

TINJAUAN PUSTAKA

1. Cacing *Ascaridia galli*

Cacing *A. galli* tersebar secara meluas pada negara-negara di seluruh dunia. Penyebaran ascariidiosis dapat terjadi pada keadaan temperatur tropis dan sub-tropis. Ascariidiosis pada ayam pertama dilaporkan terjadi di Jerman, selanjutnya terjadi di Brazil, India, Zanzibar, Pilipina, Belgia, China, Kanada, dan Inggris. Selain pada ayam, *A. galli* juga ditemukan pada jenis unggas lainnya seperti angsa, kalkun, dan pada burung liar (Permin dan Hansen 1998).

Poulsen *et al.* (2000) menemukan salah satu dari 18 jenis cacing gastro-intestinal yang menginfeksi ayam muda di kawasan sampah di Gana, Afrika Barat, adalah *A. galli* dengan prevalensi 24%. Permin *et al.* (1998) melaporkan bahwa diantara 26 jenis cacing, salah satunya adalah *A. galli* dengan prevalensi 32,3% pada musim kering dan 28,3% pada musim hujan telah diidentifikasi pada ayam yang berkeliaran di kawasan sampah di daerah Morogoro, Tanzania.

Cacing *A. galli* merupakan cacing terbesar dalam kelas nematoda pada unggas. Tampilan cacing dewasa adalah semitransparan, berukuran besar, dan berwarna putih kekuning-kuningan (Soulsby 1982). Cacing ini memiliki kutikula ekstraseluler yang tebal untuk melindungi membran plasma hipodermal nematoda cacing dewasa (Bankov dan Barrett 1993). Pada bagian anterior terdapat sebuah mulut yang dilengkapi dengan tiga buah bibir, satu bibir terdapat pada dorsal dan dua lainnya pada lateroventral. Pada kedua sisi terdapat sayap yang sempit dan membentang sepanjang tubuh (Calneck 1997). Permin dan Hansen (1998) mengatakan bahwa cacing jantan dewasa berukuran panjang 51 – 76 mm dan cacing betina dewasa 72 – 116 mm. Cacing jantan memiliki preanal sucker dan dua spicula berukuran panjang 1 – 2,4 mm, sedangkan cacing betina memiliki vulva dipertengahan tubuh. Telur *A. galli* berbentuk oval, kerabang lembut, tidak bersegmen, dan berukuran 73–92 x 45–57µm.

Menurut Permin dan Hansen (1998) siklus hidup *A. galli* bersifat langsung yaitu; pematangan seksual berlangsung di dalam traktus gastrointestinal inang definitif dan stadium infeksi (L₂) berlangsung di dalam telur resisten berembrio di lingkungan bebas. Telur dikeluarkan bersama feses inang definitif dan akan

mencapai stadium infeksi (L₂) dalam waktu 10 – 20 hari tergantung kepada temperatur serta kelembaban lingkungan (Gambar 1).

Daur hidup disempurnakan ketika telur infeksi *A. galli* (L₂) teringesti oleh inang definitif melalui makanan atau air terkontaminasi. Telur mengandung larva L₂ secara mekanik terbawa ke duodenum atau jejunum hingga menetas setelah 24

jam pasca ingesti. Selama penetasan gelungan larva muncul dari ujung anterior telur melewati celah terbuka keluar kedalam lumen intestinal untuk menjadi L₃. Menurut Permin dan Hansen (1998) larva L₃ *A. galli* melanjutkan fase histotropik dengan cara menanamkan dirinya pada lapisan mukosa duodenum (fase jaringan) menjadi L₄. Durasi fase histotropik berlangsung selama 3 – 54 hari pasca infeksi. Setelah mengalami empat kali molting, L₅ (cacing muda) akan tumbuh dan mencapai dewasa di dalam lumen duodenum (Gambar 1). Periode prepaten cacing *A. galli* berlangsung dalam waktu 5 – 8 minggu (Soulsby 1982), dan 11 – 15 minggu (Athallah 1999).

Menurut Idi *et al.* (2004) ayam *Lohman Brown* yang diinfeksi *A. galli* kadang-kadang dapat menimbulkan diare. Tiuria (1991) menyatakan bahwa infeksi *A. galli* dapat mengurangi berat badan dan menurunkan produksi telur ayam *Isa Brown*. Kilpinen *et al.* (2006) melaporkan pula bahwa bila dibandingkan dengan penurunan berat badan ayam akibat infeksi tungau *Dermanyssus gallinae*, infeksi *A. galli* menyebabkan penurunan berat badan yang signifikan. Hal ini disebabkan karena ascaridiosis dapat mengganggu efisiensi absorpsi nutrisi yang berlangsung di dalam usus halus ayam petelur. Infeksi *A. galli* di dalam usus halus unggas disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Ascaridiosis pada usus halus unggas.

Permin *et al.* (1998) juga mengatakan bahwa sifat penyakit parasitik cacing *A. galli* biasanya berjalan kronis sehingga menimbulkan gejala sakit yang

perlahan atau subklinis. Kecacingan tidak menyebabkan mortalitas tetapi menghasilkan morbiditas. Cacing parasitik bersifat sebagai organisme patogenik dan beradaptasi sebagai parasit obligat yang kehidupannya sangat tergantung kepada ketersediaan nutrisi pada inang definitif (Sander dan Schwartz 1994). Adaptasi ini menurut Kulkarni *et al.* (1993) dibutuhkan untuk pengelakan diri dari tanggap kebal inang definitif. Infeksi *A. galli* pada ayam yang normal umumnya singkat dan kadang-kadang menyebabkan kerusakan permanen (Permin *et al.* 1998). Tubuh ayam memiliki suatu sistem kekebalan yang dapat melindungi tubuhnya dari unsur-unsur patogen (Tizard 1995).

Penelitian tentang terapi cacing nematoda *A. galli* telah banyak dilaporkan oleh peneliti terdahulu. Deteksi secara biologi dan biokimiawi (Khwaja *et al.* 1973) menunjukkan bahwa setiap gram ekstrak tubuh cacing *A. galli* mengandung 10 unit acetylcholinesterase dan 0,517 – 0,705 µg histamin. Kedua substansi tersebut memiliki aktivitas neurotransmitter yang berfungsi sebagai lokomotif bagi nematoda, sehingga penentuan jenis ascarisidal yang menimbulkan paralisis pada cacing ini disarankan agar menggunakan substansi aktif yang bersifat destruktif terhadap kedua senyawa tersebut. Sander dan Schwartz (1994) membuktikan bahwa pemberian fenbendazole dosis 30,3 ppm dalam air minum untuk ayam broiler menghasilkan nilai efikasi (kemanjuran) masing-masing 69,0 – 89,6% terhadap *A. galli*. Pemberian garam-garam dasar ke dalam pakan dan atau air minum bagi inang definitif juga dapat mereduksi populasi *A. galli* yang ada dalam lumen saluran cerna ayam. Gabrashanska *et al.* (2004^b) membuktikan bahwa pemberian 0,43 g Zn-Co-Mn per kg pakan dapat menurunkan 21,5% populasi *A. galli* pada 60 hari pascainfeksi.

Singh *et al.* (1983) menyatakan bahwa cacing *A. galli* mampu menyelenggarakan metabolisme asam amino. Reaksi dekarboksilasi alanine, aspartate, glutamate, serine, leucine, dan valine dapat membangkitkan ATP dan membebaskan CO₂. Menurut Bankov dan Barrett (1993) ekstrak tubuh cacing *A. galli* dewasa mengandung enzim serine palmitoyltransferase, 3-ketosphinganine reduktase, flavoprotein sphinganine reduktase, sphingosine acyltransferase, dan ceramide choline phosphotransferase. Enzim-enzim tersebut beraktivitas sebagai sintesis sphingomyelin, suatu konstituen yang penting pada membran sel.

Sama halnya dengan nematoda yang lain, seperti *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Brugia malayi*, *Loa loa*, *Dictyocaulus viviparus*, *Dirofilaria immitis*, dan *Ostertagia ostertagi*, pada tubuh *A. galli* dibuktikan oleh Timanova *et al.* (1999) mengandung poliprotein. Protein yang dikenal sebagai *A. galli* fatty acid-binding protein (AgFABP) membentuk dimer tunggal 23 atau 24 kDa dan merupakan derivat dari precursor 60 kDa membentuk unit 12-13 kDa. Penemuan ini mengindikasikan bahwa AgFABP berperan penting terhadap suplai asam lemak yang digunakan sebagai sumber pembangkit energi untuk perkembangan stadium nematoda.

2. Antigen Ekskretori/Sekretori Cacing Nematoda

Umumnya antigen yang imunogenik adalah makromolekul protein, polisakarida, polipeptida, atau polimer sintetik misalnya polivinilpirolidon (PVP). Hanya bagian tertentu saja yang dapat berikatan dengan *antigen binding side* molekul antibodi. Bagian molekul antigen yang berikatan dengan *antigen binding side* disebut epitop (*determinant antigen*) yang menentukan spesifisitas reaksi antigen-antibodi. Ikatan antigen-antibodi merupakan suatu ikatan nonkovalen antara epitop (*active site*) dan paratop (*antigen binding site* pada antibodi). Ikatan antigen antibodi tersebut adalah ikatan yang kuat karena merupakan ikatan hidrogen multipel, ikatan ion, dan interaksi hidrofobik (Perez 2000).

Jumlah epitop pada suatu antigen berbeda dengan antigen yang lain. Untuk dapat memicu pembentukan antibodi, menurut Kresno (1996) antigen suatu bahan sedikitnya harus memiliki dua epitop, dan sedikitnya satu epitop harus mampu menyulut rangsangan limfosit T. Epitop antigen yang berbeda pada suatu molekul protein dapat menyulut respons subpopulasi limfosit T yang berlainan, salah satu epitop mungkin menyulut respons limfosit T *helper* (Th), tetapi epitop yang lain mungkin menyulut respons limfosit T *supresor* (Ts). Hau dan Hendriksen (2005) menyatakan bahwa suatu epitop antigen terdiri dari lima sampai 10 asam amino. Tiap-tiap epitop menginduksi klon sel plasma yang menghasilkan antibodi terhadap epitop tertentu.

Vervelde *et al.* (2003) melaporkan bahwa anak-anak domba yang divaksinasi dengan glikoprotein ekskretori/sekretori yang dilarutkan dalam

alhydrogel sebagai *adjuvant* dapat terproteksi dari cacing parasitik *H. contortus*. Anak domba yang diimunisasi dengan ekskretori/sekretori dan ditantang dengan 300 L₃/kg bb dapat mereduksi 89% output kumulatif telur dan meningkatkan 54% proteksi antibodi. Seluruh anak domba yang divaksinasi, secara proporsi substansial respons antibodi dapat terdeteksi terhadap epitop glikan.

Harnett *et al.* (1997) membuktikan bahwa aplikasi 300 µg ekskretori/sekretori *Ochocerca gibsoni* jantan dewasa yang diimunisasikan 50 µg setiap hari selama enam hari berturut-turut dapat memicu respons humoral hewan percobaan. Imunisasi pertama dan kedua antigen diemulsikan dengan *Freund's complete* dan *incomplete adjuvant* berturut-turut. Sedangkan pada empat kali *booster* selanjutnya digunakan PBS. Sel-sel *lymph nodus* tikus BALB/c yang difusikan dengan sel-sel *myeloma* lestari dapat memproduksi IgM dan delapan jenis *isotype* IgG. Semua *isotype* monoklonal antibodi yang diproduksi bereaksi secara spesifik.

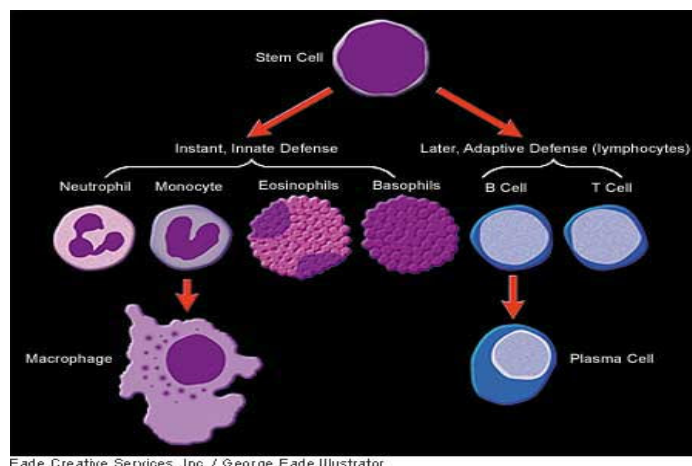
Menurut Yoshihara *et al.* (1993) cairan tubuh cacing *A. suum* betina dewasa dapat digunakan sebagai antigen untuk mendiagnosa ascariosis pada babi melalui uji *Enzym-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Terbukti bahwa reaksi spesifik terjadi antara cairan tubuh cacing dengan antibodi di dalam serum babi yang diinfeksi. Fraksi protein 105 kDa dari cairan tubuh cacing dewasa bereaksi sangat spesifik dengan IgG di dalam serum babi yang diinfeksi dengan *A. suum*. Pada uji ELISA diketahui juga bahwa konsentrasi optimum cairan tubuh cacing yang dibutuhkan adalah 0,25 µg dalam setiap sumur ELISA, dimana setiap satu ml cairan tubuh cacing ditemukan 40 mg kandungan protein.

Ekskretori/sekretori berperan sebagai antigen protektif yang dapat memicu tanggap kebal inang definitif. Imunisasi dengan antigen ekskretori/sekretori dapat melindungi hewan percobaan dari serangan *Dictyocaulus vivivarus* (McKeand 1995). Ekskretori/sekretori yang merupakan komponen imunogenik telah digunakan untuk memicu pembentukan antibodi monoklonal terhadap *Onchocerca gibsoni* (Harnett *et al.* 1997). Green *et al* (1996) membuktikan bahwa ekskretori/sekretori cacing nematoda dapat dikenal oleh antibodi pada hewan terinfeksi. Tiuria *et al.* (2003) menyatakan pula bahwa ekskretori/sekretori *A. galli* dapat merangsang mekanisme pertahanan mukosa usus halus ayam petelur.

3. Respons Kekebalan Unggas Terhadap Antigen

Respons kekebalan ayam dipicu oleh pemaparan antigen yang strukturnya dikenali oleh sistem kekebalan sebagai sesuatu benda asing (*non-self*). Antigen dapat disuguhkan kepada sistem kekebalan sebagai kompleks multiantigen (partikulat) misalnya: bakteri, virus, parasit, dan partikel artifisial atau sebagai antigen tunggal misalnya protein dan polisakarida (Leenaars dan Hendriksen 2005). Hanly *et al.* (1995) menyatakan bahwa sistem kekebalan daptan (antigen-spesifik) memiliki efisiensi dan spesifisitas yang tinggi, tetapi memiliki respons yang lebih lambat daripada sistem kekebalan bawaan (*innate unspecific*).

Roitt dan Delves (2001) menyatakan bahwa komponen-komponen yang mendasar di dalam mekanisme respons kekebalan antigen-spesifik (*adaptive defense*) adalah limfosit B dan limfosit T sedangkan kekebalan non-spesifik (*innate defense*) diperankan oleh sel-sel neutrofil, monosit (di dalam jaringan disebut makrofag), eosinofil, dan basofil. Semua komponen dasar yang berperan pada mekanisme kekebalan tersebut berasal dari stem sel (Gambar 3). Limfosit (sel B) bertanggungjawab terhadap produksi antibodi. Limfosit (sel T) bertanggungjawab terhadap respons sitotoksik, dan sel T helper (Th) bertanggungjawab terhadap sel B dan sel T sitotoksik. Pemeliharaan (*maintenance*) sistem kekebalan membutuhkan komunikasi interseluler yang memperantarai hubungan sel ke sel (misalnya melalui produksi sitokin) dan sel-sel pelengkap (misalnya sel fibroblast dan sel endotel).



Gambar 3. Sel B menjadi sel plasma penghasil antibodi

Hau dan Hendriksen (2005) membagi respons kekebalan antigen-spesifik ke dalam tiga fase yaitu: fase induktif, fase efektor, dan fase memori. Pada fase induktif, antigen dikenali sebagai benda asing (*foreign*) melalui monosit, sel-sel dendritik, dan sel B sebagai sel-sel penyuguh antigen (*antigen-presenting cells*, APC). Sel-sel dendritik mengenal seluruh antigen, sedangkan sel B menggunakan *receptor-dependent* spesifik dari ikatan antigen. APC mengikat, menelan, dan memproses antigen menjadi peptide bersama-sama dengan molekul *major histocompatibility complex* (MHC¹), kemudian mengeluarkannya ke permukaan APC untuk disuguhkan kepada reseptor antigen pada sel T sehingga adanya kontak yang menyebabkan sel T teraktivasi.

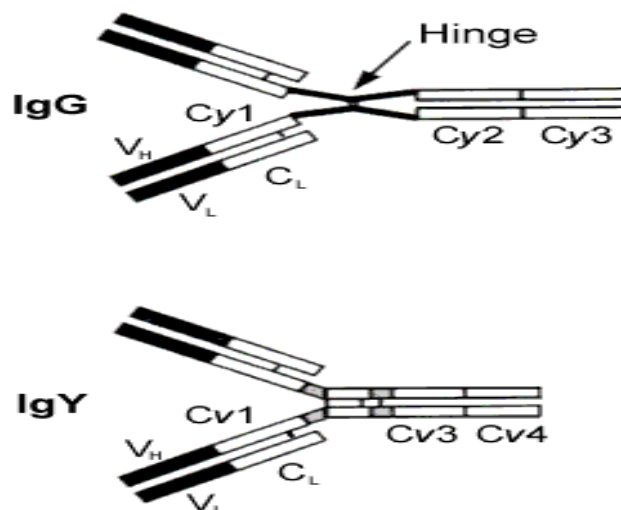
Pada fase efektor, respons kekebalan tergantung pada jenis antigen. Aktivasi sel T menyebabkan respons berperantara sel (terutama sel sitotoksik, misalnya antigen virus) atau sel Th untuk sel B (misalnya antigen protein). Apabila teraktivasi, sel Th menjadi lebih sensitif terhadap aksi sitokin *growth factor* misalnya interleukin (IL-1 dan IL-2). Sitokin menyebabkan proliferasi dan akhirnya diferensiasi sel B menjadi sel-sel plasma penghasil antibodi. Masing-masing sel plasma disandi secara genetik untuk menghasilkan antibodi tertentu yang spesifik hanya terhadap epitop tunggal antigen (Roitt dan Delves 2001).

Fase terakhir respons kekebalan antigen-spesifik adalah fase induksi memori yang terjadi setelah kontak awal dengan antigen. Fase memori terjadi berdasarkan diferensiasi sel B menghasilkan respons kekebalan sekunder dengan karakter lebih cepat dan berlangsung lebih lama daripada respons kekebalan primer. Pada respons kekebalan sekunder, antibodi memiliki aviditas yang lebih kuat dibanding dengan respons kekebalan primer (Hau dan Hendriksen 2005).

Molekul imunoglobulin diproduksi oleh sel limfosit B, dimana sel limfosit B mengalami pematangan dalam *bursa Fabricius* ayam. Sel limfosit B terdiri dari dua bentuk molekul yang berbeda, molekul pertama sebagai reseptor permukaan (untuk mengikat antigen) dan molekul lainnya sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Antibodi yang disekresikan dapat berfungsi sebagai media yang mengikat antigen melalui *binding site* yang spesifik, sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel imun atau mengaktifkan komplemen (Roitt dan Delves 2001).

Pemaparan antigen ke dalam tubuh induk akan menghasilkan antibodi di dalam telur dengan spesifisitas antibodi yang tinggi terhadap antigen yang telah disuntikkan (Rollier *et al.* 2000). Antibodi induk yang ditransfer secara pasif oleh induk kepada anaknya sebagai imunoglobulin *yolk* (IgY) berfungsi sebagai pertahanan terhadap benda asing manakala sistem imun anak belum sempurna. IgY lebih berperan sebagai sistemik antibodi daripada sekretori antibodi, namun IgY dapat ditemukan dalam saluran pencernaan duodenum, trachea, dan seminal plasma. Mekanisme transfer IgY dari serum ke dalam kuning telur berlangsung seperti proses transfer antibodi lintas plasenta pada mamalia. IgY yang telah diproduksi oleh limfosit B akan mengalir dalam pembuluh darah ke seluruh bagian tubuh termasuk ke dalam ovarium. IgY didepositkan melalui jaringan arteri kecil ovarium-oosit ke dalam kuning telur sebagai bahan perlindungan bagi embrio yang akan berkembang (Carlander 2002).

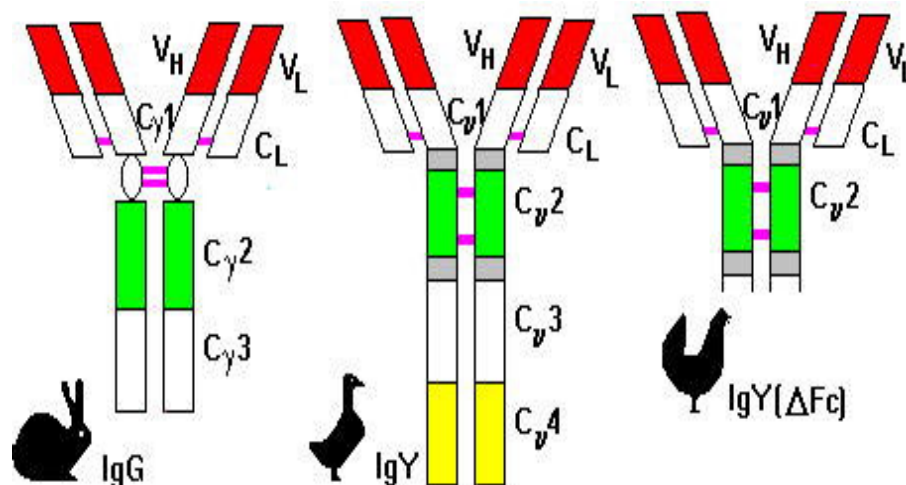
Antigen yang dipaparkan kepada ayam dapat menggerakkan pelepasan interleukin (IL-4 dan IL-5) oleh sel T helper-2 (Th-2). IL-4 dapat membangkitkan sel B menjadi sel plasma pembentuk antibodi (Roitt dan Delves 2001). Terdapat tiga kelas antibodi pada unggas, yaitu imunoglobulin A (IgA), IgM, dan IgG. IgG pada unggas lebih dikenal IgY karena ada perbedaan struktur molekul dengan IgG mamalia. Pada IgG, antara $C\gamma 1$ dan $C\gamma 2$ dihubungkan oleh engsel (*hinge region*) seperti ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. *Hinge region* yang menghubungkan $C\gamma 1$ dan $C\gamma 2$ pada IgG

Secara struktural, molekul IgY terdiri dari dua rantai berat dan dua rantai ringan. Rantai berat tidak memiliki engsel dan tersusun atas empat domain variabel yaitu C_v1 , C_v2 , C_v3 , dan C_v4 (Gambar 3). IgY memiliki berat molekul ~180 kDa yang masing-masing rantai beratnya ~65-68 kDa, koefisien sedimentasi 7,8 S, dan titik isoelektrik 5,7-7,6 (Chio 2002 dan Davalos-Patoja *et al.* 2000). Secara imunologis IgY sangat berbeda dengan IgG mamalia karena reaksi silang tidak terjadi pada IgY, sedangkan antibodi mamalia menunjukkan tingkat reaksi silang yang tinggi, dimana IgG kelinci anti-manusia akan bereaksi silang terhadap IgG mamalia lain, kecuali dengan IgG kelinci (Leenaars dan Hendriksen 2005).

IgA dan IgM dihasilkan dalam jumlah yang sangat sedikit pada unggas. Sedangkan IgY didistribusikan di dalam serum dalam jumlah yang banyak dan juga didepositkan ke dalam kuning telurnya sebagai imunoglobulin *yolk* (IgY) (Akita dan Nakai 1992; Camenisch *et al.* 1999; Rollier *et al.* 2000; Carlander 2002; dan Hau dan Hendriksen 2005). IgY terbanyak didapatkan dalam kuning telur sedangkan dalam putih telur kandungannya rendah. Kandungan antibodi dalam telur umumnya lebih tinggi dari serum ayam karena proses transpor aktif dari induk ayam ke telur. Kuning telur terdiri dari granula lipoprotein dan fosvitin (Leenaars dan Hendriksen 2005). IgY mengemban fungsi yang setara dengan IgG mamalia. IgY berevolusi dan diduga menjadi cikal bakal IgG dan IgE mamalia (Chio 2002). Gambar 5 menunjukkan evolusi IgY pada unggas dan IgG pada mamalia.



Gambar 5. Perbedaan IgG pada mamalia dan IgY pada unggas