

STUDI KOMPARATIF RESISTENSI PADA DOMBA EKOR TIPIS INDONESIA (ITT), ST. CROIX, MERINO DAN PERSILANGAN ITT DAN ST. CROIX, TERHADAP INFEKSI *FASCIOLA GIGANTICA*

S. WIDJAJANTI¹, S. E. ESTUNINGSIH¹, S. PARTOUTOMO¹, J. A. ROBERTS², dan T. W. SPITHILL²

¹ Balai Penelitian Veteriner

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

² Department of Biochemistry and Molecular Biology, Monash University, Clayton 3168, Australia

(Diterima dewan redaksi 11 April 1999)

ABSTRACT

S. WIDJAJANTI, S. E. ESTUNINGSIH, S. PARTOUTOMO, J.A. ROBERTS, and T.W. SPITHILL. 1999. Comparative studies of resistance on Indonesian Thin Tail (ITT) sheep, St. Croix, merino and the crossbreed of ITT and St. Croix, against the infection of *Fasciola gigantica*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 191-195.

The Indonesian thin tail (ITT) sheep have been known to be highly resistant against *Fasciola gigantica* and suggested that the resistance is heritable. In order to re-evaluate this evidence, 20 ITT sheep were infected with 350 metacercariae of *F. gigantica* and for comparison, 10 St. Croix sheep, 10 Merino sheep and 20 crossbred of ITT x St. Croix sheep were also infected with the same dose of metacercariae. The results showed that ITT sheep was highly resistant than the other breed, whereas St. Croix and Merino sheep were susceptible. 60% of the crossbred were as resistant as ITT sheep and the other 40% were as susceptible as the St. Croix sheep. Thus, it is proposed that there might be a hereditary resistance factor such as a dominant gene which inducing the mechanism of resistance in ITT sheep, and there is some indication that IgG₂ might act as a blocking antibody that interferes the mechanism of resistance.

Key words : ITT sheep, *Fasciola gigantica*, genetic resistance, dominant gene

ABSTRAK

S. WIDJAJANTI, S. E. ESTUNINGSIH, S. PARTOUTOMO, J. A. ROBERTS, dan T. W. SPITHILL. 1999. Studi komparatif resistensi pada domba ekor tipis Indonesia (ITT), St. Croix, Merino dan persilangan ITT dan St. Croix, terhadap infeksi *Fasciola gigantica*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 191-195.

Domba ekor tipis Indonesia (ITT) telah diketahui sangat resisten terhadap infeksi *Fasciola gigantica*, dan diduga resistensi tersebut dapat diturunkan secara genetika. Sebagai evaluasi ulang dari kejadian tersebut, 20 ekor domba ITT diinfeksi dengan 350 metaserkaria *F. gigantica*, dan sebagai pembandingan, 10 ekor domba St. Croix, 10 ekor domba Merino dan 20 ekor domba persilangan ITT x St. Croix juga diinfeksi dengan dosis metaserkaria yang sama. Hasilnya menunjukkan bahwa domba ITT sangat resisten dibandingkan dengan domba rumpun lainnya, sedangkan domba St. Croix dan domba Merino sangat peka. 60% dari domba persilangan menunjukkan tingkat resistensi yang sama dengan domba ITT, dan 40% lainnya sangat peka, sama seperti domba St. Croix. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kemungkinan ada faktor resistensi yang diturunkan seperti gen dominan yang mempengaruhi mekanisme kekebalan pada domba ITT, selain itu ada dugaan bahwa antibodi IgG₂ berperan sebagai antibodi penghambat yang mempengaruhi mekanisme kekebalan.

Kata kunci : Domba ITT, *Fasciola gigantica*, resistensi genetika, gen dominan

PENDAHULUAN

Di Indonesia penyakit fasciolosis yang disebabkan oleh cacing hati *Fasciola gigantica*, menyerang ternak sapi dan dapat menyerang ternak domba. Populasi domba di Indonesia adalah sekitar 6,4 juta ekor, dan sebagian besar berada di Pulau Jawa (90%), dengan populasi terbanyak di Jawa Barat (49%) (DIREKTORAT

JENDERAL PETERNAKAN, 1995). Dari penelitian terdahulu yang dilakukan oleh WIEDOSARI dan COPEMAN (1990), diketahui bahwa domba ekor tipis Indonesia (ITT) sangat tahan terhadap infeksi fasciolosis dan menurut BATUBARA (1997), ROMJALI (1995) dan ROMJALI *et al.* (1997) domba ini pun tahan terhadap infeksi cacing lambung *Haemonchus contortus*. Adapun asal-usul domba ITT ini tidak

diketahui dengan pasti, namun menurut BRADFORD dan INONU (1996), kemungkinan berasal dari Bangladesh atau India. Ciri khas domba ini adalah mempunyai ekor yang panjang dan tipis. Dari penelitian lain yang dilakukan oleh ROBERTS *et al.* (1997c) diketahui bahwa resistensi pada domba yang terinfeksi fasciolosis akan terjadi antara 2 sampai 6 minggu setelah infeksi. Sehubungan dengan hasil penelitian tersebut maka timbul suatu pertanyaan, mungkinkah resistensi tersebut merupakan suatu sifat yang dapat diturunkan secara genetika. Maka untuk menjawab pertanyaan tersebut dilakukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk mengevaluasi kembali adanya resistensi domba ITT terhadap infeksi *F. gigantica* dibandingkan dengan rumpun domba lainnya.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan empat rumpun domba, yaitu 20 ekor domba ekor tipis Indonesia (ITT), 10 ekor domba St. Croix, 20 ekor domba persilangan ITT x St. Croix dan 10 ekor domba Merino. Tiga rumpun domba yang pertama berasal dari Sungai Putih, Sumatera Utara, sedangkan domba Merino berasal dari Australia. Seluruh domba tersebut dipelihara di Balai Penelitian Veteriner dan setiap hari diberi makan rumput *Pennisetum purpureum* dan konsentrat serta minum secukupnya.

Setelah beradaptasi dengan lingkungan sekitar (± 4 minggu) maka semua domba tersebut diinfeksi dengan 350 metaserkaria *F. gigantica* secara per oral dengan menggunakan *balling gun*. Metaserkaria tersebut berasal dari siput *Lymnaea rubiginosa* yang diperoleh di Kecamatan Surade, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat.

Serum darah diambil setiap minggu sampai dengan 17 minggu setelah infeksi. Untuk mengidentifikasi isotype antibodi yang diduga berperan dalam mekanisme kekebalan domba maka serum tersebut diperiksa dengan teknik *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), berdasarkan teknik yang digunakan oleh WIJFFELS *et al.* (1994) dan HANSEN *et al.* (1999). Isotype yang diperiksa adalah IgG₁, IgG₂, IgM dan IgE, dan dalam pemeriksaan ini diperlukan monoklonal antibodi yang sama dengan isotype antibodi yang akan diidentifikasi. Monoklonal antibodi tersebut diperoleh dari *Division of Animal Production, CSIRO, Blacktown, Australia*. Antigen yang digunakan adalah ekstrak dari cacing *F. gigantica* dewasa dengan konsentrasi 10 μ l/ml dalam bufer karbonat pH 9,6. Uji statistik yang digunakan untuk menganalisis data hasil pemeriksaan ELISA adalah

student's t-test. Serum tersebut juga diperiksa dengan teknik *western blotting* (HANSEN *et al.*, 1999), untuk mengetahui adanya perbedaan segmen protein dari setiap isotype antibodi, namun pemeriksaan dengan teknik ini hanya dilakukan pada serum tertentu yang mempunyai titer antibodi tertinggi saja.

Tujuh belas minggu setelah infeksi, semua domba tersebut dipotong lalu diambil hatinya. Kemudian hati tersebut dihancurkan dengan tangan lalu disaring sampai bersih. Cacing *F. gigantica* yang ditemukan pada hati tersebut kemudian dipisahkan dari jaringan hati dan dihitung jumlahnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah cacing hati *F. gigantica* yang ditemukan pada hati setiap jenis domba dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar tersebut terlihat bahwa pada semua domba ITT, hanya terdapat cacing hati dengan jumlah kurang dari 10 ekor cacing ($4,75 \pm 2,7$), sedangkan pada domba St. Croix dan Merino, cacing hati yang ditemukan jumlahnya lebih dari 10 ekor cacing ($25,9 \pm 9,5$ pada domba St. Croix dan $32,5 \pm 17,6$ pada domba Merino). Pada 12 ekor domba persilangan ITT x St. Croix (60%) memiliki jumlah cacing hati yang hampir sama dengan domba ITT ($6,75 \pm 3,1$), sedangkan sisanya (40%) memiliki cacing yang jumlahnya hampir sama dengan domba St. Croix ($20,75 \pm 7,9$). Dalam gambaran frekuensi distribusi yang terlihat pada Gambar 1, jumlah cacing yang ditemukan pada domba persilangan ini tidak membentuk suatu distribusi yang normal, tetapi membentuk suatu distribusi dengan dua puncak (bimodal), dan fenomena ini sangat sesuai dengan distribusi Hardy-Weinberg yang menunjukkan bahwa kemungkinan ada faktor resistensi yang diturunkan dari domba ITT, seperti sebuah gen dominan yang bersegregasi pada domba hasil persilangan antara domba ITT dan St. Croix, yang mempengaruhi mekanisme kekebalan domba tersebut terhadap infeksi *F. gigantica* (ROBERTS *et al.*, 1997b). Dari percobaan terdahulu yang dilakukan oleh ROBERTS *et al.* (1996; 1997c) diketahui bahwa resistensi domba terhadap infeksi *F. gigantica* dapat pula diperoleh secara buatan selain secara genetika. Resistensi buatan/dapatan tersebut dapat terjadi bila seekor domba mendapat infeksi ulangan dari *F. gigantica*, namun resistensi dapatan ini tidak terjadi bila domba diinfeksi dengan *F. hepatica*, baik infeksi pertama maupun infeksi ulangan, hal ini terjadi kemungkinan karena adanya perbedaan epitop antara kedua jenis cacing hati tersebut (ROBERTS *et al.*, 1997a; SPITHILL *et al.*, 1997).

Gambar 1. Frekuensi distribusi jumlah cacing *Fasciola gigantica* yang ditemukan pada domba ITT, St. Croix, Merino dan persilangan ITT x St. Croix, yang diinfeksi dengan 350 metaserkaria *F. gigantica*

Respon kekebalan berdasarkan isotype antibodi dapat dilihat pada Gambar 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa ada peningkatan titer antibodi IgM, IgG₁ dan IgE pada serum domba ITT setelah diinfeksi dengan metaserkaria *F. gigantica*. Peningkatan antibodi IgM mulai terjadi pada hari ke-8 (minggu ke-1) sampai dengan hari ke-30 (minggu ke-4) setelah infeksi, sedangkan peningkatan titer antibodi IgG₁ mulai terjadi 2 minggu setelah infeksi sampai dengan minggu ke-4, kemudian titer antibodinya turun sampai minggu ke-7 setelah infeksi (Gambar 2A dan B). Adapun puncak peningkatan titer antibodi IgE terjadi dua kali, yaitu pada minggu ke-2 dan minggu ke-9 setelah infeksi, hasil ini sama dengan hasil yang dilaporkan POITOU *et al.* (1993) pada tikus yang diinfeksi dengan *F. hepatica*. Respon pertama yang terjadi pada minggu ke-2 setelah infeksi, berhubungan erat dengan fase migrasi cacing dalam parenkhim hati, sedangkan respon ke-2 yang terjadi pada minggu ke-9 bersamaan dengan keberadaan cacing dewasa di dalam pembuluh empedu. Dari penelitian terdahulu yang dilakukan ROBERTS *et al.* (1997c) diketahui bahwa resistensi pada domba ITT terjadi antara minggu ke-2-6 setelah infeksi, maka ada kemungkinan bahwa peningkatan titer antibodi IgE pada awal infeksi, turut berperan aktif dalam meningkatkan mekanisme kekebalan domba ITT terhadap infeksi cacing *F. gigantica* (Gambar 2D).

Tidak terlihat adanya peningkatan titer antibodi IgG₂ pada domba ITT, namun pada domba merino justru terlihat peningkatan titer antibodi IgG₂ yang sangat signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan domba

ITT, terutama pada minggu ke-4 setelah infeksi (Gambar 2C). Dari hasil tersebut timbul suatu dugaan bahwa ada dua kemungkinan mengapa titer antibodi IgG₂ pada domba ITT sangat rendah bahkan hampir tidak ada. Kemungkinan pertama, domba ITT memang tidak memiliki antibodi IgG₂, sehingga pada saat terjadi infeksi dengan *F. gigantica*, kehadiran cacing tersebut di dalam tubuh domba akan merangsang peningkatan aktivitas sel makrofag yang berada di dalam rongga perut, di mana sel ini kemudian bekerja sama dengan antibodi IgG₁ dan IgE dalam upaya pencegahan infeksi lebih lanjut. Menurut YASMEEN (1981) dan FLEIT *et al.* (1986), sel makrofag yang berada di dalam rongga perut hanya dapat berikatan dengan antibodi IgG₁; dan kemampuan sel makrofag yang berasal dari rongga perut ini telah terbukti dapat membunuh cacing *F. gigantica* secara *in vitro* (ESTUNINGSIH *et al.*, belum dipublikasi). Kemungkinan ke-2 adalah antibodi IgG₂ berperan sebagai antibodi penghambat dalam mekanisme kerja sel makrofag dan antibodi IgG₁, hal ini terlihat jelas pada domba Merino yang mempunyai titer antibodi IgG₂ yang tinggi, tetapi titer antibodi IgG₁ rendah (Gambar 2C dan D), serta cacing *F. gigantica* yang ditemukan pada hati domba Merino jauh lebih banyak daripada pada domba ITT. Hasil pemeriksaan ELISA terhadap serum domba St. Croix maupun domba persilangan ITT x St. Croix tidak ditampilkan karena tidak ada perbedaan yang mencolok dengan hasil dari domba ITT.

Gambar 2. Respon kekebalan berdasarkan isotipe antibodi (dalam titer) domba ITT (●) dan domba Merino (○) yang diinfeksi metaserkaria *Fasciola gigantica*, dengan uji ELISA

Pemeriksaan serum dengan teknik *western blotting* hanya dilakukan pada serum domba ITT dan Merino yang diambil pada minggu ke-4 dan ke-9 setelah infeksi. Tidak ada perbedaan segmen protein pada antibodi IgG₁, baik pada domba ITT maupun pada domba Merino, segmen proteinnya sangat kompleks dengan bobot molekul antara 32-200 kDa (data tidak ditampilkan). Pada pemeriksaan terhadap antibodi IgG₂ terlihat adanya perbedaan antara domba ITT dan Merino (Gambar 3), pada domba Merino minimal terdapat 8 segmen protein dengan bobot molekul antara 40-100 kDa; namun pada domba ITT, sama halnya dengan hasil pemeriksaan ELISA, sama sekali tidak ditemukan segmen protein antibodi IgG₂. Sementara itu, pada pemeriksaan terhadap antibodi IgE, hanya ditemukan satu segmen protein dengan bobot molekul 92 kDa, baik pada domba ITT maupun pada domba Merino (Gambar 3). Adanya kesamaan segmen protein pada antibodi IgG₁ dan IgE domba ITT dan Merino menunjukkan bahwa terjadinya mekanisme kekebalan terhadap infeksi *F. gigantica* tidak hanya ditentukan oleh keberadaan kedua antibodi tersebut.

Gambar 3. Reaksi imunologi serum domba ITT (a) dan domba Merino (b) yang diinfeksi dengan *Fasciola gigantica*, dengan uji *western blotting*

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa kemungkinan ada suatu faktor resistensi pada domba ITT yang diturunkan dalam gen dominan serta peranan antibodi IgG₂ dalam mekanisme kekebalan domba tersebut terhadap infeksi cacing hati *F. gigantica*, namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari jenis gen beserta lokasinya

sehingga gen tersebut dapat digunakan secara optimal dalam rangka peningkatan dan pengembangan kualitas ternak. Selain itu, masih perlu pula dilakukan penelitian lanjutan terhadap berbagai faktor imunologi yang mempengaruhi mekanisme kekebalan pada domba ITT terhadap infeksi fasciolosis, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Australian Centre for International Agricultural Research* (ACIAR) yang telah memberikan dukungan dana melalui ACIAR PROJECT 9049. Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Suharyanta, Sudradjat dan Yayan Daryani yang telah memberikan bantuan teknis sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- BATUBARA, A. 1997. Studies on Genetic Resistance of Sumatran Breed and Hair Sheep Crossbreds to Experimental Infection with *Haemonchus contortus* in North Sumatra, Indonesia. MSc. Thesis. Prince Leopold Institute of Tropical Medicine. Antwerpen, Belgium.
- BRADFORD, G.E. and I. INOUNU. 1996. Prolific breed in Indonesia. In : *Prolific Sheep*. FAHMY M.H. (ed.). CAB International, University Press, Cambridge.
- DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN. 1995. *Buku Statistika Peternakan*. Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta.
- FLEIT, H.B., R.A. WEISS, A.D. CHANANA, and D.D. JOEL. 1986. Fc receptor function on sheep alveolar macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 40:419-431.
- HANSEN, D.S., D.G. CLERY, S.E. ESTUNINGSIH, S. WIDJAJANTI, S. PARTOUTOMO, and T.W. SPITHILL. 1999. Immune responses in Indonesian thin tail and merino sheep during a primary infection with *Fasciola gigantica* : Lack of a specific IgG2 antibody response is associated with increased resistance to infection in Indonesian sheep. *Int. J. Parasitol.* (in press).
- POITOU, I., E. BAEZA, and C. BOULARD. 1993. Kinetic responses of parasites-specific antibody isotypes, blood leucocyte pattern and lymphocyte subsets in rats during primary infestation with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.* 49:179-190.
- 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. 1997a. Resistance of Indonesian thin tail sheep against *Fasciola gigantica* and *F. hepatica*. *Vet. Parasitol.* 68: 69-78.
- ROBERTS, J.A., S. WIDJAJANTI, S.E. ESTUNINGSIH, and D.J. HETZEL. 1997b. Evidence for a major gene determining the resistance of Indonesian thin tail sheep against *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.* 68:309-314.
- ROBERTS, J.A., S.E. ESTUNINGSIH, E. WIEDOSARI, and T.W. SPITHILL. 1997c. Acquisition of resistance against *Fasciola gigantica* by Indonesian thin tail sheep. *Vet. Parasitol.* 73:215-224.
- ROMJALI, E. 1995. Studies of Genetic Resistance of Sheep to Gastro-intestinal Nematodes in North Sumatra, Indonesia. MSc. Thesis. Prince Leopold Institute of Tropical Medicine. Antwerpen, Belgium.
- ROMJALI, E., V.S. PANDEY, R.M. GATENBY, M. DOLOKPASARIBU, H. SAKUL, A. WILSON, and A. VERHULST. 1997. Genetic resistance of different genotypes of sheep to natural infection with gastrointestinal nematodes. *Anim. Sci.* 64:97-104.
- SPITHILL, T.W., D. PIEDRAFITA, and P.M. SMOOKER. 1997. Immunological approaches for the control of fasciolosis. *Int. J. Parasitol.* 27(10):1221-1235.
- 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.
- WIFFELS, 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.
- YASMEEN, D. 1981. Antigen-specific cytophilic activity of sheep IgG₁ and IgG₂ antibodies. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 59:297-302.

