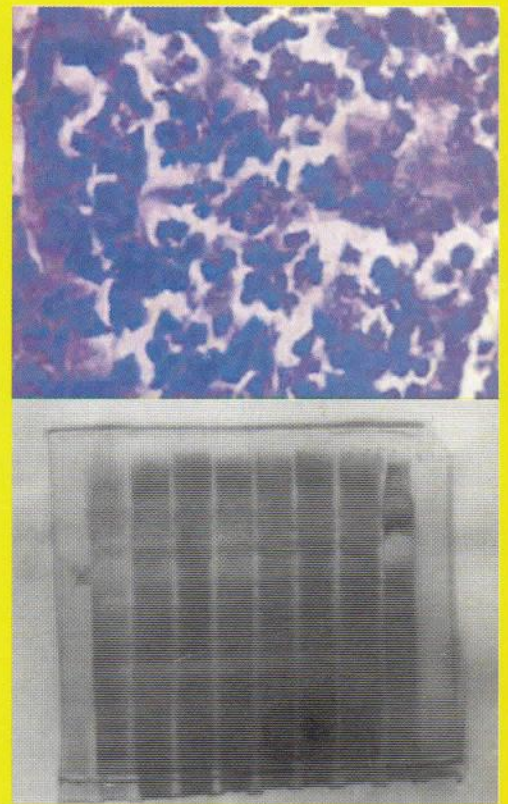




# *Veterinary Anatomy Journal*



**Departemen Anatomi Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga**

# *Veterinary Anatomy Journal*

---

Vol 1, No. 2, Desember 2008

**Veterinary Anatomy Journal** memuat tulisan ilmiah dalam bidang Anatomi Veteriner dengan lingkup keilmuan : Anatomi makro, Anatomi Mikro dan Anatomi Perkembangan.

Terbit pertama kali tahun 2008 dengan frekuensi terbit dua kali setahun pada bulan Juni dan Desember.

---

## **Susunan Dewan Redaksi**

**Ketua penyunting :**  
Gracia Angelina Hendarti

**Sekretaris :**  
Maslichah Mafruchati

**Bendahara :**  
Eka Pramytha Hestianah

**Iklan dan Langganan :**  
Widjiati

**Penyunting Pelaksana :**  
Hana Eliyani  
Suharsono  
Chairul Anwar  
Sulistiyaningwati Guntoro

**Penyunting Teknis :**  
Epy Muhammad Luqman

Alamat Redaksi : Departemen Anatomi Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga  
Kampus C Unair Jl. Mulyorejo Tel. (031) 5992785 – 5993016  
Surabaya 60115  
Fax (031) 5993015 E-mail : vetanatomy@yahoo.co.uk

Rekening : Tahapan BCA-No 01827.97730 (a.n Drh Widjiati )

Veteriner Anatomy Journal diterbitkan oleh Departemen Anatomi Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

## Ketentuan Umum Penulisan Naskah

1. Ketentuan Umum
  - a. Veterinary Anatomy Journal memuat tulisan ilmiah dalam bidang Anatomi Veteriner dengan lingkup keilmuan: Anatomi Makro, Anatomi Mikro (Histologi) dan Anatomi Perkembangan (Embriologi), berupa hasil penelitian, artikel ulas balik (review/mini review) dan laporan kasus baik dalam Bahasa Indonesia maupun Bahasa Inggris.
  - b. Naskah/makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam Veterinary Anatomy Journal, maka tidak boleh diterbitkan dalam majalah atau media yang lain.
2. Standar Penulisan
  - a. Makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul Tabel dan Tabel, Judul Gambar, Daftar Pustaka, dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
  - b. Alinea baru dimulai 3 (tiga) ketukan ke dalam atau (*First line 0.3"*).
  - c. Huruf standar untuk penulisan adalah Times New Roman 12.
  - d. Memakai kertas HVS ukuran A4 (21,0 x 29,7 cm).
  - e. Menggunakan bahasa Indonesia atau bahasa Inggris.
  - f. Tabel/Illustrasi/Gambar harus hitam putih, amat kontras atau *file scanning* (apabila sudah disetujui untuk dimuat).
3. Tata cara penulisan naskah/makalah ilmiah
  - a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir maksimal 12 (dua belas) halaman.
  - b. Penulisan topi (Judul, Nama Penulisan, Abstrak, Pendahuluan, Metode Penelitian dst) tidak menggunakan huruf kapital (*setence*) tetapi menggunakan *Title Case* dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri).
  - c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul, Nama Penulisan dan Identitas, Abstrak dengan Key words, Pendahuluan, Materi dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terima Kasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran.
  - d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informatif, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
  - e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, tidak boleh disingkat dan ditulis di bawah nama penulis.
  - f. Abstrak maksimal terdiri dari 200 (dua ratus) kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
  - g. Kata kunci (*key words*) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
  - h. Materi dan Metode memuat peralatan/bahan yang digunakan terutama yang spesifik dan metode yang digunakan dalam penelitian.
  - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf *hanging 0.3"* dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka, Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan *Text Book* (40%). Berikut contoh penulisan daftar pustaka berturut-turut untuk *Text Book* dan Jurnal.

Roitt, I., J.M. Clement, M.P. Fenkiel, M. Hofnung and V. Deuble. 1996. Dengue-1 virus envelope glycoprotein gene expressed in recombinant baculovirus elicits virus neutralization antibody in mice and protects them from virus challenge. *Am.J. Trop. Med. Hygi*;45:159-167.
  - i. Tabel, Keterangan Gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 spasi, dengan huruf Time New Roman 12.
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (*print out*) sebanyak 3 (tiga) eksemplar. Setelah ditelaah oleh Tim Editor Veterinary Anatomy Journal, makalah yang telah direvisi penulis segera dikembalikan ke redaksi dalam bentuk cetakan 1 (satu) eksemplar dengan menyertakan makalah yang telah direvisi dan 1 (satu) Compact Disc (Program MS Word/IBM Compatible) dikirim ke alam redaksi: **Veterinary Anatomy Journal, Departemen Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jalan Mulyorejo, Surabaya 60115, Telepon 031-599.2785; 599.3016; Fax. 031-599.3015; e-mail: [vetanatomy@yahoo.co.uk](mailto:vetanatomy@yahoo.co.uk).**
5. Ketentuan akhir  
Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:
  - a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
  - b. membuat naskah/makalah dengan perubahan
  - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas ini naskah/makalah.
7. Makalah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan biaya pengiriman.
8. Penulis/pelanggan dapat mengirimkan biaya pemuatan makalah/langganan lewat transfer bank pada **Drh. Widjiati**, dengan nomor rekening Tahapan BCA No. : 01827.97730 Harga langganan Rp. 100.000,- (Seratus ribu rupiah) pertahun sudah termasuk biaya pengiriman.
9. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keperluan itu.



# *Veterinary Anatomy Journal*

## Daftar Isi

Judul	Halaman
1. <b>Inokulasi Mikroorganisme Pengurai Melalui Proses Biofermentasi</b> Adriana Monica Sahidu.....	1
2. <b>Pengaruh Pemberian Formula Pakan Menurut Kebutuhan Asam Amino Terhadap Berat Karkas Dan Persentase Lemak Abdominal Ayam Pedaging</b> Tri Nurhajati dan Mulyanto.....	7
3. <b>Prevalensi Flu Burung Pada Peternakan Ayam Ras Di Beberapa Kabupaten Jawa Timur</b> Emy Koestanti Sabdoningrum dan Hario Puntodewo Siswanto.....	15
4. <b>Identifikasi Glikoprotein Plasma Seminalis Kambing Dengan Metode Electroforesis</b> Suherni Susilowati.....	19
5. <b>Ekspresi Reseptor Alfa Estrogen (ER-<math>\alpha</math>) Dalam Proses Penyembuhan Fraktur Komplit Pada Tulang Metacarpal Domba</b> Ach.Sjarwani,David Viter Olele, Budiarto dan Ismudiono.....	25
6. <b>Konfirmasi Alur Luteolitik Hormon PGF<sub>2</sub> Alfa Dalam Alat Kelamin Betina Sapi Perah Menggunakan Metode Immunohistokimia</b> Pudji Srianto.....	29
7. <b>Profil Anti Prolaktin Sebagai Anti Moulting Pada Itik Melalui Metode Elisa Inderect</b> Tatik Hernawati.....	35

<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
8. <b>Uji Validitas Kebuntingan Kambing Menggunakan EPF Mikro Titer Strip Dan Palpasi Abdominal Sebagai Gold Standard</b> Abdul Samik.....	43
9. <b>Identifikasi Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) Selama Proses Maturasi In Vitro Oosit</b> Widjiati, Epy.M.L., Zaenal Mustakim dan Lianny Nangoi.....	51
10. <b>Isolasi Dan Berat Molekul Protein OMP Kuman Salmonella Pullorum Isolat Lapangan</b> Hasutji Endah Narumi Dan Sri Chusniati.....	57
11. <b>Peningkatan Tebal Cangkang Dan Berat Telur Layer Dengan Pakan Rendah Protein Yang Disustituscruide Chlorella</b> Budiarto, Yenny Dhamayanti, Aprilya Hadi Dwi Anjayani dan Arimbi.....	61
12. <b>Pola Sinkronisasi Estrus Pada Sapi</b> Siti Darodjah Rasad.....	65
13. <b>Ekspresi Fas Pada Bursa Fabricus Ayam Yang Diinfeksi Virus Gumboro Virulen</b> Hani Plumeriastuti.....	69
14. <b>Ekspresi Tirosin Kinase Pada Spermatozoa Sapi Fies Holstein (fh) Dengan Teknik Imunositokimia</b> Sri Pantja Madyawati	75

**Profil Anti Prolaktin Sebagai Anti Moulting Pada Itik Melalui Metode Elisa Indirect****The Profile of Anti Prolactine as Anti Mouting on The Duck with Indirect Elisa Methode****Tatik Hernawati** ✓

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga  
Kampus C Unair, Jl Mulyorejo Surabaya 60115  
Telp. 031-5992785 Fax.031-5993015  
email : tatik\_@unair.ac.id

**Abstract**

The profile of the anti prolactine as anti moulting could be showed with Indirect Elisa methode. The anti prolactine was made on goat with immunized the prolactine isolate frequently from the moulting phase of duck in CFA dilution and was boosted 13 times in IFA dilution. The immunization was done every week until 14 week. The bleeding was done one day before immunized as preimun and 23 times after first immunized. The result of the Optical Density from the anti prolactine with indirect elisa methode that the anti prolactine start rise on first bleeding (2 week after first immunized in CFA dilution). The average highest of the optical density was reached from the anti prolactine on bleeding 17<sup>th</sup> ( $1,00467 \pm 0,47112$ ).

Keywords : Anti prolactine, anti moulting, duck, indirect elisa.

**Pendahuluan**

Studi yang dilakukan oleh Safitri, dkk. (2005) dan (2006) menemukan teknik mengurangi masa moulting (rontok bulu) pada ayam dorab dan ras petelur dengan pemberian anti prolaktin yang diproduksi pada kelinci. Anti prolaktin tersebut juga menyebabkan kedua unggas di atas dapat berproduksi telur kembali.

Pada penelitian ini dibuat anti prolaktin pada kambing dengan cara menyuntikkan isolate prolaktin itik fase moulting ke dalam tubuh kambing secara intra kutan. Isolat prolaktin dari itik fase moulting merupakan suatu imunogen yang nantinya akan menghasilkan suatu antibodi poliklonal yaitu anti prolaktin. Seperti yang dinyatakan oleh Smith (1995), Byosistem (1999) dan Anwar dan Safitri (2005), bahwa pembentukan antibodi atau serum hiperimun (antiserum) dapat dilakukan melalui injeksi yang diberikan secara intrakutan terhadap hewan coba dengan suatu imunogen yang spesifik akan menghasilkan antibodi poliklonal anti imunogen spesifik tersebut.

Kambing mempunyai variasi respon dengan beberapa substansi yang tidak begitu imunogen oleh karena itu Smith (1995) menganjurkan untuk mengimunisasi semua

individu secara serentak untuk menghapus variasi individu. Menurut Kresno (1996) ada kemungkinan dua individu yang berbeda sifat genetiknya menunjukkan respon imun yang berbeda terhadap antigen yang sama. Faktor-faktor yang terlibat dalam mengoptimalkan respon imun yang perlu dipertimbangkan adalah sifat alami imunogen, pelarut, hewan, rute injeksi dan protocol dosis (Smith, 1995). Selain itu faktor genetik individu yang terpapar oleh antigen juga menentukan respon imun yang terjadi.

Menurut Turner dan Bagnara (1988) dan Safitri (2004) menyatakan bahwa ditemukan hormone prolaktin yang tinggi pada unggas yang sedang moulting. Prolaktin mempunyai pengaruh antigonadal yang langsung pada gonad atau secara langsung menekan pelepasan gonadotropin yang dihasilkan oleh hiofisa anterior (Gan *et al.*, 1987; Safitri, dkk. 2005). Prolaktin dapat digolongkan kedalam bahan yang bersifat imunogen karena BM yang lebih besar dari 10.000 Da, sehingga bila disuntikkan secara berulang pada hewan dapat menginduksi timbulnya antibodi poliklonal anti prolaktin (Fitzgerald, 2004; Agrisera, 2004; Upstate, 2002).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini ditujukan untuk mengetahui profil anti prolaktin sebagai anti moulting melalui metode *Elisa Indirect*. Untuk mendapatkan anti prolaktin dilakukan dengan cara menyuntikan isolate prolaktin itik yang mengalami moulting pada hewan coba kambing. Selanjutnya penentuan profil prolaktin dilakukan melalui metode *Elisa Indirect*.

#### Materi Dan Metode Penelitian

Pada penelitian ini digunakan kambing lokal jantan dengan umur 1,5 tahun sebanyak enam ekor yaitu lima ekor kambing sebagai perlakuan dan satu ekor kambing sebagai kontrol. Kambing lokal sebanyak enam ekor tersebut, diimunisasi aktif yang pertama pada hari ke nol masa penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate prolaktin itik fase moulting dan anti prolaktin yang diambil dari vena jugularis kambing. Bahan untuk SAS 50% (Saturated Ammonium Sulphate) adalah : SAS jenuh 50%, buffer fosfat 0,05 M pH 7, buffer fosfat 0,01 M pH7, larutan BaCl<sub>2</sub>. Bahan untuk mengukur optical density anti prolaktin adalah : Buffer Carbonat-Bicarbonat, 0,05% PBS Tween 20, Blocking Buffer BSA 1 %, diethanolamin 10%, NaOH 3 M.

Pembuatan Anti Prolaktin.

Sebanyak 275 µg/ml isolat prolaktin dalam *Complete Freund's Adjuvant*

disuntikkan pada lima ekor kambing jantan lokal secara intrakutan, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan satu ekor kambing lokal jantan yang disuntik PBS (*Phosphat Buffer Saline*) dalam *Incomplete Freund's Adjuvant* dengan perbandingan 1 : 1. Sehari sebelum imunisasi pertama dilakukan bleeding (*Bleeding*) pre imun pada vena jugularis kambing. Dua belas hari kemudian dilakukan *booster* pertama dengan 275 µg/ml isolat prolaktin dalam *Incomplete Freund's Adjuvant*.

*Booster* kedua dilakukan pada hari ke 19 dengan 275 µg/ml isolat prolaktin dalam *Incomplete Freund's Adjuvant*. *Booster* ketiga sampai ketiga belas dilakukan seminggu dua kali dengan 275 µg/ml isolat prolaktin dalam *Incomplete Freund's Adjuvant*. Selanjutnya setiap minggu setelah *booster* dilakukan pengambilan darah (*bleeding*), sebanyak 10 cc sampel darah diambil secara intra vena dari tiap-tiap kambing. Darah yang di dapat dibiarkan mengendap dan diambil serumnya. Selanjutnya serum dipurifikasikan dengan metode SAS 50 %

Selanjutnya adalah pelaksanaan analisa *Optical Density* (OD) antibodi dengan *ELISA Indirect*, untuk dapat mengetahui kapan mulai terbentuknya dan titer tertinggi dari antibodi yang terbentuk. Untuk lebih jelasnya jadwal pembuatan anti prolaktin dapat dilihat pada Tabel di bawah ini.

Tabel 1. Jadwal Pembuatan Anti Prolaktin pada Kambing ( Anwar dan Safitri, 2005; Biosystem, 1999 ).

Hari	Prosedur	Adjuvan/keterangan
-1	Bleeding pre imun	-
0	Imunisasi pertama = 1 ml isolat prolaktin (275 µg/ml)	CFA = 1 ml
12	Bleeding ke-1 + Imunisasi ke dua ( <i>Booster I</i> ) = 1 ml isolat prolaktin (275 µg/ml).	IFA ke-1 = 1 ml
15	Bleeding ke-2	
19	Bleeding ke-3 + Imunisasi ketiga ( <i>Booster II</i> ) = 1 ml isolat prolaktin (275 µg/ml).	IFA ke-2 = 1 ml
22	Bleeding ke 4	
26	Bleeding ke 5 + Imunisasi keempat ( <i>Booster III</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-3 = 1 ml
29	Bleeding ke 6	
33	Bleeding ke 7 + Imunisasi kelima ( <i>Booster IV</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-4 = 1 ml
36	Bleeding ke 8	

40	Bleeding ke 9 + Imunisasi keenam ( <i>Booster V</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-5 = 1 ml
43	Bleeding ke 10+ Imunisasi ketujuh ( <i>Booster VI</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-6 = 1 ml
47	Bleeding ke 11	
50	Bleeding ke 12	
54	Bleeding ke 13 + Imunisasi kedelapan ( <i>Booster VII</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-7 = 1 ml
57	Bleeding ke 14	
61	Bleeding ke 15 + Imunisasi kesembilan ( <i>Booster VIII</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-8 = 1 ml
64	Bleeding ke 16	
68	Bleeding ke 17 + Imunisasi kesepuluh ( <i>Booster IX</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-9 = 1 ml
71	Bleeding ke 18 + Imunisasi kesebelas ( <i>Booster X</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-10 = 1 ml
75	Bleeding ke 19 + Imunisasi keduabelas ( <i>Booster XI</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-11 = 1 ml
78	Bleeding ke 20 + Imunisasi ketigabelas ( <i>Booster XII</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-12 = 1 ml
82	Bleeding ke 21	
85	Bleeding ke 22 + Imunisasi keempatbelas ( <i>Booster XIII</i> ) = 1 ml prolaktin (275 µg/ml)	IFA ke-13 = 1 ml
89	Bleeding ke 23	

#### Pemeriksaan *Optical Density* (OD) Anti Prolaktin

Pemeriksaan OD anti prolaktin dengan menggunakan ELISA *Indirect* (Suwarno, 2003), melalui tahapan – tahapan sebagai berikut : Isolat prolaktin kadar 100 µg/ml dilarutkan dalam buffer *Carbonat – Bicarbonat* (*Coating Buffer*). 50 µl larutan tersebut dimasukkan kedalam setiap sumuran (*well*) *microplate* ELISA. Selanjutnya larutan dalam *microplate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C. Setiap *well microplate* dicuci dengan 0,05 % PBS – Tween 20 sebanyak 3 kali @ 3 menit. Selanjutnya dilakukan *Blocking Buffer* (BSA 1 %) sebesar 50 µl ditambahkan ke dalam setiap *well microplate*.

*Well microplate* diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam pada suhu 37°C. Kemudian tiap *well microplate* dicuci dengan 0,05 % PBS Tween-20 sebanyak 3 kali @ 3 menit. Lebih lanjut sebagai antibodi primer digunakan antibodi poliklonal anti prolaktin kambing yang dilarutkan dalam *blocking buffer* BSA 1 % menggunakan tabung mikro. Pengenceran antibodi tersebut dilanjutkan sehingga

diperoleh pengenceran dengan kelipatan tertentu yaitu 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/5120, 1/10240. dengan menggunakan *microplate* lain (bukan *microplate* ELISA). *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Setiap *well microplate* dicuci dengan 0,05 % PBS Tween-20 sebanyak 3 kali @ 3 menit. Isolat prolaktin dicoating dengan antibodi primer yang dilarutkan dalam BSA 1 %, kemudian larutan tersebut sebanyak 50µl ditambahkan ke dalam tiap sumuran. *Well microplate* diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setiap *well microplate* dicuci dengan 0,05 % PBS Tween 20 sebanyak 3 kali @ 3 menit. Isolat prolaktin dicoating dengan Antibodi Sekunder (*Anti goat Ig G alkaline phosphatase conjugated*) yang dilarutkan dalam TBS Tween-20 dengan pengenceran 1/2500, kemudian larutan tersebut sebanyak 50 µl ditambahkan ke dalam setiap sumuran. *Well microplate* diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Setiap *well microplate* dicuci dengan 0,05 % PBS-Tween 20 sebanyak 3 kali @ 3 menit.

Substrat pNPP (*para nitro phenyl phosphat*) dilarutkan dengan buffer sustrat (*diethanolamine* 10 %), kemudian 50 µl



larutan isolat prolaktin kadar 100 µg/ml dilarutkan dalam *buffer Carbonat – Bicarbonat*. 50 µl larutan tersebut dimasukkan ke dalam setiap *well microplate* ELISA. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan gelap. Larutan *stopper* (HCL 3 M) sebanyak 50 µl tiap *well microplate* untuk menghentikan reaksi. Pembacaan nilai absorbansi dengan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

**Hasil dan Pembahasan**

Pembentukan anti prolaktin pada kambing yang telah disuntik isolat prolaktin dalam CFA dan di *booster* sebanyak tiga belas kali dalam IFA, data berupa serum darah yang diperoleh dari bleeding pertama sampai ke 23 ditera *optical density* antibodinya dengan menggunakan ELISA *indirect*. Pembacaan hasil dilakukan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm. Pembacaan *optical density* antibodi dapat dipakai sebagai patokan apabila *optical density* pada kelompok kontrol < 0,2 (Suwarno, 2000).

*Optical density* antibodi dapat dibaca dengan metode positif atau negatif. *Optical density* antibodi yang dibaca melalui ELISA reader dinyatakan positif apabila sampel memberikan nilai absorbansi di atas nilai rata – rata kontrol negatif (COV/Cut of Value). Besar sampel antara 10 – 100, COV ditentukan dengan rata – rata kontrol negatif ditambah 2 – 3 simpangan baku ( $X + 2 - 3 SD$ ) (Suwarno, 2000).

Berdasarkan hasil pemeriksaan OD anti prolaktin dengan uji ELISA *Indirect* maka diperoleh data bahwa pada bleeding pertama setelah imunisasi yang pertama semua kambing (K 1-5) sudah terlihat OD positif adanya anti prolaktin, yaitu diatas nilai dua kali COV (0,1187) yaitu sebesar 0,327 (K 1), 0,328 (K 2), 0,327 (K 3), 0,329 (B 4), dan 0,328 (K 5) pada pengenceran 1/160

Terbentuknya anti prolaktin dari kelima ekor kambing untuk pertama kalinya (ditunjukkan dengan OD positif) pada bleeding pertama setelah imunisasi yang pertama dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 1. Pembentukan Anti Prolaktin untuk Pertama Kali setelah Penyuntikan Isolat Prolaktin

Kambing	Waktu timbulnya antibodi poliklonal anti prolaktin pada bleeding pertama	
	Pengenceran 1/160 ( <i>optical density</i> )	2 COV
KB 1	0,327*	0,1187
KB 2	0,328*	
KB 3	0,327*	
KB 4	0,329*	
KB 5	0,328*	

\* *Optical density* positif anti prolaktin

Berdasarkan uji statistik dengan ANOVA ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) di antara perlakuan, dengan demikian waktu bleeding pada kambing dapat mempengaruhi besarnya OD anti prolaktin yang diperoleh setelah penyuntikan isolat prolaktin, maka selanjutnya diperlukan uji *Honestly Significant Difference* 5 % untuk menentukan perlakuan yang paling baik dalam mendapatkan OD anti prolaktin. Berdasarkan uji *Honestly Significant Difference* 5 % diperoleh hasil bahwa

perlakuan bleeding ke 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23 tidak berbeda nyata dengan bleeding ke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 20.

Secara keseluruhan rata-rata OD anti prolaktin pada pengenceran 1/160 dari kelima ekor kambing dan satu ekor kambing kontrol pada bleeding pertama sampai kedua puluh tiga dapat digambarkan pada gambar 1 dibawah ini. Pembuatan gambar tersebut adalah berdasarkan tabel 2.

Tabel 2. OD Anti Prolaktin pada Pengenceran 1/160 dari 23 X Bleeding pada Kambing.

Bleedin g ke-	K K	Ulangan					Rata-rata KB 1-5
		K 1	K 2	K 3	K 4	K 5	
0	0,032	0,033	0,032	0,034	0,033	0,035	
1	0,053	0,327	0,328	0,327	0,329	0,328	0,328 ± 0,001
2	0,058	0,810	0,811	0,813	0,825	0,809	0,812 ± 0,002
3	0,061	0,852	0,854	0,856	0,858	0,851	0,854 ± 0,003
4	0,049	0,920	0,921	0,924	0,923	0,922	0,920 ± 0,002
5	0,055	0,966	0,967	0,969	0,968	0,965	0,967 ± 0,002
6	0,058	0,987	0,989	0,985	0,989	0,988	0,988 ± 0,002
7	0,061	1,065	1,064	1,066	1,067	1,063	1,065 ± 0,002
8	0,049	1,103	1,102	1,104	1,105	1,103	1,103 ± 0,001
9	0,054	1,108	1,107	1,109	1,110	1,108	1,108 ± 0,001
10	0,059	0,987	0,986	0,988	0,989	0,987	0,987 ± 0,002
11	0,062	0,934	0,935	0,936	0,935	0,931	0,934 ± 0,002
12	0,049	0,895	0,896	0,898	0,897	0,892	0,895 ± 0,002
13	0,053	0,911	0,912	0,913	0,910	0,911	0,911 ± 0,001
14	0,050	0,993	0,992	0,994	0,995	0,993	0,993 ± 0,001
15	0,047	1,109	1,110	1,108	1,111	1,109	1,109 ± 0,001
16	0,052	1,132	1,131	1,133	1,134	1,132	1,132 ± 0,001
17	0,043	1,197	1,198	1,199	1,196	1,195	1,197 ± 0,002
18	0,047	1,168	1,169	1,170	1,167	1,166	1,168 ± 0,002
19	0,055	1,119	1,120	1,121	1,118	1,117	1,119 ± 0,002
20	0,059	1,000	0,999	0,998	1,001	1,002	1,000 ± 0,002
21	0,062	1,110	1,111	1,112	1,109	1,108	1,110 ± 0,002
22	0,061	1,111	1,112	1,109	1,108	1,110	1,110 ± 0,002
23	0,063	1,114	1,115	1,113	1,111	1,117	1,114 ± 0,002

Keterangan : K K : Kambing kontrol

K 1 -5 : Kambing nomor 1-5

Kenaikan rata-rata OD anti prolaktin dari bleeding ke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9, setelah diberikan *booster* isolat prolaktin dalam IFA ke 1, 2, 3, 4. Selanjutnya OD menurun pada bleeding ke 10, 11 dan 12 setelah diberikan *booster* isolat prolaktin dalam IFA ke 5 dan 6. Kemudian meningkat lagi pada bleeding ke 13, 14, 15, 16 dan 17 setelah diberikan *booster* ke 6 dan 7. Setelah diberikan *booster* ketujuh dan delapan. Bleeding 18, 19 dan 20, *optical density* antibodi poliklonal anti prolaktin menurun lagi setelah diberikan *booster* ke 9, 10, 11. Selanjutnya *optical density* antibodi poliklonal anti prolaktin meningkat lagi pada bleeding ke 21 dan 23, sedangkan pada bleeding ke-22, nilai *optical density* sama besarnya dengan bleeding ke-21, setelah diberikan *booster* ke 12 dan 13. Puncak kenaikan *optical density* antibodi poliklonal anti prolaktin dihasilkan pada bleeding kedelapan, kesembilan, serta ketujuh belas.

Imunogenitas suatu substansi ditentukan oleh beberapa faktor penting, di antaranya

yaitu molekul substansi tersebut harus berukuran cukup besar, walaupun belum diketahui batas ukuran molekul yang menentukan imunogenitas. Substansi dapat dikatakan bersifat imunogen jika mempunyai berat molekul > 5.000 dalton (Smith, 1995) dan Imunogen yang paling poten adalah makromolekul protein dengan berat molekul > 10.000 Dalton (Abbas *et al.*, 2000 dan Godman, 1991).

Pada penelitian ini isolat prolaktin itik dianggap sebagai benda asing yang dimasukkan ke dalam tubuh kambing dan nantinya akan dihasilkan antibodi yang disebut antibodi poliklonal anti prolaktin. Hal ini sesuai dengan pendapat Biosystem (1999), Cortex (2003), Progen (2000) dan Kerr dan Thorpe (1994), yang melakukan imunisasi hormon protein untuk mendapatkan anti protein dengan satu kali penyuntikan dalam CFA dan tiga belas kali penyuntikan dalam IFA setiap minggunya sebagai *booster*.

Penentuan munculnya antibodi yang diharapkan, diperlukan teknik seleksi yang cepat dan hasilnya tidak meragukan, untuk itu uji ELISA *indirect* digunakan dalam mendeteksi OD anti prolaktin pada penelitian ini. Interpretasi hasil ELISA dapat dilakukan secara kualitatif (visual) ataupun secara kuantitatif (dengan spektrofotometer). Secara kualitatif ELISA dibaca dengan melihat perubahan warna antara kelompok yang diperiksa dengan kelompok kontrol (positif dan negatif). Secara semi kuantitatif atau kuantitatif, ELISA dibaca dengan spektrofotometer (ELISA *reader*) dengan berdasarkan pada nilai absorban atau kerapatan optik (*Optical Density / OD*) (Suwarno, 2000).

Berdasarkan OD yang diperoleh dari uji ELISA *Indirect* dapat dinyatakan bahwa perlakuan imunisasi pada kambing dengan menggunakan isolat prolaktin dapat menyebabkan terbentuknya anti prolaktin.

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa perbedaan OD anti prolaktin diperoleh pada bleeding ke 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, dan 23 yang tidak berbeda nyata dengan bleeding ke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 14, 20. OD anti prolaktin terendah terjadi pada Bleeding pre imun. Perbedaan perolehan OD ini disebabkan oleh karena adanya perbedaan respon individual dalam menanggapi antigen yang masuk ke dalam tubuh, sesuai dengan pendapat smith (1995) dan Kerr and Thorpe (1994) bahwa kambing sangat terkenal dengan variasi responnya terhadap antigen. Faktor-faktor yang dapat mengoptimalkan respon imun terhadap antigen yang masuk adalah sifat alami imunogen, adjuvant, hewan yang dipilih, cara penyuntikan dan dosis antigen yang diberikan.

Menurut Safitri (2005), Cortex (2003), Progen (2000) dan Biosystem (1999), faktor – faktor yang juga dapat meningkatkan respon imun terhadap antigen yang masuk selain kelima faktor di atas adalah periode antara imunisasi yang pertama dalam CFA dengan imunisasi *booster* dalam IFA yang pertama, dan periode antara *booster* dalam IFA yang pertama dengan *booster* dalam IFA berikutnya.

Pemberian adjuvant dimaksudkan untuk memperkuat respon timbulnya antibodi, karena antigen yang masuk ke dalam tubuh

akan disekresi secara perlahan, tetes demi tetes sehingga mempunyai jangka waktu yang lama dalam tubuh (Tizard, 1988).

Berdasarkan hasil penelitian ini, pada bleeding ke 10, 11, 12, 18, 19, 20 anti prolaktin sudah mengalami penurunan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Kresno (1996) bahwa pembentukan antibodi tidak berlangsung tanpa batas, ada mekanisme kontrol yang mengendalikan dan menghentikan pembentukan antibodi berlebihan. Beberapa mekanisme kontrol itu adalah : berlebih dan berkurangnya kadar antigen dan penekanan oleh sel T penekan.

Kemudian pada bleeding ke 13, 14, 15, 16, 17, 21, 23 OD anti prolaktin meningkat lagi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Byosistem (1999) dan Baratawidjaja (2000) yang menyatakan bahwa peningkatan OD anti prolaktin tersebut karena adanya respon sekunder. Respon sekunder yang terbentuk mempunyai ciri khas yaitu : (1). Pembentukan imunoglobulin berlangsung lebih cepat dan untuk waktu yang lebih lama, (2). Imunoglobulin mencapai OD yang lebih tinggi, (3). Imunoglobulin terutama terdiri atas IgG.

Selanjutnya setelah OD anti prolaktin dari respon sekunder menurun, maka OD tersebut dapat ditingkatkan lagi yang lebih tinggi yaitu setelah diberikan respon sekunder pertama, kedua dan seterusnya. Hal tersebut dapat terbukti dari penelitian ini, yaitu setelah dilakukan *booster* yang ke-8, 12, 13 dengan isolat prolaktin dalam IFA (gambar1).

Setelah terjadi respon imun, sel-sel yang spesifik terhadap antigen bersangkutan bertambah banyak, dan sel-sel efektor bereaksi untuk menyingkirkan antigen. Setelah terbentuk antibodi, antigen dihancurkan atau dinetralkan oleh antibodi, sehingga hanya imunosit dengan afinitas reseptor yang tinggi sajalah yang dapat mengenali antigen, dengan demikian aktivitas imunosit makin lama makin berkurang. Penurunan aktivitas ini, selain diatur oleh penurunan dan peningkatan jumlah antigen, juga disebabkan oleh antibodi itu sendiri yang dapat memberikan umpan balik negatif (Kresno, 1996). Jadi suatu saat mekanisme pembentukan antibodi akan menurun setelah diperoleh *optical density* tertinggi.

Hal tersebut didukung oleh Byosistem (1999) dan Baratawidjaja (2000), yang menyatakan bahwa dengan adanya respon sekunder pertama, kedua, dan seterusnya yang diberikan melalui *booster*, sel memori akan dengan cepat berproliferasi untuk membentuk *optical density* antibodi yang lebih tinggi dan lebih lama (gambar 1).

### Kesimpulan

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

Antibodi poliklonal anti prolaktin dapat ditimbulkan pada kambing dari isolat prolaktin itik fase moulting pada bleeding pertama setelah dilakukan imunisasi yang pertama. Rataan *Optical density* tertinggi yang dapat dicapai dari antibodi poliklonal anti prolaktin terjadi pada bleeding ketujuh belas ( $1,00467 \pm 0,47112$ ), yang tidak berbeda nyata dengan bleeding ke 1 sampai 23.

### Daftar Pustaka

- Abbas KA, Litchman AH, Pober JS. 2000. Antibodies and Antigens. Cellular and molecular immunology. 4 th ed. Philadelphia, WB Saunders Co. P. 41-62.
- Agrisera. 2004. Polyclonal Antibodi Production Program Distated by Customer's Requirements. Aves labs, Inc. <http://www.aveslab.com/service.php4>.
- Asworo, D., Idroes, Hendra D. 1995. Mari Beternak Itik. Penerbit CV Perintis Graphic Art. Surabaya. Hal.13-29.
- Baratawidjaja, KG. 2001. Imunologi Dasar. Ed. 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 275-279. Biosystems. 1999. Antibodies : From Design to Assay A Practical Guide. <http://www.pebio.com/pa/340913/html/chapt1.htm.Download>.
- Cortex B. 2003. Polyclonal Antibodi Anti-Prolactin. Cortex Biochem Purified Biochemicals Purification Nucleic Acid Antibodi P. 1-2. Chem.com/objects/Catalog/product/extran/CR2150R.pdf.
- Fitzgerald I. I., 2004. Purified Polyclonal Antibodies. Fitzgerald Industries International, Inc. <http://www.fitzgerald-fii.com/p-p-prolactin-1.shtml>.
- Freeman M. E., Kamvieska B., Nagy G. 2000. Prolactin, Structure. Function and Regulation of secretion. [www.physrev.org](http://www.physrev.org).
- Gan. S., R. Setiabudy, U. Sjamsudin dan Z.S. Bustami. 1987. Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Gaya Baru, Jakarta.
- Godman JW. 1991. Immunogeneity and Antigen Specificity. Sites DP and Terr Al (eds) Basic and Clinical Immunology 7 th ed. Norwalk Connecticut. Appleton and Lange. P. 101-108.
- Hafez, E.S.E. 2000. Reproduction in Farm Animal. 6th Ed Philadelphia : Lea & Febiger. P.
- Kerr, M. A. And Thorpe, R. 1994. Immunochemistry Labfax. Bios Scientific Publisher. Academic Press. P. 43-80.
- Knobil, E., D. Neill, L. L. Ewing, C. L. Market, G. S. Greenwald and D.W. Pfaff. 1988. the Physiology of reproduction. Vol. 2. raven Press. New York. P. 1379 -1385.
- Kresno, S B. 1996. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Ed. 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 407 – 414.
- Progen G. 2000. Anti Prolactin, Rabbit Polyclonal. PROGEN GMBH: DIAGNOSTIC Research Products Point of Care. Research Products Point of Care. [research@progen.de](mailto:research@progen.de).
- Rantam F. E. 2003. Metode Imunologi. Cetakan 1. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 79:148-162.
- Safitri. 2004. Production of Anti Prolactin Polyclonal Antibodi Bioaktif Matter as Moulting process inhibitor in dorab's layer hen. Kumpulan ringkasan penelitian dasar.
- Safitri. 2005. Isolation, Identification and Characterization of Prolactin Protein for Production of Anti Prolactin as Moulting Process Inhibitor. International Asia Link Symposium. Hal. 171-172.
- Safitri. 2005. Metode Pembuatan Anti Prolaktin pada Hewan Coba Kambing Lokal sebagai Penghambat Proses Rontok Bulu pada Ayam arab

Hal tersebut didukung oleh Byosistem (1999) dan Baratawidjaja (2000), yang menyatakan bahwa dengan adanya respon sekunder pertama, kedua, dan seterusnya yang diberikan melalui *booster*, sel memori akan dengan cepat berproliferasi untuk membentuk *optical density* antibodi yang lebih tinggi dan lebih lama (gambar 1).

### Kesimpulan

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

Antibodi poliklonal anti prolaktin dapat ditimbulkan pada kambing dari isolat prolaktin itik fase moulting pada bleeding pertama setelah dilakukan imunisasi yang pertama. Rataan *Optical density* tertinggi yang dapat dicapai dari antibodi poliklonal anti prolaktin terjadi pada bleeding ketujuh belas ( $1,00467 \pm 0,47112$ ), yang tidak berbeda nyata dengan bleeding ke 1 sampai 23.

### Daftar Pustaka

- Abbas KA, Litchman AH, Pober JS. 2000. Antibodies and Atigens. Cellular and molecular immunology. 4 th ed. Philadelphia, WB Saunders Co. P. 41-62.
- Agrisera. 2004. Polyclonal Antibodi Production Program Distated by Customer's Requirements. Aves labs, Inc. <http://www.aveslab.com/service.php4>.
- Asworo, D., Idroes, Hendra D. 1995. Mari Beternak Itik. Penerbit CV Perintis Graphic Art. Surabaya. Hal.13-29.
- Baratawidjaja, KG. 2001. Imunologi Dasar. Ed. 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 275-279. Biosystems. 1999. Antibodies : From Design to Assay A Practical Guide. <http://www.pebio.com/pa/340913/html/chapt1.htm.Download>.
- Cortex B. 2003. Polyclonal Antibodi Anti-Prolactin. Cortex Biochem Purified Biochemicals Purification Nucleic Acid Antibodi P. 1-2. Chem.com/objects/Catalog/product/extran/CR2150R.pdf.
- Fitzgerald I. I., 2004. Purified Polyclonal Antibodies. Fitzgerald Industries International, Inc. <http://www.fitzgerald-fii.com/p-p-prolactin-1.shtml>.
- Freeman M. E., Kamvieska B., Nagy G. 2000. Prolactin, Structure. Function and Regulation of secretion. [www.physrev.org](http://www.physrev.org).
- Gan. S., R. Setiabudy, U. Sjamsudin dan Z.S. Bustami. 1987. Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Gaya Baru, Jakarta.
- Godman JW. 1991. Immunogeneity and Antigen Specificity. Sites DP and Terr Al (eds) Basic and Clinical Immunology 7 th ed. Norwalk Connecticut. Appleton and Lange. P. 101-108.
- Hafez, E.S.E. 2000. Reproduction in Farm Animal. 6th Ed Philadelphia : Lea & Febiger. P.
- Kerr, M. A. And Thorpe, R. 1994. Immunochemistry Labfax. Bios Scientific Publisher. Academic Press. P. 43-80.
- Knobil, E., D. Neill, L. L. Ewing, C. L. Market, G. S. Greenwald and D.W. Pfaff. 1988. the Physiology of reproduction. Vol. 2. raven Press. New York. P. 1379 -1385.
- Kresno, S B. 1996. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Ed. 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 407 – 414.
- Progen G. 2000. Anti Prolactin, Rabbit Polyclonal. PROGEN GMBH: DIAGNOSTIC Research Products Point of Care. Research Products Point of Care. [research@progen.de](mailto:research@progen.de).
- Rantam F. E. 2003. Metode Imunologi. Cetakan 1. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 79:148-162.
- Safitri. 2004. Production of Anti Prolactin Polyclonal Antibodi Bioaktif Matter as Moulting process inhibitor in dorab's layer hen. Kumpulan ringkasan penelitian dasar.
- Safitri. 2005. Isolation, Identification and Characterization of Prolactin Protein for Production of Anti Prolactin as Moulting Process Inhibitor. International Asia Link Symposium. Hal. 171-172.
- Safitri. 2005. Metode Pembuatan Anti Prolaktin pada Hewan Coba Kambing Lokal sebagai Penghambat Proses Rontok Bulu pada Ayam arab

- Petelur. Journal of Biological Researches. Vol 11 : 49-54.
- Safitri, dkk. 2006. Produksi Anti Prolaktin ( $\square$  Pr), Uji Biopotensi dan Pengaruhnya terhadap Profil Prolaktin di dalam darah. Laporan DUE-Like BATCH III. Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Santoso, S. 2001. Mengolah Data Statistik Secara Profesional. SPSS versi 10. Penerbit PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Smith J. R. 1995. Produksi serum Hiperimun. Dalam teknologi ELISA dalam diagnosis dan penelitian. James Cook University of north Quesland. G. W. Burgess Ed.
- Suwarno, Ernawati R., Rahardjo AP, Sianita N, Rahmahani J, Rantam FA. 2003. Prinsip Dasar Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran hewan. Universitas Airlangga. Hal. 1-10.
- Suwarno. 2000. Prinsip Dasar, Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal. 10-11.
- Tizard, L. 1998. Pengantar Imunologi Veteriner. Penerbit Universitas Airlangga.
- Turner, C.D. dan J.T. Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum. Cetakan keenam. Airlangga University Press.
- Upstate B. 2002. Anti Prolactin (Rabbit Antiserum) and Immunoblotting Proptocol. Up state Biotechnology. Certificate of Analysis. [www.upstatebiotech.com](http://www.upstatebiotech.com).