



JURNAL PENELITIAN MEDIKA EKSAKTA
ISSN 1411-6626

Terbit setiap 4 bulan sekali, pada bulan April, Agustus dan Desember

Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA memuat tulisan ilmiah berupa hasil penelitian dalam bidang kedokteran, kedokteran gigi, farmasi, kedokteran hewan, perikanan, kesehatan masyarakat, sains dan teknologi

Susunan Dewan Redaksi Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, Berdasarkan SK Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya Nomor : 568/J03.2/KP/2008, tanggal 18 Juni 2008

Pelindung:

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga

Ketua Headhunting:

Dr. Mustofa Helmi Effendi, DTAPH., drh.

Wakil Ketua Penyunting:

Dr. Jenny Sunariani, MS., drg.

Penyunting Pelaksana:

Dr. Imam Susilo, dr., Sp. PA.

Dr. Bambang Sektiari L., DEA., drh.

Dr. Jusak Nugraha, dr, MS., Sp. PK(K).

Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes.

Dr. Theresia Indah Budhy S., drg., M.Kes.

Dr. Sukardiman, MS., Apt.

Hadi Poerwono, M Sc., Ph.D.

Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.

Dr. Suwarno, drh., M Kes.

Dr. Alfiah Hayati, Dra., M Kes.

Dr. Alfinda Novi Kristanti

Dr. Arif Wibowo, dr., MS.

Dr. Tri Martiana, dr., MS.

Pelaksana Tata Usaha:

Sudiro, Ridwan, Ahmad Mansur

Alamat :

Jurnal Penelitian MEDIKA EKSAKTA,
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga
Kampus C Uair, Mulyorejo, Surabaya 60115
Telp: (031)5995246, 5995247, 5995248
Fax: (031) 5962066
e-mail : medika_eksakta@yahoo.com

2009-03-24, Source : redaksi

About Journal

• Vision & Mission, Goals

• Development Team of Scientific Journals

e-journal Unair

Digital
Object




Table of Content

Jurnal Penelitian Medika Eksakta [JPME]

ISSN : 1411-6626

Volume 8 / Nomor : 3 / Published : 2009-12

Cover Media	Content
	<ol style="list-style-type: none">1. The Effect Of Tera Exercise On The Increase Of Fitness In Elderly2. Consentration Il-1 And Gustducin Changing To Bitter Taste On Fever3. Cyp1a1 And Gst Modulation, P53 And Ras Expression After 7,12-dimethyl Benz(a)anthracene (dmba) Induction And Were Given Gynura Procumbens And Curcuma Zedoaria Extract To Spraque Dawley Rats4. Probiotic Supplementation In Chicken Comercial Diet On Metabolic Products Of Chicken's Blood5. Increasing Yoghurt Quality From Goats Milk By Adding Skim Milk Powder And Managing Incubation Temperature6. Synthesis Tio2 Imprinted Polymer With Moleculer Imprinted Polymer Techniq And Its Photocalytic Activity Test7. Titer Antibodies In Rabbits (oryctolagus Cuniculus) Males After Immunization With Sperm Membrane Proteins

TITER ANTIBODI PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)
JANTAN SETELAH IMUNISASI DENGAN PROTEIN
MEMBRAN SPERMATOZOA

*TITER ANTIBODIES IN RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*) MALES
AFTER IMMUNIZATION WITH SPERM MEMBRANE PROTEINS*

Sri Puji Astuti Wahyuningsih⁽¹⁾, Alfiah Hayatil⁽¹⁾, Imam Mustofa⁽²⁾

ABSTRACT

This study aims to determine the time of immunization antibody titer indicated by the value of optical density (OD). This research was using adult male rabbits of local strain. Spermatozoa in the cauda epididymis was collected by flushing. Furthermore, isolated sperm membrane proteins were in solution hypoosmotic (10 mM potassium buffer phosphate) with centrifugation techniques. Rabbits immunized with the sperm membrane protein dose 200 mcg/pi. Immunization was done 3 times with an interval of 21 days. Antibody titer tested by ELISA. Negative control using rabbit immunized with no antigen. OD value of the data were analyzed with anova and LSD test. The results showed that the average antibody titer after immunization II (1.777) and III (1.853) higher than after immunization I (1.490) and prior immunization / pre-immune (0.652). The conclusion of this research is a long time effect on immunization antibody titer.

Key words : Sperm membrane proteins, rabbits, immunization

⁽¹⁾ Departemen Biotogi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga

⁽²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Rata-rata pertumbuhan populasi penduduk dunia sekarang hingga tahun 2050 diperkirakan dapat mencapai 8,9 milyar. Hal ini dapat menimbulkan resiko terjadinya overpopulasi (Suri, 2005). Pengendalian penduduk dengan menggunakan alat kontrasepsi dapat menunda kehamilan, menjarangkan, mengatur jumlah anak, dan menghentikan kehamilan. Di Indonesia, pengendalian penduduk dilaksanakan dalam suatu Program Keluarga Berencana (KB).

Di Indonesia, program KB- yang ditujukan untuk kaum pria masih jarang. Menurut Animus (2006), peserta KB pria baru mencapai 1,3% dari total 58,3% dari seluruh peserta KB. Metode kontrasepsi pria yang telah dilakukan selama ini hanya ada 2 macam, yaitu penggunaan kondom dan vasektomi. Menurut Anonimus (2008), kondom efektif mencegah kehamilan 75-80% dan mempunyai kekurangan, yaitu mudah robek bila terkena kuku atau benda tajam, membutuhkan waktu untuk pemasangan, dan mengurangi sensasi seksual. Sedangkan vasektomi efektif mencegah kehamilan secara permanen.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut diperlukan strategi kontraseptif yang baru (Suri, 2005). Imunokontrasepsi merupakan alternatif kontrasepsi dengan prinsip imunologis yang diberikan secara injeksi dengan menggunakan suatu bahan yang bersifat antigenik dan bertujuan untuk mencegah pertemuan antara spermatozoa dan ovum (Hamamah *et al.*, 1997). Vaksin imunokontrasepsi dapat mengganggu aktivitas reproduksi pria maupun wanita dengan cara memblokir penetrasi spermatozoa pada ovum atau mencegah implantasi dan perkembangan telur terfertilisasi (Alexander dan Bialy, 1994).

Sekarang ini banyak dipelajari sifat antigenisitas protein spermatozoa sebagai dasar pengembangan vaksin kontrasepsi (Primakoff *et al.*, 1997). Penggunaan antigen sperms untuk pengembangan vaksin kontrasepsi ditekankan pada spesifitas sperms (hanya bekerja pada gamet), peran pada fertilitas, imunogenisitas yang meliputi pembentukan respon antibodi yang cukup dan mampu menghalangi fertilitas (Naz, 1996). Antigen sperms cukup berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat vaksin kontrasepsi dalam imunokontrasepsi baik imunisasi pada hewan jantan maupun betina (Naz dan Vanek, 1998).

Membran spermatozoa mengandung protein yang bersifat sebagai antigen. Imunisasi dengan protein membran spermatozoa akan menimbulkan respon imun spesifik dan terbentuk antibodi terhadap protein membran spermatozoa. Reaksi antara antibodi dengan antigen menimbulkan efek konsepsi, seperti aglutinasi spermatozoa, reduksi motilitas, gangguan penetrasi mukus servik, tidak efisiennya fusi spermatozoa dan telur, peningkatan fagositosis spermatozoa dan matinya embrio pre atau pasca implantasi. Semua hambatan tersebut menyebabkan antifertilitas. Menurut Yam (1994), antigen protein membran spermatozoa berpotensi untuk dikembangkan menjadi vaksin kontrasepsi yang aman, tidak mempunyai pengaruh negatif, murah, mempunyai pengaruh yang tidak permanen, dan mudah menggunakannya.

Antibodi terhadap spermatozoa (*antisperm antibody/ASA*) menyebabkan infertil baik secara spontan maupun buatan (Bohring *et al.*, 2001). *Antisperm antibody* dapat mempengaruhi stadium pre-fertilisasi dan dapat menghambat perkembangan zigot setelah fertilisasi

(Domagala dan Kurpisz, 2004). Menurut Bohring *et al.*, (2001), antibodi terhadap antigen spermatozoa dapat dideteksi pada cairan/plasma seminal dan mereka dapat berikatan pada permukaan spermatozoa. *Antisperm antibody* juga dapat dideteksi pada mukus servik, cairan oviduk atau cairan folikel pada wanita. *Antisperm antibody* juga berada dalam serum darah pada wanita dan pria. Menurut Bohring dan Krause (2003), timbulnya ASA pada pria dapat menyebabkan infertilitas.

Naz (1996) menyatakan bahwa imunisasi aktif dengan antigen *lactate dehydrogenase* (LDH)-C4 yang diisolasi dari spermatozoa manusia menyebabkan reduksi fertilitas lebih dari 50% pada berbagai spesies. Aktif imunisasi dengan protein *rabbit sperm autoantigen* (RSA) *family* bereaksi silang dengan sperma manusia dan menghambat penetrasi sperma pada oosit. Penelitian Wahyuningsih (2005) menyatakan bahwa ekstrak testis yang mengandung protein spesifik testis yang diimunisasikan pada mencit betina menurunkan angka kebuntingan, terutama pada dosis antigen ekstrak testis 2000 µg. Beberapa peneliti menyatakan bahwa pads membran sel spermatozoa terdapat protein 32, 34, 35, 36, 50, 53, 56, dan 57 kDa yang berpartisipasi pada prosedurs fertilitasi.

Menurut Anonimusa (2007), beberapa sekuen protein sperma spermatozoa kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang telah diketahui urutannya adalah sperm membrane protein, acrosomal vesicle protein 1, sperm surface protein Sp17, hyaluronidase PH-20 precursor (64 kDa), sperm membrane protein-B, A disintegrin and metalloproteinase domain 2 precursor (fertilin subunit betalPH-30), zonadhesin (55-57 kDa), fertilin alpha subunit, acrosin (46 kDa).

Berdasarkan dari latar belakang di atas, maka penelitian ini ingin mengetahui pengaruh imunisasi protein membran spermatozoa kelinci terhadap titer antibodi. Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar pembuatan vaksin kontrasepsi terutama vaksin rekombinan yang relatif aman untuk digunakan dalam kontrasepsi masa depan.

METODE PENELITIAN

Kelinci jantan dan betina strain lokal, berumur 1,5 tahun, berat badan 1,4-1,8 kg, *Freund's complete adjuvant* (FCA) dan *Freund's incomplete adjuvant* (FICA), *phosphate buffer saline* (PBS), bahan untuk ELISA: *Protein Detector ELISA Kit* yang terdiri dari *coating buffer*, *BSA dilution/blocking solution*, *wash solution*, 50% *glycerol*, 2,2'-azino-di (3-ethyl-benzihiazoline-6-sulfonate/ABTS) *ubstrate solution*, *peroxidase solution*, *peroxidase stop solution*, *peroxidase-labeled antibody (horseradish peroxidase/HRP goat anti-rabbit IgG)*.

Koleksi spermatozoa dan isolasi protein membran spermatozoa

Koleksi spermatozoa dan isolasi protein membran spermatozoa Kelinci jantan diambil kauda epididimis untuk diisolasi spermatozoanya. Isolasi protein membran spermatozoa kelinci mengacu pada Bohring *et al.* (2001), Chitra *et al.* (2001), Rajeev dan Reddy (2004), serta Vemet *et al.*, (2001).

Lima ekor kelinci jantan diimunisasi dengan protein membran spermatozoa untuk pengamatan titer antibodi dan kualitas spermatozoa. Satu ekor kelinci jantan diimunisasi tanpa antigen digunakan sebagai kontrol negatif.

Pada imunisasi pertama, protein membran spermatozoa (antigen) 200 µg/ml diemulsikan dengan garam fisiologis sampai volume 0,1 ml dan *freund's complete adjuvant* (FCA) 0;1 ml (perbandingan 1:1), kemudian di

vortex selama 1 jam. Ada dua lokasi penyuntikan masing-masing 0,1 ml di subkutan leher. Pada imunisasi kedua dilakukan setelah 21 hari berikutnya dengan campuran antigen dalam garam fisiologis dan *freund's incomplete adjuvant* (FICA) 0,1 mL dengan perbandingan 1:1. Pada imunisasi ketiga setelah 21 hari berikutnya dengan cara dan bahan yang sama seperti imunisasi kedua. Sedangkan untuk kontrol, hewan coba diimunisasi seperti di atas, tetapi tanpa antigen.

Darah diambil dari *vena auricularia*. Darah ditampung dalam *Eppendorf*, dibiarkan pada suhu 4° C, selama 24 jam. Selanjutnya, darah di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm, selama 10 menit, suhu 4° C. Serum dikoleksi untuk pengukuran titer antibodi.

Titer antibodi diukur dengan cara *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA). Setiap sumuran dari ELISA plate diisi 100 µl larutan antigen protein spermatozoa dengan konsentrasi 5 µg/ml dalam *coating buffer* dan diinkubasi pada suhu 4 °C selama 24 jam. Cawan mikrotiter dikosongkan dan pada setiap sumuran ditambahkan 200 µl larutan *blocking* (BSA 1%). Selanjutnya, cawan mikrotiter diinkubasikan pada suhu 37°C selama 10 menit. Cawan mikrotiter dikosongkan dan setiap sumuran diisi 100 µl serum mencit yang telah dimuni-sasi atau serum kontrol.

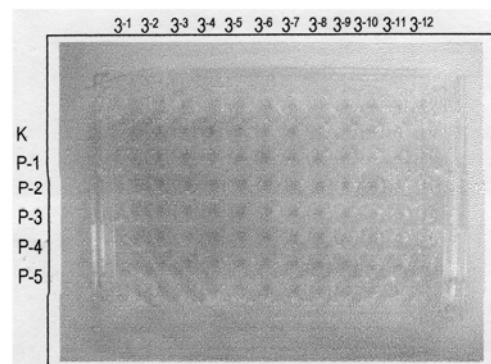
Serum diencerkan secara berseri, yaitu 3⁻¹, 3⁻² dan seterusnya sampai 3⁻¹⁰. Cawan mikrotiter diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 jam dan dicuci 3 kali dengan bufer pencuci. Setiap sumuran diisi dengan 100 µl larutan konjugat IgG *goat anti rabbit peroxidase* dengan konsentrasi 1 ug/ml dalam 50% gfisherol dan BSA 1%. Kemudian, cawan mikrotiter diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Cawan dicuci 3 kali dengan bufer

pencuci. Setiap sumuran ditambah substrat ABTS sebanyak 100 µl (1 mg/ml dalam bufer substrat dan 0,3 µl hidrogen peroksida). Cawan ditutup aiumunium foil dan diinkubasi pada temperatur kamar selama 5 menit. Jika sudah timbul warna, maka cawan diberi larutan penghenti (*stop solution*). Selanjutnya, titer antibodi dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Data titer antibodi kelinci jantan dianalisis dengan Anava. Bila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji LSD. Analisis data menggunakan Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 16.00 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Titer antibodi ditentukan dengan teknik ELISA. Antibodi diencerkan dari 3-1, 3-2, 3-3 dan seterusnya sampai 3-10. Pengujian titer antibodi dengan ELISA lebih sensitif dan spesifik karena teknik ELISA ini didasarkan pada reaksi antara antigen dan antibodi. Titer antibodi ditunjukkan dengan nilai OD. Pada penelitian ini dilakukan 4 pengukuran titer antibodi, yaitu titer antibodi sebelum imunisasi (pre-imun), setelah imunisasi I, II, dan III. Hasil penentuan titer antibodi dapat dilihat pada Tabel 1, 2, 3, 4 dan 5. Tabel 1. Titer antibodi sebelum imunisasi (pre-imunisasi).



Gambar 1. Titer antibodi kelinci jantan pre-imunisasi yang diuji dengan metode ELISA

Tabel 1. Titer Antibodi Sebelum Imunisasi (Pre-Imunisasi)

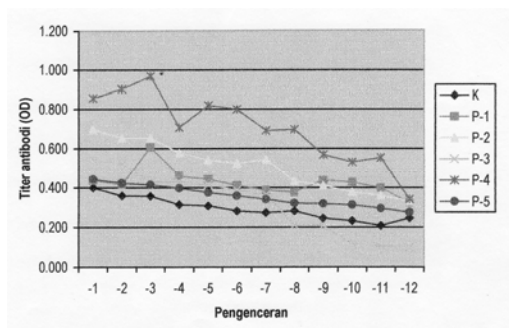
Sampel	Nilai OD _{595nm} pada pengenceran											
	3 ⁻¹	3 ⁻²	3 ⁻³	3 ⁻⁴	3 ⁻⁵	3 ⁻⁶	3 ⁻⁷	3 ⁻⁸	3 ⁻⁹	3 ⁻¹⁰	3 ⁻¹¹	3 ⁻¹²
K	0,400	0,358	0,357	0,314	0,309	0,282	0,273	0,283	0,245	0,232	0,208	0,247
P-1	0,438	0,416	0,506	0,460	0,444	0,412	0,388	0,378	0,438	0,428	0,399	0,324
P-2	0,698	0,653	0,623	0,577	0,542	0,525	0,543	0,433	0,410	0,377	0,361	0,332
P-3	0,543	0,522	0,431	0,428	0,417	0,387	0,365	0,211	0,207	0,115	0,106	0,098
P-4	0,856	0,902	0,968	0,707	0,819	0,800	0,691	0,697	0,568	0,530	0,553	0,342
P-5	0,443	0,423	0,415	0,398	0,376	0,358	0,342	0,321	0,319	0,312	0,296	0,275

Keterangan:

K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan

Titer antibodi pre-imunisasi didapatkan sebelum hewan coba diimunisasi dengan antigen protein membran spermatozoa (Tabel 1, Gambar 1 dan 2).

Nilai OD puncak yang didapatkan adalah 0,606; 0,698; 0,543; 0,968 dan 0,443. Nilai OD pre-imun kurang dari 2 kali dari nilai OD kontrol negatif. Hal itu menunjukkan bahwa belum ada pembentukan antibodi terhadap protein membran spermatozoa.



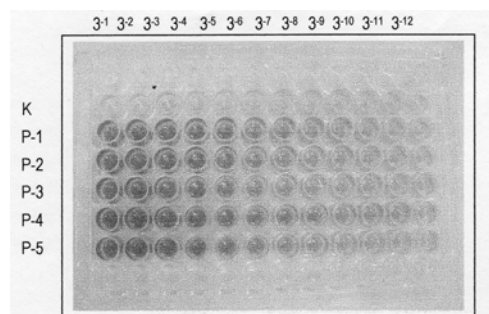
Gambar 2.

Titer antibodi kelinci jantan pre-imunisasi pada berbagai pengenceran. K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan

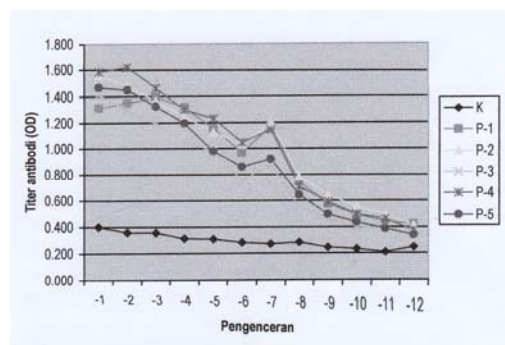
Titer antibodi setelah imunisasi pertama didapatkan setelah hewan coba diimunisasi dengan antigen protein membran spermatozoa (Tabel 2, Gambar 3 dan 4).

Nilai OD puncak yang didapatkan adalah 0,606; 0,698; 0,543; 0,968 dan 0,443. Nilai OD pre-imun kurang dari 2-3 kali dari nilai OD kontrol negatif.

Hal itu menunjukkan bahwa belum ada pembentukan antibodi terhadap protein membran spermatozoa.



Gambar 3. Titer antibodi kelinci jantan setelah imunisasi I yang diuji dengan metode ELISA



Gambar 4.

Titer antibodi kelinci jantan setelah imunisasi pertama pada berbagai pengenceran. K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan.

Tabel 2. Titer Antibodi Setelah Imunisasi Pertama

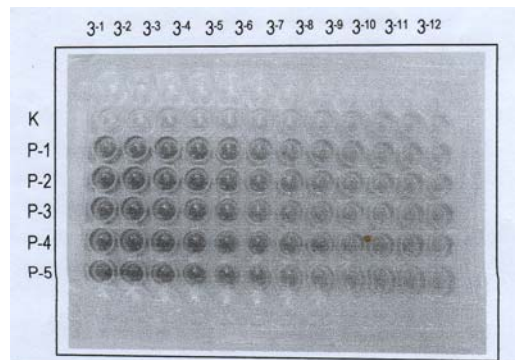
Sampel	Nilai OD _{595nm} pada pengenceran											
	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8	3-9	3-10	3-11	3-12
K	0,400	0,358	0,357	0,314	0,309	0,282	0,273	0,283	0,245	0,232	0,208	0,247
P-1	1,313	1,350	1,395	1,318	1,158	0,968	1,171	0,743	0,578	0,493	0,445	0,425
P-2	1,557	1,481	1,365	1,249	1,127	1,032	1,198	0,786	0,642	0,555	0,499	0,415
P-3	1,414	1,300	1,192	1,061	0,979	0,754	0,876	0,551	0,463	0,402	0,394	0,379
P-4	1,581	1,618	1,462	1,300	1,233	1,048	1,145	0,709	0,589	0,508	0,462	0,374
P-5	1,467	1,449	1,326	1,197	0,981	0,859	0,920	0,643	0,497	0,437	0,387	0,340

Keterangan:

K = kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 Ag/ml, 1-5 = jumlah ulangan

Titer antibodi setelah imunisasi kedua didapatkan setelah hewan coba dimunisasi dua kali dengan antigen protein membran spermatozoa (Tabel 3, Gambar 5 dan 6). Nilai OD puncak adalah 1,690; 1,800; 1,785; 1,830; dan 1,781.

Bila dibandingkan dengan kontrol negatif didapatkan nilai OD lebih dari 4 kali. Hal ini menunjukkan bahwa imunisasi kedua dengan antigen yang sama telah lebih banyak lagi menstimulasi pembentukan antibodi. Interaksi antigen dan antibodi masih terbaca bagus pada pengenceran 3⁻⁶ - 3⁻⁸.



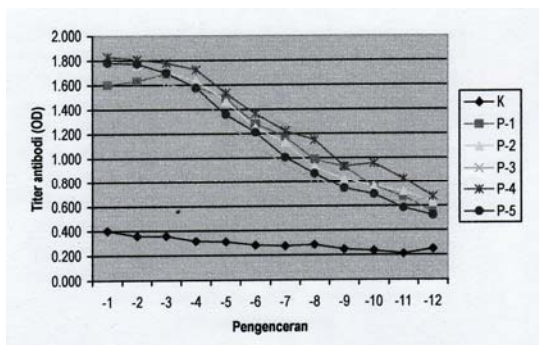
Gambar 5. Titer antibodi kelinci jantan setelah imunisasi II yang diuji dengan metode ELISA

Tabel 3. Titer Antibodi Setelah Imunisasi Kedua

Sampel	Nilai OD _{595nm} pada pengenceran											
	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8	3-9	3-10	3-11	3-12
K	0,400	0,358	0,357	0,314	0,309	0,282	0,273	0,283	0,245	0,232	0,208	0,247
P-1	1,600	1,631	1,690	1,580	1,493	1,281	1,174	0,990	0,929	0,763	0,675	0,551
P-2	1,800	1,761	1,706	1,630	1,470	1,251	1,128	0,927	0,823	0,767	0,721	0,632
P-3	1,747	1,785	1,617	1,538	1,294	1,101	0,974	0,831	0,745	0,704	0,610	0,677
P-4	1,830	1,807	1,779	1,725	1,530	1,367	1,221	1,150	0,932	0,958	0,829	0,677
P-5	1,781	1,771	1,697	1,574	1,358	1,213	1,009	0,874	0,747	0,696	0,584	0,524

Keterangan:

K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan



Gambar 6. Titer antibodi kelinci jantan setelah imunisasi kedua pada berbagai pengenceran. K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan

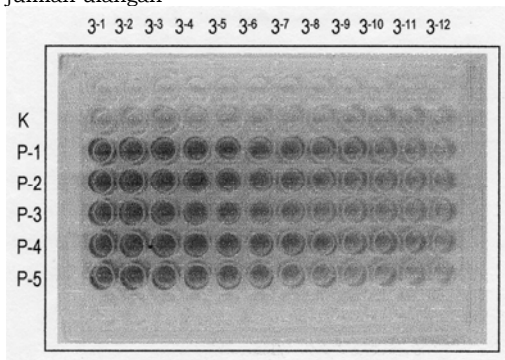
Titer antibodi setelah imunisasi ketiga didapatkan setelah hewan coba ketiga didapatkan setelah hewan coba dimunisasi tiga kali dengan antigen protein membran spermatozoa (Tabel 4, Gambar 7 dan 8). Nilai OD puncak adalah 1,794; 1,811; 1,729; 2,110; dan 1,822. Bila dibandingkan dengan kontrol negatif (0,400) didapatkan nilai OD pada imunisasi ketiga lebih dad 4 kali. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi lagi pembentukan antibodi akibat imunisasi dengan antigen protein membran spermatozoa.

Tabel 4. Titer Antibodi Setelah Imunisasi Ketiga

Sampel	Nilai OD _{595nm} pada pengenceran											
	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8	3-9	3-10	3-11	3-12
K	0,400	0,358	0,357	0,314	0,309	0,282	0,273	0,283	0,245	0,232	0,208	0,247
P-1	1,779	1,779	1,794	1,757	1,654	1,532	1,422	1,251	1,203	1,004	0,998	0,885
P-2	1,811	1,809	1,769	1,792	1,718	1,596	1,522	1,431	1,352	1,195	1,097	0,980
P-3	1,729	1,628	1,582	1 610	1,511	1,455	1,313	1,232	1,260	1,106	1,042	1,004
P-4	1,937	2,110	1,854	1,836	1,729	1,611	1,473	1,282	1,183	1,148	0,992	0,914
P-5	1,822	1,813	1,765	1,725	1,583	1,486	1,365	1,306	1,244	1,111	1,106	0,981

Keterangan:

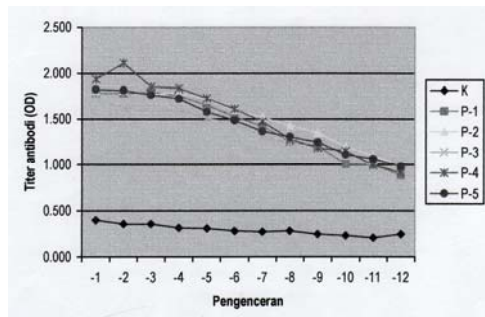
K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan



Gambar 7. Titer anthodi kelinci jantan setelah imunisasi III yang diuji dengan metode ELISA

Hasil analisis titer antibodi dengan uji Anava menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$) sehingga analisis dilanjutkan dengan uji LSD. Jika titer antibodi antara pre-imunisasi, imunisasi II, dan III dibandingkan, didapatkan bahwa titer antibodi pre-imunisasi (0,652) berbeda nyata secara

signifikan dengan imunisasi I. (1,490), II (1,777), dan III (1,853). Titer antibodi antara hasil imunisasi I berbeda nyata secara signifikan dengan hasil imunisasi II. Sedangkan, antara hasil imunisasi II dengan imunisasi III menunjukkan perbedaan tetapi tidak signifikan (Tabel 5).



Gambar 8. Titer antibodi kelinci jantan setelah imunisasi ketiga pada berbagai pengenceran. K = Kontrol negatif, P = Perlakuan dengan imunisasi protein membran spermatozoa 200 µg/ml, 1-5 = jumlah ulangan

Tabel 5. Rerata Titer Antibodi dan Pengenceran pada Saat Per-Imunisasi, Setelah Imunisasi Pertama, Kedua, Ketiga

Waktu Imunisasi	Nilai OD puncak pada ulangan ke ...					Rata ± SD	Pengenceran pada ulangan ke ...				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
Premium	0,606	0,698	0,543	0,968	0,443	0,652 ^a ± 0,200	3 ⁻³	3 ⁻¹	3 ⁻¹	3 ⁻³	3 ⁻¹
Imunisasi I	1,395	1,557	1,414	1,618	1,467	1,490 ^b ± 0,095	3 ⁻³	3 ⁻¹	3 ⁻¹	3 ⁻²	3 ⁻¹
Imunisasi II	1,690	1,800	1,785	1,830	1,781	1,777 ^c ± 0,052	3 ⁻³	3 ⁻¹	3 ⁻²	3 ⁻¹	3 ⁻¹
Imunisasi III	1,794	1,881	1,110	2,110	1,882	1,853 ^d ± 0,148	3 ⁻³	3 ⁻¹	3 ⁻¹	3 ⁻²	3 ⁻¹

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan ada signifikansi pada $\alpha = 5\%$ diuji dengan Anava dan LSD

Menurut Austyn dan Wood (1994) dan Bellanti (1993), terdapat dua respon imun yang terjadi sebelum pembentukan antibodi. Respon imun tersebut adalah respon imun primer dan respon imun sekunder. Reaksi awal saat pemaparan pertama antigen protein membran spermatozoa menimbulkan respon imun berupa fagositosis antigen tersebut oleh sel fagosit polimorfonuklear atau makrofag. Jika pada proses fagositosis ini masih ada antigen yang belum difagosit, maka antigen tersebut akan merangsang respon imun spesifik untuk membentuk antibodi. Respon imun yang terbentuk merupakan respon imun primer. Respon imun primer ini terdiri dari periode induktif dimana selama waktu tersebut antigen dikenal sebagai benda asing dan diproses, dan isyarat (signal) dikirim pada sel-sel yang ditugaskan untuk membuat antibodi. Hal ini merangsang aktivasi sel T untuk mengidentifikasi antigen dan menimbulkan respon humoral untuk pembentukan antibodi antiprotein membran spermatozoa oleh sel B (Austyn dan Wood, 1994; Bellanti, 1993).

Peningkatan titer antibodi setelah imunisasi I, II, dan III menunjukkan telah terjadi respon imun terhadap antigen protein membran spermatozoa. Imunisasi dengan antigen yang sama lebih meningkatkan titer

antibodi. Hal itu didukung oleh Goldsby *et al.* (2000), Grudzinskas dan Yovich (1995), dan Herscowitz (1993), setelah timbulnya antibodi pertama dimulailah biosintesis aktif antibodi, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi antibodi secara logaritmik, yang mencapai titer antibodi tertinggi setelah 812 hari. Menurut Austyn dan Wood (1994), Goldsby *et al.* (2000), dan Herscowitz (1993), pemaparan kedua terhadap imunogen yang sama akan menyebabkan penambahan respon imun mencolok berupa munculnya sel-sel imonokompeten dan antibodi yang dipercepat. Pada respon sekunder periode laten lebih pendek, angka sintesis antibodi lebih cepat, puncak titer antibodi bertahan lebih lama, daya gabung antibodi lebih tinggi, lebih banyak terdapat sel memori dan lebih banyak IgG.

SIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian adalah waktu imunisasi berpengaruh pada titer antibodi terhadap spermatozoa pada kelinci jantan. Titer antibodi setelah imunisasi III menunjukkan titer antibodi paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Alexander, N.J. dan Bialy, G. 1994. Contraceptive Vaccine Development.

- Reproduction, Fertility, and Development, 6(3): 273 - 280
- Anonimus 2006. *Isu Gender, Klien dan Pemberi Pelayanan dalam KB-KR*. Gema Pria. <http://pikas.bkkbn.go.id/lgemapria/article-detail.php>.
- Anonimus. 2007. The Transmembrane Receptor. http://en.wikipedia.org/wiki/the_transmembrane_receptor.
- Anonimus. 2008. Serba Serbi Kontrasepsi. http://www.medicastore.com/oca_serbaserbi.htm.
- Austyn, J.N. dan Wood, K.J. 1994. *Principle of Cellular and Molecular Immunology*. Oxford: Oxford University Press.
- Bellanti, J.A. 1993. *Immunologi III*. Terjemahan A. S. Wahab. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Bohring, C., Krause, E., Habermann, B. dan Krause, W. 2001. Testis and Spermatogenesis. Isolation and Identification of Sperm Membrane Antigens Recognized by Antisperm Antibodies, and Their Possible Role in Immunological Infertility Disease. *Molecular Human Reproduction*, 7(2): 113 - 118.
- Bohring, C. dan Krause, W. 2003. Immune Infertility: Towards a Better Understanding of Sperm (Auto)-Immunity. The Value of Proteomic Analysis. *Human Reproduction*, 18(5): 915 - 924.
- Chitra, K.C, Sudjatha, R., Latchoumycandane, C., dan Marthur, P.P. 2001. Effect of Lindane on Antioxidant Enzymes in Epididymis and Epididymal Sperm of Adult Rats. *Asian Journal of Andrology*, 3: 205 - 208.
- Domagala, A. dan Kurpisz, M. 2004. Identification of Sperm Immunoreactive Antigens for Immunocontraceptive Purposes: A Review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2:11-18.
- Goldsby, R.A., Kindt, T.J., dan Osborne, B.A. 2000. *Kuby Immunology*, edisi 4. W.H. Freeman and Company, New York.
- Grudzinskas, J.G. dan Yovich, J.L. 1995. *Gametes The Spermatozoon*. Cambridge University Press, Melbourne.
- Hamamah, S., Royere, D., Jean, M., Lucas, H., Barthelemy, C., Bariere, P., dan Lansac, J. 1997. The Future of Male Contraception by Preventing Gamete Interaction, *Contraceptive, Fertility and Sex*, 25(2): 311-24.
- Hercowitz, H.B. 1993. *Immunofisiologi: Fungsi Sel dan Interaksi Seluler dalam Pembentukan Antibodi*. Dalam Bellanti, J. A. (Eds) *Immunologi 111*. Terjemahan A. S. Wahab. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Naz, R.K. 1996. Application of Sperm Antigen in Immunocontraception. *Frontier in Bioscience* 1, e87-95, September 1, 1996. <http://www.bioscience.org/1996/v9/e/Nas1/htmls/2/htm>.
- Naz, R.K. dan Vanek, C.M. 1998. Spermatozoa-Specific Protein and Their Role in Contraceptive Development. *Bioscience* 1, e39-48, 30 April 1998, <http://www.bioscience.org/1998/v1/e/Nas11htmls12/htm>.
- Primakoff, P., Woolman-Gamer, L., Tung, K.S., dan Myles, D.G. 1997. Reversible Contraceptive Effect of PH-20 Immunization in Male Guinea Pigs. *Biology of Reproduction*, 56:1142-1146.
- Rajeev S.K. dan Reddy, K.V.R. 2004. Sperm Membrane Protein Profiles of Fertile and Infertile Men: Identification and Characterization of Fertility-Associated Sperm Antigen. *Human Reproduction*, 19(2): 234-242.
- Suri, A. 2005. Sperm-Based Contraceptive Vaccines: Current Status, Merits and Development. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 7: 1-16.
- Wahyuningsih, SPA. 2005. Efek Ekstrak Testis terhadap Angka Kebuntingan. *Seminar Nasional Biologi IT*, 23 Juli 2005. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Vernet, P., Fulton, N., Wallace, C. dan Aitken, J. 2001. Analysis of Reactive Oxygen Species Generating System in Rat Epididymal Spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 65: 1102-1113.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran*. Penerbit Tarsito, Bandung.