

JITV Vol. 9 No. 3 Th. 2004

## Pengaruh Infestasi Cacing Hati *Fasciola gigantica* terhadap Gambaran Darah Sel Leukosit Eosinofil pada Domba

S. WIDJAJANTI<sup>1</sup>, S.E. ESTUNINGSIH<sup>1</sup>, SUBANDRIYO<sup>2</sup>, D. PIEDRAFITA<sup>3</sup> dan H.W. RAADSMA<sup>4</sup><sup>1</sup>Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114, Indonesia<sup>2</sup>Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002, Indonesia<sup>3</sup>Centre for Animal Biotechnology, Melbourne University, Australia<sup>4</sup>Reprogen-Centre for Advanced Technologies in Animal Genetics and Reproduction, University of Sydney, Australia

(Diterima dewan redaksi 20 Oktober 2004)

### ABSTRACT

WIDJAJANTI, S., S.E. ESTUNINGSIH, SUBANDRIYO, D. PIEDRAFITA and H.W. RAADSMA. 2004. The effect of the liver fluke *Fasciola gigantica* infestation on the leucocyte eosinophil cell profile on sheep. *JITV* 9(3): 191-196.

Eosinophil is one of the major leucocyte cell in the blood which specifically reacted on parasite infection, thus it is important to determine its profile against the *F. gigantica* infection. The aims of this study is to determine the differences of the eosinophil count profiles on the different breed of sheep infected with *F. gigantica* and its relation with the resistance of sheep bred against parasitic disease. Four groups of sheep consist of Indonesian Thin Tail (ITT) sheep, Merino sheep, backcross sheep (10 families) and F2 sheep were infected with 300 metacercariae of *Fasciola gigantica*. The total sheep used in this trial is 621. Those sheep were observed for 12 weeks and the blood samples were collected every 2 weeks after infection. The results showed that total eosinophil counts in all infected sheep increased after two weeks post infection and ITT sheep showed the highest counts. On the other hand, the mean fluke counts on ITT sheep is the lowest compared with the other groups of sheep. Merino and F2 sheep had the highest mean fluke counts. Three families of backcross sheep had the mean flukes count similar to ITT sheep and the other 7 families were similar to the Merino sheep. In conclusion, the highest total eosinophil count at the early stage of infection on ITT sheep might be related with the genetic resistance, which was showed by the lowest flukes count, and the resistance was inherited to some of the backcross sheep, which had similar flukes count with ITT sheep.

**Key words:** *Fasciola gigantica*, eosinophil, sheep

### ABSTRAK

WIDJAJANTI, S., S.E. ESTUNINGSIH, SUBANDRIYO, D. PIEDRAFITA dan H.W. RAADSMA. 2004. Pengaruh infestasi cacing hati *Fasciola gigantica* terhadap gambaran darah sel leukosit eosinofil pada domba. *JITV* 9(3): 191-196.

Sel leukosit eosinofil merupakan sel yang dominan dalam darah yang akan bereaksi terhadap infeksi parasit, sehingga sangat penting untuk diketahui gambarannya akibat dari infeksi parasit cacing *Fasciola gigantica*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran sel leukosit eosinofil pada berbagai bangsa domba yang diinfeksi dengan *F. gigantica* dan kaitannya dengan resistensi hewan terhadap infeksi penyakit parasiter. Empat kelompok bangsa domba yang terdiri dari domba ekor tipis (ET), domba Merino, domba *backcross* (10 famili) dan domba F2 diinfeksi dengan 300 metaserkaria *Fasciola gigantica*. Total domba yang digunakan adalah sebanyak 621 ekor. Pengamatan dilakukan selama 12 minggu dan sampel darah diambil setiap 2 minggu sejak domba tersebut diinfeksi. Setelah 12 minggu seluruh domba dibunuh dan dikoleksi cacing *F. gigantica* dari hatinya. Hasilnya menunjukkan bahwa jumlah eosinofil total pada semua jenis domba mulai meningkat setelah 2 minggu pasca infeksi, namun jumlah eosinofil tertinggi ditunjukkan oleh domba ET. Sedangkan rata-rata jumlah cacing hati *F. gigantica* yang diperoleh dari hati domba ET adalah yang paling sedikit dibandingkan dengan kelompok domba lainnya. Domba Merino dan domba F2 memiliki rata-rata jumlah cacing yang terbanyak, sedangkan 3 famili domba *backcross* memiliki rata-rata jumlah cacing yang hampir sama dengan domba ET dan 7 famili lainnya mirip dengan domba Merino. Dari hasil tersebut diduga bahwa tingginya jumlah eosinofil total pada awal infeksi pada domba ET berkaitan erat dengan resistensi genetik yang ditunjukkan dengan rendahnya jumlah cacing hati *F. gigantica* yang diperoleh di dalam hatinya serta adanya sebagian domba *backcross* famili yang memiliki ketahanan yang menyerupai domba ET.

**Kata kunci:** *Fasciola gigantica*, eosinofil total, domba

### PENDAHULUAN

Eosinofil merupakan salah satu sel pertahanan tubuh yang dominan di dalam darah dan akan meningkat tajam jumlahnya bila terjadi infeksi penyakit parasiter,

terutama terhadap infeksi parasit cacing (TIZARD, 1995; OVINGTON dan BEHM, 1997; HILLYER, 1999). Bersama sel makrofag, secara *in vitro*, eosinofil terbukti mampu membunuh cacing *Fasciola gigantica* dengan cara fagositosis (ESTUNINGSIH *et al.*, 2002).

*Fasciola gigantica* merupakan satu-satunya cacing trematoda di Indonesia yang menyebabkan infeksi fasciolosis pada hewan ruminansia (EDNEY dan MUCHLIS, 1962). Prevalensi penyakit ini pada sapi di beberapa daerah di Indonesia, seperti di Jawa Barat dapat mencapai 90% (SUHARDONO, 1997) dan di Daerah Istimewa Yogyakarta kasus kejadiannya antara 40-90% (ESTUNINGSIH *et al.*, 2004), sedangkan prevalensi penyakit ini pada domba belum diketahui. Penyakit ini sangat merugikan karena dapat menyebabkan penurunan bobot hidup, penurunan produksi, pengafkiran organ tubuh terutama hati sehingga hati terbuang percuma, bahkan dapat menyebabkan kematian. Di Indonesia, secara ekonomi kerugiannya dapat mencapai Rp. 513,6 milyar/tahun (ANONYMOUS, 1990). Dari berbagai hewan ruminansia yang ada di Indonesia dilaporkan bahwa domba ekor tipis merupakan domba yang resisten terhadap infeksi fasciolosis dan daya resistensi tersebut dapat diturunkan secara genetik (WIEDOSARI dan COPEMAN, 1990; ROBERTS *et al.*, 1997a,c). Dari pengamatan pendahuluan yang dilakukan oleh WIDJAJANTI *et al.* (2002), telah diketahui bahwa jumlah eosinofil dalam darah tidak ada korelasi dengan jumlah cacing *F. gigantica*, sehingga jumlah eosinofil tersebut tidak dapat digunakan untuk memprediksi jumlah infestasi cacing *F. gigantica* di dalam hati hewan yang terinfeksi. Dalam penelitian ini akan diketahui gambaran sel leukosit eosinofil pada berbagai bangsa domba akibat infeksi *F. gigantica* dan kaitannya dengan resistensi hewan terhadap infeksi parasit.

## MATERI DAN METODE

### Hewan percobaan

Digunakan 4 bangsa domba yang terdiri dari domba ekor tipis (ET), domba Merino, 10 famili domba *backcross* (BC) dan domba F2. Domba BC merupakan domba hasil persilangan antara domba Merino dan domba F1 (hasil persilangan domba Merino dan domba ET), sedangkan domba F2 adalah hasil persilangan antara domba F1. Total domba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 621 ekor, terdiri dari 304 ekor domba betina dan 317 ekor domba jantan, adapun perincian jumlah dan jenis kelamin domba dapat dilihat pada Tabel 1. Seluruh domba tersebut merupakan hasil *breeding* di kandang percobaan Balitvet selama 3 tahun, pada tahun I dihasilkan 3 famili domba BC (1261, 1263, 1265), tahun II dihasilkan 4 famili domba BC (1258, 1262, 1267, 1273) dan tahun III dihasilkan 3 famili domba BC (1348, 1578, 1630). Berhubung kapasitas kandang percobaan di Cimanglid tidak mencukupi maka seluruh domba hasil *breeding* tersebut

dipindahkan ke kandang percobaan LIPI di Cibinong setelah lepas sapih. Pakan yang diberikan adalah rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) dan konsentrat khusus untuk domba. Setiap domba diinfeksi satu kali dengan 300 metaserkaria *F. gigantica* dan pada saat infeksi domba berumur 10-11 bulan dengan bobot hidup antara 15-20 kg. Pengamatan dilakukan selama 12 minggu dan sampel darah diambil setiap 2 minggu sekali setelah infeksi dengan menggunakan venoject 5 ml yang mengandung antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA).

**Tabel 1.** Bangsa, jumlah dan jenis kelamin domba yang diinfeksi dengan 300 metaserkaria *F. gigantica*

Bangsa domba	Betina	Jantan	Total
DET	17	18	35
Merino	14	12	26
F2	27	33	60
BC-1261	24	24	48
BC-1263	30	30	60
BC-1265	25	24	49
BC-1258	17	30	47
BC-1262	30	30	60
BC-1267	23	40	63
BC-1273	26	22	48
BC-1348	20	16	36
BC-1578	33	15	48
BC-1630	18	23	41
Total	304	317	621

DET = domba ekor tipis; F2 = domba hasil persilangan F1; BC = domba *backcross*, hasil persilangan antara domba F1 dan Merino

### Penghitungan jumlah eosinofil

Penghitungan jumlah eosinofil mengikuti metode yang digunakan DAWKINS *et al.* (1989), yaitu dengan rumus sebagai berikut:

$$\Sigma \text{ eosinofil} = \frac{\Sigma \text{ eosinofil terhitung} \times \text{pengenceran}}{\text{Volume} \times \text{jumlah kotak}} \times 10^3$$

Darah domba sebanyak 100  $\mu$ l dicampur dengan 900  $\mu$ l larutan Carpentiers, lalu diambil 10  $\mu$ l dari campuran larutan tersebut, kemudian dimasukkan ke dalam *Haemocytometer chamber*. Penghitungan eosinofil dilakukan pada 5 kotak dalam ruang *Haemocytometer chamber*, yaitu 4 kotak di bagian luar dan 1 kotak di tengah-tengah.

**Koleksi dan penghitungan cacing *F. gigantea***

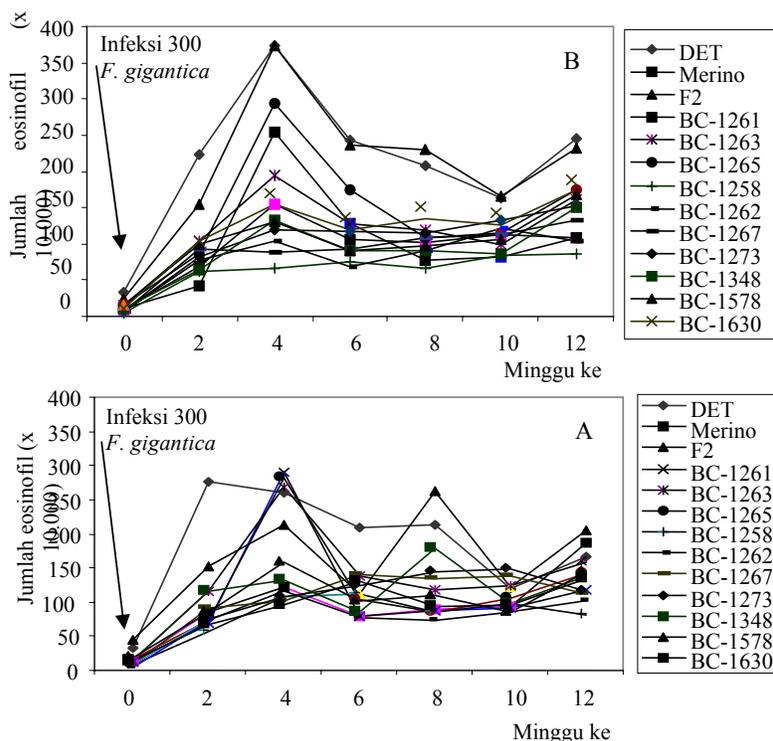
Seluruh domba dibunuh 12 minggu setelah domba diinfeksi dengan metaserkaria *F. gigantea*. Hatinya diambil kemudian dihancurkan dengan tangan lalu disaring dengan saringan yang diameter lubang saringannya 1 mm, untuk mendapatkan jaringan hati yang jemih. Sedikit demi sedikit hancuran jaringan hati diambil dan diletakkan di dalam baki berdasar hitam yang berisi air. Kemudian cacing *F. gigantea* yang ditemukan di antara hancuran jaringan hati tersebut dikoleksi dan disimpan di dalam kontainer plastik. Semua cacing yang diperoleh kemudian dihitung jumlahnya.

**Analisa statistik**

Data jumlah eosinofil yang diperoleh dari tiap bangsa domba dihitung nilai rataannya, kemudian dibuat grafik rataan jumlah eosinofil. Data jumlah cacing *F. gigantea* dari masing-masing bangsa domba dibuat grafik distribusinya. Selain itu dilakukan pula analisa regresi dan korelasi (STEEL dan TORRIE, 1981) antara jumlah eosinofil dan jumlah cacing *F. gigantea* pada setiap pengambilan sampel darah.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

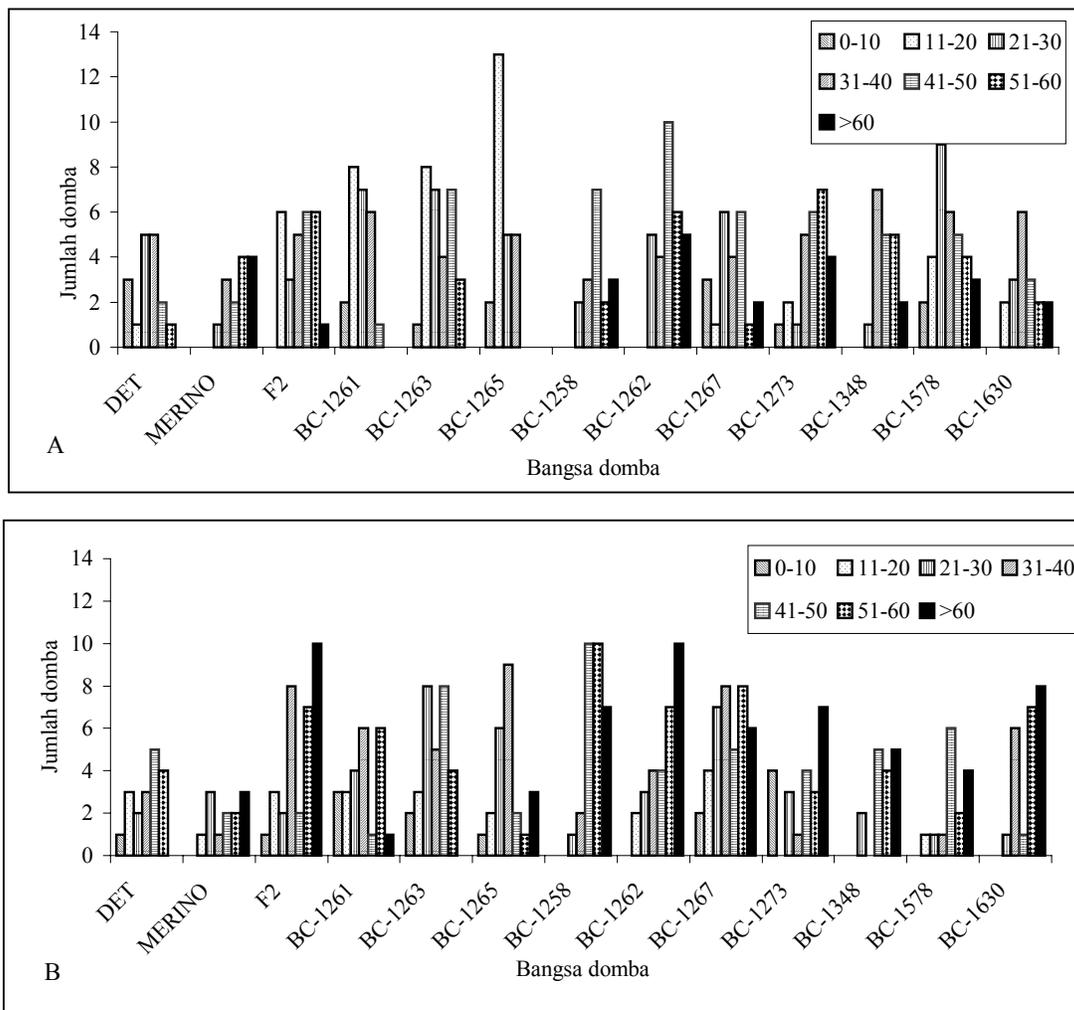
Gambaran perbedaan rataan jumlah eosinofil pada domba betina dan jantan yang diinfeksi dengan *F. gigantea* dapat dilihat pada Gambar 1. Dalam gambar tersebut terlihat perbedaan jumlah yang cukup jelas antara bangsa domba dan jenis kelamin domba. Pada domba betina, rataan jumlah eosinofil pada domba Merino, BC dan F2 mulai meningkat pada minggu ke-2 pasca infeksi dan puncak rataan jumlahnya terjadi pada minggu ke-4 pasca infeksi. Sedangkan pada domba ET betina peningkatan rataan jumlah eosinofil dan puncak jumlahnya terjadi pada saat yang bersamaan, yaitu pada minggu ke-2 pasca infeksi, dengan rataan jumlah yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan jenis domba lainnya (Gambar 1A). Adapun pada semua domba jantan, peningkatan dan puncak rataan jumlah eosinofilnya terjadi pada saat yang bersamaan, yaitu berturut-turut pada minggu ke-2 dan ke-4 pasca infeksi, dan rataan jumlah eosinofil terbanyak ditunjukkan oleh domba ET dan F2 (Gambar 1B). Puncak jumlah eosinofil domba ET jantan lebih lambat 2 minggu dibandingkan dengan domba ET betina. Kejadian ini diduga ada kaitannya dengan resistensi yang berhubungan dengan jenis kelamin hewan.



**Gambar 1.** Rataan jumlah eosinofil domba betina (A) dan domba jantan (B) yang diinfeksi dengan 300 metaserkaria cacing *F. gigantea*

Gambaran perbedaan frekuensi distribusi jumlah cacing *F. gigantica* pada masing-masing bangsa domba betina dan jantan dapat dilihat pada Gambar 2. Pada gambar tersebut terlihat dengan jelas bahwa domba ET memiliki jumlah cacing *F. gigantica* yang relatif lebih sedikit dibandingkan dengan jenis domba lainnya, yang ditunjukkan dengan adanya beberapa ekor domba ET yang hanya memiliki  $\leq 10$  ekor cacing *F. gigantica*. Sebaliknya, tidak ada satu pun domba Merino yang memiliki cacing  $\leq 10$  ekor, bahkan ada beberapa ekor domba Merino yang memiliki cacing  $>60$  ekor. Yang lebih menarik lagi, ada 3 famili domba BC yang frekuensi distribusi jumlah cacingnya menyerupai domba ET, yaitu domba *backcross* 1261, 1263 dan 1265, sedangkan frekuensi distribusi jumlah cacing 7 famili lainnya dan domba F2 menyerupai domba Merino (Gambar 2).

Bila dihitung rata-rata jumlah cacing *F. gigantica*, maka diperoleh bahwa domba ET betina memiliki rata-rata jumlah cacing yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan domba ET jantan dan bangsa domba lainnya (Tabel 2). Dari analisa regresi dan korelasi antara jumlah eosinofil pada minggu ke-2 pasca infeksi dan jumlah cacing *F. gigantica* pada domba ET betina, diperoleh korelasi positif dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,51 (Gambar 3); sedangkan pada domba ET jantan dan bangsa domba lainnya tidak diperoleh adanya korelasi diantara kedua parameter tersebut. Dari penelitian terdahulu yang dilakukan oleh ROBERTS *et al.* (1997a,b,c), diketahui bahwa cacing *F. gigantica* yang ditemukan di dalam hati berkisar antara 1-16% dari jumlah metaserkaria yang diinfeksi. Dalam penelitian ini, diperoleh jumlah cacing *F. gigantica* antara 7-18% dari 300 metaserkaria yang diinfeksi.

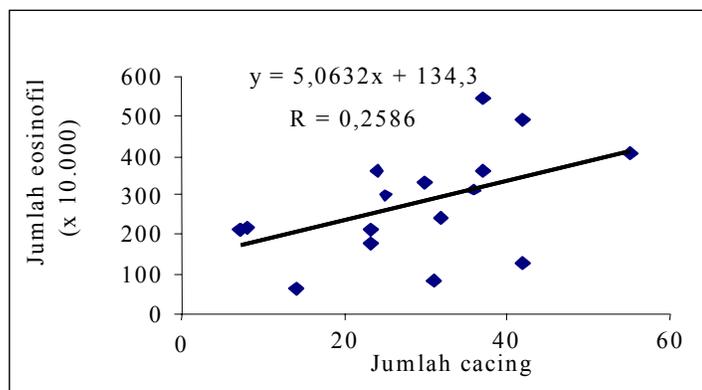


**Gambar 2.** Perbedaan frekuensi distribusi jumlah cacing *F. gigantica* pada domba betina (A) dan domba jantan (B) setelah 12 minggu diinfeksi dengan 300 metaserkaria cacing *F. gigantica*

**Tabel 2.** Rataan jumlah cacing *F. gigantica* dan rataannya jumlah eosinofil pada minggu ke-4 setelah domba diinfeksi dengan 300 metaserkaria cacing *F. gigantica*

Jenis domba	Betina		Jantan	
	Rataan jumlah cacing <i>F. gigantica</i>	Rataan jumlah eosinofil (x 10 <sup>4</sup> )	Rataan jumlah cacing <i>F. gigantica</i>	Rataan jumlah eosinofil (x 10 <sup>4</sup> )
DET	27,8 ± 13,5	275,2* ± 134,7	34,1 ± 16,4	373,7 ± 273,5
Merino	43,7 ± 17	121,1 ± 77,1	45,2 ± 19,5	155,2 ± 176,8
F2	39,3 ± 18,1	212,9 ± 312,5	48,7 ± 21,1	373,6 ± 543,2
BC-1261	23 ± 10,8	290,6 ± 211,9	34,7 ± 19,9	254,2 ± 190,3
BC-1263	31,9 ± 12,6	267,4 ± 207,6	37,8 ± 14,9	194,9 ± 124,4
BC-1265	21,4 ± 8,4	282,6 ± 276,5	36,2 ± 17,3	295 ± 160,9
BC-1258	45,6 ± 13,6	106,9 ± 56,3	56 ± 16,3	65,7 ± 47
BC-1262	45,7 ± 15,6	115,1 ± 70,5	54,2 ± 22	103,9 ± 72,2
BC-1267	35,3 ± 19,7	101,7 ± 55,6	40,6 ± 20,5	88,1 ± 59,5
BC-1273	45,3 ± 21,6	107,9 ± 60,5	44,7 ± 24	118,6 ± 62,9
BC-1348	44,5 ± 11	131 ± 103,6	55,8 ± 22,2	133,6 ± 88,8
BC-1578	36,7 ± 20	159,1 ± 73,8	49,4 ± 16,1	130,1 ± 42,2
BC-1630	39,6 ± 14,3	95,6 ± 49,6	55,5 ± 18,1	155,4 ± 54,4

\*Rataan jumlah eosinofil pada minggu ke-2 pasca infeksi; DET = domba ekor tipis; F2 = domba hasil persilangan F1; BC = domba *backcross* hasil persilangan antara domba F1 dan Merino



**Gambar 3.** Hubungan antara jumlah eosinofil dan jumlah cacing *F. gigantica* pada domba ET betina 2 minggu pasca infeksi, dengan koefisien korelasi (r) = 0,51

Menurut BUTTERWORTH (1984) dan ROTHWELL *et al.* (1993), jumlah eosinofil yang dihasilkan oleh tubuh hewan dapat digunakan untuk menentukan tingkat resistensi hewan tersebut terhadap infeksi parasit cacing. Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana domba ET betina bereaksi paling awal setelah diinfeksi dan memiliki jumlah eosinofil terbanyak pada minggu ke-2 pasca infeksi, serta memiliki jumlah cacing *F. gigantica* relatif paling sedikit di dalam hatinya dibandingkan dengan domba

ET jantan dan bangsa domba lainnya. Dengan adanya beberapa famili domba BC yang memiliki jumlah cacing *F. gigantica* menyerupai domba ET betina, maka memperkuat dugaan bahwa resistensi pada domba ET berkaitan erat dengan jenis kelamin dan bangsa domba, serta resistensi tersebut dapat diturunkan pada generasi berikutnya yang kemungkinan diatur oleh suatu gen tertentu. Namun untuk menentukan gen mana yang berperan dalam kejadian resistensi, masih diperlukan analisa *genotyping* pada semua jenis domba tersebut.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jumlah eosinofil di dalam tubuh hewan dapat digunakan sebagai indikator resistensi hewan terhadap infeksi cacing hati *F. gigantica*. Diduga resistensi tersebut berkaitan erat dengan jenis kelamin betina dan bangsa domba, yaitu domba ET. Namun untuk membuktikannya masih perlu dilakukan analisa *genotyping* pada semua jenis domba yang digunakan dalam penelitian ini.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada ACIAR PROJECT AS1/9727 yang telah mendanai penelitian ini. Selain itu terima kasih juga disampaikan kepada teknisi di bagian Parasitologi, Balitvet, terutama Sudrajat, Suharyanta dan Yayan Daryani, serta teknisi dari Bioteknologi LIPI, yaitu Handri dan Agus yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- ANONYMOUS. 1990. Data ekonomi akibat penyakit. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta.
- BUTTERWORTH, A.E. 1984. Cell-mediated damage to helminths. *Adv. Parasitol.* 23: 143-235.
- DAWKINS, H.J.S., R.G. WINDON and G.K. ENGLESON. 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 19: 199-205.
- EDNEY, J.M. and A. MUCHLIS. 1962. Fascioliasis in Indonesian livestock. *Comm. Vet.* 2: 49-62.
- ESTUNINGSIH, S.E., S. WIDJAJANTI, S. PARTOUTOMO, T.W. SPITHILL, H. RAADSMA dan D. PIEDRAFITA. 2002. Peran sel imunologi domba ekor tipis dalam membunuh cacing hati *Fasciola gigantica* secara in vitro. *JITV* 7: 124-129.
- ESTUNINGSIH, S.E., G. ADIWINATA, S. WIDJAJANTI dan D. PIEDRAFITA. 2004. Pengembangan teknik diagnosa Fasciolosis pada sapi dengan antibodi monoklonal dalam capture ELISA untuk deteksi antigen. Pros. Seminar Nasional Parasitologi dan Toksikologi Veteriner. 20-21 April, Bogor. hlm. 27-43.
- HILLYER, G.V. 1999. Immunodiagnosis of human and animal fasciolosis. *In: Fasciolosis*. DALTON, J.P. (Ed.). CAB International. pp. 4435-4447.
- OVINGTON, K.S. and C.A. BEHM. 1997. The enigmatic eosinophil: Investigation of the biological role eosinophils in parasitic helminth infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 92(2): 93-104.
- ROBERTS, J.A., S.E. ESTUNINGSIH, S. WIDJAJANTI, E. WIEDOSARI, S. PARTOUTOMO and T.W. SPITHILL. 1997a. Resistance of Indonesian Thin Tail sheep against *Fasciola gigantica* and *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.* 68: 69-78.
- ROBERTS, J.A., S.E. ESTUNINGSIH, E. WIEDOSARI and T.W. SPITHILL. 1997b. Acquisition of resistance against *Fasciola gigantica* by Indonesian thin tail sheep. *Vet. Parasitol.* 73: 215-224.
- ROBERTS, J.A., S. WIDJAJANTI, S.E. ESTUNINGSIH and D.J. HETZEL. 1997c. Evidence for a major gene determining resistance of Indonesian thin tail sheep against *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.* 68: 309-314.
- ROTHWELL, T.L.W., R.G. WINDON, B.A. HORSBURGH and B.H. ANDERSON. 1993. Relationship between eosinophilia and responsiveness to infection with *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Int. J. Parasitol.* 23: 203-211.
- STEEL, R.G.D and J.H. TORRIE. 1981. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. 2nd ed. McGraw-Hill International Book Company. Auckland, Hamburg, London, Singapore, Sydney, Tokyo.
- SUHARDONO. 1997. Epidemiology and control of fasciolosis by *Fasciola gigantica* in ongole cattle in West Java. Ph.D. thesis. James Cook University of North Queensland, Australia.
- TIZARD, I.R. 1995. Immunology: An Introduction. 5th ed. Saunders College Publishing. Philadelphia, New York, Orlando.
- WIEDOSARI, E. and D.B. COPEMAN. 1990. High resistance to experimental infection with *Fasciola gigantica* in Javanese thin-tailed sheep. *Vet. Parasitol.* 37: 101-111.
- WIDJAJANTI, S., S.E. ESTUNINGSIH, S. PARTOUTOMO, H.W. RAADSMA, T.W. SPITHILL dan D. PIEDRAFITA. 2002. Respon eosinofil dan packed cell volume (PCV) pada domba yang diinfeksi *Fasciola gigantica*. *JITV* 7: 200-206.