

SKRIPSI

**PENGARUH IMUNISASI PASIF ANTIBODI ANTI-INHIBIN
TERHADAP PENEKANAN IMUNOGLOBULIN G TOTAL
PADA SPESIES KELINCI YANG SAMA**



Oleh :

ANANG SUPRIHANTO
TULUNGAGUNG - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

SKRIPSI

**PENGARUH IMUNISASI PASIF ANTIBODI ANTI-INHIBIN
TERHADAP PENEKANAN IMUNOGLOBULIN G TOTAL
PADA SPESIES KELINCI YANG SAMA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

ANANG SUPRIHANTO

NIM 069812583

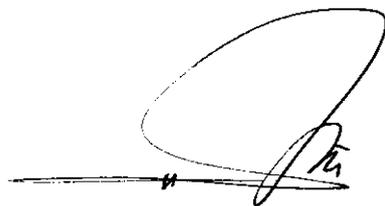
Menyetujui

Komisi Pembimbing



(Hermin Ratnani, M.Kes., Drh)

Pembimbing Pertama



(Dr. Hardijanto, M.S., Drh)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN

Mengetahui,
Panitia Penguji,



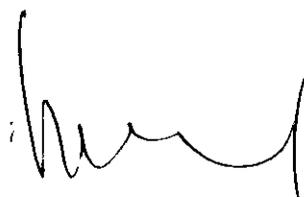
Budi Utomo, M.Si., Drh

Ketua



Widjiati, M.Si., Drh

Sekretaris



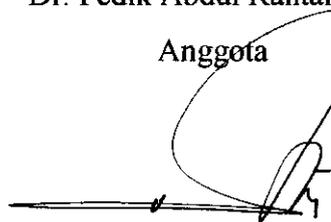
Dr. Fedik Abdul Rantam., Drh

Anggota



Hermin Ratnani, M.Kes., Drh

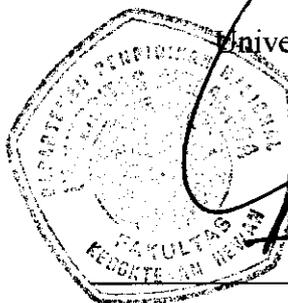
Anggota



Dr. Hardijanto, M.S., Drh

Anggota

Surabaya, 3 Juli 2003
Fakultas kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh

NIP. 130 687 297

PENGARUH IMUNISASI PASIF ANTIBODI ANTI-INHIBIN TERHADAP PENEKANAN IMUNOGLOBULIN G TOTAL PADA SPESIES KELINCI YANG SAMA

Anang Suprihanto

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh Imunisasi pasif Anti bodi Anti-Inhibin (AAIn) terhadap penekanan imunoglobulin G total pada hewan spesies yang sama.

Delapan ekor kelinci jantan lokal dibagi menjadi satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin dilakukan secara sub kutan dengan dosis 0,5 ml dengan interval imunisasi dua minggu. Pada minggu ke-nol dilakukan pengambilan darah pada kelompok kontrol, /perlakuan I dilakukan imunisasi sebanyak satu kali, perlakuan II dengan imunisasi dua kali, perlakuan III dengan imunisasi tiga kali dan perlakuan IV, empat kali. Pengambilan darah dilakukan dua minggu pasca imunisasi kemudian diambil serum untuk diperiksa dengan Uji ELISA langsung.

Desain percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Sama Subyek (*Same Subject Design*). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan Analisis Ragam dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan's (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Pada penelitian ini imunisasi pasif AAIn pada hewan spesies sama secara statistik tidak menunjukkan perbedaan ($P > 0,05$) terhadap penekanan imunoglobulin G total baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dan menurut uji Duncan's ternyata juga tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya pengaruh imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin terhadap penekanan imunoglobulin G total pada hewan spesies yang sama (dari kelinci ke kelinci).

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan karya ilmiah yang berjudul PENGARUH IMUNISASI PASIF ANTIBODI ANTI-INHIBIN TERHADAP PENEKANAN IMUNOGLOBULIN G TOTAL PADA SPESIES KELINCI YANG SAMA telah terselesaikan. Karya ilmiah ini penulis persembahkan kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta.

Penulis berharap penelitian ini dapat memberikan informasi yang lengkap mengenai penggunaan Antibodi Anti-Inhibin sebagai bahan pemicu gertak birahi untuk meningkatkan jumlah sel telur pada hewan spesies yang sama. Disamping itu juga memberikan sumbangan ilmu pengetahuan bagi perkembangan ilmu di Indonesia khususnya tentang pengaruh imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin terhadap penekanan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa hormat yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih kepada Ibu Hermin Ratnani, M.Kes., Drh selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Hardijanto, M.S., Drh selaku pembimbing kedua yang selama ini telah memberikan dorongan semangat dan nasehat demi kesempurnaan karya ilmiah ini. Terima kasih pula kepada Bapak Suwarno, M.Si, Drh., Bapak Heri Agus Hermadi, M.Si., Drh, dan Bapak Kusnoto, Drh yang telah memberikan dukungan biaya dan petunjuk teknis demi terselesaikannya penulisan karya ilmiah ini, serta seluruh dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan yang selama ini membimbing penulis dari penulis

tidak tahu keilmuan di Fakultas ini hingga penulis mampu menyelesaikan karya ilmiah ini.

Kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta, sembah sungkem penulis sampaikan atas segala jerih payah dan kesabarannya membesarkan, mendidik, memberikan dorongan dan doa restu demi keberhasilan penulis selama ini. Terima kasih juga kepada Mbak Dewi, Dek Yoga, Dek Nesa yang selalu memberikan keceriaan dan kasih tulus kepada penulis. Tak lupa juga kepada Erna , Fina, Beni, Dwi, Choi, Andre, Mas Dar, Mas N'der , teman-teman Merpati Putih Universitas Airlangga, teman-teman Persada Surabaya dan teman-teman KKN Kelurahan Tubanan yang banyak memberikan support pada penulis, serta teman-teman semua yang tidak bisa penulis sebut satu-persatu, yang terakhir untuk Adek yang selalu menemani penulis selama ini dengan segala pengertian, perhatian dan cintanya.

Akhirnya penulis sangat menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, walaupun demikian semoga hasil penelitian ini bisa bermanfaat. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah kepada kita semua, Amin.

Surabaya, Mei 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.3.1 Tujuan Umum.....	3
I.3.2 Tujuan Khusus.....	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	4
I.5 Hipotesis Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Inhibin.....	5
2.2 Antibodi Anti-Inhibin.....	6
2.3 Struktur Immunoglobulin	8
2.4 Epitop pada Immunoglobulin	9
2.5 Respons Imun.....	10
2.6 Serum Darah.....	12

BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.2 Materi dan Bahan Penelitian.....	14
3.2.1 Hewan Percobaan.....	14
3.2.2 Bahan Penelitian.....	14
3.2.3 Peralatan.....	15
3.2.4 Kandang Penelitian.....	16
3.2.5 Makanan.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.3.1 Pembuatan AAI.....	16
3.3.2 Pemberian Perlakuan.....	16
3.3.3 Pengambilan Darah.....	18
3.3.4 Pengukuran Imunoglobulin G dengan ELISA Langsung.....	18
3.3.5 Peubah yang Diamati.....	19
3.3.6 Rancangan Penelitian.....	19
3.3.7 Analisis Data.....	20
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	21
BAB V PEMBAHASAN.....	23
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
RINGKASAN.....	29
DAFTAR PUSTAKA.....	31
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1: Nilai OD rata-rata Imunoglobulin G Total Pasca Imunisasi Pasif AAIIn pada Uji ELISA langsung.....	21

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1: Alat-alat Uji ELISA Langsung.....	15
Gambar 2: Skema Imunisasi dan Pengambilan Darah Pasca Penyuntikan AAIIn.....	17
Gambar 3: Imunisasi Pasif AAIIn pada Kelompok Perlakuan.....	17
Gambar 4: Pengambilan Darah pada Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAIn melalui Vena Aurikularis.....	18
Gambar 5: Reaksi Antigen-Antibodi pada Metode ELISA langsung.....	18
Gambar 6: Skema Rancangan Penelitian.....	19
Gambar 7: Grafik Batang OD Rata-rata Immunoglobulin G Total Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAIIn.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Gambar 1: Alat-alat Uji ELISA Langsung.....	14
Gambar 2: Skema Imunisasi dan Pengambilan Darah Pasca Penyuntikan AAIIn.....	16
Gambar 3: Imunisasi Pasif AAIIn pada Kelompok Perlakuan.....	16
Gambar 4: Pengambilan Darah pada Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAIIn melalui Vena Aurikularis.....	17
Gambar 5: Reaksi Antigen-Antibodi pada Metode ELISA langsung.....	17
Gambar 6: Skema Rancangan Penelitian.....	18
Gambar 7: Grafik Batang OD Rata-rata Immunoglobulin G Total Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAIIn.....	21

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan jaman yang selalu menghasilkan teknologi baru semakin banyak memberikan solusi untuk memenuhi kebutuhan masyarakat, termasuk konsumsi protein hewani sebagai salah satu pendukung terbentuknya generasi yang cerdas dan tangguh. Hal tersebut kontradiktif dengan kenyataan yang ada, seperti diketahui produksi ternak di Indonesia belum optimal karena kasus-kasus infertilitas sering terjadi. Salah satu dari sekian banyak faktor penyebab adalah *stressor* iklim tropis basah yang menyebabkan sistem faali dan hormonal tidak berfungsi optimal. Penanganan kasus-kasus infertilitas telah banyak pula mengalami kemajuan tetapi belum maksimal.

Gangguan reproduksi yang disebabkan oleh faktor hormonal sering terjadi di lapangan, hal ini dapat mengganggu produksi embrio. Untuk mendapatkan jumlah embrio yang lebih banyak (superovulasi) diperlukan preparat hormon.. Menurut sejarahnya, hormon diartikan sebagai zat kimia yang disintesis oleh bagian tubuh yang jelas batas-batasnya dan di bawa oleh peredaran darah atau limpa ke bagian tubuh yang lain, tempat zat- zat itu mengalami modifikasi keadaan genetik tertentu terhadap organ-organ khusus, sehingga mempunyai pengaruh yang sangat spesifik dan selektif (Nalbandov, 1990). Lebih lanjut Armas Taboada (1990) mengemukakan bahwa hormon gonadotropin yang paling sering digunakan untuk menginduksi terjadinya superovulasi adalah *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* (PMSG). Hormon ini bekerja merangsang

terbentuknya folikel ovarium dan meningkatkan kadar hormon esterogen darah. Efek ini identik dengan fungsi *Folikel Stimulating Hormon* (FSH) (Mc.Donald, 1997). Salah satu kelemahannya adalah waktu paruh PMSG yang lebih lama dibandingkan dengan FSH karena adanya kandungan asam sialat yang tinggi dan mempunyai berat molekul yang besar. Kandungan asam sialat PMSG sebesar 10,4% (Hafez, 1993).

Lebih lanjut Bodin *et al.* (1997) mengatakan tingkatan residu PMSG sebanding dengan bertambahnya umur mempunyai pengaruh negatif terhadap penampilan siklus reproduksi yaitu meningkatkan kemungkinan ternak sulit bunting kembali.

Dewasa ini hasil penelitian tentang Antibodi Anti-Inhibin (AAIn) pada ternak telah menggantikan peranan hormon PMSG sebagai preparat yang mampu meningkatkan jumlah sel telur. Pemberian AAIn dapat menstimulasi hipofisa anterior untuk meningkatkan *Folikel Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) endogen, sehingga dapat menumbuhkan folikel pada ovarium (Campbell, 1991; Glencross *et al.*, 1994). Kaneko *et al.* (1995) menyatakan bahwa penggunaan AAIn mampu meningkatkan ovulasi dan jumlah anak pada domba, babi dan sapi. Hermadi (2001) berhasil meningkatkan jumlah sel telur dan jumlah anak tikus putih setelah pemberian AAIn kelinci secara intra muscular pada dosis 0,2 ml per ekor.

Masalah utama yang timbul pada penggunaan antibodi sebagai imunoterapi atau pemberian antibodi pasif adalah timbulnya respons imun terhadap antibodi tersebut. Tubuh akan menganggap antibodi yang diberikan

sebagai imunogen karena direspon sebagai benda asing (*non-self*), akibatnya akan menyebabkan timbulnya respons imun berupa penekanan imunoglobulin. Berkenaan dengan hal tersebut perlu dilakukan penelitian pada hewan spesies yang sama (dari kelinci ke kelinci).

Hermadi dkk (2001) mengatakan pemberian AAIn kelinci dapat menekan jumlah imunoglobulin pada mencit. Dalam penelitian ini imunisasi pasif AAIn layak diteliti untuk mengungkapkan apakah pemberian imunisasi pasif AAIn menekan imunoglobulin-G total pada spesies kelinci yang sama.

1.2 Rumusan masalah

Berdasar latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

Apakah imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini secara umum adalah membantu meningkatkan jumlah sel telur pada hewan sepesies yang sama.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

Membuktikan imunisasi pasif AAIn tidak menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi lebih lengkap mengenai penggunaan AAIn sebagai bahan pemicu superovulasi atau gertak birahi untuk meningkatkan jumlah sel telur pada hewan spesies yang sama.
2. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan bagi perkembangan ilmu di Indonesia, khususnya pengaruh imunisasi pasif AAIn terhadap penekanan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

Imunisasi Pasif Antibodi Anti-Inhibin tidak menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

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 subunit α dan subunit β (Ismudiono, 1996; Beard *et al.*, 1991).

Sekresi inhibin oleh kedua jenis kelamin hewan ini dapat menghambat pelepasan FSH dari hipofisa anterior tanpa mempengaruhi pelepasan LH (Beard *et al.*, 1991; Ismudiono, 1996).

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 LH mempunyai umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior, sehingga menghambat sekresi gonadotropin (Tomaszewska dkk, 1991).

Pada hewan betina, LH melalui aliran darah akan menuju sel teka dari folikel untuk mendorong pembentukan androstendion dan testosteron. Androstendion dan testosteron sebagian akan dikeluarkan ke aliran darah dan sebagian lagi masuk sel granulosa, selanjutnya dalam sel granulosa, testosteron diubah menjadi estradiol melalui proses aromatisasi. Estradiol yang terbentuk sebagian dikeluarkan ke aliran darah dan sebagian disimpan di cairan folikel.

Estradiol yang ada dalam cairan folikel berfungsi sebagai sintesis protein yang akan digunakan untuk pertumbuhan sel-sel granulosa melalui proses hiperplasia dan hipertropi sehingga terbentuk folikel yang masak (Austin and Short, 1984). Sel-sel granulosa tersebut atas pengaruh FSH akan memproduksi inhibin, selanjutnya inhibin akan dikeluarkan sebagian dan sebagian disimpan dalam cairan folikel.

Pada hewan betina, inhibin yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa dari folikel ovarium akan menghambat sekresi 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 progesteron tinggi didalam darah, FSH dan LH tidak diproduksi oleh hipofisa anterior. Akibatnya pertumbuhan folikel dan proses ovulasi tidak terjadi sampai pada korpus luteum mengalami regresi (Tomaszewska, 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 µg/ekor. Penyuntikan seringkali dilakukan dengan menambahkan Freud adjuvant. Pemanenan antisera dilakukan 10-14 hari pasca penyuntikan (Knight *et al*, 1994).

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

AAIn dapat digunakan pada superovulasi, karena dapat memacu hipofisa anterior untuk melepaskan FSH dan LH, sehingga akan 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).

Menurut Smith (1995) produksi serum hiperimun ialah immunisasi dengan sengaja terhadap hewan dengan suatu imunogen yang spesifik dalam rangka untuk mendapatkan suplai antibodi terhadap imunogen, antibodi yang didapatkan dikenal sebagai antibodi poliklonal atau konvensional, sesuai dengan asal dan sejarah kejadiannya. Berkaitan erat dengan hal tersebut, antibodi yang terbentuk dari hiperimmunisasi dengan menggunakan cairan folikel sapi bebas steroid yang mengandung inhibin adalah Antibodi Anti-Inhibin.

Pada kebanyakan kasus, pemilihan spesies hewan didasarkan pada berapa serum yang diperlukan, hewan apa yang tersedia, dan kesukaan pribadi peneliti. Pada kebanyakan penelitian kelinci lebih disukai. Hewan ini murah, gampang dipelihara, daya tahannya tinggi dan mudah diambil darahnya (Smith, 1995)

Pada penelitian ini AAIIn didapatkan dari kelinci dengan cara menyuntikkan cairan folikel bebas steroid (inhibin) pada lima ekor kelinci dengan dosis 500 µg/ekor sebanyak lima kali dengan interval waktu satu minggu. Tiga minggu

setelah penyuntikan terakhir dilakukan pengambilan serum untuk penentuan titer antibodi berdasarkan Uji ELISA Tak Langsung (Harlow dan Lane, 1988).

2.3 Struktur Immunoglobulin

Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut adalah molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut immunoglobulin (Baratawidjaya, 2000). Immunoglobulin merupakan molekul glikoprotein yang memiliki aktivitas antibodi. Molekul immunoglobulin tersusun dari 82-96% polipeptida dan 4-18 % karbohidrat. Aktivitas biologik immunoglobulin terletak pada polipeptidanya (Subowo, 1993).

Molekul immunoglobulin terdiri atas dua rantai berat (*heavy chain*) dan dua rantai ringan (*light chain*, L), yang dihubungkan oleh ikatan disulfida (Baratawidjaya, 2000). Didekat 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 immunoglobulin 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).

Ada 2 jenis rantai ringan (*kappa dan lambda*) yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima Immunoglobulin, yaitu : IgG, IgA, IgM, IgD, dan IgE. Rantai berat terdiri atas 450-600 asam amino,

sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut adalah dua kali rantai ringan. Molekul imunoglobulin mempunyai rumus bangun yang heterogen, meskipun hanya terdiri atas 4 unit polipeptida dasar (Baratawidjaja, 2000).

Imunoglobulin G merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadar dalam serum sekitar 13mg/ml, merupakan 75% dari semua imunoglobulin. Imunoglobulin ini bisa ditemukan dalam berbagai cairan, antara lain serum darah, cairan cerebrospinal (CSF), urin.

Imunitas humoral ditentukan oleh adanya antibodi dalam darah dan cairan terutama Imunoglobulin G. Antibodi serum ini efektif terhadap patogen yang masuk darah misalnya dalam stadium Viremia atau Bakteriemi ataupun terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Imunoglobulin G mempunyai sifat-sifat yang opsonin yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag mempunyai fraksi Fc dari IgG sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dan sasaran. IgG juga berperan pada sistem imunitas seluler karena dapat merusak antigen seluler melalui interaksi dengan sistem komplemen atau efek Sitolitik Killer Cell (sel K), eosinofil, neutrofil, yang semuanya mengandung reseptor untuk Fc dari IgG (Baratawidjaja, 2000).

2.4 Epitop pada Imunoglobulin

Epitop atau determinan antigen adalah bagian yang dapat menginduksi pembentukan antibodi atau reseptor limfosit (Baratawidjaja, 2000). Molekul imunoglobulin memiliki tiga jenis epitop, yaitu: isotip, alotip, dan idiotip. Isotip merupakan epitop yang menentukan kelas dan sub kelas antibodi apabila terletak

pada rantai H dari regio C dan akan menentukan tipe dan sub tipe apabila terletak pada rantai L dari regio C. Pemindahan pasif antibodi anti- γ akan mengganggu produksi IgG atau IgA (Herscowitz, 1993; Subowo, 1993).

Allotip merupakan epitop yang bersifat polimorfik dan akan diwariskan menurut hukum Mendel. Epitop ini tidak ditemukan pada setiap kelas yang ada dan biasanya terdapat pada regio C. Apabila allotip terdapat pada rantai- γ , maka setiap allotip merupakan nomenklatur Gm1, Gm2, Gm3, dan sebagainya, sedangkan apabila terletak pada rantai K, maka allotipnya diberi lambang Km1, Km2, Km3, dan sebagainya. Penyuntikan antibodi paternal menyebabkan supresi munculnya molekul Ig yang membawa allotip paternal (Herscowitz, 1993; Subowo, 1993).

Idiotip merupakan molekul yang terdapat pada regio V yang memberikan ciri khas antibodi tersebut, oleh karena itu idiotip merupakan epitop yang terdapat pada daerah antigen, maka apabila idiotip ini menimbulkan respon imun humoral, struktur spesifitas antibodi yang terbentuk (anti-idiotip) akan mirip dengan epitop antigen penyebab antibodi pertama. Pemberian antibodi lawan determinan idiotip dapat menekan produksi imunoglobulin yang membawa determinan idiotip tertentu (Hercowitz, 1993; Subowo, 1993).

2.5 Respons Imun

Sistem imun pada hewan berfungsi membedakan dirinya dengan nirdirinya atau dirinya yang berubah untuk menjaga homeostasis tubuh dan mempertahankan terhadap invasi penyakit. Sistem ini bekerja melalui sistem reseptor dengan

spesifitas yang meningkat berkisar dari kekhasan yang terendah sampai kekhasan yang tertinggi, dinyatakan dengan histokompabilitas antigen kelas I dan kelas II serta berpuncak pada kekhasan yang sangat nyata dari reseptor immunoglobulin (De Buysscher dan Patterson, 1995).

Menurut Tizard (1988), mekanisme respons imun atau tanggap kebal terdiri dari respons imun humoral, respons imun berperantara sel dan respons imun bentuk toleransi. Antigen dalam mekanisme pertahanan tubuh berfungsi sebagai bahan yang dapat menimbulkan suatu reaksi tanggap kebal atau respons imun.

Respons imun terdiri dari dua macam, yaitu respons imun spesifik dan respons imun non spesifik. Respons imun spesifik merupakan reaksi hospes terhadap benda asing yang mencakup rangkaian interaksi seluler yang diekspresikan dengan penyebaran produk-produk spesifik, respons imun ini dapat dibedakan dengan respons imun non spesifik dalam hal spesifitas, heterogenik dan memori. Spesifitas merupakan kemampuan respons imun dengan kepekaan yang tinggi. Produk-produk respons imun akan bereaksi seluruhnya dengan yang identik atau sama dengan benda yang terdahulu memulai respon (Bellanti, 1993), sedangkan respons imun nonspesifik tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu, respon ini merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai macam organisme yang memberikan respon secara langsung terhadap antigen. Komponen imun nonspesifik dapat dibagi sebagai pertahanan fisik dan mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan humoral dan selular (Baratawidjaja, 1988).

2.6 Serum Darah

Serum merupakan cairan yang terdapat di dalam tubuh, seperti dalam darah yang menjadi kental (Purbianto, 1999). Pada pengambilannya darah diambil tanpa menambahkan anti koagulan sehingga darah membeku. Bahan yang terkandung dalam serum darah merupakan biomolekul yang sangat kompleks dengan ukuran yang berbeda-beda, besar maupun kecil dengan fisiologis yang berbeda pula. Serum juga mengandung beberapa protein binding yang membawa molekul esensial, misalnya albumin, globulin, vitamin, lipid (asam lemak kolesterol, hormon) dan dalam serum ditemukan beberapa macam elemen (Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Va, Se) (Outtridge, 1985; Rantam dan Ernawati, 1989).

Setelah Pasteur menemukan bahwa kekebalan terhadap bibit penyakit menular dapat ditimbulkan dengan jalan vaksinasi, maka segera diketahui bahwa zat yang menyebabkan kekebalan dapat ditemukan dalam serum darah. Faktor dalam serum yang memberikan efek kekebalan disebut antibodi yang merupakan molekul protein. Bertahun-tahun yang lalu ketika ilmu biokimiawi masih dalam fase permulaan, diketahui bahwa protein tertentu dalam serum diendapkan bila serum dicampur dengan larutan jenuh amonium sulfat dalam volume yang sama banyaknya. Protein yang diendapkan dengan cara itu disebut globulin, sedang yang tetap larut dalam serum disebut albumin (Tizard, 1988).

Karena molekul antibodi adalah globulin, maka umumnya dikenal sebagai imunoglobulin. Istilah imunoglobulin dipakai untuk menggambarkan protein yang

mempunyai aktivitas antibodi.(Bellanti, 1995), selanjutnya dinyatakan bahwa molekul antibodi seperti protein lainnya secara fisikokimiawi dapat stabil dalam suhu dingin dan labil pada suhu panas. Diatas 70°C sebagian besar protein praktis inaktif karena denaturasi berlangsung dengan cepat.

BAB III

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan, mulai bulan September 2002 sampai bulan Oktober 2002, bertempat di Laboratorium Ilmu Virologi dan Imunologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembacaan hasil Uji ELISA langsung dilakukan di Tropical Disease Center Universitas Airlangga Surabaya.

3.2 Materi dan Bahan Penelitian

3.2.1 Hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini kelinci jantan lokal sebanyak 8 ekor dengan berat badan 1-1,2 Kg dan berumur umur 10 minggu, yang diperoleh dari Peternakan Kelinci di Malang

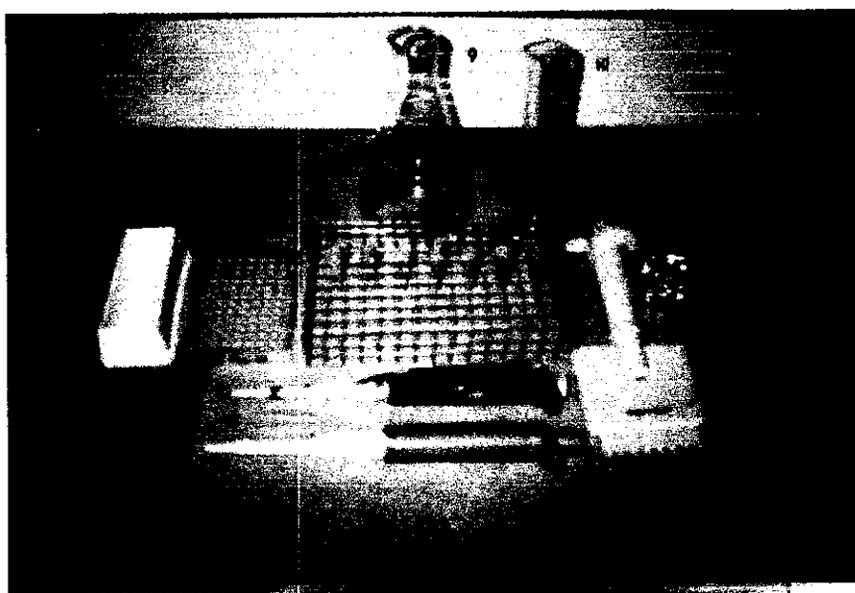
3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:
Antibodi Anti-Inhibin (AAIn) dari kelinci, bahan ELISA antara lain: *buffer coating*, PBS, PBS triton-X, *buffer washing*, *buffer blocking*, *buffer substrat*, konjugat, NaOH3 N (Lampiran 4)

3.2.3 Peralatan

Penelitian ini menggunakan peralatan sebagai berikut :

Nedle ukuran 18G, 20G dan 24G, spuit steril 1ml, Venojek 10ml, centrifuge, mikroplat bentuk datar "U" pipet *ependorf* 20-200 μ l dan 1-10 μ l pipet hisap, Multipipet *ependorf*, gelas ukur, *Erlenmeyer*, timbangan elektrik, plastik clig, lemari es, inkubator, *aluminium foil* (Gambar 1), ELISA reader 405 nm.



Gambar 1. Alat-alat Uji ELISA langsung

Keterangan :

1. Pencatat waktu (*timer*)
2. Tabung sentrifuse
3. Pipet *ependorf* 100 μ l
4. *Eppendorf tube* 10 μ l
5. Pipet *ependorf*
6. Cawan
7. *Microplate* ELISA
8. Rak
9. Gelas *erlenmeyer*
10. Gelas ukur 500 ml
11. *Aluminium foil*
12. Multipipet *ependorf*

3.2.4 Kandang Penelitian

Kandang untuk kelinci dalam penelitian ini adalah kandang kayu dengan ukuran panjang, lebar dan tingginya masing- masing 1,5 x 1 x 1 m.

3.2.5 Makanan

Pakan yang diberikan pada kelinci ada dua macam yaitu: pakan hijauan (sayur) dan pakan konsentrat kelinci serta air minum dari PDAM Kotamadya Surabaya yang diberikan secara *ad libitum*.

3.3 Metode Penelitian

Prosedur penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut :

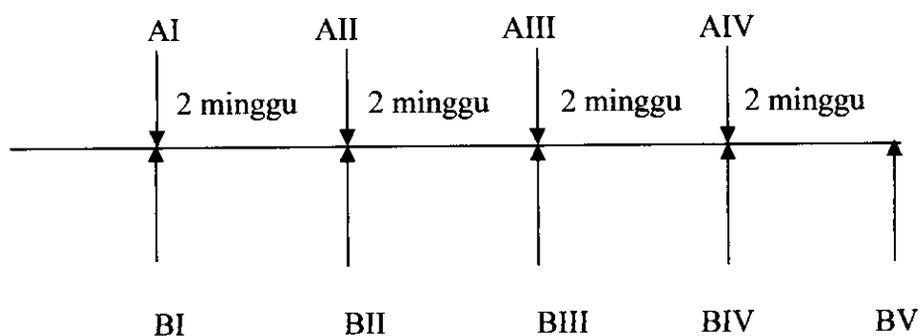
3.3.1 Pembuatan Antibodi Anti-Inhibin

Antibodi Anti-Inhibin dibuat dengan cara menyuntikan cairan folikel bebas steroid yang mengandung inhibin pada 5 ekor kelinci dengan dosis 500 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. Pada penelitian ini AAIn sudah didapat pada penelitian sebelumnya.

3.3.2 Pemberian Perlakuan

Kelinci yang digunakan adalah kelinci jantan lokal yang berumur 10 minggu sebanyak 8 ekor. Perlakuan dibagi menjadi satu kelompok kontrol, tanpa imunisasi AAIn dan empat kelompok imunisasi pasif AAIn, imunisasi dilakukan

dengan penyuntikan secara sub kutan dengan pengenceran 1:10 dan dosis 0,5 ml/ekor sebanyak satu kali untuk perlakuan I; perlakuan II dengan dosis yang sama sebanyak dua kali ; perlakuan III sebanyak tiga kali ; perlakuan IV, sebanyak empat kali (Gambar 2). Interval pemberian adalah 2 minggu.



Gambar 2. Skema Imunisasi dan Pengambilan Darah pada Perlakuan Penyuntikan AAIn

Keterangan :

AI	:Imunisasi ke-1	BI	:Pengambilan darah ke-1
AII	:Imunisasi ke-2	BII	:Pengambilan darah ke-2
AIII	:Imunisasi ke-3	BIII	:Pengambilan darah ke-3
AIV	:Imunisasi ke-4	BIV	:Pengambilan darah ke-4
		BV	:Pengambilan darah ke-5



Gambar 3. Imunisasi Pasif AAIn pada kelompok perlakuan

3.3.3 Pengambilan Darah

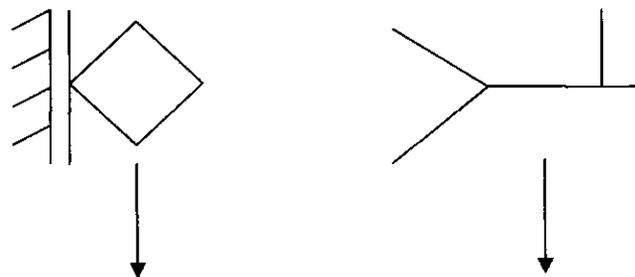
Pengambilan darah dilakukan setiap 2 minggu sekali. Pengambilan melalui vena Auricularis dengan menggunakan jarum dapat dilihat pada gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Pengambilan Darah pada Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAI

3.3.4 Pengukuran Imunoglobulin dengan ELISA langsung

Dua minggu pasca imunisasi Antibodi Anti-Inhibi dilakukan pengambilan darah (Gambar 4) untuk pemeriksaan terhadap kadar imunoglobulin dilakukan dengan uji ELISA langsung (Lampiran 3) dengan cara dicoating pada mikroplat dengan pengenceran 1 : 1000 dengan menggunakan konjugat



Serum perlakuan (imunoglobulin)

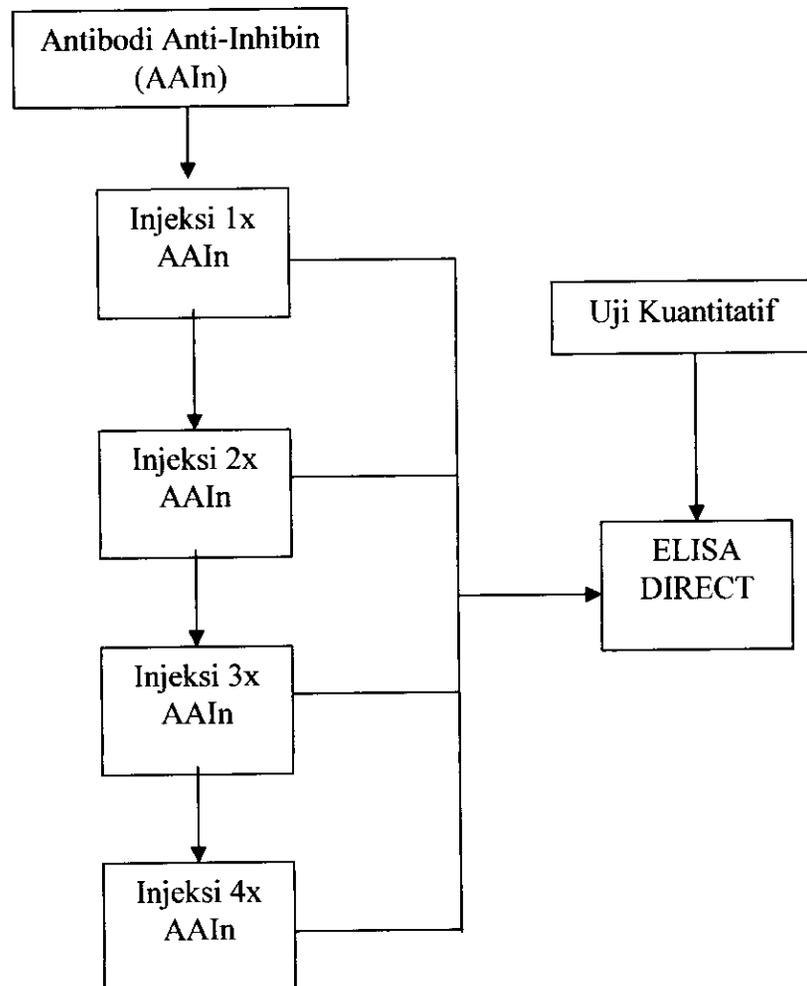
Goat anti-rabbit berlabel enzim

Gambar 5. Reaksi Antigen – Antibodi pada Metode ELISA langsung

3.3.5 Peubah Yang Diamati

Penelitian ini menggunakan unit analisis berupa imunoglobulin total (IgG total) dalam serum darah kelinci yang diambil dua minggu pasca imunisasi pasif AAIIn pada pemberian 1 kali, 2 kali, 3 kali dan 4 kali dan perlakuan kontrol tanpa imunisasi pasif AAIIn sebagai kontrol. Reaksi pengukuran jumlah imunoglobulin total dapat dilihat pada gambar 5.

3.3.6 Rancangan Penelitian



Gambar 6. Skema Rancangan Penelitian

3.3.7 Analisis Data

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan Rancangan Sama Subyek (*Same Subject Design*)(Zainuddin, 1988). Data yang terkumpul dianalisis dengan Uji Anava kemudian dilakukan uji jarak berganda Duncan's (*Duncan's multiple range test*) dari program *Statistical Program for Social Science (SPSS) rel.10 for Windows* (Santoso, 2001).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Pembacaan hasil dilakukan menggunakan ELISA *reader*, dengan panjang gelombang 405 nm. Hasil penghitungan OD (*Optical Density*) rata-rata pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1, kemudian dilakukan uji statistik Anava (Lampiran 2). Pada penelitian ini penyuntikan AAIn pada spesies kelinci yang sama secara statistik tidak menunjukkan perbedaan ($p>0,05$) terhadap penekanan imunoglobulin G total baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan imunisasi pasif AAIn.

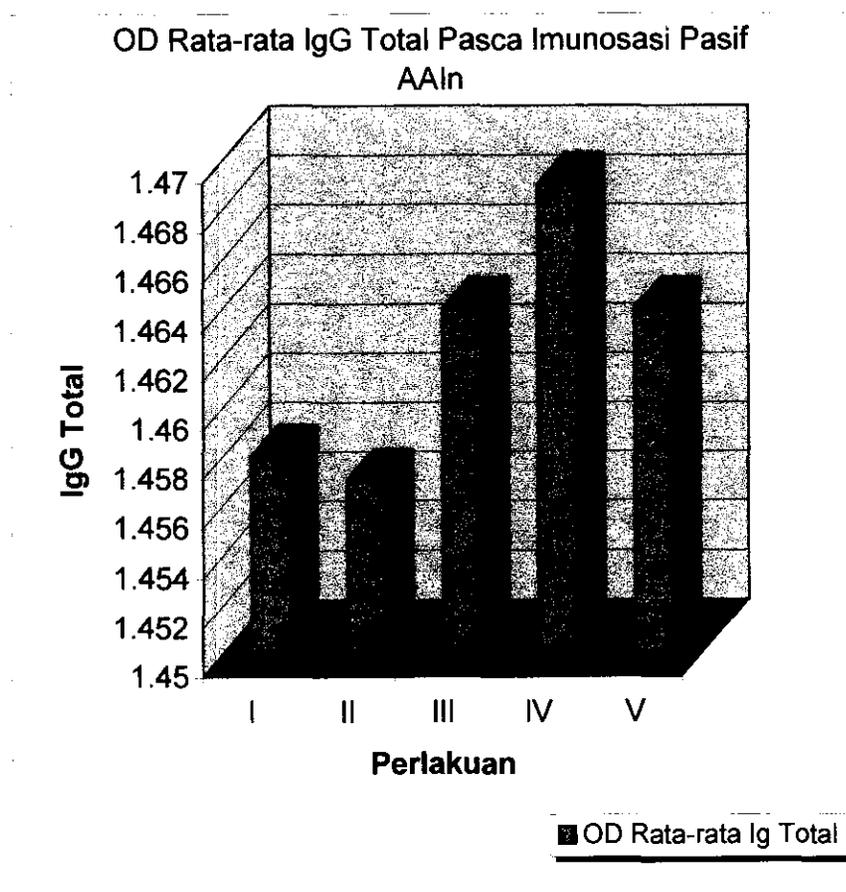
Tabel 1. Nilai OD rata-rata Imunoglobulin G Total pasca Penyuntikan AAIn pada Uji ELISA Langsung

PERLAKUAN	OD Rata-rata Imunoglobulin-G total \pm SD
I	1,458 \pm 0,027
II	1,457 \pm 0,026
III	1,464 \pm 0,021
IV	1,469 \pm 0,023
V	1,464 \pm 0,026

Keterangan:

1. Perlakuan I : Tanpa Penyuntikan AAIn (Kontrol)
2. Perlakuan II : Penyuntikan Dosis 0,5 ml AAIn 1 kali
3. Perlakuan III : Penyuntikan Dosis 0,5 ml AAIn 2 kali
4. Perlakuan IV : Penyuntikan Dosis 0,5 ml AAIn 3 kali
5. Perlakuan V : Penyuntikan Dosis 0,5 ml AAIn 4 kali

Gambaran OD rata-rata imunoglobulin-G total berdasarkan perbedaan pemberian imunisasi pasif AAI_n pada kelompok kontrol, perlakuan pemberian imunisasi pasif 1 kali, 2 kali, 3 kali, 4 kali dapat dilihat pada Gambar 7 berikut :



Gambar 7. Grafik Batang OD Rata-rata imunoglobulin G Total Kelinci Pasca Imunisasi Pasif AAI_n

BAB V

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk membuktikan pengaruh imunisasi pasif AAIn terhadap penekanan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama. Parameter yang diamati adalah imunoglobulin G total pada kelinci setelah imunisasi pasif AAIn dan tanpa imunisasi.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan imunisasi pasif AAIn yang dilaksanakan dengan interval waktu dua minggu secara sub kutan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap penekanan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

Pada penelitian sebelumnya Hermadi dkk (2002) menyebutkan penyuntikan AAIn 0,2 ml pada pemberian satu kali sudah mampu menekan imunoglobulin total pada mencit dalam hal ini imunoglobulin G. Hal ini bisa dikarenakan AAIn yang diberikan masih bercampur dengan imunoglobulin G lainnya, sehingga dapat menghasilkan Antibodi Anti-Idiotipik yang pada akhirnya menetralkan imunoglobulin. Namun demikian penurunan hanya bersifat sementara dan diduga tidak berhubungan dengan memori imunologik. Menurut Hercowitz (1988) pemberian antibodi lawan determinan idiotipik dapat menekan produksi imunoglobulin yang membawa determinan tersebut. Hal ini terjadi akibat pemberian dosis tinggi dapat memberikan supresi yang bersifat sementara.

Burgess (1995) menyatakan faktor-faktor yang terlibat dalam mengoptimalkan respons imun adalah sifat alam imunogen, pelarut, hewan, rute

injeksi dan protokol dosis. Polipeptida besar dan protein dengan berat molekul lebih dari 5000 Dalton dapat merangsang respons imun dengan kuat, sedangkan molekul kecil bersifat non-immunologik sehingga untuk merangsang timbulnya antibodi perlu molekul pengikat yang lebih besar. Immunoglobulin kelinci memiliki berat molekul 140-900 kDa yang merupakan imunogen yang kuat dalam memicu timbulnya respons imun, sehingga terbentuk antibodi. Pemberian AAI_n kelinci pada mencit terbukti dapat memicu pembentukan Antibodi Anti-Idiotipik (AAI_d) yang merupakan respon oleh antigen (AAI_n) yang bersifat spesifik terhadap antigen tersebut dan menekan jumlah immunoglobulin total (Hermadi dkk., 2002)

Pada kebanyakan kasus pemilihan spesies hewan didasarkan pada banyak serum yang diperlukan, hewan yang tersedia dan kesukaan peneliti. Kebanyakan penelitian kelinci lebih disukai, hewan ini murah, gampang dipelihara, daya tahan tinggi dan mudah diambil darahnya serta terkenal dengan variasi responnya, terutama dengan beberapa substansi yang tidak begitu imunogenik (Burgess, 1995).

Dosis yang dianjurkan adalah 50-1000 µg/ ekor (Harlow and Lane, 1988) sedang Burgess (1995) mengatakan protokol imunisasi menggunakan antigen antara 10-100 µg dengan dilarutkan dalam Aliquat 0,5-2,00 ml. Lebih jauh dikatakan penambahan dosis tidak sebanding dengan berat badan, sementara dosis 100 µg cukup untuk kambing, domba dan kelinci.

Pemilihan waktu suntik *booster* harus sedemikian rupa sehingga respon dari injeksi yang pertama telah mencapai puncak sebelum dilakukan penyuntikan

berikutnya. Pemanenan antisera dilakukan 10-14 hari pasca penyuntikan (Knight *at al*, 1994).

Idiotip merupakan molekul epitop yang terdapat pada regio V yang memberikan ciri khas antibodi tersebut. Idiotip merupakan epitop yang terdapat pada daerah pengikat antigen, maka apabila idiotip ini menimbulkan respons imun humoral, struktur spesifitas antibodi yang terbentuk (anti-Idiotip) akan mirip dengan epitop pengikat antibodi pertama. Pemberian antibodi lawan determinan idiotip dapat menekan produksi imunoglobulin yang membawa determinan idiotip tertentu (Hercowitz, 1993; Subowo, 1993). Lestari (2003) mengatakan bahwa penyuntikan AAI_n pada spesies yang sama tidak meningkatkan antibodi-idiotip AAI_n. Dapat dikatakan pada spesies yang sama tidak ada respon idiotip terhadap antinya sehingga tidak terjadi penekanan imunoglobulin pada spesies yang sama. Pada spesies hewan yang sama perbedaan struktur imunoglobulin tidak terletak pada struktur idiotipik, tetapi mungkin pada struktur isotipik (perbedaan sub-klas /klas dan sub-tipe/tipe) atau pada struktur alotipik (perbedaan pada sub-klas tertentu) (Butler *et al.*,1997; Gorman dan Haliwell, 1989). Namun demikian pemindahan antibodi secara pasif dengan isotipik dan alotipik berbeda hanya akan mengganggu produksi imunoglobulin yang bersifat sementara (Hercowitz, 1993; Subowo, 1993).

Menurut Tizard (1988) mekanisme respons imun atau tanggap kebal terdiri dari respons imun humoral, respons imun berperantara sel dan respons imun bentuk toleransi. Dalam penelitian ini, AAI_n yang diberikan secara sub kutan pada pada spesies yang sama tidak menekan imunoglobulin-G total pada perlakuan. Hal

ini menunjukkan adanya kesamaan antara serum donor yang mengandung AAIn dengan serum resipien, sehingga antibodi donor (AAIn) tidak dianggap sebagai benda asing (*non self*) oleh resipien. Adalah mutlak bagi sistem tanggap kebal untuk mengenal antigen, sejalan dengan ini bahwa sistem tanggap kebal harus mengenali antigen pada sel diri sendiri “bukan asing” dan karenanya tidak harus mengadakan tanggap kebal terhadapnya. Dengan kata lain, sistem kebal harus “toleran” terhadap antigen diri sendiri (Tizard, 1988). Pada penelitian ini AAIn dianggap sel dari diri sendiri karena berasal dari satu spesies, sehingga tidak ada respons imun dengan kata lain tidak mempengaruhi imunoglobulin total.

Penggunaan preparat AAIn pada ternak mampu meningkatkan jumlah sel telur. Pemberian preparat AAIn bekerja sebagai kompetitif terhadap Inhibin yang mempunyai efek negatif terhadap hipofisa anterior, oleh karena itu pemberian AAIn mampu menstimulasi hipofisa anterior untuk meningkatkan FSH dan LH endogen, sehingga dapat menumbuhkan folikel pada ovarium (Campbell *et al.*,1991;Glencross *at al.*,1994). Kaneko *at al* (1995) menyatakan bahwa penggunaan AAIn mampu meningkatkan ovulasi dan jumlah anak pada domba, sapi dan babi. Hermadi (2001) berhasil meningkatkan jumlah sel telur dan jumlah anak tikus putih, setelah pemberian AAIn kelinci.

Pada penelitian ini tidak adanya pengaruh imunisasi pasif AAIn terhadap penekanan imunoglobulin pada hewan spesies sama dalam hal ini imunoglobulin - G, justru memiliki keuntungan yaitu disamping AAIn dapat digunakan sebagai preparat superovulasi dengan mekanisme menetralsir inhibin yang mempunyai efek negatif terhadap hipofisa anterior untuk menghasilkan FSH dan LH Endogen

yang akhirnya dapat menumbuhkan folikel pada ovarium, ternyata ditinjau dari segi imunitas hewan donor AAI tidak menimbulkan respons imun berupa penekanan imunoglobulin total artinya terapi AAI tidak bersifat immunospresif sehingga pada pemberiannya tidak mempengaruhi kekebalan hewan donor terhadap infeksi penyakit.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan dan saran sebagai berikut:

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: Pemberian perlakuan imunisasi pasif AAIn tidak menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah: Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh imunisasi pasif AAIn pada hewan percobaan lain satu spesies (kambing, sapi, domba).

RINGKASAN

RINGKASAN

Anang Suprihanto. Penelitian PENGARUH IMUNISASI PASIF ANTIBODI PASIF ANTI-INHIBIN TERHADAP PENEKANAN IMUNOGLOBULIN G TOTAL PADA SPESIES KELINCI YANG SAMA, dibawah bimbingan Ibu Hermin Ratnani, M.Kes., Drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Hardijanto, M.S., Drh. sebagai pembimbing kedua.

Dalam rangka usaha peningkatan populasi ternak dan peningkatan mutu genetik keturunannya, berbagai upaya telah banyak dilakukan diantaranya manipulasi siklus birahi, inseminasi buatan, sinkronisasi birahi, superovulasi maupun transfer embrio.

Penyuntikan Antibodi Anti-Inhibin dimaksudkan agar tidak terjadi hambatan pelepasan FSH oleh inhibin, sehingga terjadi superovulasi. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif Antibodi Anti-Inhibin sebagai preparat superovulasi yang aman. Permasalahan yang timbul pada penggunaan antibodi sebagai imunoterapi atau pemberian antibodi pasif adalah timbulnya respons imun. Antibodi yang diberikan dapat bertindak sebagai benda asing (*non-self*) oleh tubuh dan dapat menimbulkan respons imun. Berkenaan dengan hal tersebut diperlukan penelitian, apakah imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 8 ekor kelinci jantan berumur 10 minggu, yang dibagi dengan satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Untuk kelompok kontrol tanpa imunisasi AAIn dan perlakuan PI, PII,

PIII dan PIV mendapatkan suntikan Antibodi Anti-inhibin dengan dosis 0,5 ml, dengan peyuntikan masing-masing 1 kali, 2 kali, 3 kali dan 4 kali dengan interval pemberian 2 minggu.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Sama Subyek (*Same Subject Design*) dan data dianalisis menggunakan uji Anava dilanjutkan Uji jarak Berganda Duncan's (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan menggunakan program SPSS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan imunisasi pasif Antibodi Anti-Inhibin tidak menekan imunoglobulin G total pada spesies kelinci yang sama.

Berdasarkan hasil penelitian ini, AAIn dapat menggantikan peranan hormon PMSG sebagai preparat superovulasi karena AAIn menetralkan inhibin yang mekanisme kerjanya menghambat sekresi FSH dapat diabaikan. Ditinjau dari imunologi AAIn tidak menimbulkan respon penekanan imunoglobulin dalam hal ini imunoglobulin G (IgG), jadi selain sebagai preparat superovulasi AAIn tidak mempunyai efek buruk terhadap sistem imunitas individu, khususnya pada satu spesies.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1999. Vademecum Pusat Veteriner Farma. Distributor KP-RI . Aneka Usaha Surabaya.
- Austin, C.R and R.V. Short. 1984. Hormonal Control of Reproduction. 2th, Reproduction in Mammals. Cambridge University Press. London. New York. New Rochelle. Melbourne. Sydney. P: 153-194.
- Baratawidjaya, K. G. 2000. Imunologi Dasar. Edisi IV. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal : 26-31
- Beard, AJ, N.Groome and Knight. 1991. Estimation of Immunoreactive (IR) Inhibin Concentration in bovine ovarian follicle using a level 2- site immunoradiometric assay (IRMA) spesific for dimeric inhibin. J. Reprod. Fertil. 40: 25.
- Bellanti, J. A. 1993. Imunologi III. Edisi Bahasa Indonesia. Cetakan I. Gadjahmada University Press. Hal: 163-167
- Bodin, L, P. V. Drian., B. Remy., G. Brice., Y. Cognie. And J. F. Beckers. 1997. Anti PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus sincronization. J. Reprod. Nutri. 37 (6): 65-60.
- Burgess, G. W. 1995. Teknologi ELISA Dalam Diagnosis Penelitian. Gadjahmada University Press.
- 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 againts inhibin increases FSH level, oestradiol secretion and follicular development. J. Reprod. Fertil. 8: 16.
- De Buysscher, E. V. and R. M. Petterson. 1995. Respon Imun (Tanggap Kebal): Suatu Revisi Singkat Teknologi ELISA Dalam Diagnosis Penelitian. G. W. Burgess ed, North Carolina State University and Jamescook University Tomnville Queensland. P: 560.
- Glencross, RG, ECL. Bleach, SC. Wood, and PL. Knight. 1994. Active immunization of heifer against inhibin, effect on plasma concentration of Gonadotropin, steroid and ovarian follicular dynamics during prostaglandin sincronized cycles. J. Reprod. Fertile. 100: 599-605.

- Goodman, JW. 199. Immunoglobulin structure and function. In :Basic and clinical Immunology. 7th ed. A Lange Lange Medical Book. Prentice Hall International, Inc. (UK) Limited. London.P:19-54.
- Gorman, NT., and REW. Halliwell.1989. The immunoglobulins: structure, genetics, and function. In: Veterinary clinical immunology. WB. Saunders Company Philadelphia. P: 19-54.
- Hafez, E.S.E. 1993. Reproduction in Farm Animals. 6th. Lea and Fabriger. Philadelphia. P: 20-143.
- 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. Pasca Sarjana, Unair. Surabaya. Hal: 17-34.
- Hermadi, HA., Suwarno, dan Kusnoto. 2002. Pengaruh pemberian antibodi anti-inhibin terhadap timbulnya antibodi anti-idiotip pada mencit. Media Kedokteran Hewan, 18(1): 130-134.
- Hercowitz, MB. 1993. Immunologi: Fungsi sel dan interaksi seluler dalam pembentukan antibody. Dalam: Imonologi III. JA. Bellanti. Gajah mada University Pers, Yogyakarta. Hal: 126-172.
- Ismudiono. 1996. Fisiologi reproduksi pada ternak. Edisi pertama. Diktat kuliah. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal: 42-54.
- Kaneko, H, Y. Nakanishi, S. Akagi, K. Arai, K. Taya, G. Watanabe, S. Sasamoto, and Y. Hasegawa. 1995. Immunoneutralization of inhibin an estradiol during the follikular phase of the oestrous cicle in cows. Boil . Reprod. 136: 34 -41.
- Knight, PG., JHM. Wrathall, and RJ. Castilo. 1988.Evidence that the bovine ovary secretes large amount of monomeric inhibin α subunit and its isolation from bovine follicular fluid. J. Molecular endocrinology. 2: 189-200.
- Lestari, E. D. 2003. Pengaruh Penggunaan AAIn Terhadap Antibodi Anti-Idiotip Pada Kelinci. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan.Universitas Airlangga. Hal: 24.
- Mc. Donald, L.E. 1997. Hormon of The Pituitary Glands. In L.M. Jones, N.H Broth and L.E. Mc Donald. Ed. Veterinary Pharhacology and Therapeutic. 4 th ed. Lea and Febriger Philadelphia.P: 32- 279.

- Nalbandov, A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas . Cetakan I. Penerbit Universitas Indonesia.Hal: 189-203.
- Outtridge, PM.1985. Veterinary Immunology. United States. Edition Publised academic Press. Orlando, Florida.
- Poskitt, D., M.Killing, B. Jean-Francois,S. Trunbull, L. Macdonald, and D. Yasmeeen.1992. Anti-idiotype vaccinesin theory and prctise. Today's Live Science. 4: 44-49.
- Rantam dan Ernawati, R. 1989. Pengaruh beberapa serum terhadap pertumbuhan sel monolayer.Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Santoso, S. 2001. Mengolah Data Statistik Scara Professional. SPSS versi 10. Penerbit PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta. Hal: 108-119.
- Subowo, 1993. Imunologi. Penerbit Angkasa Bandung.Hal: 75-89.
- Smith, JB dan Mangkoewidjaja, S.1988. Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. Universitas Indonesia. Press, Jakarta.Hal: 84 -110.
- Tizard, I. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Edisi kedua. Airlangga University Prees. Surabaya.Hal: 7-137.
- Tomaszewska, MW., IK. Utama, IG. Putu, dan TD. Chaniago. 1991.Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.Hal: 27-33.
- Zainuddin, M. 1988. Metodologi Penelitian. Universitas Airlangga . Surabaya. Hal: 787-78.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pemeriksaan Jumlah Imunoglobulin G Total pasca Penyuntikan AAIn

No.	Kontrol		Perlakuan I		Perlakuan II		Perlakuan III		Perlakuan IV	
	Data	Transformasi Vyd	Data	Transformasi Vyd	Data	Transformasi Vyd	Data	Transformasi Vyd	Data	Transformasi Vyd
1.	1.440	1.200	1.441	1.200	1.443	1.201	1.442	1.201	1.436	1.198
2.	1.430	1.196	1.477	1.215	1.447	1.203	1.474	1.214	1.468	1.212
3.	1.448	1.203	1.450	1.204	1.448	1.203	1.450	1.204	1.428	1.195
4.	1.441	1.200	1.435	1.198	1.442	1.201	1.439	1.200	1.440	1.200
5.	1.496	1.223	1.417	1.190	1.482	1.217	1.498	1.224	1.496	1.223
6.	1.486	1.219	1.481	1.217	1.484	1.218	1.484	1.218	1.481	1.217
7.	1.448	1.220	1.487	1.219	1.492	1.221	1.493	1.222	1.487	1.219
8.	1.435	1.198	1.475	1.214	1.475	1.214	1.472	1.213	1.474	1.214
N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Sum	11.664	9.659	11.663	9.659	11.713	9.680	11.752	9.696	11.710	9.679
Mean	1.45800	1.20743	1.45787	1.20738	1.46413	1.20998	1.46900	1.21199	1.46375	1.20981
SD	0.027135	0.011215	0.025587	0.010611	0.021040	0.008691	0.022885	0.009446	0.025672	0.010621

Lampiran 2 : Analisis Statistik Anava dan Uji Duncan's Jumlah Immunoglobulin G Total Pasca Penyuntikan AAIn.

ANOVA

Transformasi Vyd

	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig
Between groups	.000	4	.000	.293	.880
Within Grups	.004	35	.000		
Total	.004	39			

Kesimpulan: Perlakuan imunisasi pasif AAIn terhadap penekanan imunoglobulin G total pada tingkat penyuntikan dengan dosis yang sama tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Post Hoc Test

Homogenous Subsets

Transformasi vyd

Duncan ^a

Trial	N	Subsets for alpha = .05
		1
Injeksi 1x	8	1.20738 ^a
Kontrol	8	1.20743
Injeksi 4x	8	1.20981
Injeksi 2x	8	1.20998
Injeksi 3x	8	1.21199
Sig		.427

Means for group in homogenous subsets are displayed.

a. Usus harmonic mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 3. Cara Kerja Uji ELISA Langsung

CARA KERJA UJI ELISA LANGSUNG

I. Coating Immunoglobulin:

- Serum perlakuan diencerkan dengan *buffer coating* dengan pengenceran 1/1000.
- Ambil 100µl larutan tersebut dimasukkan setiap sumuran mikroplat ELISA.
- Inkubasi semalam pada suhu 4°C.
- Cuci sumuran mikroplat dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.

II. Blocking :

- Ditambahkan 150 µl *buffer blocking* pada setiap sumuran.
- Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
- Cuci sumuran mikroplat dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.

III. Inkubasi Konjugat :

- Konjugat *goat-Anti Rabbit Anti Immunoglobulin G* yang dilabel enzim *alkaline phosphatase* diencerkan dengan *buffer blocking* 1/1000.
- Ambil 100 µl larutan tersebut dimasukkan setiap sumuran mikroplat ELISA.
- Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
- Cuci sumuran mikroplat dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.

IV. Inkubasi Substrat :

- Substrat 4-NPP (*Nitro Phenyl Phosphate*) dilarutkan dengan *buffer substrat*.
- Ambil 100 μ l larutan tersebut dimasukkan setiap sumuran mikroplat ELISA.
- Diamkan 30-60 menit pada suhu 37°C dalam ruang gelap.
- Tambahkan larutan *stopper* (NaOH 3 N) sebanyak 50 μ l pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi.
- Selanjutnya membaca nilai *absorban* pada panjang gelombang 405 nm dengan ELISA *reader*.

Lampiran 4. Bahan-bahan Uji ELISA Langsung**BAHAN UJI ELISA LANGSUNG****I. CARBONATE BUFFER**

$\text{Na}_2\text{CO}_3 = 1,59 \text{ gram}$

$\text{NaHCO}_3 = 2,93 \text{ gram}$

Aquades ad 1 l

Pada pH 9,6

II. BLOCKING BUFFER

$\Rightarrow \text{PBS} - \text{Tween} - \text{BSA pH } 7,4$

BSA 0,5 gram

PBS - Tween ad 100 ml

III. WASHING BUFFER

$\Rightarrow \text{NaCl} - \text{Triton } x$

$\text{NaCl} = 0,9 \text{ gram}$

$\text{Triton } x-100 = 0,05 \text{ ml}$

$\text{NaN}_3 = 20 \text{ mg}$

Aquades ad 100

IV. SUBSTRATE BUFFER

$\text{MgCl}_2 : 10 \text{ mg}$

Diethanolamin : 9,7 ml

$\text{NaN}_3 : 20 \text{ mg}$

Aqua : 80 ml

HCl pekat sampai pH 9,8

Aquadest ad 100 ml