IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KKC
KK
571.968 8
Sia
k

LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2001

KAJIAN TERHADAP STABILITAS TITER KOMPLEMEN YANG DIKERING-BEKUKAN DAN YANG DIAWETKAN SECARA KIMIAWI

Peneliti:

Drh. NANIK SIANITA, SU
Drh. RAHAYU ERNAWATI, M.Sc.
Ir. WAHYU TJAHJANINGSIH, Msi

300032002314 1

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

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: 4

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2001

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

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

300032002314 1

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1	a	Judul Penelitian	Kajian terhadap stabilitas titer komplemen yang dikering-bekukan dan yang diawetkan secara kimiawi
	b	Macam Penelitian	I / II / III
2		Kepala Proyek Penelitian	
	a	Nama Lengkap dan Gelar	Nanik Sianita W., SU, Drh
	b	Jenis Kelamin	Perempuan
	c	Pangkat/Golongan dan NIP	Penata Tk I / III-d / 131 123 697
	d	Jabatan Fungsional	Lektor
	e	Fakultas / Jurusan	Kedokteran Hewan / Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
	f	Universitas	Airlangga
	g	Bidang Ilmu Yang Diteliti	Virologi – 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	6 (enam) Bulan
7		Biaya yang diperlukan	Rp. 5.000.000,- (Lima Juta Rupiah)

Surabaya, 12 Desember 2001

Mengetahui :
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

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

Ketua Peneliti,

Nanik Sianita W, SU.,Drh
NIP. 131 123 697

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian UNAIR

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

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Seau Chsa . 2001 - 029 - 2001 - FKH

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

RINGKASAN

KAJIAN TERHADAP STABILITAS TITER KOMPLEMEN YANG DIKERING-BEKUKAN DAN YANG DIAWETKAN SECARA KIMIAWI

(Nanik Sianita, Rahaju Ernawati, Wahju Tjahjaningsih, 2001, 28 halaman)

Salah satu bahan yang digunakan untuk CFT adalah komplemen. Kendala yang sering dihadapi di lapangan ialah sifat dari komplemen yang mudah rusak, sehingga penyimpanan komplemen dalam jangka waktu lama sering menjadi masalah.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka perlu dipertimbangkan untuk mengawetkan komplemen baik secara kimiawi maupun dengan proses pengering-bekuan.

Penelitian ini bertujuan untuk . mengetahui pengaruh bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikeringka-bekukan) terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan lama penyimpanan; mengetahui pengaruh suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) terhadap titer komplemen pada berbagai lama penyimpanan dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikeringka-bekukan) dan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap, yaitu tahap pembuatan hemolisin, tahap penyediaan dan pengawetan komplemen serta tahap pengujian stabilitas titer komplemen. Pembuatan hemolisin menggunakan metode Cottral (1978) yang telah dimodifikasi. Hemolisin ini nantinya digunakan untuk pengujian titer komplemen. Pada tahap penyediaan dan pengawetan komplemen, komplemen yang berasal dari serum 30 ekor kelinci dikumpulkan menjadi satu dan diukur titernya dengan metode Anonimus (1977). Selanjutnya komplemen dibagi menjadi 3 perlakuan yaitu: komplemen yang diawetkan secara kimiawi dengan penambahan sodium acetal 6 %, asam borat 2 % dan sodium azide 0,25 %, komplemen dikering-bekukan serta komplemen tidak diawetkan (kontrol). Pada tahap pengujian stabilitas titer komplemen dilakukan pengukuran titer terhadap komplemen dari masing-masing perlakuan yang telah disimpan selama 48 hari pada suhu kamar dan 4 °C. Pengukuran titer dilakukan setelah komplemen disimpan selama 1, 2, 3, 6, 12, 24 dan 48 hari dengan metode Ernawati dkk (1996) yang dimodifikasi dengan cara mikroteknik. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan rancangan pola faktorial.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun dikering-bekukan mempunyai titer yang lebih stabil dari pada komplemen yang tidak diawetkan pada penyimpanan suhu kamar maupun suhu 4 °C. Pada penyimpanan komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun dikering-bekukan pada suhu 4 °C sampai jangka waktu 48 hari mempunyai titer lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan komplemen diawetkan yang disimpan pada suhu kamar. Titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun kering beku pada penyimpanan suhu kamar dan 4 °C dipengaruhi oleh lama penyimpanan.

Dari hasil penelitian ini disarankan perlunya jangka waktu penelitian lebih lama untuk mengetahui stabilitas titer komplemen yang diawetkan.

(Lembaga Penelitian, Universitas Airlangga, Nomor kontrak : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001)

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SUMMARY

ANALYSIS OF THE CHEMICALLY AND FREEZE DRIED PRESERVED COMPLEMENT TITER STABILITY

(Nanik Sianita, Rahaju Ernawati, Wahju Tjahjaningsih. 2001. 28 pages)

Complement is one of the reagent that is used in CFT. The impact that facing in field is the complement which can easy destroy, so storage of the complement for a long time become a problem.

Freeze drying is the best method for preserve biologic material. Therefore, preseved complements produced by both chemically and freeze drying are the best way to solve this problem.

A question appear here is whether the chemically preserved complement and the freeze dried complement are better or more stabil than non-preserved complement when storage for a long time at room temperature and at 4 °C.

The purpose of this study were about to know the preparative form of complements (complement preserved by chemically and freeze dried) that influenced the complement titer at several storage temperatures (room temperature and 4 °C) and prolong storaged; to know the storage temperatures (room temperature and 4 °C) that influenced the complement titerat several prolong storaged and complement preparative form; and to know the duration of storage that influenced the complement titer at several storage temperature and complement preparative form.

This research was divided into 3 steps : the first step was to prepare haemolysin, the second step was to prepare and preserved complement and the third step was to examine the stability of complement titer. Haemolysin was produced concern to Cottral (1978) method with some modification. This haemolysin was used to measure the complement titer.

Preparation and preservation of complements which were collected from 30 rabbits sera had been measure to obtain the titer according to Anonimus (1977) method. After the complement had divided in 3 parts, one part for chemically preservation treated with 6 % Sodium Acetate, 2 % Boric Acid and 0.25 % Sodium Azide, second part for freeze drying and the third part was for control without any treatment. The stability of each complement titer was measured after some periods of storage (1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 days) according to the modified microtechnique method (Ernawati et al, 1996). The experimental design use to do this work is factorial design.

The results showed that the preserved complement either chemically preserved and freeze dried had more stabled titer than non-preserved complement were storaged at room temperature and 4 °C. The storage of preserved complements (chemically preserved and freeze dried) at 4 °C for 48 days yielded a significant higher titer compared to room temperature storage. While the duration of storage influenced both the preseved complements titer (chemically and freeze dried) at room temperature and 4 °C.

Based on the results of this work, it will be advise that this research work need more longer time to know the expiration date.

(Research Institute, Airlangga University, Contract Number : 021/LIT/BPPK-SDM/III/2001)

KATA PENGANTAR

Disertai rasa syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya, maka tersusunlah laporan hasil penelitian dengan judul : Kajian terhadap Stabilitas Titer Komplemen yang dikering-bekukan dan yang diawetkan secara kimiawi.

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

1. Prof. Dr.Med. dr. Purubito, 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 pelaksanaan penelitian ini.

Akhirnya dengan segala ketulusan hati, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan penulisan laporan ini. Harapan kami, semoga laporan ini dapat memberi manfaat pada bidang ilmu pengetahuan, khususnya laboratorium

Surabaya, Desember 2001

Penulis

DAFTAR ISI

		Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN		ii
RINGKASAN		iii
SUMMARY		iv
KATA PENGANTAR		v
DAFTAR ISI		vi
DAFTAR TABEL		vii
DAFTAR GAMBAR		viii
DAFTAR LAMPIRAN		ix
I	PENDAHULUAN	1
	I.1. Latar Belakang Masalah	1
	I.2. Rumusan Masalah	2
	I.3. Hipotesis	2
II	TINJAUAN PUSTAKA	3
	II.1. Uji Pengikatan Komplemen (*Complement Fixation Test*, CFT)	3
	II.2. Komplemen	4
	II.3. Pengering-bekuan (*Freeze drying*) atau Lyophilisasi	4
III	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	6
	III.1. Tujuan Penelitian	6
	III.2. Manfaat Penelitian	6
IV	METODE PENELITIAN	7
	IV.1. Tempat dan Waktu Penelitian	7
	IV.2. Bahan dan Peralatan Penelitian	7
	IV.3. Jenis dan Rancangan Penelitian	7
	IV.4. Prosedur Penelitian	7
	IV.5. Analisis Statistik	9
V	HASIL DAN PEMBAHASAN	10
VI	KESIMPULAN DAN SARAN	16
	VI.1. Kesimpulan	16
	VI.2. Saran	16
DAFTAR PUSTAKA		17
LAMPIRAN		18

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Titer komplemen dari berbagai bentuk sediaan pada berbagai suhu dan lama penyimpanan	10
2	Titer komplemen dari berbagai suhu penyimpanan pada berbagai lama Penyimpanan dan bentuk sediaan	10
3	Titer komplemen dari berbagai lama penyimpanan pada berbagai suhu dan bentuk sediaan	11
4	Titer Komplemen dari berbagai bentuk sediaan pada berbagai suhu dan lama penyimpanan	12

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu kamar	13
2	Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu 4 °C	13
3	Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu kamar dan 4 °C	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Pengukuran titer komplemen dengan cara mikroteknik	18
2	Data titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi, dikering-bekukan dan tidak diawetkan pada penyimpanan suhu kamar dan 4 °C selama beberapa jangka waktu penyimpanan	19
3	Analisis varian data penelitian	26

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Keberhasilan penanganan suatu penyakit, baik pada manusia maupun ternak sangat tergantung pada ketepatan diagnosis. Uji serologik merupakan salah satu cara yang dapat dipercaya untuk peneguhan diagnosis, karena dengan uji serologik dapat diidentifikasi penyebab infeksi serta mengukur zat kebal yang terdapat di dalam serum. Hingga kini telah dikenal berbagai macam uji serologik, seperti : *Enzym Linkage Immunosorbent Assay* (ELISA), Imunofluoresensi, Imunodifusi dan Uji Pengikatan Komplemen (*Complement Fixatition Test*, CFT). Meskipun ELISA merupakan uji serologik yang mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi (Kresna, 1991), tetapi reagen-reagen untuk uji ELISA menjadi sangat mahal setelah adanya krisis moneter. Sehubungan dengan itu CFT menjadi salah satu alternatif dari uji serologik yang digunakan, karena selain cukup akurat juga bahan-bahan untuk CFT relatif jauh lebih murah. Disamping itu CFT juga dapat dilaksanakan di laboratorium yang sederhana, misalnya untuk pengujian Brucellosis di daerah-daerah.

Salah satu bahan yang digunakan untuk CFT adalah komplemen. Komplemen merupakan bahan yang mudah rusak dan termolabil, sehingga untuk penyimpanannya harus dalam *deep freezer* (- 70 °C) atau dengan nitrogen cair supaya dapat bertahan berbulan-bulan (Mahy, 1991). Bagi laboratorium sederhana yang tidak memiliki *deep freezer* atau nitrogen cair, penyimpanan komplemen dalam jangka waktu lama sering menjadi masalah. Demikian pula dalam penyediaan bahan untuk CFT kitt, sifat dari komplemen yang mudah rusak ini sering menjadi kendala. Sehubungan dengan itu perlu dipertimbangkan pengawetan komplemen dengan cara kering beku atau kimiawi, sehingga diperoleh komplemen dengan titer yang tetap stabil meskipun disimpan lama pada suhu kamar dan suhu 4 °C.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan) berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan lama penyimpanan.
2. Apakah suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai lama penyimpanan dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).
3. Apakah lama penyimpanan berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).

I.3. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan) berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan lama penyimpanan.
2. Suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai lama penyimpanan dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).
3. Lama penyimpanan berpengaruh terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Uji Pengikatan Komplemen (*Complement Fixation Test*, CFT).

CFT sangat berperan dalam diagnosis penyakit infeksi selama hampir satu abad. Peran CFT semakin sempurna, karena fungsinya dalam sero-diagnosis dan identifikasi antigen terutama dalam bidang virologik klinik. Meskipun sudah diganti oleh teknik sero-diagnosis baru yang lebih cepat dan sensitif, tetapi CFT masih tetap penting sebagai standar referensi untuk laboratorium klinik (Swack dkk., 1992).

Pengujian CFT didasarkan atas reaksi yang terdiri dari dua tahap, yaitu : tahap pertama pengikatan sejumlah komplemen oleh kompleks antigen-antibodi dan tahap kedua penghancuran eritrosit yang telah dilapisi hemolisin (sebagai indikator) oleh komplemen yang tersisa (bila ada komplemen yang tersisa). Banyak komplemen yang tidak dikonsumsi pada reaksi tahap pertama dan yang mengakibatkan hemolisis pada tahap kedua, secara tidak langsung merupakan parameter untuk antigen atau antibodi yang diuji (Kresna, 1991).

Uji pengikatan komplemen dipakai pertama kali oleh Wassermann, Neisser dan Bruck untuk menentukan diagnosa sifilis, tetapi kemudian prinsip pengujian yang sama dipakai pula dalam sero-diagnosis berbagai penyakit lain (Kresna, 1991). Bercovick dan Muskens (1999) menggunakan CFT untuk peneguhan hasil uji *skin delayed type hypersensitivity* guna mendeteksi Brucellosis pada sapi. Penelitian Reichel dan kawan-kawan (1999) yang membandingkan beberapa uji serologik untuk mendeteksi Johne's disease pada sapi menunjukkan bahwa sensitivitas diagnostik dari uji Elisa lebih tinggi dan berbeda nyata dengan CFT dan Immunoblot adalah sama. Hasil penelitian Diaz dkk (1994) tentang evaluasi beberapa uji serologik untuk diagnosis infeksi *Brucella melitensis* pada kambing menunjukkan bahwa sensitivitas uji Rose Bengal Test, CFT dan ELISA 100%, Radial Imunodifusi 94 %, *Counter Immunoelectrophoresis* 93% sedangkan

spesifisitas semua uji tersebut adalah 100%. Penelitian Markey dkk (1993) yang membandingkan antara uji ELISA, CFT dan *Indirect Immunofluorecence Antibody Test* (IIFAT) untuk mendeteksi antibodi terhadap *Chlamydia psittaci* pada domba menunjukkan bahwa ELISA dan IIFAT lebih sensitif daripada CFT (CFT dan ELISA bervariasi antara 50 - 98% ; IIFAT dan ELISA 70,5 - 94,3%).

II.2. Komplemen

Komplemen atau alexin adalah suatu bagian dari darah. Komplemen memegang peranan didalam membantu antibodi untuk mengadakan lisis, baik terhadap bakteri, virus maupun eritrosit.

Serum normal dari berbagai binatang mengandung komplemen tetapi tidak sama daya komplementernya. Serum yang terbaik adalah serum dari cavia, sebab komplemennya dapat mencapai titer tinggi.

Kerja komplemen paling baik pada pH ± 6,5 , sedangkan pemanasan pada suhu 65 °C selama 30 menit akan menyebabkan komplemen kehilangan daya komplementernya. Komplemen dapat dirusakkan daya komplementernya dengan penyimpanan yang lama (lebih dari satu minggu pada suhu 4 °C), pengadukan terus menerus, adanya bahan-bahan kimia (asam, basa, garan dll), sinar ultra violet, gas dari eter dan kloroform. Selain itu anti serum dalam jumlah banyak, antigen yang telah lama disimpan atau telah busuk mempunyai daya untuk menginaktifkan komplemen.

Untuk mendapat komplemen harus diambil dari cavia yang sehat, sebab komplemen dari hewan sakit biasanya mempunyai titer rendah (Ernawati, 1996).

II.3. Pengering-bekuan (*Freeze-drying*) atau Lyophilisasi

Pengering-bekuan adalah suatu proses dimana cairan di dalam sampel dihilangkan pada suhu yang sangat rendah (umumnya pada -20°C sampai -40°C). Proses pengering-bekuan mengubah sampel dalam tiga tahap, yaitu : *pre-freeze*, *primary drying* dan *secondary drying*.

Pada tahap *pre-freeze* , sampel diubah dari bentuk cair ke bentuk es. Pada *primary drying*, es dalam sampel segera diubah menjadi uap yang disebut proses sublimasi dan selanjutnya uap dihilangkan. Proses sublimasi ini terus berlanjut sampai tidak terdapat lagi es dalam sampel. Proses sublimasi tersebut tergantung pada temperatur dan tekanan. Sedangkan pada tahap berikutnya yaitu tahap *secondary drying*, air yang masih terikat pada larutan atau suspensi material diubah menjadi uap dan selanjutnya dihilangkan dari sampel yang disebut proses desorbsi (Anonim, 1996).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1. Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui pengaruh bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan) terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan lama penyimpanan.
2. Mengetahui pengaruh suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) terhadap titer komplemen pada berbagai lama penyimpanan dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).
3. Mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan bentuk sediaan (komplemen diawetkan secara kimiawi dan dikering-bekukan).

III.2. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang stabilitas titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi dan stabilitas titer komplemen yang dikering-bekukan dibandingkan dengan komplemen yang tidak diawetkan pada penyimpanan suhu kamar dan 4 °C selama jangka waktu tertentu.

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sedangkan proses pengering-bekuan hemolisin dilakukan di Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Kegiatan penelitian dilaksanakan mulai bulan April sampai dengan September 2001.

IV.2. Bahan dan Peralatan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : darah domba, hemolisisn, komplemen dan garam fisiologis.

Peralatan yang digunakan : *Freeze dried*, sentrifug, *water bath*, mikroplat U, mikropipet droper, pipet tip dan *shaker*.

IV.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan rancangan pola faktorial 8 X 2 X 3. Faktor pertama adalah lama penyimpanan, faktor kedua adatah suhu penyimpanan dan faktor ketiga adalah cara pengawetan.

IV.4. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap :

Tahap I : Pembuatan Hemolisin

Hemolisisn ini nantinya digunakan untuk pengujian titer komplemen. Pembuatan hemolisin dilakukan pada kelinci menurut cara Cottral (1978) dengan beberapa modifikasi sebagai berikut :

Lima ekor kelinci masing-masing disuntik dengan 1 ml suspensi eritrosit domba secara intravena setiap hari selama 10 hari. Dua minggu setelah penyuntikkan yang terakhir, darah diambil dari tiap ekor kelinci tersebut dan dipisahkan serumnya. Selanjutnya serum tersebut diinaktivasi dengan cara dipanaskan pada 56 °C selama 30 menit. Serum kelinci yang mengandung antibodi terhadap eritrosit domba dan yang telah diinaktivasi tersebut disebut hemolisin. Hemolisin ini nantinya digunakan untuk pengukuran titer komplemen.

Tahap II : Penyediaan dan Pengawetan Komplemen

Tiga puluh ekor cavia diambil darahnya, kemudian serum yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu untuk digunakan sebagai komplemen. Komplemen yang diperoleh tersebut diukur titernya menurut metode Anonimus (1977) dan selanjutnya dibagi menjadi 3 perlakuan yaitu :

1. Komplemen diawetkan secara kimiawi dengan penambahan sodium asetat 6 %, asam borat 2 % dan sodium azide 0,25 %.
2. Komplemen dikering bekukan
3. Komplemen tidak diawetkan (kontrol)

Sampel dari masing-masing perlakuan tersebut dikemas dalam vial yang masing-masing berisi 0,5 ml, untuk komplemen yang dikering bekukan : vial berisi komplemen, dimasukkan ke dalam *freeze dryer* untuk dikering bekukan selama 24 jam. Penutupan vial dilakukan dalam *freeze dryer*.

Tahap III : Pengujian Stabilitas Komplemen

Untuk menguji stabilitas komplemen dari masing-masing perlakuan, maka komplemen dari masing-masing perlakuan tersebut dibagi menjadi dua suhu penyimpanan yaitu suhu kamar dan 4 °C. Penyimpanan dilakukan selama 48 hari. Pengukuran titer komplemen dilakukan menurut metode Ernawati dkk (1996) yang dimodifikasi dengan cara mikroteknik (Lampiran 1). Titer

komplemen ditentukan dari pengenceran tertinggi komplemen yang dapat mengakibatkan hemolisis sempurna eritrosit domba dengan konsentrasi 2 %.

IV.5. Analisis Statistik

Data berupa titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi, dikering bekukan dan tidak diawetkan (sebagai kontrol) pada beberapa suhu dan jangka waktu penyimpanan ditransformasikan dalam bentuk $\sqrt{y + 1/2}$, kemudian diuji dengan menggunakan *uni variate analysis* dari SPSS *rel.* 10 for Windows™ dan dilanjutkan dengan uji Duncan 5 % dengan program yang sama.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis varian dari hasil penelitian ini (Lampiran 3) menunjukkan bahwa bentuk sediaan komplemen (diawetkan secara kimiawi, dikering bekukan dan tidak diawetkan), suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) serta lama penyimpanan (1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 hari) berpengaruh sangat nyata terhadap titer komplemen ($p<0,01$).

Pengaruh bentuk sediaan komplemen (diawetkan secara kimiawi, dikering bekukan dan tidak diawetkan) terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan lama penyimpanan (1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 hari) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Titer komplemen dari berbagai bentuk sediaan pada berbagai suhu dan lama penyimpanan

Bentuk Sediaan	Mean ± SD
Tidak Diawetkan	$2,031^{c} \pm 2,157$
Dikering-bekukan	$3,983^{b} \pm 1,602$
Diawetkan secara kimiawi	$4,560^{a} \pm 1,445$

Keterangan : Notasi superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p\leq0,01$)

Pengaruh suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) terhadap titer komplemen pada berbagai lama penyimpanan (1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 hari) dan bentuk sediaan (diawetkan secara kimiawi, dikering bekukan dan tidak diawetkan) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Titer komplemen dari berbagai suhu penyimpanan pada berbagai lama penyimpanan dan sediaan komplemen.

Suhu Penyimpanan	Mean ± SD
Suhu 4 °C	$4,082^{a} \pm 1,801$
Suhu Kamar	$2,967^{b} \pm 2,160$

Keterangan : Notasi superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p\leq0,01$)

Pengaruh lama penyimpanan terhadap titer komplemen pada berbagai suhu penyimpanan (suhu kamar dan 4 °C) dan bentuk sediaan (diawetkan secara kimiawi, dikering bekukan dan tidak diawetkan) dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Titer komplemen dari berbagai lama penyimpanan pada berbagai suhu dan bentuk sediaan

Lama Penyimpanan (hari)	Mean ± SD
0	$5,803^{a} \pm 0,405$
1	$4,706^{b} \pm 1,623$
2	$3,982^{c} \pm 1,824$
3	$3,641^{c} \pm 1,911$
6	$3,150^{d} \pm 2,020$
12	$2,925^{d} \pm 1,997$
24	$2,158^{e} \pm 1,618$
48	$1,831^{e} \pm 1,497$

Keterangan : Notasi superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p \leq 0,01$)

Pengamatan sebelum disimpan terhadap komplemen yang mengalami proses pengawetan baik secara kimiawi (5,5230 ± 0,0000) maupun dikering bekukan (5,5230 ± 0,0000)menunjukkan titer yang lebih rendah dibandingkan dengan komplemen yang tidak diawetkan (6,3640 ± 0,0000), tetapi secara statistik tidak ada perbedaan. Hal ini menunjukkan bahwa proses pengawetan secara kimia dengan penambahan sodium asetat, asam borat dan asam azide maupun proses pengering bekuan menyebabkan sedikit sekali penurunan titer komplemen, bahkan dapat dikatakan tidak ada penurunan titer komplemen.

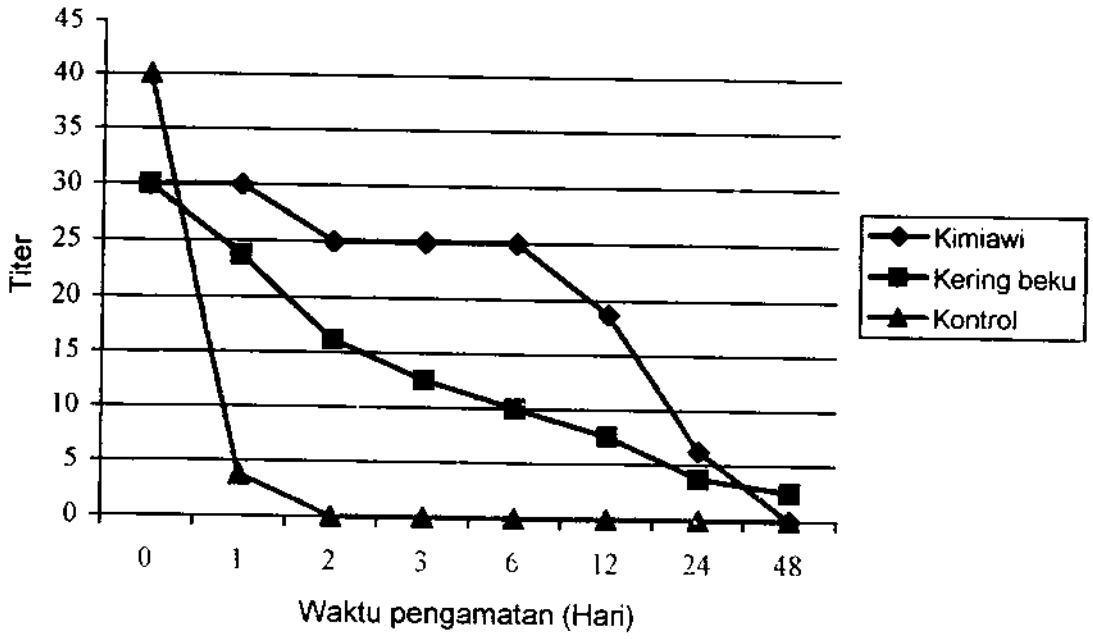
Tabel 4. Titer komplemen dari berbagai bentuk sediaan komplemen pada berbagai suhu dan lama penyimpanan

Suhu Simpan	Lama Simpan	Bentuk sedian komplemen		
		Diawetkan secara kimiawi	Dikering-bekukan	Tidak diawetkan
Kamar	0 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$6,3640 \pm 0,0000^{a}$
	1 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$4,8777 \pm 0,7832^{bcd}$	$1,5145 \pm 1,6150^{hi}$
	2 hari	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$3,6737 \pm 2,0833^{def}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	3 hari	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$3,5885 \pm 0,4024^{ef}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	6 hari	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$2,9552 \pm 1,5344^{fg}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	12 hari	$4,3070 \pm 0,9666^{bcde}$	$2,3220 \pm 1,8648^{gh}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	24 hari	$2,1477 \pm 1,6878^{gh}$	$1,5145 \pm 1,6150^{hi}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	48 hari	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$	$1,3402 \pm 1,2665^{hi}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
4 °C	0 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$6,3640 \pm 0,0000^{a}$
	1 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,2742 \pm 0,4975^{ab}$
	2 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$3,9370 \pm 0,0000^{cdef}$
	3 hari	$5,5230 \pm 0,0000^{ab}$	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$1,9735 \pm 1,4624^{ghi}$
	6 hari	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$4,4812 \pm 0,7483^{bcde}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	12 hari	$5,0255 \pm 0,5745^{bc}$	$4,4812 \pm 0,7483^{bcde}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	24 hari	$3,9370 \pm 0,0000^{cdef}$	$3,9370 \pm 0,0000^{cdef}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$
	48 hari	$3,5885 \pm 0,4024^{ef}$	$3,9370 \pm 0,0000^{cdef}$	$0,7070 \pm 0,0000^{i}$

Keterangan : Notasi superskrip yang berbeda pada sebarang baris atau kolom menunjukkan perbedaan nyata ($p \leq 0,05$).

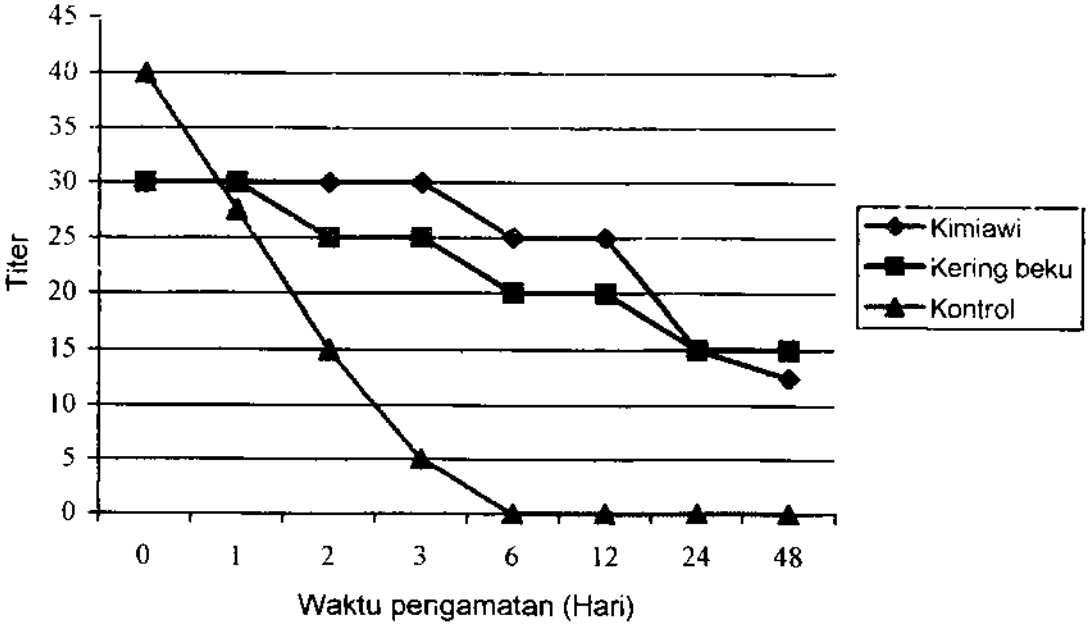
Penyimpanan komplemen pada suhu kamar menunjukkan bahwa titer komplemen yang tidak diawetkan mengalami penurunan drastis dimana setelah 1 hari disimpan, titernya sudah berbeda nyata dengan sebelum disimpan (Gambar 1). Hal ini berbeda dengan komplemen yang diawetkan secara kimiawi dimana titer baru berbeda secara nyata setelah disimpan selama 12 hari (Tabel 4). Demikian pula komplemen yang dikering bekukan, penurunan titer sedikit demi sedikit.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



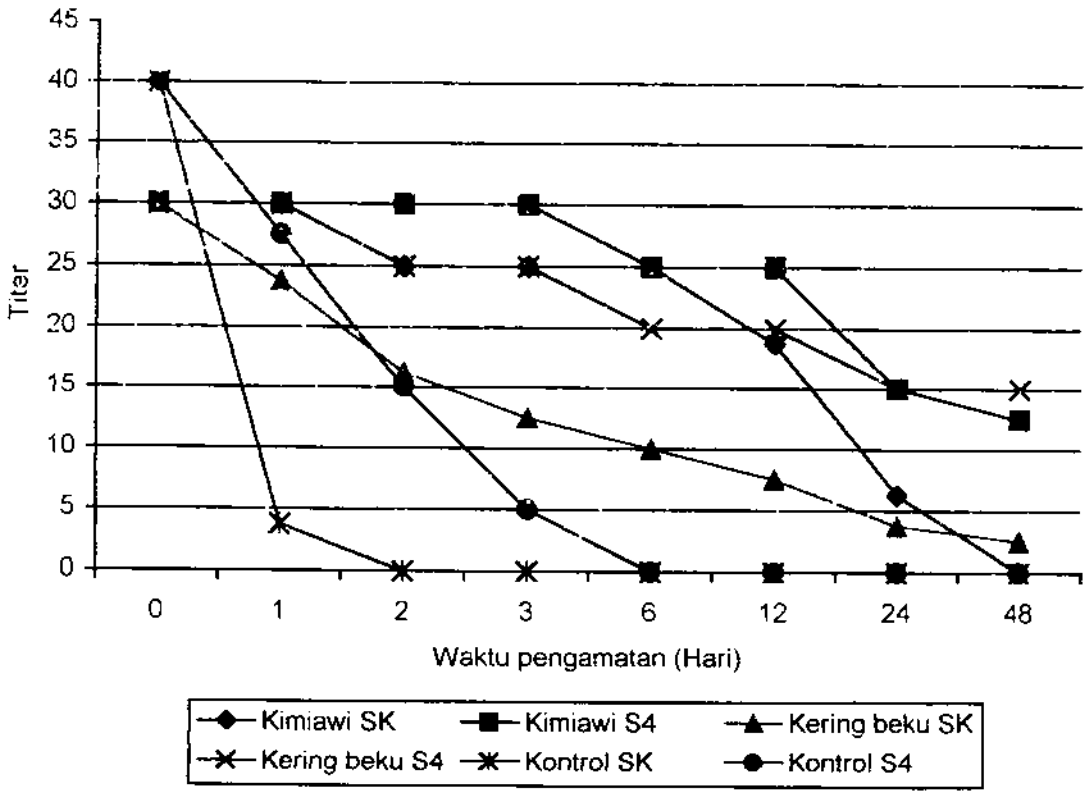
Gambar 1. Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu kamar

Penyimpanan komplemen pada suhu 4 °C menunjukkan bahwa titer komplemen yang tidak diawetkan hanya stabil sampai penyimpanan selama 1 hari. Hal ini berbeda dengan komplemen yang diawetkan baik secara kimiawi maupun secara dikering bekukan, dimana titer komplemen titer komplemen tetap stabil sampai penyimpanan selama 12 hari (Gambar 2 dan Tabel 4).



Gambar 2. Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu 4 °C

Pada tabel 4 dan gambar 3 terlihat bahwa komplemen yang disimpan pada suhu 4 °C lebih baik dari pada disimpan pada suhu kamar. Hal ini terlihat pada penyimpanan suhu 4 °C selama 48 hari, rataan titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi (3,5885 ± 0,4024) maupun dikering bekukan (3,9370 ± 0,0000) lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan komplemen tidak diawetkan yang disimpan pada suhu kamar untuk jangka waktu yang sama. Rataan titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi pada penyimpanan suhu 4 °C selama 48 hari tersebut (3,5885 ± 0,4024) tidak berbeda nyata dengan rataan titer komplemen diawetkan secara kimiawi yang disimpan pada suhu kamar selama 12 hari (4,3070 ± 0,9666). Demikian juga rataan titer komplemen kering beku yang disimpan pada suhu 4 °C selama 48 hari (3,9370 ± 0,0000) tidak berbeda nyata dengan komplemen kering beku yang disimpan pada suhu kamar selama 6 hari (2,9552 ± 1,5344).



Gambar 3. Titer berbagai bentuk sediaan komplemen pada suhu kamar dan 4 °C.

Penyimpanan pada suhu 4 °C menunjukkan bahwa rataan titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi (3,5885 ± 0,4024) maupun kering beku (3,9370 ± 0,0000) lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan komplemen yang tidak diawetkan (0,7070 ± 0,0000) sampai penyimpanan selama 48 hari. Sedangkan penyimpanan pada suhu kamar menunjukkan bahwa rataan titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi (4,3070 ± 0,9666) dan kering beku (2,3220 ± 1,8648) lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan komplemen tidak diawetkan (0,7070 ± 0,0000) hanya sampai penyimpanan selama 12 hari.

Dengan demikian terlihat bahwa komplemen yang diawetkan baik secara kimiawi maupun secara kering beku lebih tahan lama dari pada komplemen yang tidak diawetkan, baik disimpan pada suhu kamar maupun pada suhu 4 °C. Sedangkan komplemen yang diawetkan lebih baik disimpan pada suhu 4 °C dari pada suhu kamar. Lebih rendahnya titer kompiemen yang disimpan pada suhu kamar dibandingkan suhu 4 °C, karena pada suhu kamar enzim dalam serum masih dapat bekerja, sehingga akibat reaksi enzimatis tersebut terbentuk asam yang dapat merusak komplemen dalam serum dan mengakibatkan penurunan titer komplemen. Berbeda dengan penyimpanan pada suhu 4 °C, dimana pada suhu tersebut kerja enzim dihambat sehingga titer komplemen menjadi lebih stabil.

Komplemen dikering bekukan dapat mempertahankan struktur fisik, stabilitas kimiawi, mempertahankan aktivitas biologik serta memperoleh kembali bentuk yang ada seperti semula (Anonimus, 1996).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun dikering-bekukan mempunyai titer yang lebih stabil dari pada komplemen yang tidak diawetkan pada penyimpanan suhu kamar maupun suhu 4 °C.
2. Penyimpanan komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun dikering-bekukan pada suhu 4 °C sampai jangka waktu 48 hari mempunyai titer lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan komplemen diawetkan yang disimpan pada suhu kamar.
3. Titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi maupun kering beku pada penyimpanan suhu kamar dan 4 °C dipengaruhi oleh lama penyimpanan.

VI.2. Saran

Mengingat jangka waktu penyimpanan komplemen dalam penelitian ini hanya selama 48 hari, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui stabilitas komplemen yang diawetkan untuk jangka waktu yang lebih lama terutama bila bertujuan memproduksi komplemen atau menyediakan bahan untuk CFT kit, khususnya komplemen.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus. 1977. Standardized Complement Fixation Test for Bovine Brucellosis. Aust. Vet. J. 53:394.

Anonimus. 1996. Freeze drying. Heto Lab. Equipment. Denmark.

Bercovick, Z and J.A. Muskens. 1999. The efficacy of the skin delayed type hypersensitivity using a Brucellin prepared from a mucoid strain of Brucella abortus to detect brucellosis. Vet. J. 157:61-67.

Cottral, G.E. 1978. Manual of standardized methods for veterinary microbiology. Cornell Univ. Press. Ithaca and London. p : 63.

Diaz, A.E., C. Marin, B.U. Alonso, V. Aragon, S.O. Perez, M.Pardo, J.M. Blasco, R. Diaz, I. Moriyon. 1994. Evaluation of serological tests for diagnosis of Brucella melitensis infection of goats. J. Clin. Microbiol. 32(5) : 1159-1165.

Ernawati, R., A.P. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F.A.Rantam, W. Tjahjaningsih, Suwarno. 1996. Petunjuk Praktikum Penyakit Viral. Lab. Virologi dan Imunologi FKH Unair. Surabaya.

Garvey, J.S., N.E. Cremer, D.H. Sussdort. 1977 Methods in Immunology. A Laboratory test for instruction and research. 3rd Ed. W.A. Benyamin Inc. London. pp : 56-60.

Kresna, S.B. 1991. Imunologi. Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi @. Fak. Kedokteran Univ. Indonesia, Jakarta. hal : 247-256.

Mahy, B.W. J. 1991. Virology. A Practical approach. IRL Press Limited. Oxford-washington DC. pp : 248-253.

Markey, B.K., M.S. Mc Nulty, D. Todd. 1993. Comparison of serological tests for the diagnosis of Chlamydia psittaci infection of sheep. Vet. Microbiol. 36 (3-4) :233-252.

Reichel, M.P., R. Kittelberger, M.E. Penrose, R.M. Meynell, D. Cousins, T. Ellis, L.M. Mutharia, E.A. Sugden, A.H. Johns and G.W. de Lisle. 1999. Comparisson of serological test and faecal culture for the detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection in cattle and analysis of the antigen involved. Vet. Microbiol. 66:135-150.

Steel, R.G.D and J.H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu pendekatan biometrik. Ed. II. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Swack, N.S., T.F. Gahan, W.J. Hausler Jr. 1992. The present status of the complement fixation test in viral serodiagnosis. Infect. Agent dis. 1 (4) : 219-224.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengukuran Titer Komplemen dengan Cara Mikroteknik

Untuk mengukur titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi, mula-mula 0,5 ml komplemen diencerkan dengan 3,5 ml PZ, sedangkan komplemen kering beku diencerkan dulu menjadi 0,5 ml, kemudian diencerkan lagi menjadi 5 ml. Komplemen yang tidak diawetkan (kontrol) langsung diencerkan menjadi 5 ml.

Pengukuran titer komplemen dengan cara mikroteknik dilakukan sebagai berikut :

1. Ke dalam lubang mikroplate nomer 2-9 masing-masing diisi dengan 0,025 ml PZ.
2. Ke dalam lubang mikroplate nomer 1 dan 3 diisi komplemen 1 : 10 yang akan diperiksa sebanyak 0,025 ml, sedangkan dalam lubang nomer 2 diisi sebanyak 0,050 ml.
3. Isi lubang nomer 2 dicampur dengan mikropipet dropper, kemudian diambil 0,050 ml dan dimasukkan 0,025 ml ke dalam lubang nomer 4, sisanya dibuang. Isi lubang nomer 4 juga dicampur, kemudian diambil 0,025 ml dan dimasukkan ke lubang nomer 6. Demikian seterusnya dari lubang nomer 6 ke lubang nomor 8 dan dari lubang nomer 8 dibuang 0,025 ml. Isi lubang nomer 3 juga dicampur, kemudian diambil 0,025 ml dan dimasukkan ke lubang nomer 5 lalu dicampur. Demikian seterusnya dari lubang nomer 7 ke lubang nomor 9 dan akhirnya dari lubang nomer 9 dibuang 0,025 ml. Jadi dalam lubang nomer 1-9 berisi penipisan komplemen 1 : 10 sampai 1 : 160.
4. Ke dalam lubang nomer 1 - 9 masing-masing ditambahkan 0,050 ml PZ, kemudian 0,025 ml hemolisin 1 % dan terakhir 0,025 ml eritrosit domba 2% lalu dikocok.
5. Mikroplate dimasukkan ke dalam *water bath* 37 °C selama 30 menit lalu dibaca hasilnya.
6. Sebagai kontrol digunakan tiga lubang yang masing-masing berisi :
   a. PZ sebanyak 0,100 ml dan 0,025 ml eritrosit domba 2%.
   b. PZ sebanyak 0,075 ml, 0,025 ml komplemen 1 : 10 dan 0,025 ml eritrosit domba 2%.
   c. PZ sebanyak 0,075 ml, 0,025 ml hemolisin 1 % dan 0,025 ml eritrosit domba 2%.

Lampiran 2. Data titer komplemen yang diawetkan secara kimiawi, dikering-bekukan dan yang tidak diawetkan pada penyimpanan suhu kamar dan 4 oC selama beberapa waktu penyimpanan

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	0	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kontrol	1		40	6.364
						2		40	6.364
						3		40	6.364
						4		40	6.364
						Total	Sum	160	25.456
							Mean	40.00	6.36400
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		400	69.640
						Mean		33.33	5.80333
						Std. Deviation		4.92	.41408
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kontrol	1		40	6.364
						2		40	6.364
						3		40	6.364
						4		40	6.364
						Total	Sum	160	25.456
							Mean	40.00	6.36400
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		400	69.640
						Mean		33.33	5.80333
						Std. Deviation		4.92	.41408
			Total	Sum				800	139.280
				Mean				33.33	5.80333
				Std. Deviation				4.82	.40498
	1	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	1	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		15	3.937
						Total	Sum	95	19.511
							Mean	23.75	4.87775
							Std. Deviation	7.50	.78316
					Kontrol	1		15	3.937
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	15	6.058
							Mean	3.75	1.51450
							Std. Deviation	7.50	1.61500
					Total	Sum		230	47.561
						Mean		19.17	3.97175
						Std. Deviation		12.94	2.06102
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kontrol	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		20	4.528
						Total	Sum	110	21.097
							Mean	27.50	5.27425
							Std. Deviation	5.00	.49750
					Total	Sum		350	65.281
						Mean		29.17	5.44008
						Std. Deviation		2.89	.28723
			Total	Sum				580	112.942
				Mean				24.17	4.70592
				Std. Deviation				10.49	1.62279
	2	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kering beku	1		30	5.523
						2		20	4.528
						3		15	3.937
						4		0	.707
						Total	Sum	65	14.695
							Mean	16.25	3.67375
							Std. Deviation	12.50	2.08330

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	2	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	00	.00000
					Total	Sum		165	37.625
						Mean		13.75	3.13542
						Std. Deviation		12.99	2.19603
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	00	00000
					Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kontrol	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	60	15.748
							Mean	15.00	3.93700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		260	57.942
						Mean		23.33	4.82850
						Std. Deviation		7.18	.75400
			Total		Sum			445	95.567
					Mean			18.54	3.98196
					Std. Deviation			11.37	1.82377
	3		Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kering beku	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		10	3.240
						4		10	3.240
						Total	Sum	50	14.354
							Mean	12.50	3.58850
							Std. Deviation	2.89	.40241
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		150	37.284
						Mean		12.50	3.10700
						Std. Deviation		11.18	1.91087

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	3	Suhu	Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		30	5.523
						4		30	5.523
						Total	Sum	120	22.092
							Mean	30.00	5.52300
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kontrol	1		10	3.240
						2		10	3.240
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	20	7.894
							Mean	5.00	1.97350
							Std. Deviation	5.77	1.46243
					Total	Sum		240	50.088
						Mean		20.00	4.17400
						Std. Deviation		12.06	1.83269
			Total	Sum				390	87.372
				Mean				16.25	3.64050
				Std. Deviation				12.00	1.91051
	6	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kering beku	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		10	3.240
						4		0	.707
						Total	Sum	40	11.821
							Mean	10.00	2.95525
							Std. Deviation	7.07	1.53442
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		140	34.751
						Mean		11.67	2.89592
						Std. Deviation		11.74	2.03097
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	6	Suhu	Suhu 4oC	Trial	Kering beku	1		30	5.523
						2		20	4.528
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	80	17.925
							Mean	20.00	4.48125
							Std. Deviation	7.07	.74830
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		180	40.855
						Mean		15.00	3.40458
						Std. Deviation		12.25	2.06539
			Total	Sum				320	75.606
				Mean				13.33	3.15025
				Std. Deviation				11.86	2.02001
	12	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		20	4.528
						3		15	3.937
						4		10	3.240
						Total	Sum	75	17.228
							Mean	18.75	4.30700
							Std. Deviation	8.54	.96659
					Kering beku	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	30	9.288
							Mean	7.50	2.32200
							Std. Deviation	9.66	1.86454
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		105	29.344
						Mean		8.75	2.44533
						Std. Deviation		10.25	1.88889
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		30	5.523
						2		30	5.523
						3		20	4.528
						4		20	4.528
						Total	Sum	100	20.102
							Mean	25.00	5.02550
							Std. Deviation	5.77	.57446
					Kering beku	1		30	5.523
						2		20	4.528
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	80	17.925
							Mean	20.00	4.48125
							Std. Deviation	7.07	.74830

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	12	Suhu	Suhu 4oC	Trial	Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		180	40.855
						Mean		15.00	3.40458
						Std. Deviation		12.25	2.06539
			Total	Sum				285	70.199
				Mean				11.88	2.92496
				Std. Deviation				11.50	1.99865
	24	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		15	3.937
						2		10	3.240
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	25	6.591
							Mean	6.25	2.14775
							Std. Deviation	7.50	1.68779
					Kering beku	1		15	3.937
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	15	6.058
							Mean	3.75	1.51450
							Std. Deviation	7.50	1.61500
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		40	17.477
						Mean		3.33	1.45642
						Std. Deviation		6.15	1.36556
			Suhu 4oC	Trial	Secara kimiawi	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	60	15.748
							Mean	15.00	3.93700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	60	15.748
							Mean	15.00	3.93700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		120	34.324
						Mean		10.00	2.86033
						Std. Deviation		7.39	1.59034

Case Summaries[a]

								Titer (Asli)	Titer (Transformasi)
Waktu (Hari)	24	Suhu	Total	Sum				160	51.801
				Mean				6.67	2.15838
				Std. Deviation				7.47	1.61769
	48	Suhu	Suhu Kamar	Trial	Secara kimiawi	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kering beku	1		10	3.240
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	10	5.361
							Mean	2.50	1.34025
							Std. Deviation	5.00	1.26650
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		10	11.017
						Mean		83	.91808
						Std. Deviation		2.89	.73121
			Suhu 40C	Trial	Secara kimiawi	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		10	3.240
						4		10	3.240
						Total	Sum	50	14.354
							Mean	12.50	3.58650
							Std. Deviation	2.89	.40241
					Kering beku	1		15	3.937
						2		15	3.937
						3		15	3.937
						4		15	3.937
						Total	Sum	60	15.748
							Mean	15.00	3.93700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Kontrol	1		0	.707
						2		0	.707
						3		0	.707
						4		0	.707
						Total	Sum	0	2.828
							Mean	.00	.70700
							Std. Deviation	.00	.00000
					Total	Sum		110	32.930
						Mean		9.17	2.74417
						Std. Deviation		7.02	1.52640
			Total	Sum				120	43.947
				Mean				5.00	1.83113
				Std. Deviation				6.76	1.49663
	Total	Sum						3100	676.714
		Mean						16.15	3.52455
		Std. Deviation						13.04	2.06075

a. Limited to first 200 cases

Lampiran 3. Analisis varian data penelitian

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Waktu (Hari)	0		24
	1		24
	2		24
	3		24
	6		24
	12		24
	24		24
	48		24
Suhu	1	Suhu Kamar	96
	2	Suhu 4oC	96
Trial	1	Secara kimiawi	64
	2	Kering beku	64
	3	Kontrol	64

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Titer (Transformasi)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	728.533[a]	47	15.501	27.027	.000
Intercept	2385.114	1	2385.114	4158.721	.000
WAKTU	289.077	7	41.297	72.006	.000
SUHU	59.760	1	59.760	104.198	.000
TRIAL	224.760	2	112.380	195.948	.000
WAKTU * SUHU	16.113	7	2.302	4.014	.000
WAKTU * TRIAL	89.496	14	6.393	11.146	.000
SUHU * TRIAL	4.307	2	2.154	3.755	.026
WAKTU * SUHU * TRIAL	45.019	14	3.216	5.607	.000
Error	82.587	144	.574		
Total	3196.234	192			
Corrected Total	811.120	191			

a. R Squared = .898 (Adjusted R Squared = .865)

Post Hoc Tests

Waktu (Hari)

Homogeneous Subsets

Titer (Transformasi)

Duncan[a,b]

Waktu (Hari)	N	Subset 1	2	3	4	5
48	24	1.83113				
24	24	2.15838				
12	24		2.92496			
6	24		3.15025			
3	24			3.64050		
2	24			3.98196		
1	24				4.70592	
0	24					5.80333
Sig.		.134	.303	.118	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .574.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000.

b. Alpha = .05.

Trial

Homogeneous Subsets

Titer (Transformasi)

Duncan[a,b]

Trial	N	Subset 1	2	3
Kontrol	64	2.03108		
Kering beku	64		3.98303	
Secara kimiawi	64			4.55955
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .574.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 64.000.

b. Alpha = .05.

Waktu*Suhu*Trial

Titer (Transformasi)

Duncan[a]

Duncan (5%)	N	Subset for alpha = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
15	4	.70700								
21	4	.70700								
27	4	.70700								
30	4	.70700								
33	4	.70700								
36	4	.70700								
39	4	.70700								
42	4	.70700								
43	4	.70700								
45	4	.70700								
48	4	.70700								
44	4	1.34025	1.34025							
9	4	1.51450	1.51450							
38	4	1.51450	1.51450							
24	4	1.97350	1.97350	1.97350						
37	4		2.14775	2.14775						
32	4		2.32200	2.32200						
26	4			2.95525	2.95525					
20	4				3.58850	3.58850				
46	4				3.58850	3.58850				
14	4				3.67375	3.67375	3.67375			
18	4				3.93700	3.93700	3.93700	3.93700		
40	4				3.93700	3.93700	3.93700	3.93700		
41	4				3.93700	3.93700	3.93700	3.93700		
47	4				3.93700	3.93700	3.93700	3.93700		
31	4					4.30700	4.30700	4.30700	4.30700	
29	4					4.46125	4.46125	4.46125	4.46125	
35	4					4.46125	4.46125	4.46125	4.46125	
8	4						4.87775	4.87775	4.87775	
13	4							5.02550	5.02550	
17	4							5.02550	5.02550	
19	4							5.02550	5.02550	
23	4							5.02550	5.02550	
25	4							5.02550	5.02550	
28	4							5.02550	5.02550	
34	4							5.02550	5.02550	
12	4								5.27425	5.27425
1	4								5.52300	5.52300
2	4								5.52300	5.52300
4	4								5.52300	5.52300
5	4								5.52300	5.52300
7	4								5.52300	5.52300
10	4								5.52300	5.52300
11	4								5.52300	5.52300
16	4								5.52300	5.52300
22	4								5.52300	5.52300
3	4									6.36400
6	4									6.36400
Sig.		.054	.111	.095	.122	.171	.057	.102	.072	.096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

PAMERAN

- 1 JUL 2003