

## Populasi *Ascaridia galli* Dalam Usus Halus Ayam Yang Diberikan Kombinasi Ekskretori/Sekretori L<sub>3</sub> dan Immunoglobulin *Yolk*

(*Ascaridia galli* populations in intestine of chickens treated with combination of excretory/secretory L<sub>3</sub> and immunoglobulin yolk)

Darmawi<sup>1</sup>, Ummu Balqis<sup>1</sup>, dan Risa Tiuria<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Staf Pengajar pada Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala,

<sup>2</sup>Staf Pengajar Helmintologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

**ABSTRACT** The purpose of the present study was to determine the presence of worm populations in intestine of chickens vaccinated and combined with egg *yolk* to experimental *Ascaridia galli* infection. Amount of 18 head chickens were divided into six groups (A – F). Group A, the chickens were not vaccinated. Group B, the chickens were vaccinated with excretory/secretory of *A. galli* L<sub>3</sub>. Group C, the chickens were vaccinated with excretory/secretory of *A. galli* L<sub>3</sub>, challenged with dose 1000 L<sub>2</sub>, and treated ten times with 0,875 mg egg yolk with an interval of one day intra orally. Group D, the chickens were vaccinated with excretory/secretory of *A. galli* L<sub>3</sub> and challenged with dose 1000 L<sub>2</sub>. Group E, the chickens were

challenged with dose 1000 L<sub>2</sub> and treated ten times with 0,875 mg egg yolk with an interval of one day intra orally. Group E, the chickens were challenged with dose 1000 L<sub>2</sub>. Intestinal worm burdens of infected groups were recorded. The result showed that excretory/secretory of *A. galli* L<sub>3</sub> combined with egg *yolk* decreased significantly *A. galli* survival in intestine of laying hens. Vaccinations were positively correlated with worm burden at 12 weeks after challenged. The results suggest that *A. galli* L<sub>3</sub> excretory/secretory product contain potential antigen and that antibody-mediated mechanisms contribute to immune protection.

**Key words:** *ascaridia galli*, excretory/secretory, yolk immunoglobulin

2011 Agripet : Vol (11) No. 2: 22-28

### PENDAHULUAN

Metode pengendalian helminthosis secara kemoprofilaksis yang telah dilakukan selama ini mempunyai beberapa kelemahan. Pemberian dosis optimal 30,3 ppm fenbendazole menghasilkan nilai efikasi yang bervariasi antara 69,0 – 89,6% sehingga tidak selalu dapat mengeluarkan cacing *Ascaridia galli* secara menyeluruh dari dalam usus halus inang definitif (Sander dan Schwartz, 1994). Penggunaan anthelmintika berspektrum luas dilaporkan oleh Waller (1997) telah menyebabkan resistensi nematoda terhadap anthelmintika. Oleh karena itu, perlu dicarikan metode pengendalian ascaridiosis yang tepat dan akurat secara imunoprofilaksis.

Penelitian yang menunjukkan prospek pengendalian helminthosis secara imunoprofilaksis telah banyak dikembangkan. Antigen yang diekspresikan melalui ekskretori/sekretori cacing nematoda seperti *Ostertagia circumcincta* dan *Onchocerca gipsoni* pada sapi (Harnett *et al.*, 1997), *Ascaris suum* pada babi (Rhoads *et al.*, 2001), *Haemonchus contortus* pada domba (Vervelde, 2003) dapat berperan sebagai molekul biologik aktif pemicu respons imunitas inang definitif. Kajian imunoproteksi *H. contortus* pada kambing dilaporkan Ruiz (2004) bahwa imunisasi aktif dengan sistein protease yang diisolasi dari *H. contortus* dewasa dianggap sebagai kandidat vaksin yang penting untuk mengontrol haemonchosis. Sistein protease yang dilepaskan dalam ekskretori/sekretori bersifat antigen imunoprotektif karena kambing yang telah

---

Corresponding author: [d\\_darmawi@yahoo.com](mailto:d_darmawi@yahoo.com)

diinfeksi dengan *H. contortus* dan diimunisasi dengan enzim protease tersebut menunjukkan penurunan jumlah telur *H. contortus* pada tiap gram tinja, penurunan jumlah cacing (*worm burden*) pada tiap ekor kambing secara signifikan.

Aplikasi imunoglobulin *yolk* (IgY) sebagai imunoterapi telah menunjukkan hasil signifikan dalam meningkatkan fungsi imun. Davis dan Reeves (2002) melaporkan bahwa imunisasi pasif secara oral dengan menambahkan IgY ke dalam kolostrum dapat mencegah infeksi *Escherichia coli* pada pedet dan rotavirus pada mencit. Akita dan Nakai (1992) dan Makoto *et al.* (1998) melaporkan juga bahwa kerentanan anak-anak terhadap patogen dapat dicegah dengan cara memformulasikan IgY anti-patogen ke dalam makanan.

Penelitian tentang metode pengendalian ascaridiosis pada ayam petelur secara imunoprofilaksis belum cukup memberi penjelasan tentang peran imunitas humoral terhadap kelangsungan hidup cacing *A. galli* secara *in vivo*. Untuk mengendalikan infeksi *A. galli* diperlukan penelitian yang diarahkan kepada prospek pengendalian secara imunoprofilaksis. Tindakan yang harus dilakukan adalah dengan melakukan vaksinasi yang secara aktif memicu pembentukan respons imunitas dan atau vaksinasi pasif. Imunisasi aktif dilakukan dengan cara memaparkan antigen sebagai bahan asing untuk memicu respons imunitas humoral dan seluler inang definitif. Imunisasi pasif dilakukan dengan cara memberikan komponen imunitas yang berperan dalam reaksi imunologik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antigen ekskretori/sekretori pada imunisasi aktif dan atau IgY pada pasif terhadap penurunan populasi cacing *A. galli* secara *in vivo*.

## MATERI DAN METODE

### Ayam Percobaan

Sebanyak 18 ekor ayam berumur 12 minggu digunakan pada penelitian ini. Sepuluh hari sebelum vaksinasi dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli*, masing-masing ayam dipastikan bebas dari infeksi cacing melalui pemeriksaan telur tiap gram tinja. Ayam dipelihara secara individual

dalam kandang baterai yang diberi pakan komersial dan air minum secara *ad libitum*. Ayam tersebut dibagi dalam enam kelompok (A – F). Kelompok A, ayam tidak divaksin dan tidak ditantang. Kelompok B, ayam divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli*. Kelompok C, ayam divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli*, ditantang dengan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*, dan diberikan *imunoglobulin yolk* (IgY). Kelompok D, ayam divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan ditantang dengan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*. Kelompok E, ayam ditantang dengan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* dan diberikan IgY. Kelompok F, ayam ditantang dengan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*. Semua ayam dinekropsi 12 minggu setelah ditantang. Populasi *A. galli* di dalam intestinal pada masing-masing kelompok dihitung jumlahnya.

### Pengemasan L<sub>2</sub>, Ekskretori/Sekretori L<sub>3</sub> *A. galli*, dan Imunoglobulin *Yolk*

Larva infeksi (L<sub>2</sub>) dikultur pada temperatur kamar, dikemas dalam *ependorf* dengan dosis 1000 L<sub>2</sub>, dan siap diberikan kepada ayam donor (Tiuria, 1991) seperti dijelaskan oleh Darmawi *et al.* (2006). Pengemasan ekskretori/sekretori L<sub>3</sub> *A. galli* mengikuti metode Hintz (1998), dimana larva *A. galli* diinkubasi dalam sumur *cell culture plate* yang mengandung medium *Rosswell Park Memorial Institute* (RPMI 1640, Sigma-Aldrich) seperti dijelaskan oleh Darmawi *et al.* (2008). Teknik preparasi IgY yang digunakan pada penelitian ini mengikuti metode Camenisch *et al.* (1999) dan Carlender (2002) seperti dijelaskan oleh Darmawi *et al.* (2009 dan 2010).

### Percobaan *in vivo*

Vaksinasi pada ayam percobaan mengikuti teknik vaksinasi seperti yang telah dijelaskan pada preparasi IgY dalam penelitian ini, yaitu empat kali vaksinasi dalam interval waktu satu minggu setiap kali vaksinasi. Dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* diberikan langsung ke dalam oesofagus pada minggu pertama pascavaksinasi terakhir. IgY langsung ke dalam oesofagus dengan dosis 0,875 mg IgY kuning telur setiap hari selama 10 hari berturut-turut mulai pada minggu ke-1

pasca pemberian dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*. Semua ayam percobaan dipotong dan dinekropsi pada minggu ke-12 pasca pemberian dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*. Usus halus diambil dan dibuka secara longitudinal. Isi usus dan mukosa disaring dengan kain kasa di atas gelas Bermann yang berisi NaCl fisiologis. Satu jam kemudian, larva yang tenggelam ke dasar gelas diambil dan dihitung jumlahnya di bawah mikroskop.

### Analisis Data

Data diuji dengan analisis sidik ragam. Apabila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan (Stell dan Torrie, 1999).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah larva *A. galli* yang ditemukan kembali di dalam lumen usus halus setelah 12 minggu pasca pemberian dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* pada masing-masing kelompok percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Populasi Cacing *A. galli* Secara *in vivo* 12 Minggu Pascainfeksi

Kelompok Ayam	Vaksinasi (ES)	Uji Tantang	Pemberian (IgY)	Jumlah Larva <i>A. galli</i>
A	-	-	-	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
B	260 µg	-	-	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
C	260 µg	1000 L <sub>2</sub>	8,75 mg	2,00 ± 1,00 <sup>ab</sup>
D	260 µg	1000 L <sub>2</sub>	-	5,67 ± 3,21 <sup>c</sup>
E	-	1000 L <sub>2</sub>	8,75 mg	7,00 ± 3,61 <sup>cd</sup>
F	-	1000 L <sub>2</sub>	-	9,33 ± 3,51 <sup>de</sup>

Keterangan:

ES = ekskretori/sekretori,

IgY = imunoglobulin *yolk*

Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa larva *A. galli* tidak ditemukan di dalam lumen usus halus ayam dari kelompok A dan B karena kedua kelompok tersebut tidak diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*. Larva *A. galli* hanya ditemukan pada empat kelompok lainnya, yaitu mulai dari jumlah larva yang paling sedikit sampai dengan jumlah larva yang paling banyak berturut-turut ditemukan pada kelompok C, D, E, dan F. Jumlah larva *A. galli* yang ditemukan pada kelompok C berbeda tidak signifikan dengan kelompok A dan B ( $P > 0,05$ ), perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok D, E, dan F. Jumlah larva *A. galli* yang ditemukan pada kelompok D berbeda tidak

signifikan dengan kelompok E ( $P > 0,05$ ), perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok ayam percobaan lainnya. Jumlah larva *A. galli* yang ditemukan pada kelompok E berbeda tidak signifikan dengan kelompok D dan F ( $P > 0,05$ ), perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok ayam percobaan lainnya (Tabel 1).

Pemberian telur cacing *A. galli* yang infeksi (L<sub>2</sub>) kepada inang definitif seperti ayam petelur yang menjadi ayam percobaan pada penelitian ini akan menyebabkan L<sub>2</sub> berkembang dan menetas di dalam intestinum inang definitif, dan setelah 10 hari larva (L<sub>3</sub>) menjalani fase histotrofik dengan cara penetrasi ke dalam jaringan mukosa, larva kembali ke lumen tujuh hari kemudian. Cacing *A. galli* tumbuh menjadi dewasa dalam waktu 5 – 8 minggu. Kadang-kadang cacing *A. galli* dapat berpenetrasi ke organ tubuh yang lain seperti hati dan ginjal pada ular *python* (Taiwo *et al.*, 2002), dan paru paru pada unggas (Soulsby, 1982). Namun, pada penelitian ini cacing *A. galli* tidak ditemukan pada organ lainnya, selain di dalam lumen usus halus. Pada ayam percobaan kelompok F, cacing dapat berkembang secara alami tanpa terpengaruh oleh pertahanan memori sistem imunitas ayam petelur, sehingga cacing lebih banyak berkembang menjadi dewasa.

Ayam yang divaksin dengan ekskretori/sekretori *A. galli* akan memicu secara aktif pembentukan imunitas ayam petelur, baik imunitas humoral maupun imunitas seluler yang berimplikasi kepada penjeratan dan pengeluaran larva cacing oleh sistem pertahanan mukosa saluran pencernaan. Ayam yang diberikan IgY akan menambah fungsi penjeratan larva cacing sehingga cacing lebih mudah didorong oleh gerakan peristaltik usus dan dikeluarkan bersama tinja. Jumlah larva *A. galli* pada kelompok ayam yang divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan ditantang dengan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* berbeda tidak signifikan dengan jumlah larva yang ditemukan pada kelompok ayam yang diinfeksi dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* dan diberikan IgY. Perbedaan signifikan terjadi pada kelompok ayam yang hanya diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli*, dan

kelompok ayam yang diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* dan diberikan IgY.

Kelompok ayam percobaan yang diberikan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan disertai pemberian IgY dapat mengurangi kelangsungan hidup larva *A. galli* di dalam usus halus ayam petelur. Jumlah larva *A. galli* menurun signifikan ( $P < 0,05$ ) pada kelompok ayam yang diberikan 260 µg ekskretori/sekretori, dan satu minggu setelah infeksi dosis 1000 L<sub>2</sub> diberikan juga 10 kali 0,875 mg IgY selama 10 hari dibandingkan dengan kelompok ayam yang hanya diinfeksi dosis 1000 L<sub>2</sub> tetapi tidak divaksin. Penurunan jumlah larva *A. galli* terjadi juga pada kelompok ayam yang diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* dan hanya divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* atau pemberian IgY, hasil uji statistik menunjukkan penurunan jumlah larva tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) (Tabel 1).

Vaksinasi dengan memanfaatkan produk ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* sebagai antigen dapat mempengaruhi kelangsungan hidup cacing yang ditandai dengan penurunan jumlah *A. galli* yang ditemukan pada saluran cerna ayam petelur (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa ayam yang telah divaksin dengan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* maka akan mengurangi jumlah larva di dalam usus halus. Ayam tersebut diberikan pula IgY maka kelangsungan hidup *A. galli* di dalam usus halus semakin berkurang jumlahnya. Pada ayam yang diberikan dosis 1000 L<sub>2</sub> *A. galli* dan hanya diberikan IgY, populasi larva dapat dikurangi meskipun pengaruhnya tidak signifikan.

Abe *et al.* (1992) membuktikan bahwa produk ekskretori/sekretori *Strongyloides ratti* dewasa bersifat imunogenik yang dapat merangsang produksi interleukin (IL-3) oleh limfosit dari limfonodus mesenterik tikus yang diinfeksi dengan *S. ratti*. Aktivitas IL-3 yang merupakan *growth factor* sel mast bersifat merangsang diferensiasi sel mast mukosa usus halus yang berasal dari sel-sel *progenitor* pada situs infeksi. Tizard (1996) menyatakan bahwa degranulasi sel mast mukosa pada kutikula nematoda berkolaborasi dengan antibodi, makrofag, sel eosinofil, musin sel goblet, dan gerakan peristaltik otot licin usus halus dapat

mengeluarkan cacing dari dalam lumen saluran cerna.

Pemberian IgY dengan memanfaatkan *yolk* dari ayam yang telah diimunisasi dengan produk ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* juga dapat mengurangi jumlah *A. galli* yang ditemukan pada saluran cerna ayam petelur. Schmidt *et al.* (1989) menyatakan bahwa pemanfaatan kuning telur segar yang mengandung IgY spesifik memberikan nilai efikasi lebih baik dibandingkan pemanfaatan komponen IgY yang telah dipisahkan dari komponen kuning telur lainnya. IgY yang didepositkan ke dalam kuning telur sangat prospektif digunakan sebagai substansi biologik untuk kekebalan pasif. Prinsip pengebalan pasif adalah pemberian zat kebal pada individu dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain dengan mengkonsumsi telur yang telah mengandung IgY sebagai zat kebal. Selain itu, kegunaan IgY dapat dimanfaatkan sebagai reagen standar untuk perangkat diagnostik, penelitian biomedis, imunoprofilaksis, dan terapi (Camenisch *et al.*, 1999).

Vaksinasi ditambah dengan pemberian IgY dapat menurunkan secara signifikan ( $P < 0,05$ ) jumlah cacing yang ditemukan pada saluran cerna ayam petelur. Vaksinasi bersifat merangsang respons imunitas humoral dan seluler untuk proteksi host dari serangan agen infeksi (Abe *et al.*, 1992; dan Zhang *et al.*, 2005). Pemberian IgY bersifat menambah zat kebal untuk menghambat *invader* memasuki jaringan *host* (Haak-Frendscho, 1994; dan Mine dan Kovacs-Nolan, 2002). Pada penelitian ini, kolaborasi vaksinasi dan pemberian IgY mempunyai kolerasi positif terhadap penurunan jumlah cacing *A. galli* yang masih bertahan pada usus halus ayam kebal.

Jumlah larva *A. galli* yang ditemukan di dalam saluran cerna ayam setelah diberikan telur infeksi dipengaruhi oleh jenis ayam yang digunakan sebagai model. Penelitian Schou *et al.* (2003) membuktikan bahwa pada ayam *New Hampshire* yang diinfeksi pada umur 60 minggu dengan dosis tunggal 500 telur infeksi *A. galli* ditemukan lebih banyak larva yang *establish* pada minggu ke-3, -6, dan -9 pascainfeksi dibandingkan dengan tiga jenis ayam petelur komersial lainnya: *Skalborg*, *ISA*

Brown, dan ayam hasil persilangan *New Hampshire* dan *Skalborg*. Cepat atau lambatnya L<sub>2</sub> berkembang menjadi stadium berikutnya dipengaruhi oleh kemampuan telur infeksi untuk bertahan, bersaing *intra spesies* dan flora usus.

Dahl (2002) telah membuktikan bahwa berbagai stadium kehidupan cacing baik larva maupun cacing dewasa masih ditemukan pada saluran cerna ayam *Lohmann Brown* berumur 29 minggu, meskipun infeksi per oral dengan 1000 ± 50 telur infeksi *A. galli* telah berlangsung selama 10 minggu. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun infeksi L<sub>2</sub> telah berlangsung selama 12 minggu, stadium larva masih ditemukan di dalam saluran cerna ayam. Suspensi ekskretori/sekretori larva *A. galli* dapat memicu respons humoral ayam petelur. Aplikasi ekskretori/sekretori larva *A. galli*, IgY anti-ascaridiosis, dan kombinasinya dapat mengurangi jumlah kelangsungan hidup cacing *A. galli* di dalam usus halus ayam.

Aplikasi IgY anti-ascaridiosis dapat mengurangi kelangsungan hidup cacing *A. galli* secara *in vivo*. Menurut Roitt dan Delves (2001) antibodi yang terbentuk oleh rangsangan antigen cacing nematoda parasitik akan menjerat tubuh cacing dengan cara penempelan sehingga permukaan tubuh cacing terikat pada bagian F(ab) antibodi. Antibodi yang disekresikan dapat berfungsi sebagai media yang mengikat antigen melalui *binding site* yang spesifik, sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel imun atau mengaktifkan komplemen (Vervelde, 2003).

Penelitian ini membuktikan bahwa pada saluran cerna ayam yang diberikan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan atau pemberian IgY masih ditemukan larva *A. galli* (Tabel 1). Hal ini menunjukkan kurang optimalnya sistem imunitas ayam untuk menyingkirkan cacing pada situs predeleksinya sehingga cacing tetap *establish* pada saluran cerna. Fenomena kurang optimalnya sistem imunitas dapat dijelaskan bahwa untuk *establish* pada inang definitif, cacing parasitik menghindari dari serangan sistem imunitas. Reaksi imunologik inang definitif dihindari oleh cacing dengan cara mengubah struktur antigen permukaannya atau

melapisinya dengan molekul glikoprotein *major histocompatibility complex* (MHC) dan imunoglobulin inang definitif sehingga dianggap *self* (Tizard, 1996).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bahan ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan IgY yang terbentuk oleh rangsangannya berpotensi menurunkan secara signifikan populasi cacing *A. galli* yang *establish* secara *in vivo*. Hasil tersebut merefleksikan bahwa ekskretori/sekretori stadium L<sub>3</sub> *A. galli* dan antibodi IgY berperan dalam mekanisme imunitas ayam terhadap *A. galli*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Sulaeman yang telah berperan sebagai teknisi yang menyiapkan cacing *A. galli*, dan Kosasih yang telah berperan sebagai teknisi yang memelihara ayam percobaan selama penelitian berlangsung. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Bersaing 2005 s.d 2007.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akita, E. M., and Nakai, S., 1992. Immunoglobulins from egg yolk: isolation and purification. *J. of Food Sci.* 57:629-634.
- Abe, T., Nawa, Y., and Yoshimura, K., 1992. Protease resistant interleukin-3 stimulating components in excretory and secretory products from adult worms of *Strongyloides ratti*. *J. of Helminthol.* 66:155-158.
- Camenisch, G., Tini, M., Chilov, D., Kvietikova, I., Srinivas, V., Caro, J., Spielmann, P., Wenger, R. H., and Gassmann, M., 1999. General applicability of chicken egg yolk antibodies: the performance of IgY immunoglobulins raised against the hypoxia-inducible factor. *1 $\alpha$ J. FASEB.* 13:81-88.

- Carlander, D., 2002. Avian IgY Antibody: *in vitro* and *in vivo*. Dissertation, Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala.
- Dahl, C., 2002. The Effect of Concurrent Infections With *Pasteurella multocida* and *Ascaridia galli* on Free Range Chickens. *Vet. Microbiol.* 86:313-324. <http://orgprints.org/00001857>. [21 Mei 06]
- Darmawi, Balqis, U., Tiuria R., Suhartono M.T., Soejoedono, R.D., Priosoeryanto, B.P., Pasaribu, F. H., and Hambal, M., 2006. Protease Activity of Excretory/Secretory Released by Invasive Stage of *Ascaridia galli*. In : Proceeding Enzymes: Industrial and Medical Prospects, ASEAN Biochemistry Seminar, Surabaya. 6-7<sup>th</sup> February.
- Darmawi, Balqis, U., Tiuria, R., Hambal, M., dan Samadi, 2008. Kajian Titer Antibodi Pada Yolk Dari Ayam Yang Diimunisasi Dengan Antigen Ekskretori/Sekretori Stadium L3 *Ascaridia galli*. *J. Agripet.* 8(2):21-26.
- Darmawi, Balqis, U., dan Hambal, M., 2009. Deposit Antibodi Anti-Ekskretori/Sekretori *Ascaridia galli* di Dalam Yolk Ayam Petelur. Prosiding Seminar Nasional dan Pameran Hasil-Hasil Penelitian (Dalam Rangka Dies Natalis UNRAM ke 47), Mataram. 29-30 September. pp:304-312.
- Darmawi, Balqis, U., Tiuria, R., Hambal, M., dan Samadi, 2010. Purifikasi Imunoglobulin Yolk Pada Ayam Yang Divaksin Terhadap Ekskretori/Sekretori Terhadap Stadium L3 *Ascaridia galli*. *J. Agripet.* 10(2):9-15.
- Davis, C., and Reeves, R., 2002. High Value Opportunities From the Chicken Egg. *A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation.* RIRDC Pup.
- Ding, L., and Candido, E. P. M., 2000. Association of several small heat-shock proteins with reproductive tissue in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. J.* 341:13-17.
- Haak-Frendscho, M., 1994. Why IgY? Chicken Polyclonal Antibody, an Appealing Alternative. *Promega Notes Magazine* (46):11.
- Harnett. W., MacDonald, M., Preece, G., Patterson, M., and Parkhouse, M. E., 1997. Production of monoclonal antibodies against excretory-Secretory products of adult male *onchocerca gibsoni*. *J. of Parasitol.* 83(2):316-319.
- Hintz, 1998. juvenile female *listomosoides sigmodontis* produce an excretory-secretory antigen (Juv-p120) highly modified with dimethylaminoethanol. *J. of Parasitol.* 171:265-271.
- Makoto, S. C., Robert, F., and Shuryo, N., 1998. Anti- E. coli immunoglobulin Y isolated from yolk egg of immunized chicken as a potential food ingredient. *J. of Food Sci.* 53:1361-1365.
- Mine, Y., and Kovacs-Nolan , J., 2002. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: *a review.* *J. Med. Food.* 5:159-169.
- Rhoads, M., L., Fetterer, R. H., and Urban, Jr. J. F., 2001. Release of Hyaluronidase During *in vitro* Development of *Ascaris suum* from the Third to Fourth Larval Stage. *Parasitol. Res.* 87(9): 693-697.
- Roitt, I. M., and Delves, P. J., 2001. Roitt's Essential Immunology. Tenth Edition, *Blackwell Science Ltd.* Osney Mead Oxford OX2 OEL.
- Ruiz, A., 2004. Immunoprotection in Goats Against *Haemonchus contortus* After Immunization With Cysteine Protease Enriched Protein Fractions. *Vet. Res.* 35:565-572. <http://www.edpsciences.org/articles/vetres/pdf/2004/05/v4019.pdf>. [12 Agustus 2006]
- Sander, J. E., and Schwartz, R. D., 1994. Evaluation of three water-suspensible formulations of fenbendazole against *ascaridia galli* infection in broiler chickens. *Avi. Dis.* 38:350-353.
- Schou, T., Permin, A., Roupstorff, A., Sørensen, P., and Kjær, 2003. Comparative Genetic Resistance to *Ascaridia galli* Infections of different Commercial Layer-lines. *Brit. Poult.*

- Sci. 44(2):182-185.  
<http://orgprints.org/00001858> [21 Mei 06]
- Schmidt, P., Wiedemann, V., Kühlmann, R., Wanke, R., Linckh, E., and Lösch, U., 1989. Production of antibodies to canine distemper virus in chicken eggs for Immunochemistry. *J. of Vet. Med. B* 36:661-668.
- Soulsby, E. J. L., 1982. Helminth, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7<sup>th</sup> Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Steel, R. G. D., and Torrie, J. H., 1999. Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi ke-2. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Taiwo, V. O., Alaka, O. O., Sadiq, N. A., and Adejinmi, J. O., 2002. Ascariidosis in captive reticulated python (*python reticulatus*). *Afr. J. Biomed. Res.* 5:93-95.
- Tiuria, R., 1991. Hubungan Antara Dosis Infeksi, Biologi *Ascaridia galli* dan Produktivitas Ayam Petelur. Tesis, Program Pascasarjana. Program Studi Sains Veteriner. Institut Pertanian Bogor.
- Tizard, I. R., 1996. Veterinary Immunology an Introduction. Fifth Edition, *WB Saunders Company, a Division of Harcourt Brace and Company*. The Curtis Center Independence Square West. Philadelphia, Pennsylvania.
- Vervelde, 2003. Vaccination-induced Protection of Lambs Against the Parasitic Nematode *Haemonchus contortus* Correlates With High IgG Antibody Responses to the LDNF Glycan Antigen. *Glycobiol.* 13(11):795-804.
- Waller, P. J., 1997. Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology.* 72:391-412.
- Zhang, W., Moreau, E., Peigné, F., Huang, W., and Chauvin, A., 2005. Comparison of Modulation of Sheep, Mouse and Buffalo Lymphocyte Responses by *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* Excretory-Secretory Products. [http://parasitology.informatik.uni-wuerzburg.de/login/n/h/j\\_436\\_005-1306-x.html.html](http://parasitology.informatik.uni-wuerzburg.de/login/n/h/j_436_005-1306-x.html.html). [21 Februari 2006]