

FLUKTUASI ANTIBODI SAPI YANG DIINFEKSI DENGAN *FASCIOLA GIGANTICA* DAN PENGARUH PEMBERIAN OBAT *TRICLABENDAZOLE*

S. WIDJAJANTI, S.E. ESTUNINGSIH dan SUHARYANTA

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, Bogor, 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 17 Desember 2001)

ABSTRACT

WIDJAJANTI, S., S.E. ESTUNINGSIH and SUHARYANTA. 2001. Antibody fluctuations of infected cattle with *Fasciola gigantica* and the effect of *triclabendazole* treatment. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(4): 257-260.

Observation on the antibody fluctuations of infected cattle with metacercariae of *Fasciola gigantica* and the effect of *triclabendazole* treatment were made by means of ELISA technique. Seven cattle were infected with 700 metacercariae and one cattle remained uninfected, as negative control animal. Treatment with *triclabendazole* was given to 6 cattle, when the mean antibody levels of infected cattle reached the peak, and the other one remained untreated, as positive control animal. One week after treatment the mean antibody levels started to drop and then decreased gradually. After eight weeks of treatment, the mean antibody levels of the treated cattle reached the lowest level or the same value as before infection, thereafter, 6 cattle were re-infected with different dosages of metacercariae of *F. gigantica*. Two cattle were infected with 400 metacercariae, the other two were infected with 600 metacercariae and the rest of them were infected with 800 metacercariae. The results showed that the immunological responses of re-infected cattle are quicker (5 weeks after infection) and the peak of the antibody levels are higher (ELISA OD = 1.7) than after the first infection (11 weeks after infection and ELISA OD = 1.2). However, after re-infection, there were no significant different on the antibody fluctuations and antibody levels among the infected group, although those cattle received different dosages.

Key words: Antibody, cattle, *Fasciola gigantica*, ELISA

ABSTRAK

WIDJAJANTI, S. S.E. ESTUNINGSIH dan SUHARYANTA. 2001. Fluktuasi antibodi sapi yang diinfeksi dengan *Fasciola gigantica* dan pengaruh pemberian obat *triclabendazole*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(4): 257-260.

Pengamatan terhadap fluktuasi level antibodi sapi yang diinfeksi dengan metaserkaria *Fasciola gigantica* telah dilakukan dengan menggunakan uji ELISA. Tujuh ekor sapi diinfeksi dengan 700 metaserkaria dan satu ekor sapi tidak diinfeksi, sebagai hewan kontrol negatif. Pengobatan dengan *triclabendazole* dilakukan pada 6 ekor sapi pada saat tingkat antibodi sapi yang diinfeksi tersebut mencapai titik tertinggi, sedangkan satu ekor sapi lainnya tidak diobati, sebagai hewan kontrol positif. Satu minggu setelah diobati, tingkat antibodi sapi mulai menurun. Delapan minggu setelah pengobatan, tingkat antibodi sapi yang diobati tersebut mencapai titik terendah atau sama nilainya seperti sebelum sapi tersebut diinfeksi, keenam ekor sapi itu kemudian diinfeksi ulang dengan dosis metaserkaria yang berbeda. Dua ekor sapi diinfeksi 400 metaserkaria, 2 ekor sapi lainnya diinfeksi dengan 600 metaserkaria dan 2 ekor sapi sisanya diinfeksi 800 metaserkaria. Hasilnya menunjukkan bahwa setelah infeksi ulang, reaksi tanggap kebal sapi terjadi lebih cepat (5 minggu setelah infeksi) dan tingkat antibodi tertingginya juga lebih tinggi (ELISA OD = 1,7) dibandingkan dengan pada saat setelah infeksi pertama (11 minggu setelah infeksi dan ELISA OD = 1,2). Namun, setelah infeksi ulang, tidak terlihat perbedaan yang nyata pada fluktuasi antibodi maupun level antibodi sapi antar grup infeksi, walaupun dosis infeksi ulang yang diberikan berbeda.

Kata kunci: Antibodi, sapi, *Fasciola gigantica*, ELISA

PENDAHULUAN

Fasciola gigantica adalah cacing hati yang menyebabkan penyakit fasciolosis dan umumnya menyerang ternak ruminansia terutama sapi. Prevalensi fasciolosis pada sapi di Indonesia mencapai 90% (SUHARDONO *et al.*, 1988). Penyakit ini menimbulkan kerugian yang tidak sedikit karena merusak organ hati sehingga tidak layak untuk dikonsumsi. Selain itu juga

menyebabkan kekurusan dan penurunan kualitas reproduksi (SUHARDONO *et al.*, 1988).

Cara diagnosa yang paling umum dilakukan untuk penyakit ini adalah dengan pemeriksaan telur cacing di dalam tinja hewan dengan menggunakan uji sedimentasi. Namun, telur cacing di dalam tinja sapi tersebut baru dapat ditemukan bila cacing *F. gigantica* sudah dewasa. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan WIEDOSARI *et al.* (1998), telur cacing *F. gigantica* pada

sapi dapat terdeteksi setelah infeksi berlangsung selama 18 minggu dan pada kerbau memerlukan waktu yang lebih lama lagi, yaitu setelah 20-30 minggu pasca infeksi. Sedangkan dengan menggunakan uji ELISA, antibodi dalam serum darah sapi yang terinfeksi fasciolosis dapat terdeteksi lebih dini, yaitu antara 2-3 minggu (GUOBADIA dan FAGBEMI, 1995). Tetapi menurut KEEGAN dan TRUDGETT (1992), tidak ada korelasi antara level antibodi dengan jumlah cacing yang ada di dalam tubuh hewan yang terinfeksi fasciolosis.

Dalam penelitian ini, uji ELISA digunakan untuk memantau fluktuasi level antibodi sapi yang diinfeksi dengan metaserkaria *F. gigantica*. Fluktuasi level antibodi tersebut dipantau sejak sapi diinfeksi, kemudian setelah pengobatan dengan *Triclabendazole*, sampai setelah infeksi ulang dengan berbagai dosis metaserkaria *F. gigantica*.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan

Pada penelitian ini digunakan 8 ekor sapi jantan yang berumur 8 bulan. Tujuh ekor sapi diinfeksi secara peroral dengan 700 metaserkaria *F. gigantica* dan satu ekor sapi tidak diinfeksi, dipakai sebagai hewan kontrol negatif. Sampel serum darah diambil setiap minggu dari sejak awal percobaan sampai akhir percobaan, untuk diukur level antibodinya terhadap antigen *F. gigantica* dengan uji ELISA. Ketika level antibodi sapi yang diinfeksi tersebut mencapai titik tertinggi, dilakukan pengobatan secara peroral dengan *triclabendazole* pada 6 ekor sapi, sedangkan 1 ekor sapi lainnya tidak diobati, dipakai sebagai hewan kontrol positif. Delapan minggu setelah pengobatan, keenam sapi tersebut diinfeksi ulang secara peroral dengan metaserkaria *F. gigantica* yang berbeda dosis. Dua ekor sapi diinfeksi dengan 400 metaserkaria, 2 ekor sapi lainnya diinfeksi dengan 600 metaserkaria dan 2 ekor sapi sisanya diinfeksi dengan 800 metaserkaria (Tabel 1).

Metaserkaria *F. gigantica*

Metaserkaria *F. gigantica* diperoleh dari siput *Lymnaea rubiginosa* yang positif terinfeksi *F. gigantica* di Kecamatan Surade, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat.

Pengobatan

Obat yang digunakan adalah *triclabendazole* (TCBZ) dengan dosis 5 ml/50kgBB/ekor sapi. Obat ini diberikan secara peroral pada saat tingkat antibodi sapi mencapai titik tertinggi. Dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa obat ini sanggup membunuh cacing *F. gigantica* muda maupun dewasa pada sapi (SUHARDONO *et al.*, 1991).

Uji ELISA

Dalam penelitian ini prosedur uji antibodi ELISA yang digunakan adalah menurut FAGBEMI dan OBORISIAGBON (1990) dan ESTUNINGSIH (1996), yang menggunakan protein antigen dari cacing *F. gigantica* dewasa dengan konsentrasi protein 10 µl/ml. Protein antigen tersebut dilarutkan dalam larutan *carbonate buffer* pH 9,5, lalu dilapiskan pada setiap lubang di *ELISA-plate* (96 lubang dengan dasar datar), sebanyak 100 µl/lubang, lalu diinkubasi selama semalam pada suhu 4°C. Kemudian dicuci 3 kali dengan larutan *phosphate buffer saline* yang mengandung 0,05% Tween-20 (PBST), dan diblok dengan 0,2% *casein*, lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar. Setelah *ELISA-plate* tersebut dicuci 3 kali dengan larutan PBST, serum darah sapi, baik yang terinfeksi maupun hewan kontrol positif dan negatif, dengan pengenceran 1:100 dimasukkan ke dalam setiap lubang pada *ELISA-plate* (satu sampel 2 lubang @ 100 µl/lubang = duplikasi), lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Setelah *ELISA-plate* dicuci seperti di atas, *conjugate goat anti-bovine IgG* yang berlabel dengan *horse radish peroxidase* dengan pengenceran 1:1000 ditambahkan ke dalam setiap lubang pada *ELISA-plate*, sebanyak 100 µl/lubang, lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Kemudian *ELISA-plate* dicuci lagi dan masukkan 100 µl/lubang larutan *enzyme substrate* ABTS (0,55 mg/ml dalam *citrate buffer* pH 4,2). Tunggu ± 15 sampai timbul warna kehijauan, lalu level antibodi di dalam serum darah sapi tersebut ditetapkan berdasarkan nilai *optical density* (OD) yang diperoleh dari hasil pembacaan *ELISA-plate* melalui mesin baca ELISA pada panjang gelombang 405 nm.

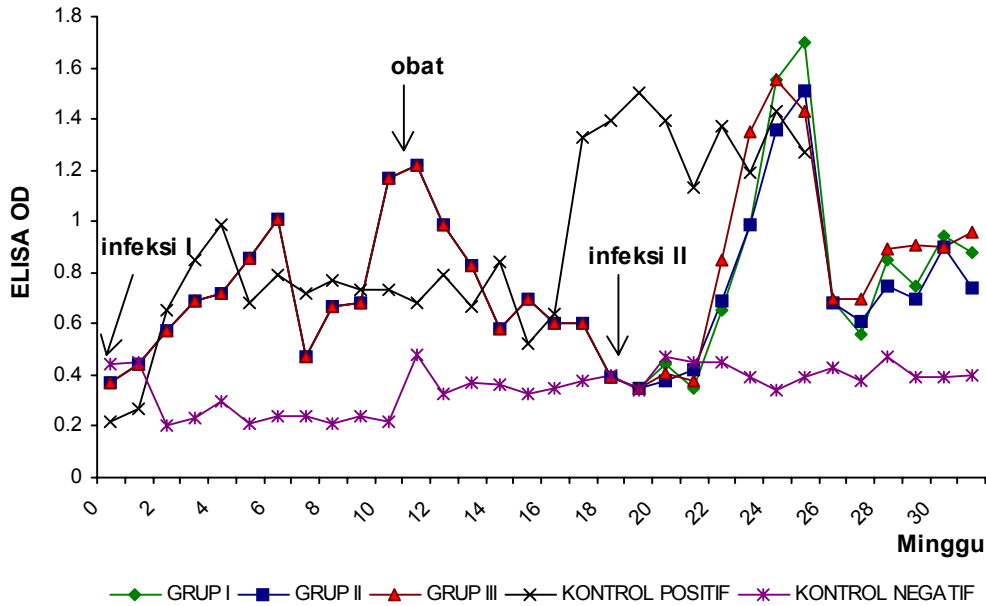
Tabel 1. Ringkasan perlakuan terhadap hewan percobaan sapi yang diinfeksi dengan metaserkaria (mc) *Fasciola gigantica*

Sapi (8 ekor)	Infeksi I 700 mc	Obat cacing Triclabendazole	Infeksi II		
			400 mc	600 mc	800 mc
Grup I (2)	√	√	√	-	-
Grup II (2)	√	√	-	√	-
Grup III (2)	√	√	-	-	√
Kontrol +ve (1)	√	-	-	-	-
Kontrol -ve (1)	-	-	-	-	-

Keterangan : Infeksi I pada minggu ke-0; Pengobatan : pada minggu ke-11 setelah infeksi I
Infeksi II : pada minggu ke-8 setelah pengobatan

Gambar 1. Fluktuasi antibodi sapi yang diinfeksi dengan metaserkaria *Fasciola gigantica*, setelah pengobatan dan setelah infeksi ulang dengan berbagai dosis metaserkaria (mc) *Fasciola gigantica*

Keterangan : Grup I : infeksi I 700 mc, infeksi II 400 mc
 Grup II : infeksi I 700 mc, infeksi II 600 mc
 Grup III : infeksi I 700mc, infeksi II 800 mc
 Kontrol + : infeksi 700 mc, tanpa pengobatan
 Kontrol - : tanpa infeksi, tanpa pengobatan



HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemantauan reaksi respons kebal berikut level antibodi sapi dapat dilihat pada Gambar 1. Dua minggu setelah infeksi pertama dengan 700 metaserkaria *F. gigantica*, antibodi sapi mulai meningkat. Kenaikan level antibodi ini terus berlanjut sampai minggu ke-4 pada hewan kontrol positif dan minggu ke-6 pada hewan grup I, II dan III. Pada minggu berikutnya level antibodi pada hewan grup I, II dan III serta hewan kontrol positif turun. Karena grup I, II dan III mendapat perlakuan yang sama dan variasi level antibodi antara individu tidak berbeda nyata, maka level antibodi digambarkan menjadi satu nilai rata-rata level antibodi. Namun, satu minggu kemudian tingkat antibodinya mulai naik lagi hingga mencapai puncak tertinggi pada minggu ke-11 untuk hewan grup I, II dan III, sedangkan pada hewan kontrol positif puncak tertinggi level antibodinya baru terjadi pada minggu ke-19 setelah infeksi pertama. Fluktuasi level antibodi tersebut terjadi karena adanya respon kekebalan non spesifik yang merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dari sapi yang terinfeksi, karena sapi tersebut sebelumnya belum pernah terpapar metaserkaria *F. gigantica*. Respon

kekebalan non-spesifik ini merupakan upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap infeksi penyakit. Dalam respon tersebut terjadi diferensiasi sel limfosit B yang membentuk suatu populasi sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah, selain itu juga akan terbentuk sel B *memory*. Antibodi yang terbentuk tersebut akan berikatan dengan antigen, dalam hal ini cacing hati *F. gigantica*, yang dapat mengaktifkan komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut (ROITT, 1988a; MANCA *et al.*, 1988; NOSSAL, 1987). Namun berhubung antigen yang harus dihancurkan merupakan cacing yang cukup besar maka dalam penghancurannya diperlukan pengobatan. Obat yang terbukti mampu membunuh cacing hati muda dan dewasa *F. gigantica* adalah *triclabendazole* (SUHARDONO *et al.*, 1988).

Pengobatan dengan *triclabendazole* dilakukan pada saat level antibodi sapi pada grup I, II dan III mencapai puncaknya, yaitu pada minggu ke-11 setelah infeksi pertama (Gambar 1). Satu minggu setelah pengobatan, terlihat bahwa level antibodi sapi pada grup tersebut mulai menurun sampai mencapai titik terendah, yaitu pada minggu ke-19 setelah infeksi pertama (sekitar 8

minggu setelah pengobatan) dan level antibodinya sama dengan hewan kontrol negatif. Penurunan level antibodi tersebut disebabkan oleh hilangnya antigen, yaitu cacing hati *F. gigantica* yang telah dihancurkan oleh obat cacing *triclabendazole*. Sedangkan pada hewan kontrol positif, 20 minggu setelah infeksi pertama juga terjadi penurunan level antibodi. Dalam diferensiasi sel limfosit B dan pembentukan antibodi, diperlukan sel limfosit T-penolong (*T-helper*) dan sel limfosit T-penekakan. Sel limfosit T-penolong membantu produksi antibodi, sedangkan sel limfosit T-penekakan akan mengatur produksi antibodi sehingga mencapai nilai yang seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan tubuh. Mekanisme ini akibat dari reaksi umpan balik negatif antibodi itu sendiri (NOSSAL, 1987; MANCA, 1988). Oleh sebab itu penurunan level antibodi pada hewan kontrol positif ini tidak mencapai titik terendah dan tetap berfluktuasi pada level antibodi yang cukup tinggi ($OD > 0,1$).

Setelah level antibodi sapi pada grup I, II dan III mencapai titik terendah, maka dilakukan infeksi ulang dengan dosis metaserkaria *F. gigantica* yang berbeda untuk mengetahui perbedaan respon kekebalan sapi tersebut. Ternyata setelah infeksi kedua ini, ada peningkatan level antibodi yang sangat tinggi (ELISA $OD = 1,7$) dibandingkan dengan level antibodi tertinggi setelah infeksi pertama, dan waktu yang diperlukan untuk mencapai titik tertinggi tersebut lebih cepat, yaitu sekitar 5 minggu setelah infeksi, namun ternyata tidak ada perbedaan level antibodi yang nyata antara sapi grup I, II dan III (Gambar 1). Respon kekebalan yang lebih tinggi dan lebih cepat ini setelah infeksi kedua ini disebabkan respon kekebalan tersebut merupakan respon imun spesifik (*acquired immunity*), dimana tubuh sapi tersebut telah mempunyai sel B *memory* yang telah terbentuk pada infeksi pertama. Sehingga proses penghancuran antigennya pun lebih cepat dan lebih efisien (ROITT, 1988b; LANZAVECCHIA, 1988). Namun setelah mencapai titik tertinggi, level antibodi tersebut akan turun karena adanya reaksi umpan balik negatif antibodi itu sendiri dan karena tidak seluruh antigen hilang/hancur. Sehubungan dengan tidak semua antigen hilang, maka level antibodi sapi yang terinfeksi tersebut tidak dapat mencapai titik terendah seperti terjadi pada sapi setelah pengobatan dengan *triclabendazole*, bahkan level antibodinya meningkat lagi dan tetap berfluktuasi. Kejadian tersebut serupa dengan yang terjadi pada sapi kontrol negatif, walaupun level antibodinya $< 1,0$ (Gambar 1).

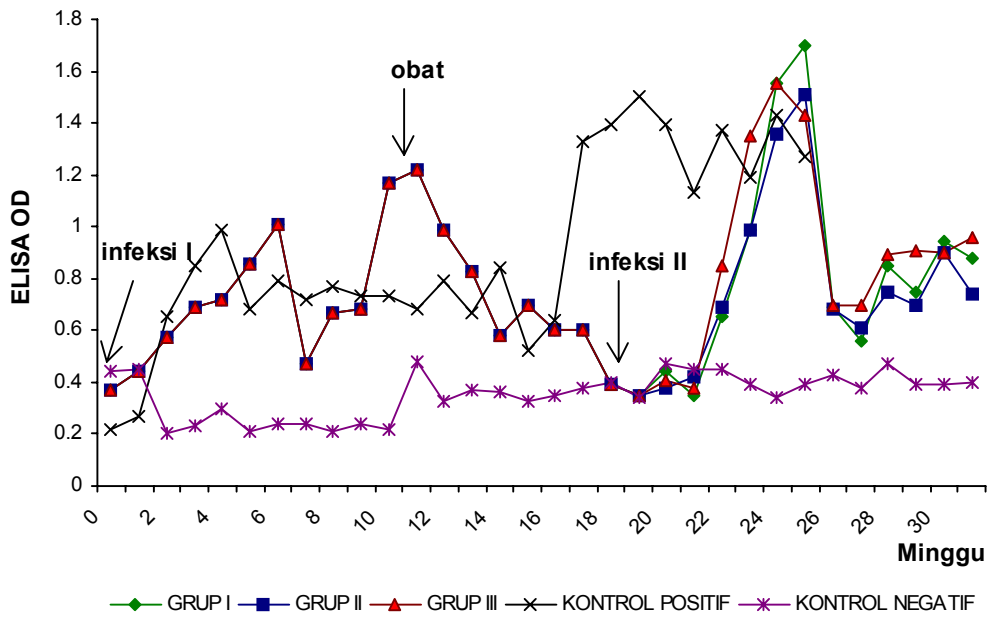
KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa uji ELISA dapat dipakai untuk diagnosa dini pada sapi yang terinfeksi fasciolosis, karena mampu mendeteksi peningkatan antibodi 2 minggu pascainfeksi. Selain itu, infeksi ulang dengan dosis metaserkaria *F. gigantica*

yang berbeda tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada respon kekebalan maupun level antibodi sapi.

DAFTAR PUSTAKA

- ESTUNINGSIH, S.E. 1996. Kelayakan uji *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk diagnosis infeksi alami *Fasciola gigantica* pada sapi. Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Bogor 12-13 Maret 1996, hlm. 200-204.
- FAGBEMI, B.O. and I.O. OBORISIAGBON. 1990. Comparative evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of natural *Fasciola gigantica* infection in cattle. *Vet. Quarterly* 12 : 35-38.
- GUOBADIA, E.E. and B.O. FAGBEMI. 1995. Time-course analysis of antibody response by EITB and ELISA before and after chemotherapy in sheep infected with *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.* 58 : 247-253.
- KEEGAN, P.S. and A. TRUDGETT. 1992. *Fasciola hepatica* in the rat : immune responses associated with the development of resistance to infection. *Parasite Immunol.* 14 : 657-669.
- LANZAVECCHIA, A. 1988. Clonal sketches of the immune response. *EMBO J.* 7 : 2945-2951.
- MANCA, F., D. FENOGLIO, A. KUNKL, C. CAMBIAGGI, G. LI PIRA and F. CELADA. 1988. B cells on the podium : regulatory roles of surface and secreted immunoglobulins. *Immunol. Today* 9 : 300-303.
- NOSSAL, G.J.V. 1987. Current concepts. Immunology : The basic components of the immune systems. *N. Engl. J. Med.* 316 : 1320-1325.
- ROITT, I.M. 1988a. The Basic of Immunology. I. Innate Immunity. *In* : Essential Immunology 6th. ed. Oxford, Blackwell Scientific Publication. p. 1-13.
- ROITT, I.M. 1988b. The acquired immune response II. Production of effectors. *In* : Essential Immunology. 6th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publication. p. 101-115.
- SUHARDONO, S. WIDJAJANTI and S. PARTOUTOMO. 1988. Freshwater snails of medical and veterinary importance in Indonesia. Paper presented for the ASIAN-PLANTI Technical Meeting on Snail and Slugs of Economic Importance. 22-24 June 1988, Bangkok, Thailand.
- 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.
- TIZZARD, I.R. 1995. Immunology An Introduction. 4th ed. Saunders College Publishing. Orlando, Florida, USA. p. 554.
- WIEDOSARI, E., S. WIDJAJANTI dan S. PARTOUTOMO. 1998. Perbedaan kepekaan kerbau dan sapi Ongole terhadap infeksi berulang dengan *Fasciola gigantica*. *J. Ilmu Ternak Vet.* 3(1) : 57-62.



Gambar 1. Fluktuasi antibodi sapi yang diinfeksi dengan metaserkaria *Fasciola gigantica*, setelah pengobatan dan setelah infeksi ulang dengan berbagai dosis metaserkaria (mc) *Fasciola gigantica*

Keterangan : Grup I : infeksi I 700 mc, infeksi II 400 mc
 Grup II : infeksi I 700 mc, infeksi II 600 mc
 Grup III : infeksi I 700mc, infeksi II 800 mc
 Kontrol + : infeksi 700 mc, tanpa pengobatan
 Kontrol - : tanpa infeksi, tanpa pengobatan