

**SKRIPSI**

**PENGARUH INOKULASI OOKISTA EIMERIA TENELLA YANG  
TELAH DIRENDAM DALAM LARUTAN BIOCID TERHADAP  
NILAI PERLUKAAAN SEKUM DAN PRODUKSI  
OOKISTA PADA AYAM PEDAGING**



OLEH :

KUNTORO TRI YULIANTO

PATI - JAWA TENGAH

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
S U R A B A Y A  
1 9 9 3**

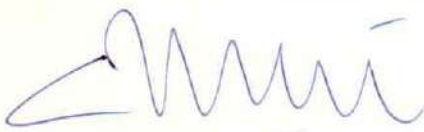
PENGARUH INOKULASI OOKISTA *Emeria tenella* YANG  
TELAH DIRENDAM DALAM LARUTAN BIOCID TERHADAP  
NILAI PERLUKAAAN SEKUM DAN PRODUKSI  
OOKISTA PADA AYAM PEDAGING

Sripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

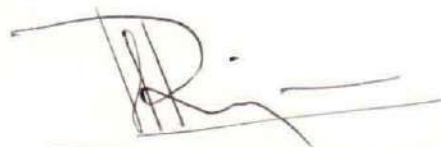
oleh  
KUNTORO TRI YULIANTO

068811506

Menyetujui  
Komisi pembimbing



Endang Suprihati, M.S., Drh.  
(Pembimbing Pertama)



Sorini Hartini, Drh.  
(Pembimbing Kedua)

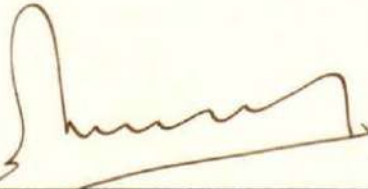
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui  
Panitia penguji



Dr. Sri Subekti, Drh.

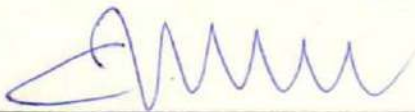
Ketua



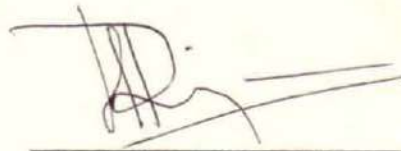
(Nunuk Dyah R.L., M.S., Drh) (Garry Cores D.V., M.S., Drh)

Sekretaris

Anggota



(Endang Suprihati, M.S., Drh)



(Sorini Hartini, Drh.)

Surabaya, 26 Mei 1993

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh.

PENGARUH INOKULASI OOKISTA *Eimeria tenella* YANG  
TELAH DIRENDAM DALAM LARUTAN BIOCID TERHADAP  
NILAI PERLUKAAN SEKUM DAN PRODUKSI  
OOKISTA PADA AYAM PEDAGING

Kuntoro Tri Yulianto

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid yang diinfeksi terhadap nilai perlukaan sekum dan produksi ookista *Eimeria tenella* pada ayam pedaging.

Sejumlah 30 ekor ayam berumur tiga minggu digunakan sebagai hewan percobaan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap yang dibagi menjadi dua yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Kelompok kontrol yaitu 15 ekor ayam percobaan yang masing-masing diinfeksi secara peroral oleh 5000 ookista *Eimeria tenella* yang telah bersporulasi tanpa perendaman terlebih dahulu dalam larutan biocid. Sedangkan kelompok perlakuan yaitu 15 ekor ayam percobaan yang masing-masing diinfeksi secara peroral oleh 5000 ookista *Eimeria tenella* bersporulasi yang telah direndam dalam larutan biocid selama dua hari.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid dapat menurunkan jumlah produksi ookista secara sangat bermakna ( $p < 0.01$ ) tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna terhadap skor perlukaan sekum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p > 0.05$ ).

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Drh. Endang Suprihati, M.S. dan Ibu Drh. Sorini Hartini yang telah meluangkan waktu di tengah-tengah kesibukannya guna memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang berguna dalam penyusunan skripsi ini.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta staf atas segala kesempatan dan sarana yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini.

Kepada ayah dan ibu tercinta, saudara-saudaraku dan rekan-rekan mahasiswa, rasa terima kasih yang tulus penulis sampaikan, atas dorongan moril maupun materiilnya.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, namun demikian semoga hasilnya dapat bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya.

Surabaya, April 1993

Penulis

## DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
I.1. Latar Belakang Masalah .....	1
I.2. Perumusan Masalah .....	3
I.3. Tujuan Penelitian .....	3
I.4. Hipotesa Penelitian .....	4
I.5. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
II.1. Tinjauan Parasit .....	5
II.1.1. Etiologi .....	5
II.1.2. Siklus hidup dan morfologi .....	6
II.1.3. Gejala penyakit dan patogenesis .....	9
II.1.4. Pengendalian koksidiosis .....	12
II.1.5. Imunitas koksidiosis sekum .....	13
II.2. Tinjauan Biocid .....	14
II.2.1. Susunan kimia biocid .....	16
II.2.2. Cara kerja biocid .....	17
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....	18
III.1. Materi Penelitian .....	18
III.1.1. Tempat dan waktu penelitian .....	18

III.1.2. Hewan percobaan dan pakan .....	18
III.1.3. Kandang .....	18
III.1.4. Bahan-bahan dan alat-alat penelitian ...	19
III.1.5. Ookista <i>Eimeria tenella</i> .....	19
III.1.5.1. Isolasi ookista .....	19
III.1.5.2. Identifikasi .....	20
III.1.5.3. Perbanyakkan <i>Eimeria tenella</i> .....	21
III.1.6. Persiapan bahan infeksi .....	21
III.1.7. Larutan biocid .....	21
III.2. Metoda Penelitian .....	22
III.2.1. Rancangan percobaan .....	22
III.2.2. Perendaman dan penghitungan bahan infeksi	22
III.2.3. Inokulasi pada hewan percobaan:.....	23
III.2.4. Penilaian skor perlukaan sekum .....	24
III.2.5. Penghitungan produksi ookista.....	25
III.2.6. Analisis data penelitian.....	26
BAB IV. HASIL PENELITIAN .....	27
IV.1. Nilai Perlukaan Sekum .....	27
IV.2. Produksi Ookista <i>Eimeria tenella</i> .....	28
BAB V. PEMBAHASAN .....	29
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
Kesimpulan .....	34
Saran .....	34
RINGKASAN .....	36
DAFTAR PUSTAKA .....	38

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Rata-rata Skor Perlukaan Sekum Ayam yang diinfeksi <i>Eimeria tenella</i> yang Mengalami Perendaman Biocid dan yang Tidak pada Tujuh Hari Pasca Infeksi.....	27
2. Rata-rata Produksi Jumlah Ookista Isi Sekum pada Kelompok Ayam Kontrol dan Ayam perlakuan .....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil penghitungan Jumlah Ookista per mililiter	41
2. Skor Perukaan Sekum pada Hari ke Tujuh Pasca Infeksi .....	42
3. Data Hasil Perhitungan Produksi Ookista Isi Sekum pada hari ke Tujuh Pasca Infeksi .....	43
4. Evaluasi Data Hasil Pemeriksaan Skor Perukaan Sekum .....	44
5. Evaluasi Data Hasil Penghitungan Produksi Ookista Isi Sekum pada Hari ke Tujuh Pasca Infeksi .	46
6. Tabel Nilai R .....	49
7. Daftar t .....	50

## BAB I

## PENDAHULUAN

## Latar Belakang Masalah

Dengan semakin meningkatnya jumlah penduduk yang disertai pula dengan peningkatan taraf hidup, dituntut tersedianya kebutuhan pangan yang memadai dilihat dari segi kualitas dan kuantitas. Makanan yang bergizi harus mengandung air, karbohidrat, lemak, vitamin, mineral dan protein dalam jumlah yang cukup sesuai dengan kebutuhan tubuh pada berbagai umur dan kegiatan yang dilakukan.

Protein hewani merupakan suatu unsur gizi yang penting, oleh karena itu perlu ditingkatkan pengadaannya. Sumber protein hewani terutama adalah dari daging, telur dan susu. Upaya untuk meningkatkan pengadaan protein hewani perlu didapatkan atau ditemukan jenis ternak yang dapat cepat berproduksi, mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi dan mudah pemeliharaannya. Salah satu ternak yang memenuhi kriteria tersebut adalah ayam pedaging.

Berbagai usaha dilakukan oleh para ahli peternakan guna meningkatkan kuantitas dan kualitas ayam pedaging yang meliputi beberapa aspek, misalnya : genetika, tata kandang, pengendalian penyakit dan lain-lain.

Pengendalian penyakit yang meliputi pencegahan diperlukan bagi suatu peternakan demi keberhasilan usahanya. Hal ini disebabkan kerugian yang ditimbulkan karena penyakit dapat menghambat usaha tersebut, dengan

demikian secara tidak langsung dapat menghambat pula usaha pemerintah untuk meningkatkan produksi protein hewani. Salah satu penyakit yang sering menyerang ayam-ayam di Indonesia adalah koksidirosis. / Koksidirosis adalah penyakit parasiter yang disebabkan oleh Protozoa genus *Eimeria*. Ada beberapa *Eimeria* yang sering menyerang ayam antara lain : *E. acervulina*, *E. burnetti*, *E. praecox*, *E. hagani*, *E. mitis*, *E. necatrix* dan *E. tenella* (Soulsby, 1982 ). Di antara *Eimeria* tersebut yang paling ganas adalah *Eimeria tenella*, yang predileksinya di sekum. Kematian hampir 100 persen dapat terjadi pada ayam muda, sedangkan pada ayam dewasa dapat mengakibatkan penurunan berat badan, menurunkan produksi telur dan kelemahan. Infeksi berat ditandai dengan adanya berak darah dan oleh karena hilangnya darah cukup banyak dapat mengakibatkan kematian (Soulsby, 1982).

Penularan koksidirosis terjadi melalui makanan atau minuman ayam yang tercemar oleh feses ayam penderita koksidirosis yang mengandung ookista yang telah bersporulasi. Ookista yang telah bersporulasi baru akan menurun patogenitasnya bila disimpan enam sampai delapan bulan. Hal ini menunjukkan betapa tinggi kemampuan hidup ookista *E. tenella* dan sewaktu-waktu bisa menginfeksi induk semang dan menyebabkan koksidirosis (Ruff, 1981).

// Dengan melihat adanya kerugian yang relatif besar yang disebabkan oleh koksidiosis maka langkah penting yang perlu dilakukan oleh peternak ayam pedaging adalah pencegahan koksidiosis pada ternak, misalnya dengan vaksinasi dan pemeliharaan kebersihan kandang (Ashadi, 1979). // Fumigasi kandang dan sarananya adalah salah satu bentuk pencegahan koksidiosis. Selain itu juga bermanfaat untuk mencegah penyakit-penyakit ayam lainnya yang mungkin timbul yang disebabkan oleh virus, bakteri, jamur dan lain-lain. Biocid merupakan salah satu merk dagang desinfektan yang sering digunakan untuk fumigasi kandang dan ruangan. Selain itu biocid dapat digunakan pula sebagai antiseptik. Biocid sering digunakan oleh masyarakat khususnya oleh para peternak karena harganya relatif murah dan mudah didapatkan.

#### Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas timbul pertanyaan seberapa jauh pengaruh perendaman ookista dalam biocid sebagai disinfektan terhadap patogenitas *E. tenella* yang diamati berdasarkan skor perlukaan sekum dan produksi ookista.

#### Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid terhadap daya

infeksi atau keganasan *Eimeria tenella* dengan mengamati skor perlukaan mukosa sekum dan produksi ookista.

### Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi manfaat penggunaan biocid yang kaitannya untuk pengendalian koksidiosis sekum.

### Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini penulis mengajukan hipotesis yaitu terdapat pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid terhadap skor perlukaan sekum dan produksi ookista dari ayam yang diinfeksi *Eimeria tenella*.

## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

## II.1. Tinjauan Parasit

## II.1.1 Etiologi

Koksidiosis adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh hewan bersel satu yang tergolong dalam phylum Protozoa dan termasuk ordo Coccidia, famili Eimeridae dan genus *Eimeria* (Soulsby, 1982). Semula Hardley yang dikutip oleh Long et al (1978) mengemukakan bahwa penyebab koksidiosis pada ayam adalah *Eimeria avium* namun Johnson telah membuktikan bahwa penyebab koksidiosis selain *Eimeria avium* yang bersinonim dengan *Eimeria tenella* adalah *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. mitis*, *E. praecox*, *E. hagani* dan *E. burnetti* (Edgard, 1964).

Habitat *E. tenella* adalah didalam sekum. Ookista dapat diidentifikasi dari bentuk dan ukurannya. Umumnya berbentuk bulat telur, dengan panjang berkisar antara 14 - 31 mikron; lebar 9 - 25 mikron, dinding ookista halus dan tidak memiliki mikrofil. Setiap ookista mengandung sporokista yang juga berbentuk bulat telur (Levine, 1985).

Menurut Richardson dan Kendall (1963), ciri-ciri ookista yang telah bersporulasi (infektif) adalah adanya dinding yang terdiri dari dua membran, membran luar

ektokista dan membran dalam endokista, sehingga di bawah mikroskop terlihat adanya lapisan rangkap. Ektokista terdiri dari protein sedangkan endokista terdiri dari lipid protein. Dinding ookista berwarna kuning.

### II.1.2 Siklus hidup dan morfologi

Siklus hidup *Eimeria tenella* meliputi tiga tahap perkembangbiakan yaitu sporogoni, skizogoni dan gametogoni. Tahap sporogoni terjadi di luar tubuh induk semang. Perkembangan ookista dari ookista yang tidak infeksi menjadi infeksi terjadi pada tahap ini. Menurut Soulsby (1982) ookista yang infeksi adalah ookista yang bersporulasi yang ditandai adanya sporokista serta sporozoit di dalamnya. Agar ookista bisa bersporulasi dengan sempurna maka dibutuhkan kondisi lingkungan yang cukup oksigen, temperatur yang optimal dan derajat kelembaban yang sesuai.

Waktu sporulasi berkisar antara 18 jam sampai dengan 48 jam (Levine, 1985). Perbedaan waktu sporulasi ini terjadi karena perbedaan suhu, yang menurut Soulsby (1982) pada suhu 29 derajat Celsius sporulasi terjadi selama 18 jam, suhu 26 - 28 derajat Celsius selama 21 jam dan pada suhu 20 - 24 derajat Celsius selama 24 jam. Masa prepaten yaitu waktu ookista infeksi sampai ookista dikeluarkan kembali melalui tinja induk semang adalah enam sampai tujuh hari.

Ookista mengalami eksistasi di dalam duodenum ayam dan membebaskan sporozoit, kemudian karena gerakan peristaltik usus, sporozoit sampai di sekum dan menginfeksi sekum (Rose, 1976). Sporozoit yang telah bebas menembus epitel sekum menuju tunika popria. Sporozoit ditangkap oleh makrofag dan dibawa ke kelenjar Liberkhun. Kemudian sporozoit keluar dari makrofag dan berkembang di dalam sel epitel kelenjar (Soulsby, 1982). Menurut Nakae dkk. (1981), sporozoit *Eimeria tenella* dalam sitoplasma banyak mengandung amilopektin yang merupakan sumber energi bagi sporozoit termasuk di dalam melakukan penetrasi ke dalam sel epitel usus. Masuknya sporozoit ke kelenjar Liberkhun dibawa oleh "host cell" bukan makrofag seperti yang diduga semula. Host cell itu disebut dengan "intra epitelial lymphocyt" (Rose, 1976).

Sporozoit yang telah masuk ke epitel kelenjar berkembang menjadi trofozoit generasi I yang berbentuk bulat yang disertai eosinofil yang mengelilinginya (Seneviratna, 1969). Trofozoit ini akan berkembang menjadi skizon generasi I yang berukuran 24 x 17 mikron. Skizon generasi I ini akan masak dan pecah pada 60-72 jam setelah infeksi, yang menghasilkan 900 merozoit generasi I berukuran panjang dua sampai dengan empat mikron dan lebar satu sampai satu setengah mikron. Merozoit yang dibebaskan ke lumen kelenjar selanjutnya akan menginfeksi sel epitel sekum yang masih utuh dan berkembang menjadi skizon generasi II. Koloni skizon



generasi II ini tampak pertama kali pada 72 jam setelah infeksi. skizon generasi II memiliki diameter 50 mikron. Perkembangan skizon generasi II ini terjadi di atas inti sel yang akan masak dan pecah. pada 96 jam setelah infeksi. Masing-masing skizon ini akan menghasilkan 200-300 merozoit generasi II yang berukuran 16 x 2 mikron. Pecahnya skizon generasi II ini akan menyebabkan kerusakan dan pendarahan pada sel epitel sekum. Hal ini terjadi setelah 96 jam setelah infeksi. Selanjutnya merozoit generasi II menginfeksi sel epitel sekum yang masih utuh dan akan berkembang menjadi skizon generasi III. Letak perkembangan skizon ini di bawah inti sel. Skizon generasi III memiliki ukuran 9 x 7,6 mikron yang akan menghasilkan 4-30 merozoit generasi III yang berukuran 6,8 x 1 mikron (Soulsby, 1982).

Tahap gametogoni dimulai ketika merozoit generasi III mengadakan penetrasi ke dalam sel epitel sekum. Merozoit ini akan menghasilkan sel-sel gamet yang akan berdiferensiasi menjadi sel gamet jantan dan sel gamet betina. Sel gamet jantan mengadakan pembelahan dan masing-masing dilengkapi dengan flagella kemudian disebut dengan mikrogamet, sedangkan sel gamet betina mengalami pembesaran dan pendewasaan menjadi makrogamet. Masing-masing mikrogamet akan membuahi makrogamet yang akan menghasilkan zigot yang kemudian akan melengkapi dirinya dengan kista, dan terbentuklah ookista. Ookista dikeluarkan dari sel epitel ke lumen sekum yang

selanjutnya dikeluarkan bersama-sama tinja. Menurut Seneviratna (1969) dan Soulsby (1982) ookista ditemukan pertama kali pada enam hari setelah ayam terinfeksi oleh *Eimeria tenella*. Jumlah ookista yang dikeluarkan akan bertambah dan mencapai maksimum pada hari kesepuluh setelah infeksi, kemudian akan menurun.

Bila tidak terjadi infeksi ulang, maka setelah ookista dikeluarkan dari tubuh, infeksi parasit akan berakhir. Kejadian tersebut disebut membatasi diri (self limiting) ( Soulsby, 1982 ; Reid, 1984 ; Levine, 1985 ).

### II.1.3. Gejala penyakit dan patogenesis

*Eimeria tenella* adalah koksidia yang sangat patogen terutama pada ayam yang berumur empat sampai delapan minggu. Gejala klinis yang tampak tergantung dari induk semang dan jumlah ookista yang menginfeksi. Bila infeksi bersifat ringan, tidak tampak adanya gejala klinis. Akan tetapi bila infeksinya berat, menyebabkan pendarahan yang berat sampai terjadi kematian pada hari kelima atau kedelapan (Flynn, 1973).

Doran dan Far dalam Ashadi (1979), ayam yang berumur satu sampai dengan dua minggu lebih tahan karena ekskistasi ookistanya berkurang disebabkan lemahnya gerakan lambung otot (gizzard) sehingga pemecahan dinding ookista kurang sempurna dan enzim pencernaan yang dihasilkan kurang optimal. Sedangkan ayam dewasa biasanya lebih tahan karena sebelumnya telah mendapat kekebalan.

sehingga bersifat carrier ( pembawa ) koksidiosis ( Levine, 1985 ).

Gejala penyakit mulai tampak ketika skizon menjadi besar dan merozoitnya keluar dari sel-sel epitel, sehingga terjadi kerusakan sel-sel epitel dan pendarahan yang meluas dalam sekum (Levine, 1985). Selanjutnya hewan tampak lesu, nafsu makan menurun sampai hilang sama sekali dan hewan tampak kurus, sayapnya terkulai, bulu kusut dan dikotori oleh darah terutama di sekitar dubur (Ashadi, 1979). Pendarahan yang paling berat terjadi pada hari kelima sampai keenam pasca infeksi dan kematian terjadi pada hari kelima sampai ketujuh pasca infeksi (Soulsby, 1982 ; Reid dkk., 1984). Bila setelah hari kedelapan hewan masih hidup, maka selanjutnya akan memperoleh kesembuhan dan kekebalan (Long, 1980).

Perubahan patologi anatomi pada koksidiosis sekum terjadi pada hari keempat pasca infeksi perdarahan terjadi di seluruh selaput lendir sekum. Pada tunika popria terjadi infiltrasi eosinofil dan pembendungan. Dinding sekum menebal, sel-sel epitel rusak diikuti terlepasnya merozoit dan darah dan jaringan yang rusak ke dalam lumen sekum. Biasanya ini terjadi pada hari kelima pasca infeksi. Pada hari kelima tersebut sekum dipenuhi oleh darah yang tidak membeku atau sebagian membeku, yang terus bertambah volumenya hingga hari keenam. Isi sekum bersifat fibrin dan bahan nekrose terbentuk pada hari ketujuh. Mula-mula bahan ini melekat

erat pada selaput lendir sekum tapi kemudian segera lepas dan berada bebas dalam lumen sekum. Regenerasi sempurna terjadi pada infeksi ringan. Pada hari ketujuh dinding sekum berubah warnanya dari merah menjadi bintik-bintik merah atau putih susu disebabkan oleh terbentuknya ookista. Isi sekum yang mula-mula berwarna kemerahan berubah menjadi keputihan atau keunguan. Isi sekum yang mengeras ini kemudian sebagian atau seluruhnya keluar bersama tinja (Levine, 1985).

Ruff dkk. (1981) menyatakan bahwa ookista yang telah bersporulasi, yang telah disimpan enam sampai delapan bulan menunjukkan penurunan patogenitasnya. Penilaian patogenitas tersebut berdasarkan penurunan jumlah sporokista yang hidup, jumlah sporozoit yang dapat menembus sel ginjal (*in vitro*), berat badan, skor perlukaan, pigmen plasma dan protein plasma.

*Petikhia* nampak tersebar pada permukaan mukosa dengan sedikit perubahan warna pada dinding sekum menunjukkan skor +1. Hal ini mungkin terjadi bila kurang lebih 150 ookista diinfeksi dalam dosis tunggal. Adanya darah dan luka, penebalan dinding sekum dan beberapa gejala klinis kelesuan terjadi setelah diinokulasikan 150-500 ookista. Hal ini menunjukkan skor +2. Kematian yang cukup banyak, pembekuan darah, isi sekum tidak normal dengan gejala klinis hewan bergerombol, kedinginan dan kurang darah. Hal ini menunjukkan skor +3. Ini terjadi dengan 1000-3000

ookista yang diinfeksi. Kematian dalam jumlah yang lebih besar, perdarahan yang lebih parah, sekum berisi gumpalan darah yang telah membeku dan pengapuran. Ini terjadi dengan infeksi ookista berjumlah 5000 atau lebih. Tingkat infeksi bervariasi tergantung pada breed, umur dan makanan dari ayam serta keganasan dari ookista yang diinfeksi (Reid dkk., 1984).

#### II.1.4. Pengendalian Koksidiosis

Pengendalian koksidiosis secara umum dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu : Sanitasi kandang, penggunaan koksidiostat dan pengebalan. Sanitasi kandang dapat dilakukan dengan membersihkan kandang secara teratur. Jika alas kandang berupa litter, diusahakan alas kandang tetap kering, dapat digunakan kalsium oksida 10-15 pound tiap seratus meter persegi kandang. Untuk membunuh ookista yang infeksi dapat digunakan larutan amonia 10 persen, digunakan pada tiap penggantian liter (Richardson dan Kendall, 1963). Ookista tahan terhadap beberapa macam desinfektan misalnya formalin lima persen,  $CuSO_4$  lima persen (Reid, 1984).

Penggunaan bahan kimia untuk pengendalian koksidiosis sudah dikenal sejak tahun 1940 dengan menggunakan beberapa bahan kimia antara lain yaitu : asam cuka dan belerang. Kemudian diketahui pula bahwa sulfonamide efektif untuk memberantas koksidiosis pada ayam. Dewasa ini telah dikenal beberapa macam

koksidiostat yang sering digunakan, yaitu sulfadimidine, sulfamerazine, sulfaguinoxaline, nitrofurazone, amprolium dan lain-lain (Roberson, 1981).

Penggunaan obat-obatan dalam waktu yang lama dapat menimbulkan galur koksidia yang tahan terhadap obat tertentu (Soulby, 1982). Galur *Eimeria tenella* yang tahan terhadap nitrofurazone setelah dipasase ketujuh, telah ditemukan oleh Gardiner dan Mc. Loughlin (1963). Selanjutnya Mc. Loughlin dan Gardiner (1967) mendapatkan galur eimeria yang tahan terhadap nicarbazine setelah pasase yang ke 11.

Pencegahan terhadap cara pengebalan telah dilakukan. Beberapa peneliti terdahulu telah mempelajari cara pengebalan ini dengan cara menginfeksi dosis kecil ookista pada ayam muda (Solusby, 1982).

Ayam umur tiga, tujuh dan 14 minggu akan menjadi kebal setelah diinfeksi dengan dosis tertentu. Kekebalan sempurna akan didapatkan setelah diberi infeksi ulang sebanyak tiga kali dengan ookista *Eimeria tenella*, dimana tiap infeksi diberikan 10 kali dari dosis yang pertama (Ashadi, 1979).

#### II.1.5. Imunitas koksidiosis sekum

Menurut Rose (1976) derajat patogenitas masing-masing spesies *Eimeria* dengan induk semangnya bervariasi. Pada ayam-ayam percobaan imunitas dapat timbul terhadap semua spesies dari *eimeria* walaupun

demikian hal ini juga dipengaruhi oleh perbedaan antar spesies (Leathem, 1968). *Eimeria tenella* yang sangat imunogenik hanya dengan satu kali infeksi dan dalam jumlah yang kecil (50-100) ke dalam tubuh hospes; tetapi *Eimeria tenella* yang kurang imunogenik diperlukan sekurang-kurangnya tiga kali infeksi ookista dalam jumlah yang besar dan semakin meningkat untuk mencapai tingkat imunitas yang sempurna.

Sekurang-kurangnya ada tiga kekebalan terhadap *Eimeria tenella*, ayam mungkin kebal secara total terhadap parasit, ayam mungkin kebal pada derajat tertentu dimana ookista mampu menyelesaikan siklus hidup tetapi tidak terjadi lesi di ususnya dan ayam mungkin tidak menunjukkan gejala klinis dari penyakit ini tetapi disamping itu terjadi lesi-lesi (Long, 1980). Kemudian untuk menilai ketahanan terhadap infeksi koksidiosis diukur berdasarkan pertambahan berat badan, nilai perlukaan sekum, tingkat produksi ookista per gram faeces pada tujuh hari pasca infeksi (Long, 1980; Ruff, 1981).

## II.2. Tinjauan Biocid

Desinfektan adalah suatu bahan kimia yang dapat membunuh mikroorganisme, terutama digunakan terhadap benda mati seperti gedung, kandang, peralatan kandang, alat operasi dan lain-lain (Rawlins, 1980; Volk Wheeler, 1984). Istilah desinfektan sering dikacaukan dengan antiseptik. Perbedaan istilah tersebut terletak

pada tujuan penggunaannya, dimana antiseptik digunakan untuk mahluk hidup atau jaringan tubuh. Konsentrasi bahan kimia yang digunakan sebagai antiseptik pada umumnya lebih rendah dibanding dengan yang digunakan sebagai desinfektan. Ini dengan tujuan menghindari terjadinya iritasi dan kerusakan jaringan tubuh (Jones, 1971).

Berdasarkan struktur kimianya desinfektan dibagi menjadi beberapa golongan, antarlain adalah alkohol, aldehide, acid, fenol, logam berat, deterjen dan halogen. Iodium merupakan salah satu dari golongan halogen selain klor (Pelzar, 1981).

Biocid merupakan pembunuh kuman yang berspektrum luas karena dapat membunuh bakteri, jamur dan virus penyebab penyakit pada ternak besar, unggas dan manusia. Penyakit Mulut dan Kuku, New Castle Disease, Tuberculosis, Marek dan lain-lain.

Biocid tidak merangsang kulit dan selaput lendir dari ternak atau manusia, dapat dipergunakan untuk tangan, ambing dan dapat disemprotkan pada ternak dan tetap aktif dalam bahan organik seperti darah, serum dan sisa-sisa jaringan lemak, lapisan susu dan lain-lain.

Aturan pakai biocid pengenceran 1 : 300 dalam air untuk mendisinfeksi atau membersihkan tangan, ambing sebelum diperah, bagian yang akan dioperasi dan luka terbuka. Kemudian pengenceran 1 : 400 untuk mendisinfeksi dan membersihkan bangunan, instalasi,



kendaraan, semua peralatan dan tempat mencuci kaki di peternakan dan penetasan. Sedangkan pengenceran 1 : 600 untuk mendisinfeksi dan membersihkan mesin tetas dan peralatannya, kandang, tempat minum, makanan dan peralatan lainnya, rumah potong dan tempat pemerahan (Hartono, 1980).

### II.2.1. Susunan kimia Biocid

Bahan utama biocid adalah Iodium. Iodium merupakan satu-satunya unsur halogen yang berbentuk padat pada suhu kamar tapi dapat langsung berubah menjadi bentuk gas tanpa melalui fase cair terlebih dahulu. Kelarutannya dalam air sangat kecil, yaitu satu gram dalam 3000 mililiter. Untuk meningkatkan kelarutannya, Iodium direaksikan dengan zat pembawa, misalnya povidone sehingga dapat ditingkatkan kelarutannya tiga gram dalam 100 mililiter pelarut, seperti kandungan Iodium dalam biocid (Hartono, 1980).

Povidone merupakan polimer dari vinylirolidone, sedangkan Iodium yang terikat merupakan molekul terdiri dari dua unsur. Pengikatan antara Iodium dan povidone diduga terjadi karena daya tarik antara dua molekul senyawa yang mempunyai dua kutub bermuatan, berlainan. ikatan tersebut mudah lepas, misalnya bila diletakkan dalam lingkungan yang mempunyai dua kutub misalnya air (Meyers, 1974).

### II.2.2. Cara kerja biocid

Desinfektan yang mengandung Iodofor, yakni ikatan iodium dan pembawanya, zat yang mempunyai sifat yang lebih menguntungkan daripada desinfektan yang mengandung iodium dalam bentuk lain, sebab iodofor bersifat tidak mewarnai, tidak mengiritasi, stabil serta mudah bercampur dengan air.

Iodofor selalu dicampur dengan deterjen dalam suasana asam. Oleh karena itu cocok bila digunakan pembersihan dalam suasana asam.

Setelah Iodium dicampur dengan air maka terjadi reaksi antara Iodium dengan molokul air menurut persamaan reaksi sebagai berikut,  $I_2 + H_2O \text{ ---- } HI + HIO$ . HIO mengalami dekomposisi menjadi HI dan O. Karena bersifat oksidator maka O mampu merubah ikatan Sulfhidril (-SH) dari suatu enzim menjadi ikatan Disulfida (S-S), sehingga menghentikan aktifitas enzim tersebut. Penghentian kegiatan enzim tersebut mengakibatkan penghentian proses metabolisme dan pada akhirnya akan mengakibatkan kematian sel (Pelczar and Chan, 1981).

## BAB III

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### III.1. Materi Penelitian

##### III.1.1. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 23 Oktober 1992 sampai dengan 30 November 1992.

##### III.1.2. Hewan percobaan dan pakan

Hewan percobaan yang digunakan adalah ayam pedaging komersial CP 707 berumur satu hari yang dibeli dari Poultry Shop di Surabaya yang kemudian dipelihara sampai umur tiga minggu.

Pakan yang digunakan untuk pemeliharaan adalah BR I untuk ayam berumur satu sampai dua minggu dan BR II untuk ayam berumur dua minggu sampai dengan empat minggu.

##### III.1.3. Kandang

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini ada dua macam yaitu kandang untuk pemeliharaan anak ayam umur satu hari sampai dengan dua minggu. Kandang ini dilengkapi dengan pemanas lampu listrik serta dilengkapi pula dengan tempat pakan dan minum. Kandang berikutnya

adalah dua kandang kawat yang digunakan untuk pemeliharaan ayam berumur dua minggu sampai dengan empat minggu.

#### III.1.4. Bahan-bahan dan alat-alat penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah : kalium bikromat, aquadest, disinfektan, vaksin New Castle Disease, larutan biocid dan air PDAM.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah : mikroskop, obyek glass, cover glass, lumpang dan mortir porselin, pengaduk, cawan petri, pipet Pasteur, gelas ukur, tabung sentrifuge, saringan " U.S. Standart Sieve Series No 100 " , counter, pot plastik, spuit disposable dan selang plastik.

#### III.1.5. Ookista *Eimeria tenella*

##### III.1.5.1. Isolasi ookista.

Ookista yang dipakai sebagai bahan infeksi adalah ookista *Eimeria tenella* yang didapatkan dari ayam yang menderita koksidiosis sekum. Tanda-tanda ayam yang menderita koksidiosis , sekum mengalami pembengkakan, isi sekum berupa darah membeku maupun setengah membeku. Isi sekum ayam penderita dikeluarkan, kemudian dilakukan pemeriksaan natif di bawah mikroskop dengan pembesaran

400 kali. Bila positif terdapat ookista, isi sekum diletakkan di dalam lumpang porselin dan digerus kemudian ditambahkan larutan kalium bikromat 2,5 persen secukupnya. Suspensi tersebut disaring dengan saringan " U.S. Stándart Sieve Series No 100 " lalu dituangkan ke dalam cawan petri kemudian ditutup setengah terbuka dan diinkubasi pada suhu kamar. Setiap 24 jam dilakukan pemeriksaan. suspensi diaduk perlahan-lahan dan ditambahkan larutan kalium bikromat 2,5 persen secukupnya bila kurang.

#### III.1.5.2. Identifikasi.

Jenis (spesies) koksidia ditentukan berdasarkan bentuk, ukuran panjang dan lebar ookista, waktu sporulasi serta predileksinya (Reid, 1984). Untuk penentuan ukuran panjang dan lebar ookista diukur sepuluh ookista kemudian diambil rata-ratanya. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang 20,12 mikron dan lebar 16,68 mikron serta berbentuk bulat telur. Sekum yang diambil untuk isolasi menunjukkan pembengkakan tiga kali lipat dari normal. Ookista yang disporulasikan sebagian besar sudah bersporulasi pada 48 jam setelah inkubasi. Dengan memperhatikan kriteria di atas dapat dipastikan bahwa ookista yang diisolasi adalah *Eimeria tenella*.

### III.1.5.3. Perbanyakkan *Eimeria tenella*.

Untuk perbanyakkan ookista *Eimeria tenella* digunakan lima ekor ayam pedaging tipe CP 707 berumur tiga minggu. Tiap-tiap ekor ayam diinfeksi dengan 5000 ookista *Eimeria tenella* yang telah bersporulasi secara per oral. Gejala-gejala klinis yang ada diamati setelah diinfeksi. Pada hari ketujuh ayam tersebut dipotong dan dilakukan pengambilan sekumnya untuk diambil isinya sebagai bahan infeksi penelitian.

### III.1.6. Persiapan bahan infeksi.

Semua isi sekum dari ayam yang digunakan untuk perbanyakkan ookista dikerok. Hasil kerokan tersebut ditampung dalam lumpang porselin dan digerus dengan lumpang porselin sambil ditambahkan larutan kalium bikromat 2,5 persen secukupnya. Suspensi isi sekum ini kemudian ditampung dalam cawan petri, yang sebelumnya telah disaring dengan saringan " U.S. Standart Sieve Series No 100 ". Hasil saringan ini diinkubasi pada suhu kamar supaya bersporulasi.

### III.1.7. Larutan biocid

Larutan biocid yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan biocid dengan pengenceran 1 : 600 dalam air.

### III.2. Metode Penelitian

#### III.2.1. Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap dengan dua perlakuan. Masing-masing untuk K adalah kelompok kontrol (tanpa perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid) dan P adalah kelompok perlakuan (dengan perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid). Tiap-tiap perlakuan terdiri dari 15 ulangan

#### III.2.2. Perendaman dan penghitungan bahan infeksi

Suspensi isi sekum hasil perbanyakan yang telah bersporulasi disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama lima menit untuk memisahkan ookista dan larutan kalium bikromat. Hasil sentrifuge ini sebagian ditambahkan larutan kalium bikromat 2.5 persen dan sebagian lagi ditambahkan larutan biocid yang telah disiapkan untuk perendaman. Kedua suspensi tersebut masing-masing dituangkan dalam cawan petri dan dibiarkan pada suhu kamar selama dua hari.

Setelah diinkubasi selama dua hari, masing-masing suspensi ookista disentrifuge lagi dengan kecepatan 1500 rpm selama lima menit. Perlakuan ini diulang tiga kali hingga didapatkan supernatan yang sudah jernih. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan ookista dengan larutan kalium bikromat dan memisahkan ookista dengan

larutan biocid. Hasil sentrifuge ditambahkan aquadest secukupnya lalu dilakukan penghitungan ookista.

Penghitungan dilakukan dengan menghitung banyaknya ookista yang bersporulasi dan jumlah semua ookista dalam satu tetes. Penghitungan dilakukan tiga kali kemudian diambil rata-rata. Penentuan jumlah suspensi bahan infeksi ditentukan berdasarkan persentase ookista yang bersporulasi dalam satu mililiter. Jadi suspensi ookista yang dibutuhkan untuk satu inokulasi (5000 ookista bersporulasi) adalah 5000 di bagi banyaknya ookista yang bersporulasi dalam satu milimeter suspensi ookista. Penghitungan ini dilakukan pada suspensi ookista yang direndam dalam larutan kalium bikromat 2,5 persen (kontrol) maupun suspensi ookista yang direndam dalam larutan biocid ( perlakuan ) seperti yang terlampir pada Lampiran 1.

### III.2.3. Inokulasi pada hewan percobaan

Inokulasi dilakukan dengan menggunakan spuit disposable dimana jarumnya telah diganti dengan selang plastik. Suspensi ookista yang ada di dalam cawan petri disedot dengan menggunakan spuit tersebut sampai dengan volume yang dibutuhkan. Inokulasi dilakukan secara peroral dengan bantuan selang plastik yang telah dimasukkan ke dalam kerongkongan ayam percobaan. Dengan cara ini diharapkan bahan infeksi tidak dimuntahkan oleh ayam percobaan. Jumlah atau volume suspensi ookista yang



diinokulasikan sesuai dengan takaran yang telah ditentukan yaitu 5000 ookista *Eimeria tenella*. Inokulasi dilakukan pada saat ayam percobaan berumur tiga minggu.

#### III.2.4. Penilaian skor perlukaan sekum

Pada saat hewan percobaan berumur empat minggu (tujuh hari setelah diinokulasi ookista) dilakukan penyembelihan untuk diambil sekumnya dan dilakukan pengamatan dan penilaian terhadap perlukaan sekum dan menghitung jumlah ookista *Eimeria tenella*.

Sekum dipisahkan dari organ lainnya kemudian dilakukan pembedahan dengan menggunakan gunting, pinset dan scalpel. Dengan melakukan pengamatan keadaan sekum dan isinya, maka dapat ditentukan skor perlukaan sekum tersebut dengan cara Johnson dan Reid (1970) seperti yang dilakukan Ashadi (1979) sebagai berikut :

- 0 = tidak didapatkan luka di dinding sekum.
- +1 = pada dinding lumen sekum di sana-sini didapatkan petikhia, tebal dinding dan isi sekum normal
- +2 = didapatkan banyak luka pada dinding sekum bercampur dengan darah, dinding sekum sedikit menebal.
- +3 = banyak darah yang telah membeku atau setengah membeku di dalam sekum, dinding sekum menebal, sedikit atau sama sekali ti-

tidak didapatkan isi sekum yang berupa tinja.  
+4 = sekum sangat membesar dengan dinding sangat merentang, isi sekum terdiri dari darah yang sangat membeku atau mengalami proses pengapuran, sedangkan isi sekum yang berupa tinja sangat sedikit. Ayam mati karena koksidiosis dinilai +4.

### III.2.5. Penghitungan produksi ookista

Setelah dilakukan penilaian terhadap skor perlukaan sekum, isi sekum dikerok dan diletakkan di dalam lumpang porselin dan ditambahkan larutan kalium bikromat 2,5 persen secukupnya. Di dalam lumpang tersebut isi sekum digerus dan diaduk-aduk hingga homogen. Hasil suspensi isi sekum ini masing-masing ditampung di dalam pot plastik yang telah disediakan. Penghitungan dilakukan dengan meneteskan satu tetes suspensi ookista diatas obyek glass dan ditutup dengan covernya. Hasil penghitungan jumlah ookista dalam satu tetes dikalikan dengan banyak tetes dalam satu mililiter suspensi ookista lalu dikalikan lagi dengan jumlah seluruhnya dalam satu pot plastik tersebut dalam mililiter. Hasil perkalian ini merupakan jumlah total seluruh ookista yang ada di dalam satu hewan percobaan. Dari cara tersebut dapat dibuat

suatu rumus penghitungan jumlah ookista adalah sebagai berikut :

$$T = n.m.v.$$

T : total jumlah ookista.

n : jumlah ookista dalam satu tetes suspensi.

m : jumlah tetesan dalam satu mililiter.

v : volume suspensi ookista dari isi sekum hewan percobaan

### III.2.6. Analisis data penelitian

Analisis data penelitian ini digunakan uji t untuk menganalisa pengaruh biocid sebagai disinfektan terhadap produksi ookista pada ayam yang diinfeksi ookista *Eimeria tenella* (Kusriningrum, 1989) dan uji jumlah jenjang Willcoxon untuk menganalisa pengaruh biocid terhadap skor perlukaan sekum ayam pedaging (Sarmanu, 1989).

## BAB IV

## HASIL PENELITIAN

Dari data-data penelitian tentang pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid terhadap nilai perlukaan sekum dan produksi ookista setelah tujuh hari dari masa infeksi diperoleh hasil sebagai berikut :

## IV.1. Nilai perlukaan sekum

Dari hasil pemeriksaan terhadap nilai perlukaan sekum tercantum pada Lampiran 2. Sedangkan rata-rata skor perlukaan dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Rata-rata Skor Perlukaan Sekum Ayam yang Diinfeksi *Eimeria tenella* yang Mengalami Perendaman Biocid dan yang Tidak pada Tujuh Hari Pasca Infeksi.

Perlakuan	Skor Perlukaan Sekum
K	2.067 ± 0,88
P	1.467 ± 0,83

## Keterangan :

K : tanpa perendaman ookista dalam larutan biocid  
( kontrol ) .

P : perendaman ookista dalam larutan biocid  
(perlakuan).

Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji jumlah jenjang Willcoxon pada Lampiran 2 menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata terhadap nilai

perlukaan sekum pada kedua kelompok ayam tersebut ( $p > 0,05$ ).

#### IV.2. Produksi ookista *Eimeria tenella*

Data hasil penghitungan jumlah ookista yang ada dapat dilihat pada Lampiran 3. Sedangkan rata-rata jumlah ookista yang dihasilkan pada tujuh hari pasca infeksi dapat dilihat pada tabel 2. sebagai berikut :

Tabel 2. Rata-rata Produksi Ookista Isi Sekum pada Kelompok Ayam Kontrol dan Ayam Perlakuan.

Perlakuan	Produksi Ookista
K	536680,53 ± 518881,10
P	124121,60 ± 113240,66

Keterangan :

K : tanpa perendaman ookista dalam larutan biocid

P : perendaman ookista dalam larutan biocid.

Hasil analisis dengan uji t pada Lampiran 3. menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap jumlah produksi ookista diantara kedua kelompok tersebut ( $p < 0,01$ ).

## BAB V

## PEMBAHASAN

## 1. Nilai Perlukaan Sekum

Analisis hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna untuk nilai perlukaan sekum antara kelompok ayam kontrol dan kelompok ayam perlakuan. Pada kelompok ayam kontrol rata-rata skor perlukaan sekum adalah 2,067 dan kelompok perlakuan rata-rata perlukaan sekumnya adalah 1,467.

Dari data tersebut di atas sepintas terlihat adanya penurunan tingkat perlukaan sekum. Terjadinya penurunan rata-rata skor perlukaan sekum pada kelompok perlakuan disebabkan oleh adanya penurunan jumlah ookista yang infeksiif yang masih bisa meneruskan siklus hidupnya. Hal ini bisa terjadi karena pengaruh perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid, dimana biocid mempengaruhi tingkat virulensi dari parasit tersebut sehingga terjadi penurunan rata-rata skor perlukaan pada sekum meskipun tidak memberikan perbedaan yang nyata dari analisis statistiknya.

Dengan adanya penurunan infeksiifitas ookista pada stadium sporogoni mengakibatkan penurunan pula jumlah parasit yang dihasilkan pada stadium skizogoni dan gametogoni. Stadium skizogoni sangat menentukan tingkat perlukaan yang terjadi pada sekum, terlebih pada saat

terbentuknya skizon generasi II. Skizon-skizon ini sangat menentukan perlukaan sekum (Ashadi, 1979). Dengan menurunnya jumlah skizon generasi II mengakibatkan penurunan rata-rata skor perlukaan sekum meskipun tidak berbeda nyata sebab selain dipengaruhi oleh jumlah parasit, perlukaan dipengaruhi pula oleh tingkat virulensi atau jenis dari koksidia (Seddon, 1966).

Penilaian perlukaan sekum adalah salah satu dari cara penilaian terhadap tingkat patogenitas *Eimeria tenella*, cara-cara yang lain adalah dengan cara mengukur tingkat pertambahan atau penurunan berat badan, pigmen plasma dan jumlah produksi ookista pada hari ketujuh pasca infeksi (Ruff, 1981).

Tidak adanya skor perlukaan sekum +4 pada kelompok kontrol maupun perlakuan, hal ini mungkin disebabkan ayam umur tiga minggu kurang peka terhadap infeksi *Eimeria tenella*, karena ayam mempunyai kepekaan yang sangat tinggi pada saat ayam berumur empat sampai delapan minggu. Hal ini dikarenakan pada umur kurang dari empat minggu kurang menghasilkan enzim tripsin yang membantu proses keluarnya sporozoit-sporozoit dari dalam sporokista. Sporokista memiliki benda Stiedae yang dapat dicerna oleh tripsin kemudian cairan empedu masuk melalui lubang tersebut dan memungkinkan memprakarsai gerakan sporozoit tersebut melepaskan diri melalui lubang itu (Noble and Noble, 1989). Selain itu ditambah masih lemahnya gerakan lambung otot sehingga dapat mempengaruhi

tingkat patogenitas *Eimeria tenella* terhadap perlakuan sekum dan jumlah produksi ookista (Ashadi, 1979).

Sekurang-kurangnya ada tiga jenis kekebalan terhadap *Eimeria tenella* antara lain adalah ayam mungkin kebal secara total terhadap parasit dan tidak terjadi perkembangan dari parasit, ayam mungkin kebal pada derajat tertentu dimana parasit mampu menyelesaikan siklus hidupnya tetapi tidak terjadi lesi-lesi di sekum dan ayam mungkin tidak menunjukkan gejala dari penyakit ini akan tetapi terjadi lesi-lesi di sekumnya (Long, 1980).

## 2. Produksi Ookista *Eimeria tenella*

Berdasarkan analisis statistik hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan terhadap produksi ookista. Pada kelompok kontrol produksi ookista pada tujuh hari pasca infeksi rata-ratanya adalah 536680,53 sedangkan kelompok perlakuan 124121,60.

Awal dari siklus hidup *Eimeria tenella* dimulai dari stadium sporogoni. Pada stadium ini terjadi proses sporulasi yang terjadi di luar induk semang. Perkembangan non infeksi menjadi infeksi terjadi pula pada stadium ini. Untuk kelangsungan hidup dari *Eimeria tenella* maupun sporulasi yang sempurna dibutuhkan kondisi lingkungan yang cukup oksigen, temperatur yang optimal



dan kelembaban yang sesuai ( Soulsby, 1982 ).

Dengan direndamnya ookista dalam larutan biocid selama 48 jam berpengaruh terhadap perkembangan ookista tersebut. Hal ini terjadi karena iodoform dalam larutan biocid secara perlahan akan melepaskan iodium dari ikatannya dan mempengaruhi sitoplasma. Masuknya iodium ke dalam sitoplasma secara difusi disebabkan turunnya tegangan permukaan dinding ookista karena pengaruh detergen yang ada dalam larutan biocid. Adanya iodium di dalam sitoplasma akan mengubah gugus Sulfhidril (-SH) yang terdapat dalam enzim menjadi Disulfida (S-S). Hal ini terjadi disebabkan karena iodium yang bereaksi dengan air menghasilkan HIO dan HIO mengalami dekomposisi menjadi HI dan O sedangkan O bersifat oksidator dan O mengubah gugus -SH menjadi gugus S-S. Dengan terputusnya gugus sulfhidril (-SH) dari suatu enzim metabolisme ini menimbulkan tidak tersedia energi yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup dari ookista (Pelzar and Chan, 1981 ).

Dengan kurang tersedianya energi karena terhentinya proses metabolisme mengakibatkan kurang infektifnya ookista yang berakibat pula pada penurunan jumlah ookista yang infektif. Penurunan ini berakibat pula pada penurunan jumlah parasit yang dihasilkan pada stadium-stadium berikutnya yaitu stadium schizogoni dan gametogoni. Pada stadium gametogoni terjadi pertemuan antara mikrogamet dan makrogamet yang akan menghasilkan

zigot. Zigot akan melengkapi diri dengan kista dan terbentuklah ookista. Jadi dengan perendaman ookista dalam larutan biocid akan menurunkan infektifitas ookista pada stadium sporogoni ( di luar induk semang ) yang pada akhirnya akan menurunkan jumlah ookista yang dihasilkan pada hari ketujuh pasca infeksi .

Dengan melihat hasil penelitian ini maka dapat diambil kesimpulan bahwa dengan perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid dengan konsentrasi 1 : 600 dalam air memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah produksi ookista pada hari ketujuh pasca infeksi tetapi tidak memberikan perbedaan yang bermakna terhadap skor perlukaan sekum.

## BAB VI

## KESIMPULAN DAN SARAN

## Kesimpulan

Dari hasil penelitian pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid terhadap nilai perlukaan pada sekum dan jumlah produksi ookista *Eimeria tenella*, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Tidak adanya perbedaan yang bermakna terhadap nilai perlukaan sekum ayam yang diinfeksi ookista *Eimeria tenella* yang telah direndam dalam larutan biocid dibanding perlukaan sekum ayam yang diinfeksi ookista *Eimeria tenella* tanpa direndam dalam larutan biocid ( $p > 0,05$ ).
2. Perendaman ookista *Eimeria tenella* dalam larutan biocid dengan konsentrasi pengenceran 1:600 dalam air sesuai dengan aturan pakainya menyebabkan penurunan produksi ookista yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ).

## Saran

1. Para peternak ayam khususnya pedagang hendaknya lebih meningkatkan kebersihan kandang dan sarana-sarananya untuk mencegah timbulnya penyakit-penyakit pada ayam khususnya koksidiosis.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis pengenceran biocid yang mampu memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah ookista yang dihasilkan juga pada nilai perlukaan pada sekum ayam.

## RINGKASAN

Penelitian tentang pengaruh perendaman ookista dalam larutan biocid terhadap nilai perlukaan sekum dan produksi ookista *Eimeria tenella* pada ayam pedaging yang telah dilaksanakan di laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada penelitian ini digunakan ayam pedaging umur tiga minggu. Sebagai bahan infeksi digunakan 5000 ookista *Eimeria tenella* untuk tiap ekor ayam yang diinfeksi secara peroral.

Tiga puluh ekor anak ayam pedaging digunakan dalam penelitian ini. Ayam-ayam tersebut dibagi dalam dua kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 15 ekor ayam. Kelompok I adalah kelompok ayam yang diinfeksi ookista *Eimeria tenella* tanpa perendaman dalam larutan biocid terlebih dahulu. Kelompok II adalah kelompok ayam yang diinfeksi ookista *Eimeria tenella* yang telah direndam dalam larutan biocid selama 48 jam.

Pemeriksaan dilakukan terhadap nilai perlukaan sekum dan jumlah produksi ookista yang dihasilkan pada hari ketujuh setelah masa infeksi.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dengan perendaman ookista dalam larutan biocid dengan konsentrasi 1 : 600 dalam air menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap produksi ookista *Eimeria tenella* pada hari ketujuh pasca infeksi, tetapi tidak memberikan penurunan yang nyata terhadap nilai perlukaan sekum pada ayam pedaging.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 1978. Pedoman pengendalian Penyakit Hewan Menular, Jilid I. Dir. Jen. Peternakan, Dept. Pertanian, Jakarta. : 77-86.
- Ashadi, G. 1979. Pengebalian Aktif terhadap Koksidiosis Sekum pada Ayam di Indonesia. Disertasi IPB. 4-14.
- Brander, G. C. and R. C. and R. J. Bywater. 1982. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutic. 4th Ed., Bailliere Tindall. London. 412-424.
- Edgar, S.A. and C.T. Seibold. 1964. A new Coccidium of Chickens, *Eimeria mivati* with Details of Life History. J.Parasitol 50, (2): 107-204.
- Flynn, R.J. 1973. Parasites of Laboratory Animals 1st Ed. The Iowa State University Press, Ames Iowa, USA : 50-60.
- Gardiner, J. L. and D. K. Mc loughline. 1963. Drug Resistance in *Eimeria tenella*. IV. The Experimental Development of A Nitrofurazone Resistance Strains. J. Parasitol 46 : 947-950.
- Giambron, J. J. 1984. Development of Cell Mediated Immunity and Resistance to Clinical Coccidiosis and Susceptibility to *Eimeria tenella*. Poult. Sci. 63 : 2162-2166.
- Hartono, 1980. Kependium Farmasi. Edisi II. Jakarta. Hal : 9.
- Jones, L. M. 1971. Veterinary Pharmacology & Therapeutic 3td. Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA : 427-453.
- Klesius, P. H. 1980. Chikens Coccidiosis : Corelation Between Resistance and Delayed Hypersensitivity. Poult. 59 : 1715-1721.
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. : 30-35.
- Leathem, W. D. 1970. Susceptibility of The Small Intestine of The Chickens to Invasion by *Eimeria tenella* Sporozoites. J. Parasitol. 56 : 1251-1252.

- Levine, N. D. 1985. Protozoan Parasites of Domestic Animal and of Man. Burgess Publishing Company. Minnesota. : 202-204.
- Long, P. L. 1980. *Eimeria tenella* : Clinical Effects in Partially Immune and Susceptibility Chickens. Poultry Sci. 59 : 2221-2224.
- Long, P. L., J. Johnson and R. D. Wyatt. 1981. Pathological and Clinical Effect of *Eimeria tenella* in Partially Immune Chickens. J. Comp. Pathol. 91, (4): 581-587.
- Mc Loughline, D. K. and J. L. Gardiner. 1967. Drug Resistance in *Eimeria tenella*. V. The Experimental of Nicarbazine Resistance Strain. J. Parasitol. 53, (5) : 930-932.
- Meyers, H. , E. Jawetz and A. Goldfein, 1974. Review of Medical Pharmacology, 4th Ed. Lange Medical Publication, Los Altos, California. : 567-568.
- Nakae, Y., M. Katsono and K. Ogimoto. 1981. Cytochemical Observation on Sporozoites of Chickens Coccidia, *Eimeria acervulina*, *Eimeria hagani*, *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella*. Japan. J. Vet. Sci. 43 : 767-769.
- Noble, F. R. and G. A. Noble 1989. Parasitology-Biologi Parasit Hewan. 5th. Ed Gajah Mada University Press. 178-183.
- Pelczar, M. J. and E. C. S. Chan, 1981. Elemental of Microbiology. International Student Edition, Mc Graw Hill Book Company Inc : 349-371..
- Rawlins, E. A. 1980. Bently's . Texbook of Pharmacheutic 8th Ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindali, London. : 498-525.
- Reid, W. M. 1984. Protozoa. In. M.S. Hofstad, H. J. Barnes, B.W. Calnek, W.M. Reid and H.W. Yorder, Yr. Ed. Disease of Poultry. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. pp.691-709.
- Richardson U. F. and S. B., Kendall. 1963.- Veterinary Protozoology . Oliver and Boyd Ltd. Eidenberg and London. : 100.



- Roberson, E. L. 1981. Anti Protozoon Drug. In L.M. Jones, N. H. Booth and L. E. Mc Donald. Veterinary Pharmacology and Therapeutic 4th Ed. Oxford Ang IBH. Publising Co. New Delhi Bombay Calcuta. 1079-1088.
- Rose, M. E. 1976. Coccidiosis : Immunity and The Prospects Propilactic Immunation. Vet. Rec. 98 : 481-484.
- Ruff, M. D. , D. J. Doran and G. G. Wilkins. 1981. Effect of Aging and Survival and Patogenicity of *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella*. Avian Dis. 25. : 595-599.
- Sarmanu, 1989. Statistika : Non Parametrik. Dalam : Penataran Peneliti Muda Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya : 4-6.
- Seneviratna, P. 1969. Parasitic Disease. Disease of Poultry. 2nd Ed. Bristol : John Wreight and Sons Ltd. : 80-89.
- Soulsby, E. J. L. 1982. Helminths, Anthropods and Protozoa of Domestic Animal. 6th Ed. Bailliere Tindall, London. : 631-645.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Perhitungan Jumlah Ookista per milliliter.

Kontrol = 5483 ookista/cc

Perlakuan = 5429 ookista/cc

Penghitungan 5000 ookista yang sudah bersporulasi untuk inokulasi :

Kontrol (ookista yang direndam dalam larutan kalium bikromat) yang telah bersporulasi adalah 78,8%.

$78,8\% \times 5483 \text{ ookista} = 4286,72 \text{ ookista bersporulasi/cc.}$

Jadi ookista yang dibutuhkan untuk satu inokulasi kontrol adalah  $5000/4286,72 \times 1 \text{ cc} = 1,166 \text{ cc.}$

Perlakuan (ookista yang direndam dalam larutan biocid) yang telah bersporulasi adalah 65,9%.

$65,9\% \times 5429 \text{ ookista} = 3542,478 \text{ ookista bersporulasi/cc.}$

Jadi ookista yang dibutuhkan untuk satu inokulasi perlakuan adalah  $5000/3542,78 \times 1 \text{ cc} = 1,411 \text{ cc.}$

Lampiran 2. Skor Perlukaan Sekum pada Hari ke Tujuh Pasca Infeksi.

Ulangan	Nilai Perlukaan	
	Kontrol	Perlakuan
1	+3	+1
2	+2	+2
3	+3	0
4	+3	+1
5	+3	+1
6	+3	+2
7	+3	+1
8	+1	+3
9	+2	+2
10	+1	+2
11	+1	+1
12	+2	+3
13	+1	+1
14	+2	+1
15	+1	+1

Lampiran 3. Data Hasil Penghitungan Produksi Ookista Isi Sekum Pada Hari Ke Tujuh Pasca Infeksi.

Ulangan	Kontrol	Perlakuan
1	1500800	89984
2	89760	168192
3	387840	35840
4	194688	58752
5	1795584	55488
6	359520	115104
7	741312	53760
8	162400	453472
9	501760	261440
10	92352	108288
11	286080	50688
12	350464	223104
13	493568	71040
14	996800	69632
15	97280	47040

## Lampiran 4. Evaluasi Data Hasil Pemeriksaan Skor Perlakuan Sekum.

Ulangan	Kontrol		Perlakuan	
	Skor Luka	Rank	Skor Luka	Rank
1	+3	26,5	+1	8
2	+2	18,5	+2	18,5
3	+3	26,5	0	1
4	+3	26,5	+1	8
5	+3	26,5	+1	8
6	+3	26,5	+2	18,5
7	+3	26,5	+1	8
8	+1	8	+3	26,5
9	+2	18,5	+2	18,5
10	+1	8	+2	18,5
11	+1	8	+1	8
12	+2	18,5	+3	26,5
13	+1	8	+1	8
14	+2	18,5	+1	8
15	+1	8	+1	8
	ER1 = 273		ER2 = 192	

Penilaian peringkat (rank) diperoleh dengan menjumlah nilai perlukaan sekum terkecil kemudian dibagi dengan banyaknya nilai perlukaan sekum tersebut maka diperoleh :

Nilai Perlukaan 0,

$$= \frac{1}{1}$$

$$= 1$$

Nilai Perlukaan sekum +1,

$$= \frac{2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14}{13}$$

$$= 8$$

Nilai Perlukaan +2,

$$= \frac{15+16+17+18+19+20+21+22}{8}$$

$$= 18,5$$

Nilai Perlukaan +3,

$$= \frac{23+24+25+26+27+28+29+30}{8}$$

$$= 26,5$$

Kemudian dilanjutkan dengan penarikan keputusan dimana  $H_1$  diterima atau  $H_0$  ditolak bila  $R < R(n_1, n_2)$ .

$R$  : Jumlah rank yang terkecil = 192.

$R(n_1, n_2) = R_{0,05}(15, 15) = 184$ .

Karena  $R$  hitung  $>$   $R$  tabel, maka dapat disimpulkan  $H_1$

ditolak dengan kata lain tidak ada perbedaan antara kontrol dan perlakuan dilihat dari skor perlakuan sekum.

Lampiran 5. Evaluasi Data Hasil Penghitungan Produksi Ookista Isi Sekum Pada Hari Ke Tujuh Pasca Infeksi.

Ulangan	Kontrol (A)	Perlakuan (B)	Selisih (A-B)
1	1500800	89984	1410816
2	89760	168192	78432
3	387840	35840	352000
4	194688	58752	135936
5	1795584	55488	1740096
6	359520	115104	244416
7	741312	53760	687552
8	162400	453472	291072
9	501760	261440	240320
10	92352	108288	15936
11	286080	50688	235392
12	350464	223104	127360
13	493568	71040	422528
14	996800	69632	927168
15	97820	47040	50240
Total	8050280	1861824	6959264
Rata-rata	536680,53	124121,53	463950,93



$$t \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{s(\bar{A} - \bar{B})}$$

$$s(\bar{A} - \bar{B}) = s / \sqrt{n}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum(A-B)^2 - \{\sum(A-B)\}^2 / n}{(n-1)}}$$

$$\begin{aligned} \sum(A-B)^2 &= 1410816^2 + 78432^2 + 352000^2 + \dots + 50240^2 \\ &= 6,954392 \cdot 10^{12} \end{aligned}$$

$$\{\sum(A-B)\}^2 = 6959264^2 = 4,8431355 \cdot 10^{13}$$

$$s = \sqrt{\frac{6,954392 \cdot 10^{12} - 4,8431355 \cdot 10^{13} / 15}{15 - 1}}$$

$$s = \sqrt{2,6611679 \cdot 10^{11}}$$

$$s(\bar{A} - \bar{B}) = s / \sqrt{n}$$

$$= \frac{\sqrt{2,6611679 \cdot 10^{11}}}{\sqrt{15}}$$

$$= \frac{515865,09}{3,87298333}$$

$$= 133195,8$$

$$t \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{s(\bar{A} - \bar{B})} = \frac{536680,53 - 124121,60}{133195,8}$$

$$t \text{ hitung} = 3,0973869$$

$$= 3,097$$

$$t_{0,05} \text{ (derajat bebas 14)} = 2,145$$

$$t_{0,01} \text{ (derajat bebas 14)} = 2,977$$

Karena  $3,097$  atau  $t \text{ hitung} > 2,977$  atau  $t_{0,01}$ , maka dapat ditarik kesimpulan  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak atau terdapat perbedaan yang sangat nyata antara *Ookista* yang direndam dalam larutan biocid dan tanpa perendaman terhadap *Ookista E. tenella* yang dihasilkan pada hari ke tujuh pasca infeksi.

Lampiran 6. Tabel Nilai R

$n_1$	$n_2$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$n_1$	$n_2$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$n_1$	$n_2$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$n_1$	$n_2$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
2	8	3	-	5	6	18	16	8	11	35	49	12	13	119	109
2	9	3	-	5	7	20	16	8	12	38	51	12	14	123	112
2	10	3	-	5	8	21	17	8	13	40	53	12	15	127	115
2	11	3	-	5	9	22	18	8	14	42	54	12	16	131	119
2	12	4	-	5	10	23	19	8	15	45	56	12	17	135	122
2	13	4	-	5	11	24	20	8	16	47	58	12	18	139	125
2	14	4	-	5	12	26	21	8	17	50	60	12	19	143	129
2	15	4	-	5	13	27	22	8	18	52	62	12	20	147	132
2	16	4	-	5	14	28	22	8	19	54	64	13	13	136	125
2	17	5	-	5	15	29	23	8	20	57	66	13	14	141	129
2	18	5	-	5	16	30	24	9	9	62	68	13	15	145	133
2	19	5	3	5	17	32	25	9	10	65	68	13	16	150	136
2	20	5	3	5	18	33	26	9	11	68	61	13	17	154	140
3	5	6	-	5	19	34	27	9	12	71	63	13	18	158	144
3	6	7	-	5	20	35	28	9	13	73	65	13	19	163	148
3	7	7	-	6	6	26	23	9	14	76	67	13	20	167	151
3	8	8	-	6	7	27	24	9	15	79	69	14	14	160	147
3	9	8	6	6	8	29	25	9	16	82	72	14	15	164	151
3	10	9	6	6	9	31	26	9	17	84	74	14	16	169	155
3	11	9	5	6	10	32	27	9	18	87	76	14	17	174	159
3	12	10	7	6	11	34	28	9	19	90	78	14	18	179	163
3	13	10	7	6	12	35	30	9	20	93	81	14	19	183	168
3	14	11	7	6	13	37	31	10	10	78	71	14	20	188	172
3	15	11	8	6	14	38	32	10	11	81	73	15	15	184	171
3	16	12	8	6	15	40			12	84	76	15	16	189	175
3	17	12	8	6	16	42			13	88	79	15	17	195	180
3	18	13	8	6	17	43			14	91	81	15	18	200	184
3	19	13	9	6	18	45			15	94	84	15	19	205	189
3	20	14	9	6	19	47		10	16	97	86	15	20	210	193
4	4	10	-	6	20			10	10	100	89	16	16	211	196
4	5	11	-	7	7	36		10	18	103	92	16	17	217	201
4	6	12	10	7	8	38	34	10	19	107	94	16	18	222	206
4	7	13	10	7	9	40	35	10	20	110	97	16	19	228	210
4	8	14	11	7	10	42	37	11	11	96	87	16	20	234	215
4	9	14	11	7	11	44	38	11	12	99	90	17	17	240	223
4	10	15	12	7	12	46	40	11	13	103	93	17	18	246	228
4	11	16	12	7	13	48	41	11	14	106	96	17	19	252	234
4	12	17	13	7	14	50	43	11	15	110	99	17	20	258	239
4	13	18	13	7	15	52	44	11	16	113	102	18	18	270	252
4	14	19	14	7	16	54	46	11	17	117	105	18	19	277	258
4	15	20	15	7	17	56	47	11	18	121	108	18	20	283	263
4	16	21	15	7	18	58	49	11	19	124	111	19	19	303	283
4	17	21	16	7	19	60	50	11	20	128	114	19	20	309	289
4	18	22	16	7	20	62	52	12	12	115	105	20	20	337	315
4	19	23	17	8	8	49	53	-	-	-	-	-	-	-	-
4	20	24	18	8	9	51	55	-	-	-	-	-	-	-	-
5	5	17	15	8	10	53	47	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 7. Daftar t.

Derajat bebas	t		Derajat bebas	t		Derajat bebas	t	
	95%	99%		95%	99%		95%	99%
1	12.706	63.657	23	2.069	2.087	56	2.003	2.667
2	4.303	9.925	24	2.064	2.797	58	2.001	2.663
3	3.182	5.841	25	2.060	2.787	60	2.000	2.660
4	2.776	4.604	26	2.056	2.779	62	1.999	2.658
5	2.571	4.032	27	2.052	2.771	64	1.998	2.655
6	2.447	3.707	28	2.048	2.763	65	1.997	2.653
7	2.365	3.449	29	2.045	2.756	66	1.996	2.652
8	2.306	3.355	30	2.042	2.750	68	1.995	2.650
9	2.262 <sup>v</sup>	3.250	32	2.037	2.738	70	1.994	2.648
10	2.228	3.169	34	2.032	2.728	72	1.993	2.646
11	2.201	3.106	35	2.030	2.724	74	1.992	2.644
12	2.179	3.055	36	2.028	2.720	75	1.992	2.642
13	2.160	3.012	38	2.024	2.712	78	1.990	2.640
14	2.145	2.977	40	2.021	2.707	80	1.989	2.639
15	2.131	2.947	42	2.018	2.698	82	1.988	2.637
16	2.120	2.921	44	2.015	2.692	84	1.987	2.635
17	2.110	2.898	45	2.014	2.6895	86	1.987	2.634
18	2.101	2.878	46	2.013	2.687	88	1.986	2.632
19	2.093	2.861	48	2.010	2.682	90	1.986	2.631
20	2.086	2.845	50	2.008	2.678	92	1.986	2.630
21	2.080	2.831	52	2.006	2.674	94	1.986	2.629
22	2.074	2.819	54	2.005	2.670	96	1.984	2.627
			55	2.004	2.6685	100	1.982	2.625