
**PROLIFERASI SEL GOBLET DUODENUM, JEJUNUM, DAN ILEUM AYAM
PETELUR YANG DIIMUNISASI DENGAN PROTEIN EKSKRETORI/SEKRETORI
ASCARIDIA GALLI**

*Goblet Cells Proliferation of Duodenum, Jejunum, and Ileum of Laying Hens
Immunized with Protein of Excretory-Secretory of Ascaridia galli*

Ummu Balqis¹, Risa Tiuria², Bambang Pontjo Priosoeryanto³, dan Darmawi⁴

¹Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Helminthologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

³Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

⁴Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

Telp & fax. (0651) 7410247, e-mail: u_balqis@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengamati proliferasi sel goblet pada duodenum, jejunum, dan ileum ayam petelur yang diberikan protein ekskretori/sekretori (ES) *Ascaridia galli* dewasa. Sebagai hewan coba digunakan 30 ekor ayam petelur dan dibagi atas dua kelompok. Ayam kelompok I diberikan dosis 4.000 telur infeksi (L2) *A. galli*, dan ayam kelompok II diimunisasi dengan 380 µg ES dan empat jam kemudian ditantang dengan dosis 4000 L2 *A. galli*. Protein ES dan L2 diberikan langsung ke dalam oesofagus dengan menggunakan kanul *stainless steel*. Data diambil pada hari ke-3, 6, 9, 12, dan 15 pasca imunitasi (p.i). Sel goblet ditentukan dengan pewarnaan *Periodic Acid Schiff* (PAS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa imunitasi dapat meningkatkan proliferasi sel goblet secara signifikan pada hari ke-12 dan 15 p.i pada duodenum, dan hari ke-9, 12, dan 15 pada jejunum, tetapi proliferasi sel goblet tidak signifikan pada ileum. Hasil yang diperoleh merefleksikan bahwa ES *A. galli* dapat meningkatkan mekanisme pertahanan inang pada mukosa usus halus.

Kata kunci: *Ascaridia galli*, ekskretori/sekretori, sel goblet

ABSTRACT

This research was conducted in order to examine the goblet cells proliferation in duodenum, jejunum, and ileum of laying hens due to exposed with protein of excretory/secretory (ES) of Ascaridia galli adult worm. Thirty heads of laying hens were divided in to two groups. The first group was treated with 4,000 infective larva (L2) of A. galli and the second group was immunized with 380 µg of ES and four hours later was challenged with 4000 L2. All treatments were given orally using stainless steel canule directly to the oesophagus. Data was taken on the 3, 6, 9, 12, and 15 days post immunization (p.i.). The goblet cells were determined by Periodic Acid Schiff (PAS) staining. The result showed that immunization was able to increased goblet cells proliferation significantly at 12 and 15 day p.i. on the duodenum, and at 9, 12, and 15 day p.i. on the jejunum, but goblet cells proliferation did not significantly on the ileum. From this result we suggested that ES would beneficial in the strengthen the host's defence mechanisms in the intestine mucosa.

Keywords: *Ascaridia galli*, excretory/secretory, goblet cells

PENDAHULUAN

Sel goblet (SG) mensintesis dan mensekresikan mukus glikoprotein berbentuk gel untuk melindungi sel-sel epitelium intestinal dari serangan *invader*, termasuk invasi cacing parasitik. Vervelde *et al.* (2003) melaporkan bahwa antigen ekskretori/sekretori (ES) cacing dapat memicu peningkatan respons sel T *helper* 2 (Th-2). Roitt dan Delves (2001) menyatakan bahwa reaksi sel Th-2 dapat menggerakkan pelepasan sitokin terutama interleukin (IL-3, IL-4 dan IL-5). Aktivasi sitokin yang dilepaskan oleh sel Th-2 merangsang proliferasi, hiperplasia, dan pelepasan mukus yang bersifat *viscoelastic gel* oleh SG.

Sitokin proinflamatori (IL-1, IL-6, dan *tumor necrosis factor* = TNF- α) dengan cepat meningkatkan pengaturan ekspresi gen musin (*MUC*) dan merangsang pelepasan musin intestinal. Sel-sel limfosit Th-2 CD4⁺ dapat merangsang fungsi SG (Deplancke dan Gaskins, 2001). Peranan SG dan peningkatan sekresi mukus berlangsung dalam eliminasi cacing parasitik nematoda *Nippostrongylus brasiliensis* (Miller dan Nawa, 1979). Deplancke dan Gaskins (2001) menjelaskan bahwa ekspresi sitokin IL-4 dan IL-5 yang berasal dari sel CD4⁺ meningkat secara signifikan pada tikus selama *spontaneous recovery* dari infeksi *N. brasiliensis*. Peningkatan pelepasan musin adalah mekanisme yang sering terjadi untuk pembersihan intestinal dari parasit, dan secara kontinyu diperantarai oleh sitokin yang diproduksi oleh Th-2 *subset* dari sel T CD4⁺ yang diikuti oleh rangsangan produksi imunoglobulin E (IgE). Imunoglobulin E memperantarai sel mast mukosa untuk melepaskan histamin yang

meningkatkan pelepasan mukus SG ke dalam duodenum tikus.

Penelitian ini bertujuan mengamati proliferasi SG pada organ duodenum, jejunum, dan ileum ayam petelur yang diimunisasi dengan ES cacing nematoda pada unggas *A. galli*. Penelitian ini bermanfaat sebagai informasi tentang peranan ES *A. galli* untuk merangsang proliferasi SG pada ayam.

MATERI DAN METODE

Dua kelompok ayam ras petelur HySex Brown berumur 12 minggu masing-masing terdiri dari 15 ekor diberi pakan komersial dan air minum *ad libitum*. Kelompok pertama, ayam diinfeksi dengan dosis 4.000 telur infeksius (L2) *A. galli*. Kelompok kedua diimunisasi dengan ES cacing dewasa dan 4 jam kemudian diinfeksi 4.000 L2 *A. galli*. Sebelum perlakuan dan pembedahan, ayam dipuasakan selama 12 jam. Setiap kelompok perlakuan diuji dalam 5 tingkat waktu pengamatan (hari ke-3, 6, 9, 12, dan 15), dengan 3 kali pengulangan. Setiap kali pengamatan sebanyak 3 ekor ayam dari tiap kelompok dipotong. Sampel diamati secara mikroskopis dengan menghitung jumlah SG pada duodenum, jejunum, dan ileum secara histopatologis.

Teknik Parasitologi

Cacing *A. galli* betina dewasa diperoleh dari isi lumen ayam kampung. Cacing dibersihkan dari feses dengan NaCl fisiologis. Telur diambil dari uterus *A. galli* dengan menggunakan mikroskop stereo. Tubuh cacing disayat dan telur dikeluarkan dari uterusnya. Telur cacing tersebut diinkubasi dalam cawan petri plastik berisi

aquades steril selama 21–30 hari pada suhu kamar, hingga terbentuk larva infeksi (L2). Dosis 4.000 L2 disiapkan untuk keperluan ujiantang (Tiuria *et al.*, 2000; Darmawi, 2003; Balqis *et al.*, 2004).

Protein ES cacing *A. galli* betina dewasa disiapkan dengan memasukkan 20 ekor cacing ke dalam cawan petri yang berisi 20 ml medium *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), 1 g streptomisin dan 1 juta IU/l penisilin (Bauer, 2001). *Ascaridia galli* yang hidup dalam medium diinkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37° C selama 72 jam mengikuti cara Balqis (2004b) dan Darmawi dan Balqis (2004). Penentuan kuantitas protein ES mengikuti metode Bradford (Rukayadi dan Suhartono, 1999). Dosis protein ES yang digunakan adalah 380 µg. Penentuan berat molekul protein ES mengikuti metode Laemmli (1970). Protein ES dengan berat molekul >30 kDa diberikan 4 jam sebelum ayam diinfeksi dengan L2.

Teknik Histopatologis

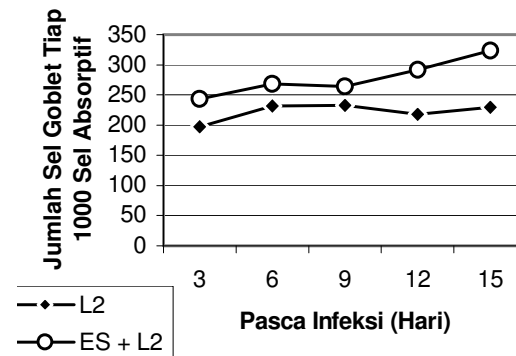
Duodenum, jejunum, dan ileum difiksasi dalam larutan Carnoy's. Sampel sepanjang 2 cm diblok di dalam parafin. Preparat dipotong setebal 5 µm dan dilekatkan pada gelas objek. Preparat diwarnai dengan pewarnaan khusus *Periodic Acid Schiff* (Balqis, 2004a). Penentuan SG per 1.000 sel absorptif dilakukan di bawah mikroskop mengikuti metode Miller dan Nawa (1979).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sel Goblet pada Duodenum

Proliferasi SG duodenum pada kelompok ayam yang diimunisasi dengan ES terjadi selama hari-hari pengamatan. Pada hari ke-3, 6, dan 9 p.i. peningkatan

jumlah SG belum terjadi secara signifikan ($P>0,05$). Peningkatan jumlah SG secara signifikan ($P<0,05$) baru terjadi pada hari ke-12 dan 15 p.i. (Gambar 1). Terjadinya proliferasi SG pada kelompok ayam yang diimunisasi dengan ES karena ayam mendapat paparan antigen yang mampu menggertak sistem imun saluran cerna ayam petelur.

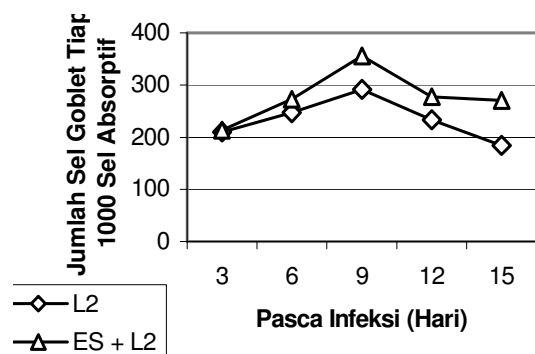


Gambar 1. Rataan jumlah sel goblet pada duodenum

Proliferasi dan hiperplasia SG duodenum mengindikasikan bahwa ES dapat memicu sekresi lendir ke dalam lumen duodenum. Sel Goblet mensintesis dan mensekresikan glikoprotein dengan berat molekul tinggi yang disebut mucin (lendir). Produksi lendir dapat meningkatkan proteksi permukaan mukosa terhadap infeksi cacing parasitik. Hiperplasia SG berkaitan dengan peningkatan resistensi inang definitif terhadap nematoda *A. galli* pada ayam. Hiperplasia SG terjadi bersamaan dengan pengeluaran *Nippostrongylus brasiliensis* pada tikus (Miller dan Nawa, 1979). Menurut Roitt dan Delves (2001), antigen cacing nematoda dapat menggertak sistem tanggap kebal inang definitif. Antigen merangsang sel T (produksi sitokin) dan sel B (produksi imunoglobulin). Pelepasan sitokin oleh sel T yang dipicu antigen spesifik merangsang proliferasi SG dan mensekresikan material mukus.

Sel Goblet pada Jejunum

Rataan jumlah SG pada duodenum ayam petelur disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Rataan jumlah sel goblet pada jejunum

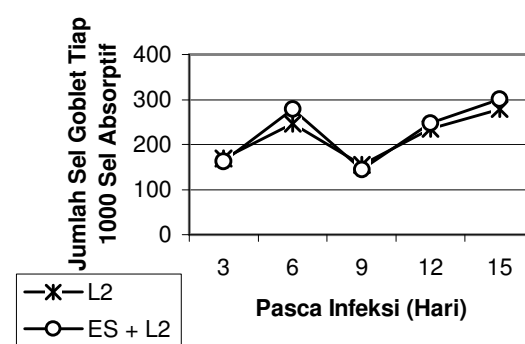
Proliferasi SG jejunum pada kelompok ayam yang diimunisasi dengan ES terjadi sejak hari ke-6 sampai hari terakhir pengamatan. Pada hari ke-6 p.i., peningkatan jumlah SG terjadi secara tidak signifikan ($P>0,05$). Peningkatan jumlah SG secara signifikan ($P<0,05$) terjadi pada hari ke-9, 12, dan 15 p.i. (Gambar 2).

Pemberian ES yang disertai L2 mampu memicu proliferasi SG jejunum selama waktu pengamatan. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ES dapat memicu peningkatan rata-rata jumlah SG jejunum. Peningkatan ini dibutuhkan untuk menambah kapasitas lendir di dalam lumen sehingga larva gagal berpenetrasi ke jaringan. Selain itu, larva juga lebih mudah didorong ke bagian ileum oleh kontraksi peristaltik saluran cerna. Respon SG jejunum yang dipicu oleh ES *A. galli* dewasa lebih lambat tiga hari dibandingkan respon oleh SG duodenum. Hal ini terjadi karena tropisma L2 *A. galli* di dalam tubuh inang definitif berada pada duodenum sehingga pertahanan selaput lendir duodenum segera dapat dipicu oleh antigen yang berimplikasi pada proliferasi SG.

Peneliti terdahulu (Miller dan Nawa, 1979) membuktikan bahwa mekanisme pengeluaran larva *N. brasiliensis* secara cepat terjadi karena kolaborasi antara sel mast dengan SG. Mucin produk SG dilaporkan berperan sebagai barrier pertahanan fisik nonspesifik terhadap invasi larva. Hiperplasia SG intestinal pada nematodosis berimplikasi terhadap kuantitas mucin yang disalurkan ke dalam lumen intestinal. Mucin SG dengan konsentrasi garam-garam sulfat yang lebih banyak dapat berperan pada pengeluaran larva secara cepat.

Sel Goblet pada Ileum

Pada hari ke-3 dan 9 p.i., SG ileum kelompok ayam yang diimunisasi dengan ES tidak mengalami peningkatan dibandingkan kelompok ayam yang tidak diimunisasi. Peningkatan jumlah SG ileum terjadi pada hari ke-6, 12, dan 15 p.i., namun secara statistik peningkatan jumlah SG ileum terjadi secara tidak signifikan ($P>0,05$). Seperti halnya pada duodenum dan jejunum, pengamatan pada ileum menunjukkan juga proliferasi SG. Proliferasi SG ileum kelompok ayam yang diimunisasi dengan ES sudah terjadi pada hari ke-6 p.i., dan cenderung semakin meningkat setelah hari ke-12 p.i. (Gambar 3).



Gambar 3. Rataan jumlah sel goblet pada ileum

Hasil yang diperoleh mengindikasikan bahwa meskipun habitat *A. galli* adalah

pada duodenum, SG ileum juga berperan dalam mekanisme pengeluaran larva *A. galli*. Sel Goblet ileum mensekresikan, menyimpan, dan melepaskan mucin ke dalam lumen untuk menambah kapasitas lendir sehingga larva dengan cepat dapat dikeluarkan dari tubuh inang definitif (Lagapa *et al.*, 2002). Apabila SG terlepas ke dalam lumen, glikoprotein dari mucin SG akan membentuk gel yang berguna sebagai barier protektif bagi sel-sel epitel. Gel berperan sebagai pengatur hidrasi epitel dan berinteraksi dengan IgA sekretori untuk menghasilkan efek antitoksin. Konsekuensinya adalah sel-sel epitel akan terlindungi dari kerusakan fisik oleh substansi material intra luminal dan menghalangi invasi larva (Deplancke dan Gaskins, 2001). Untuk memberikan perlindungan secara terus-menerus, maka SG harus diperbaharui secara konstan. Mekanisme laju pengaturan SG berada di bawah pengaruh rangsangan kolinergik seperti asetikolin, pilokarpin, karbakol (Roitt dan Delves, 2001).

KESIMPULAN

Protein ES *A. galli* dapat memicu proliferasi sel goblet pada duodenum secara signifikan pada hari 12 dan 15 p.i, dan pada jejunum pada hari ke-9, 12, dan 15, tetapi proliferasi sel goblet pada ileum tidak signifikan. Hasil yang diperoleh merefleksikan bahwa ES *A. galli* dapat merangsang mekanisme pertahanan selaput lendir usus halus ayam petelur terhadap ascaridiosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Balqis, U. 2004a. Pengaruh pemberian ekskretori-sekretori (ES) cacing *Ascaridia galli* dewasa, L2, dan kombinasinya terhadap perubahan struktur morfologi saluran cerna ayam petelur. **Tesis**. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Balqis, U. 2004b. Kajian mikroskopik pada duodenum ayam petelur yang diberikan ekskretori-sekretori *Ascaridia galli* dewasa, L2, dan kombinasinya. **J. Medika Vet.** 4(1):261-265.
- Balqis, U., R. Tiuria, D.D. Widjaja, dan B.P. Priosoeryanto. 2004. Studi histopatologi saluran cerna, limpa dan seka tonsil ayam petelur akibat pemberian telur infeksi *Ascaridia galli*. **Seminar Nasional XI, Perhimpunan Alumni Jepang (Persada) Bogor**.
- Bauer, C. 2001. **Laboratory Technique Procedure. Institute of Parasitology, Justus Liebig-University, Giessen-Germany.**
- Darmawi. 2003. Pengaruh pemberian antigen ekskretori-sekretori (ES) *Ascaridia galli* dewasa terhadap tanggap kebal sel eosinofil dan sel mast mukosa usus halus ayam petelur. **Tesis**. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Darmawi dan U. Balqis. 2004. Pengaruh pemberian antigen ekskretori-sekretori (ES) *Ascaridia galli* betina dewasa terhadap tanggap kebal sel mast mukosa duodenum ayam petelur. **J. Medika Vet.** 4(1):255-260.
- Deplancke, B. and H.R. Gaskins. 2001. Microbial modulation of innate defense: Goblet cells and the intestinal mucus layer. **Am. J. Clin. Nutr.** 73(6):1131S-1141S.

- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **The Nature** 227:680-685.
- Lagapa, J.T.G., Y. Oku, N. Nonaka and M. Kamiya. 2002. *Taenia taeniaeformis* larval product induces gastric mucosal hyperplasia in SCID mice. **J. Vet. Research.** 49(4):273-285.
- Miller, HRP and Nawa, Y. 1979. *Nippostrongylus brasiliensis*: intestinal goblet cells respons in adoptively immunized rats. **J. Exp. Parasitol.** 47:81-90.
- Roitt, I.M., and P.J. Delves. 2001. **Roitt's Essential Immunology. Tenth Edition**, Blackwell Science Ltd. Osney Mead Oxford OX2 OEL.
- Rukayadi, Y. dan M.T. Suhartono. 1999. **Penuntun Praktikum Biokimia** (BIM.511). Program Pascasarjana, IPB-Bogor.
- Tiuria, R., F. Athaillah, B.P. Priosoeryanto, F. Satrija, E.B. Retnani dan Y. Ridwan. 2000. Pengaruh infeksi cacing *Ascaridia galli* terhadap respon sel goblet dan sel mast pada usus halus ayam petelur. **Majalah Parasitologi Indonesia** 13(1-2):40-48.
- Vervelde, L., N. Bakker, F.N.J. Kooyman, A.W.C.A. Cornelissen, C.M.C. Bank, A.K. Nyame, R.D. Cummings, and I.V. Die. 2003. Vaccination-induced protection of lambs against the parasitic nematode *Haemonchus contortus* correlates with high IgG Antibody responses to the LDNF glycan antigen. **Glycobiology.** 13(11):795-804.