

UJI *IN VITRO* DAYA BUNUH ANTISERUM ANTIBODI DOMBA PASCA INFEKSI *FASCIOLA GIGANTICA* DENGAN ADANYA SEL MAKROFAG TERHADAP CACING HATI HOMOLOG DAN HETEROLOG

S. E. ESTUNINGSIH¹, S. WIDJAJANTI¹, S. PARTOUTOMO¹, 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 21 April 1999)

ABSTRACT

ESTUNINGSIH, S. E., S. WIDJAJANTI, S. PARTOUTOMO, and T. W. SPITHILL. 1999. In vitro killing assays of antisera antibody sheep post-infected with *Fasciola gigantica* with the presence of macrophages cells against homologous and heterologous liver flukes. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 196-201.

The previous artificial infection known that the Indonesian Thin Tail (ITT) sheep was resistance against the liver fluke of *Fasciola gigantica*, the resistances occurred in the early infection. In order to observe the immune resistance, some in vitro studies were undertaken in the laboratory, to assay the ability of the antisera antibody of ITT sheep post-infected with *F. gigantica*, with the presence of macrophages cells in killing the homologous and heterologous liver flukes. The viability of liver flukes were observed within 24-72 hours of incubation period by observing their motility (motile flukes were designated live and non-motile once were death). The results showed that after 72 hours incubation, the motilities of the *Newly Excysted Juvenile* (NEJ) of *F. gigantica* incubated with the presence of post-infected sera and macrophages cells solution were significantly lower ($P < 0.05$) than that of normal sheep sera. On the contrary, the post-infected sera and macrophages cells solution did not reduce the motilities of the NEJ of *F. hepatica*, and the death of these flukes were not significantly reduced ($P > 0.05$). It seems that the occurrence of homologous antibody to the antigens is very important in the development of killing mechanism. The absence of homologous antibody did not reduce the number of flukes or the ability of macrophages cells in killing *F. hepatica* was not apparent.

Key words : In vitro studies, ITT sheep, macrophages cells, *Fasciola gigantica*, *Fasciola hepatica*

ABSTRAK

ESTUNINGSIH, S. E., S. WIDJAJANTI, S. PARTOUTOMO, dan T. W. SPITHILL. 1999. Uji *in vitro* daya bunuh antiserum antibodi domba pasca infeksi *Fasciola gigantica* dengan adanya sel makrofag terhadap cacing hati homolog dan heterolog. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3): 196-201.

Berdasarkan penelitian infeksi buatan telah diketahui bahwa domba ekor tipis Indonesia (ITT) resisten terhadap infeksi *Fasciola gigantica*, dan resistensinya terjadi pada awal infeksi. Untuk mengetahui sifat resistensi tersebut, serangkaian pengamatan secara *in vitro* dilakukan di laboratorium, untuk menguji daya bunuh antiserum antibodi domba ITT pasca infeksi *F. gigantica* terhadap cacing hati yang homolog dan heterolog, dengan adanya sel makrofag. Viabilitas cacing diamati dalam waktu inkubasi 24-72 jam, dengan melihat pergerakan cacing (bergerak berarti hidup dan tidak bergerak berarti mati). Hasilnya memperlihatkan bahwa setelah inkubasi selama 72 jam, motilitas *Newly Excysted Juvenile* (NEJ) *F. gigantica* dalam larutan yang mengandung serum kebal dan sel makrofag jauh lebih rendah ($P < 0,05$) dan mampu menyebabkan kematian NEJ dibandingkan dengan NEJ *F. gigantica* dalam larutan yang mengandung serum normal dan sel makrofag. Sebaliknya, larutan serum kebal dan sel makrofag tidak mampu menurunkan motilitas NEJ *F. hepatica*, sehingga penurunan kematian pada NEJ *F. hepatica* tidak nyata ($P > 0,05$). Keberadaan antibodi yang homolog dengan cacing sangat berpengaruh terhadap terjadinya mekanisme kekebalan, tanpa antibodi yang homolog dapat mengurangi, bahkan menghilangkan daya bunuh sel makrofag terhadap cacing *F. hepatica*.

Kata kunci : Uji *in vitro*, domba ITT, sel makrofag, *Fasciola gigantica*, *Fasciola hepatica*

PENDAHULUAN

Dari penelitian infeksi buatan yang dilakukan oleh ROBERTS *et al.* (1997a), diketahui bahwa domba ekor tipis Indonesia (ITT) resisten terhadap infeksi cacing

hati *Fasciola gigantica*, tetapi rentan terhadap infeksi cacing hati *F. hepatica*. Resistensi domba ITT terhadap infeksi *F. gigantica* terjadi pada awal infeksi, yaitu antara 2-6 minggu pasca infeksi buatan (ROBERTS *et al.*, 1997b). Dari penelitian infeksi buatan pada hewan tikus

yang dilakukan BURDEN *et al.* (1983), diketahui bahwa resistensi tikus yang diinfeksi ulang dengan *F. hepatica* terjadi pada periode yang sangat singkat, yaitu hanya dalam waktu antara 24-48 jam setelah infeksi. Pada periode awal infeksi tersebut, larva cacing hati yang sedang migrasi menembus dinding usus melalui rongga perut menuju organ hati.

RAJASEKARIAH dan HOWELL (1977) melaporkan proses migrasi cacing pada hewan percobaan tikus, di mana cacing *Newly Excysted Juvenile* (NEJ) *F. hepatica* banyak yang mati ketika NEJ tersebut disuntikkan langsung ke dalam rongga perut tikus yang pernah terinfeksi sebelumnya. Dari hasil tersebut diduga bahwa di dalam rongga perut tikus tersebut terdapat sel pertahanan tubuh (sel makrofag, limfosit, sel mast dan lain-lain), dan antibodi yang cukup banyak yang terbentuk pada infeksi sebelumnya, sehingga bila terjadi infeksi patogen yang sama ke dalam tubuh tikus, respon kekebalannya akan meningkat. Menurut ARMOUR dan DARGIE (1974), diketahui bahwa sel pertahanan terbanyak yang terdapat di dalam rongga perut adalah sel makrofag. Sel tersebut mampu memfagositose komponen antigen cacing yang diinfeksi ke dalam rongga perut tikus, sehingga sebagian dari larva cacing tersebut mati. Percobaan secara *in vitro* yang dilakukan oleh PIEDRAFITA *et al.* (1998) menunjukkan bahwa, sel makrofag yang dikoleksi dari rongga peritoneal tikus dan diinkubasikan dengan NEJ *F. hepatica*, disertai dengan penambahan serum kebal terhadap fasciolosis, mengakibatkan presipitasi di sekitar tegumen NEJ *F. hepatica* dan berakhir dengan kematian NEJ tersebut. Dari percobaan tersebut terbukti bahwa mekanisme kekebalan terjadi karena adanya ketergantungan yang spesifik antara jenis cacing (antigen), jenis antibodi dan jenis sel pertahanan.

Pada kesempatan ini dikemukakan deteksi *in vitro* daya bunuh antiserum antibodi domba ITT pasca infeksi *F. gigantica* terhadap cacing yang homolog dan heterolog, dengan adanya sel makrofag.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan

Dalam penelitian ini digunakan 5 ekor domba ekor tipis Indonesia (ITT) yang diperoleh dari pasar hewan di Kabupaten Bogor. Domba tersebut harus bebas dari infeksi *F. gigantica*, maka sebelum dibeli, dilakukan uji ELISA (WUJFFELS *et al.*, 1994) terhadap sampel darah domba tersebut. Kemudian domba yang telah diketahui bebas dari infeksi *F. gigantica*, dipelihara di Balai Penelitian Veteriner dan setiap hari diberi makan konsentrat dan rumput *Pennisetum*

purpureum serta diberi minum air secukupnya sampai domba tersebut diperlukan untuk uji *in vitro*.

Isolasi sel makrofag (PLCs = *Peritoneal Lavage Cells*)

Dalam uji *in vitro* diperlukan PLCs yang diketahui banyak mengandung sel makrofag. Sel tersebut diperoleh dari rongga perut domba ITT. Adapun teknik isolasinya sesuai dengan teknik yang dilakukan PIEDRAFITA *et al.* (1998), secara singkat sebagai berikut : domba dipotong lehernya dengan pisau yang tajam, di daerah linea alba dibuat lubang hingga mencapai rongga perut (± 5 cm). Untuk menghindari kontaminasi, maka sebelum disayat daerah di sekitar linea alba dibersihkan dengan ethanol 70%. Melalui lubang tersebut dimasukkan 2 liter larutan PBS steril yang mengandung 6 mM EDTA ke dalam rongga perut domba tersebut. Domba tersebut dipegang keempat kakinya, diangkat dan dikocok selama ± 3 menit, pada saat mengocok diusahakan agar larutan yang dimasukkan tadi tidak tumpah. Setelah 3 menit, larutan PBS dikoleksi kembali dengan menggunakan *syring* steril berukuran 50 ml, dan ditampung di dalam botol steril. Larutan tersebut dipusingkan dengan alat sentrifuge pada kecepatan 1.500 RPM selama 5 menit. Setelah sentrifugasi, supernatan dibuang, endapan dilarutkan dalam 10 ml. larutan RPMI-1640 tanpa *phenol red*; larutan ini ditambah 10 μ l/ml gentamycin, 2 μ l/ml fungizone dan 20% *Foetal Calf Serum* (FCS). Estimasi jumlah sel makrofag yang masih hidup dilakukan dengan cara mengambil 10 μ l larutan sel tersebut di atas, diencerkan 5x dengan PBS dan ditambah dengan 50 μ l *trypan blue* (0,4% w/v), sel tersebut dimasukkan ke dalam alat *haemocytometer* dan dihitung jumlahnya di bawah mikroskop. Kematian sel ditandai dengan terserapnya warna biru dari *trypan blue*, sedangkan sel yang hidup tidak berwarna.

Isolasi *Newly Excysted Juvenile* (NEJ) *F. gigantica* dan *F. hepatica*

NEJ cacing *F. gigantica* dan *F. hepatica* diperoleh dengan cara menetasakan metaserkaria *F. gigantica* dan *F. hepatica* di laboratorium. Metaserkaria *F. gigantica* diperoleh dari siput *Lymnaea rubiginosa* yang diambil dari Kecamatan Surade, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat; sedangkan metaserkaria *F. hepatica* diperoleh dari *Compton Paddock Laboratories*, Inggris.

Teknik penetasan metaserkaria mengikuti prosedur HANNA *et al.* (1975) secara singkat sebagai berikut : Metaserkaria *F. gigantica* dan *F. hepatica* ditempatkan di dalam tabung yang berbeda, dicuci dengan akuades steril, masing-masing direndam dalam

larutan 1% pepsin (0,1g/10 ml) dan 0,4% HCl (40 µl/10 ml), diinkubasikan pada suhu 37°C selama 45 menit untuk metaserkaria *F. gigantica* dan selama 30 menit untuk metaserkaria *F. hepatica*. Setelah diinkubasi, kedua metaserkaria tersebut dicuci dengan akuades steril sebanyak dua kali. Metaserkaria *F. gigantica* kemudian direndam dalam larutan 1% NaHCO₃ (0,1 g/10 ml), 0,8% NaCl (0,08 g/10 ml), 0,2% asam taurokholat (0,02 g/10 ml), dan 0,02 M Na-hidrosulfit (0,035 g/10 ml), tetapi untuk metaserkaria *F. hepatica* tanpa asam taurokholat. Sebanyak 50 µl HCl ditambahkan, selanjutnya diinkubasikan lagi pada suhu 37°C seperti inkubasi sebelumnya. Setelah inkubasi, metaserkaria *F. gigantica* dicuci dengan akuades steril dua kali dan ditempatkan pada saringan (*excystment tower*) yang berukuran 100 µm dan direndam dalam RPMI-1640 tanpa *phenol red* yang mengandung 10% serum normal (SN) domba dan 10 µg/ml gentamycin, kemudian diinkubasi selama satu malam pada suhu 37°C di dalam inkubator CO₂. Pada hari berikutnya, larutan perendam metaserkaria diganti dengan larutan yang sama dengan larutan yang dipakai untuk melarutkan sel makrofag, kemudian NEJ *F. gigantica* yang keluar dari cangkang metaserkaria diambil untuk digunakan dalam uji *in vitro*. Sementara itu untuk metaserkaria *F. hepatica*, setelah dicuci, metaserkaria tersebut langsung direndam dalam larutan yang sama dengan larutan yang dipakai untuk melarutkan sel tetapi FCS-nya diganti dengan 0,2% asam taurokholat, diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, metaserkaria *F. hepatica* dicuci dengan RPMI-1640 tanpa *phenol red* untuk meng-hilangkan asam taurokholat, kemudian dipindahkan ke saringan dan direndam dengan larutan yang sama dengan larutan yang dipakai untuk melarutkan sel makrofag, selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂, maka akan diperoleh NEJ *F. hepatica* yang siap digunakan untuk uji *in vitro*.

Koleksi serum normal dan serum kebal

Serum normal dikoleksi dari domba ITT yang bebas dari infeksi *F. gigantica*, sedangkan serum kebal diperoleh dari domba ITT yang diinfeksi buatan dengan metaserkaria *F. gigantica* dan dikoleksi pada minggu ke-8 setelah infeksi. Serum tersebut disimpan dalam freezer pada suhu -20°C sampai digunakan dalam uji *in vitro*.

Uji *in vitro* antara sel makrofag dengan NEJ *F. gigantica* dan NEJ *F. hepatica*

Dalam uji *in vitro* digunakan cawan mikrokultur steril dengan 96 lubang dan berdasar datar (NUNCLON DELTA). Tiga lubang pada baris B, C, E, dan F, masing-

masing diisi dengan 4 ekor NEJ *F. gigantica* yang direndam dalam 200 ml RPMI-1640 tanpa *phenol red* yang mengandung 2 µg/ml fungizone, 10 µl/ml gentamycin dan 20% FCS, lalu ditambah 0,5 µg/ml lipopolisakarida (LPS) *Escherichia coli* dari *Division of Animal Health*, CSIRO, Melbourne, Australia, dan 2 x 10⁵ sel makrofag (PLCs). Sementara itu, 3 lubang pada baris A dan D digunakan sebagai kontrol, dengan perlakuan yang sama seperti di atas tetapi tidak ditambah PLCs. Ke dalam 3 lubang pada baris A, B dan C ditambahkan 10% serum normal (SN) domba, sedangkan pada baris D, E dan F ditambahkan 10% serum kebal (SK) domba yang diinfeksi dengan *F. gigantica* di bawah kondisi laboratorium. Kemudian pada baris C dan F ditambahkan 0,5 mM Monomethyl L-arginine (L-NMMA). Cawan tersebut kemudian diinkubasikan selama 72 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator CO₂. Kondisi NEJ di dalam cawan tersebut dipantau motilitasnya setiap 24 jam dengan menggunakan mikroskop inversi dan dihitung persentase motilitas dan kematiannya. Uji *in vitro* antara sel makrofag dengan NEJ *F. hepatica* juga dilakukan dengan prosedur yang sama seperti di atas. Percobaan ini dilakukan dalam lingkungan yang steril dengan lima kali ulangan, dan pada setiap pengulangan dilakukan pada dua cawan mikrokultur yang berbeda (duplikasi).

Uji statistik

Uji statistik dilakukan pada seluruh hasil pengamatan uji *in vitro*, terutama pada pengamatan setelah inkubasi selama 72 jam, dengan menggunakan ANOVA (*Fisher's pairwise*) dalam program statistik MINITAB release 10.51 extra for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap motilitas NEJ *F. gigantica* dan *F. hepatica* disarikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Setelah 72 jam inkubasi, persentase motilitas NEJ *F. gigantica* pada kelima percobaan sangat bervariasi. Pada percobaan I-V, dapat dilihat bahwa cacing NEJ *F. gigantica* yang diinkubasikan di dalam larutan yang mengandung sel makrofag dan serum kebal, yang hidup (motil) lebih rendah dibandingkan dengan NEJ *F. gigantica* yang diinkubasikan di dalam larutan yang mengandung sel makrofag dan serum normal (Tabel 1). Pada perlakuan NEJ *F. gigantica* dengan serum normal (SN + LPS), motilitas lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan serum kebal (SK + LPS), baik pada percobaan I maupun sampai percobaan V, dan perbedaan motilitas tersebut sangat signifikan ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan terdapat pengaruh serum kebal (SK) atau antibodi cacing hati, dan

pengaruh ini hanya terjadi pada cacing yang homolog. Pada perlakuan (SN+LPS+PLCs) terdapat penurunan tingkat motilitas NEJ *F. gigantica*, namun motilitasnya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan (SK+LPS+PLCs), dan penurunan motilitas tersebut juga sangat signifikan ($P < 0,05$). Perlakuan ini menunjukkan adanya pengaruh interaksi antara serum kebal (SK) dan PLCs (sel makrofag) terhadap cacing *F. gigantica*. Penambahan larutan LNMMA tampaknya tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah motilitas cacing pada semua percobaan (I-V). Fungsi LPS dan LNMMA pada percobaan ini masing-masing adalah untuk meningkatkan dan menghambat produksi nitrit oksida (NO), tetapi produksi NO pada percobaan ini tidak diamati.

Pada perlakuan terhadap NEJ *F. hepatica*, penambahan sel makrofag, serum kebal atau LNMMA tidak mampu menurunkan motilitas cacing secara nyata ($P > 0,05$), dan antisera terhadap *F. gigantica* tidak dapat membunuh cacing *F. hepatica*. Hasil uji motilitas jenis cacing ini menunjukkan bahwa yang berperan dalam membunuh cacing adalah antibodi yang homolog dengan sifat antigenik cacing *F. gigantica* dan terbukti pula bahwa sel makrofag dari PLCs domba ITT tidak mampu membunuh cacing *F. hepatica* ($P > 0,05$) (Tabel 2). Hasil ini sangat berbeda dengan hasil pengamatan PIEDRAFITA (1995), dengan menggunakan sel makrofag tikus dan serum kebal yang mengandung antibodi homolog dengan antigen, dapat menyebabkan kematian NEJ *F. hepatica* sampai lebih dari 60%.

Tabel 1. Pengamatan persentase motilitas NEJ *F. gigantica* pada perlakuan serum normal dan serum kebal, dengan penambahan sel makrofag

Serum	Ulangan	Persentase motilitas cacing <i>F. gigantica</i> secara <i>in vitro</i> dengan perlakuan dalam											
		SN + LPS (jam)				SN + LPS + PLCs (jam)				SN + LPS + PLCs + LNMMA (jam)			
		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Normal	I	100	97	92	90	100	90	74	59	100	100	81	81
	II	100	100	85	77	100	86	62	44	100	92	63	54
	III	100	100	100	100	100	92	92	84	100	96	86	79
	IV	100	100	100	95	100	95	95	87	100	95	79	68
	V	100	100	100	94	100	100	91	79	100	96	89	62
	Jumlah	500	497	477	456	500	463	414	353	500	479	398	344
	Rataan	100	99,4	95,4	91,2	100	92,6	82,8	70,6	100	95,8	79,6	68,8
	SD	0	1,3	6,8	8,7	0	5,3	14,2	18,4	0	2,9	10,1	11,4
	Ulangan	SK + LPS (jam)				SK + LPS + PLCs (jam)				SK + LPS + PLCs + LNMMA (jam)			
		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Kebal	I	100	92	76	68	100	74	56	39	100	87	58	38
	II	100	96	77	71	100	63	38	17	100	90	58	18
	III	100	100	74	61	100	93	52	20	100	96	58	31
	IV	100	96	96	82	100	88	88	28	100	91	91	44
	V	100	86	76	66	100	75	69	30	100	97	67	50
	Jumlah	500	470	399	348	500	393	303	134	500	461	332	181
	Rataan	100	94	79,8	69,6	100	78,6	60,6	26,8	100	92,2	66,4	36,2
	SD	0	5,3	9,1	7,8	0	12	18,9	8,7	0	4,2	14,3	12,4

Keterangan :

- SN = serum normal
- SK = serum kebal
- LNMMA = monomethyl L-arginine
- PLCs = *Peritoneal Lavage Cells*, mayoritas sel makrofag
- LPS = Lipopolisakarida *Escherisia coli*
- SD = standar deviasi

Tabel 2. Pengamatan persentase motilitas NEJ *Fasciola hepatica* pada perlakuan serum normal dan serum kebal, dengan penambahan sel makrofag

Persentase motilitas cacing <i>F. hepatica</i> secara <i>in vitro</i> dengan perlakuan dalam											
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Serum	Ulangan	SN + LPS (jam)				SN + LPS + PLCs (jam)				SN + LPS + PLCs + LNMMA (jam)			
		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Normal	I	100	100	96	96	100	100	100	97	100	100	100	100
	II	100	100	100	100	100	100	89	72	100	100	90	71
	III	100	100	100	96	100	100	95	96	100	100	100	100
	IV	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95	94	94
	V	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Jumlah	500	500	496	492	500	500	484	465	500	495	484	465
	Rataan	100	100	99,2	98,4	100	100	96,8	93	100	99	96,8	93
	SD	0	0	1,8	2,2	0	0	4,9	11,9	0	2,2	4,6	12,6
	Ulangan	SK + LPS (jam)				SK + LPS + PLCs (jam)				SK + LPS + PLCs + LNMMA (jam)			
		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Kebal	I	100	100	92	92	100	96	92	92	100	100	100	100
	II	100	100	100	94	100	100	94	89	100	100	85	85
	III	100	100	95	95	100	100	95	95	100	100	92	92
	IV	100	100	100	95	100	100	100	94	100	100	100	90
	V	100	100	95	95	100	100	94	88	100	100	100	95
	Jumlah	500	500	482	471	500	496	475	458	500	500	477	462
	Rataan	100	100	96,4	94,2	100	99,2	95	91,6	100	100	95,4	92,4
	SD	0	0	3,5	1,3	0	1,8	3	3	0	0	6,8	5,6

Keterangan :

SN = serum normal

SK = serum kebal

PLCs = *Peritoneal Lavage Cells*, mayoritas sel makrofag

LNMMA = monomethyl L-arginine

LPS = Lipopolisakarida *Escherisia coli*

SD = standar deviasi

Kematian NEJ *F. gigantica* ditandai dengan terbentuknya presipitasi pada sekeliling dinding luarnya, sehingga bentuk cacing menjadi tidak beraturan dan tidak dapat bergerak. Menurut DUFFUS dan FRANK (1980) dan LAMMAS dan DUFFUS (1983), presipitasi tersebut merupakan suatu ikatan antigen-antibodi kompleks. Sementara itu menurut JAMES dan GLAVEN (1989), kematian tersebut terjadi karena sel makrofag menempel di sekitar tubuh cacing. Bentuk kematian NEJ *F. gigantica* sama dengan bentuk yang terjadi pada kematian schistosomula dari *Schistosoma mansoni* yang diinkubasikan dalam PLCs (MCLAREN dan JAMES, 1985).

Antibodi di dalam serum kebal dapat menetralkan antigen hidup cacing yang homolog, sehingga cacing menjadi tidak aktif, maka sel makrofag dapat menangkap dan memfagositosis cacing. Menurut YASMEEN (1981) dan FLEIT *et al.* (1986), sel makrofag hanya dapat bekerja dengan baik bila ada antibodi IgG₁. Dari penelitian yang dilakukan HANSEN *et al.* (1999), diketahui bahwa domba ITT yang terinfeksi fasciolosis memiliki titer antibodi IgG₁ yang sangat tinggi (hampir 40.000) dan peningkatannya terlihat sejak dua minggu setelah infeksi, kemudian menurun sampai minggu ke-9 setelah infeksi. Dari penelitian yang sama diketahui

pula bahwa domba ITT tidak mempunyai atau tidak mampu menghasilkan antibodi IgG₂ setelah diinfeksi dengan *F. gigantica*. Namun, untuk membuktikan bahwa hanya antibodi IgG₁ yang mampu meningkatkan proses fagositosis sel makrofag, perlu dilakukan suatu pengamatan *in vitro* lanjutan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dalam percobaan ini terbukti bahwa untuk membunuh cacing *F. gigantica*, sel makrofag memerlukan antibodi homolog dengan cacing, pengaruh antibodi tersebut sangat dominan terhadap daya bunuh sel makrofag. Tidak adanya antibodi yang homolog, pengaruh sel makrofag terhadap daya bunuh cacing *F. hepatica* tidak nyata. Dari percobaan ini dapat disimpulkan bahwa, tidak ada proteksi silang dari serum domba kebal pasca infeksi *F. gigantica* terhadap cacing *F. hepatica*. Teknik yang di-kemukakan ini dapat diaplikasikan untuk evaluasi daya lindung antibodi serum pasca vaksinasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Australian Centre for International Agricultural Research* (ACIAR) yang telah memberi bantuan dana melalui ACIAR Project 9049. Ucapan terima kasih penulis sampaikan juga kepada teknisi di Kelompok Peneliti (Kelti) Parasitologi, Balai Penelitian Veteriner, yang telah membantu kelancaran dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ARMOUR, J. and J.D. DARGIE. 1974. Immunity to *Fasciola hepatica* in the rat. *Exp. Parasitol.* 35 : 381-388.
- BURDEN, D. J., A. P. BLAND, N. C. HAMMET, and D. L. HUGHES. 1983. *Fasciola hepatica* : Migration of newly excysted juvenile in resistant rats. *Exp. Parasitol.* 56 : 277-288.
- DUFFUS, W.P.H. and D. FRANK. 1980. In vitro effect of immune serum and bovine granulocytes on juvenile *Fasciola hepatica*. *Clin. Exp. Immunol.* 41 : 430-440.
- 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.
- HANNA, R.E.B., S.S. BAALAWY, and W. JURA. 1975. Methods for in vitro study on the invasive processes of *Fasciola gigantica*. *Res. Vet. Sci.* 19 : 96-97.
- 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).
- HUGHES, D.L. 1987. *Fasciola* and fascioloides. In : *Immune responses in parasitic infection : Immunology, Immunopathology, and Immunoprophylaxis*. Vol. II. Trematodes and Cestodes. SOULSBY, E.J.L. (ed.). CRC Press, Florida. pp. 91-114
- JAMES, S.L. and J.A. GLAVEN. 1989. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediate. *J. Immunol.* 143 : 4208-4212.
- LAMMAS, D.A. and W.P.H. DUFFUS. 1983. The shedding of the outer glycocalyx of juvenile *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.* 12 : 65.
- MCLAREN, D.J. and S.L. JAMES. 1985. Ultrastructural studies of the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by activated macrophages *in vitro*. *Parasite Immunol.* 7 : 315-331.
- PIEDRAFITA, D.M. 1995. Immune Mechanism of Killing of Juvenile *Fasciola hepatica*. Ph.D. Thesis. La Trobe University, Victoria, Australia.
- PIEDRAFITA, D.M., T.W. SPITHILL, R.M. SANDERMAN, P.R. WOOD, S.E. ESTUNINGSIH, S. PARTOUTOMO, and J.C. PARSONS. 1998. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity to newly excysted juvenile *Fasciola hepatica* in vitro by reactive nitrogen intermediates. *Int. J. Parasitol.* (in press).
- RAJASEKARIAH, G.R. and M.J. HOWELL. 1977. The fate of *Fasciola hepatica* metacercariae following challenge infection of immune rats. *J. Helminth.* 51 : 289-294.
- 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.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.
- 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.
- YASMEEN, D. 1981. Antigen-specific cytophilic activity of sheep IgG1 and IgG2 antibodies. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 59 : 297-302.

