

SECONDARY IMMUNITY RESPONSE OF MENCIT BALB / C (*MUS MUSCULUS*) EXPORTED BALI COW TESTISICULAR EXTRACT (*BOS SONDAICUS*)

Sri Novita Primawati

Dosen Program Studi Pendidikan Biologi
FPMIPA IKIP MATARAM
E-mail: then_de@yahoo.com

ABSTRACT: Based on previous research by observing leukosit ploriferation of Balb / c mice given Balinese cow testical extract which showed significant result on observation to 72 hours after injection, while at 3 hours and 24 hours is not significant, it is suspected that the immunological response given to testicular extract a secondary immune response. This study aims to determine the ploriferation of Balb / c mice leukocytes exposed at some observation time, whether these include primary or secondary immune responses. Therefore it is necessary to do further research by adding exposure time of 1 day, 3 days, 5 days, and 7 days with only one exposure Con A (at 0 hour only). This study was designed with a complete randomized factorial design. The data obtained were analyzed by ANOVA analysis using F test. The results of this study showed that the influence of immunosuppression was highest on the third day (72 hours) and disappeared on the seventh day. This shows that the immunological response shown during observation of leukocyte proliferation of Balb / c mice is a secondary response.

Keywords: Testicular Extract, Balinese Cow (*Bos sondaicus*), Secondary Immune Response, Leucocyte Proliferation

ABSTRAK: Berdasarkan penelitian sebelumnya dengan melihat ploriferasi leukosit mencit Balb/c yang diberikan Ekstrak Testis Sapi Bali yang menunjukkan hasil signifikan pada pengamatan ke 72 jam pasca penyuntikan, sedangkan pada 3 jam dan 24 jam tidak signifikan, diduga bahwa respon imunologis yang diberikan terhadap Ekstrak testis berupa respon imun sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ploriferasi leukosit mencit Balb/c yang terpapar pada beberapa waktu pengamatan, apakah tersebut termasuk respon imun primer atau sekunder. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambahkan waktu pemaparan 1 hari, 3 hari, 5 hari, dan 7 hari dengan hanya satu kali pemaparan Con A (pada 0 jam saja). Penelitian ini dirancang dengan rancangan acak lengkap (RAL) berfaktor. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ANOVA menggunakan uji F. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh imunosupresi ini tertinggi pada hari ketiga (72 jam) dan menghilang pada hari ketujuh. Ini menunjukkan bahwa respon imunologis yang ditunjukkan selama pengamatan proliferasi leukosit mencit Balb/c merupakan respon sekunder.

Kata kunci : Ekstrak testis, Sapi Bali (*Bos sondaicus*), Respon Sekunder Imunitas, Proliferasi leukosit

PENDAHULUAN

Testis merupakan bagian organ kelamin jantan yang memiliki peran sangat penting pada proses reproduksi. Hal ini berkaitan dengan fungsi testis untuk menghasilkan spermatozoa, sebagai tempat berlangsungnya proses pematangan, transportasi dan penyimpanan spermatozoa (Bone, 1982). Berkaitan dengan peran dan fungsi tersebut, di dalam testis dihasilkan hormon-hormon androgen, beberapa peptida dan sitokin. Peptida dan sitokin ini mempunyai implikasi pada fungsi reproduksi testis maupun fungsi fisiologis lainnya, seperti

fungsi yang berkaitan dengan sistem imun reproduksi (Hedger and Meinhardt, 2003).

Berperan dalam sistem imun reproduksi terdapat senyawa bioaktif imunosupresan yang dihasilkan oleh testis, sebagaimana dikemukakan oleh Maddocks and Setchell (1990), yang menyatakan bahwa terdapat suatu faktor yang diproduksi atau disekresikan di dalam testis yang mampu menghambat kerja sistem imun (sebagai imunosupresan) di daerah ini. Dari penelitian-penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa ekstrak testis tikus, mencit, marmot, babi, dan sapi mengandung bahan bioaktif imunosupresan (Pollanen *et al*, 1989; Dostal *et*

al 1995). Dari keseluruhan ekstrak testis tersebut, hasil penelitian Pollanen *et al* (1989) di Australia menunjukkan bahwa ekstrak testis sapi memiliki aktifitas immunosupresan tertinggi.

Meskipun telah dilaporkan oleh Pollanen *et al* (1989) bahwa ekstrak testis sapi di Australia memiliki aktifitas immunosupresan relatif tinggi dibanding hewan-ternak lainnya, bioaktifitas ekstrak testis sapi yang terdapat di Indonesia belum pernah diteliti dan dilaporkan. Penelitian menggunakan ekstrak testis sapi Bali (*Bos sondaicus*) yang disuntikkan pada mencit *Balb/c* telah dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap proliferasi sel-sel imun mencit tersebut. Proliferasi sel-sel imun yang diamati adalah total sel-sel leukosit antara hewan coba dan kontrol, sebagaimana dikemukakan oleh Dostal *et al* (1995) dengan metode pengecatan Turk (Gandasoebrata, 1978).

Sapi Bali (*Bos sondaicus*) digunakan pada penelitian untuk skripsi ini karena sapi Bali memiliki potensi sebagai salah satu plasma nuftah bangsa Indonesia. Namun, saat ini sapi Bali hanya dimanfaatkan sebagai sapi pedaging dan ternak kerja. Potensi lainnya, seperti organ reproduksinya belum dimanfaatkan secara optimal. Pada industri sapi potong, testis diketahui sebagai hasil sisa, bukan menjadi bagian produk yang memiliki nilai ekonomi tinggi.

METODE

Pembuatan Ekstrak Testis

Testis dicuci dengan larutan saline steril dan disterilkan dengan alkohol. Kemudian dikeluarkan dari skrotum (didekapsulasi) menggunakan gunting dan pinset steril. Setelah didekapsulasi testis dipotong-potong menggunakan gunting, dan ditimbang. Potong-potongan testis dicampurkan dengan PBS (Phosphat Buffered Saline) dingin kemudian diblender.

Perhitungan dosis

Dosis dan volume penyuntikan bahan ditetapkan berdasarkan pada perhitungan dan metode yang dikemukakan oleh Dostal, *et al* (1995). 200 μL larutan saline steril (PBS)/mencit (Kontrol). Con A sebanyak 5 mg/1 kg berat badan (BB) mencit dalam 200 μL PBS (Con A). Ekstrak testis sebanyak 80 μg ekstrak testis per 200 μL PBS /ekor mencit (ET). Gabungan ekstrak testis dan Con A diperoleh dengan mengabungkan 5 mg/1 kg BB Con A dan 80 μg per 200 μL PBS (Con A+ET).

Penyuntikan

Mencit *Balb/c* yang digunakan, terlebih dahulu diberi kode perlakuan secara acak. S spuit, ekstrak testis, con A dan saline steril yang akan disuntikkan pada mencit dipersiapkan juga. Bagian belakang tengkuk mencit dipegang agar tidak bergerak, dan ekor dipegang dengan tangan yang sama agar tidak mengganggu saat penyuntikan. Kemudian mencit tersebut dibalikkan. Bahan-bahan perlakuan dan kontrol yang telah disiapkan kemudian disuntikkan pada daerah peritoneum yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%. Setelah disuntik mencit dikembalikan kedalam kandang.

Menampung Darah

Semua mencit yang sudah diberikan perlakuan dipersiapkan untuk pengambilan darah. Pada pengamatan dengan waktu pemaparan per jam penampungan darah dilakukan pada 3, 24, dan 72 jam pasca penyuntikan, sedangkan pada penelitian dengan waktu pemaparan per hari, penampungan darah dilakukan pada hari ke 1, 3, 5, dan ke 7 pasca penyuntikan sebagaimana yang dilakukan oleh Dostal *et al* (1995). Ada beberapa prosedur kerja yang perlu diperhatikan dalam metode ini. Sebelum pemanenan darah, dipersiapkan slide yang sudah diberi tanda perlakuan dan tanggal pemanenan darah. Slide ini dibersihkan terlebih dahulu dengan dipanaskan di atas bunsen dan dibersihkan dengan tissue atau kertas serap. Darah diambil dari setiap mencit dengan memotong bagian ujung ekor mencit yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%. Darah diteteskan pada slide (Gambar 7), kemudian segera diambil 10 μL dengan mikropipet dan diletakkan pada sumuran mikroplate yang sudah berisi 190 μL larutan Turk.

Menghitung Jumlah Sel Leukosit.

Untuk menghitung jumlah total leukosit (sel darah putih) yang terdapat di dalam darah, sel-sel darah merah harus dilisiskan terlebih dahulu. Untuk itu darah yang telah ditampung dicampurkan dengan larutan Turk (10 μL darah dan 190 μL larutan Turk, 20 kali pengenceran) yang berfungsi selain untuk mengecat sel-sel darah putih dan berfungsi juga untuk melisiskan sel-sel darah merah

Total sel leukosit dihitung menggunakan kamar hitung improved Neubauer haemocytometer. Daerah yang dibaca adalah kotak besar dibagian pojok dari kamar hitung (L1, L2, L3 dan L4). Penghitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus

ke kanan kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri. Lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan (Gandasoebrata, 1978).

Untuk menghindari duplikasi penghitungan ada beberapa sel leukosit yang boleh dihitung atau tidak. Hal ini berdasarkan posisi atau letak sel leukosit pada garis batas. Sel-sel yang menyinggung garis batas bawah sebelah kiri atau garis atas, harus dihitung. Sebaliknya sel-sel leukosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung (Gandasoebrata, 1978).

Setelah diperoleh jumlah total sel pada ke empat bidang besar, jumlah sel tersebut kemudian dibagi empat. Hasil yang diperoleh menunjukkan jumlah leukosit dalam $0,1 \text{ mm}^3$. Untuk mengetahui jumlah leukosit per μL darah, dapat dikalikan antara jumlah leukosit dalam $0,1 \text{ mm}^3$ dengan 20 (untuk faktor pengenceran) dan 10 (untuk tinggi) atau dapat dikalikan langsung dengan faktor 50 (Gandasoebrata, 1978).

HASIL

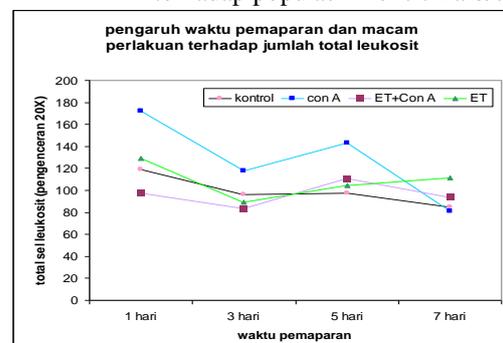
Penelitian ini dilakukan serupa dengan penelitian dengan penyuntikan berulang yaitu dengan menyuntikkan ET kasar hanya saja dengan jumlah penyuntikan Con A sebanyak satu kali saja yakni pada hari ke 0. Proliferasi sel-sel leukosit pada hari 1, 3, 5, dan 7 pasca penyuntikan ekstrak testis disajikan pada Gambar 10. Tampak bahwa sel-sel leukosit mengalami proliferasi ketika disuntik dengan Con A. Ketika mencit Balb/c disuntik dengan ekstrak testis dicampur dengan Con A (ET+ConA) tampak bahwa populasi sel-sel leukosit lebih rendah dibandingkan dengan populasi sel-sel leukosit Con A. Hal serupa terjadi pula pada populasi leukosit mencit yang disuntik dengan ET. Ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini ET kasar dari testis sapi Bali mengandung immunosupresan

Tampak bahwa tanpa pengulangan penyuntikan Con A, sel-sel limfosit mengalami peningkatan jumlah yang signifikan ($p < 0,001$) dibanding kontrol. Selain itu terlihat bahwa ketika ET dan Con A disuntikkan, sel-sel imun mengalami hambatan proliferasi. Ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini ET kasar dari testis sapi Bali mengandung immunosupresan

Pada Gambar 1 tampak jelas bahwa potensi immunosupresan ET+Con A hanya bertahan selama lima hari. Pada hari ke tujuh proliferasi sel kembali normal tidak berbeda dibandingkan Con A. Secara umum tampak

bahwa populasi terendah sel-sel leukosit mencit Balb/c berada pada hari ke tiga pasca pemaparan ET+Con A. Hal ini agak berbeda dengan hasil penelitian Dostal et al. (1995) yang menemukan populasi terendah pada hari ke lima, dan bertahan hingga hari ke 17 pasca pemaparan. Ada beberapa kemungkinan untuk menjelaskan hal ini. Pertama bahan ET yang digunakan berbeda yakni ekstrak testis babi, sementara penelitian ini menggunakan ET sapi Bali. Ke dua, Dostal et al. (1995), menggunakan ET yang sudah dimurnikan menggunakan kolom filtrasi gel sementara penelitian pada skripsi ini menggunakan ekstrak kasar yang belum dimurnikan.

Gambar 1. Grafik pengaruh lama pemaparan Con A, Con A+ET, atau ET terhadap populasi mencit Balb/c.



Pada Gambar 1 tampak pula bahwa respon imun akibat Con A cukup fluktuatif. Respon tertinggi tampak pada hari pertama, hari ke tiga turun, kemudian naik kembali pada hari ke lima dan menurun drastis pada hari ke tujuh. Gambaran ini kemungkinan berkaitan dengan pengaruh kerja reseptor IL-2. Peningkatan IL-2 menyebabkan jumlah sel limfosit meningkat dan meningkatkan pula jumlah total leukosit dari mencit. Menurut Kresno (2001), ekspresi reseptor IL-2 dapat terjadi dalam waktu kurang dari 6 jam; namun akan mencapai jumlah maksimum dalam waktu 2-3 hari. Untuk memastikan hal ini konsentrasi IL-2 perlu diteliti lebih lanjut hingga hari ke lima pasca pemaparan Con A secara *in vivo*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut : Terdapat senyawa immunosupresan pada ekstrak testis sapi Bali yang mampu menghambat proliferasi leukosit yang dipacu Con A pada waktu pemaparan 1 sampai 5 hari. Respon imunitas yang diberikan senyawa immunosupresan pada testis sapi Bali berupa respon imun sekunder yang akan menghilang efeknya pada hari ke tujuh.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak testis sapi Bali yang dimurnikan. Penelitian dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*.

DAFTAR RUJUKAN

- Bone, J.F., 1982. *Animal Anatomy and Physiologis*, Second Edition, Respon Publishing Company, Amerika.
- Dostal, J., et al, 1995, *Immunosuppressive Effect Induced By Intraperitoneal and Rectal Administration of Boar Seminal Immunosuppressive Factor*, Journal Biology Of Reproduction 52: 1209-1214.
- Gandasoebrata, R., 1978. *Penuntun Laboratorium Klinik*, Dian Rakyat, Jakarta.
- Hedger, M.P., and Meinhardt, A., 2003, *Cytokines and The Immuno-Testicular Axis*. J Reprod Immunol, 58:1-26.
- Kresno, S.B., 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi Ke-4, Gaya Baru, Jakarta.
- Maddock, S., and Setchell, B.P., 1990. *Recent Evidence for Immune Priviledge In The Testis*, Journal.Reprod. Immun., 18:9-18.
- Pollanen, P., Soder, O., Uksila, J., Nikula, H., Kaipia, A., Kangasniemi, M., Punnonen, J., Huhtamem, I., Parvinen, M., 1989. *Testicular Immunosuppressive*. Proceeding IVth Int. Cong. Androl. Monduzl Editor, Bologna, pp. 177 - 182.