

RESPON KEKEBALAN DOMBA TERHADAP ANTIGEN EKSTRAK CACING HATI *FASCIOLA GIGANTICA* DEWASA

S. WIDJAJANTI

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, P.O. Box 151, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 11 Januari 1999)

ABSTRACT

WIDJAJANTI, S. 1999. Immunological responses of sheep against adult worm extract antigen of *Fasciola gigantica*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(2): 136-142.

Immunological responses of sheep against adult worm extract antigen of *Fasciola gigantica* were evaluated in an effort to identify the protein antigen for the candidate of vaccine. In this study the protein antigen from adult worms was extracted, and the extract antigen was then intramuscularly injected into 4 groups of 5 sheep. Two groups received one injection, these included one group injected only with extract antigen and the other group injected with extract antigen emulsified in Quil A adjuvant. The other two groups received two injections with a two week interval, these included one group injected only with extract antigen and the other group injected with extract antigen emulsified in Quil A adjuvant. Three weeks later all of the sheep were challenged with 300 metacercariae of *F. gigantica*. The antibody titer was monitored every two weeks by using ELISA and the protein profile from each group was compared by using western blotting. Fifteen weeks after challenged all of the sheep were killed and the liver flukes were collected from the liver and counted. The results showed that the antibody titer was higher in the group which received two injections, and the additional of Quil A adjuvant gave much better protection from the infection of *F. gigantica* (57%) and could avoid the death of the sheep than twice injection of antigen without Quil A adjuvant (37%).

Key words : Fasciolosis, *Fasciola gigantica*, protein antigen, antibody responses, vaccine

ABSTRAK

WIDJAJANTI, S. 1999. Respon kekebalan domba terhadap antigen ekstrak cacing hati *Fasciola gigantica* dewasa. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(2): 136-142.

Respon kekebalan domba terhadap antigen ekstrak cacing hati *Fasciola gigantica* perlu dievaluasi dalam upaya identifikasi antigen protein sebagai kandidat vaksin. Dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi protein cacing hati *F. gigantica* dewasa, kemudian ekstrak tersebut disuntikkan secara intramuskular pada 4 kelompok domba yang masing-masing terdiri atas 5 ekor domba. Dua kelompok mendapat satu kali suntikan, di mana satu kelompok hanya mendapat suntikan antigen dan kelompok lainnya mendapat suntikan antigen yang diemulsikan dalam ajuvan Quil A. Dua kelompok lainnya mendapat dua kali suntikan dengan interval waktu pemberian dua minggu, satu kelompok hanya mendapat suntikan antigen saja dan satu kelompok lainnya mendapat suntikan antigen yang diemulsikan dalam ajuvan Quil A. Tiga minggu kemudian semua domba tersebut diuji tantangan dengan menginfeksi 300 metacercaria *F. gigantica*. Titer antibodi dipantau setiap dua minggu dengan teknik ELISA dan perbedaan segmen protein pada setiap kelompok domba dibandingkan dengan teknik *western blotting*. Lima belas minggu setelah uji tantangan, semua domba dibunuh dan dikoleksi cacing hatinya lalu dihitung jumlahnya. Hasilnya menunjukkan bahwa titer antibodi lebih tinggi pada kelompok domba yang menerima dua kali suntikan, dan dengan penambahan ajuvan Quil A perlindungan terhadap infeksi *F. gigantica* akan lebih baik (57%) dan mampu mencegah kematian domba dibandingkan dengan dua kali suntikan antigen tanpa ajuvan Quil A (37%).

Kata kunci : Fasciolosis, *Fasciola gigantica*, antigen protein, antibodi, vaksin

PENDAHULUAN

Penanggulangan penyakit parasiter pada ruminansia yang disebabkan oleh cacing hati *Fasciola gigantica* di Indonesia umumnya hanya menggunakan obat paten, walaupun obat tersebut mampu membunuh baik cacing dewasa maupun muda (ESTUNINGSIH *et al.*,

1990; SUHARDONO *et al.*, 1991), tetapi harganya terlalu mahal dan tidak terjangkau oleh daya beli petani ternak. Selain itu penggunaan anthelmintik yang berulang-ulang dapat menimbulkan resistensi cacing terhadap obat. Oleh karena itu perlu dicari cara lain untuk penanggulangan dan pengendalian penyakit fasciolosis, antara lain dengan upaya ke arah pembuatan vaksin.

Bahan baku vaksin yang pernah dicoba ada bermacam-macam, antara lain dengan menggunakan metaserkaria *F. hepatica* yang diradiasi (HAROUN dan HILLYER, 1986), di mana metaserkaria *F. gigantica* yang diradiasi dengan 55Gy mampu menurunkan infeksi cacing sampai 80% (WIEDOSARI *et al.*, 1995). Ada pula yang menggunakan bahan vaksin protein kompleks semi-murni berasal dari ekskretori/sekretori cacing dengan berat molekul 12 kDa, protein tersebut diberi nama FhSmIII yang mampu menurunkan infeksi cacing *F. hepatica* sampai 55% (HILLYER *et al.*, 1987). Selain itu ada pula protein lain yang disebut GST (Gluthatione S-transferase) yang berasal dari cacing *F. hepatica* (SEXTON *et al.*, 1990), namun ketika protein ini yang berasal dari *F. gigantica* diuji di Indonesia, ternyata hanya mampu menurunkan infeksi antara 16-18% saja (ESTUNINGSIH *et al.*, 1997). Hal ini kemungkinan terjadi karena ada perbedaan epitope kekebalan antara *F. hepatica* dan *F. gigantica*. Di dalam penelitian ini diupayakan kembali untuk mencari bahan baku vaksin, yaitu dengan menggunakan ekstrak cacing hati *F. gigantica* dewasa. Ekstrak cacing dewasa tersebut dipakai sebagai bahan antigen dengan tujuan untuk dilihat kemampuannya dalam merangsang kekebalan serta melindungi hewan dari infeksi *F. gigantica*.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan

Di dalam penelitian ini digunakan 25 ekor domba ekor gemuk yang berumur antara 7-9 bulan. Domba tersebut berasal dari Jember, Jawa Timur. Selama percobaan domba tersebut dipelihara di kandang di Balitvet, Bogor dan diberi konsentrat dan rumput *Pennisetum purpureum* yang dipotong-potong serta diberi minum secukupnya.

Antigen

Ekstrak protein antigen yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari cacing hati *F. gigantica* dewasa yang diperoleh dari hati sapi yang dipotong di RPH Bogor. Cara pembuatan ekstrak protein antigen merupakan modifikasi dari metode yang digunakan oleh OLDHAM (1983). Cacing hati *F. gigantica* dewasa yang terkumpul dari RPH kemudian dibawa ke laboratorium di Balitvet, lalu dicuci dengan larutan PBS. Setelah itu cacing tersebut digerus/dihancurkan dengan menggunakan sonikator, kemudian disentrifus dengan kecepatan 13.000 RPM selama 5 menit, sehingga diperoleh supernatannya yang mengandung ekstrak protein antigen cacing *F. gigantica*. Sebagian

dari ekstrak tersebut diemulsikan dalam ajuvan Quil A dengan perbandingan 1:1 (ESTUNINGSIH *et al.*, 1997).

Rancangan percobaan

Dari 25 ekor domba ekor gemuk yang digunakan dalam penelitian ini, dibagi menjadi 5 kelompok dan diberi perlakuan seperti yang terdapat pada Tabel 1. Adapun konsentrasi ekstrak protein antigen yang disuntikkan adalah 100 µl/domba. Pada kelompok yang mendapat suntikan dua kali, interval pemberiannya adalah dua minggu dan ujiantang dengan menginfeksi metaserkaria *F. gigantica* dilakukan tiga minggu setelah suntikan ekstrak protein antigen yang terakhir.

Tabel 1. Perlakuan yang diberikan kepada setiap kelompok domba

Kelompok	Jumlah hewan	Jenis antigen	Jumlah suntikan	Jumlah metaserkaria/domba
I A	5	Hanya ekstrak	1	300
I B	5	Ekstrak + Quil A	1	300
II A	5	Hanya ekstrak	2	300
II B	5	Ekstrak + Quil A	2	300
Kontrol +	4	-	-	300
Kontrol -	1	-	-	-

Sampel darah diambil setiap dua minggu sejak domba tersebut diberi antigen untuk pertama kalinya sampai dengan 15 minggu setelah ujiantang. Dari sampel darah tersebut kemudian diambil serumnya lalu diperiksa titer antibodinya dengan menggunakan teknik ELISA (WIJFFELS *et al.*, 1994) dan dilihat perbedaan segmen proteinnya dengan menggunakan teknik *Western blotting* (LAEMMLI, 1970; THOWBIN *et al.*, 1976).

Lima belas minggu setelah ujiantang, domba dipotong dan diambil hatinya. Hati tersebut dihancurkan dengan tangan kemudian dicuci dan cacing *F. gigantica* yang ditemukan kemudian dikumpulkan dan dihitung jumlahnya.

Teknik ELISA

Titer antibodi di dalam serum domba diperiksa dengan teknik ELISA yang dimodifikasi, sesuai dengan teknik yang digunakan WIJFFELS *et al.* (1994). Antigen *F. gigantica* dengan konsentrasi protein 10µl/ml dilapiskan pada setiap lubang di *ELISA-plate* (96

lubang dengan dasar datar), lalu diinkubasi selama satu malam pada suhu 4°C. Kemudian dicuci 3 kali dengan PBS-tween 0,1% dan diblok dengan 5% Blotto, lalu diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C. Setelah dicuci, sampel serum dari setiap domba dimasukkan pada *ELISA-plate* tersebut (satu sampel dua lubang = duplikasi), pengenceran serumnya adalah 1/100, lalu sampel tersebut diencerkan ke bawah (*serial dilution, double fold*), sebagai larutan pengencer digunakan 1% Blotto dalam PBS-tween 0,05%. *ELISA-plate* tersebut lalu diinkubasi satu jam pada suhu 37°C. Setelah dicuci, dimasukkan *anti-sheep conjugate* dengan pengenceran 1/1.000 dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C. Kemudian dicuci, lalu dimasukkan substrat ABTS, dan ditunggu ±15 menit sampai timbul warna kehijauan, kemudian dibaca pada *ELISA-reader* dengan panjang gelombang 405 nm dan dihitung titer antibodinya.

Teknik *western blotting*

Segmen protein serum pada setiap kelompok domba dibedakan dengan menggunakan teknik *Western blotting*, sesuai dengan cara yang dipakai THOWBIN *et al.* (1976) dan LAEMMLI (1970). Antigen *F. gigantica* dialirkan secara elektroforesis pada 15% gel akrilamid selama ± satu jam pada tegangan 195 volt, kemudian gel tersebut dipindahkan pada kertas nitroselulosa (NC) secara elektroforesis selama ± satu jam pada tegangan 100 volt dengan suhu 4°C. Setelah itu kertas NC tersebut diblok dalam 10% Blotto selama satu malam pada suhu 4°C. Setelah kertas NC dicuci 3 kali dengan PBS-tween 0,1%, kertas tersebut dijepit pada alat *Mini-protean II multiscreen*, kemudian sampel serum (pengenceran 1/50 dalam 5% Blotto) dari setiap kelompok domba dimasukkan ke dalam setiap lubang yang ada pada alat tersebut, lalu diinkubasikan selama satu jam pada suhu kamar (25°C). Setelah dicuci, kertas NC dikeluarkan dari alat tersebut, lalu direndam di dalam larutan *anti-sheep conjugate* (pengenceran 1/1.000 dalam 5% Blotto) selama satu jam pada suhu kamar. Kemudian kertas NC tersebut dicuci lalu diwarnai dengan substrat DAB (Diamino Benzidine) sampai segmen proteinnya muncul dan berwarna keunguan, lalu reaksinya dihentikan dengan menggunakan larutan PBS-tween 0,1%. Kertas NC yang mengandung segmen protein tersebut kemudian direkam dengan *scanner* komputer dan disimpan di dalam disket untuk keperluan lebih lanjut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Ada beberapa ekor domba pada kelompok IA, IB, IIA dan kontrol positif yang mengalami kematian

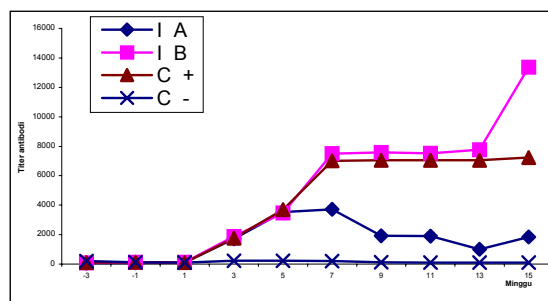
sebelum percobaan berakhir (antara 9-14 minggu setelah ujiantang). Setelah dinekropsi, domba-domba yang mati tersebut mengalami perdarahan di daerah peritoneum. Perdarahan ini terjadi karena pada umumnya 12 minggu setelah domba terinfeksi metaserkaria, cacing *F. gigantica* mulai bermigrasi di dalam parenkhim hati, dan infestasi cacing yang cukup tinggi (>70 ekor cacing/domba) dapat menyebabkan penyumbatan pada vena porta hati. Mortalitas tertinggi (80%) terjadi pada kelompok IA yaitu domba yang hanya diberi satu kali suntikan ekstrak antigen tanpa ajuvan Quil A. Jumlah cacing *F. gigantica* yang ditemukan pada domba kelompok ini pun tertinggi (132 ekor cacing/domba), lebih tinggi sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif; selain itu kerusakan hati yang terjadi pada kelompok IA termasuk sangat parah, sama seperti kerusakan hati pada kelompok kontrol positif. Sementara itu domba pada kelompok IIB tidak ada satu pun yang mengalami kematian sebelum pengamatan berakhir dan pada saat nekropsi (15 minggu setelah ujiantang) cacing yang ditemukan hanya berjumlah 56 ekor/domba sehingga bila dibandingkan dengan domba pada kelompok kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak antigen yang diemulsikan dalam ajuvan Quil A sebanyak dua kali mampu melindungi domba terhadap infeksi fasciolosis sampai 57% (Tabel 2).

Dari pemeriksaan ELISA diperoleh hasil bahwa 3 minggu setelah ujiantang ada peningkatan titer antibodi yang cukup tajam terutama pada domba kelompok IIA dan IIB, kemudian titer antibodi tersebut relatif stabil setelah 5 minggu ujiantang sampai pada akhir pengamatan. Bila dilihat dari nilai titer antibodi maka pada kelompok IIA titernya lebih tinggi daripada kelompok IIB (Gambar 1), namun pada kelompok IIA terjadi kematian domba sebanyak 60% pada minggu ke-10 setelah ujiantang (Tabel 2), sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak antigen tanpa ajuvan Quil A sebanyak dua kali, tidak mampu mencegah kematian domba dari infeksi fasciolosis walaupun titer antibodinya cukup tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan SPITHILL *et al.* (1997) yang mengatakan bahwa perlindungan hewan, terutama pada sapi, terhadap infeksi suatu penyakit lebih banyak ditentukan oleh ajuvan yang dipakai dan tidak ada hubungannya dengan total nilai titer antibodi. Pada kelompok kontrol positif, peningkatan titer antibodi juga terjadi pada minggu ketiga setelah ujiantang namun kenaikannya tidak setinggi kelompok IIA dan IIB, selain itu titer antibodi ini baru stabil setelah 7 minggu diujiantang. Pola peningkatan titer antibodi pada kelompok kontrol positif cenderung sama dengan pola pada kelompok IB. Sementara itu respon kekebalan pada kelompok IA merupakan yang terburuk walaupun ada peningkatan titer antibodi pada minggu

ketiga dan kelima setelah ujiantang (Gambar 1). Kejadian tersebut di atas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak antigen sebanyak dua kali akan merangsang pembentukan antibodi yang lebih baik daripada ekstrak antigen hanya diberikan satu kali saja. Menurut HARLOW dan LANE (1988) fenomena imunologi ini merupakan hal yang umum terjadi, biasanya bila seekor hewan terpapar antigen hanya satu kali maka respon kekebalannya sangat lambat namun pada saat paparan kedua diberikan maka responnya menjadi sangat cepat dan sangat kuat. Demikian pula yang terjadi pada domba Ekor Tipis dan Merino yang diinfeksi dengan *F. gigantica* (ROBERTS *et al.*, 1996; ROBERTS *et al.*, 1997).

Gambaran segmen protein serum domba yang diberi ekstrak antigen cacing dewasa *F. gigantica* serta domba kontrol positif dan negatif dapat dilihat pada Gambar 2 dan tafsirannya pada Tabel 3. Secara umum tidak terlihat adanya perbedaan respon kekebalan pada kelompok IA, IB, IIA, IIB dan kontrol positif, namun bila dilihat ketebalan dan diukur segmen proteinnya pada kertas grafik logaritma maka ditemukan ada beberapa segmen protein yang cukup tebal pada kelompok IIA dan IIB yang tidak ditemukan pada kelompok domba lainnya, yaitu segmen protein dengan bobot molekul 28, 47, 62, 70 dan 114 kDa.

Gambar 1. Titer antibodi domba yang diberi ekstrak antigen cacing *Fasciola gigantica* dewasa dengan teknik ELISA



Keterangan :

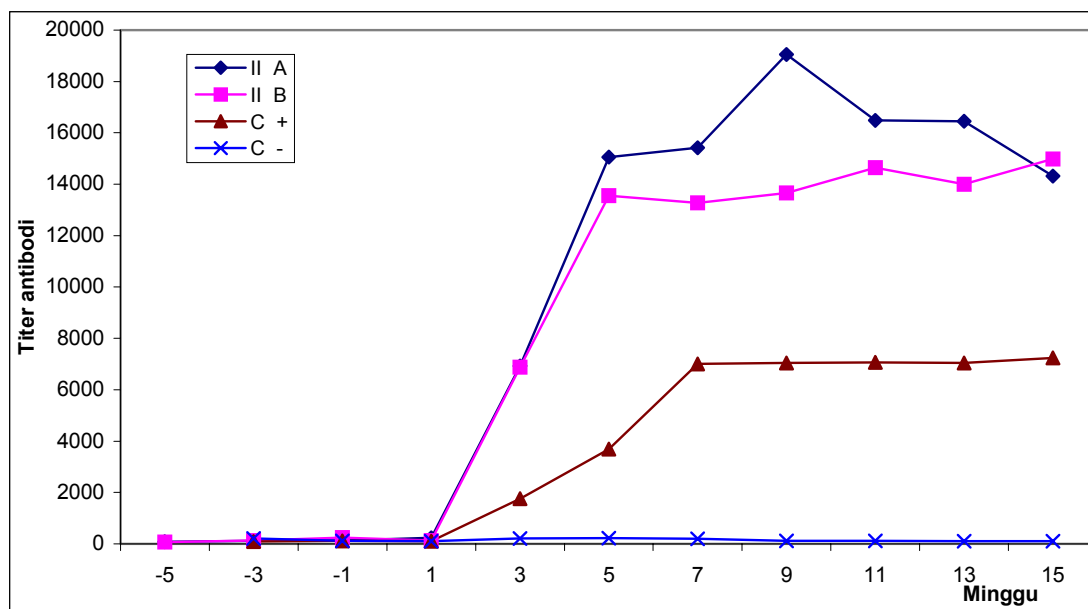
- IA : diberi antigen satu kali tanpa Quil A (pada minggu -3)
- IB : diberi antigen satu kali dengan Quil A (pada minggu -3)
- IIA : diberi antigen dua kali tanpa Quil A (pada minggu -5 dan -3)
- IIB : diberi antigen dua kali dengan Quil A (pada minggu -5 dan -3)
- C+ : kontrol positif (hanya diinfeksi dengan 300 metaserkaria *F. gigantica* dan tidak diberi ekstrak antigen)
- C- : kontrol negatif (tidak diinfeksi dan tidak diberi ekstrak antigen)

Tabel 2. Ringkasan data tentang jumlah cacing *Fasciola gigantica*, kematian domba serta kemampuan ekstrak antigen cacing hati *F. gigantica* dewasa untuk melindungi domba dari infeksi fasciolosis

	Kelompok					
	IA	IB	II A	II B	C +	C -
Jumlah rata-rata cacing <i>F. gigantica</i> (ekor)	132 ± 18	72 ± 35	82 ± 22	56 ± 14	130 ± 32	0
Kematian domba (%)	80	20	60	0	50	0
Kematian mulai terjadi (minggu setelah ujiantang)	14	9	10	-	14	-
Kemampuan melindungi domba dari infeksi 300 metaserkaria <i>F. gigantica</i> (%)	0	45	37	57	-	-
Kerusakan hati	++++	++	++	+	++++	-

Keterangan :

- IA : diberi antigen satu kali tanpa Quil A (pada minggu -3)
- IB : diberi antigen satu kali dengan Quil A (pada minggu -3)
- IIA : diberi antigen dua kali tanpa Quil A (pada minggu -5 dan -3)
- IIB : diberi antigen dua kali dengan Quil A (pada minggu -5 dan -3)
- C+ : kontrol positif (hanya diinfeksi dengan 300 metaserkaria *F. gigantica* dan tidak diberi ekstrak antigen)
- C- : kontrol negatif (tidak diinfeksi dan tidak diberi antigen)
- : tidak ada kerusakan hati
- +
- ++ : sebagian permukaan hati berbintik putih (sebesar kepala jarum pentul)
- +++ : hampir seluruh permukaan hati berbintik putih
- ++++ : hati berbungkul dan keras



Gambar 2. Gambaran segmen protein respon kekebalan domba yang diberi ekstrak antigen cacing *Fasciola gigantica* dewasa dengan teknik *Western blotting*

Keterangan :

IA : diberi antigen satu kali tanpa Quil A
 IB : diberi antigen satu kali dengan Quil A
 IIA : diberi antigen dua kali tanpa Quil A
 IIB : diberi antigen dua kali dengan Quil A

C+ : kontrol positif
 C- : kontrol negatif
 BM : berat molekul dalam kDa

Dari kelompok IIA dan IIB ini pun masih terdapat perbedaan respon kekebalan yang cukup jelas, yaitu responnya lebih cepat terjadi pada kelompok IIB dibandingkan dengan kelompok IIA. Bila pada kelompok IIA respon awalnya terjadi pada minggu kelima setelah uji tantang, maka pada kelompok IIB respon awalnya pada minggu ketiga setelah uji tantang (pada segmen protein dengan bobot molekul 28 kDa). Demikian pula bila pada kelompok IIA respon awalnya terjadi pada minggu ketiga setelah uji tantang, maka pada kelompok IIB respon awalnya sudah terlihat pada minggu pertama setelah uji tantang (pada segmen protein dengan bobot molekul 62, 70 dan 114 kDa). Maka semakin jelas bahwa penambahan ajuvan Quil A sangat penting artinya untuk mempercepat respon kekebalan dalam pembentukan antibodi.

Segmen protein dengan bobot molekul 28 kDa merupakan protein GST asal *F. gigantica* yang pernah digunakan sebagai bahan vaksin fasciolosis pada sapi Brahman cross, namun hanya memberikan perlindungan antara 16-18% saja (ESTUNINGSIH *et al.*, 1997), sedangkan protein GST asal *F. hepatica* yang diemulsikan dalam ajuvan Quil A dapat memberikan perlindungan yang lebih baik, yaitu antara 41-69% pada

sapi Hereford dan sapi Holstein x Simmental (MORRISON *et al.*, 1996).

Segmen protein dengan bobot molekul 47 kDa pada kelompok IIB, responnya mulai terlihat pada minggu ketiga setelah uji tantang, sedangkan pada kelompok IIA responnya hanya terlihat pada minggu pertama dan ketiga setelah uji tantang, kemudian tidak dapat terdeteksi lagi. Tidak diketahui mengapa hal ini dapat terjadi, demikian pula halnya dengan segmen protein dengan bobot molekul 114 kDa, yang tidak terdeteksi pada minggu ketujuh setelah uji tantang pada kelompok IIA, namun muncul kembali pada minggu kesembilan setelah uji tantang (Tabel 3). Kedua segmen protein ini juga ditemukan pada percobaan lainnya yang dilakukan oleh ESTUNINGSIH dan WIDJAJANTI (1999).

Tabel 3. Tafsiran dari gambaran segmen protein respon kekebalan domba yang diberi ekstrak antigen cacing *Fasciola gigantica* dewasa dengan teknik *Western blotting*

BM kDa	Kontrol positif					I A					I B					II A					II B				
	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9
<7	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
21,5	-	-	-	+	++	-	-	+	+	+	-	-	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	+	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	-	-	++	++	++	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
27	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	-	+	++	++	++	++
30	+	+	+	++	++	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	++
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	
40	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	++	+	+
49	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	++	++	++
58	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
60	-	+	+	+	+	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
65	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++
88	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
105	-	-	-	-	-	-	++	++	+	+	-	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	++	++	++	++	
162	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

- IA : diberi antigen satu kali tanpa Quil A
- IB : diberi antigen satu kali dengan Quil A
- IIA : diberi antigen dua kali tanpa Quil A
- IIB : diberi antigen dua kali dengan Quil A
- BM : berat molekul dalam kDa (kilo Dalton)
- : tidak ada protein antigenik
- +
- ++
- +++

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak protein antigen cacing dewasa *F. gigantica* yang diemulsikan dalam ajuvan Quil A dan diberikan dua kali dengan interval pemberian dua minggu mampu mempercepat pembentukan antibodi terhadap infeksi fasciolosis dan mampu melindungi hingga 57% serta mampu mencegah kematian ternak ruminansia terutama domba.

Sebagai langkah selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjutan yang mengkaji tentang protein yang

mana dan pada dosis optimum berapa yang paling baik dan mampu memberikan perlindungan optimal pada ternak ruminansia tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Drh. Adin Priadi, Sudrajat dan Suharyanta atas segala bantuannya selama penelitian ini berlangsung, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik dan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- ESTUNINGSIH, S.E., P. STEVENSON, BERIAJAYA, and M.R. KNOX. 1990. Triclabendazole in the treatment of *Fasciola gigantica* infection in swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Aust. Vet. J.* 67 (6) : 234-235.
- ESTUNINGSIH, S.E., P.M. SMOOKER, J.A. ROBERTS, E. WIEDOSARI, S. WIDJAJANTI, S. VAIANO, S. PARTOUTOMO, and T.W. SPITHILL. 1997. Evaluation of antigens *Fasciola gigantica* as vaccines against tropical fasciolosis in cattle. *Int. J. Parasitol.* 27 (11) : 1419-1428.
- ESTUNINGSIH, S.E. dan S. WIDJAJANTI. 1999. Karakterisasi protein antigen dari *Fasciola gigantica* pada berbagai umur. *J. Ilmu Ternak Vet.* 4 (1) : 60-64.
- HARLOW, E. and D. LANE. 1988. *Antibodies – A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, USA.
- HAROUN, E.T. and G.V. HILLYER. 1986. Resistance to fasciolosis – A Review. *Vet. Parasitol.* 20 : 63-93.
- HILLYER G.V., E.T. HAROUN, A. HERNANDEZ, and SOLER DE GALAMES. 1987. Acquired resistance to *Fasciola hepatica* in cattle using a purified adult worm antigen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37 : 363-369.
- LAEMMLI, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685.
- MORRISON, C.A., T. COLIN, J.L. SEXTON, F. BOWEN, J. WICKER, T. FRIEDEL, and T.W. SPITHILL. 1996. Protection of cattle against *Fasciola hepatica* infection by vaccination with glutathione S-transferase. *Vaccine* 14 : 1603-1612.
- OLDHAM, G. 1983. Protection against *Fasciola hepatica* in rats with adult fluke antigen in Freund's adjuvant : influence of antigen batch, antigen dose and number of sensitising injections. *Res. Vet. Sci.* 34 : 240-244.
- SEXTON, J.L., A.R. MILNER, M. PANACCIO, J. WADDINGTON, G. WIJFFELS, D. CHANDLER, C. THOMPSON, L. WILSON, T.W. SPITHILL, G.F. MITCHELL, and N.J. CAMPBELL. 1990. Glutathione S-transferase. Novel vaccine against *Fasciola hepatica* infection in sheep. *J. Immunol.* 145 (11) : 3905-3910.
- SPITHILL, T.W., D. PIEDRAFITA, and P.M. SMOOKER. 1997. Immunological approaches for the control of fasciolosis. *Int. J. Parasitol.* 27 (10) : 1221-1235.
- SUHARDONO, S. WIDJAJANTI, P. STEVENSON, and I.H. CARMICHAEL. 1991. Control of *Fasciola gigantica* with triclabendazole in Indonesian cattle. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 23 : 217-220.
- ROBERTS, J.A., S. WIDJAJANTI, and S.E. ESTUNINGSIH. 1996. Acquired resistance of merino sheep against *Fasciola gigantica*. *Parasitol. Res.* 82 : 743-746.
- ROBERTS, J.A., S.E. ESTUNINGSIH, S. WIDJAJANTI, E. WIEDOSARI, S. PARTOUTOMO, and T.W. SPITHILL. 1997. Resistance of Indonesian Thin Tail Sheep against *Fasciola gigantica* and *F. hepatica*. *Vet. Parasitol.* 68 : 69-78.
- THOWBIN, H., T. STAEHELIN, and J. GORDON. 1976. Electrophoretic transfer for proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some application. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76 : 4350-4354.
- WIEDOSARI, E., S. WIDJAJANTI, B.J. TUASIKAL, and S. PARTOUTOMO. 1995. The protective effect of irradiated metacercariae of *Fasciola gigantica* against fasciolosis in sheep. ACIAR Workshop on *Fasciola gigantica* in Cattle and Buffalo in Indonesia. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 11 May 1995.
- WIJFFELS, G.L., L. SALVATORE, M. DOSEN, J. WADDINGTON, L. WILSON, C. THOMPSON, N. CAMPBELL, J. SEXTON, J. WICKER, F. BOWEN, T. FRIEDEL, and T.W. SPITHILL. 1994. Vaccination of sheep with purified cysteine proteinases of *Fasciola hepatica* decreases worm fecundity. *Exp. Parasitol.* 78 : 132-148.