

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI HORMON PMSG DAN HCG
TERHADAP SUPEROVULASI DAN JUMLAH ANAK SERTA
RESPON IMUN MENCIT YANG DIIMUNISASI**

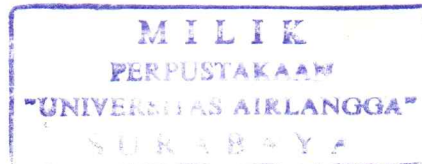
KRB
KR
571.972
Rah
P-1



3000184973141 -1

Ketua Peneliti :

Drh. Jola Rahmahani



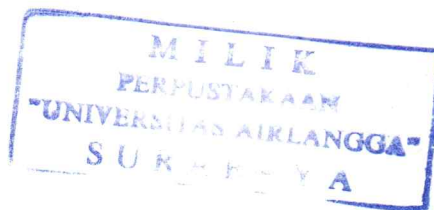
LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan
DIP Nomor : 292/XXIII/3/--/1996 Tanggal 30 Maret 1996
Kontrak Nomor : 047/P2 IPT/DPPM/LITMUD/V/1996
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud
Nomor Urut : 09

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI
HORMON PMSG DAN HCG TERHADAP
SUPEROVULASI DAN JUMLAH ANAK
SERTA RESPON IMUN MENCIT
YANG DIIMUNISASI

Tim Peneliti :
Drh. Jola Rahmahani
Drh. Suwarno
DR. Ismudiono, M.S., Drh.

3000184973141



Sumber dana dari : DP3M-BBI 1996/1997
Kontrak No. 047/P2IPT/DPPM/LITMUD/V/1996
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud
tanggal : 06 Mei 1996



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
 IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

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

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 42322 Fax. (031) 42322 Surabaya 50286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : **PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI HORMON FMSG DAN HCG TERHADAP SUPEROVULASI DAN JUMLAH ANAK SERTA RESPON IMUN MENCIT YANG DIIMUNISASI**
- b. Macam Penelitian : Fundamental, Terapan, Pengembangan
- c. Kategori Penelitian : I II III
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : **Jola Rahmahani, drh.**
- b. Jenis Kelamin : **Perempuan**
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : **Penata Muda Tk. I/ IIIb / 131576468**
- d. Jabatan Sekarang : **Asisten Ahli**
- e. Fakultas / Jurusan : **Kedokteran Hewan**
- f. Univ./Inst./Akademi : **Universitas Airlangga**
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : **Imunologi Reproduksi**
3. Jumlah Tim Peneliti : **3** orang
4. Lokasi Penelitian : **Fak. Kedokteran Hewan - Unair**
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : **-**
- b. Alamat : **-**
6. Jangka Waktu Penelitian : **6** bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : **Rp 5.000.000,-**
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : **15 Januari 1997**
- b. Hasil Penilaian : Amat Baik Baik
 Sedang Kurang

Surabaya, 15 Februari 1997

Mengetahui :
 Dekan Fakultas

DR. Ismudiono, MS., drh.
 NIP. 130687297

Kepala Proyek Penelitian,
Jola Rahmahani, drh.
 NIP. 131576468

Mengetahui :
 Ketua Lembaga Penelitian,

RINGKASAN

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI HORMON PMSG DAN HCG TERHADAP SUPEROVULASI DAN JUMLAH ANAK, SERTA RESPON IMUN MENCIT YANG DIIMUNISASI (Jola Rahmahani, Suwarno dan Ismudiono. 1996; 42 halaman)

Peningkatan kadar estrogen dan progesteron dalam darah dapat menekan proses pembentukan antibodi. Kombinasi PMSG dan hCG menyebabkan superovulasi pada mencit betina. Dengan demikian diasumsikan bahwa pemberian PMSG dan hCG (superovulasi berakibat pada peningkatan estrogen dan progesteron) secara tidak langsung akan menekan respon imun. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui imunitas humoral mencit betina akibat pemberian PMSG, hCG atau kombinasi keduanya sebelum masa kawain dapat menimbulkan supresifitas pada imunitas humoral mencit betina.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap I menggunakan 40 ekor mencit betina balb/c umur 8 minggu, yang dibagi dalam 4 kelompok. Kelompok 1 diberi PMSG (20 IU/ekor/IM); Kelompok 2 diberi hCG (20 IU/ekor/IM); Kelompok 3 diberi kombinasi PMSG dan hCG (masing-masing (20 IU/ekor/IM) dengan selang waktu 4 hari; dan Kelompok 4 diberi 1 ml NaCl/ekor/IM (kontrol). Semua kelompok diimunisasi dengan virus Gumboro (15 µg/0,5 ml/IM) pada 1 hari sebelum dan 7 hari setelah pemberian hormon. Sampel darah diambil pada 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah pemberian hormon. Tahap II menggunakan 80 ekor mencit betina balb/c umur 10 minggu dan 4 ekor mencit jantan sebagai pemacek, yang dibagi dalam 4 kelompok. Kelompok 1, 2, dan 3 diberi kombinasi PMSG dengan dosis masing-masing 20, 40 dan 60 IU dan hCG 60 IU/ekor/IM dengan selang waktu 4 hari. Imunisasi virus Gumboro yang pertama dilakukan bersamaan dengan pemberian PMSG dan imunisasi kedua dilakukan bersamaan dengan pemberian hCG. Parameter yang diamati adalah titer antibodi, jumlah folikel dan jumlah anak. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji Fisher yang dilanjutkan dengan uji t (Scjeffe).

Hasil penelitian Tahap I dan II menunjukkan tidak adanya immunosupresif, justru menimbulkan immunostimulan. Pada tahap I, tidak ada perbedaan titer antibodi pada minggu (p > 0,05) ke 1 dan 2 antara ketiga kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Sedang pada minggu ke 3, titer antibodi pada ke 3 kelompok perlakuan lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol (p < 0,05). Pada tahap II, titer antibodi yang dihasilkan oleh ketiga kelompok perlakuan lebih tinggi (p < 0,05) dibandingkan kelompok kontrol. Jumlah folikel pada ketiga kelompok perlakuan lebih banyak (p < 0,05) bila dibandingkan kelompok kontrol, tetapi tidak ada perbedaan jumlah folikel pada masing-masing kelompok perlakuan (p > 0,05). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dosis

PMSG dan hCG yang dipakai masih belum cukup untuk menimbulkan efek immunosupresif tetapi justru sebagai imunostimulan.

Disarankan perlu dilakukan pemantauan kadar hormon estrogen atau progesteron untuk menjelaskan peranannya sebagai immunosupresif. Perlu dilakukan pula penelitian tentang dosis minimal dari kombinasi PMSG dan hCG yang mampu menimbulkan immunosupresif terhadap respon imun humoral.

(L.P. Fakultas Kedokteran Hewan, Unair; Kontrak No. 047/P2IPT/DPPM/LITMUD/V/96, 06 Mei 1996)

SUMMARY

THE INFLUENCE OF PMSG AND HCG HORMONES ON SUPEROVULATION, REPRODUCTIVE ABILITY AND IMMUNE RESPONSE OF IMMUNIZED MICE (Jola Rahmahani, Suwarno and Ismudiono. 1996; 42 pages).

High level of estrogen and progesteron reported to suppress the formation of antibody. Therefore it is assumed that increasing concentration of steroids due to superovulation will indirectly suppress the immune response. The aims of this study was to know the effect of PMSG, hCG and PMSG + hCG against humoral immunity of female mice.

This study divided into 2 parts. In Part I, 40 female mice were assigned into 4 groups. Group 1, injected with PMSG (20IU/tail/IM); Group 2 injected with hCG (20IU/tail/IM); Group 3 injected with PMSG + hCG (20IU/tail/IM) 4 days interval; and Group 4 (control) injected with 1 ml NaCl. All mice immunized against Gumboro 1 day before and 7 days after hormonal treatment. Blood was sampled 1, 2, 3 and 4 weeks after hormonal treatment. In Part II, 80 female mice, 10 weeks old and 4 males were divided into 4 groups. Group 1, 2, and 3 were injected with 20, 40, and 60 IU PMSG then 60 IU hCG 4 days later. The first immunization against Gumboro was given at the same time as PMSG injection, and the second immunization was given at the same time as hCG injection. The parameters measured were antibody titre, number of follicles and litter size. The data were analyzed using Fisher test and Student t test.

The result of Part I showed that there was no difference in antibody titre during week 1 and 2 between the treatment groups and the control group. In week 3, the titre in 3 the treatment groups was higher than in the control group ($p < 0,05$). In Part II, the titre was also higher in the treatment group than in the control group ($p < 0,05$), but there was no difference between the 3 treatment groups. The number of follicles was higher in the treatment groups than in the control group ($p < 0,05$), but there was no difference between the 3 treatment groups. The litter size was highest in group 3 ($p < 0,05$).

In conclusions, the doses of PMSG and hCG used in this experiment did not cause immunosuppression. For further research, the measurement of steroid levels is needed to elucidate the role of steroids as immunosuppressant and the correct dose of PMSG to induce high level of steroids need to be determined.

(Research Institute Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Contract Number 047/P2IPT/DPPM/LITMUD/V/96, 06 Mei 1996).

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke Hadirat Allah S.W.T. atas Rahmat - Nya, sehingga penelitian yang berjudul *"Pengaruh Pemberian Kombinasi Hormon PMSG dan HCG Terhadap Superovulasi dan Jumlah Anak, serta Respon Imun Mencit yang di Imunisasi"* dapat berjalan dengan baik atas kerja sama dan bantuan dari beberapa pihak.

Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Noor Cholies Zaini selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah memberikan dana untuk terselenggaranya penelitian ini.
2. Prof. dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo sebagai Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr.drh. H. Rochiman Sasmita, M.S. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah menyetujui untuk dilaksanakannya penelitian ini.
3. Kepala Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair yang telah membberi ijin penggunaan laboratorium sebagai tempat penyelenggaraan penelitian.
4. Semua pihak yang telah membantu hingga terlaksananya penelitian ini.

Semoga hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat memberikan manfaat yang positif bagi masyarakat dalam usaha pengembangan dan peningkatan ilmu pengetahuan pada umumnya.

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

Surabaya, Desember 1996
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Penelitian	1
Rumusan Masalah	3
Hipotesis	3
TINJAUAN PUSTAKA	5
Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG)	5
Human Chorionic Gonadotropin (hCG)	6
Hormon Reproduksi dan Imunitas	7
Siklus Birahi Mencit dan Tikus	9
TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
METODE PENELITIAN	12
Lokasi dan Waktu Penelitian	12
Bahan Penelitian	12
Peralatan Penelitian	13
Prosedur Penelitian	15
Analisis Data	17
HASIL DAN PEMBAHASAN	19
Penelitian Tahap Pertama	19
Penelitian Tahap Kedua	23
KESIMPULAN DAN SARAN	29
Kesimpulan	29
Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, hCG atau Kombinasi PMSG dan hCG	19
2. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, hCG atau Kombinasi PMSG dan hCG Pada Minggu ke 1, 2 dan 3	21
3. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG dengan Dosis Berbeda dan hCG Dosis 60 IU pada Minggu ke 1, 2 dan 3	24
4. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Folikel ...	25
6. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Anak	26

PENDAHULUAN

Latar Belakang Penelitian

Berbagai teknik untuk menggertak timbulnya superovulasi dalam menunjang keberhasilan program embrio transfer telah banyak dilakukan. Salah satu teknik yang hingga kini banyak digunakan adalah penggunaan kombinasi antara dua macam hormon reproduksi, yaitu hormon PMSG (*pregnant mare serum gonadotropin*) dan hCG (*human chorionic gonadotropin*).

Seperti diketahui, PMSG mempunyai daya kerja untuk merangsang terbentuknya folikel ovarium dan meningkatkan kadar estrogen darah (Mc Donald, 1977). Efek ini identik dengan fungsi hormon FSH (*follicle stimulating hormone*), sehingga di lapangan PMSG dapat menggantikan peran FSH. Selain itu, hormon ini juga mempunyai kemampuan untuk menginduksi ovulasi dan luteinisasi sel-sel granulosa sehubungan dengan fungsinya yang sedikit sama dengan fungsi hormon LH (*lutinizing hormone*) (Amstrong *et al.*, 1982).

Di sisi lain, hCG banyak digunakan secara komersial untuk menggantikan peran LH. Hal ini dilakukan mengingat aktivitas hormon hCG sama dengan LH. Hormon hCG dapat menyebabkan perkembangan dan pematangan folikel, serta merangsang sel granulosa dan sel teka dari folikel masak untuk mempro-



duksi hormon estrogen (Hardjopranjoto, 1987). Selain itu, ternyata hCG juga mempunyai sifat yang dimiliki oleh hormon FSH (Cole dan Cupps, 1977).

Kombinasi kedua hormon gonadotropin tersebut umumnya diberikan dengan interval waktu 4 hari. Penyuntikan hCG dilakukan 4 hari kemudian setelah penyuntikan PMSG. Di lapangan, terbukti bahwa kombinasi kedua hormon ini dapat menimbulkan superovulasi. Widjiati dkk. (1993) dengan menggunakan kombinasi PMSG dan hCG masing-masing dosis 75 IU, telah berhasil meningkatkan jumlah korpus luteum dan sisa folikel kelinci. Sedangkan Hadi (1993) berhasil meningkatkan berat telur, berat tetas dan daya tetas telur ayam buras setelah pemberian kombinasi hormon PMSG dan hCG masing-masing dengan dosis 20 dan 30 IU pada induknya. Namun sejauh ini laporan mengenai efek immunosupresifitas yang dapat ditimbulkan oleh hormon gonadotropin belum pernah dilaporkan.

Menurut Tizard (1987), hewan pengerat seperti mencit dan tikus lebih sensitif terhadap efek yang ditimbulkan oleh senyawa kortikosteroid (estrogen, progesteron dan testosteron) daripada ternak domestik. Seperti diketahui, beberapa hormon steroid dan gonadotropin mempunyai sifat sebagai immunosupresif, sehingga dapat menekan terbentuknya antibodi (Subowo, 1993). Dengan demikian ada asumsi, bahwa pemberian

kombinasi hormon PMSG dan hCG dapat secara langsung menekan respon imun yang ditimbulkan. Atau secara tidak langsung dengan adanya peningkatan kadar estrogen dan progesteron dalam tubuh akibat pemberian hormon PMSG dan hCG akan berdampak pula pada penekanan terhadap pembentukan antibodi.

Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang permasalahan yang telah diuraikan di atas, maka terdapat dua permasalahan yang dapat diangkat melalui penelitian ini. Permasalahan pertama adalah : Apakah pemberian hormon PMSG, hCG atau kombinasi antara hormon PMSG dan hCG dapat mempengaruhi respon imun humoral pada mencit betina. Permasalahan kedua adalah : Apakah pemberian kombinasi PMSG dan hCG sebelum masa kawin dapat mempengaruhi jumlah folikel dan anak yang dihasilkan, serta diiringi dengan timbulnya supresifitas terhadap pola imunitas humoral pada mencit betina tersebut.

Hipotesis

Dari permasalahan yang telah disebutkan di atas, dapat diajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Pemberian hormon PMSG, hCG atau kombinasi antara hormon PMSG dan hCG dapat mempengaruhi respon imun humoral pada mencit betina.

2. Pemberian kombinasi PMSG dan hCG sebelum masa kawin dapat mempengaruhi jumlah folikel dan anak yang dihasilkan, serta menimbulkan supresifitas terhadap pola imunitas humoral pada mencit betina.

TINJAUAN PUSTAKA

Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG)

PMSG merupakan hormon glycoprotein dan mempunyai efek seperti *luteinizing hormone* (LH) dan *folicle stimulating hormone* (FSH). Secara biologis, hormon PMSG dapat merangsang timbulnya ovulasi (Ismudiono, 1996).

PMSG ditemukan pertama kali oleh Cole dan Hart pada tahun 1930, di dalam darah kuda bunting (Nalbandov, 1990). Di dalam peredaran darah kuda bunting, hormon PMSG dapat ditemukan pada 40 hari umur kebuntingan. Kadar hormon ini tetap tinggi dalam peredaran darah hingga umur ke 120 kebuntingan, selanjutnya sedikit demi sedikit menurun dan hilang sama sekali setelah hari ke 180 masa kebuntingan (Hardjopranto, 1987).

PMSG mempunyai berat molekul yang bervariasi, yaitu antara 28.000 hingga 53.000. Molekul PMSG tergolong besar sehingga tidak dapat melalui sistem saringan di dalam ginjal, oleh karena itu PMSG tidak pernah ditemukan dalam urine (Mc Donald, 1977).

Pada umumnya hormon PMSG digunakan dalam program superovulasi, namun timbul faktor yang kurang menguntungkan yaitu

sering menghasilkan sel telur yang belum dewasa dan dijumpai sisa folikel setelah birahi. Selain itu, sering terbentuk pula sistik folikel yang terjadi sebagai akibat dari stimulasi yang berkepanjangan terhadap ovarium. Keberadaan sistik folikel berdampak pada birahi yang berkepanjangan (Amstrong *et al.*, 1982).

Sehubungan dengan fungsinya yang mirip dengan FSH, maka pada hewan betina hormon PMSG dapat merangsang pertumbuhan folikel ovarium dan meningkatkan kadar hormon estrogen dalam darah. Di lapangan, secara komersial, hormon PMSG lebih sering digunakan sebagai sumber utama FSH mengingat fungsinya yang lebih bersifat sebagai FSH bila dibandingkan dengan LH (Hardjopranjoto, 1987).

Human Chorionic Gonadotropin (hCG)

HCG merupakan hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh vili-vili chorion pada placenta wanita hamil. Hormon hCG disekresi melalui urin dan darah segera setelah implantasi dan dapat dideteksi pada hari ke 8 setelah ovulasi (Mc Donald, 1977). Selain itu, hormon ini secara fisiologik mempunyai sifat yang sama dengan LH, sehingga dapat menyebabkan perkembangan dan pematangan folikel, serta merangsang kerja sel teka dan granulosa dalam memproduksi hormon estrogen.

Secara kimiawi, hCG merupakan protein yang larut dalam air dan mempunyai berat molekul sekitar 50000. Hormon ini menyebabkan corpus luteum berkembang dan menetap selama masa kehamilan. Dengan demikian hormon ini berfungsi untuk memelihara kehamilan (Hardjopranto, 1987). Seperti yang dikutip oleh Mustofa (1995), Mc Donald (1971) dan Hafez (1980) menyatakan bahwa hCG mempunyai struktur kimia yang berbeda dengan LH, namun mempunyai aktifitas yang sama, sehingga secara komersial hCG digunakan sebagai sumber LH. HCG mempunyai daya kerja merangsang ovulasi dan pembentukan korpus luteum yang baru dari hasil ovulasi tersebut, sehingga segera memproduksi progesteron untuk menunjang kehamilan.

Hormon Reproduksi dan Imunitas

Hormon reproduksi seperti estrogen, progesteron dan androgen adalah hormon reproduksi yang termasuk ke dalam kelompok steroid. Pada proses metabolisme, hormon steroid merupakan regulator yang kuat sehingga mempunyai dampak yang sangat luas terhadap kondisi tubuh, mulai dari tingkah lakunya hingga proses infeksi.

Bila ditinjau dari segi imunitas yang ditimbulkan, estrogen merupakan salah satu hormon steroid yang mempunyai peranan ganda, yaitu sebagai immunosupresan dan immunostimu-

lan. Pada mencit percobaan, pemberian senyawa estrogen yang kompleks menyebabkan pengecilan kelenjar timus dan penurunan jumlah limfosit didalamnya (Subowo, 1993).

Tizard (1987) mengemukakan bahwa beberapa hormon dapat bersifat sebagai immunosupresif dengan jalan merusak sel-sel limfosit, menghambat pelepasan lisosom dan mengganggu pengolahan antigen, serta membuat makrofag tidak tanggap terhadap limfokin. Perusakan sel limfosit dapat menyebabkan gangguan pada pembentukan antibodi atau kekebalan berperantara sel, sehingga tubuh menjadi lebih rentan terhadap berbagai macam infeksi. Subowo (1993) menyatakan bahwa selama proses menstruasi atau ovulasi dan kehamilan akan terjadi depresi terhadap respon imun. Hal ini sangat berkaitan dengan peningkatan hormon estrogen maupun progesteron, dimana kedua hormon ini dapat menurunkan respon limfosit terhadap suatu antigen. Secara umum dapat dikatakan bahwa estrogen dan progesteron dosis rendah mendorong respons antibodi dan sebaliknya pada dosis tinggi akan menekan produksi antibodi. Selain itu, hormon progesteron tidak berpengaruh terhadap sel makrofag.

Siklus Birahi Mencit dan Tikus

Tikus, mencit, hamster dan marmut adalah hewan-hewan laboratorium yang merupakan spesies poliestrus dan mengulang siklusnya sepanjang tahun. Siklus estrus tikus maupun mencit selesai dalam empat hingga enam hari, meskipun waktu siklus dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti cahaya, suhu, dan status nutrisi.

Siklus birahi mencit dan tikus dapat dibagi menjadi empat stadium, yaitu estrus, metestrus, diestrus dan proestrus. Estrus merupakan stadium birahi dan terjadinya kopulasi dimungkinkan pada stadium ini. Estrus berlangsung selama 9 hingga 15 jam. Pada stadium ini terjadi peningkatan produksi estrogen dan terjadi proses ovulasi. Stadium estrus dapat diidentifikasi dari aktivitas berlari pada mencit yang tinggi. Metestrus adalah stadium yang terjadi segera setelah ovulasi dan proses perkawinan biasanya tidak dimungkinkan. Masa berlangsungnya metestrus adalah 10 hingga 14 jam. Secara mikroskopis, stadium ini ditandai dengan dijumpainya corpus luteum dan sejumlah folikel kecil. Stadium berikutnya adalah diestrus yang berakhir 60 hingga 70 jam setelah ovulasi. Selama stadium diestrus terjadi regresi dari fungsi korpus luteum. Stadium terakhir adalah stadium proestrus yang ditandai dengan involusi fungsional korpus luteum serta pembengkakan folikel.

Siklus reproduksi ini akan mengalami gangguan selama masa kebuntingan. Siklus terganggu selama masa kebuntingan ang berakhir 20 hingga 22 hari dan hewan kembali estrus pada akhir kebuntingan, namun siklus kembali tertunda selama masa laktasi.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan :

1. Untuk mengetahui respon imunitas humoral mencit betina yang diberi PMSG, hCG atau kombinasi PMSG dan hCG.
2. Untuk membuktikan bahwa pemberian kombinasi PMSG dan hCG sebelum masa kawin dapat mempengaruhi jumlah folikel dan anak, serta dapat menimbulkan supresifitas terhadap respon imunitas humoral mencit betina.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sum-bangan ilmu pengetahuan bagi perkembangan ilmu di Indonesia, khususnya mengenai efek samping dari superovulasi yang ditimbulkan oleh pemberian hormon PMSG dan hCG terhadap respon imun humoral. Apabila terbukti adanya efek imunosu-presifitas terhadap sistem imun mencit, maka perlu dicarikan dosis yang aman sehingga penggunaan kombinasi kedua hormon tersebut dapat menggertak superovulasi tanpa menimbulkan imunosupresifitas.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini berlangsung selama 6 bulan, dari bulan Juli sampai dengan bulan Desember 1996. Penelitian ini selanjutnya dilakukan dalam dua tahap.

Bahan Penelitian

1. Mencit uji

Dalam penelitian ini digunakan mencit sebagai hewan percobaan, sebanyak 120 ekor mencit betina dan 4 ekor jantan yang berfungsi sebagai pemacek dan kontrol terhadap terjadinya birahi. Mencit-mencit tersebut dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Sebanyak 40 ekor mencit betina dengan umur 8 minggu digunakan untuk uji tahap I. Sedangkan untuk uji tahap II digunakan 80 ekor mencit betina yang berumur 10 minggu dan 4 ekor mencit jantan.

2. Hormon

Hormon yang digunakan adalah dua macam hormon, yaitu PMSG dan hCG. Kedua hormon ini diberikan dengan dosis yang berbeda untuk masing-masing tahapan.



3. Vaksin Gumboro

Vaksin gumboro strain S - 706 digunakan untuk mengimunisasi semua mencit pada tiap-tiap tahap penelitian.

4. NaCl fisiologis

NaCl fisiologis disuntikkan pada mencit kontrol yang tidak mendapat perlakuan hormon PMSG, hCG maupun kombinasi dari kedua hormon tersebut.

5. Bahan-bahan untuk uji Elisa

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji Elisa adalah bufer coating (pH : 9,6), PBS (pH : 7,4), bufer washing, bufer blocking, bufer substrat (pH : 9,8), substrat, konjugat, serum kontrol positif, antigen dan larutan NaOH 1 N.

Peralatan Penelitian

1. Kandang penelitian

Kandang penelitian yang digunakan pada penelitian tahap I sebanyak 12 buah dan masing-masing unit berisi 10 ekor mencit betina. Pada penelitian tahap II, 12 buah kandang berisi 20 ekor mencit betina dan 1 ekor mencit jantan untuk mengawini mencit betina yang ada.

2. Peralatan untuk uji Elisa

Pada uji Elisa, peralatan yang digunakan adalah mikroplate bentuk datar "U" dan pipet eppendrop 50 - 200 μ l dan 1 - 10 μ l.

Cara Kerja Elisa

Tahap pertama adalah menempelkan antigen dengan jalan memasukkan 100 μ l antigen ke dalam tiap sumuran mikroplat ELISA, kemudiandiinkubasikan pada suhu 4^o C selama semalam. Selanjutnya cuci sumuran mikroplat dengan bufer washing sebanyak 3 kali. Tambahkan 100 μ l bufer blocking pada setiap sumuran dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Kemudian bufer blocking dibuang hingga bersih.

Tahap berikutnya adalah memasukkan 100 μ l antiserum yang akan diuji yang telah diencerkan dengan bufer blocking (1 : 200) ke dalam setiap sumuran. Inkubasikan mikroplat dalam penangas air suhu 37^o C selama 1 jam. Kemudian cuci mikroplat sebanyak 3 kali dan tambahkan 100 μ l konjugat pada tiap sumuran. Inkubasi kembali mikroplat dalam penangas air suhu 37^o C selama 1 jam. Cuci sumuran mikroplat sebanyak 3 kali, kemudian tambahkan 100 μ l substrat pada tiap sumuran dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam di tempat gelap. Terakhir tambahkan larutan NaOH 1 N sebanyak 50 μ l pada tiap sumuran untuk menghentikan reaksi.

Tahap terakhir adalah pembacaan secara langsung dengan mata telanjang terhadap adanya perubahan warna. Perubahan warna hijau menunjukkan hasil positif yang sangat kuat (++++) hingga positif lemah (+), sedangkan reaksi negatif (-) terjadi tanpa disertai perubahan warna.

Prosedur Penelitian

1. Penelitian tahap I

Perlakuan pada penelitian tahap ini terdiri dari : 40 ekor mencit Balb/c betina umur 8 minggu dan dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok 1 (P1) diberi hormon PMSG dengan dosis 20 IU/ekor/IM, kelompok 2 (P2) diberi hCG dengan dosis 20 IU/ekor/IM, kelompok 3 (P3) diberi kombinasi PMSG dan hCG dengan dosis 20 IU/ekor/IM dengan selang waktu 4 hari, dan kelompok 4 (P4) adalah kelompok kontrol yang hanya disuntik NaCl fisiologis. Sehari sebelum perlakuan, semua kelompok diimunisasi dengan virus Gumboro dalam ajuvan komplit dengan dosis 15 ug/0.5 ml/ekor secara IM. Imunisasi dengan virus Gumboro hanya dimaksudkan sebagai parameter untuk mengukur antibodi. Pada hari ke 7 dilakukan pengambilan darah melalui mata dengan menggunakan pipet hematokrit pada semua mencit guna mengukur titer antibodinya dan sekaligus dilakukan imunisasi ke 2 dengan antigen virus yang sama tetapi dalam ajuvan inkomplit. Selanjutnya pengambilan darah dilakukan lagi pada minggu ke 1, 2 dan 3 setelah imunisasi terakhir.

Parameter yang diamati adalah titer antibodi yang diukur dengan uji Elisa (Harlow dan Lane, 1988). Tahap I ini bertujuan untuk mengetahui pola imunitas humoral mencit betina yang diberi PMSG, hCG atau kombinasi PMSG dan hCG.

2. Penelitian tahap II

Perlakuan pada penelitian tahap ini terdiri dari 80 ekor mencit Balb/c betina umur 10 minggu dan dibagi menjadi 4 kelompok. Semua kelompok diberi kombinasi PMSG dan hCG dengan selang waktu 4 hari secara IM. Kelompok 1 (P1) diberi kombinasi hormon, masing-masing dengan dosis 20 dan 60 IU, kelompok 2 (P2) dengan dosis 40 dan 60 IU, kelompok 3 (P3) dengan dosis masing-masing 60 IU, serta kelompok kontrol (P4) yang hanya disuntik dengan NaCl fisiologis. Imunisasi yang dilakukan sama dengan pada penelitian tahap I, namun imunisasi pertama dilakukan bersamaan dengan pemberian PMSG dan imunisasi kedua bersamaan dengan pemberian hCG. Hari ke 3 setelah pemberian hCG, semua mencit betina yang ada dikawinkan dengan cara memasukkan 1 ekor mencit jantan pada setiap kandang perlakuan. Tujuan dilakukan imunisasi adalah sama dengan penelitian tahap I. Selanjutnya proses pengambilan darah dilakukan pada minggu ke 1, 2 dan 3 setelah imunisasi terakhir.

Parameter yang diamati adalah titer antibodi, jumlah folikel yang terbentuk dan jumlah anak yang dilahirkan. Titer antibodi diukur dengan menggunakan uji Elisa (Harlow dan Lane, 1988). Pemeriksaan folikel dilakukan terhadap 40 ekor mencit betina setelah 4 hari perlakuan. Folikel yang ditemukan pada ovarium kiri dan kanan mencit diidentifikasi dengan bantuan kaca pembesar setelah dilakukan ovariectomi. Jumlah anak yang dilahirkan dihitung dari 40 ekor mencit sisanya.

Tahap kedua dilakukan untuk membuktikan bahwa pemberian kombinasi PMSG dan hCG akan mempengaruhi jumlah folikel dan anak yang dihasilkan, dan disertai dengan adanya supresifitas terhadap respon imun humoral.

Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2 model. Rancangan acak lengkap digunakan untuk menentukan besarnya titer antibodi mencit betina pada penelitian tahap pertama, jumlah folikel dan jumlah anak yang dilahirkan pada tahap kedua. Rancangan acak kelompok digunakan untuk menentukan besarnya titer antibodi yang dihasilkan pada minggu ke 1, 2 dan 3 pada semua tahap penelitian.

Data yang terkumpul dalam penelitian ini dianalisis dengan menggunakan uji Fisher dan dilanjutkan dengan menggunakan uji t Scheffe untuk mendapatkan hasil yang terbaik pada masing-masing kelompok (Hadi dkk., 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Tahap Pertama

Titer antibodi yang dihasilkan pada penelitian tahap pertama terhadap 40 ekor mencit betina setelah disuntikkan hormon PMSG, hCG dan kombinasi keduanya dengan dosis masing-masing 20 IU ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, hCG atau Kombinasi PMSG dan hCG

No.	Perlakuan	X ± SD
1.	P1	8.800 ± 1.751 ^a
2.	P2	8.600 ± 1.647 ^a
3.	P3	8.400 ± 1.174 ^a
4.	P4	7.900 ± 0.974 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan ($p > 0,05$)
 P0 = pemberian PMSG dengan dosis 20 IU
 P1 = pemberian hCG dengan dosis 20 IU
 P2 = pemberian 20 IU PMSG dan 20 IU hCG
 P3 = pemberian larutan NaCl fisiologis

Tabel 1 di atas memperlihatkan bahwa pemberian hormon PMSG dan hCG maupun kombinasi keduanya dapat meningkatkan

titer antibodi mencit betina bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, walaupun diantara keempat perlakuan tidak ditemukan adanya perbedaan secara statistik.

Secara matematis terlihat bahwa pemberian hormon PMSG menyebabkan titer antibodi yang tertinggi, yaitu 8.800 ± 1.751 . Hal ini sangat dimungkinkan karena pada minggu pertama reaksi imun yang terjadi belum tinggi, sehingga perbedaan diantara kelompok perlakuan tidak nyata. Titer antibodi baru terlihat nyata adalah pada minggu kedua (lampiran 1).

Dari hasil penelitian tahap pertama ini terbukti bahwa baik PMSG maupun hCG merupakan hormon-hormon reproduksi yang tidak berperan sebagai imunosupresan, mengingat kedua hormon tersebut dapat meningkatkan hormon estrogen dalam darah meskipun belum terlihat jelas pada minggu pertama. Subowo (1993) menyatakan bahwa peningkatan hormon estrogen dalam darah dapat menyebabkan peningkatan titer antibodi, karena estrogen mempunyai peranan ganda terhadap respon imun yang ditimbulkan, yaitu berfungsi sebagai imunostimulan dan imunosupresif.

Dari hasil analisis selanjutnya (lampiran 2), terlihat bahwa tidak ada pengaruh ($p > 0,05$) antar kelompok perlakuan terhadap besarnya titer antibodi yang ditimbulkan. Sebaliknya, waktu pengambilan darah berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap

besarnya titer antibodi mencit yang ditimbulkan. Titer antibodi yang tertinggi terjadi pada minggu ketiga setelah penyuntikan vaksin virus gumboro yang kedua, meskipun besarnya titer yang dihasilkan tidak berbeda dengan minggu kedua ($p > 0.05$).

Hasil titer antibodi mencit betina setelah diberi hormon PMSG, hCG dan kombinasi keduanya dengan dosis 20 IU pada minggu ke 1, 2 dan 3 setelah vaksinasi virus gumboro kedua ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, hCG atau Kombinasi PMSG dan hCG Pada Minggu ke 1, 2 dan 3

Minggu	P1	P2	P3	P4
I	9.700 ± 0.823 ^a	8.400 ± 1.265 ^b	8.500 ± 0.850 ^b	7.400 ± 2.716 ^b
II	7.000 ± 2.539 ^b	8.300 ± 1.059 ^b	8.300 ± 1.252 ^b	7.200 ± 2.741 ^b
III	9.000 ± 3.399 ^{ab}	9.800 ± 1.398 ^a	9.400 ± 1.350 ^a	7.100 ± 2.601 ^b

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan ($p > 0,05$)
 P0 = pemberian PMSG dengan dosis 20 IU
 P1 = pemberian hCG dengan dosis 20 IU
 P2 = pemberian 20 IU PMSG dan 20 IU hCG
 P3 = pemberian larutan NaCl fisiologis

Dari tabel 2 terlihat bahwa pada minggu ketiga setelah vaksinasi kedua dilakukan, kelompok perlakuan dengan hormon hCG (P2) memberikan titer antibodi yang tertinggi, yaitu sebesar 9.8 ± 1.398 . Secara statistik, besarnya titer antibodi yang terbentuk pada pemberian hormon hCG (P2) tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan kelompok yang diberi PMSG (P0), kombinasi antara PMSG dan hCG (P2) pada minggu yang sama, serta dengan kelompok perlakuan yang diberi PMSG (P0) pada minggu pertama setelah vaksinasi kedua.

Bila ditelaah lebih jauh, terjadi penurunan titer antibodi pada minggu kedua setelah vaksinasi kedua dilakukan dan kembali meningkat pada minggu berikutnya dari semua kelompok perlakuan. Sebaliknya pada kelompok kontrol justru terjadi penurunan, meskipun tidak ada perbedaan secara statistik ($p > 0.05$) dari waktu ke waktu. Keadaan ini terjadi disebabkan oleh beberapa kemungkinan, satu diantaranya adalah faktor suhu penyimpanan serum sampel dari mencit.

Ditinjau dari respon imunitas humoral yang ditimbulkan, hormon PMSG dan hCG maupun kombinasi kedua hormon tersebut dari minggu ke minggu adalah sama. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kedua hormon reproduksi dengan dosis sebesar 20 IU telah mampu menimbulkan efek imunostimulan sejak minggu pertama setelah vaksinasi kedua dilakukan. Dengan demikian jumlah hormon estrogen yang ditimbulkan tidak menyebabkan terjadinya proses imunosupresan, justru mempunyai efek sebagai imunostimulan.

Penelitian Tahap Kedua

Dari hasil analisis (lampiran 3) tampak adanya pengaruh yang nyata ($p < 0.05$) dari kelompok perlakuan terhadap besarnya titer antibodi pada mencit betina bila dibandingkan kelompok kontrol. Secara keseluruhan, tanpa memperhatikan waktu pengambilan darah, pemberian PMSG dengan dosis 40 IU yang dikombinasikan dengan hCG dosis 60 IU memberikan titer antibodi yang tertinggi, yaitu sebesar 9.7 ± 0.952 . Titer antibodi yang dihasilkan pada kelompok ini tidak berbeda nyata ($p > 0.05$) dengan pemberian kombinasi PMSG dosis 60 IU dan hCG dosis 60 IU, tetapi berbeda ($p < 0.05$) dengan dua kelompok yang lain.

Keadaan yang sama dijumpai pula pada pengaruh waktu pengambilan darah. Titer antibodi mencit tertinggi dicapai pada minggu ketiga setelah vaksinasi dengan virus gumboro yang kedua dilakukan, namun tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan titer antibodi yang dihasilkan pada minggu sebelumnya. Selain itu tidak terjadi interaksi antara kelompok perlakuan dengan waktu pengambilan darah terhadap titer antibodi mencit. Hasil ini menunjukkan bahwa titer antibodi yang dicapai tidak dipengaruhi oleh pemberian kombinasi hormon dan waktu pengambilan darah secara bersamaan.

Titer antibodi yang diperoleh pada penelitian tahap kedua terhadap mencit betina setelah disuntikkan kombinasi



antara hormon PMSG dengan dosis yang berbeda-beda dan hCG dengan dosis 60 IU ditampilkan pada tabel 3.

Dari data yang disajikan pada tabel 3 terlihat bahwa setiap kelompok yang diberi hormon PMSG dengan dosis 20, 40 dan 60 IU, serta dikombinasikan dengan hCG dosis 60 IU memberikan respon imunitas humoral yang sama, yaitu terjadi peningkatan besarnya titer antibodi dari waktu ke waktu. Peningkatan terus terjadi dan mencapai puncaknya pada minggu ketiga. Peningkatan titer antibodi pada kelompok kontrol terjadi pula, namun secara statistik tidak terdapat perbedaan ($p > 0.05$) terhadap besarnya titer antibodi mencit pada setiap waktu.

Tabel 3. Rata-rata dan Simpangan Baku Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG dengan dosis berbeda dan hCG dosis 60 IU Pada Minggu ke 1, 2 dan 3

Minggu	P1	P2	P3	P4
I	8.700 ± 0.675 ^b	8.900 ± 0.738 ^b	8.800 ± 0.632 ^b	3.900 ± 0.876 ^c
II	9.000 ± 0.816 ^{ab}	10.200 ± 0.823 ^a	9.700 ± 0.823 ^{ab}	4.100 ± 0.876 ^c
III	10.000 ± 1.054 ^a	10.000 ± 0.816 ^a	10.100 ± 1.287 ^a	4.400 ± 1.075 ^c

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan ($p > 0,05$)

P0 = dosis 20 IU PMSG + 60 IU hCG

P1 = dosis 40 IU PMSG + 60 IU hCG

P2 = dosis 60 IU PMSG + 60 IU hCG

P4 = larutan NaCl physiologis

Tahap selanjutnya adalah penghitungan jumlah folikel yang ditemukan pada penelitian tahap kedua ini yang dilakukan terhadap 40 ekor mencit betina, serta disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Folikel

No.	Perlakuan	X ± SD
1.	P1	10.400 ± 2.366 ^a
2.	P2	10.600 ± 1.955 ^a
3.	P3	10.500 ± 2.014 ^a
4.	P4	4.700 ± 0.949 ^b

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan ($p > 0,05$)
 P0 = dosis 20 IU PMSG + 60 IU hCG
 P1 = dosis 40 IU PMSG + 60 IU hCG
 P2 = dosis 60 IU PMSG + 60 IU hCG
 P4 = larutan NaCl fisiologis

Dari tabel 4 di atas terlihat bahwa pemberian kombinasi hormon PMSG dan hCG mempengaruhi jumlah folikel yang terbanyak. Pada setiap kelompok yang diberi kombinasi hormon PMSG dan hCG menunjukkan bahwa jumlah folikel yang dibentuk adalah sama ($p > 0.05$) dan lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Hasil yang diperoleh ini

membuktikan bahwa pemberian hormon PMSG mampu merangsang pertumbuhan folikel dan dapat menyebabkan birahi yang berkepanjangan. Untuk mengatasi birahi yang berkepanjangan dan bersifat merugikan, beberapa peneliti menganjurkan untuk mengkombinasi pemberian hormon PMSG dengan hCG, sehingga ovulasi yang terjadi dapat terlaksana dengan stabil (Armstrong dkk., 1982; Hardjopranjoto, 1980).

Di sisi lain, pemberian PMSG dosis 20 IU yang dikombinasikan dengan hCG 60 IU sudah dapat merangsang pembentukan folikel dan berbeda nyata dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Dengan demikian dosis 20 IU PMSG merupakan dosis minimum yang dibutuhkan mencit betina untuk dapat merangsang terjadinya superovulasi. Hal ini terbukti dengan tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan kombinasi hCG 60 IU dengan PMSG dosis 40 dan 60 IU ($p > 0.05$) (lampiran 4).

Selanjutnya, jumlah anak yang dihasilkan pada kelompok yang diberi kombinasi hormon PMSG dan hCG dengan dosis masing-masing 60 IU menunjukkan jumlah anak yang terbanyak, yaitu 4.5 ± 0.707 . Secara statistik, jumlah anak pada kelompok ini berbeda ($p < 0.05$) dengan kelompok-kelompok lainnya (tabel 5). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sesuai hasil yang diperoleh dari peneliti sebelumnya. Widji (1993) menyatakan bahwa semakin tinggi dosis kombinasi PMSG dan hCG

yang diberikan, semakin banyak pula jumlah folikel dan corpus luteum yang terbentuk. Dengan demikian semakin banyak jumlah folikel dan corpus luteum yang terbentuk, maka akan semakin banyak pula kemungkinan anak yang dilahirkan.

Tabel 5. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Anak

No.	Perlakuan	Rata-rata
1.	P1	3.800 ± 0.632 ^b
2.	P2	3.000 ± 0.667 ^c
3.	P3	4.500 ± 0.707 ^a
4.	P4	3.200 ± 0.632 ^c

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan ($p > 0,05$)

P0 = dosis 20 IU PMSG + 60 IU hCG

P1 = dosis 40 IU PMSG + 60 IU hCG

P2 = dosis 60 IU PMSG + 60 IU hCG

P4 = larutan NaCl fisiologis

Bila dikaitkan antara jumlah folikel yang terbentuk dengan jumlah anak yang dilahirkan, pemberian PMSG dosis 20 dan 40 IU yang dikombinasikan dengan hCG 60 IU tidak menunjukkan adanya kelahiran anak yang sama banyak dengan kelompok yang diberi kombinasi PMSG dosis 60 IU dan hCG dosis 60

IU. Banyak faktor yang mempengaruhi adanya perbedaan ini, satu diantaranya adalah terbentuk sistik folikel atau sekurang-kurangnya ada folikel tersisa yang tidak mengalami ovulasi. Hal ini dapat terjadi mengingat sifat hormon PMSG yang *long acting* sehingga banyak folikel baru yang terbentuk secara berkesinambungan. Hasil yang sama ditunjukkan pula pada penelitian yang dilakukan oleh Kusriani (1988) terhadap 88 ekor kelinci, seperti yang disitir oleh Mustofa (1995).

Secara keseluruhan, tampak bahwa jumlah folikel yang terbentuk, jumlah anak yang dilahirkan dan titer antibodi yang dihasilkan oleh kelompok perlakuan kombinasi PMSG 60 IU dan hCG 60 IU adalah yang terbaik. Hasil yang diperoleh ini dapat terjadi kemungkinan karena vaksinasi virus gumboro dilakukan bersamaan dengan pemberian hormon PMSG, dimana terjadi peningkatan kadar hormon estrogen dalam darah, sehingga imunisasi dan hormon estrogen yang ada akan mengakibatkan terangsangnya pembentukan antibodi, dan titer antibodi yang terbentuk akan terus tinggi kadarnya sampai minggu ke 3 setelah imunisasi terakhir. Kenyataan ini sangatlah menguntungkan, mengingat pada masa kebuntingan infeksi mudah terjadi (Turner Bagnara, 1976; Subowo, 1993; Ismudiono, 1996). Namun ada beberapa kelemahan dari penelitian ini, yaitu tidak dilakukannya penyerentakan birahi sebelum perlakuan sehingga tidak bisa dipantau kadar estrogen ataupun progesteron di dalam darah dalam kaitannya dengan imunisasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian hormon PMSG, hCG atau kombinasi PMSG dan hCG tidak menimbulkan efek immunosupresif terhadap respon imunitas humoral pada mencit betina yang mendapatkan imunisasi Gumboro.
2. Pemberian kombinasi hormon PMSG dan hCG dengan dosis PMSG yang bervariasi dapat meningkatkan jumlah folikel dan jumlah anak pada mencit betina yang mendapatkan imunisasi Gumboro.

Saran

Dari hasil penelitian disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis minimal dari kombinasi hormon PMSG dan hCG yang mampu menimbulkan immunosupresif pada respon imun humoral mencit betina dengan pemantauan hormon estrogen maupun progesteron untuk menjelaskan peranannya sebagai immunosupresif.

DAFTAR PUSTAKA

- Amstrong, D.T., B.G. Miller, E.A. Walton, A.P. Pfizner and G.M. Warnes. 1982. Endocrine response and factor which limit the cattle, sheep and goat. Aust.Soc.Reprod.Bio. p. 8 - 14.
- Cole, N.H. and P.T. Cupps. 1977. Reproduction in domestic animal. 3 th. ed. Academic Press. New York. p. 31.
- Hadi, S.; S. Pamardiyanto dan Y.P. Kuncoro. 1996. Buku manual SPS. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hadi, A.S. 1993. Pengaruh pemberian hormon PMSG dan HCG terhadap berat telur, berat tetas dan daya tetas telur ayam buras. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan, Unair.
- Harlow, E. and D. Lane. 1988. Antibodies. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Hardjopranto, S. 1987. Fisiologi reproduksi. Edisi kedua Fakultas Kedokteran Hewan, Unair.
- Ismudiono. 1996. Fisiologi reproduksi pada ternak. Edisi pertama. Fakultas Kedokteran Hewan, Unair.
- Mc Donald, L.E. 1977. Hormone of the pituitary gland. In : Jones, L.M.; L.H. Brooth and Mc. Donald. 4 th. ed. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi. p. 764 - 780.
- Mustofa, I. 1995. Pengaruh penyuntikan PMSG dan waktu penyuntikan hCG yang berbeda terhadap profil estrogen dan beberapa variabel reproduksi sapi perah. Thesis. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Nalbandov. 1990. Fisiologi reproduksi pada mamalia dan unggas. Edisi ke 3. Penerbit Universitas Indonesia.
- Subowo. 1993. Imunologi klinik. Penerbit angkasa Bandung, Indonesia.
- Tizard, I. 1987. Veterinary immunology. In Introduction. 3 rd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Turner dan Bagnara. 1976. Endokrinologi umum. Edisi ke 6. Airlangga University Press.
- Widjiati. 1993. Pengaruh pemberian kombinasi PMSG dan hCG terhadap jumlah corpus luteum dan sisa folikel serta gambaran histologis ovarium kelinci. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas airlangga.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, HCG atau Kombinasi PMSG dan HCG.

** TABEL STATISTIK INDUK

Perlakuan	n	ΣX	ΣX^2	Rerata	SB
A1	10	88	802	8.800	1.751
A2	10	86	764	8.600	1.647
A3	10	84	718	8.400	1.174
A4	10	79	633	7.900	0.994
Total	40	337	2917	8.425	1.412

** RANGKUMAN ANAVA AMATAN ULANGAN 1-FAKTOR (UL-A)

Sumber	JK	db	RK	F	R ²	p
Antar kasus	7.525	9	0.836	0.343	0.097	0.951
Antar A	4.475	3	1.492	0.612	0.058	0.616
Ralat	65.775	27	2.436	--	--	--
Total	77.775	39	--	--	--	--

** UJI - t ANTAR ULANGAN A

Sumber	t	p
A1 - A2	0.287	0.773
A1 - A3	0.573	0.578
A1 - A4	1.289	0.206
A2 - A3	0.287	0.773
A2 - A4	1.003	0.326
A3 - A4	0.716	0.513

p = dua ekor

Lampiran 2. Analisis Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG, HCG atau Kombinasi PMSG dan HCG Pada Minggu ke 1, 2 dan 3.

** TABEL STATISTIK INDUK

Perlakuan	n	ΣX	ΣX^2	Rerata	SB
A1	30	257	2409	8.567	2.674
A2	30	265	2397	8.833	1.392
A3	30	262	2332	8.733	1.230
A4	30	217	1765	7.233	2.596
B1	40	340	3010	8.500	1.754
B2	40	308	2536	7.700	2.053
B3	40	353	3357	8.825	2.490
A1B1	10	97	947	9.700	0.823
A1B2	10	70	548	7.000	2.539
A1B3	10	90	914	9.000	3.399
A2B1	10	84	720	8.400	1.265
A2B2	10	83	699	8.300	1.059
A2B3	10	98	978	9.800	1.398
A3B1	10	85	729	8.500	0.850
A3B2	10	83	703	8.300	1.059
A3B3	10	94	900	9.400	1.350
A4B1	10	74	614	7.400	2.716
A4B2	10	72	586	7.200	2.741
A4B3	10	71	565	7.100	2.601
Total	120	1001	8903	8.342	2.156

Lanjutan lampiran 2.

** RANGKUMAN ANAVA AMATAN ULANGAN 1-FAKTOR (UL-A)

Sumber	JK	db	RK	F	R ²	p
Antar kasus	66.741	9	--	--	--	--
Dalam	486.250	110	--	--	--	--
Antar A	50.225	3	16.742	2.935	0.091	0.051
Antar B	26.816	2	13.408	5.932	0.048	0.010
Inter AB	33.850	6	5.642	1.686	0.061	0.142
Ralat A	154.025	27	5.706	--	--	--
Ralat B	40.684	18	2.260	--	--	--
Ralat AB	180.650	54	3.345	--	--	--
Total	552.991	119	--	--	--	--

Lanjutan lampiran 2.

** UJI - t . ANTAR ULANGAN A

=====

Sumber	t	p
t1 - 2	-0.432	0.672
t1 - 3	-0.270	0.785
t1 - 4	2.162	0.037
t2 - 3	0.162	0.867
t2 - 4	2.594	0.014
t3 - 4	2.432	0.021

=====

p = dua ekor

** UJI - t ANTAR ULANGAN B

=====

Sumber	t	p
t1 - 2	2.380	0.027
t1 - 3	-0.967	0.652
t2 - 3	-3.347	0.004

=====

p = dua ekor

Lanjutan lampiran 2.

** MATRIKS UJI - t INTER AB

A.B	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3
1.1	0.000	3.501	0.856	1.589	1.712	-0.122	1.467	1.712	0.367	2.812	3.056	3.179
p	1.000	0.002	0.600	0.114	0.089	0.899	0.144	0.089	0.716	0.007	0.004	0.002
1.2	-3.301	0.000	-2.445	-1.712	-1.589	-3.423	-1.834	-1.589	-2.934	-0.489	-0.245	-0.122
p	0.002	1.000	0.017	0.089	0.114	0.002	0.069	0.114	0.005	0.632	0.603	0.899
1.3	-0.856	2.445	0.000	0.734	0.856	-0.978	0.611	0.856	-0.489	1.956	2.201	2.323
p	0.600	0.017	1.000	0.527	0.600	0.666	0.551	0.600	0.632	0.053	0.030	0.023
2.1	-1.589	1.712	-0.734	0.000	0.122	-1.712	-0.122	0.122	-1.223	1.223	1.467	1.589
p	0.114	0.089	0.527	1.000	0.899	0.089	0.899	0.899	0.225	0.225	0.144	0.114
2.2	-1.712	1.589	-0.856	-0.122	0.000	-1.834	-0.245	0.000	-1.345	1.100	1.345	1.467
p	0.089	0.114	0.600	0.899	1.000	0.069	0.803	1.000	0.181	0.276	0.181	0.144
2.3	0.122	3.423	0.978	1.712	1.834	0.000	1.589	1.834	0.489	2.934	3.179	3.301
p	0.899	0.002	0.666	0.089	0.069	1.000	0.114	0.069	0.632	0.005	0.003	0.002
3.1	-1.467	1.834	-0.611	0.122	0.245	-1.589	0.000	0.245	-1.100	1.345	1.589	1.712
p	0.144	0.069	0.551	0.899	0.803	0.114	1.000	0.303	0.276	0.181	0.114	0.089
3.2	-1.712	1.589	-0.856	-0.122	0.000	-1.834	-0.245	0.000	-1.345	1.100	1.345	1.467
p	0.089	0.114	0.600	0.899	1.000	0.069	0.803	1.000	0.181	0.276	0.181	0.144
3.3	-0.367	2.934	0.489	1.223	1.345	-0.489	1.100	1.345	0.000	2.445	2.690	2.812
p	0.716	0.005	0.632	0.225	0.181	0.632	0.276	0.181	1.000	0.017	0.009	0.007
4.1	-2.812	0.489	-1.956	-1.223	-1.100	-2.934	-1.345	-1.100	-2.445	0.000	0.245	0.367
p	0.007	0.632	0.053	0.225	0.276	0.005	0.181	0.276	0.017	1.000	0.803	0.716
4.2	-3.056	0.245	-2.201	-1.467	-1.345	-3.179	-1.589	-1.345	-2.690	-0.245	0.000	0.122
p	0.004	0.803	0.030	0.144	0.181	0.003	0.114	0.181	0.009	0.803	1.000	0.899
4.3	-3.179	0.122	-2.323	-1.589	-1.467	-3.301	-1.712	-1.467	-2.812	-0.367	-0.122	0.000
p	0.003	0.899	0.023	0.114	0.144	0.002	0.089	0.144	0.007	0.716	0.899	1.000

p = dua-ekor.

Lampiran 3. Analisis Titer Antibodi (Log 2) Mencit Betina Setelah Diberi Hormon PMSG dengan Dosis Berbeda dan HCG Dosis 60 IU Pada Minggu ke 1, 2 dan 3

** TABEL STATISTIK INDUK

Perlakuan	n	ΣX	ΣX^2	Rerata	SB
A1	30	277	2587	9.233	1.006
A2	30	291	2849	9.700	0.952
A3	30	286	2760	9.533	1.074
A4	30	124	538	4.133	0.937
B1	40	303	2495	7.575	2.263
B2	40	330	2984	8.250	2.589
B3	40	345	3255	8.625	2.676
A1B1	10	87	761	8.700	0.675
A1B2	10	90	816	9.000	0.816
A1B3	10	100	1010	10.000	1.054
A2B1	10	89	797	8.900	0.738
A2B2	10	102	1046	10.200	0.789
A2B3	10	100	1006	10.000	0.816
A3B1	10	88	778	8.800	0.632
A3B2	10	97	947	9.700	0.523
A3B3	10	101	1035	10.100	1.287
A4B1	10	39	159	3.900	0.876
A4B2	10	41	175	4.100	0.876
A4B3	10	44	204	4.400	1.057
Total	120	978	8734	8.150	2.533

Lanjutan lampiran 3.

** RANGKUMAN ANAVA AMATAN ULANGAN 1-FAKTOR (UL-A)

Sumber	JK	db	RK	F	R ²	p
Antar kasus	1.800	9	--	--	--	--
Dalam	761.500	110	--	--	--	--
Antar A	648.699	3	216.233	280.677	0.850	0.000
Antar B	22.350	2	11.325	15.864	0.030	0.000
Inter AB	6.092	6	1.092	1.180	0.009	0.330
Ralat A	20.801	27	0.770	--	--	--
Ralat B	12.850	18	0.714	--	--	--
Ralat AB	49.951	54	0.925	--	--	--
Total	963.300	119	--	--	--	--

Lanjutan lampiran 3.

** UJI - t ANTAR ULANGAN A

Sumber	t	p
t1 - 2	-2.059	0.047
t1 - 3	-1.324	0.194
t1 - 4	22.504	0.000
t2 - 3	0.753	0.525
t2 - 4	24.563	0.000
t3 - 4	23.828	0.000

=====
p = dua ekor

** UJI - t ANTAR ULANGAN B

Sumber	t	p
t1 - 2	-3.573	0.002
t1 - 3	-5.558	0.000
t2 - 3	-1.985	0.060

=====
p = dua ekor

Lanjutan lampiran 3.

** MATRIKS UJI - t INTER AB

A.B	1,1	1,2	1,3	2,1	2,2	2,3	3,1	3,2	3,3	4,1	4,2	4,3
1,1	0.000	-0.697	-3.022	-0.465	-3.487	-3.022	-0.232	-2.325	-3.255	11.160	10.695	9.997
p	1.000	0.505	0.004	0.649	0.001	0.004	0.812	0.022	0.002	0.000	0.000	0.000
1,2	0.697	0.000	-2.325	0.232	-2.790	-2.325	0.465	-1.627	-2.557	11.857	11.392	10.695
p	0.505	1.000	0.022	0.812	0.007	0.022	0.649	0.106	0.013	0.000	0.000	0.000
1,3	3.022	2.325	0.000	2.557	-0.465	0.000	2.790	0.697	-0.232	14.182	13.717	13.020
p	0.004	0.022	1.000	0.013	0.649	1.000	0.007	0.505	0.812	0.000	0.000	0.000
2,1	0.465	-0.232	-2.557	0.000	-3.022	-2.557	0.232	-1.860	-2.790	11.625	11.160	10.462
p	0.649	0.812	0.013	1.000	0.004	0.013	0.812	0.065	0.007	0.000	0.000	0.000
2,2	3.487	2.790	0.465	3.022	0.000	0.465	3.255	1.162	0.232	14.647	14.182	13.485
p	0.001	0.007	0.649	0.004	1.000	0.649	0.002	0.249	0.812	0.000	0.000	0.000
2,3	3.022	2.325	0.000	2.557	-0.465	0.000	2.790	0.697	-0.232	14.182	13.717	13.020
p	0.004	0.022	1.000	0.013	0.649	1.000	0.007	0.505	0.812	0.000	0.000	0.000
3,1	0.232	-0.465	-2.790	-0.232	-3.255	-2.790	0.000	-2.092	-3.022	11.392	10.927	10.230
p	0.812	0.649	0.007	0.812	0.002	0.007	1.000	0.039	0.004	0.000	0.000	0.000
3,2	2.325	1.627	-0.697	1.860	-1.162	-0.697	2.092	0.000	-0.930	13.485	13.020	12.322
p	0.022	0.106	0.505	0.065	0.249	0.505	0.039	1.000	0.641	0.000	0.000	0.000
3,3	3.255	2.557	0.232	2.790	-0.232	0.232	3.022	0.930	0.000	14.415	13.950	13.252
p	0.002	0.013	0.812	0.007	0.812	0.812	0.004	0.641	1.000	0.000	0.000	0.000
4,1	-11.160	-11.857	-14.182	-11.625	-14.647	-14.182	-11.392	-13.485	-14.415	0.000	-0.465	-1.162
p	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.649	0.249
4,2	-10.695	-11.392	-13.717	-11.160	-14.182	-13.717	-10.927	-13.020	-13.950	0.465	0.000	-0.697
p	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.649	1.000	0.505
4,3	-9.997	-10.695	-13.020	-10.462	-13.485	-13.020	-10.230	-12.322	-13.252	1.162	0.697	0.000
p	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.249	0.505	1.000

p = dua-ekor.

Lampiran 4. Hasil Analisis Jumlah Folikel

** TABEL STATISTIK INDUK

Perlakuan	n	ΣX	ΣX^2	Rerata	SB
A1	10	104	1132	10.400	2.366
A2	10	106	1158	10.600	1.955
A3	10	105	1139	10.500	2.014
A4	10	47	229	4.700	0.949
Total	40	362	3658	9.050	3.129

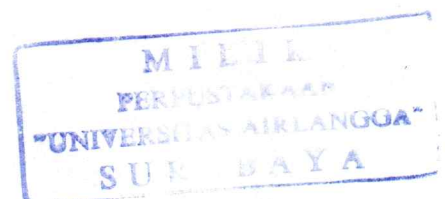
** RANGKUMAN ANAVA AMATAN ULANGAN 1-FAKTOR (UL-A)

Sumber	JK	db	RK	F	R ²	p
Antar kasus	12.425	9	1.378	0.318	0.032	0.962
Antar A	252.500	3	84.167	19.167	0.661	0.000
Ralat	117.000	27	4.333	--	--	--
Total	381.900	39	--	--	--	--

** UJI - t ANTAR ULANGAN A

Sumber	t	p
A1 - A2	-0.215	0.826
A1 - A3	-0.107	0.912
A1 - A4	6.123	0.000
A2 - A3	0.107	0.912
A2 - A4	6.338	0.000
A3 - A4	6.320	0.000

p = dua ekor



Lampiran 5. Hasil Analisis Jumlah Anak

** TABEL STATISTIK INDUK

Perlakuan	n	ΣX	ΣX^2	Rerata	SB
A1	10	38	148	3.800	0.632
A2	10	30	94	3.000	0.667
A3	10	45	207	4.500	0.707
A4	10	32	106	3.200	0.632
Total	40	145	555	3.625	0.868

** RANGKUMAN ANAVA AMATAN ULANGAN 1-FAKTOR (UL-A)

Sumber	JK	db	RK	F	R ²	p
Antar kasus	4.125	9	0.458	1.069	0.140	0.416
Antar A	13.675	3	4.558	10.633	0.466	0.000
Ralat	11.575	27	0.429	--	--	--
Total	29.375	39	--	--	--	--

** UJI - t ANTAR ULANGAN A

Sumber	t	p
A1 - A2	2.732	0.011
A1 - A3	-2.391	0.023
A1 - A4	2.049	0.048
A2 - A3	-5.123	0.000
A2 - A4	-0.683	0.507
A3 - A4	4.440	0.000

p = dua ekor