

HUBUNGAN ANTARA JUMLAH INFESTASI CACING HATI DENGAN NILAI TOTAL EOSINOFIL DAN NILAI PCV PADA DOMBA YANG DIINFEKSI *FASCIOLA GIGANTICA*

(Correlation Between The Number of Liver Fluke with Eosinophil and PCV on Sheep Infected with *Fasciola gigantica*)

S. WIDJAJANTI, ¹ ENDAH ESTUNINGSIH¹, S. PARTOUTOMO¹, H.W. RAADSMA², T.W. SPITHILL³ dan D. PIEDRAFITA⁴

¹ Balai Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata 30, Bogor 16114, Indonesia

² University of Sydney, Camden, Australia

³ McGill University, Montreal, Canada

⁴ Dept. Biochemistry and Molecular Biology, Monash University, Melbourne, Australia

ABSTRACT

The correlation between the number of liver flukes recovered from the liver, eosinophil counts and packed cell volume (PCV) were verified in the infected sheep. Fifteen Indonesian thin tail sheep (ITT), 9 Merino sheep and 148 backcross sheep generated from mating of Merino sheep and F1 sheep (Merino X ITT cross) were subsequently infected with 300 metacercariae of *Fasciola gigantica*. The blood samples were collected every 2 weeks by using EDTA venoject tubes in order to determine the amount of eosinophils and the PCV value. After 14 weeks of infection all of the sheep were killed and the liver was collected in order to determine the number of flukes. The results showed that the amount of eosinophils increased 2 weeks after infection and reached the peak at week 4 after infection. The amount of eosinophils in ITT appeared higher than the other 2 breeds (the average of eosinophil counts in the Merino was the lowest and the backcross was on average in between). The correlation between the number of liver flukes recovered from the liver and the eosinophil counts were positive in ITT and Merino sheep, but negative in the backcross sheep. The PCV values remained constant along the infection, except at week 14 after infection; the PCV values decreased in backcross sheep and Merino sheep, but not in ITT sheep. The correlation between increasing number of liver flukes in the liver and the PCV values were negative in all breeds of sheep. These results suggested that eosinophilic response of ITT was significantly higher compared to backcross and Merino sheep, and that response was thought to be associated with the resistant phenomenon.

Key words: Fasciolosis, eosinophil, PCV, sheep

PENDAHULUAN

Fasciolosis yang disebabkan oleh *Fasciola gigantica* pada ternak masih merupakan penyakit parasiter yang mengakibatkan kerugian ekonomi sampai Rp. 513,6 milyar setiap tahun (ANONYMOUS, 1990) sebagai akibat terjadinya kematian, penurunan berat badan dan diapkirmya organ tubuh pada ternak. Berbagai cara pengendalian fasciolosis di lapangan telah dilakukan seperti dengan pengobatan, pengendalian biologis dan kombinasi cara tersebut serta tata laksana manajemen, tetapi hasilnya belum memenuhi harapan.

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa domba ekor tipis (DET) merupakan domba yang mempunyai daya resistensi yang lebih tinggi terhadap infeksi fasciolosis (*F. gigantica*) dibandingkan dengan domba Merino (WIEDOSARI dan COPEMAN, 1990; ROBERTS *et al.*, 1997a), dan sifat resistensi tersebut diturunkan kepada anaknya (ROBERTS *et al.*, 1997b).

Fenomena resistensi terhadap fasciolosis pada DET merupakan informasi penting di dalam strategi pengendalian fasciolosis di Indonesia, apalagi apabila

resistensi tersebut diturunkan secara genetik. Peningkatan jumlah eosinofil dan penurunan nilai *pack cell volume* (PCV) darah secara umum telah diketahui merupakan dua indikator terjadinya infeksi parasit. Eosinofil merupakan sel pertahanan tubuh terhadap infeksi parasit, terutama parasit cacing dan sel ini akan menelan dan menghancurkan cacing yang masuk ke dalam tubuh hewan melalui proses fagositosis (TIZARD, 1995). Sedangkan penurunan nilai PCV sebagai gambaran terjadinya penurunan jumlah sel darah merah dan penurunan kadar hemoglobin di dalam darah (SIEGMUND *et al.*, 1979). Eosinofil merupakan sel darah yang dominan pada infeksi cacing (OVINGTON & BEHM, 1977), dan secara *in vitro* telah dibuktikan bahwa eosinofil, bersama dengan sel makrofak, merupakan sel yang dominan pada domba yang diinfeksi *F. gigantica* (ESTUNINGSIH *et al.*, 2002). Mengenai arti respon eosinofil pada infeksi parasit, ada dua golongan pendapat. Pendapat pertama menyatakan bahwa level eosinofil dalam sirkulasi darah perifer berkaitan erat dengan tingkat resistensi pada domba yang diinfeksi dengan *Trichostrongylus colubriformis* (DAWKINS *et al.*, 1989; ROTHWELL *et al.*, 1993); pendapat ini didukung oleh BUDDLE *et al.* (1992) yang menyatakan

bahwa level eosinofil di dalam darah perifer berbanding terbalik dengan jumlah telur cacing dalam tinja domba NZ Ramney yang diinfeksi *T. colubriformis*. Hasil yang sama diperoleh pada infeksi *Ostertagia circumcincta* pada domba Scottish Blackface (STEAR *et al.*, 1995) dan respon eosinofil yang tinggi berkaitan dengan resistensi alam pada domba Red Maasai dan Scottish Blackface terhadap infeksi *O. circumcincta* (STEAR dan MURRAY, 1994). Pendapat kedua antara lain menyatakan bahwa tidak ada perbedaan level eosinofil yang signifikan di dalam sirkulasi darah antara domba yang resisten dan yang peka, yang diinfeksi dengan *Haemonchus contortus* (GILL, 1991). Sedangkan BEH dan MADDOX (1996) menyatakan bahwa level eosinofil dalam sirkulasi darah perifer tidak dapat digunakan sebagai indikator untuk menentukan jumlah infestasi cacing.

Pada penelitian ini dilakukan uji *in vivo* untuk mengetahui hubungan antara jumlah eosinofil total dengan jumlah cacing hati *F. gigantica* yang ditemukan di dalam hati domba DET, Merino dan domba hasil persilangan antara keduanya; dan kemungkinan kaitannya dengan daya resistensi. Selain itu diamati pula pengaruh infeksi fasciolosis terhadap nilai PCV.

METODOLOGI

Hewan percobaan

Dalam penelitian ini digunakan 3 jenis bangsa domba, yaitu 15 ekor domba ekor tipis Indonesia (DET), 9 ekor domba Merino asal Australia dan 148 ekor domba hasil persilangan (*backcross* – BC) antara domba Merino dengan domba F1 (Merino X DET). Seluruh domba tersebut merupakan hasil *breeding* (lahir dan dibesarkan) di kandang percobaan Balitvet yang berada di Cimanglid, Bogor.

Infeksi dengan metaserkaria *F. gigantica*

Seluruh domba yang digunakan dalam penelitian ini diinfeksi dengan 300 metaserkaria *F. gigantica* yang berasal dari kecamatan Surade, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat.

Setelah 14 minggu diinfeksi, seluruh domba tersebut dibunuh untuk dikoleksi cacing hatinya, kemudian jumlah cacing hati tersebut dihitung. Dari jumlah cacing hati yang diperoleh tersebut kemudian ditentukan korelasinya dengan peningkatan ataupun penurunan jumlah eosinofil dalam darah, maupun nilai PCV-nya.

Sampel darah

Sampel darah dikoleksi setiap 2 minggu sekali setelah domba tersebut diinfeksi dengan metaserkaria *F. gigantica*, sampai hewan tersebut dibunuh, yaitu 14 minggu setelah infeksi. Sampel darah tersebut dikoleksi

dengan menggunakan tabung *venoject* 5 ml. yang mengandung *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA), kemudian diproses lebih lanjut untuk pengukuran PCV dan penghitungan eosinofil. Adapun cara pengukuran PCV dan penghitungan eosinofil adalah sebagai berikut :

a. Pengukuran PCV (SIEGMUND *et al.*, 1979)

Darah domba dalam tabung *venoject* ber-EDTA diambil dengan menggunakan tabung kapiler (*haematocrit*), lalu disumbat dengan *crystoseal*. Setelah disumbat, tabung kapiler tersebut disentrifus selama 5 menit. Setelah disentrifus, tabung kapiler tersebut diletakkan pada *haematocrit chart*, lalu ditentukan nilai PCV-nya

b. Penghitungan eosinofil (SPITHILL, personal communication)

Darah domba di dalam tabung *venoject* ber-EDTA dirotasi pada *rotating drum* selama 5 menit. Lalu ambil darah tersebut sebanyak 100 µl, kemudian tambahkan dengan 900 µl larutan Carpentier's, kemudian dikocok. Setelah tercampur, ambil larutan darah tersebut kemudian masukkan dalam *Haemocytometer chamber*. Penghitungan eosinofil dilakukan pada 5 kotak dalam ruang *Haemocytometer chamber*, yaitu 4 kotak di bagian luar dan 1 kotak di tengah-tengah. Kemudian jumlah eosinofil total ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

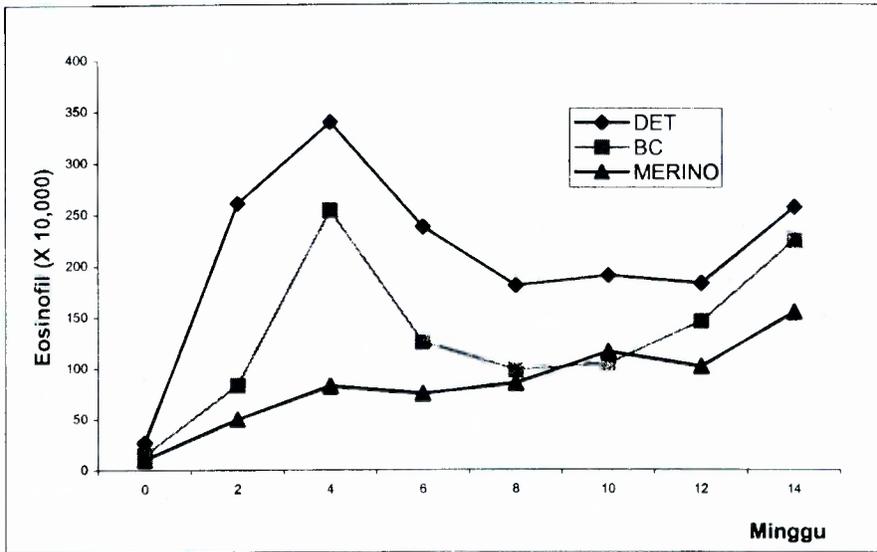
$$\text{Jumlah eosinofil/ml.} = \frac{\text{Jumlah eosinofil terhitung} \times \text{pengenceran}}{\text{Volume} \times \text{jumlah kotak}} \times 10^3$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan antara jumlah eosinofil dan jumlah cacing.

Hasil pengamatan jumlah eosinofil domba setelah diinfeksi dengan *F. gigantica* dapat dilihat pada Gambar 1. Dua minggu setelah infeksi terjadi peningkatan jumlah eosinofil, selanjutnya jumlah eosinofil terus meningkat dan mencapai jumlah tertinggi pada minggu ke-4 setelah infeksi. Hasil ini sama dengan hasil yang diperoleh oleh CHARBON *et al.* (1991) yang menginfeksi tikus dengan metaserkaria *F. hepatica*. Respon ini merupakan kejadian yang umum bila hewan mendapat infeksi parasit cacing, dimana jumlah eosinofil di dalam darah akan meningkat (CHENG, 1986). Di dalam pengamatan ini terlihat bahwa peningkatan jumlah eosinofil pada DET dan domba *backcross* jauh lebih tinggi dibandingkan dengan pada domba Merino.

Pada DET, domba Merino dan *backcross* yang diinfeksi dengan *F. gigantica* didapatkan bahwa DET mempunyai jumlah cacing yang relatif paling rendah; jumlah terbanyak ditemukan pada domba Merino dan domba *backcross* berada diantaranya. (Tabel 1).



Gambar 1. Gambaran jumlah eosinofil pada domba yang diinfeksi selama 14 minggu dengan 300 metaserkaria *Fasciola gigantica*

Tabel 1. Jumlah cacing *Fasciola gigantica*, jumlah eosinofil total (minggu 4 pasca infeksi) dan nilai PCV (minggu ke 14 pasca infeksi) pada domba DET, domba Merino dan domba *backcross*

Domba	Jumlah cacing <i>F. gigantica</i>	Eosinofil ($10^4/\text{ml.}$)	PCV
DET	9 – 56 (33)	166 – 796 (340)	18 – 37 (27)
Merino	18 – 80 (39)	14 – 162 (82)	15 – 27 (22)
<i>Backcross</i>	6 – 79 (32)	24 – 996 (254)	11 – 30 (22)

Apabila diperhatikan hubungan antara jumlah cacing dengan jumlah eosinofil pada minggu ke-4 pasca infeksi, maka terdapat korelasi positif antara jumlah eosinofil dan jumlah cacing pada DET dan domba Merino (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak cacing hati *F. gigantica* ada di dalam hati semakin tinggi pula jumlah eosinofil di dalam darah terutama pada minggu ke 4 pasca infeksi, walaupun pada kenyataannya jumlah eosinofil pada domba DET jauh lebih tinggi daripada pada domba Merino. Namun, tidak demikian halnya pada domba *backcross*, pada domba jenis ini korelasi antara jumlah eosinofil dan jumlah cacing adalah negatif, walaupun kenyataan menunjukkan jumlah eosinofil pada domba *backcross* hampir sama banyak dengan domba DET (Gambar 1, 2 dan Tabel 1). Dari Gambar 1 dan 2 dapat pula dijelaskan bahwa domba DET sebagai salah satu jenis domba yang paling resisten terhadap infeksi *F. gigantica* (WIEDOSARI dan COPEMAN, 1990; ROBERTS *et al.*, 1997b) memberikan respon eosinofil yang paling

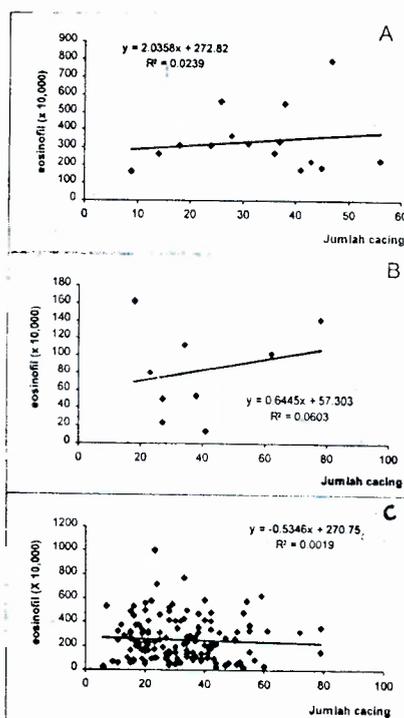
tinggi, kemudian diikuti oleh domba *backcross* dan akhirnya Merino. Hal ini mendukung pernyataan yang menyatakan bahwa level eosinofil memang berkaitan dengan tingkat resistensi (DAWKINS *et al.*, ROTHWELL *et al.*, 1993), dan domba yang lebih resisten terhadap infeksi cacing memberikan respon eosinofil yang lebih tinggi dibanding dengan domba yang peka (STEAR dan MURRAY, 1994). Meskipun pernyataan tersebut berbeda dengan GILL (1991) yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan level eosinofil yang signifikan antara domba yang resisten dan yang peka. Selanjutnya pendapat lain mengenai pendapat yang berbeda tentang perbedaan respon eosinofil antara domba yang resisten dan yang peka tersebut menyatakan bahwa hal tersebut berkaitan erat dengan jenis parasit yang berbeda (PERNTHANER *et al.*, 1995). Dari pendekatan imunologi, hasil penelitian ini dapat dijelaskan pula bahwa domba DET mampu memobilisasi eosinofil paling banyak, diikuti oleh domba *backcross* dan akhirnya Merino, sehingga domba DET mampu mencegah infestasi parasit yang

paling baik, kemudian diikuti oleh domba *backcross* dan akhirnya Merino. Idealnya data yang diperoleh menunjukkan bahwa jumlah eosinofil berbanding terbalik dengan jumlah parasit seperti yang diutarakan oleh BUDDLE *et al.* (1992) dan STEAR *et al.* (1995), karena semakin tinggi jumlah respon eosinofil seharusnya semakin sedikit jumlah cacing yang ditemukan karena semakin banyak cacing yang mati, tetapi hasil penelitian ini tidak memberikan gambaran yang demikian, kecuali pada domba *backcross*. Masalah ini dapat dijelaskan bahwa perubahan respon eosinofil adalah respon imunologi yang sangat responsif/cepat terhadap rangsangan imunogen yang dilepas oleh cacing, sedangkan jumlah cacing hanya merupakan hasil akhir penelitian dimana pada saat itu respon imunologik sudah berakhir, sehingga sangat mungkin apabila pada akhir penelitian dibuat korelasi antara jumlah cacing dan eosinofil hasilnya tidak akan konsisten. Uji korelasi yang didapat juga membuktikan

bahwa jumlah eosinofil tidak dapat digunakan untuk memprediksi jumlah infestasi parasit, sebagaimana juga dinyatakan bahwa jumlah eosinofil di dalam darah perifer tidak dapat digunakan sebagai indikator penduga jumlah infestasi cacing (BEH dan MADDOX, 1996).

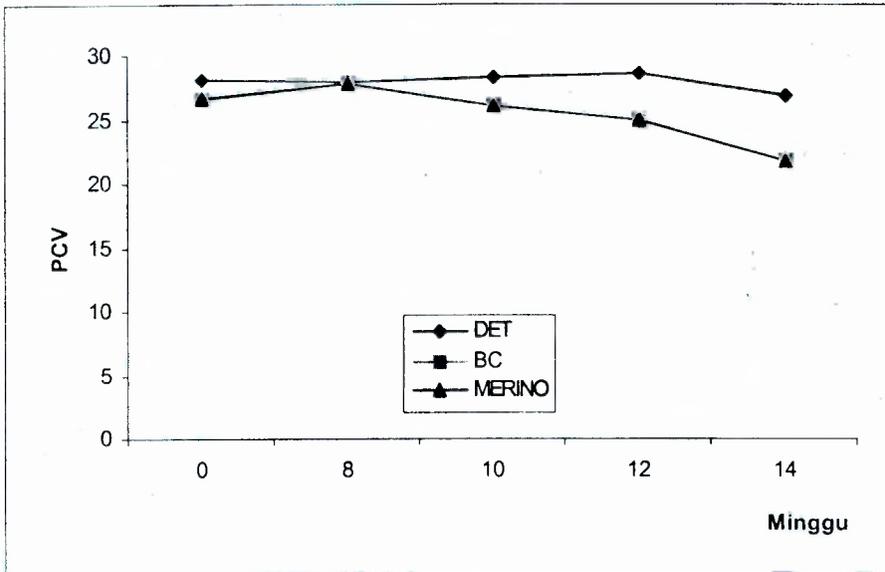
Hubungan antara nilai PCV dan jumlah cacing

Hasil pengamatan pada nilai PCV sepanjang domba diinfeksi dengan *F. gigantica* dapat dilihat pada Gambar 3. Pada gambar tersebut terlihat bahwa nilai PCV pada ketiga jenis bangsa domba relatif stabil sampai infeksi berlangsung selama 12 minggu. Kemudian terjadi penurunan nilai PCV pada minggu ke 14 pasca infeksi. Namun penurunan nilai PCV pada domba DET tidak separah pada domba Merino dan domba *backcross* (Tabel 1).



Gambar 2. Hubungan antara jumlah cacing *Fasciola gigantica* dan jumlah eosinofil pada minggu ke-4 setelah diinfeksi.

- A : domba DET
- B : domba Merino
- C : domba *backcross*



Gambar 3. Gambaran nilai PCV pada domba yang diinfeksi selama 14 minggu dengan 300 metaserkaria *Fasciola gigantica*

Bila dilihat hubungan antara jumlah cacing hati *F. gigantica* dengan nilai PCV secara individu pada minggu ke 14, maka terdapat korelasi negatif pada ketiga jenis bangsa domba (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah cacing hati *F. gigantica* di dalam tubuh hewan maka hewan tersebut akan semakin banyak kehilangan darah (anemia), sehingga nilai PCV-nya semakin rendah. Namun, sama halnya dengan jumlah eosinofil total, nilai PCV ini tidak dapat dipakai untuk menentukan jumlah cacing hati di dalam tubuh domba.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jumlah respon eosinofil di dalam darah domba yang diinfeksi *F. gigantica* berkaitan erat dengan resistensi, tetapi jumlah respon eosinofil tersebut tidak dapat digunakan sebagai indikator penduga jumlah infestasi cacing. Sedangkan nilai PCV berkorelasi negatif dengan jumlah infestasi cacing.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sepenuhnya didanai oleh ACIAR dan hasil penelitian ini merupakan sebagian dari ACIAR PROJECT AS1/9727.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONYMOUS. 1990. Data ekonomi akibat penyakit. Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta.
- BEH, K.J. and J.F. MADDOX. 1996. Prospects for development of genetic markers for resistance to gastrointestinal parasite infection in sheep. *Int. J. Parasitol.* 26 (8/9) : 879-897.
- BUDDLE, B.M., G. JOWETT, R.S. GREEN, P.G.C. DOUCH and P.L. RISDON. 1992. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Ramney lambs to nematodes. *Int. J. Parasitol.* 22 : 955-960.
- CHARBON, J.L., M. SPAHMI, P. WICKI and K. PFISTER. 1991. Cellular reactions in the small intestine of rats after infection with *Fasciola hepatica*. *Parasitol. Res.* 77(5) : 425-429.
- CHENG, T.C. 1986. General Parasitology. 2nd ed. Academic Press College Division. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. Orlando, San Diego, San Francisco, New York.
- DAWKINS, H.J.S., R.G. WINDON and G.K. ENGLESON. 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 19 : 199-205.
- ESTUNINGSIH, S.E., S. WIDJAJANTI, S. PARTOUTOMO, T.W. SPITHILL, H. RAADSA and D. PIEDRAFITA. 2002. Uji *in vitro* : Peran sel imunologi domba ekor tipis (DET) Indonesia, dalam membunuh cacing hati *Fasciola gigantica*. (In Press).
- GILL, H.S. 1991. Genetic control of acquired resistance to haemonchosis in Merino lambs. *Parasite Immunol.* 13 : 617-628.

- OVINGTON, K.S. and C.A. BEHM. 1997. The enigmatic eosinophil : investigation of the biological role eosinophils in parasitic helminth infection. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz* 92(2) : 93-104.
- PERNTHANER, A., M. STANKEWICZ, S.A. BASSET, W.E.JONAS, W. CABAJ and H.D. PULFORD. 1995. The immune responsiveness of Ramney sheep selected for resistance or susceptibbilty to gastrointestinal nematodes : lumphocyte blastogenic activity, eosinophilia and total white cell counts. *Int. J. Parasitol.* 25 : 523-529.
- 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 *Fasciola hepatica*. *Vet.Parasitol.* 68 : 69-78.
- ROBERST, J.A., S. WIDJAJANTI, S.E.ESTUNINGSIH and D.J. HETZEL. 1997b. Evidence for a major gene determining resistance of Indonesian thin tail sheep against *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.* 68 : 309-314.
- ROTHWELL, T.L.W., R.G. WINDON, B.A. HORSBURGH and B.H ANDERSON. 1993. Relationship between eosinophilia and responsiveness to infection with *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Int. J. Parasitol.* 23 : 203-211.
- STEAR, M.J. and M. MURRAY. 1994. Genetic resistance to parasitic disease : particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 54 : 161-176.
- STEAR, M.J., S.C. BISHOP, J.L.DUNCAN., Q.A. MCKELLAR and M. MURRAY. 1995. The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts and plasma pepsinogen concentration during deliberate infection with *Ostetargia circumcincta*. *Int. J. Parasitol.* 25 : 375-380.
- SIEGMUND, O.H and C.M. FRASER. 1979. The Merck Veterinary Manual. 5th. Ed.
- TIZARD, I.R. 1995. Immunology : An Introduction. 5th ed. Saunders College Publishing. Philadelphia, New York, Orlando.
- 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.