada ikan (Tajima *et al.*, 1992).

Pencegahan penyakit bakterial pada ikan dengan cara vaksinasi telah dikembangkan di Indonesia sejak tahun 1983 di Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Bogor dan hasilnya

menunjukkan adanya peningkatan daya proteksi ikan terhadap infeksi bakteri. Selain tidak mempengaruhi lingkungan sekitarnya seperti pada penggunaan bahan kimia, vaksin juga tidak menyebabkan bakteri berkembang menjadi resisten dan tidak menimbulkan efek toksik serta ikan yang sehat mempunyai performans pertumbuhan yang lebih baik (Ward, 1982 dan Roberts, 1989).

Aplikasi vaksinasi pada ikan, terutama pada benih ikan tentunya berbeda dengan pada unggas, dimana metode yang digunakan dapat diterapkan di lapangan dengan ikan yang berjumlah banyak (skala besar) dan dapat menghasilkan titer antibodi serum yang protektif. Metode perendaman langsung dan infiltrasi hiperosmotik sering digunakan untuk vaksinasi pada ikan. Meskipun metode infiltrasi hiperosmotik tidak terlepas dari perlakuan *stressing*, namun metode ini mudah diterapkan pada skala besar (Ward, 1982). Metode perendaman juga efektif dalam menimbulkan proteksi, karena antigen dalam vaksin relatif cukup banyak diserap oleh insang, namun derajat dan lama proteksi yang ditimbulkan bervariasi, tergantung pada konsentrasi, ukuran ikan dan spesies ikan (Lamers *et al.*, 1985).

Pemberian bakterin *A. hydrophila* dalam upaya pencegahan penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* diharapkan dapat mengaktifkan sistem imun, antara lain limfosit B yang berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi

sel-sel memori dan sel-sel blast yang memproduksi dan men-
sekresikan antibodi spesifik terhadap *Aeromonas*. Diharapkan
antibodi spesifik tersebut dapat berperan dalam memberikan
proteksi terhadap infeksi bakteri *Aeromonas*.

I.2 Perumusan Masalah

Terbentuknya antibodi spesifik terhadap bakterin *A. hydrophila* merupakan gambaran respon imun humoral spesifik, dimana inti dalam proses respon imun spesifik diperankan oleh sel-sel limfosit. Pada pemberian bakterin yang sama, maka kelompok sel memori akan dapat mengenali antigen bakterin tersebut, sehingga menimbulkan respon sekunder yang berlangsung lebih cepat dan lebih intensif dibanding respon primer. Pemilihan waktu pemaparan sekunder atau dalam hal ini pemberian booster tentunya dapat mempengaruhi besarnya respon sekunder.

Bertolak dari latar belakang masalah tersebut di atas, maka dapat diungkapkan suatu permasalahan, yaitu :

1. Bagaimana kinetis respon primer dan sekunder yang terbentuk setelah dilakukan vaksinasi dan *booster* dengan bakterin *A. hydrophila* melalui metode perendaman.
2. Apakah terdapat perbedaan titer antibodi serum minggu pertama pada respon sekunder setelah *booster* minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas dengan titer antibodi

serum pada respon primer minggu kelima, kesembilan, dan ketiga belas.

2. Apakah terdapat perbedaan titer antibodi serum pada saat titer antibodi mencapai puncaknya pada respon sekunder setelah *booster* minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas dengan titer antibodi serum pada respon primer pada minggu dimana titer antibodi pada respon sekunder tersebut mencapai puncaknya.

I.3 Hipotesis

1. Terdapat perbedaan titer antibodi serum pada respon sekunder minggu pertama setelah *booster* dengan titer antibodi serum pada respon primer minggu kelima, kesembilan, dan ketiga belas setelah vaksinasi yang pertama.
2. Terdapat perbedaan titer antibodi serum saat titer antibodi tersebut mencapai puncaknya pada respon sekunder dengan titer antibodi serum pada respon primer pada minggu dimana titer antibodi serum pada respon sekunder mencapai puncaknya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Penyakit septikemia hemoragik bakterial yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* dapat dibedakan menjadi tiga bentuk, yaitu : (1) abdominal dropsi dengan karakterisasi berupa distensi dari rongga visceral dengan cairan, (2) ulserasi, dimana nampak lesi pada kulit dan otot, dan (3) septikemia hemoragik bakterial umum (Kabata, 1985).

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), ikan yang terinfeksi oleh *A. hydrophila* menunjukkan tingkah laku abnormal, kemampuan berenang akan menurun, ikan mengalami kesulitan bernapas, sering terlihat di permukaan atau tetap tinggal lemah dekat dasar kolam. Dikemukakan pula oleh Kabata (1985) dan Roberts (1989), bahwa tubuh ikan yang terinfeksi berubah warna menjadi agak gelap dengan hemoragi tidak teratur pada permukaan tubuh, terlihat adanya asites serta sirip ikan mengalami kerusakan.

Pemberian bakterin untuk pencegahan penyakit ikan yang disebabkan oleh *A. hydrophila* sudah dikembangkan dan diuji di laboratorium (Anderson *et al.*, 1982). Menurut Roberts (1989), bila antigen pertama kali masuk ke dalam tubuh ikan, maka seminggu setelah pemaparan tersebut sel-sel produksi antibodi (*antibody-producing cells*) terlihat di ginjal dan limpa. Jumlah sel-sel tersebut akan meningkat secara eksponensial dan berkurang setelah mencapai puncaknya dan antibo-

di serum biasanya muncul sekitar 10-15 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi akan meningkat secara eksponensial untuk mencapai plateau dalam waktu 20 - 30 hari dan kemudian menurun secara cepat atau lambat, tergantung pada tipe antigen dan spesies ikan.

Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen mempunyai susunan asam amino yang berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain, dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan (Kresno, 1996). Dikemukakan pula oleh Kresno (1996) bahwa antibodi yang disekresikan oleh sel plasma dapat berfungsi sebagai adaptor yang mengikat antigen melalui *bindingsites*-nya yang spesifik dan sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel sistem imun atau mengaktifasi komplemen.

Menurut Kresno (1996), saat antara pemaparan antigen dan munculnya Ig M disebut *lag phase*. Dibanding dengan mamalia, *lag phase* pada ikan lebih lama, tetapi kadar antibodi dapat dipertahankan lebih lama (Roberts, 1989).

Bila pemaparan antigen terjadi kedua kalinya, terjadi respon imun sekunder dengan *lag phase* yang pendek dan kadar antibodi yang lebih tinggi dibanding pada respon primer. Pada respon primer, antibodi yang dihasilkan adalah Ig M, sedangkan antibodi yang dihasilkan pada respon sekunder adalah Ig M dengan berat molekul yang lebih rendah dibanding

Ig M pada respon primer. Disamping itu afinitas antibodi pada respon sekunder lebih tinggi dibanding antibodi pada respon primer (Roberts, 1989).

Pembentukan antibodi tersebut tidak berlangsung tanpa batas, namun terdapat mekanisme yang mengontrol atau mengendalikan respon imun. Beberapa mekanisme yang mengontrol respon imun yang terdapat pada mamalia, juga ditemukan pada ikan, yaitu adanya sel T supresor atau regulasi oleh antibodi. Regulasi oleh antibodi terbukti terdapat pada ikan, yaitu disebabkan oleh antibodi itu sendiri yang dapat memberikan umpan balik negatif (*antibody feed-back inhibition*) (Roberts, 1989). Sedangkan limfosit T supresor muncul sebagai mekanisme umpan balik negatif dalam rangka homeostatik untuk mengimbangi adanya aktivasi limfosit T helper (Subowo, 1993 ; Kennedy dan Stoskopf, 1993).

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kinetis dari respon imun humoral spesifik baik primer maupun sekunder pada ikan mas setelah dilakukan vaksinasi serta *booster* dengan bakterin *A. hydrophila*. Disamping itu untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan titer antibodi serum pada respon sekunder minggu pertama setelah *booster* dengan titer antibodi serum pada respon primer minggu kelima, kesembilan, dan ketiga belas setelah vaksinasi yang pertama pada kelompok ikan tanpa *booster*, serta untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan titer antibodi serum saat titer antibodi tersebut mencapai puncaknya pada respon sekunder dengan titer antibodi serum pada respon primer.

III.2 Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya bidang imunologi ikan. Diharapkan pula dari pengkajian tersebut, dapat memberikan gambaran apakah *booster* vaksinasi *Aeromonas* perlu dilakukan atau tidak, sehingga dalam upaya pengendalian penyakit *A. hydrophila* pada ikan dalam suatu sistem budidaya dapat dilakukan secara optimal.

IV. METODE PENELITIAN

IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian ini berlangsung mulai bulan Mei 2001 sampai dengan bulan September 2001.

IV.2 Tahap Persiapan

Pada tahap persiapan, dilakukan aklimatisasi ikan mas sebagai ikan uji yang berasal dari Blitar selama seminggu. Ikan mas dengan ukuran 6-8 cm tersebut dipelihara dalam bak plastik oval dan setiap bak berisi 30 ekor.

Vaksin inaktif yang akan digunakan untuk vaksinasi ikan mas adalah bakterin *A. hydrophila*. Untuk membuat bakterin *A. hydrophila*, dilakukan pemanasan pada suhu 80° C selama satu jam (Ali *et al.*, 1997) terhadap sejumlah sel bakteri yang sudah tertentu jumlahnya. Hasil inaktivasi diuji dengan membiakkan bakterin *A. hydrophila* pada Nutrient Agar dan bila tidak terdapat koloni yang tumbuh, maka suspensi bakterin tersebut mengandung bakteri *A. hydrophila* yang sudah mati.

IV.3 Tahap Penelitian

IV.3.1 Vaksinasi

Vaksinasi ikan mas dengan bakterin *A. hydrophila*

dilakukan dengan metode perendaman selama satu jam dengan dosis 10^8 sel/ml. Sedangkan vaksinasi ulang (*booster*) dilakukan pada minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas setelah vaksinasi yang pertama dengan dosis dan metode yang sama.

IV.3.2 Pengambilan Serum dan Pengukuran Titer Antibodi

Pengambilan serum dilakukan pada kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) dan kelompok ikan yang divaksin (tanpa *booster*) setiap minggu selama tujuh belas minggu. Sedangkan pada kelompok *booster* dilakukan pengambilan serum mulai minggu pertama sampai minggu kelima setelah pelaksanaan *booster* vaksinasi. Serum tersebut diukur titer antibodinya dengan uji aglutinasi secara mikro. Serum darah diencerkan serial dengan NaCl 0,85% pada mikroplate U (*round bottom*) dan selanjutnya ditambah larutan antigen *A. hydrophila* dengan volume yang sama dan diinkubasi. Titer antibodi serum adalah pengenceran tertinggi dari antiserum yang masih terlihat jelas adanya aglutinasi dikalikan dengan besarnya pengenceran.

IV.4 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari : kontrol (tanpa

vaksinasi), kelompok ikan yang divaksin tanpa *booster*, kelompok ikan yang dilakukan *booster* pada minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas. Setiap perlakuan mendapat replikasi sebanyak lima.

Data titer antibodi serum setiap minggu dari semua kelompok perlakuan, selanjutnya dibuat grafik untuk mengetahui pola perkembangan atau kinetis dari respon imun humoral spesifik primer dan sekunder. Selanjutnya dilakukan pengujian statistik menggunakan uji T *independent* (Steel dan Torrie, 1991) terhadap data titer antibodi serum pada respon sekunder minggu pertama dan saat titer antibodi mencapai puncaknya dengan titer antibodi serum pada respon primer.

V HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil Penelitian

Seminggu setelah masa adaptasi, dilakukan vaksinasi dengan metode perendaman dan pelaksanaan *booster* dilakukan pada minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas. Rata-rata titer antibodi serum terhadap *A. hydrophila* setiap minggu selama tujuh belas minggu tercantum pada Tabel 1 dan kinetis dari respon primer dan sekunder terlihat pada Gambar 1.

Pada Tabel 1 terlihat rata-rata titer antibodi serum tertinggi pada kelompok ikan tanpa perlakuan *booster* terjadi pada minggu kesembilan setelah vaksinasi sebesar $(\log 2) 15,5$. Sedangkan pada kelompok ikan yang mendapat perlakuan *booster* pada minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas, terlihat titer antibodi serum mencapai puncaknya pada minggu keempat setelah *booster* dan pada minggu kelima mulai terjadi penurunan, masing-masing sebesar $(\log 2) 17, 19,6, \text{ dan } 20,5$.

Pada Gambar 1 terlihat kinetis dari respon primer, dimana mulai dari minggu pertama setelah vaksinasi pada kelompok ikan tanpa *booster* sampai pada minggu kelima terjadi peningkatan titer antibodi serum. Selanjutnya terjadi penurunan titer antibodi serum hingga minggu kedelapan dan pada minggu kesembilan terjadi peningkatan titer antibodi serum dengan titer antibodi yang lebih tinggi dibanding pada minggu kelima. Fluktuasi respon primer terlihat pada minggu

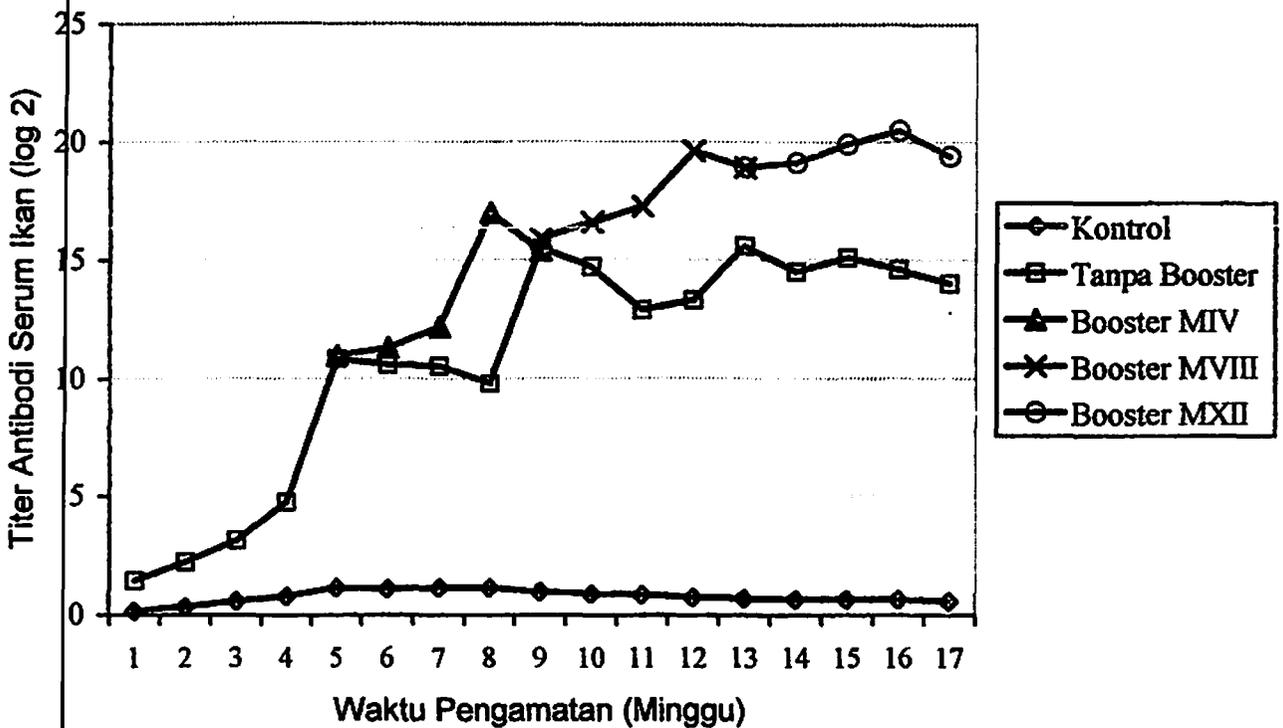


kesepeuluh hingga minggu ketujuh belas setelah perlakuan vaksinasi pertama dengan bakterin *A. hydrophila*.

Tabel 1. Rata-Rata Titer Antibodi Serum (Log 2) Aglutinin Anti - *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Kelompok Kontrol, Kelompok Tanpa *Booster*, dan Kelompok *Booster*

Trial Waktu	Kontrol	Tanpa <i>Booster</i>	<i>Booster</i> Mg-4	<i>Booster</i> Mg-8	<i>Booster</i> Mg-12
Minggu1	0,15	1,45	-	-	-
Minggu2	0,35	2,25	-	-	-
Minggu3	0,60	3,15	-	-	-
Minggu4	0,80	4,75	-	-	-
Minggu5	1,15	10,85 ^b	11,00 ^a	-	-
Minggu6	1,10	10,60	11,30	-	-
Minggu7	1,15	10,55	12,20	-	-
Minggu8	1,15	9,80 ^b	17,00 ^a	-	-
Minggu9	1,00	15,50 ^a	15,40	15,40 ^a	-
Minggu10	0,90	14,70	-	16,60	-
Minggu11	0,85	12,90	-	17,25	-
Minggu12	0,75	13,30 ^b	-	19,60 ^a	-
Minggu13	0,70	15,60 ^b	-	18,90	18,90 ^a
Minggu14	0,65	14,50	-	-	19,10
Minggu15	0,65	14,50	-	-	19,90
Minggu16	0,65	15,10 ^b	-	-	20,50 ^a
Minggu17	0,60	14,00	-	-	19,40

^a ^b superskrip berbeda pada baris sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$); tanpa superskrip, tidak dilakukan analisis statistik; - : tidak dilakukan pengujian.



Gambar 1. Kinetis respon primer dan sekunder serum aglutinin anti - *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas.

Bila diperhatikan lebih lanjut pada Gambar 1, terlihat bahwa rata-rata titer antibodi serum pada minggu pertama setelah perlakuan *booster* pada minggu kedua belas ($\log_2 18,9$) lebih tinggi dibanding rata-rata titer antibodi serum pada minggu ketiga belas pada kelompok ikan tanpa *booster* ($\log_2 15,6$). Hal ini juga terbukti melalui uji T *independent* yang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara minggu pertama pada respon sekunder setelah *booster* minggu kedua belas dengan minggu ketiga belas pada respon primer dari kelompok ikan tanpa *booster* (Lampiran 3).

Berbeda halnya dengan hasil uji T *independent* terhadap titer antibodi serum minggu pertama pada respon sekunder dari kelompok ikan yang mendapat *booster* minggu keempat dengan titer antibodi serum minggu kelima pada respon primer dari kelompok ikan tanpa *booster* yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$). Hasil yang sama juga terdapat pada titer antibodi serum minggu pertama respon sekunder dari kelompok ikan yang mendapat *booster* minggu kedelapan dengan titer antibodi serum minggu kesembilan pada respon primer dari kelompok ikan tanpa *booster*. Hasil uji T *independent* tersebut dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

Perbedaan nyata ($p < 0.05$) terbukti pada pengujian terhadap titer antibodi serum tertinggi hasil dari respon sekunder yang terjadi pada minggu keempat setelah *booster* dari kelompok ikan yang mendapat *booster* minggu keempat, kedelapan, dan kedua belas dengan titer antibodi serum hasil dari respon primer, masing-masing pada minggu kedelapan, kedua belas, dan keenam belas (Lampiran 1, 2, dan 3). Hal ini juga diperjelas melalui Gambar 1, dimana titik yang menggambarkan titer antibodi serum baik pada respon primer maupun sekunder minggu kedelapan, kedua belas, dan keenam belas tidak berhimpitan.

V.2 Pembahasan

Kemampuan ikan mas membentuk antibodi spesifik terhadap *A. hydrophila* pada ikan mas selama tujuh belas minggu pengamatan terpapar pada Gambar 1 yang menggambarkan kinetik respon primer pada kelompok tanpa *booster* dan respon sekunder pada kelompok *booster*.

Pada Gambar 1 terlihat bahwa pada minggu pertama sudah terdapat titer antibodi serum. Menurut Subowo (1993) dan Herscowitz (1993), segera setelah pemaparan antigen merupakan periode laten atau induksi, karena belum dapat ditunjukkan adanya antibodi. Berdasarkan hal ini, maka dapat diperkirakan bahwa periode induksi yang terjadi pada ikan mas setelah terpapar oleh bakterin *A. hydrophila* berlangsung kurang dari seminggu. Berbeda dengan hasil penelitian Areechon dan Karoon (1995), dimana periode induksi pada *catfish* berlangsung lebih dari seminggu setelah diinjeksi intraperitoneal dengan vaksin *A. hydrophila* yang dinaktifkan dengan formalin. Menurut Herscowitz (1993), lamanya periode induksi, saat berlangsungnya perubahan-perubahan seluler tersebut bervariasi, tergantung pada spesies hewan dan rute imunisasi.

Setelah berakhirnya periode induksi, akan diikuti dengan periode biosintesis yang dibedakan dalam 3 fase, yaitu : fase logaritmik, fase datar dan fase penurunan (Subowo, 1993 dan Herscowitz, 1993). Pada kelompok ikan

tanpa *booster* terlihat adanya fase logaritmik yang terjadi mulai minggu pertama hingga minggu kelima. fase penurunan terjadi mulai minggu kelima hingga minggu kedelapan, kemudian terjadi peningkatan titer antibodi serum, dan selanjutnya titer antibodi serum tersebut berfluktuasi, seperti yang tampak pada Gambar 1. Hal yang sama terjadi pada penelitian Lamers dan Pilarczyk (1982), dimana terjadi penurunan titer antibodi yang drastis mulai hari ke-34 hingga hari ke-42 dan kemudian terjadi peningkatan titer antibodi serum pada ikan mas yang diinkubasi dengan larutan antigen O *Yersinia ruckeri* 15 mg/l.

Titer antibodi serum pada kelompok ikan tanpa *booster* masih tinggi hingga pengamatan pada minggu ke-17. Lamers dan Van Muiswinkel dalam Stevenson (1988) menemukan bahwa vaksin *Aeromonas* yang berasal dari bakteri yang dipanaskan dan bakteri yang dihancurkan dapat menginduksi titer antibodi yang tinggi selama lebih dari delapan bulan dibanding vaksin yang berasal dari bakteri yang diinaktivasi dengan formalin. Diduga, hal ini dipengaruhi oleh kompleks lipopolisakarida (LPS) yang terdapat pada dinding sel bakteri *A. hydrophila* yang merupakan bakteri golongan Gram negatif. Menurut Tizard (1982), lipopolisakarida dapat merangsang produksi antibodi dengan pemunculan lebih awal dan lebih tinggi dan lebih lama tingkat antibodi pada tanggap pertama serta dapat merangsang pelepasan antibodi dari sel plasma.

Disamping itu, lipopolisakarida mempunyai efek mitogen terhadap sel B (Stoskopf, 1993), dalam arti mempunyai kemampuan merangsang sel B untuk proliferasi dan diferensiasi.

Hasil pengamatan terhadap titer antibodi serum pada kelompok ikan yang mengalami *booster* pada minggu keempat, kedelapan, dan keduabelas, terlihat antibodi serum yang terbentuk mempunyai titer yang lebih tinggi dan mencapai puncaknya pada minggu keempat setelah dilakukan *booster* dibanding kelompok ikan yang tidak mendapat *booster*. Sedangkan hasil penelitian Vinitnantharat dan Plumb (1992) yang menggunakan jenis ikan dan antigen yang berbeda ternyata memberikan hasil yang berbeda, dimana titer antibodi serum pada *Channel Catfish* mencapai puncaknya dua minggu setelah dilakukan *booster* pada minggu keenam dengan bakteri *Edwardsiella ictaluri* yang dilemahkan dengan formalin 1 %.

Pada hasil penelitian ini, dimana titer antibodi serum pada respon sekunder yang lebih tinggi dibanding titer antibodi serum pada respon primer, karena diduga sel-sel memori yang terbentuk akibat respon primer menjadi teraktivasi akibat pemaparan antigen bakterin *A. hydrophila*. Dugaan ini ditunjang oleh pendapat Kresno (1996) yang menyatakan respon imun sekunder pada umumnya timbul lebih cepat dan lebih kuat dibanding respon primer, karena adanya sel T dan B memori serta antibodi yang tersisa. Antigen dapat dikenali oleh sel B spesifik secara lebih efisien dan dalam

hal ini sel B bertindak sebagai APC (*Antigen Presenting Cells*). Karena jumlah sel T dan B spesifik juga lebih banyak, kemungkinan untuk berinteraksi dengan antigen lebih besar, sehingga titer antibodi juga cepat meningkat.

VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Kinetis dari respon primer, terlihat ada peningkatan titer antibodi serum aglutinin anti *Aeromonas hydrophila* hingga minggu kesembilan dan selanjutnya berfluktuasi mulai minggu kesepuluh hingga ketujuh belas. Kinetis respon sekunder, terlihat ada peningkatan titer antibodi serum sampai minggu keempat setelah perlakuan *booster* dan minggu kelima terjadi penurunan titer antibodi.
2. Hanya kelompok ikan mas yang mendapat *booster* pada minggu kedua belas yang mempunyai perbedaan titer antibodi serum yang nyata pada respon sekunder minggu pertama setelah *booster* dengan titer antibodi serum minggu ketiga belas pada respon primer dari kelompok ikan mas yang tidak mendapat *booster*.
3. Terdapat perbedaan yang nyata pada saat titer antibodi serum mencapai puncaknya, yaitu minggu keempat setelah *booster* pada respon sekunder dengan titer antibodi serum pada respon primer.

6.2 Saran

Pemberian *booster* vaksinasi tidak perlu dilakukan pada ikan mas yang dibudidayakan hingga ukuran konsumsi, karena antibodi serum yang terbentuk masih tinggi hingga empat bulan setelah vaksinasi. Sebaliknya bila tujuan dari pembersaran ikan mas untuk stok induk, sebaiknya dilakukan *booster* pada minggu kedua belas atau tiga bulan setelah vaksinasi *A. hydrophila* yang pertama, sehingga diharapkan benih ikan mas mempunyai antibodi maternal terhadap *A. hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto E. dan E Liviawaty. 1992. Pengendalian hama dan penyakit ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. hal : 56-59.
- Ali A., I. Karunasagar, and I. Karunasagar. 1997. Effect of oxytetracycline on the immune response of *Labeo rohita* to *A. hydrophila* vaccine. In (Flegel TW, Mac Rae IH. eds.) Diseases in Asian Aquaculture III. Bangkok. pp : 187-190.
- Anderson DP., BS. Roberson, and OW. Dixon. 1982. Immunosuppression induced by a corticosteroid or an alkylating agent in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) administered a *Yersinia ruckeri* bacterin. Dev. and Comp. Immunology. Suppl. 2. pp : 197-204.
- Aruechon N. and B. Karoon. 1995. Comparative studies on resistance and immunological response of a hybrid catfish and the parent species to *Aeromonas hydrophila*. In (Shariff M., JR. Arthur, RP Subasinghe. eds.). Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. 451-457.
- Austin B. and DA. Austin. 1987. Bacterial Fish Pathogens : Disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood Limited. England. Chichester. pp : 171-177.
- Herscowitz HB. 1993. Imunofisiologi : Fungsi sel dan interaksi seluler dalam pembentukan antibodi. In (Bellanti JA. ed.). Imunologi. 3rd edition. Gajah Mada Univ. Press. Yogyakarta. hal : 126-170.
- Kabata Z. 1985. Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. Taylor and Francis Ltd. London. pp : 99-101.
- Kennedy Z. and MK. Stoskopf. 1993. Immunology. In (Stoskopf MK., TH. Phelps, BA. Bauer. eds.). Fish Medicine. WB Saunders Comp. Philadelphia. London. Toronto. Montreal. Sydney. Tokyo. pp : 149-158.
- Kresno SB. 1996. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Fak. Kedokt. UI. Jakarta. hal : 65-77.
- Lamers CHJ and A. Pilarczyk. 1982. Immune response and antigen localization in carp (*Cyprinus carpio* L.) after administration of *Yersinia ruckeri* O-antigen. Dev. and

Comp. Immunol. Suppl. 2 : 107-113.

- Laners CHJ., MJH. de Haas and WB van Muiswinkel. 1985. The reaction of the immune system of fish to vaccination, development of immunological memory in carp, *Cyprinus carpio* L., following direct immersion in *A. hydrophila* bacterin. J. Fish Diseases 8 : 253-263.
- Roberts RJ. 1989. Fish Pathology. 2nd edition. Bailliere Tindall. London. pp : 135-152 , 306-307.
- Steel RGD. and JH. Torrie. 1991. Prinsip dan prosedur statistika (Suatu pendekatan biometrik). PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Stevenson RMW. 1988. Vaccination against *Aeromonas hydrophila*. In (Ellis AE ed.) Fish Vaccination. Academic Press. San Diego. pp : 112-121.
- Stoskopf MK. 1993. Bacterial diseases of goldfish, koi, and carp. In (Stoskopf MK, TH Phelps, BA Bauer. eds.) Fish Medicine. WB Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. pp : 473-475.
- Subowo. 1993. Immunobiologi. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Tajima K., K. Ezura, T. Kimura and JL. Torres. 1992. Serological relationships of motile *Aeromonas* spp. among Japanese, Malaysian and Philippine isolates. In (Shariff M, RP Subasinghe, JR Arthur. eds.) Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section Asian Fisheries Society. Manila. pp : 437-448.
- Tizard I. 1982. Pengantar Immunologi Veteriner (Terjemahan). Airlangga Univ. Press. Surabaya.
- Ward PD. 1982. The development of bacterial vaccines for fish. (Roberts RJ. ed). Microbial diseases of fish. Academic Press. London. pp 47-58.
- Wasito. 1995. Penyakit ikan air tawar dan cara penanggulangannya. Primadona ed. April. Laksmi Studio. Jakarta. hal : 14-17.
- Vinithantharat S. and JA. Plumb. 1992. Kinetics of the immune response of channel catfish to *Edwardsiella ictaluri*. Jpurnal of Aquatic Animal Health 4 : 207-214.



L A M P I R A N

Lampiran 1. Uji T *Independent* terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Kelima dan Minggu Kedelapan dari Kelompok tanpa *Booster* dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok *Booster* Minggu Keempat

Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M5 Tanpa Booster	5	10.8500	.1369	6.124E-02
	M1 Booster-MIV	5	11.0000	.0000	.0000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
		Titer Antibodi	Equal variances assumed	96.000	.000	-2.449	8	.040
	Equal variances not assumed			-2.449	4.000	.070	-.1500	6.124E-02

Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M4 Booster-MIV	5	17.0000	.6847	.3062
	M8 Tanpa Booster	5	9.8000	.2092	9.354E-02

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
		Titer Antibodi	Equal variances assumed	3.440	.101	22.489	8	.000
	Equal variances not assumed			22.489	4.740	.000	7.2000	.3202

Lampiran 2. Uji T *Independent* terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Kesembilan dan Minggu Keduabelas dari Kelompok tanpa *Booster* dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok *Booster* Minggu Kedelapan

T-Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M9 Tanpa Booster	5	15.5000	.3536	.1581
	M1 Booster-MVIII	5	15.9000	.2236	.1000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Titer Antibodi	Equal variances assumed	.086	.777	-2.138	8	.065	-.4000	.1871
	Equal variances not assumed			-2.138	6.759	.071	-.4000	.1871

T-Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M4 Booster MVIII	5	19.6000	.6519	.2915
	M12 Tanpa Booster	5	13.3000	.4472	.2000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Titer Antibodi	Equal variances assumed	1.024	.341	17.819	8	.000	6.3000	.3536
	Equal variances not assumed			17.819	7.082	.000	6.3000	.3536

Lampiran 3. Uji T *Independent* terhadap Titer Antibodi Serum pada Minggu Ketigabelas dan Minggu Keenambelas dari Kelompok tanpa *Booster* dengan Minggu Pertama dan Minggu Keempat dari Kelompok *Booster* Minggu Keduabelas

T-Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M13 Booster Tanpa	5	15.6000	.5477	.2449
	M1 Booster-MXII	5	18.9000	.5477	.2449

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Titer Antibodi	Equal variances assumed	.480	.508	-9.526	8	.000	-3.3000	.3464
	Equal variances not assumed			-9.526	8.000	.000	-3.3000	.3464

T-Test

Group Statistics

	Trial	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Titer Antibodi	M16 Tanpa Booster	5	14.6000	.5477	.2449
	M4 Booster-MXII	5	20.5000	.5000	.2236

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Titer Antibodi	Equal variances assumed	.516	.493	-17.789	8	.000	-5.9000	.3317
	Equal variances not assumed			-17.789	7.934	.000	-5.9000	.3317

15.7 JUL 2008

PAIMERAN

