

KK
KCC
571.9688
Tja
P.



LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

PERBANDINGAN KOMLEMEN ASAL IKAN AIR TAWAR DAN CAVIA UNTUK MENENTUKAN TITER CF-ANTIBODI

Peneliti:

Ir. WAHJU TJAHJANINGSIH, M.Si.
Drh. NANIK SIANITA, SU.



015404141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2002

S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4879/J03/PG/2001

Tanggal 7 Juni 2002

Nomor Urut: 10

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2002



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

1. Judul Penelitian : Perbandingan Komplemen Asal Ikan Air Tawar dan Cavia Untuk Menentukan Titer Cf-Antibodi
- a. Macam Penelitian : Fundamental Terapan Pengembangan
- b. Kategori Penelitian : I II III
2. Kepala Poyek Penelitian
- a. Nama lengkap dan Gelar : Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Tk.I (Gol. III/d) 131 569 345
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Kedokteran Hewan
- f. Univ/Ins./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu yang diteliti : Imunologi
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 (dua) orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Virologi dan Imunologi FKH Unair
5. Kerjasama dengan Instansi lain
- a. Nama Instansi : -
- b. Alamat : -
6. Jangka waktu penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 4.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 14 Februari 2003
- b. Hasil Penelitian : () Baik Sekali (V) Baik
() Sedang () Kurang

Surabaya, 14 Februari 2003



Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,
Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
NIP 130 701 125

RINGKASAN

PERBANDINGAN KOMPLEMEN ASAL IKAN AIR TAWAR DAN CAVIA UNTUK MENENTUKAN TITER CF - ANTIBODI (Wahju Tjahjaningsih, Nanik Sianita, 2002, 22 halaman).

Complement fixation test (CFT) atau uji pengikatan komplemen merupakan cara untuk menentukan antigen atau antibodi yang hanya bereaksi bila ada komplemen. Antibodi dicampur dengan antigen dan komplemen, dimana komplemen akan diikat kompleks antigen-antibodi. Bila tidak terjadi ikatan komplemen, maka komplemen akan ditemukan bebas dalam larutan. Adanya komplemen bebas tersebut dapat diperlihatkan dengan menambahkan sel darah merah dan hemolisin. Lisis sel darah merah akan terjadi atas pengaruh komplemen yang bebas tersebut. Serum yang mengandung komplemen dengan titer yang tinggi adalah serum dari cavia, walaupun demikian perlu dikaji lebih lanjut bagaimana komplemen dalam serum ikan air tawar untuk digunakan dalam reaksi CFT.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui titer hemolisin dan titer komplemen serta membandingkan titer CF - antibodi bila komplemen yang digunakan berasal dari serum ikan air tawar dan cavia.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dan sebagai perlakuan adalah sumber komplemen, yaitu dari serum cavia, ikan mas, nila, dan gurami. Masing-masing perlakuan mendapat ulangan sebanyak 4 kali.

Sebagai model dalam penelitian ini digunakan antibodi *Aeromonas hydrophila* yang diperoleh dari ikan mas yang telah mendapat pemaparan bakterin *A. hydrophila* dosis 10^8 sel/ml dengan metode perendaman selama satu jam. Sebelum diukur titernya, serum dinaktifkan pada suhu 56°C selama 30 menit untuk menghilangkan komplemennya. Untuk menentukan titer antibodi *A. hydrophila* yang terkandung dalam serum ikan mas dengan uji CF, terlebih dahulu dilakukan pengukuran titer hemolisin, titer komplemen serta uji anti komplementair untuk mengetahui daya anti komplemen yang ditimbulkan oleh antigen dan antibodi. Titer antibodi ditentukan dari pengenceran tertinggi dari antibodi yang masih dapat mengikat antigen dan komplemen yang menyebabkan tidak terjadinya lisis dari eritrosit domba oleh komplemen.

Data titer hemolisin ditransformasi ke logaritma, data titer komplemen hasil dari titrasi komplemen dan uji anti komplementair, serta data titer CF - antibodi ditransformasi ke akar kuadrat ($Y + 1/2$) dan selanjutnya dilakukan analisis varian.

Bila sumber komplemen memberikan pengaruh yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa rata-rata titer hemolisin lebih tinggi bila komplemen yang digunakan berasal dari serum ikan air tawar dibanding komplemen cavia. Sebaliknya rata-rata titer komplemen cavia lebih tinggi dibanding komplemen ikan air tawar, sedangkan pada titer CF -antibodi *A. hydrophila* bila digunakan komplemen dari serum cavia dan ikan air tawar yang sudah distandardisasi ternyata tidak terdapat perbedaan nyata.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi setiap minggu titer CF - antibodi serum ikan setelah pemaparan suatu antigen, untuk mengetahui kapan titer CF - antibodi serum mencapai puncaknya.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya, sehingga laporan penelitian yang berjudul : **Perbandingan Komplemen Asal Ikan Air Tawar dan Cavia Untuk Menentukan Titer CF-Antibodi** dapat terwujud.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi perkembangan imunologi ikan, serta dapat memberikan gambaran peranan dari komplemen sebagai bagian dari sistem imun non spesifik dalam interaksi antigen-antibodi *in vitro*.

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada : Prof, Dr. Med. Puruhito selaku Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Sarmanu, MS selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Ismudiono, MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Akhirnya dengan segala ketulusan hati, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan penulisan laporan ini. Harapan kami, laporan penelitian ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Desember 2002

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	2
I.3 Hipotesis Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
III.1 Tujuan Penelitian	7
III.2 Manfaat Penelitian	7
IV. METODE PENELITIAN	8
IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	8
IV.2 Tahap Persiapan	8
IV.3 Tahap Penelitian	9
IV.4 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	10
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
V.1 Hasil Penelitian	11
V.2 Pembahasan	14
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	17
VI.1 Kesimpulan	17
VI.2 Saran	17
DAFTAR PUSTAKA	18
LAMPIRAN	19

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Titer Hemolisin dengan Sumber Komplemen Berbeda	11
2. Data Titer Komplemen Hasil Titration Komplemen dan Uji Anti - Komplemen dengan Sumber Komplemen Berbeda	12
3. Data Titer CF - Antibodi <i>A. hydrophila</i> (Log 2) dengan Sumber Komplemen Berbeda	13

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Pengujian Statistik Data Titer Hemolisin (Transformasi ke Logaritma)	20
2.	Pengujian Statistik Data Titer Komplemen Hasil Titrasi Komplemen dan Uji Anti Komplementair (Transformasi ke Akar Kuadrat $Y + 1/2$)	21
3.	Pengujian Statistik Data Titer CF - Antibodi (Log 2) (Transformasi ke Akar Kuadrat $Y + 1/2$)	22

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Keberhasilan dalam pengendalian penyakit pada ikan sangat tergantung pada ketepatan diagnosa penyakit tersebut. Uji serologik merupakan salah satu cara yang dapat dipercaya untuk peneguhan diagnosa. Selain dapat menentukan penyebab infeksi, uji serologik juga dapat digunakan untuk mengukur zat kebal yang terdapat di dalam serum. Beberapa macam uji serologik telah banyak dikenal mulai dari yang sederhana dan tidak memerlukan bahan reagen yang mahal, seperti uji aglutinasi, *complement fixation test* (CFT) hingga yang memerlukan bahan reagen yang mahal, seperti : *enzyme linkage immunosorbent assay* (Elisa), *fluorescence antibody technique* (FAT), imunoperoksidase, *dot immunoassay*. Dari beberapa macam uji serologik tersebut, CFT atau uji pengikatan komplemen menjadi salah satu alternatif dari uji serologik yang dapat digunakan, karena selain akurat, bahan reagen untuk CFT jauh lebih murah.

Complement fixation test atau uji pengikatan komplemen merupakan cara untuk menentukan antigen atau antibodi yang hanya bereaksi bila ada komplemen. Antibodi dicampur dengan antigen dan komplemen, dimana komplemen akan diikat kompleks antigen-antibodi. Bila tidak terjadi ikatan komplemen, maka komplemen akan ditemukan bebas dalam larutan. Adanya komplemen bebas tersebut dapat diperlihatkan dengan menambahkan sel darah



merah dan hemolisin. Lisis sel darah merah akan terjadi atas pengaruh komplemen yang bebas tersebut (Baratawidjaja, 1996).

Komplemen memegang peranan penting dalam membantu antibodi untuk mengadakan lisis baik terhadap bakteri, virus maupun eritrosit. Serum yang digunakan dalam reaksi CFT dapat diperoleh tidak hanya dari kelinci saja, melainkan dari hewan lainnya juga dapat membantu hemolisin untuk menghemolisis eritrosit. Serum normal dari berbagai hewan tidak sama daya komplementairnya. Menurut Ernawati dkk (1996), serum yang terbaik adalah serum dari cavia, sebab komplemennya dapat mencapai titer yang tinggi, artinya dengan pengenceran yang tinggi masih dapat membantu hemolisin untuk melisiskan eritrosit domba. Walaupun serum cavia mengandung komplemen dengan titer yang tinggi, tetapi perlu dikaji lebih lanjut bagaimana komplemen dalam serum ikan air tawar untuk digunakan dalam reaksi CFT.

1.2 Perumusan Masalah

Bertolak dari latar belakang masalah yang telah diuraikan sebelumnya, maka dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat perbedaan titer hemolisin bila komplemen yang berfungsi membantu hemolisin melisiskan eritrosit tersebut berasal dari serum ikan air tawar dan cavia ?
2. Apakah terdapat perbedaan titer komplemen dari serum yang berasal dari ikan air tawar dan cavia ?
3. Apakah terdapat perbedaan titer CF - antibodi bila digunakan komplemen dari serum ikan air tawar dan cavia ?

L3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah tersebut di atas, maka hipotesis yang diajukan adalah :

- 1. Terdapat perbedaan titer hemolisin bila komplemen yang digunakan berasal dari serum ikan air tawar dan cavia.**
- 2. Terdapat perbedaan titer komplemen dari serum yang berasal dari ikan air tawar dan cavia.**
- 3. Terdapat perbedaan titer CF - antibodi bila digunakan komplemen dari serum ikan air tawar dan cavia.**

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Uji pengikatan komplemen (*complement fixation test*, CFT) sangat berperan dalam diagnosis penyakit infeksi selama hampir satu abad. Meskipun sudah ada teknik sero-diagnosis baru yang lebih cepat dan sensitif, tetapi CFT masih tetap penting sebagai standard referensi untuk laboratorium klinik terutama dalam bidang virologik klinik (Swack *et al.*, 1992). Hasil penelitian Diaz *et al* (1994) tentang evaluasi beberapa uji serologik untuk diagnosis dini *Brucella meliencis* pada kambing menunjukkan bahwa sensitivitas Rose Bengal Test, CFT dan Elisa 100 %, Radial Imunodifusi 94 %, Counter Immunoelektrophoresis 93 %, sedangkan spesifisitas semua uji tersebut adalah 100 %.

Menurut Tizard (1988), uji pengikatan komplemen (CFT) paling luas digunakan dari semua teknik imunologi. Nilai akhir sangat mudah dibaca dan tidak seperti uji hemaglutinasi, tidak tergantung akan pengendapan eritrosit dan kurang dipengaruhi oleh prozon. Selain itu, uji ini tidak tergantung pada tersedianya suspensi antigen yang dimurnikan. Kekurangan yang paling penting dari uji ini adalah kerumitannya, terutama mengenai standardisasi dan penyediaan reagen yang diperlukan.

Uji pengikatan komplemen (CFT) didasarkan atas reaksi yang terdiri atas 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). Banyaknya komplemen yang tidak dikonsumsi pada reaksi tahap



pertama dan yang mengakibatkan hemolisis pada reaksi tahap kedua secara tidak langsung merupakan parameter untuk antibodi atau antigen yang diuji (Kresno, 1996).

Prosedur uji pengikatan komplemen (CFT) menuntut pembakuan yang seksama, karena pada umumnya tidak stabil, demikian pula hemolisin seringkali menunjukkan variasi imunokimia. Untuk mendapatkan hasil yang bisa dipercaya, semua reaktan yang diperlukan harus disesuaikan satu dengan yang lain dan berada dalam jumlah atau titer yang optimal, dengan cara terlebih dahulu melakukan uji pendahuluan untuk menstandarisasi titer hemolisin dan titer komplemen yang dipakai pada sistem yang terlibat pada uji pengikatan komplemen (Kresno, 1996). Menurut Tizard (1988), penambahan komplemen dalam jumlah yang tepat adalah kritis, karena terlalu sedikit komplemen mengakibatkan lisis yang tak sempurna, sedangkan kelebihan komplemen tidak diikat sempurna oleh kompleks kebal akan cenderung ke hasil negatif palsu.

Komplemen merupakan protein serum yang dapat bergabung dengan berbagai antigen - antibodi (non spesifik). Kompleks antigen - antibodi atau agregat dari imunoglobulin dapat mengaktifkan komplemen melalui jalur klasik (Kennedy dan Stoskopf, 1993 ; Kresno, 1996). Menurut Tizard (1988), imunoglobulin dari kelas Ig M lebih efisien dalam hal mengaktifasi komplemen dibanding Ig G. Pada mamalia, awal terbentuknya antibodi yang muncul adalah dari kelas Ig M, kemudian diikuti oleh Ig G beberapa saat kemudian (Subowo, 1993). Sedangkan pada ikan, antibodi yang muncul adalah kelas Ig M dengan bentuk unit dasar tetramer (Ig M₄) (Roberts, 1989 , Kennedy dan Stoskopf, 1993, Manning, 1994). Pembentukan antibodi tersebut akan diikuti dengan kelas

Ig M dengan berat molekul lebih rendah dan mempunyai afinitas lebih tinggi dibanding kelas Ig M pada awal pembentukan antibodi (Roberts, 1989).

Komplemen bersifat termolabil dan mudah rusak, sehingga untuk penyimpanannya harus dalam *deep freezer* (-70°C) atau dengan nitrogen cair supaya dapat tahan berbulan-bulan (Mahy, 1991). Menurut Ernawati dkk (1996), hal lain yang sangat penting untuk komplemen adalah pemanasan pada suhu 56°C selama 30 menit, akan menyebabkan komplemen kehilangan daya komplementairnya. Selain itu, kerja komplemen yang terbaik pada pH sekitar 6,5. Dikemukakan lebih lanjut, bahwa untuk mendapatkan komplemen harus diambil dari hewan yang sehat, sebab hewan yang sakit biasanya komplemennya hilang atau titer dari komplemen tersebut rendah sekali.

Menurut Tizard (1988), masalah yang biasanya dijumpai bila melakukan uji pengikatan komplemen (CFT) adalah adanya aktivitas antikomplemen dalam serum uji yang ternyata dapat mengikat komplemen tanpa adanya antigen. Dikemukakan pula bahwa dalam serum yang diambil dari hewan yang terinfeksi, setiap kompleks kebal yang ada akan mengikat secara efektif beberapa komplemen. Demikian pula adanya pencemaran bakteri dalam serum dapat mengaktivasi komplemen melalui jalur lain.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui titer hemolisin dan titer komplemen bila komplemen yang digunakan berasal dari serum ikan air tawar dan cavia, serta membandingkan titer CF - antibodi bila digunakan komplemen dari serum ikan air tawar dan cavia.

III.2 Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya bidang imunologi ikan. Disamping itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran peranan dari komplemen sebagai bagian dari sistem imun non spesifik dalam interaksi antigen - antibodi *in vitro*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian ini berlangsung selama tiga bulan, mulai dari bulan Agustus 2002 sampai dengan bulan Oktober 2002.

IV.2 Tahap Persiapan

IV.2.1 Pembuatan Hemolisin

Untuk pembuatan hemolisin diperlukan lima ekor kelinci yang disuntik dengan 1 ml eritrosit domba secara intravena setiap hari selama 10 hari. Dua minggu setelah penyuntikkan yang terakhir, serum dari lima ekor kelinci tersebut diambil dan dinaktivasi dengan jalan pemanasan 56^o C selama 30 menit. Serum kelinci yang mengandung antibodi terhadap eritrosit domba ini disebut hemolisin. Untuk uji CF dalam penentuan titer antibodi, perlu diukur terlebih dahulu titer dari hemolisin. Titer hemolisin ditentukan dengan pengenceran tertinggi hemolisin yang dapat menyebabkan hemolisis eritrosit dengan konsentrasi 2%. (Kresno, 1996). Selanjutnya untuk penentuan titer komplemen dan pemeriksaan sampel serum diperlukan 2 unit.

IV.2.2 Pembuatan Antibodi

Sebagai model dalam dalam penelitian ini digunakan antibodi terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* yang akan diukur titernya dengan uji CF. Antibodi *A. hydrophila* tersebut diperoleh dari ikan mas yang telah mendapat pemaparan dengan bakterin *A. hydrophila*. Pemaparan dilakukan dengan metode perendaman selama satu jam dengan dosis 10^8 sel bakterin *A. hydrophila* / ml. Serum ikan mas yang mengandung antibodi terhadap *A. hydrophila* tersebut dikumpulkan dan diukur titernya dengan uji CF. Sebelum diukur titernya, serum tersebut terlebih dahulu diinaktifkan pada suhu 56° C selama 30 menit untuk menghilangkan komplemennya, sehingga satu-satunya sumber komplemen yang bereaksi hanyalah komplemen yang ditambahkan dan diketahui titernya.

IV.3 Tahap Penelitian

IV.3.1 Penyediaan Komplemen

Komplemen sebagai salah satu reaktan dalam uji CF pada umumnya tidak stabil, sehingga komplemen disediakan pada saat akan dilakukan uji CF. Sebagai sumber komplemen, diambil serum dari cavia, ikan mas, ikan nila, dan ikan gurami. Komplemen yang diperoleh tersebut diukur titernya dan selanjutnya digunakan untuk uji CF. Titer komplemen ditentukan oleh pengenceran tertinggi komplemen yang dapat mengakibatkan hemolisis eritrosit dengan konsentrasi 2% yang telah disensitisasi dengan 2 unit hemolisin (Kresno, 1996).

IV.3.2 Penentuan Titer CF - Antibodi

Untuk menentukan titer antibodi *A. hydrophila* yang terkandung dalam serum ikan mas dengan uji CF, terlebih dahulu dilakukan pengukuran titer hemolisin, titer komplemen. Hal ini perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil yang akurat pada uji CF. Selain itu juga perlu dilakukan uji antikomplementair untuk mengetahui daya anti komplemen yang ditimbulkan oleh antigen dan antibodi. Titer antibodi ditentukan dari pengenceran tertinggi dari antibodi yang masih dapat mengikat antigen dan komplemen yang kemudian terikat menjadi satu yang menyebabkan tidak terjadinya lisis dari eritrosit domba oleh komplemen.

IV.4 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, dimana sebagai perlakuan adalah sumber komplemen. Adapun komplemen yang digunakan pada uji CF berasal dari serum cavia, serum ikan mas, serum ikan nila, dan serum ikan gurami. Masing-masing kelompok perlakuan mendapat replikasi sebanyak 4 kali.

Data titer hemolisin ditransformasi ke logaritma, data titer komplemen, anti komplemen, dan data titer CF-antibodi ditransformasi ke akar kuadrat ($Y + 1/2$). Selanjutnya semua data tersebut dilakukan analisis varian. Bila sumber komplemen memberikan pengaruh yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (Hanafiah, 1993).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil Penelitian

Data titer hemolisin, titer komplemen serta hasil uji antikomplementer dengan menggunakan sumber komplemen yang berbeda, yaitu komplemen dari serum cavia, ikan mas, nila, dan gurami tercantum pada Tabel 1 dan 2. Sedangkan Tabel 3 mencantumkan data titer CF -antibodi *A. hydrophila* dengan menggunakan sumber komplemen yang berbeda dan sudah distandaridisasi sesuai dengan prosedur.

Tabel 1. Data Titer Hemolisin dengan Sumber Komplemen Berbeda

KOMPLEMEN	ULANGAN				RATA-RATA
	I	II	III	IV	
Cavia	600 2,78*	600 2,78*	800 2,90*	1200 3,08*	800 2,89* ^a
Ikan Mas	1600 3,20*	2400 3,38*	3200 3,51*	3200 3,51*	2600 3,40* ^b
Ikan Nila	1600 3,20*	2400 3,38*	3200 3,51*	3200 3,51*	2600 3,40* ^b
Ikan Gurami	2400 3,38*	2400 3,38*	3200 3,51*	3200 3,51*	2800 3,45* ^c

Keterangan : Tanda * menunjukkan data ditransformasi ke Logaritma.
Rata-rata pada kolom sama diikuti superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Pada Tabel 1 terlihat rata-rata titer hemolisin dengan menggunakan komplemen ikan, baik itu ikan mas, nila, dan gurami lebih tinggi dibandingkan

rata-rata titer hemolisin dengan menggunakan komplemen cavia. Sebaliknya rata-rata titer komplemen dari serum cavia lebih tinggi dibandingkan rata-rata titer komplemen dari serum ikan mas, nila, dan gurami (Tabel 2). Hal ini juga terbukti melalui hasil analisis varian yang menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) dari penggunaan komplemen dari sumber serum yang berbeda terhadap titer hemolisin dan titer komplemen (Lampiran 1 dan 2).

Pada perhitungan statistik lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil terlihat ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara komplemen dari serum cavia dengan komplemen dari serum ikan mas, nila, dan gurami terhadap titer hemolisin dan titer komplemen (Lampiran 1 dan 2). Sedangkan antara komplemen dari serum ikan mas, nila, dan gurami tidak terdapat perbedaan titer hemolisin dan titer komplemen.

Tabel 2. Data Titer Komplemen Hasil Titiasi Komplemen dan Uji Anti-Komplemen dengan Sumber Komplemen Berbeda

KOMPLEMEN	ULANGAN				RATA-RATA
	I	II	III	IV	
Cavia	2	2	3	3	2,50
	1,58*	1,58*	1,87*	1,87*	1,73*
Ikan Mas	1,5	1,5	1,5	1,5	1,50
	1,41*	1,41*	1,41*	1,41*	1,41* ^b
Ikan Nila	1,5	1,5	1,5	1,5	1,50
	1,41*	1,41*	1,41*	1,41*	1,41* ^b
Ikan Gurami	1,5	1,5	1,5	1,5	1,50
	1,41*	1,41*	1,41*	1,41*	1,41* ^b

Keterangan : Tanda * menunjukkan data ditransformasi ke Akar Kuadrat ($Y + 1/2$).
Rata-rata pada kolom sama diikuti superskrip yang berbeda, menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Pada Tabel 2 terlihat titer komplemen pada hasil uji anti komplemen sama dengan hasil pada titrasi komplemen. Hal ini menunjukkan bahwa baik pada antigen maupun antiserum yang akan digunakan pada uji pengikatan komplemen tidak terdapat faktor penghambat. Demikian pula halnya dengan hasil analisis varian dan pengujian statistik dengan uji Beda Nyata terkecil memberikan hasil yang sama dengan pengolahan data hasil titrasi komplemen.

Tabel 3. Data Titer CF - Antibodi *A. hydrophila* (Log 2) dengan Sumber Komplemen Berbeda

KOMPLEMEN	ULANGAN				RATA-RATA
	I	II	III	IV	
Cavia	1	2	2	2	1,75
	1,22*	1,58*	1,58*	1,58*	1,49*
Ikan Mas	1	2	2	2	1,75
	1,22*	1,58*	1,58*	1,58*	1,49*
Ikan Nila	1	1	2	2	1,50
	1,22*	1,22*	1,58*	1,58*	1,40*
Ikan Gurami	1	2	2	2	1,75
	1,22*	1,58*	1,58*	1,58*	1,49*

Keterangan : Tanda * menunjukkan data ditransformasi ke Akar Kuadrat ($Y + 1/2$)

Pada Tabel 3 terlihat rata-rata titer CF - antibodi *A. hydrophila* dengan menggunakan serum cavia, ikan mas, nila, dan gurami sebagai sumber komplemen adalah (Log 2) 1,75, 1,75, 1,50, dan 1,75. Berdasarkan hasil analisis varian menunjukkan bahwa pengaruh serum normal yang berbeda sebagai sumber komplemen tidak terbukti terhadap titer CF - antibodi.

V.2 Pembahasan

Komplemen yang terdapat dalam serum normal merupakan salah satu reaktan yang digunakan pada uji pengikatan komplemen, disamping hemolisin, antigen, dan antibodi. Untuk memperoleh hasil yang akurat, maka dilakukan uji pendahuluan untuk menstandarisasi titer hemolisin dan titer komplemen yang dipakai dalam uji pengikatan komplemen (CFT).

Hasil titer hemolisin dengan menggunakan serum normal yang berbeda sebagai sumber komplemen menunjukkan bahwa serum normal dari ikan mas, nila, dan gurami sebagai sumber komplemen mempunyai aktivitas hemolitik lebih tinggi dibanding serum normal dari cavia. Hal ini terlihat pada Tabel 1, dimana rata-rata titer hemolisin dengan menggunakan komplemen ikan air tawar lebih tinggi dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibanding dengan yang menggunakan komplemen cavia. Diduga didalam serum normal ikan mas, nila, dan gurami terdapat bahan yang dapat menguatkan aktivitas hemolitik komplemen. Menurut Tizard (1988), serum babi juga memiliki aktivitas prokomplemen, yaitu dapat menguatkan aktivitas hemolitik komplemen yang ditambahkan, sehingga sulit untuk melakukan uji pengikatan komplemen pada serum babi.

Sebaliknya pada hasil titrasi komplemen dan uji anti komplemen, dimana komplemen yang digunakan baik yang berasal dari cavia maupun ikan mas, nila, dan gurami mengalami pengenceran, sehingga bahan yang dapat menguatkan aktivitas hemolitik komplemen yang diduga terdapat di dalam serum normal ikan mas, nila, dan gurami tersebut berkurang akibat pengenceran, dan hal ini dapat mempengaruhi hasil titrasi komplemen dan uji anti komplemen. Terlihat pada Tabel 2, dimana rata-rata titer komplemen hasil titrasi komplemen dan uji anti

komplementer dari serum cavia lebih tinggi dan berbeda nyata dengan rata-rata titer komplemen dari serum ikan mas, nila, dan gurami ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa serum normal dari cavia mempunyai aktivitas hemolitik komplemen lebih tinggi dibanding serum normal dari ikan mas, nila, dan gurami. Hasil penelitian ini didukung oleh pendapat Tizard (1988) yang menyatakan bahwa serum normal cavia merupakan sumber komplemen dengan aktivitas hemolitik yang tinggi yaitu dapat melisis eritrosit dengan baik.

Pada penentuan titer CF - antibodi *A. hydrophila* terlihat bahwa serum normal cavia, ikan mas, nila, dan gurami sebagai sumber komplemen tidak memberikan perbedaan titer antibodi. Hal ini menunjukkan bahwa walaupun digunakan komplemen yang berasal dari serum normal yang berbeda, tetapi bila dilakukan standardisasi titer komplemen tidak akan diperoleh perbedaan yang nyata terhadap titer CF - antibodi. Tidak adanya perbedaan yang nyata dari titer CF - antibodi *A. hydrophila* menggambarkan juga bahwa komplemen dari cavia yang berbeda spesies dengan ikan ternyata juga dapat diikat oleh kompleks antigen - antibodi *A. hydrophila*, dimana antibodi yang ditentukan titernya tersebut berasal dari serum ikan mas yang telah mendapat pemaparan dengan bakterin *A. hydrophila*. Hal ini juga menunjukkan bahwa komplemen cavia juga dapat diaktivasi oleh agregat imunoglobulin (Ig M4) dalam serum ikan mas melalui jalur klasik. Walaupun menurut Roberts (1989) Ig M4 mempunyai kemampuan mengaktifkan komplemen 100 kali lebih efektif daripada kelas Ig M1 (monomer), namun bila kadar Ig M4 yang terdapat dalam serum tersebut sudah menurun, maka kemampuan Ig M4 untuk mengaktifkan komplemen juga berkurang. Hal ini terbukti dari rendahnya titer CF - antibodi terhadap *A. hydrophila*, dimana

kemungkinan pada saat pengambilan antiserum terjadi saat kadar Ig M4 dalam serum ikan mas rendah.

Mengingat bahwa komplemen ikan mempunyai titer komplemen yang lebih rendah dibanding komplemen cavia dan ternyata antibodi serum ikan juga dapat mengikat komplemen cavia, maka komplemen cavia juga dapat digunakan sebagai salah satu reaktan untuk penetapan antigen maupun antibodi serum ikan. Berbeda dengan antibodi unggas yang ternyata tidak dapat mengikat komplemen mamalia pada uji pengikatan komplemen, sehingga untuk mengatasinya dapat digunakan komplemen unggas atau cara lain, yaitu dengan penambahan suatu antibodi indikator pengikat komplemen terhadap antigen tersebut (Tizard, 1988).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat perbedaan nyata titer hemolisin bila komplemen yang berfungsi membantu hemolisin melisis eritrosit tersebut berasal dari serum ikan air tawar dan cavia, dimana rata-rata titer hemolisin dengan komplemen ikan air tawar lebih tinggi dibanding bila menggunakan komplemen cavia.
2. Terdapat perbedaan nyata titer komplemen dari serum yang berasal dari ikan air tawar dan cavia, dimana rata-rata titer komplemen cavia lebih tinggi daripada komplemen ikan air tawar.
3. Tidak terdapat perbedaan titer CF - antibodi *A. hydrophila* bila digunakan komplemen dari serum ikan air tawar dan cavia yang sudah distandardisasi.

VI.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas, maka perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi setiap minggu titer CF - antibodi serum ikan setelah pemaparan suatu antigen, untuk mengetahui kapan titer CF -antibodi serum mencapai puncaknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, KG. 1996. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran Univ. Indonesia. Jakarta.
- Diaz, AE., C. Marin, BU. Alonso, V. Aragon, SO Prez, M. Pardo, JM Blasco, R. Diaz and I. Moriyon. 1994. Evaluation of serological test for diagnosis of *Brucella meli*nsis infection of goats. *J. Clin. Microbiol.* 32 (5) : 1159-1165.
- Emawati, R., AP. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, FA Rantam, W. Tjahjaningsih, Suwarno. 1996. *Petunjuk Praktikum Penyakit Viral*. Lab. Virologi dan Imunologi FKH Unair. Surabaya.
- Hanafiah, KA. 1993. *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi*. Fak. Pertanian. Univ. Sriwijaya. Palembang.
- Kennedy Z, Stoskopf MK. 1993. *Immunology*. In (Stoskopf MK, Phelps TH, Bauer BA, eds). *Fish Medicine*. WB Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. pp : 149-158.
- Kresno, SB. 1996. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Fak. Kedokteran Univ. Indonesia. Jakarta.
- Mahy, BMJ. 1991. *Virology. A Practical approach*. IRL Press Limited. Oxford-Washington DC. p : 248-253.
- Manning MJ. 1994. *Fishes*. In (Turner RJ. ed). *Immunology : A Comparative Approach*. John Wiley and Sons. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore. pp : 69-92.
- Roberts, RJ. 1989. *Fish Pathology*. 2nd edition. Balliere Tindall. London.
- Subowo. 1993. *imunobiologi*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Swack, NS., TF. Gahan and WJ. Hausler Jr. 1992. The present status of the complement fixation test in viral sero-diagnosis. *Infect. Agent Dis.* 1 (4) : 219-224.
- Tizard, I. 1988. *Pengantar imunologi veteriner*. Airlangga Univ. Press. Surabaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengujian Statistik Data Titer Hemolisin (Transformasi ke Logaritma)

Analisa Sidik Ragam (Uji F)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Komplemen Galat	3	0,8435	0,2812	17,04**	3,49	5,95
	12	0,1981	0,0165			
Total	15	0,8435				

Uji Beda Nyata Terkecil

Komplemen	Rata-Rata	Beda dengan		
		Cavia	Ikan Mas	Ikan Nila
Cavia	2,89	-	-	-
Ikan Mas	3,40	0,51**	-	-
Ikan Nila	3,40	0,51**	0,51**	-
Ikan Gurami	3,45	0,56**	0,05	0,05
		BNT 0,05 = 0,20		BNT 0,01 = 0,28

Lampiran 2. Pengujian Statistik Data Titer Komplemen Hasil Titration Komplemen dan Uji Anti Komplemen (Transformasi ke Akar Kuadrat $Y + 1/2$)

Analisa Sidik Ragam (Uji F)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Komplemen	3	0,2916	0,0972	13,89**	3,49	5,95
Galat	12	0,0839	0,0070			
Total	15	0,3755				

Uji Beda Nyata Terkecil

Komplemen	Rata-Rata	Beda dengan		
		Ikan Gurami	Ikan Nila	Ikan Mas
Ikan Gurami	1,41	-	-	-
Ikan Nila	1,41	0	-	-
Ikan Mas	1,41	0	0	-
Cavia	1,73	0,32**	0,32**	0,32**
		BNT 0,05 = 0,13	BNT 0,01 = 0,18	



Lampiran 3. Pengujian Statistik Data Titer CF - Antibodi (Log 2) (Transformasi ke Akar Kuadrat $Y + 1/2$)

Analisa Sidik Ragam (Uji F)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Komplemen Galat	3	0,0243	0,0081	0,23**	3,49	5,95
Total	12	0,4212	0,0351			
	15	0,4455				

1 NOV 2005

PAMERAN