

1. ANTIGEN-ANTIBODY REACTIONS  
2. IMMUNOLOGY - ANIMAL MODELS

KKC  
KK

571.9677

Her

P



LAPORAN PENELITIAN  
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TAHUN ANGGARAN 2001

## PENGARUH PEMBERIAN ANTIBODI ANTI-INHIBIN TERHADAP TIMBULNYA ANTIBODI ANTI-IDIOTIPIK PADA MENCIT

Peneliti:

HERRY AGOES HERMADI, M.Si.,drh.  
SUWARNO, M.Si.,drh.  
KUSNOTO, drh.

3000261023141



### LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2001

S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 5306/J03/PG/2001

Tanggal 12 Juni 2001

Nomor Urut: 26

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember, 2001



# LEMBAGA PENELITIAN

- |  |                                       |  |
|--|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional         | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional             | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)      | 10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi                 |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Puslit Olah Raga                   |  |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)   | 8. Puslit Bioenergi                   |  |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066  
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

3000261023141

1. Judul Penelitian	: Pengaruh Pemberian Antibodi Anti-Inhibin Terhadap Timbulnya Antibodi Anti-Idiotipik Pada Mencit
a. Macam Penelitian	: <input type="checkbox"/> Fundamental <input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan
b. Kategori Penelitian	: <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III
2. Kepala Poyek Penelitian	
a. Nama lengkap dan Gelar	: Drh. Herry Agoes Hermadi, M.Si.
b. Jenis kelamin	: Laki-Laki
c. Pangkat/Golongan dan NIP	: Penata Tk.I/Gol.IIIId/131 690 437
d. Jabatan Sekarang	: Staf Pengajar
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Kedokteran Hewan
f. Univ/Ins./Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang diteliti	: Ilmu Kemajiran dan Imunologi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian	: Lab. Ilmu Kemajiran dan Lab. Virologi & Imunologi Fak. Kedokteran Hewan Unair
5. Kerjasama dengan Instansi lain	
a. Nama Instansi	: -
b. A l a m a t	: -
6. Jangka waktu penelitian	: 5 (lima) bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp. 3.500.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian	
a. Dilaksanakan Tanggal	: 4 Desember 2001
b. Hasil Penelitian	: ( ) Baik Sekali (V) Baik ( ) Sedang ( ) Kurang

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

Surabaya, 4 Desember 2001



Mengetahui/Mengesahkan  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.  
NIP 130 701125

Scan Elisa - 2001 - 034

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Hipotesis Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Inhibin .....	5
2.2 Antibodi Anti-inhibin .....	6
2.3 Struktur Immunoglobulin .....	6
2.4 Epitop pada Immunoglobulin .....	7
<b>BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....</b>	<b>9</b>
3.1 Tujuan Penelitian .....	9
3.2 Manfaat Penelitian .....	9
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>10</b>
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	10
4.2 Jenis Penelitian .....	10
4.3 Sampel Penelitian .....	10
4.4 Unit Analisis .....	10
4.5 Variabel Penelitian .....	10

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Data Lengkap Berupa Nilai OD Hasil Uji ELISA Tak-langsung dan ELISA Langsung, dengan Analisis Statistiknya .....	20

- 3) Apakah pemberian antibodi anti-inhibin kelinci secara berulang dapat menekan jumlah imunoglobulin total mencit?

### **1.3 Hipotesis Penelitian**

Beberapa hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Pemberian antibodi anti-inhibin kelinci secara berulang dapat memicu respons imun humoral berupa timbulnya antibodi anti-idiotipik pada mencit.
- 2) Terdapat persamaan epitop antara inhibin dan antibodi anti-idiotipik mencit berdasarkan reaksinya terhadap antibodi anti-inhibin kelinci.
- 3) Pemberian antibodi anti-inhibin kelinci secara berulang dapat menekan jumlah imunoglobulin total mencit.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Inhibin

Inhibin adalah hormon glikoprotein yang diproduksi oleh sel sertoli dalam tubulus seminiferus dari testis hewan jantan dan sel granulosa dari folikel pada ovarium hewan betina. Inhibin telah diketahui, memiliki berat molekul 32.000 Dalton dan terdiri dari dua ikatan peptida yang disebut sebagai subunit  $\alpha$  dan subunit  $\beta$  (Beard *et al.*, 1991).

Pada hewan jantan, inhibin dihasilkan oleh sel sertoli dan melalui umpan balik negatif akan menghambat sekresi FSH dari hipofisa anterior. Sementara, testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig akibat pengaruh *luteinizing hormone* (LH) mempunyai umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior, sehingga menghambat sekresi gonadotropin oleh hipofisa anterior (Tomaszewska dkk., 1991).

Pada hewan betina, inhibin yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa dari folikel ovarium akan menghambat sekresi *follicle stimulating hormone* (FSH) melalui umpan balik negatif terhadap hipofisa anterior, sedangkan estradiol dapat bekerja sebagai umpan balik positif pada hipotalamus. Gertakan LH menyebabkan terjadinya ovulasi dan terbentuk korpus luteum. Korpus luteum menghasilkan progesteron yang bekerja sebagai umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior sehingga, pada saat kadar progesteron tinggi di dalam darah, FSH dan LH tidak diproduksi oleh hipofisa anterior. Akibatnya pertumbuhan folikel dan proses ovulasi tidak terjadi sampai pada saat korpus luteum mengalami regresi (Tomaszewska dkk., 1991).

## 2.2 Antibodi Anti-inhibin

Antibodi anti-inhibin (AAIn) dapat dibuat dengan cara menyuntikkan inhibin pada kelinci, domba, kambing atau hewan lain. Dosis yang dianjurkan adalah 50-1000  $\mu\text{g/ekor}$ . Penyuntikan seringkali dilakukan dengan menambahkan Freund *adjuvant*. Pemanenan antisera dilakukan 10-14 hari pasca penyuntikan (Knight *et al.*, 1988).

Penggunaan AAIIn dosis tinggi dapat mendorong terjadinya peningkatan pelepasan FSH dalam darah, sehingga akan merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium, dan selanjutnya menyebabkan sekresi estradiol (Campbell *et al.*, 1991).

Antibodi anti-inhibin dapat digunakan untuk superovulasi, karena dapat memacu hipofisa anterior untuk menghasilkan FSH dan LH, sehingga merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium. Mekanisme terjadinya peningkatan jumlah folikel yang mengalami ovulasi sama dengan terjadinya peningkatan FSH-LH endogen (Glencross *et al.*, 1994; Taya *et al.*, 1996).

## 2.3 Struktur Immunoglobulin

Imunoglobulin (Ig) merupakan molekul glikoprotein yang mempunyai aktivitas antibodi. Molekul Ig tersusun dari 82-96% polipeptida dan 4-18% karbohidrat. Aktivitas biologik Ig terletak pada komponen polipeptidanya (Subowo, 1993).

Molekul Ig terdiri atas dua rantai berat (*heavy chain*, H) dan dua rantai ringan (*light chain*, L), yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Di dekat ikatan sulfida antar rantai H terdapat bagian Ig yang bersifat lentur yang dinamakan engsel (*hinge*). Pada rantai H atau L terdapat penggal-penggal

rangkaian asam amino yang dipisahkan oleh ikatan sulfida intra-rantai yang disebut *domain*. Pada setiap rantai Ig dibedakan menjadi dua daerah atau regio. Daerah ujung rantai dekat gugus  $-NH_2$  susunan asam aminonya beragam dan disebut regio variabel (V), sedangkan daerah ujung dekat gugus  $-COOH$  mempunyai susunan asam amino yang relatif tetap disebut regio konstan (C) (Gorman dan Halliwell, 1989; Goodman, 1996).

Berdasarkan struktur rantai H, Ig dibedakan menjadi lima kelas, yakni rantai  $\gamma$  membentuk kelas IgG, rantai  $\mu$  membentuk kelas IgM, rantai  $\alpha$  membentuk kelas IgA, rantai  $\delta$  membentuk kelas IgD, dan rantai  $\epsilon$  membentuk kelas IgE. Dalam setiap kelas masih dijumpai subkelas. Pada rantai kelas IgG terdiri dari subkelas IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3, sedangkan kelas IgM, IgA, IgD dan IgE tidak dibedakan menjadi subkelas. Pada rantai L terdiri dari rantai  $\kappa$  atau  $\lambda$ , dan rantai inilah yang menentukan tipe dan subtipe Ig (Kerr, 1994).

#### 2.4 Epitop pada Imunoglobulin

Molekul Ig memiliki tiga jenis epitop, yaitu isotip, alotip dan idiotip. Isotip merupakan epitop yang menentukan kelas dan subkelas antibodi apabila terletak pada rantai H dari regio C, dan akan menentukan tipe dan subtipe apabila terletak pada rantai L dari regio C. Pemindahan pasif antibodi anti- $\gamma$  atau antibodi anti- $\alpha$  akan mengganggu produksi IgG atau IgA (Subowo, 1993; Herscovitz, 1993).

Alotip merupakan epitop yang bersifat polimorfik dan akan diwariskan menurut hukum Mendel. Epitop ini ditemukan tidak pada setiap kelas yang ada dan biasanya terdapat pada regio C. Apabila alotip terdapat pada rantai  $\gamma$ ,



maka setiap alotip merupakan nomenklatur Gm1, Gm2, Gm3 dan sebagainya, sedangkan apabila terletak pada rantai  $\kappa$ , maka alotipnya diberi lambing Km1, Km2 dan sebagainya. Penyuntikan antibodi paternal menyebabkan supresi munculnya molekul Ig yang membawa alotip paternal (Subowo, 1993; Herscowitz, 1993).

Idiotip merupakan molekul epitop yang terdapat pada regio V yang memberikan cirri khas antibodi tersebut. Oleh karena idiotip merupakan epitop yang terdapat pada daerah pengikat antigen, maka apabila idiotip ini menimbulkan respons imun humoral, struktur spesifisitas antibodi yang terbentuk (anti-idiotip) akan mirip dengan epitop antigen penyebab antibodi pertama. Pemberian antibodi lawan determinan idiotip dapat menekan produksi Ig yang membawa determinan idiotip tertentu (Subowo, 1993; Herscowitz, 1993).

Menurut Poskitt *et al.* (1992) idiotip terdiri dari beberapa idiotop. Idiotop ada yang terletak pada *combining site* dari molekul Ig yang disebut paratop, atau terdapat pada bagian lain dari regio V yang disebut *region framework*. Diperkirakan terdapat 15-20 idiotop pada setiap idiotip dalam satu molekul antibodi, atau satu dari 15-20 reseptor limfosit B memiliki reseptor yang spesifik terhadap idiotop, yang dapat berikatan dengan idiotip antibodi.

## **BAB 3**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1 Tujuan Penelitian**

Beberapa tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Untuk membuktikan pemberian antibodi anti-inhibin kelinci secara berulang dapat memicu pembentukan antibodi anti-idiotipik mencit.
- 2) Untuk membuktikan adanya persamaan antigenik antara inhibin dan antibodi anti-idiotipik mencit berdasarkan reaksinya terhadap antibodi anti-inhibin kelinci.
- 3) Untuk membuktikan pemberian antibodi anti-inhibin kelinci dapat menekan jumlah imunoglobulin pada mencit.

#### **3.2 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lengkap mengenai penggunaan antibodi anti-inhibin sebagai bahan pemicu superovulasi untuk meningkatkan efisiensi reproduksi. Disamping itu juga memberikan sumbangan ilmu pengetahuan bagi perkembangan ilmu di Indonesia, khususnya mengenai pengaruh antibodi anti-inhibin terhadap timbulnya antibodi anti-idiotipik.

## **BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN**

### **4.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama lima bulan, mulai bulan Agustus 2001 sampai Desember 2001, bertempat di Laboratorium Ilmu Kemajira dan di Laboratorium Virologi & Imunologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

### **4.2 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *randomized posttest only control group design* untuk pengujian terhadap antibodi (Zainudin, 2000).

### **4.3 Sampel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan sampel berupa kelinci sebanyak 5 ekor dan mencit Balb/c sebanyak 50 ekor.

### **4.4 Unit Analisis**

Penelitian ini menggunakan unit analisis berupa antibodi anti-idiotipik (AAId) dalam serum mencit yang diambil dua minggu pasca injeksi antibodi anti-inhibin (AAIn) pada frekuensi 1 kali, 2 kali, 3 kali, dan 4 kali.

### **4.5 Variabel Penelitian**

Sebagai variabel kendali dalam penelitian adalah umur dan asal mencit. Sebagai variabel bebas adalah antibodi anti-inhibin (AAIn). Sebagai variabel

tergantung adalah antibodi anti-idiotipik (AAId) dalam serum mencit, yang diukur dengan uji ELISA langsung dan tak langsung.

#### **4.6 Metode Penelitian**

Penelitian ini dibagi menjadi lima tahap sebagai berikut.

##### **4.6.1 Pembuatan antibodi anti-inhibin**

Antibodi anti-inhibin dibuat dengan cara menyuntikkan inhibin pada 5 ekor kelinci dengan dosis 50 µg/ekor sebanyak 5 kali dengan interval waktu satu minggu. Tiga minggu setelah penyuntikan terakhir dilakukan pengambilan serum untuk penentuan titer antibodi berdasarkan teknik ELISA tak langsung (Harlow dan Lane, 1988).

##### **4.6.2 Pemberian perlakuan**

Sebagai hewan coba digunakan mencit Balb/c betina umur 8 minggu sebanyak 40 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok 1, diinjeksi dengan antibodi anti-inhibin pada pengenceran 1 : 10 secara subkutan dengan dosis 0,2 ml/ekor sebanyak satu kali; kelompok 2, pada dosis yang sama dengan injeksi sebanyak dua kali; kelompok 3, sebanyak tiga kali; dan kelompok 4, empat kali. Interval pemberian adalah 2 minggu. Sebelum perlakuan semua mencit dilakukan sinkronisasi birahi dengan preparat hormon PMSG pada dosis 0,25 mg/ekor untuk mendapatkan fase birahi yang sama.

##### **4.6.3 Pengukuran antibodi anti-idiotipik dengan ELISA tak langsung**

Dua minggu pasca penyuntikan antibodi anti-inhibin dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan terhadap adanya antibodi anti-idiotipik. Pemeriksaan dilakukan dengan uji ELISA tak langsung dengan cara mereaksikan antibodi anti-idiotipik (sebagai antigen) pada pengenceran 1:1000 dengan antibodi anti-inhibin pada pengenceran 1:100,

menggunakan konjugat *rabbit anti-mouse* Ig G yang dilabel dengan enzim alkalin fosfatase (Harlow dan Lane, 1988). Sebagai kontrol digunakan serum mencit normal (SMN), serum ayam normal (SAN), dan fosfat bufer salin (PBS)

#### 4.6.4 Pengujian kesamaan antigenik

Adanya kesamaan antigenik antara inhibin dengan antibodi anti-idiotipik dilakukan dengan uji ELISA tak langsung dengan cara mereaksikan inhibin (sebagai antigen) dengan antibodi anti-inhibin yang dibandingkan dengan reaksi antara antibodi anti-idiotipik (sebagai antigen) dengan antibodi anti-inhibin. Inhibin pada kadar 5 µg/ml atau antibodi anti-idiotipik mencit perlakuan pada kadar yang sama direaksikan dengan antibodi anti-inhibin dari kelinci pada pengenceran 1:100. Konjugat yang digunakan adalah *goat anti rabbit* IgG yang dilabel dengan enzim alkalin fosfatase. Adanya kesamaan didasarkan atas besarnya nilai *optical density* (OD) yang terdeteksi.

#### 4.6.5 Pengujian jumlah imunoglobulin total dengan ELISA langsung

Dua minggu pasca penyunyikan AAIn pada setiap frekuensi dilakukan pemeriksaan jumlah Ig total. Antibodi anti-idiotipik (imunoglobulin) mencit perlakuan di-coating pada mikrolat dengan pengenceran 1 : 1000. Konjugat yang digunakan adalah *rabbit anti- mouse* IgG yang dilabel dengan enzim alkalin fosfatase (Harlow dan Lane, 1988). Sebagai kontrol digunakan imunoglobulin dari SMN, SAN, dan PBS.

#### 4.7 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group design* (Zainuddin, 2000). Data yang terkumpul dianalisis dengan uji Anova untuk pengujian antibodi anti-idiotipik dan uji t untuk pengujian kesamaan antigenik dari *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) rel. 10 for Windows (Santoso, 2001).



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan 5.2. Tabel 5.1 menunjukkan nilai OD hasil uji banding kemiripan epitop AAId mencit dengan epitop inhibin yang direaksikan dengan AAIn kelinci menggunakan konjugat anti-kelinci pada uji ELISA langsung. Nilai OD yang terbaca dari hasil reaksi antara AAId (pasca injeksi berulang dengan AAIn, sebagai Ag) dengan AAIn (sebagai Ab) pada frekuensi injeksi satu kali sebesar  $1,526 \pm 0,015$ , dua kali sebesar  $1,528 \pm 0,076$ , tiga kali sebesar  $1,528 \pm 0,014$  dan empat kali sebesar  $1,529 \pm 0,015$ . Sementara nilai OD hasil reaksi antara inhibin dengan AAIn menunjukkan angka sebesar  $1,516 \pm 0,015$ . Secara statistik antar kelima perlakuan tidak terdapat perbedaan nyata ( $p > 0,05$ ). Pada Tabel 5.1 juga ditunjukkan hasil reaksi antara serum mencit normal (SMN) dan serum ayam normal (SAN) sebagai kontrol negatif dengan AAIn kelinci yang menunjukkan nilai OD masing-masing sebesar  $0,018 \pm 0,001$  dan  $0,019 \pm 0,002$ , dan kontrol PBS dengan OD sebesar  $0,013 \pm 0,001$ .

**Tabel 5.1 Nilai OD Hasil Uji Banding Kemiripan Epitop AAId (Pasca Injeksi Berulang dengan AAIn) dengan Epitop Inhibin pada Uji ELISA Tak-langsung**

Item	OD rata-rata kemiripan epitop
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 1 kali	$1,526 \pm 0,015$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 2 kali	$1,528 \pm 0,076$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 3 kali	$1,528 \pm 0,014$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 4 kali	$1,529 \pm 0,095$
Inhibin	$1,516 \pm 0,015$
Serum mencit normal (SMN)	$0,018 \pm 0,001$
Serum ayam normal (SAN)	$0,019 \pm 0,002$
Phosphate buffer saline (PBS)	$0,013 \pm 0,001$

OD: optical density; AAId: antibodi anti-idotipik

Pada Tabel 5.2 ditunjukkan hasil pengujian pengaruh pemberian AAIn kelinci terhadap jumlah imunoglobulin (Ig) total mencit pada uji ELISA langsung. Nilai OD yang terbaca dari jumlah Ig total mencit akibat pemberian AAIn satu kali sebesar  $1,548 \pm 0,086$ , dua kali sebesar  $1,583 \pm 0,047$ , tiga kali sebesar  $1,630 \pm 0,042$  dan empat kali sebesar  $1,637 \pm 0,020$ . Sementara jumlah Ig total pada SMN menunjukkan nilai OD sebesar  $1,627 \pm 0,032$ .

Pada penelitian ini injeksi AAIn kelinci pada mencit sebanyak satu kali dapat menekan jumlah Ig total. Pada injeksi kedua jumlah Ig total berangsur-angsur meningkat, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan ( $p > 0,05$ ) dengan injeksi yang pertama. Jumlah Ig total pada injeksi ketiga dan keempat relatif sama, tetapi berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan injeksi pertama.

**Tabel 5.2 Nilai OD Hasil Pengujian Pengaruh Pemberian AAIn Kelinci terhadap Jumlah Imunoglobulin (Ig) Total Mencit pada Uji ELISA Langsung**

Item	OD rata-rata jumlah Ig total
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 1 kali	$1,548^c \pm 0,086$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 2 kali	$1,583^{bc} \pm 0,047$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 3 kali	$1,630^{ab} \pm 0,042$
Antibodi anti-inhibin (AAIn) 4 kali	$1,637^a \pm 0,020$
Serum mencit normal (SMN)	$1,627^{ab} \pm 0,032$
Serum ayam normal (SAN)	$0,018 \pm 0,002$
<i>Phosphate buffer saline</i> (PBS)	$0,013 \pm 0,001$

<sup>a, b, c</sup> Superskrip berbeda pada kolom sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini AAIn kelinci yang diberikan secara subkutan pada mencit dapat bertindak sebagai imunogen, sehingga dapat memicu timbulnya AAId. Imunoglobulin kelinci dengan berat molekul 140-900 kDa adalah imunogen kuat, yang secara nyata dapat membangkitkan respons imun. Akibat injeksi Ig kelinci akan

menimbulkan antibodi terhadap  $\gamma$ -globulin, rantai H + (A, G, M) +L, rantai H + L IgG, rantai H IgG, Fab'<sub>2</sub> IgG, rantai H IgA, Ig A + *secretory component*, rantai H + L IgM, rantai H IgM dan terhadap rantai L (Gorman dan Halliwell, 1989; Kerr, 1994).

Adanya perbedaan spesies menyebabkan AAIn kelinci sangat dianggap asing oleh sistem imun mencit, sehingga pemberian dengan frekuensi satu kali sudah mampu memicu timbulnya AAId. Secara nyata dapat digambarkan, bahwa AAId yang terbentuk akibat injeksi AAIn, baik dengan frekuensi satu, dua, tiga atau empat kali, pada bagian idiotip-nya memiliki struktur yang sama dengan bagian epitop pada inhibin. Hal ini dibuktikan dengan nilai OD hasil reaksi antara AAId mencit (sebagai Ag) dengan AAIn kelinci (sebagai Ab) menunjukkan tidak adanya perbedaan ( $p > 0,05$ ) dengan nilai OD hasil reaksi antara inhibin dengan AAIn. Sementara SMN tidak menunjukkan reaksi dengan AAIn kelinci (Tabel 5.1). Goodman (1996) menyatakan, penyuntikan antibodi (Ab1) akan menimbulkan respons imun humoral dan AAId (Ab2) yang terbentuk akan memiliki struktur pada bagian idiotipnya yang mirip dengan epitop antigen penyebab Ab1 tersebut.

Pada penelitian ini pemberian AAIn kelinci pada mencit juga menimbulkan respons berupa penurunan jumlah Ig total (Tabel 5.2). Mengingat AAIn kelinci yang diberikan masih bercampur dengan Ig lainnya, sehingga pemberiannya dapat menimbulkan AAId non-spesifik yang pada akhirnya dapat menetralkan Ig mencit dan terjadilah penurunan jumlah Ig total. Namun demikian penurunan ini hanya bersifat sementara (hanya terjadi pada injeksi pertama) dan diduga tidak berhubungan dengan memori imunologik. Herscowitz (1993) menyatakan, pemberian antibodi lawan determinan idiotip dapat menekan produksi Ig yang membawa determinan tersebut. Hal ini



dapat terjadi akibat pemberian dosis tinggi dan menyebabkan supresi yang bersifat sementara.

Pada penelitian lain Hermadi (2001) menunjukkan, bahwa pemberian AAIn kelinci pada tikus putih pada pengenceran 1:10 dengan dosis 0,2 ml/ekor menghasilkan jumlah sel telur optimal. Namun demikian perlu dipikirkan penggunaan AAIn yang berasal dari satu spesies, mengingat AAIn yang berasal dari spesies berbeda dapat menimbulkan AAId yang begitu cepat.

## **BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut.

- 1) Pemberian antibodi anti-inhibin kelinci secara berulang dapat memicu pembentukan antibodi anti-idiotipik mencit.
- 2) Terdapat persamaan antigenik antara inhibin dan antibodi anti-idiotipik mencit berdasarkan reaksinya terhadap antibodi anti-inhibin kelinci.
- 3) Pemberian antibodi anti-inhibin kelinci dapat menekan jumlah imunoglobulin pada mencit.

### **6.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut: 1) pada pemberian antibodi anti-inhibin pada spesies yang berbeda sebaiknya perlu dipikirkan interval pemberiannya untuk mengurangi timbulnya antibodi anti-idiotipik; 2) perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh antibodi anti-inhibin terhadap timbulnya antibodi anti-idiotipik pada spesies yang sama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 1997. Cellular and Molecular Immunology. Saunders Company.
- Beard, AJ., N. Groome, and PG. Knight. 1991. Estimation of immunoreactive (IR) inhibin concentration in bovine ovarian follicle using a level 2-site immunoradiometric assay (IRMA) specific for dimeric inhibin. *J. Reprod. Fertil.* 40: 25.
- Butler, JE., H. Heyermann, M. Borca, M. Bielecka, and LV. Frenyo. 1987. The isotypic, allotypic and idiotypic heterogeneity of bovine. *In: Veterinary Immunology and Immunopathology.* 17: 1-16.
- Campbell, BK., RJ. Scaramuzzi, BM. Gordon, CG. Tsonis, and JA. Downing. 1991. Immunization against inhibin increases FSH level, oestradiol secretion and follicular development. *J. Reprod. Fertil.* Abstract.
- Findlay, JK., BW. Doughton, CG. Tsonis, RW. Brown, JW. Hungerford, PE. Greenwood, and RG. Forage. 1993. Inhibin as a fecundity vaccine. *J. Anim. Reprod. Sci.* 33: 324-325.
- Glencross, RG., ECL. Bleach, SC. Wood, and PG. Knight. 1994. Active immunization of heifers against inhibin, effect on plasma concentration of gonadotropin, steroid and ovarian follicular dynamics during prostaglandin synchronized cycles. *J. Reprod. Fertil.* 100: 599-605.
- Goodman, JW. 1996. Immunoglobulin structure and function. *In: Basic and Clinical Immunology.* 7<sup>th</sup> ed. A Lange Medical Book. Prentice Hall International, Inc. (UK) Limited. London.
- Gorman, NT., and REW. Halliwell. 1989. The immunoglobulins: structure, genetics, and function. *In: Veterinary Clinical Immunology.* WB. Saunders Company, Philadelphia. pp. 19-54.
- Harlow, E. and D. Lane. 1988. Antibodies. A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Hermadi, HA. 2001. Uji potensi biologis antibodi poliklonal anti-inhibin pada tikus putih. Thesis. Pascasarjana, Unair. Surabaya.
- Herscowitz, MB. 1993. Imunofisiologi: Fungsi sel dan interaksi seluler dalam pembentukan antibodi. Dalam: Immunologi III. JA. Bellanti. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 126-172.
- Janeway, C.A. Jr., P. Travers, M. Walport, and J.D. Capra. 1999. Immunobiology. The immune system in health and disease. 4<sup>th</sup> ed. Elsevier Science Ltd/Garland Publishing. New York, US.
- Kaneko, H., Y. Nakanishi, S. Akagi, K. Arai, K. Taya, G. Watanabe, S. Sasamoto, and Y. Hasegawa. 1995. Immunoneutralization of inhibin and oestradiol during the follicular phase of the oestrous cycle in cows. *Biol. Reprod.*

- Kerr, MA. 1994. Antibodies recognizing immunoglobulins. *In: Immunochimistry*. MA. Kerr and R. Troope (Eds). Bios Scientific Publishers, Oxford, UK. pp. 43-62.
- Knight, PG., AJ. Beard, JHM. Wrathall, and RJ. Castillo. 1988. Evidence that the bovine ovary secretes large amounts of monomeric inhibin  $\alpha$  subunit and its isolation from bovine follicular fluid. *J. Molecular Endocrinology*. 2: 189-200.
- Poskitt, D., M. Killing, B. Jean-Francois, S. Turnbull, L. MacDonald, and D. Yasmeen. 1992. Anti-idiotypic vaccines in theory and practice. *Today's Life Science*. 4: 44-49.
- Santoso, S. 2001. *Mengolah Data Statistik Secara Profesional*. SPSS versi 10. Penerbit PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Subowo, 1993. *Imunobiologi*. Penerbit Angkasa Bandung. Hal. 75-89.
- Taya, K., H. Kaneko, T. Takedomi, H. Kishi, and G. Watanabe. 1996. Role of inhibin in regulation of FSH secretion on folliculogenesis in cows. *J. Anim. Reprod. Sci*. 42: 563-570.
- Tomaszewska, MW., IK. Utama, IG. Putu, dan TD. Chaniago. 1991. *Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wigzell, H. 1987. Regulation of immunity by anti idiotypic antibodies. *In: Vet. Immunology and Immunopathology*. 17: 1-16.
- Zainuddin, M. 2000. *Metodologi Penelitian*. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga.

## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			ELISA langsung	ELISA tak langsung
Frek. Injeksi	1 x	1	1.621	1.507
		2	1.489	1.528
		3	1.471	1.509
		4	1.599	1.505
		5	1.525	1.522
		6	1.566	1.535
		7	1.375	1.531
		8	1.637	1.533
		9	1.652	1.540
		10	1.545	1.548
	Total	N	10	10
		Sum	15.480	15.258
		Mean	1.54800	1.52580
		Std. Deviation	8.6196E-02	1.4703E-02
	2 x	1	1.478	1.500
		2	1.545	1.474
		3	1.592	1.489
		4	1.614	1.491
		5	1.611	1.502
		6	1.621	1.499
		7	1.598	1.557
		8	1.612	1.735
		9	1.616	1.504
		10	1.539	1.528
	Total	N	10	10
		Sum	15.826	15.279
		Mean	1.58260	1.52790
		Std. Deviation	4.6938E-02	7.6284E-02
	3 x	1	1.647	1.500
		2	1.647	1.516
		3	1.624	1.516
		4	1.631	1.525
		5	1.651	1.528
		6	1.658	1.541
		7	1.659	1.538
		8	1.610	1.540
		9	1.649	1.536
		10	1.520	1.539
	Total	N	10	10
		Sum	16.296	15.279
		Mean	1.62960	1.52790
		Std. Deviation	4.1554E-02	1.3658E-02

Case Summaries<sup>a</sup>

			ELISA langsung	ELISA tak langsung
Frek. Injeksi 4 x	1		1.633	1.516
	2		1.637	1.515
	3		1.648	1.532
	4		1.629	1.545
	5		1.655	1.524
	6		1.596	1.536
	7		1.617	1.536
	8		1.657	1.524
	9		1.660	1.528
	10		1.636	1.534
	Total	N	10	10
	Sum	16.368	15.290	
	Mean	1.63680	1.52900	
	Std. Deviation	1.9820E-02	9.4516E-03	
SMN (Inhibin)	1		1.587	1.499
	2		1.632	1.540
	3		1.585	1.521
	4		1.586	1.504
	5		1.669	1.516
	6		1.659	1.498
	7		1.650	1.541
	8		1.646	1.520
	9		1.647	1.505
	10		1.609	1.516
	Total	N	10	10
	Sum	16.270	15.160	
	Mean	1.62700	1.51600	
	Std. Deviation	3.2441E-02	1.5348E-02	
Total	N	50	50	
	Sum	80.240	76.266	
	Mean	1.60480	1.52532	
	Std. Deviation	5.9548E-02	3.5010E-02	

a. Limited to first 100 cases.



Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ELISA langsung	Between Groups	5.851E-02	4	1.463E-02	5.712	.001
	Within Groups	.115	45	2.561E-03		
	Total	.174	49			
ELISA tak langsung	Between Groups	1.139E-03	4	2.849E-04	.218	.927
	Within Groups	5.892E-02	45	1.309E-03		
	Total	6.006E-02	49			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ELISA langsung

Duncan<sup>a</sup>

Frek. Injeksi	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
1 x	10	1.54800		
2 x	10	1.58260	1.58260	
SMN	10		1.62700	1.62700
3 x	10		1.62960	1.62960
4 x	10			1.63680
Sig.		.133	.055	.687

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ELISA tak langsung

Duncan<sup>a</sup>

Frek. Injeksi	N	Subset for alpha = .05
		1
Inhibin	10	1.51600
1 x	10	1.52580
2 x	10	1.52790
3 x	10	1.52790
4 x	10	1.52900
Sig.		.482

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

1 JUL 2003

PAMERAN