

PAIR/T. 396/99

PENGARUH IRADIASI PADA LARVA TIGA
(L3) HAEMONCHUS CONTORTUS TERHADAP
TIMBULNYA RESPON PADA KEKEBALAN -
DOMBA

SUKARDJI PARTODIHARDJO

1064.

**PENGARUH IRADIASI PADA LARVA TIGA (L3) *HAEMONCHUS CONTORTUS*
TERHADAP TIMBULNYA RESPON PADA KEKEBALAN DOMBA.**

*

Sukardji Partodihardjo

ABSTRAK.

PENGARUH IRADIASI PADA LARVA TIGA (L3) *HAEMONCHUS CONTORTUS* TERHADAP TIMBULNYA RESPON PADA KEKEBALAN DOMBA. *Haemonchus contortus* merupakan salah satu jenis cacing Nematoda yang terdapat di dalam saluran abomasum atau lambung domba atau kambing. Cacing ini dianggap sangat merugikan baik stadium pradewasa maupun dewasanya menghisap darah dari dinding abomasum. Jenis cacing ini belum banyak diteliti khusus dalam pembuatan vaksin dengan iradiasi sinar gamma. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh vaksinasi cacing lambung yang telah diiradiasi 500 Gy, terhadap kekebalan yang akan ditimbulkan pada domba. Rancangan percobaan yang digunakan rancangan acak kelompok, dengan perlakuan hewan percobaan divaksinasi dengan L3 iradiasi maupun ekstraksi sejumlah 10.000 L3, dibandingkan dengan kontrol yang hanya diinfeksi galur ganas. Peubah yang diamati : Nilai pCV, Hb darah, eritrosit, leukosit, berat badan, dan mortalitas. Hasil yang diperoleh rata-rata PCV Kontrol (K) = 18 %, V1 = 21,50 % dan V2 = 23,50 % ($P < 0,01$), rata-rata Hb K = 6,70 mg%, V1 = 8,00 mg%, V2 = 9,35 mg% ($P < 0,01$), rata-rata eritrosit K = 3,42 juta, V1 = 4,31 juta dan V2 = 3,95 juta ($P > 0,01$), rata-rata leukosit K = 5,85 ribu, V1 = 10,69 ribu dan V2 = 9 ribu ($P < 0,01$), rata-rata pertambahan berat badan (g), K = 79,40, V1 = 145,60 dan V2 = 118,50 ($P < 0,01$), mortalitas (%), K = 30, V1 = 10 dan V2 = 10 ($P < 0,05$). Respon tanggap kebal ditinjau dari rata-rata PCV, Hb, leukosit dan pertambahan berat badan cukup baik, tetapi dari rata-rata eritrosit dan mortalitas masih belum maksimal.

* Pusat Aplikasi isotop dan Radiasi, BATAN.

ABSTRACT

THE EFFECT OF IRRADIATION ON THIRD LARVAE (L3) HAEMONCHUS CONTORTUS TOWARD SHEEP'S IMMUNITY RESPOND. *Haemonchus contortus* is one of nematoda worm present in abomasum or gaster of sheep or goat. This worm is considered very harmful on preadult as well as on adult stadium, sucking blood from the abomasum wall. This kind of worm has not much been studied in vaccine making by irradiation gamma ray. The aim of this study is to observe the effect of gastric worm vaccination irradiated with 500 Gy, toward the immunity establishment of sheep. The research design used is a randomized metode design, with treatment of animal trial vaccinated with L3 irradiated as well as extract of 10000 L3, compared with control, which was only infected by a wild strain. The parameter observed are : the value of PCV, blood Hemoglobin (Hb), erythrocyte, leukocyte, body weight and mortality. The result of the study the PCV value of : control (K) = 18 %, V1 = 21.50 % and V2 = 23.50 % ($P < 0.01$), the average of Hb : K = 6.70 mg%, V1 = 8.00 mg%, V2 = 9.35 mg% ($P < 0.01$), the average of erythrocyte : K = 3.42 million, V1 = 4.31 million and V2 = 3.95 million ($P > 0.01$), the average of leucocyte, K = 5.85 million, V1 = 10.69 thousand and V2 = 9 thousand ($P < 0.01$), the average of weight gain (gram), K = 79.40, V1 = 145.60 and V2 = 118.50 ($P < 0.01$), mortality (%): K = 30 , V1 = 10 and V2 = 10 ($P < 0.05$). Immunity respond is shown by data of the average of PCV, Hb, leukocyte and weight gain is good enough, while from erythrocyte and mortality is not yet maximum.

PENDAHULUAN

Haemonchus contortus adalah salah satu galur nematoda penghisap darah yang terdapat pada abomasum domba dan ternak ruminansia lainnya. Pada saat telur cacing keluar bersama tinja induk semang, telur berisi morula yang terdiri atas 18-32 sel. Telur mempunyai panjang 70-85 milimikron dan berdiameter 41-48 milimikron. Telur akan menetas di padang rumput menjadi larva stadium pertama. Larva akan mengalami ecdisis menjadi larva stadium kedua. Larva stadium pertama dan kedua mengkonsumsi mikroorganism yang terdapat dalam tinja induk semang (1). Menurut SMITH (2) larva stadium kedua akan menjadi larva stadium tiga yang merupakan larva yang infeksi. Pada saat ini larva tersebut tidak makan karena mulutnya dilapisi oleh selaput kulit, tetapi dapat mempertahankan diri dengan adanya metabolisme yang rendah disesuaikan dengan cadangan makanannya. Pada kondisi lingkungan yang optimal stadium infeksi dicapai dalam waktu 4-6 hari. Infeksi akan terjadi bila larva stadium ketiga (L3) termakan oleh ternak yang sedang merumput. Empat hari setelah mencapai abomasum L3 ini akan berubah menjadi larva stadium empat. Menurut SMITH (2) setelah menjadi larva stadium empat maka larva akan menyusup ke mukosa dan menghisap darah. Dari stadium L4 akan menjadi L5 di abomasum, delapan hari kemudian akan menjadi cacing dewasa. Periode prepaten adalah 19-21 hari. Cacing dewasa hidup bebas dalam rumen, cara makannya adalah dengan menembus mukosa menggunakan *pharyngeal lancet* untuk menghisap darah. Menurut LEVINE (3) perkembangan dan daya ketahanan hidup larva di padang rumput tergantung dari kondisi iklim, tipe tanah, letak geografis, sifat dan banyaknya tumbuhan, daya tampung padang rumput, jenis dan banyaknya ternak ruminansia lainnya. Kondisi optimal bagi penularan di padang rumput yaitu curah hujan bulanan mencapai 5 cm atau lebih, disertai suhu maksimum rata-rata bulanan di atas 18^o C.

Gejala klinis yang sangat menonjol dari penyakit ini adalah anaemia terutama pada kondisi infeksi akut. Untuk anak domba muda dapat mati mendadak tanpa ada gejala sakit, kejadian ini mungkin disebabkan kehilangan darah dalam jumlah besar. Kehilangan darah dalam jumlah besar ditunjukkan oleh data bahwa 4000 cacing di abomasum dapat menghisap darah sebanyak 600 ml. per hari. Menurut SYMONS (4) pada domba bunting bila diserang dapat mengakibatkan penurunan berat badan, Hb, konsentrasi albumin dan anaemia. Berkurangnya darah akan dapat mengganggu keseimbangan pH di dalam tubuh hewan, suhu tubuh serta terganggunya fungsi pertahanan tubuh terhadap masuknya benda asing/parasit dalam tubuh (5). FRANDSON (5) juga menyatakan bahwa leukosit yang secara umum terbagi atas : granulosit (neutropil, basofil dan eosinofil) dan agranulosit (monosit dan limfosit) adalah unit mobil dari sistim pertahanan tubuh. SIEGMUND (6) menyatakan bahwa sebagian

besar leukosit dibentuk dalam sumsum tulang dan sebagian lagi dalam jaringan limfe dan setelah terbentuk dibawa ke bagian tubuh yang membutuhkan dan akan digunakan untuk fungsi pertahanan. Vaksin untuk melawan penyakit cacing semuanya dihasilkan dari proses iradiasi, menggunakan radiasi gamma yaitu dengan melemahkan L3 infeksi (7) secara langsung maupun tidak langsung. Gelombang elektromagnetik berupa sinar gamma bila berintegrasi dengan benda dapat menimbulkan eksitasi, ionisasi, dan efek biologis. Efek biologis inilah yang digunakan sebagai dasar pembuatan vaksin iradiasi dengan sinar gamma (8).

BAHAN DAN METODE

Larva infeksi *Haemonchus contortus* atau cacing lambung pada domba, diambil dari abomasum domba tertular cacing lambung. Cacing ini dibiarkan untuk bertelur dalam cawan petri selama satu malam. Cacing dewasa yang masih mengandung telur kemudian digerus agar telurnya keluar. Telur tersebut kemudian ditumbuhkan dalam media vermikulit. Satu minggu kemudian larva yang tumbuh dipanen dan disimpan dalam cairan fisiologis, untuk penyimpanan lebih lanjut larva dalam lemari es pada suhu 4⁰ C, Sebelum diiradiasi di PAIR BATAN, dengan dosis iradiasi 500 Gy menggunakan iradiator Irpasena, larva stadium tiga dihitung terlebih dahulu berdasarkan konsentrasi tiap ml larutan, juga diperlakukan teknik pelepasan selubung L3. Pelepasan selubung L3 dilakukan dengan menggunakan metode modifikasi dari SLOMCOMBE dan WHITELOKE (9) seperti yang diuraikan berikut ini. Cairan L3 dialirkan dengan 40 % CO₂ padat dan 60 % N₂ cair, dengan metode ini selubung L3 dapat terkupas sampai 95 %. L3 yang telah terkelupas dan telah diiradiasi dianggap sebagai kandidat vaksin. Perlakuan yang diterapkan pada percobaan ini adalah, kelompok V1 diberikan vaksinasi 10.000 L3 iradiasi, 3 minggu kemudian diberikan vaksinasi ulang, 3 minggu pasca vaksinasi ke 2, diberikan tantangan 10.000 L3 galur ganas. Kelompok V2 diberikan vaksinasi ekstrak 10.000 L3 iradiasi, 3 minggu kemudian diberikan vaksinasi ulang, 3 minggu pasca vaksinasi, diberikan tantangan 10.000 L3 galur ganas. Kelompok Kontrol (K) yang hanya diberikan tantangan 10.000 L3 galur ganas. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Semua tantangan diberikan pada waktu yang sama, jadi yang mendapatkan vaksin 2 kali diberikan lebih awal. Semua hewan diseksi pasca tantangan dan peubah yang diamati selama percobaan adalah kenaikan berat badan, hematokrit (PCV = " Pack Cell Volume "), kandungan Hb, eritrosit, leukosit, dan mortalitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan rata-rata PCV atau hematokrit dari ketiga kelompok domba yang diukur tiap minggu mulai pasca tantangan disajikan pada Tabel 1, yaitu pada kontrol 18 %, V1 21,50 % dan V2 23,50 %. Kelompok domba yang tidak diberikan vaksin atau kontrol pada minggu ke -1 dan ke -2 memperlihatkan penurunan nilai PCV sampai 17 %, tetapi mulai minggu ke -3 sampai minggu ke -5 naik mencapai 19 %. Kelompok domba yang mendapat vaksin L3 iradiasi (V1) mempunyai respon yang baik terhadap vaksin yang telah diinokulasikan, PCV turun sampai minggu ke -2 pasca tantangan dapat mencapai 20,50 %, kemudian naik lagi pada minggu ke -6 mencapai 22,50 %. Pada Kelompok domba yang mendapatkan vaksin ekstraksi (V2) juga menunjukkan respon yang baik terhadap vaksin yang telah diberikan, dengan memperlihatkan nilai PCV meningkat mulai minggu ke -1, ke -2 dan ke -3 sehingga mencapai 24,50 %, kemudian turun pada minggu ke -4 mencapai 19,50 % dan pada minggu ke -5 naik lagi menjadi 26,50 %. Dari ketiga kelompok tersebut terdapat perbedaan nilai PCV, yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan iradiasi dengan kontrol. Rataan mortalitas dari penelitian ini pada K = 30 %, V1 = 10 % dan V2 = 10 %. Mortalitas pada kelompok kontrol banyak terjadi pada minggu -1, dan -2 pasca tantangan disini terlihat juga adanya penurunan nilai PCV, yang naik kembali sampai mencapai 30 %. Perlakuan K (kontrol) mempunyai kandungan nilai rata-rata PCV yang rendah (18 %) berarti kelompok tersebut banyak menderita anaemia sehingga banyak menimbulkan kematian yaitu mencapai 30 % sejalan dengan data penelitian DARGIE (10). Hal ini juga diperkuat dengan pendapat dari Al-QUASY (11) yang menyatakan bahwa akibat infeksi cacing *H. contortus* nilai hematokrit akan menurun akibat defisiensi eritrosit atau menurut SEEGMUND (6) proses pembentukan sel darah merah melambat. Sedangkan pada kelompok V1 dan V2 terlihat sejak minggu ke -3 sampai ke -5 pasca tantangan nilai PCV terus meningkat, berarti tingkat kematian juga mengalami penurunan sehingga mencapai sekitar 10 %. Perlakuan iradiasi bila dibandingkan dengan kontrol pengaruhnya sangat nyata ($P < 0,01$), dalam hal menurunkan kematian dan peningkatan PCV. Nilai rata-rata perubahan komulatif bobot badan domba yang diukur tiap minggu saat pasca tantangan memperlihatkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara kontrol dengan perlakuan iradiasi, dengan nilai 79,40 g, V1 145,60 g dan V2 118,50 g. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa domba Kontrol mengalami penurunan bobot badan pada minggu ke -1 (70 g) ke -2 (72 g), ke -3 (75 g), sebaliknya pada minggu ke -4 dan ke -5 ada kenaikan bobot badan sebesar 81 g. Penurunan bobot badan diduga disebabkan karena kekurangan darah. Seperti diketahui darah merupakan sumber sari makanan bagi tubuh hewan. Untuk perlakuan V1 kenaikan bobot

badan menyolok berkisar sekitar 140 g pada minggu ke -3 dan ke -4 pasca tantangan dan tertinggi pada minggu ke -5 yaitu 163 g. Dari perlakuan V2 diperoleh hasil bahwa pertambahan bobot badan tertinggi dicapai pada minggu ke -1 dan minggu ke -4 pasca tantangan (121 g) dan minggu ke -5 mengalami penurunan hanya (116 g). Rendahnya bobot badan domba pada perlakuan K disebabkan larva tiga infektif ini masih sangat patogen dan ketika menyerang induk semang akan menghisap darah induk semang dalam jumlah yang banyak. Akibat penyerangan oleh parasit, tubuh akan kekurangan darah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan serta pengganti jaringan yang rusak, sehingga akibatnya terjadi penurunan bobot badan. Nilai rata-rata konsentrasi Hb pasca tantangan setiap minggu pada perlakuan K 6,70 mg % , V1 8,00 mg % dan V2 9,35 mg % . Nilai tersebut memperlihatkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan iradiasi dengan kontrol. Menurut SCHALM (12) kadar Hb yang normal untuk ternak domba antara 8-17 mg%. Terlihat disini bahwa Hb perlakuan V1 dan V2 terdapat pada kisaran normal, sedangkan kadar Hb pada kontrol minggu ke -2 pasca tantangan mengalami penurunan konsentrasi Hb sampai 5,70 mg % kemudian naik lagi pada minggu ke -4 mencapai kadar tertinggi yaitu 7,34 mg % . Kadar Hb pada V1 yang terendah dicapai pada minggu ke -1 pasca tantangan 6,50 mg % , kemudian naik terus sampai mencapai puncaknya pada minggu ke -5 sebesar 9,50 mg % . Pada perlakuan V2 tidak mengalami penurunan sejak minggu -1 sampai minggu ke -5 pasca tantangan, kadar tertinggi dicapai pada minggu ke -3 dan ke -5 masing - masing 10,80 mg % .

Rataan jumlah leukosit pada perlakuan K $5,85 \times 1000/\text{ml}$, V1 $10,69 \times 1000/\text{ml}$ dan V2 $9 \times 1000/\text{ml}$ ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata antara kontrol dengan perlakuan iradiasi ($P < 0,01$). Batasan normal leukosit pada domba adalah antara 8 - 12 ribu/ml (13). Perlakuan V1 dan V2 mempunyai nilai leukosit pada kisaran normal. Tetapi leukosit pada minggu ke -1 pasca tantangan, mempunyai nilai yang terendah $5,10 \times 1000/\text{ml}$ dibandingkan pada minggu ke -4 $6,60 \times 1000/\text{ml}$ yang merupakan nilai tertinggi. Untuk perlakuan V1 jumlah leukosit pasca tantangan mulai minggu -1 sampai ke -5 terus mengalami kenaikan dan nilai tertinggi dicapai pada minggu ke -4 $10,79 \times 1000/\text{ml}$ dan nilai leukosit untuk V2 $9 \times 1000/\text{ml}$. Hasil pengamatan rata-rata jumlah eritrosit pada K $3,42 \times 1000.000/\text{ml}$, V1 $4,31 \times 1000.000/\text{ml}$ dan V2 $3,95 \times 1000.000/\text{ml}$. Nilai ini juga menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara kontrol dengan perlakuan iradiasi. Pada perlakuan kontrol terlihat bahwa pada minggu ke 1 mengalami penurunan $3,10 \times 1000.000/\text{ml}$ tetapi minggu selanjutnya mengalami kenaikan dan tertinggi dicapai pada minggu ke -4 $3,74 \times 1000.000/\text{ml}$. Menurut pendapat SOULSBY (1) berkurangnya jumlah eritrosit pada kontrol cenderung disebabkan karena ada kerusakan eritrosit yang tidak diimbangi oleh jumlah pembentukannya, karena penyerangan parasit masih efektif. Perlakuan V1 mengalami

penurunan nilai jumlah eritrosit pada minggu ke -3 $4,10 \times 1000.000/\text{ml}$ dan nilai tertinggi dicapai pada minggu ke -5 $4,52 \times 1000.000/\text{ml}$. Pada perlakuan V2 nilai jumlah eritrosit menurun pada minggu ke -1 pasca tantangan $3,20 \times 1000.000/\text{ml}$ kemudian nilainya naik terus dan tertinggi dicapai pada minggu ke -5 $4,70 \times 1000.000/\text{ml}$. Tampaknya tantangan yang diberikan tidak menyebabkan gangguan penurunan eritrosit pada setiap perlakuan secara menyolok terutama pada V2 kelihatan dapat menahan pengaruh pemberian tantangan.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa vaksin iradiasi dengan dosis iradiasi 500 Gy dapat memberikan nilai peubah yang tinggi pada kelompok V1 yaitu peubah leukosit, eritrosit, dan bobot badan. Sedangkan perlakuan V2 pada peubah PCV dan Hb, berarti kelompok yang divaksin L3 iradiasi pasca pencucian dengan N2 dan CO2 padat atau perlakuan V1 memperlihatkan adanya respon kekebalan terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada staf dan teknisi yang terkait sehingga dapat menyelenggarakan penelitian ini dari awal hingga akhir dengan lancar.

Tabel 1. Hasil rata-rata dari peubah hematokrit (PCV), Hb, eritrosit, leukosit, pertambahan bobot badan, dan mortalitas per minggu dari perlakuan K, V1 dan V2.

No	Rataan Peubah	K	V1	V2	P
1	PCV (%)	18	21,50	23,50	< 0,01
2	Hb (mg %)	6,70	8,00	9,35	< 0,01
3	Eritrosit (10/ml)	3,42	4,31	3,95	< 0,05
4	Leukosit (ribu/ml)	5,85	10,89	9,00	< 0,01
5	Pertambahan bobot badan (g)	79,40	145,60	118,50	< 0,01
6	Mortalitas (%)	30	10	10	< 0,01

Keterangan :

K = Kontrol infeksi

V1 = Vaksinasi L3 iradiasi 2 kali dan tantangan

V2 = Vaksinasi ekstrak L3 iradiasi 2 kali dan tantangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. SOULSBY, E.J.L., " Helminth Arthropods and Protozoa of Domesticates Animal". Seventh Edition. Bailliere Tindall London, (1982).
2. SMITH, N.C., " Concepts and strategies for antiparasitic immune Prophylaxis and therapy, Int". J.Pqrasitol.22 ; (1992),1047-1082.
3. LEVINE, N.D., " Texbook of veterinary Helminthology and Enthomology". Bailliere Tindall, London, (1978).
4. SYMONS, L.E.A.," Pathophysiology of Endoparasitic Infection CSIRO. Academic Press. Sydney,(1989).
5. FRANDSON, R.D. " Anatomy and Physiology of Farm animals". 4 th Edition. Lea and Febiger. Philadelphia,(1986).
6. SIEGMUND,D.H.," The Merck Veterinary Manual". Fifth Edition Merck and Co. Inc. Rahway, USA, (1979).
7. I.A.E.A.," Radiation Prtotection Procedures". Savety series Vienna (1973),38.
8. SIVANATHAN, " Immunity Against Animal Parasites". Colomba University Press. New York, (1984).
9. SLOCOMBE, J.O.D. and WHITLOCK, J.H.," Rapid ecdysis of infective *H.contortus* cayugensis larvae", J. of Parasitol 55,(1969), 1102.
10. DARGIE, J.D. " Aplication of radioisotopic techniques to the study of red cell and plasma protein", Soc. Parasitology, IAEA, Vienna,(1970).
11. AI-QUASSY,H.H.K., AI-SUBAIDY,A.J., ALTAIF,K.I., MAKKAWI,J.A. " The pathogenicity of Haemonchus in sheep and goatin Iraq ", In Clinical, parasitological finding Vet. Parasitol 24,(1987), 221-226.
12. SCHALM,O.W., Texbook Veterinary Hematology. Lea and Febiger. Philadelphia 1985.