



LIPI

ISSN 0126-1754
Volume 8, Nomor 2, Agustus 2006

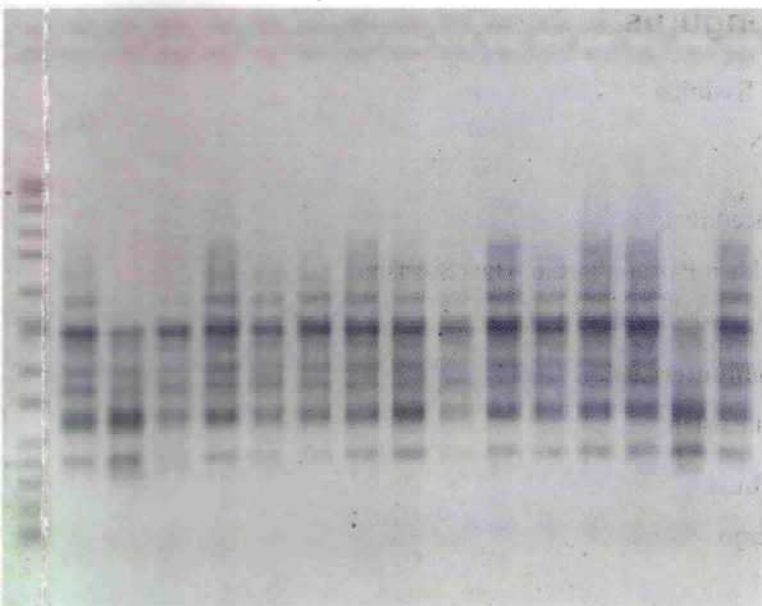


Terakreditasi Peringkat A
SK Kepala LIPI
Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

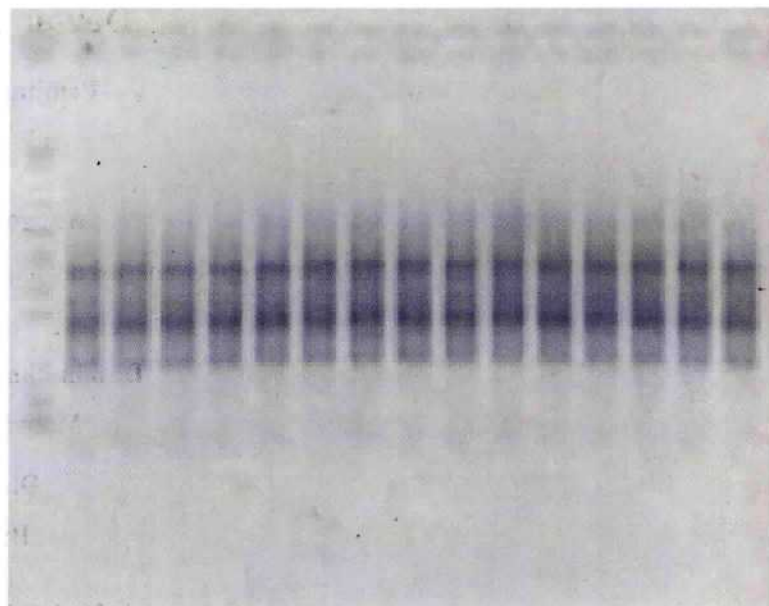
Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional

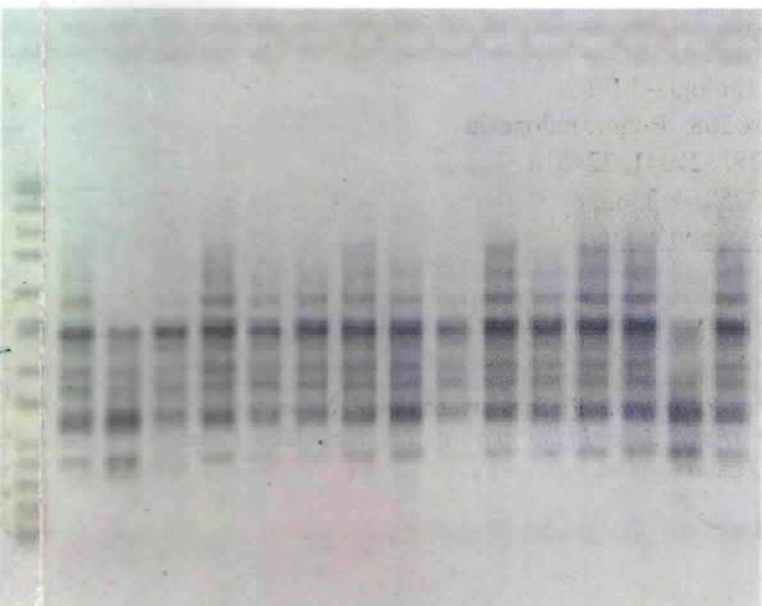
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



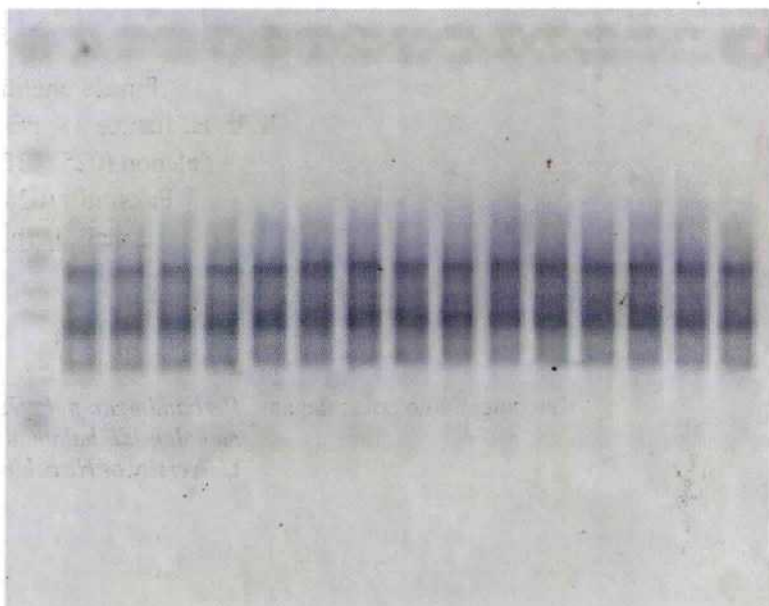
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



Diterbitkan Oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Umiah Nasional yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian dan karya pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi (dosen) maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun bulan April, Agustus dan Desember. Satu volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Iwan Saskiawan, Tukirin Partomihardjo, Hari Sutrisno

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan

Distribusi-

Budiarjo

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan dan surat-menyurat)

Enok

Pusat Penelitian Biologi - LIPI
Jl. Ir. H. Juanda 18, PO Box 208, Bogor, Indonesia
Telepon(0251)321038, 321041, 324616
Faksimili (0251) 325854; 336538
Email: herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depan: *Perbandingan pola fragmen RAPD pada Pinanga javana dan P. coronata, sesuai makalah di halaman 91 (Foto: Joko Ridho Witono dan Katsuhiko Kondo, University of Hiroshima, Japan)*



LIPI

Berita

Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional

ISSN 0126-1754

Volume 8, Nomor 2, Agustus 2006

Terakreditasi Peringkat A

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

KATA PENGANTAR

Jurnal Ilmiah "Berita Biologi" Nomor ini yang tampil sebagai Volume 8 Nomor 2, Agustus 2006, memuat berbagai bahasan terutama dari hasil penelitian maupun tinjauan ulang (review) para peneliti dari berbagai institusi.

Orasi pengukuhan Ahli Peneliti Utama (APU), kali ini kami pilih dari dunia samudera, yakni karya Dr. Ir. Ngurah Nyoman Wiadnyana yang disampaikan pada tanggal 15 September 2005. Peneliti Senior yang membangun karier penelitiannya di Lembaga Penelitian Oseanografi-LIPI ini mengayakan kita dengan suatu topik yang sangat menarik: plankton dan "red tide" di ekosistem perairan (marine) Indonesia. Pemrasaran secara jelas mengemukakan topik yang belum banyak diteliti di Indonesia. Selain pengayaan pengetahuan tentang plankton, meliputi klasifikasi dan peran ekologis serta manfaat, secara khusus dibahas tentang red tide: fenomena, penyebab dan dampak yang ditimbulkannya. Dr. Wiadnyana mengangkat sebuah tantangan, khususnya bagi para peneliti: akankah Indonesia menjadi lautan red tide?; yang jika tidak dikelola secara bijaksana pertanyaan ini mungkin saja dapat menjadi suatu realita di masa depan, karena permasalahan fenomena red tide, menurutnya tampak semakin meluas di perairan Indonesia. Sementara kita tahu bahwa kehidupan marine adalah juga kehidupan kita masa lalu, sekarang dan masa depan!. Pada salah satu bagian orasinya, ditulis ".....harapan saya semoga apa yang saya uraikan ini dapat dijadikan buah pemikiran dalam upaya terus mengembangkan ilmu planktonologi yang pada umumnya kurang mendapat minat dari para ilmuan muda....".

Masih dari Jepang, sebagai kelanjutan studi tentang *Pinanga*, dibahas aspek modifikasi protokol isolasi DNA dari jaringan daun yang dikeringkan dengan silica gel. Hasil penelitian ini merupakan bagian dari program doktor JRW di University of Hiroshima, Jepang. Sementara itu, informasi karakter kimia dari kekayaan keanekaragaman hayati Indonesia tercermin dalam hasil penelitian spesies *Hopea*. Laporan dari dunia hewan ternak tentang imunologi resistensi domba ekor tipis terhadap infeksi cacing hati. Pulau yang dikenal berpotensi sebagai tumbuhan obat dipelajari aspek kultur jaringannya, meliputi penyimpanan dan regenerasi. Selanjutnya masih dalam studi kultur jaringan, dilakukan terhadap jahe sebagai tanaman obat maupun industri, yakni pengaruh perlakuan-perlakuan spesifik terhadap induksi kalusnya. Studi tentang benalu memberikan gambaran ancaman potensial terhadap koleksi Kebun Raya. Suatu tinjauan ulang (*review*) membahas makluk hidup sebagai sumber obat anti-infeksi, dengan penekanan khusus pada aspek diversitas jalur biosintesis senyawa terpena.

Selamat membaca.

Salam Iptek,

Redaksi

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Berita Biologi

1. Karangan Ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik dan sebagainya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan dan biologi laut, agrobiologi, agro bioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri. *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.

Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, ditulis miring, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan.*
8. Pola penyiapan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto; tidak diperkenankan mencantumkan lampiran.

Gambar dan foto: maksimum 4 buah dan harus bermutu tinggi, gambar pada kertas kalkir (bila manual) dengan tinta cina, berukuran kartu pos, foto berwarna akan dipertimbangkan; sebutkan programnya bila gambar dibuat dengan komputer. Versi terakhir (sesudah perbaikan berdasarkan rekomendasi para penilai/referee), harus disertai disket yang ditulis dengan program WP atau Microsoft Word 97 ke atas.
9. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam): satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya.
10. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap, jangan disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda **titik** pemisah.
 - a. Jurnal

Premachandra GS, Saneko H, Fujita K and Ogata S. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and (growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43,1559-1576.
 - b. Buku

Kramer PJ, 1983. *Plant Water Relationship.* Academic, New York, 76.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya

Hamzah MS dan Yusuf SA. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis Lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Am, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M. Hasan, A. Mattimu, JG Nelwan dan M. Littay (Penyunting). Perhimpunan Biologi Indonesia, 769-777.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku

Leegood RC and Walker DA. 1993. Chloroplast and Protoplast. Dalam: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment.* DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Editor). Chapman and Hall. London, 268-282.
11. Kirimkan makalahnya ke Redaksi. Sertakan alamat Penulis yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang mudah dan cepat dihubungi dan alamat elektroniknya (E-mail).

Penilai (Referee) Nomor ini

BP Naiola

D Widyatmoko

D Siti Hazar Hoesen

Fadjar Satrija

Ika Mariska

DAFTAR ISI

ORASI PENGUKUHAN AHLI PENELITI UTAMA

PERANAN PLANKTON DALAM EKOSISTEM PERAIRAN: INDONESIA, LAUTAN RED TIDE?

[The Role of Plankton in Aquatic Ecosystem: Indonesia, Red Tide Ocean?]

Ngurah Nyoman Wiadnyana.....vii

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

MODIFICATION OF DNA ISOLATION PROTOCOL FROM SILICA GEL DRIED-LEAF TISSUES OF *Pinanga* (PALMAE)

Joko Ridho Witono and Katsuhiko Kondo.....91

MEKANISME IMUNOLOGI DARI RESISTENSI DOMBA EKOR TIPIS TERHADAP INFEKSI *Fasciola gigantica*

[Immunological Resistance of Indonesian Thin-Tailed Sheep (ITT) to *Fasciola gigantica*]

Ening Wiedosari.....99

KAJIAN FITOKIMIA *Hopea mengarawan* DAN IMPLIKASINYA PADA KEMOTAKSONOMI HOPEA

[Phytochemical Screening of *Hopea mengarawan* and Its Implication Against Chemotaxonomy
of *Hopea*]

*Sahidin, Euis H Hakim, Yana M Syah, Lia D Juliawaty, Sjamsula Achmad,
Laily Bin Din, Jalifah Latip*.....107

PENGARUH 2,4-D DAN BA TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK PADA KULTUR MERISTEM JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)

[The Effect of 2,4-D and BA of Embryogenic Callus Induction of Meristem Culture
of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)]

Rama Riana Sitinjak, Oti Rostiana, Karyono, dan Tiin Supriatun115

PENYIMPANAN DAN REGENERASI TANAMAN PULAI {*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.} MELALUI KULTUR *IN VITRO*

[Preservation and Regeneration of Pulai {*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.} Through *In Vitro* Culture] 121

Ragapadmi Purnamaningsih, flea Mariska dan SriHutami.....

KERUSAKAN MORFOLOGI TUMBUHAN KOLEKSI KEBUN RAYA PURWODADI OLEH BENALU (LORANTHACEAE DAN VISCACEAE)

[Morphological Damage of Plants Collections in Purwodadi Botanic Gardens
by Mistletoe {Loranthaceae and Viscaceae}]

Sunaryo, Erlin Rachman dan Tahan Uji.....129

TINJAUAN ULANG:

DIVERSITAS JALUR BIOSINTESIS SENYAWA TERPENA PADA MAKHLUK HIDUP SEBAGAI TARGET OBAT ANTIINFEKTIF

[Diversity of the Terpene Biosynthetic Pathways in Living Organisms
as Antiinfective Drug Targets]

Andria Augusta.....141

**MEKANISME IMUNOLOGI DARI RESISTENSI DOMBA EKOR TIPIS
TERHADAP INFEKSI *Fasciola gigantica*
[Immunological Resistance of Indonesian Thin-Tailed Sheep (ITT)
to *Fasciola gigantica*]**

Ening Wiedosari

Balai Penelitian Veteriner, Jalan RE Martadinata 30 Bogor 16114
Tel. 0251 -331048. E-mail: eningwied@yahoo.com

ABSTRACT

Previous studies shown that Indonesian Thin-Tailed (ITT) sheep are more resistant to infection than Merino sheep infected with *Fasciola gigantica*. Eosinophils isolated from ITT sheep between 2-6 weeks postinfection could effectively kill immature parasites *in vitro* by superoxide radicals produced by these cells. The present study was undertaken to identify immunological mechanisms associated with such resistance by comparison of immune responses to fluke antigen in ITT and Merino sheep, a breed susceptible to infection with *F. gigantica*. This knowledge will enable the development of targeted control strategies using immunomanipulation such as by vaccination. Two critical observations from this *in vivo* studies were made including (1) eosinophils were significantly elevated at the time of *F. gigantica* parasite killing in the ITT host relative to the *F. gigantica*-susceptible Merino host, (2) IgG, responses correlated with resistance to infection in the ITT host.

Kata kunci: *Fasciola gigantica*, resisten, domba ekor tipis (Indonesian Thin-Tailed sheep), IgG.

PENDAHULUAN

Fasciola gigantica adalah parasit cacing trematoda penyebab fasciolosis pada ternak ruminansia, yang menyerang organ hati dan biasa disebut sebagai cacing hati (*liver fluke*). *F. gigantica* umumnya ditemukan di negara tropis. Kejadian fasciolosis di Indonesia masih sangat tinggi, di Jawa Barat dapat mencapai 90% dan di Daerah Istimewa Yogyakarta antara 40-90% (Estuningsih *et al*, 2004). Saat ini pengendalian penyakit parasit pada ternak masih mengandalkan pada pengobatan, namun dilaporkan beberapa parasit telah resisten terhadap obatantiparasit. Oleh karena itu alternatif pengendalian penyakit fasciolosis dengan vaksin merupakan terobosan yang menjanjikan.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa domba Ekor Tipis (ET) lebih resisten terhadap infeksi *F. gigantica* dibanding domba Merino dan reaksi imunologik berperan dalam resistensi tersebut (Wiedosari dan Copeman 1990; Spithill *et al.*, 1999). Resistensi terjadi pada awal infeksi yaitu antara minggu ke 2-6 setelah infeksi, dimana larva cacing berada dalam rongga peritoneum menuju ke jaringan hati untuk bermigrasi di sel parenkim. Migrasi cacing ini akan mengakibatkan kerusakan sel hati sehingga melepas enzim glutamat dehidrogenase (GLDH). Enzim ini akan

terdeteksi di dalam darah dan merupakan indikasi yang spesifik apabila ada kerusakan hati dan sel epitel dari saluran empedu. Perubahan parameter tersebut sangat tergantung pada intensitas infeksi dan kepekaan hewan (Clery dan Mulcahy, 1998)

Secara *in vitro* terbukti bahwa sel eosinofil merupakan sel dominan yang mampu membunuh larva cacing tersebut dengan mekanisme respon kebal sitotoksitas seluler tergantung antibodi (ADCC/ *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity*), dan radikal superoksida yang diproduksi oleh sel tersebut sebagai molekul efektor (Spithill *et al*, 1999). Immunoglobulin G (IgG) merupakan antibodi yang penting untuk mekanisme ADCC yang diperantarai oleh sel eosinofil (Tizard, 2000). Antibodi ini umumnya melapisi parasit sehingga lebih mudah untuk difagositosis. IgG dapat melekat pada reseptor Fc yang terdapat pada permukaan sel sasaran, misalnya seperti sel eosinofil yang mempunyai reseptor untuk Fc, dan memungkinkan terjadinya proses ADCC. Fenomena ini sangat penting dipelajari untuk strategi pengendalian fasciolosis, yaitu dengan fokus mempelajari mekanisme respon kebal yang bersifat protektif maka akan diketahui mengapa domba ET efektif dalam membunuh cacing. Karena itu tujuan penelitian ini adalah karakterisasi mekanisme respon kebal protektif dari

domba ET yang resisten dibandingkan dengan domba Merino yang peka terhadap *F. gigantica*.

BAHANDANMETODE

Bahan

HewanCoba

Pada penelitian ini digunakan masing-masing 12 ekor domba ET dan Merino, merupakan hasil *breeding* di kandang percobaan Balai Besar Penelitian Veteriner di Bogor dan diketahui bebas dari infeksi *F. gigantica*. Pada saat percobaan dimulai domba tersebut kira-kira berumur 9 bulan, diberi pakan rumput *Penissetum purpureum* dan konsentrat. Masing-masing bangsa domba dibagi menjadi 2 kelompok (6 ekor/kelompok) yaitu kelompok perlakuan dan kontrol (tidak diinfeksi). Seluruh domba kelompok perlakuan diinfeksi metaserkaria cacing *Fasciola gigantica* secara oral dengan dosis 250 metaserkaria/hewan yang diinfeksi 2 kali. Infeksi pertama dengan dosis 50 metaserkaria/hewan sebagai uji sensitisasi, kemudian setelah enam minggu domba diobati dengan obat cacing trematoda triclabendazole dosis 12 mg/kgBB. Empat minggu setelah pengobatan diinfeksi kedua dengan dosis 200 metaserkaria/hewan sebagai ujiantang. Semua domba dibunuh dengan memotong vena jugularis pada leher (sesuai dengan kode etik yang berlaku) pada minggu ke-10 setelah infeksi.

Parasit

Metaserkaria *F. gigantica* diperoleh dari siput *Lymnaea rubiginosa* yang dikoleksi dari Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Metaserkaria disimpan pada lembaran plastik yang direndam dalam botol berisi air pada suhu 14°C di laboratorium Parasitologi, Balitvet, Bogor. Menjelang infeksi metaserkaria diperiksa viabilitasnya di bawah mikroskop-stereo dan selanjutnya dikumpulkan dalam botol Erlenmeyer yang berisi larutan 0,4% *carboxymethyl cellulose* (CMC) agar tidak menempel pada dinding botol. Larutan tersebut kemudian diambil dan disemprotkan secara merata pada kertas saring, lalu kertas saring tersebut dimasukkan ke dalam kapsul gelatin. Selanjutnya diinfeksi kepada domba secara oral menggunakan *plastic infected gun*.

METODE

Penghitungan cacing saat nekropsi

Seluruh domba dibunuh lalu hatinya dikoleksi dan ditimbang. Kantong empedu dipisahkan dari hati, lalu hati dihancurkan dengan tangan kemudian diberi air dan disaring. Selanjutnya hati dimasukkan ke dalam bak plastik berdasar hitam agar cacing hati yang berwarna putih dapat jelas dan mudah ditemukan. Seluruh cacing dikumpulkan dalam botol berisi air dan dihitung jumlahnya (Wiedosari, 1989).

Aktivitas Enzim Glutamat Dehidrogenase dan Sel Eosinofil

Sampel darah domba dikoleksi setiap 2 minggu. Pemeriksaan sel eosinofil dilakukan dengan cara membuat preparat apus darah dengan pewarnaan Giemsa sedangkan penghitungannya dalam persentase. Aktivitas enzim GLDH dianalisis dengan menggunakan *Boehringer Mannheim Kits* (No. Katalog 124320) dan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 340 nm pada 25°C (Wiedosari dan Copeman, 1990).

Isotipe antibodi IgG1 dan IgG2

Diperiksa dengan metode *Enzyme-linked immunosorbent Assay/ELISA* (Wiedosari *et al*, 2006). Lempeng ELISA dilapisi dengan 100 µl (5 µg/ml) antigen cacing *F. gigantica* dalam larutan bufer karbonat/bikarbonat (pH 9,6) lalu diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Lempeng ELISA kemudian dicuci 4x dengan 0,1 % PBS (*phosphate buffer saline*)-Tween 20 dan di blok dengan 200 µl/lubang 5% skim milk dalam 0,1 % PBS-Tween 20 lalu diinkubasi selama 1 jam dalam inkubator 37°C. Setelah inkubasi lempeng ELISA dicuci 3x dengan 0,1% PBS Tween-20, sampel serum (1/100) dimasukkan ke dalam 2 lubang untuk ulangnya dan diinkubasi selama 1 jam dalam inkubator 37°C, setelah itu dicuci 3x dengan PBS Tween-20. Lalu dimasukkan *mouse monoklonal anti-ovine IgG1* (1/10) atau *IgG2* dengan konsentrasi 1/100 dan diinkubasi selama 1 jam dalam inkubator 37°C. Lempeng ELISA dicuci 4x dengan 0,1 % PBS Tween-20. Selanjutnya ditambahkan 100 µl/lubang 1:1000 *antimouse immunoglobulin* dan diinkubasi selama 1 jam dalam inkubator 37°C, kemudian dicuci 4x

dengan PBS Tween-20. Menjelang akhir inkubasi, tablet TMB (*tetramethylbenzidine*) dilarutkan dalam 1 ml DMSO (*dimethylsulphoxide*) dengan menggunakan vortex (1 tablet untuk 1 lempeng ELISA). Setelah inkubasi, tambahkan 9 ml *citrate-phosphate buffer* (pH 5) dan $2\mu\text{l H}_2\text{O}_2$ ke dalam larutan TMB. Kemudian substrat tersebut ditambahkan ke lempeng ELISA sebanyak 100 μl /lubang dan dibiarkan selama 10 menit sambil sekali-sekali dikocok. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 25 μl /lubang $2\text{MH}_2\text{SO}_4$. Kemudian lempeng ELISA (hasilnya) dibaca nilai *OD/Optical Density* (serapan optik) menggunakan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

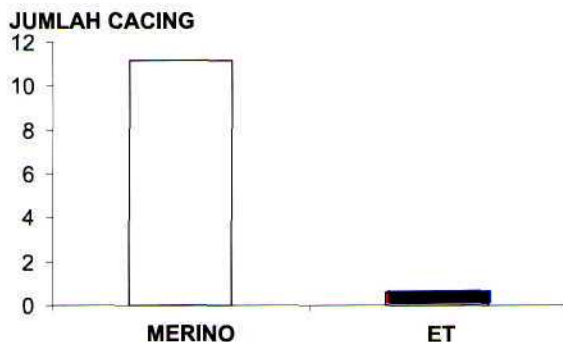
Analisa Statistik

Data yang diperoleh dalam penelitian ini diuji dengan ANOVAdan dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan *software SAS* (1998).

HASIL

Penghitungan cacing saat nekropsi

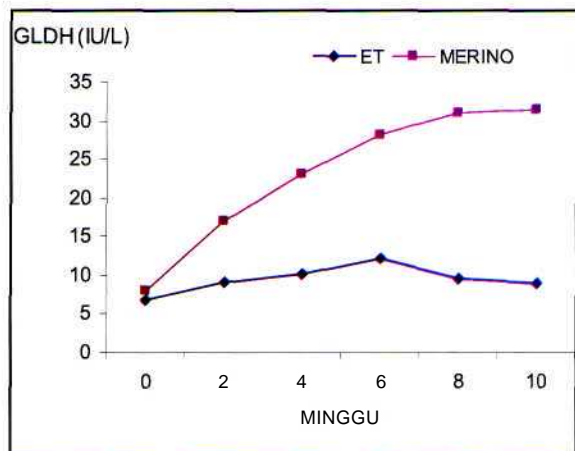
Hasil penghitungan rata-rata cacing yang dipanen kembali dari hati masing-masing 6 ekor domba ET dan Merino pada minggu ke-10 pascainfeksi yaitu berturut-turut 0,6(0,1,1,1,0dan0,6)dan 11,2(12,10,10,11,12 dan 12) atau 0,25% dan 5,6% darijumlah metaserkaria yang diberikan (Gambar 1) terdapat perbedaan nyata ($P<0,05$). Cacing tidak ditemukan pada kelompok kontrol (tidak diinfeksi), berdasarkan hal tersebut maka untuk parameter selanjutnya data dari kelompok kontrol tidak ditampilkan.



Gambar 1. Rataan jumlah cacing yang dipanen kembali dari hati domba ET dan Merino setelah diinfeksi kedua dengan 200 metaserkaria *F. gigantica*

Aktivitas enzim GLDH

Nilai rata-rata enzim GLDH dari domba Merino lebih tinggi daripada domba ET ($P<0,05$). Aktivitas enzim GLDH pada domba Merino mulai meningkat pada minggu ke-2 setelah infeksi dengan nilai rata-rata 16,7 IU/L dan mencapai puncaknya pada saat penelitian berakhir yaitu pada minggu ke-10 setelah infeksi dengan nilai rata-rata 30,7 IU/L. Sebaliknya aktivitas enzim GLDH pada domba ET cenderung tetap selama penelitian berlangsung (Gambar 2).



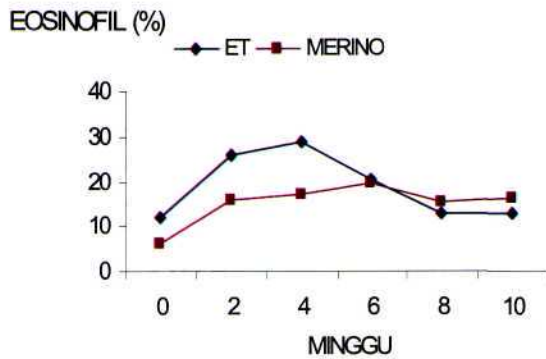
Gambar 2. Rataan GLDH (*glutamate dehydrogenase*) dalam IU/L domba ET dan Merino setelah diinfeksi kedua dengan 200 metaserkaria *F. gigantica*

Sel Eosinofil

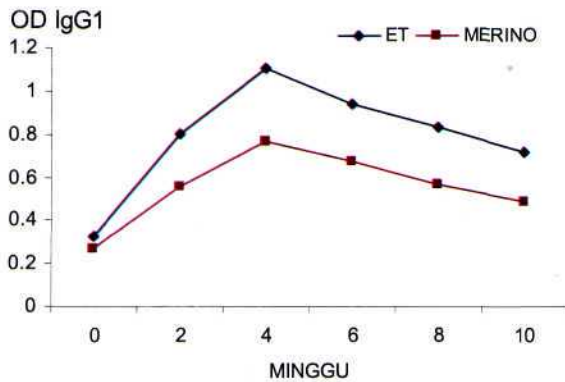
Rataan jumlah sel eosinofil dalam sirkulasi darah pada domba ET dan Merino terlihat mulai naik segera setelah infeksi, namun demikian kenaikannya jauh lebih banyak pada domba ET ($P<0,05$) (Gambar 3). Selanjutnya pada domba ET jumlah eosinofil mulai turun pada minggu ke-6 setelah infeksi.

Respon Isotipe antibodi IgG1 dan IgG2

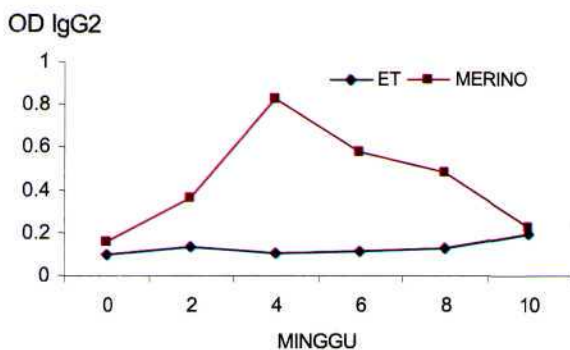
Dinamika rata-rata produksi isotipe antibodi IgG1 dan IgG2 berturut-turut dapat dilihat pada gambar 4 dan 5. Pada domba ET, dua minggu setelah infeksi terjadi peningkatan produksi IgG1 namun hal ini tidak terjadi pada domba Merino. Sebaliknya pada domba Merino terjadi kenaikan produksi IgG2 pada minggu ke-2 setelah infeksi yang berbeda nyata dibanding domba ET ($P<0,05$).



Gambar 3. Rataan jumlah eosinofil (%) dari domba ET dan Merino setelah diinfeksi kedua dengan 200 metaserkaria *F. gigantica*.



Gambar 4. Rataan jumlah produksi IgG1 dalam OD (*Optical Density*) dari domba ET dan Merino setelah diinfeksi kedua dengan 200 metaserkaria *F. gigantica*.



Gambar 5. Rataan jumlah produksi IgG2 dalam OD (*Optical Density*) dari domba ET dan Merino setelah diinfeksi kedua dengan 200 metaserkaria *F. gigantica*.

PEMBAHASAN

Hasil penghitungan jumlah cacing *F. gigantica* di organ hati dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa domba ET lebih resisten daripada domba Merino (Wiedosari dan Copeman, 1990; Spithill *et al.* 1999). Resistensi ini ditunjukkan juga oleh hasil uji aktivitas enzim GLDH. Aktivitas enzim ini akan meningkat di dalam darah apabila ada kerusakan sel hati, karena enzim ini konsentrasinya sangat tinggi di dalam sel hati sehingga sering dimanfaatkan sebagai indikator adanya kerusakan sel hati akibat migrasi larva atau cacing muda di dalam parenkhim hati (Wiedosari dan Copeman, 1990). Selain itu menurut Clery dan Mulcahy (1998) terdapat korelasi yang positif antara tingkat kerusakan hati dengan jumlah enzim GLDH yang dideteksi dalam darah. Perbedaan aktivitas enzim ini ternyata ada hubungannya dengan jumlah rata-rata cacing yang dipanen kembali dari hati pada saat nekropsis yaitu lebih sedikit pada domba ET daripada domba Merino.

Peningkatan jumlah eosinofil (eosinofilia) pada awal infeksi dalam penelitian ini ada kemungkinan turut berperan aktif dalam meningkatkan mekanisme respon kebal protektif domba ET terhadap infeksi cacing *F. gigantica*. Enam minggu pascainfeksi jumlah eosinofil pada domba ET mulai menurun. Diduga ada hubungannya dengan terbunuhnya larva cacing *F. gigantica*, sehingga secara imunologi tubuh hewan tersebut akan mengurangi mobilisasi eosinofil atau dengan kata lain tidak ada aktivasi lagi terhadap sel pertahanan tubuh. Menurut Van Milligen *et al.* (1999), eosinofil paling efektif membunuh parasit cacing pada tahap larva. Pada minggu ke-2 pascainfeksi cacing *F. gigantica* yang berada dalam tubuh domba diduga masih pada tahap larva yaitu setelah menembus dinding usus dan berada dalam rongga peritoneum dalam perjalanannya menuju organ hati. Keberadaan larva cacing *F. gigantica* di dalam rongga peritoneum ini secara imunologi akan memobilisasi sel-sel pertahanan tubuh terhadap infeksi parasit yaitu eosinofil untuk membunuh larva cacing tersebut.

Bukti lain yang menunjukkan bahwa eosinofilia kemungkinan dapat bertindak sebagai salah satu faktor terjadinya resistensi akibat fasciolosis adalah hasil

penelitian secara *in vitro* Duffus *et al.* (1980) yang mengisolasi *bovine major basic protein* dari eosinofil. Ternyata dalam konsentrasi yang sangat rendah yaitu 1×10^{-6} M, protein ini dapat menimbulkan kerusakan dan kematian cacing *F. hepatica*. Degranulasi dari eosinofil pada tegumen atau permukaan tubuh cacing menimbulkan vakuolisasi pada daerah tersebut, yang selanjutnya akan mengakibatkan kematian cacing Davies dan Goose (1981).

Stear dan Murray (1994) menyatakan bahwa jumlah eosinofil yang dihasilkan oleh tubuh hewan dapat menentukan tingkat resistensi hewan tersebut terhadap infeksi parasiter. Dalam penelitian ini terlihat bahwa jumlah eosinofil pada domba ET jauh lebih tinggi dibandingkan dengan pada domba Merino. Pada akhir penelitian yaitu 10 minggu pascainfeksi, terbukti bahwa jumlah cacing *F. gigantica* pada domba ET relatif lebih sedikit dibandingkan dengan domba Merino.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rothwell *et al.* (1993) menunjukkan bahwa level eosinofil dalam sirkulasi darah perifer berkaitan dengan tingkat resistensi domba yang diinfeksi *Trichostrongylus colubriformis*. Pendapat ini didukung oleh Buddie *et al.* (1992) yang menyatakan bahwa level eosinofil di dalam darah perifer berbanding terbalik dengan jumlah telur cacing dalam tinja domba NZ Ramney yang diinfeksi *T. colubriformis*. Fenomena yang sama ditemukan pada infeksi *Ostertagia circumcincta* yaitu bahwa respon eosinofil yang tinggi berkaitan dengan resistensi alam pada domba *Red Maasai* dan *Scottish Blackface* (Stear *et al.*, 1995).

Selama ini sel eosinofil yang merupakan salah satu sel fagosit diduga sebagai sel efektor yang paling efektif dalam membunuh larva cacing. Menurut Tizard (2000) mekanisme respon kebal yang mendasari kejadian ini adalah sebagai berikut, sel eosinofil melalui reseptor Fc berikatan pada kompleks antibodi yang bertindak sebagai opsonin melekat pada permukaan sel sasaran yang terinfeksi. Pengikatan antibodi pada reseptor Fc merangsang fagosit untuk memproduksi lebih banyak leukotrien dan prostaglandin, yang merupakan molekul-molekul yang berperan pada respons inflamasi. Sel efektor yang telah terikat kuat pada membran sel sasaran menjadi teraktivasi dan akhirnya dapat menghancurkan sel sasaran. Sebagian

besar kuman patogen difagositosis dan dibunuh intralisosom, ditambah kemampuan eosinofil untuk memproduksi ROI (*reactive oxygen intermediates*) misalnya superoksida.

Dalam penelitian ini, dua minggu setelah infeksi terjadi peningkatan produksi IgG1 pada domba ET namun hal ini tidak terjadi pada domba Merino. Respon kebal yang diperantarai IgG1 dan sel eosinofil sangat bergantung pada aktivasi sekelompok sel yang disebut sel *T helper!* (Th2). Hasil penelitian Brown *et al.* (1999) menunjukkan bahwa klon sel Th2 spesifik *Fasciola hepatica* sangat dominan dalam menstimulasi produksi IgG1 secara *in vitro*. Dalam penelitian ini terbukti domba ET mengandung lebih banyak sel Th2 yang diekspresikan melalui produksi lebih banyak Interleukin-4 (IL-4) dibanding domba Merino (Wiedosari *et al.* 2006). Sel Th2 mensekresi IL-4 yang memegang peran penting dalam *isotype switching* IgG1 dan rekrutmen sel eosinofil. Sel Th2 juga mensekresi IL-5 yang mengaktifkan sel eosinofil (Estes dan Brown, 2002). Kemampuan IgG1 untuk menimbulkan respon kebal yang protektif terhadap *Schistosoma mansoni* dibuktikan oleh Khalife *et al.* (1989). Delgado dan Laren (1990) menyatakan bahwa isotype antibodi IgG1 pada manusia berpartisipasi sebagai mediator sel eosinofil dalam membunuh *S. mansoni*. Selanjutnya dikatakan bahwa transfer pasif anti- *S. mansoni* spesifik terhadap IgG 1 mampu mempertahankan mencit dari infeksi kedua.

Pada dasarnya antibodi IgG pada domba terdiri dari 2 subkelas yaitu IgG1 dan IgG2. Penelitian oleh Stevens *et al.* (1988) secara *in vitro* tentang regulasi sel Th1 dan Th2 terhadap subkelas IgG menunjukkan bahwa sel Th1 secara spesifik menginduksi produksi IgG2, sebaliknya sel Th2 secara spesifik menginduksi produksi IgG1. Sekresi antibodi ini terjadi karena dua sebab, yaitu pertama adanya interaksi antara sel $TCD4^+$ dengan sel B melalui reseptor dan molekul kostimulator, kedua adanya pengaruh sitokin yang dihasilkan sel T menginduksi proliferasi dan diferensiasi sel B. Setiap sel B dapat merubah (switch) kelas imunoglobulin yang diproduksinya. *Class switching* ini bukan merupakan suatu proses yang random, tetapi dikendalikan oleh sel Th dan berbagai sitokin yang diproduksinya. Diantara sitokin yang diproduksi sel Th2 dan berperan pada sintesis IgG1 adalah IL-4, sedangkan sitokin

Interferon/IFNY yang diproduksi sel Th 1 secara selektif menginduksi *switching* imunoglobulin menjadi IgG2.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa resistensi terhadap *F. gigantica* pada domba ET terjadi karena adanya peningkatan aktivasi sel eosinofil dan produksi antibodi IgG1 yang lebih tinggi dibanding domba Merino pada minggu ke2-6 setelah infeksi. Dengan hasil penelitian ini maka dapat dirancang vaksin untuk fasciolosis secara lebih rasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, KM Murphy and A Sher.** 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* **383**,787-793.
- Brown WC, TF McElwain, GH Palmer, SE Chantler and DM Estes.** 1999. Bovine CD4(+) T-lymphocyte clones specific for rhoptry-associated protein 1 of *Babesia bigemina* stimulate enhanced immunoglobulin G1 (IgG1) and IgG2 synthesis. *Infection Immunity* **61**,155-164.
- Buddie BM, G Jowett, RS Green, PGC Douch and PL Risdon.** 1992. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Ramney lambs to nematodes. *International Journal for Parasitology* **11**, 955-960.
- Clery DG and G Mulcaby.** 1998. Lymphocyte and cytokine responses of young cattle during primary infection with *Fasciola hepatica*. *Research Veterinary Sciences* **6**,169-171.
- Davies C and J Goose.** 1981. Killing of newly excysted juveniles of *Fasciola hepatica* in sensitized rats. *Parasite Immunology* **3**,81-96.
- Delgado V and DJ Me Laren.** 1990. Evidence for enhancement of IgG1 subclass expression in mice polyvaccinated with radiation-attenuated cercariae of *S. mansoni* and the role of this isotype in serum-transferred immunity. *Parasite Immunology* **12**,15-32
- Duffus WPH, K Thorne and R Oliver.** 1980. Killing of juvenile *Fasciola hepatica* by purified bovine eosinophil proteins. *Clinical Experimental Immunology* **40**,336-344.
- Estes DM and WC Brown.** 2002. Type 1 and type 2 responses in regulation of Ig isotype expression in cattle. *Veterinary Immunology Immunopathology* **90**, 1-10.
- Estes DM, A Hirano, VT Heussler, DA Dobbelaere and WC Brown.** 1994. Expression and biological activities of bovine interleukin 4: effects of recombinant bovine interleukin 4 on T cell proliferation and B cell differentiation and proliferation *in vitro*. *Cellular Immunology* **163**,268-79.
- Estuningsih SE, G Adiwinata, S Widjajanti dan D Piedraflta.** 2004. *Pengembangan teknik diagnosa Fasciolosis pada sapi dengan antibodi monoklonal dalam capture EUSA untuk deteksi antigen*. Seminar Nasional Parasitologi dan Toksikologi Veteriner. 20-21 April, Bogor
- Khalife J, D Dunne and BA Richardson.** 1989. Functional role of human IgG subclass in eosinophil-mediated killing of *S. mansoni*. *Journal Immunology* **142**, 4422-4427.
- Rainbird MA, D MacMillan and ENT Meeusen.** 1998. Eosinophil-mediated killing of *Haemonchus contortus* larvae: effect of eosinophil activation and role of antibody, complement and interleukin-5. *Parasite Immunology* **12**, 15-32.
- Rothwell TLW, RG Windon, BA Horsburgh and BH Anderson.** 1993. Relationship between eosinophilia and responsiveness to infection with *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *International Journal Parasitology* **23**,203-211.
- SAS.** 1998. SAS/STAT Guide for Personal Computer. Version 6.2 Edition. SAS Institute Cary., NC, USA.
- Spithill TW, PM Smooker and DB Copeman.** 1999. *Fasciola gigantica*: Epidemiology, Control, Immunology and Molecular Biology. In: Dalton JP (Ed.). Oxon: CABI Publishing, 465-525.
- Stear MJ and M Murray.** 1994. Genetic resistance to parasitic disease: particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology* **54**,161-176
- Stear MJ, SC Bishop, JL Duncan, McKellar and M Murray.** 1995. The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts and plasma pepsinogen concentration during deliberate infection with

Ostertagia circumcincta. *International Journal for Parasitology* 25,375-380.

- Stevens TL, A Bossie, VM Sanders, R Fernandez-Botran, RL Coffman, TR Mosmann and ES Vietta. 1988.** Regulation of antibody isotype by subsets of antigen-specific helper T-cells. *Nature* **334**, 255-258
- Tizard IR. 2000.** *Immunology: An Introduction*. Ed ke-6. New York: Saunders College Publishing.
- Van Milligen FJ, JB Cornelissen and BA Bokhout. 1999.** Protection against *Fasciola hepatica* in the intestine is highly correlated with eosinophil and immunoglobulin G1 responses against newly excysted juveniles. *Parasite Immunology* **21**, 243-251.
- Wiedosari E. 1989.** Studies on Infection Indonesian Thin-Tailed sheep with *Fasciola gigantica* and

Gigantocotyle explanatum. (Thesis). Australia: James Cook University.

- Wiedosari E and DB Copeman. 1990.** High resistance to experimental infection with *Fasciola gigantica* in Javanese thin-tailed sheep. *Veterinary Parasitology* **37**, 101-111.
- Wiedosari E, H Hayakawa and B Copeman. 2006.** Host differences in response to trickle infection with *Fasciola gigantica* in buffalo, Ongole and Bali calves. *Tropical Animal Health and Production* **38**,43-53.