

# SKRIPSI

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI PADA SEKUM AYAM  
AKIBAT PEMBERIAN OOKISTA *Eimeria tenella*  
YANG TELAH DIATENUASI MELALUI  
PASASE BERSERI**



Oleh

**ANITA RAHMAWATI**

**NIM 060911008**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2013**

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI PADA SEKUM AYAM AKIBAT  
PEMBERIAN OOKISTA *Eimeria tenella* YANG TELAH  
DIATENUASI MELALUI PASASE BERSERI**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

**ANITA RAHMAWATI**

NIM 060911008

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



**(Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh.)**  
Pembimbing Utama



**(Indah Norma Triana, M.Si., drh.)**  
Pembimbing Serta

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul :

### **Gambaran Histopatologi pada Sekum Ayam Akibat Pemberian Ookista *Eimeria tenella* yang telah Diatenusi Melalui Pasase Berseri**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 16 Juli 2013



Anita Rahmawati  
NIM. 060911008

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian  
Tanggal : 9 Juli 2013

**KOMISI PENILAI SMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua	: Muchammad Yuus, drh., M.Kes., Ph.D.
Sekretaris	: DR. Endang Suprihati, drh., M.S.
Anggota	: Ajik Azmijah, drh., SU.
Pembimbing Utama	: Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.
Pembimbing Serta	: Indah Norma Triana, drh., M.Si.

Telah diuji pada  
Tanggal : 15 Juli 2013

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

Ketua : Muchammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D.  
Anggota : DR. Endang Suprihati, drh., M.S.  
Ajik Azmijah, drh., SU.  
Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.  
Indah Norma Triana, drh., M.Si.

Surabaya, 16 Juli 2013  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D  
NIP. 195312161978062001

## HISTOPATHOLOGICAL APPEARANCE OF CHICKEN CAECUM DUE INFECTED BY *Eimeria tenella* OOCYST THAT ATTENUATED THROUGH THE SERIAL PASSAGE

Anita Rahmawati

### ABSTRACT

The aim of the research was to find out the histopathological appearance of chicken caecum due infected by *Eimeria tenella* oocyst that attenuated through the serial passage. This research used histopathological scores and the number of schizont to show the changes due attenuated *E. tenella*. Twenty four male chickens were divided into four groups and each group consisted five male chickens as repetition and one male chicken as a control. The first group was infected by *E. tenella* parent lines, the second group was infected by precocious lines *E. tenella* of the first group, the third group was infected by precocious lines *E. tenella* of the second group, then the fourth group was infected by precocious lines *E. tenella* of the third group. The feces samples was processed by sediment and floating method. Histopathological score and the total number of schizont were examined under microscope with magnification 400-1000x. The result showed that there was significantly difference ( $p < 0.05$ ) in the score of hemorrhage between the first, second, third and fourth group. The score of caecum epithel erosion showed significantly difference ( $p < 0.05$ ) between the first, second, third, and fourth group. The number of schizont showed significantly difference ( $p < 0.05$ ) between the first, second, third, and fourth group. Moreover, attenuation through serial passage decrease injury levels of histopathological chicken caecum and the number of schizont.

Key words : *Eimeria tenella*, attenuation, hemorrhage, caecum epithel erosion, number of schizont.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **“Gambaran Histopatologi pada Sekum Ayam Akibat Pemberian Ookista *Eimeria tenella* yang telah Diatenuasi Melalui Pasase Berseri”**. Penulis menyadari bahwa pelaksanaan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dari banyak pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan Indah Norma Triana, drh., M.Si selaku dosen pembimbing serta, terima kasih atas kesediaannya dalam meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, saran dan nasihat yang bermanfaat mulai dari awal hingga akhir penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Muchammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D selaku dosen pembimbing penelitian dan penguji skripsi, DR. Endang Suprihati, drh., M.S., dan Ajik Azmijah, drh., SU selaku dosen penguji skripsi, terima kasih atas segala nasihat dan masukan yang diberikan kepada penulis demi kesempurnaan naskah ini.

Agus Sunarso, drh., M.Sc selaku dosen wali dan juga seluruh dosen beserta jajaran staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah

banyak membantu dan membekali ilmu selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Keluarga tercinta bapak Sukadi, ibu Soemarnik, adik Rahman Efandi dan seluruh keluarga besar terima kasih atas doa, kesabaran dan bantuan materil yang diberikan selama ini.

Annisaa' Maharani, Lucky Novarina P. S., Aditya Gita R., Dexter, Siti Eliana R., Mia Zakia R., Ria Wahyu L. P., Rieska Nursita, Tri Wahyu H., Putri Dwi K. S., Novi Setyaningrum, Siska Eviandhari, M. Vicky Indra P., Irfan Setiyawan P., Rifa Ernitawati, dan Madya Adi W., terima kasih atas segala bentuk dukungan, doa, semangat, waktu yang diberikan kepada penulis. Rekan-rekan di BLM, BEM, KMPV TB, IMAKAHI, KMPV UBUR, UKM MENWA, dan UKM FUTSAL serta seluruh teman FKH UNAIR yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan, dukungan, serta kerjasama yang telah diberikan.

Semua pihak lain yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini baik langsung maupun tidak langsung. Semoga segala bantuan dan bimbingan kepada penulis menjadi sebuah amal ibadah yang akan dibalas oleh Allah SWT. Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 16 Juli 2013

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	ii
HALAMAN IDENTITAS .....	iii
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xiii
DAFTAR ISTILAH .....	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN .....	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Landasan Teori .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Hasil Penelitian .....	5
1.6 Hipotesis .....	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	 6
2.1 <i>Eimeria tenella</i> .....	6
2.1.1 Klasifikasi <i>E. tenella</i> .....	6
2.1.2 Morfologi <i>E. tenella</i> .....	6
2.1.3 Siklus hidup <i>E. tenella</i> .....	8
2.2 Patogenitas Koksidiosis .....	10
2.3 Histopatologi Koksidiosis .....	11
2.4 Diagnosa Koksidiosis .....	12
2.5 Imunitas Koksidiosis .....	13
2.6 Atenuasi Patogenitas .....	14
2.7 <i>Precocious Lines</i> .....	14

2.8 Vaksinasi Koksidiosis .....	15
BAB 3 MATERI DAN METODE .....	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	17
3.2 Materi Penelitian .....	17
3.2.1 Hewan percobaan .....	17
3.2.2 Bahan penelitian .....	17
3.2.3 Alat penelitian .....	18
3.2.4 Sampel penelitian .....	18
3.3 Metode Penelitian .....	18
3.3.1 Persiapan kandang .....	18
3.3.2 Isolat ookista .....	19
3.3.3 Pemanenan ookista .....	19
3.3.3 Infeksi pada ayam .....	20
3.3.5 Pengoleksian sekum .....	21
3.3.6 Pemeriksaan dan penilaian skor histopatologi .....	21
3.4 Rancangan Penelitian .....	21
3.5 Peubah yang Diamati .....	22
3.6 Analisis Data .....	22
BAB 4 HASIL PENELITIAN .....	24
4.1 Skor Hemoragi .....	24
4.2 Skor Erosi Epitel Sekum .....	25
4.3 Jumlah Skizon .....	27
BAB 5 PEMBAHASAN .....	30
5.1 Skor Hemoragi .....	30
5.2 Skor Erosi Epitel Sekum .....	31
5.3 Jumlah Skizon .....	32
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
6.1 Kesimpulan .....	34
6.2 Saran .....	34
RINGKASAN .....	35
DAFTAR PUSTAKA .....	38
LAMPIRAN .....	42

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1. Rerata skor hemoragi pada tiap kelompok perlakuan .....	24
4.2. Rerata skor erosi epitel sekum pada tiap kelompok perlakuan .....	26
4.3. Rerata jumlah skizon pada tiap kelompok perlakuan .....	27

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1. Ookista yang telah bersporulasi .....	7
2.2. Siklus hidup <i>E. tenella</i> .....	10
2.3. Sekum normal (A) dan sekum yang terinfeksi <i>E. tenella</i> (B) .....	12
3.1. Kerangka operasional penelitian .....	23
4.1. Diagram batang skor hemoragi pada sekum .....	24
4.2. Hemoragi pada sekum yang diinfeksi <i>E. tenella</i> (400x) .....	25
4.3. Diagram batang skor erosi epitel sekum .....	26
4.4. Erosi epitel sekum yang diinfeksi <i>E. tenella</i> (400x) .....	26
4.5. Diagram batang jumlah skizon .....	28
4.6. Skizon <i>E. tenella</i> pada sekum dengan pembesaran 400x (A dan B) dan 1000x (C dan D) .....	28

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Bahan kimia yang digunakan .....	42
2. Prosedur metode apung .....	43
3. Pembuatan preparat histopatologi .....	44
4. Hasil pegamatan skor hemoragi .....	45
5. Analisis data skor hemoragi .....	46
6. Hasil pegamatan skor erosi epitel sekum .....	50
7. Analisis data skor erosi epitel sekum .....	51
8. Hasil pegamatan jumlah skizon .....	55
9. Analisis data jumlah skizon .....	56
10. Dokumentasi kegiatan .....	58

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ANOVA	= <i>Analysis of Variance</i>
BNJ	= Beda Nyata Jujur
CO <sub>2</sub>	= Karbon dioksida
CP	= Charoen Pokphand
<i>E. tenella</i>	= <i>Eimeria tenella</i>
HE	= Hematosiklin Eosin
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	= Kalium bikromat
O <sub>2</sub>	= Oksigen
PDAM	= Perusahaan Daerah Air Minum
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
rpm	= <i>Rotation per minute</i>
SD	= Standart Deviasi
SPSS	= <i>Statistical Programe and Service Solution</i>
µm	= Mikrometer

## DAFTAR ISTILAH

<i>Ad libitum</i>	: Tersedia terus menerus.
Antibodi	: Suatu protein yang dihasilkan tubuh sebagai respon untuk melemahkan benda asing yang masuk ke tubuh.
Atenuasi	: Penurunan atau pengurangan kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit pada organisme yang diinfeksi.
Dosis	: Takaran obat atau vaksin yang harus diberikan menurut ketentuan.
<i>Live vaccine</i>	: Sediaan yang terdiri dari jasad renik yang masih hidup yang telah dilemahkan dan bila disuntikkan akan merangsang pembentukan kekebalan aktif.
<i>Parent lines</i>	: Strain induk yang digunakan pertama kali pasase yang akan menghasilkan strain <i>precocious lines</i> .
Pasase berseri	: Pasase yang dilakukan berulang-ulang kepada hewan yang belum terinfeksi oleh suatu penyakit.
Patogen	: Sifat dari segolongan jasad renik yang mampu merusak atau mendatangkan bahaya terhadap induk semang.
Patogenitas	: Keganasan.
Per oral	: Diberikan melalui mulut.
Periode prepaten	: Waktu yang diperlukan dari mulai infeksi sampai ditemukan parasit dalam sediaan untuk diagnostik.
<i>Precocious lines</i>	: Anakan yang belum matang yang dihasilkan oleh <i>parents lines</i> yang dipasase berkali-kali sehingga mengalami kelemahan.
Residu	: Zat kimia di dalam kandungan koksidiostat yang diberikan kepada ternak di dalam jaringan tubuh akan meninggalkan sisa yang menimbulkan efek kumulatif yang membahayakan.
Resisten	: Suatu keadaan hilangnya kepekaan terhadap obat yang telah diberikan sebelumnya.
<i>Strain</i>	: Galur

## **BAB 1**

# **PENDAHULUAN**



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Penelitian

Koksidiosis merupakan salah satu penyakit yang menyerang unggas. Penyakit parasiter ini disebabkan oleh protozoa dari genus *Eimeria*. Salah satu spesiesnya adalah *E. tenella* yang menyebabkan kerusakan sekum yang khas dengan adanya perdarahan yang disertai oleh morbiditas dan mortalitas yang tinggi hambatan pertumbuhan berat badan dan emasi (Tabbu, 2002). Koksidiosis sekum banyak terjadi pada ayam muda terutama umur tiga sampai empat minggu (Kennedy, 2001). Sumber lain menyebutkan bahwa infeksi *E. tenella* biasanya ditemukan pada umur tiga sampai enam minggu (Tabbu, 2002).

Koksidiosis menimbulkan kerugian ekonomi bagi peternak ayam, antara lain karena angka kematian yang tinggi, hambatan pertumbuhan, penurunan produksi telur, dan efisiensi pakan serta tingginya biaya pengobatan dan upah tenaga kerja (Jangi *et al.*, 2006). Pengeluaran biaya untuk pengobatan koksidiosis di dunia cukup besar yaitu mencapai US \$ 300 juta tiap tahun (McDougald *and* Fitz-Coy, 2008).

Berbagai usaha pengendalian koksidiosis telah dilakukan namun belum berhasil memuaskan. Pemeliharaan sanitasi dengan baik dapat memutus siklus perkembangan *Eimeria*, tetapi cara ini kurang efektif karena ukuran ookista yang sangat kecil sehingga dapat mencemari debu, air, pakan dan peralatan kandang (Juwandi, 2000). Sementara pengendalian koksidiosis

dengan penggunaan anti koksidiosis (koksidostat) secara rutin bisa menimbulkan resistensi dan berpeluang terdapat residu zat kimia pada daging ayam, juga menyebabkan strategi manajemen industri perunggasan menjadi lebih kompleks dan mahal (Lillehoj, 1998).

Resistensi induk semang atau peningkatan respon kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* merupakan metode pengendalian alternatif yang potensial (Caron *et al.*, 1997). Salah satu usaha peningkatan respon kekebalan adalah vaksinasi. Meeusen *et al* (2007) menyebutkan bahwa untuk memberikan kekebalan dalam rentangan waktu tertentu dan melindungi dari infeksi agen patogen yaitu dengan menggunakan *live vaccine*. Perkembangan *live vaccine* mengandung ookista yang diseleksi dari infeksi yang terjadi secara alam dari *strain Eimeria* menghasilkan siklus merogenik lebih rendah, lebih aman digunakan dan diproduksi sebagai produk komersial oleh banyak perusahaan kesehatan hewan. *Live vaccine* menggunakan *strain low virulent* dari parasit menunjukkan efisiensi dan efektifitas yang lebih baik dalam biaya pemeliharaan (Meeusen *et al.*, 2007).

Vaksinasi pada induk semang dapat merangsang *protective immunity*. Beberapa jenis vaksin telah dikembangkan dan digunakan dalam merangsang *protective immunity* induk semang diantaranya menggunakan organisme hidup yang virulen yang telah dilemahkan (Jenkins *et al.*, 1991) dan rekayasa genetik vaksin subunit (Jenkins *et al.*, 1991; Bhogal *et al.*, 1992). *Live vaccine* atenuasi mempunyai kelebihan yaitu potensial produksinya rendah sehingga menghindari banyaknya infeksi pada area mukosa spesifik dan

menghasilkan perkembangan imunitas yang optimal dengan kerusakan jaringan yang minimal (Williams, 1994). Kelebihan yang menonjol dari vaksin ini adalah tidak menginduksi resistensi terhadap obat pada koksidia (Williams, 1992).

Vaksinasi dilakukan dengan memberikan dosis infeksi ookista *E. tenella* yang tidak menimbulkan gejala klinis. Kemudian diobservasi bagaimana perkembangan parasit terhadap kerusakan sekum yang merupakan induksi kekebalan, untuk dapat membandingkan antara ayam yang terinfeksi pertama kali dan mengalami reinfeksi oleh *E. tenella*.

Kerusakan sekum merupakan gambaran akibat infeksi *E. tenella* yang ditandai dengan adanya perkembangan skizon generasi kedua berukuran besar yang merupakan stadium paling patogen. Pada ayam yang terinfeksi pertama kali, skizon akan berkembang dengan baik disebabkan kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* masih dalam proses inisiasi sehingga terjadi kerusakan sekum. Pada ayam yang mengalami reinfeksi, kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* sudah terbentuk sehingga kerusakan sekum yang ditimbulkan menurun. Kajian tentang perkembangan parasit tersebut pada ayam yang terinfeksi pertama kali dan mengalami reinfeksi sangat diperlukan karena berkaitan dengan studi evaluasi pengendalian koksidiosis yang lebih baik (Idayanti, 2008).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas, maka penulis mengajukan rumusan masalah bagaimanakah gambaran histopatologi pada

sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri?

### 1.3 Landasan Teori

Atenuasi patogenitas adalah penurunan atau pengurangan kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit pada organisme yang diinfeksi. Pasase berseri adalah pasase yang dilakukan berulang-ulang kepada hewan yang belum terinfeksi oleh suatu penyakit. Menurut Baratawidjaja (2006) pada infeksi berulang atau infeksi sekunder dengan agen penyebab yang sama, maka tubuh akan memiliki antibodi dan sel memori yang akan merangsang limfosit untuk berproliferasi dan berdeferensiasi untuk menghadapi infeksi. Infeksi *E. tenella* merupakan stimulator yang mampu merangsang respon imun pada organ limpa untuk berproliferasi yang menghasilkan sel imun. *Precocious lines Eimeria* adalah *strain* *Eimeria* yang memiliki siklus hidup endogenus dalam tubuh induk semang lebih cepat daripada *strain* induk dari alam (Shirley and Bedrnik, 1997) *Precocious lines* biasanya memiliki siklus hidup yang lebih singkat dimana beberapa tahap perkembangan *Eimeria* menjadi tidak infeksi sebelum waktunya, sehingga memungkinkan untuk memperoleh respon antibodi yang berbeda dari *strain* liar (Shirley *et al.*, 2005). Penelitian sebelumnya didapatkan hasil atenuasi dengan indikasi majunya periode prepaten, berkurangnya persentase kematian ayam akibat infeksi dan menurunnya skor lesi pada usus (Li *et al.*, 2003).

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi pada sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai tahap awal dalam meneliti pengaruh pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri terhadap gambaran histopatologi sekum ayam sebelum dilakukan penelitian lanjut untuk pengembangan penggunaan ookista sebagai bahan vaksin koksidiosis pada ayam. Penelitian ini juga diharapkan dapat mengeksplorasi kandidat material vaksin hidup terhadap infeksi *E. tenella* serta memberikan informasi ilmiah mengenai salah satu metode atenuasi patogenitas dari *E. tenella* yang lebih sederhana, mudah diaplikasikan dan ramah lingkungan.

#### 1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri menunjukkan adanya penurunan tingkat kerusakan pada gambaran histopatologi dan jumlah skizon pada sekum ayam.

## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Eimeria tenella*

#### 2.1.1 Klasifikasi *E. tenella*

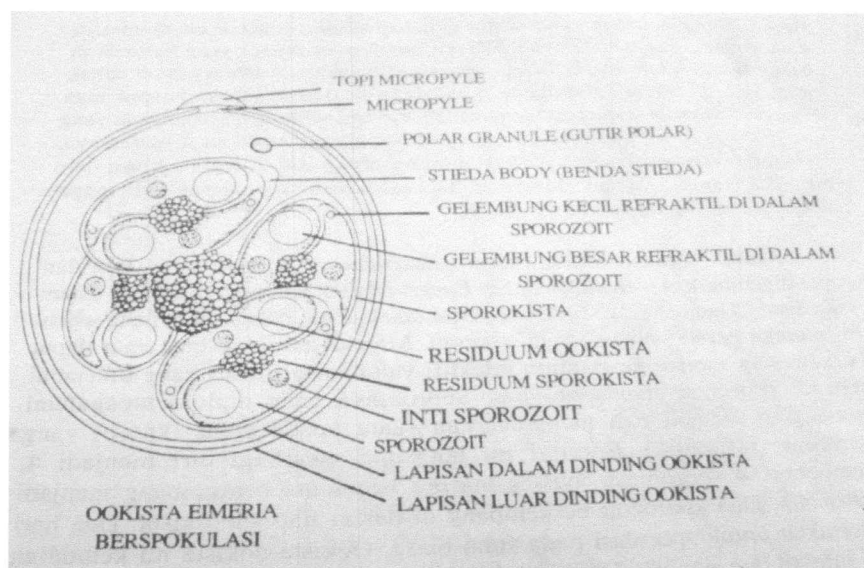
Klasifikasi *E. tenella* menurut Soekardono (1995) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Protista
Filum	: Apicomplexa
Kelas	: Sporozoasida
Sub Kelas	: Coccidiasina
Ordo	: Eucoccidiorida
Sub Ordo	: Eimeriorina
Famili	: Eimeriidae
Genus	: <i>Eimeria</i>
Spesies	: <i>Eimeria tenella</i>

#### 2.1.2 Morfologi *E. tenella*

*Eimeria tenella* mempunyai berbagai macam bentuk yang berbeda-beda yaitu ookista, sporokista, sporozoit, tropozoit, skizon, merozoit, dan gametosit (Tampubolon, 1996). Ookista *E. tenella* berbentuk bulat telur (ovoid) dengan panjang antara 14,2 sampai 31,2 mikron, lebar 9,5 sampai 24,8 mikron dengan rata-rata 22,9 dan 19,16 mikron, berdinding halus dan tidak mempunyai mikrofil (Soekardono, 1995). Tabbu (2002) menyebutkan komposisi dari dinding ookista *E.*

*tenella* adalah 67% peptide, 14% lipid dan 19% karbohidrat. Secara fisik komponen lipid terletak di membran bagian luar seluas 10 nm, dan 90 nm di bagian dalamnya terdiri dari glikoprotein. Komponen protein disiapkan untuk mekanisme selama proses sporulasi. Soekardono (1995) menyatakan bahwa dalam kondisi yang sesuai, seperti keberadaan oksigen (O<sub>2</sub>), kelembaban dan suhu, inti membelah menjadi empat sporoblas, dimana sisa protoplasma terkadang membentuk badan sisa ookista. Masing-masing sporoblas menghasilkan sporokista, dimana didalamnya terdapat sporozoit. Genus *Eimeria* terdapat empat sporokista dengan masing-masing berisi dua sporozoit. Bentuk ini disebut dengan ookista yang bersporulasi dan mempunyai bentuk yang infeksi.



**Gambar 2.1.** Ookista *Eimeria sp.* yang telah bersporulasi (Soekardono, 1995). Terdiri dari 4 sporokista dan masing-masing sporokista terdiri dari 2 sporozoit.



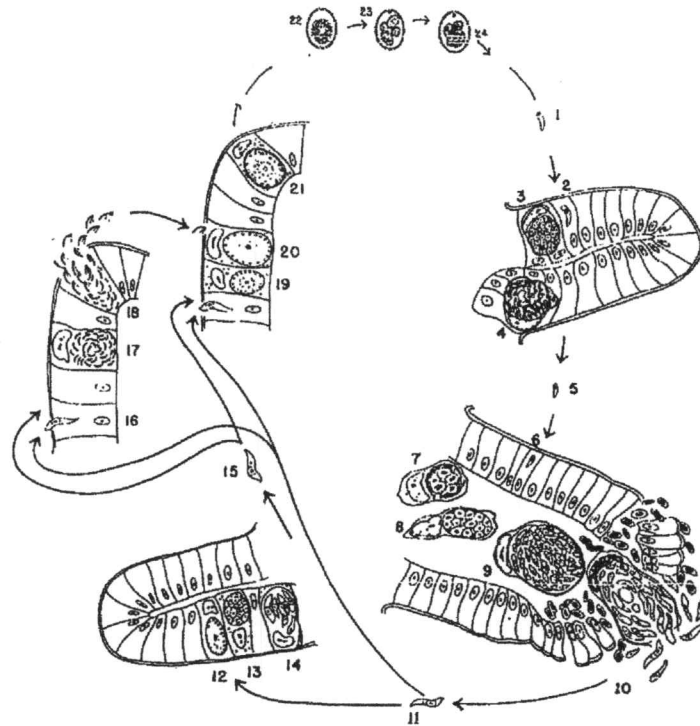
Sporokista mempunyai kenop, yaitu benda stieda, pada satu ujung, dan mungkin ada benda subtiedal di bawahnya. Sporozoit pada umumnya berbentuk seperti pisang, berisi bulatan-bulatan kecil yang terang dan bersifat seperti protein (benda-benda refraktil, bulatan-bulatan kecil eosinofilik) yang fungsinya tidak diketahui (Soekardono, 1995). Struktur merozoit hampir sama dengan sporozoit, yang menjadi perbedaan adalah adanya bahan refraktil pada sporozoit yang terdapat pada ujung anterior dan posterior. Akan tetapi ada perkecualian dimana badan refraktil juga dapat dijumpai pada merozoit misalnya pada biakan jaringan (Long, 1990). Sporulasi ookista *E. tenella* memerlukan waktu 18 jam pada suhu 29°C, 21 jam pada suhu 26-28°C, 24 jam pada suhu 20-24°C dan 24-28 jam pada temperatur kamar. Sedangkan di bawah suhu 8°C tidak mengalami sporulasi (Soulsby, 1986).

### 2.1.3 Siklus Hidup *E. tenella*

Siklus hidup *E. tenella* terdiri dari dua tahap yaitu siklus aseksual dan siklus seksual, dengan tiga tahap perkembangan yaitu stadium skizogoni, gametogoni, dan sporogoni. Siklus aseksual merupakan stadium skizogoni, siklus seksual meliputi stadium gametogoni, sedangkan sporogoni adalah stadium pembentukan spora (Tampubolon 2004). Sporulasi terjadi setelah ookista dikeluarkan bersama feses dari ayam yang terinfeksi. Proses ini terjadi bila lingkungan sekitar mendukung, seperti cukup oksigen, kelembaban tinggi, dan temperatur yang optimal yaitu sekitar 26-28°C mengalami sporulasi 21 jam (Soulsby, 1986).

Tahap skizogoni dimulai bila ayam terinfeksi ookista infeksi melalui pakan atau minum secara per oral. Adanya aksi mekanik otot lambung (ventrikulus) mengakibatkan dinding ookista pecah dan membebaskan sporokista. Menurut Jensen (1983) aktivitas enzim tripsin menyebabkan pecahnya sporokista sehingga melepaskan sporozoit. Sporozoit yang masuk ke dalam sel epitel sekum akan mengalami perkembangan secara aseksual (skizogoni) menjadi skizon generasi pertama. Di dalam skizon terbentuk sel-sel anak berinti panjang yang disebut merozoit. Pada hari ketiga setelah infeksi skizon pecah dan mengeluarkan merozoit generasi pertama, selanjutnya merozoit generasi pertama melakukan penetrasi ke dalam sel epitel sekum yang masih utuh dan berkembang menjadi skizon generasi kedua. Skizon generasi kedua pecah pada hari kelima setelah infeksi kemudian menghasilkan merozoit generasi kedua. Sebagian merozoit generasi kedua langsung memasuki tahap gametogoni dan beberapa diantaranya membentuk skizon generasi ketiga (Soekardono, 1995).

Tahap gametogoni ditandai dengan menyatunya mikrogamet dan makrogamet, kemudian membentuk zigot. Dari zigot terbentuk ookista. Ookista ini akan keluar dari tubuh bersama tinja dan membentuk sporokista, masing-masing sporokista berisi dua sporozoit. Jika ookista yang telah bersporulasi tersebut tertelan oleh unggas yang rentan maka terjadi infeksi (Soekardono, 1995).



**Gambar 2.2.** Siklus hidup *E. tenella* pada ayam (Soekardono, 1995)

Keterangan : 1. Sporozoit. 2. Sporozoit dalam epitel usus. 3. Skizon generasi pertama. 4. Merozoit generasi pertama. 5. Merozoit keluar dari sel inang. 6. Merozoit memasuki sel epitel usus yang lain. 7 dan 8. Skizon generasi kedua. 9 dan 10. Merozoit generasi kedua. 11. Merozoit keluar dari sel inang. 12 dan 13. Perkembangan skizon generasi ketiga. 14. Merozoit generasi ketiga. 15. Merozoit generasi ketiga dan sebagian besar merozoit generasi kedua memasuki sel epitel usus baru. 16 dan 17. Mikrogametosit. 18. Mikrogamet. 19 dan 20. Makrogamet. 21. Zigot. 22. Ookista yang baru keluar dari tubuh inang. 23. Ookista mulai bersporulasi. 24. Ookista dengan 4 sporozoit yang masing-masing berisi 2 sporozoit.

## 2.2 Patogenitas Koksidiosis

*E. tenella* adalah salah satu organisme parasit yang paling patogen yang terdapat pada ayam (Shirley *et al*, 2007). Patogenitas infeksi *E. tenella* tergantung dari beberapa faktor yaitu *strain* koksidia, faktor lingkungan yang berpengaruh pada tingkat ketahanan ookista, stadium perkembangan ookista dalam tubuh induk, usia ayam, status nutrisi dan jumlah ookista yang termakan oleh ayam. Pada infeksi kurang dari 150 ookista infeksi akan

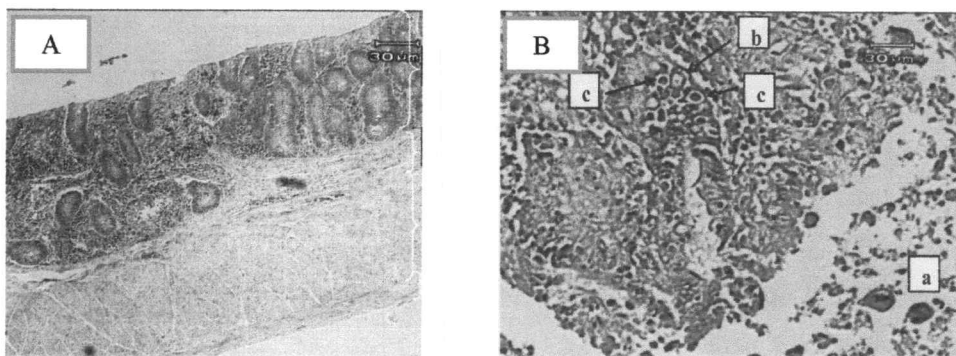
terjadi titik-titik pendarahan pada mukosa, 150 sampai 500 ookista mengakibatkan pendarahan, perlukaan dan penebalan pada dinding sekum. 1000 sampai 3000 ookista menimbulkan kematian yang tinggi, pendarahan dan sebagian darah menggumpal serta isi sekum yang tidak normal. Sedangkan infeksi 5000 atau lebih ookista akan menimbulkan angka kematian yang tertinggi, pendarahan, sekum berisi darah yang telah membeku dan mengalami pengapuran (McDougald, 2003).

Kennedy (2001) menyebutkan bahwa gejala umum yang paling mudah dilihat dari koksidiosis adalah adanya bercak darah pada feses dan disertai gejala klinis seperti ayam tampak lesu, pucat, depresi, cenderung bergerombol, nafsu makan dan minum menurun, bulu tampak kusut. Gejala khas dari koksidiosis yaitu berak darah terjadi akibat pecahnya skizon generasi kedua yang berukuran sangat besar yang menyebabkan kerusakan pada sel epitel sekum (Elmusharaf *et al.*, 2006). Perdarahan tertinggi terjadi pada hari ke-5 dan ke-6 setelah infeksi, pada hari ke-8 dan ke-9 ayam akan mati atau dapat sembuh. Angka kematian tinggi pada hari ke-4 sampai ke-6 setelah infeksi, ayam yang dapat bertahan akan mengakibatkan penyakit yang kronis akibat kerusakan sekum yang persisten (Kennedy, 2001).

### 2.3 Histopatologi Koksidiosis

Koksidiosis sekum adalah penyakit yang disebabkan protozoa *E. tenella*. Infeksi koksidia ditandai adanya lesi sekum, penampakan ookista atau skizon pada lamina propia sekum serta pertumbuhan ayam yang sangat lambat (Patra *et al.*, 2010). Suprihati dkk (2000) menyebutkan bahwa hasil

pemeriksaan mikroskopis sekum pada ayam yang diinfeksi dengan 5000 ookista terlihat adanya nekrosis sel, degenerasi, penebalan lapisan muskularis, infiltrasi sel radang, adanya parasit yang dikelilingi oleh sel radang serta perdarahan. Gambaran histopatologi sekum ayam yang diinfeksi dengan ookista menunjukkan kerusakan sekum dan didapatkan parasit *Eimeria* stadium skizon.



**Gambar 2.3.** Sekum normal (A) dan sekum yang terinfeksi *E. tenella* (B) (Rohayati dkk, 2011)

Keterangan : a. Erosi epitel sekum. b. Makrogamet diantara 2 zigot. c. Zigot (400x).

#### 2.4 Diagnosa Koksidirosis

Menurut Tabbu (2002), diagnosa koksidirosis dapat dilakukan melalui munculnya gejala klinik, perubahan patologik yang berhubungan dengan lokasi predileksi stadium perkembangan *E. tenella* (sporozoit, merozoit, skizon dan ookista) dan riwayat kasus. Diagnosa definitif didasarkan pada pemeriksaan mikroskopis dan identifikasi *E. tenella*. Diagnosa banding untuk koksidirosis diantaranya adalah enteritis, salmonelosis dan kolibasilosis. Di lapangan, kasus koksidirosis sering terjadi bersama penyakit lain.

## 2.5 Immunitas Koksidiosis

Menurut Brake *et al.*, (1997) koksidiosis disebabkan oleh protozoa *Eimeria tenella* yang merupakan parasit intraseluler yang menyerang sekum unggas. Mekanisme pertahanan unggas terhadap infeksi koksidiosis meliputi dua hal yaitu mekanisme imun spesifik dan non spesifik (Lillehoj *and* Trout, 1996).

Menurut Baratawidjaja (2006) mekanisme respon imun spesifik terdiri dari dua sistem yaitu sistem imun humoral dan sistem imun seluler. Sistem imun seluler atau yang sering disebut *Cell-mediated immunity* (CMI) adalah sistem imun yang mempunyai peranan utama dalam melawan infeksi koksidiosis dan sel efektor yang berperan adalah sel T, sedangkan sistem imun humoral hanya mempunyai peranan kecil pada infeksi koksidiosis dan sel efektor yang berperan adalah sel B yang akan menghasilkan antibodi dan sel memori (Yun *et al.*, 2000). Mekanisme imun non spesifik merupakan pertahanan alami dan hanya berperan pada permukaan mukosa intestinal sampai terjadi invasi oleh *E. tenella* pada epitel sekum (Lillehoj *et al.*, 2000).

Infeksi *E. tenella* merupakan stimulator yang mampu merangsang respon imun pada organ limpa untuk berpoliferasi yang menghasilkan sel imun. Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan segera dikenali oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitivitas dari sel imun tersebut. *E. tenella* merangsang sel yang diinfeksi untuk melepas interferon (IFN) yang mengarahkan dan mengaktifkan sel NK. Makrofag yang memfagositosis antigen merangsang aktifnya sel T. Sel T yang telah diaktifkan bermigrasi ke

tempat infeksi dan memberikan bantuan ke sel NK dan makrofag, ketika dipaparkan infeksi serupa, sel T langsung dapat mengenali sehingga dapat melakukan pertahanan terhadap infeksi (Baratawidjaja, 2006).

Terdapat tiga kekebalan terhadap *E. tenella* yaitu ayam mungkin kebal secara total terhadap parasit dan tidak terjadi perkembangan parasit, ayam mungkin kebal pada derajat tertentu, dimana ookista mampu menyelesaikan siklus hidup tetapi tidak terjadi lesi di usus, dan ayam mungkin tidak menunjukkan gejala klinis tetapi terjadi lesi pada usus (Long *et al.*, 1990).

## 2.6 Atenuasi Patogenitas

Atenuasi adalah penurunan tingkat (aras) suatu besaran. Patogenitas adalah kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit pada organisme yang diinfeksi (Todar, 2007). Atenuasi patogenitas adalah penurunan atau pengurangan kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit pada organisme yang diinfeksi. Atenuasi *E. tenella* dapat dilakukan dengan seleksi *precocious lines* dari *strain*, in vivo pasase embrio dan radiasi (Faisol dkk, 2011; Wibowo, 2011). Atenuasi dengan metode serial pasase telah dilakukan dengan media ayam petelur (Cahyaningsih dan Ashadi, 1993) dan ayam pedaging (Faisol dkk, 2011; Wibowo, 2011).

## 2.7 *Precocious Lines*

Menurut Shirley and Bedrnik (1997), *precocious lines Eimeria* adalah *strain Eimeria* yang mempunyai siklus hidup endogenus dalam tubuh induk semang lebih cepat daripada *strain* induk dari alam. *Precocious lines E.*

*tenella* dapat diperoleh melalui pasase berseri ookista *strain* lapangan kemudian diambil ookista yang pertama kali diproduksi melalui feses selama infeksi (Dong *et al.*, 2011; Shirley and Bedrnik, 1997). *Precocious lines* ookista secara signifikan juga memiliki patogenitas yang lebih rendah daripada *strain* induk (Shirley and Bedrnik, 1997). Spesies *Eimeria* yang telah diatenuasi menunjukkan penurunan patogenitas tetapi tidak menghilangkan kekebalannya (Shirley, 1993).

## 2.8 Vaksinasi Koksidiosis

Vaksinasi yang digunakan dalam industri peternakan untuk melawan koksidiosis adalah dengan menggunakan dosis rendah organisme infeksi. Perkembangan vaksin hidup yang mengandung ookista yang diseleksi dari infeksi yang terjadi secara alam *strain Eimeria* menghasilkan siklus merogenik lebih rendah dan lebih aman digunakan. *Coccidiosis live vaccine* ini telah berhasil digunakan selama 50 tahun dan diproduksi sebagai produk komersial oleh banyak perusahaan kesehatan hewan (Meeusen *et al.*, 2007).

Vaksinasi pada induk semang merangsang *protective immunity* yang berkembang cepat. Material yang dapat digunakan untuk imunisasi terhadap koksidiosis diantaranya adalah organisme hidup yang virulen, *strain* hidup yang dilemahkan (Jenkins *et al.*, 1991) dan rekayasa genetik sub unit (Jenkins *et al.*, 1991; Bhogal *et al.*, 1992; Sumartono, 2001). Kebanyakan vaksin yang dibuat menggunakan organisme hidup (*live vaccine*) itu sendiri menimbulkan respon kekebalan protektif yang dikehendaki.



*Live vaccine* atenuasi mempunyai kelebihan yaitu potensial produksinya rendah sehingga menghindari banyaknya infeksi pada area mukosa spesifik dan menghasilkan perkembangan imunitas yang optimal dengan kerusakan jaringan yang minimal (Williams, 1994). Kelebihan yang menonjol dari vaksin ini adalah tidak menginduksi resistensi terhadap obat pada koksidia (Williams, 1992).

## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dan dilanjutkan di Laboratorium Protozoologi Departemen Parasitologi Veteriner, serta pembuatan preparat histopatologi dilaksanakan di Laboratorium pada Departemen Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan pada 28 Desember 2012 – 9 Juni 2013.

### 3.2 Materi Penelitian

#### 3.2.1 Hewan percobaan

Penelitian ini menggunakan hewan percobaan ayam pedaging *strain* CP 707 jantan berumur tiga minggu sebanyak 24 ekor yang didapat dari peternak ayam di Desa Selogabus Kecamatan Parengan Kabupaten Tuban Jawa Timur.

#### 3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ransum pakan ayam tanpa koksidiostat dengan pemberian sebanyak 100 gram/hari, air PDAM yang diberikan secara *ad libitum*, aquadest steril, perbanyakan *E. tenella* isolat Laboratorium sebagai *parent lines*, larutan rodalon sebagai desinfektan, larutan Kalium bikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2,5%, formalin 10%, *tissue cassette*, alkohol konsentrasi bertingkat, *xylol*, parafin, hematoksilin dan eosin/HE.

### 3.2.3 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang tipe baterai yang terbuat dari besi dan alasnya dibuat berlubang untuk memudahkan jatuhnya feses dan diberi papan beralkaseng sebagai tempat penampungan feses serta dilengkapi tempat pakan dan minum. Kandang diberi sekat tiap satu ekor ayam sehingga terbentuk lima sekat untuk enam ekor ayam yang didistribusikan secara acak, timbangan elektrik *Mettler PJ400*, *Hettich EBA 8 centrifuge*, tabung sentrifuse, cawan petri, mortar, saringan *Retsch 5657 HAAN W. Germany*, spatula, spuit, gelas plastik, pipet pasture, tabung reaksi, *Universal Whitlock McMaster chamber* yang telah dimodifikasi, alat bedah, pot salep, kertas, stapler, *embedding set*, mikrotom, *water bath*, gelas objek, *hot plat*, set gelas pewarnaan, gelas penutup dan mikroskop.

### 3.2.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah sekum ayam yang telah diinfeksi dengan *E. tenella*.

## 3.3 Metode Penelitian

### 3.3.1 Persiapan kandang

Satu minggu sebelum penelitian dimulai, kandang dicuci dan didesinfeksi dengan rodalon 1,5 ml dalam 10 liter air. Ayam yang baru tiba diberi minum air gula untuk mengurangi stres akibat perjalanan.

### 3.3.2 Isolat ookista

Isolat ookista yang digunakan didapatkan dari perbanyakan stok isolat Protozoologi Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Perbanyakan isolat *E. tenella* sebagai *parent lines* diperoleh sebanyak 12 ml dengan konsentrasi  $\pm 28.000$  ookista/ml. Isolat diambil 3,5 ml dan ditambahkan aquadest steril sebanyak 5,5 ml sehingga dosis per ml  $\pm 10.000$  ookista dan diinfeksi pada ayam masing-masing 1 ml.

### 3.3.3 Pemanenan Ookista

Pemanenan ookista *E. tenella precocious lines* dari feses ayam untuk bahan infeksi dilakukan pada hari kelima infeksi. Feses yang telah ditampung, di timbang kemudian diproses menggunakan metode apung (lampiran 2). Suspensi yang didapat dimasukkan pada cawan petri lalu ditambahkan Kalium bikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2,5 % dengan perbandingan 1 : 1 dan diletakkan pada suhu ruangan selama 2-5 hari hingga ookista bersporulasi. Setelah ookista bersporulasi, hilangkan kandungan Kalium bikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2,5 % dengan *aquadest* lalu disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Lakukan berulang hingga suspensi yang didapat jernih. Kemudian suspensi dihomogenkan dan diambil 1 ml lalu ditambah larutan gula jenuh sebanyak 13 ml selama 5 menit. Cairan yang berada di atas tabung sentrifus dimasukkan ke dalam kamar hitung *Universal Withlock McMaster chamber* yang telah dimodifikasi dan ookista dihitung

dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Total ookista adalah jumlah ookista dalam 1 ml dikalikan dengan volume suspensi yang didapat.

### 3.3.4 Infeksi Pada Ayam

Sebanyak 24 ekor ayam digunakan untuk empat kelompok perlakuan. Masing-masing pasase menggunakan satu ekor ayam sebagai kontrol dan lima ekor ayam yang diinfeksi dengan dosis 10.000 ookista (Setyawati dan Yuwono, 2006). Infeksi dilakukan secara per oral dengan menggunakan pipet. Pada kelompok I (P0), ookista dari *E. tenella* (*parent lines*) diinfeksi pada ayam. Kelompok II diinfeksi dengan ookista *E. tenella* yang dikeluarkan pertama kali oleh ayam kelompok I (ookista yang telah mengalami satu kali pasase dari *parent lines*). kelompok III diinfeksi dengan ookista *E. tenella* yang dikeluarkan pertama kali oleh ayam kelompok II (ookista yang telah mengalami dua kali pasase dari kelompok I dan II) dan kelompok IV diinfeksi ookista *E. tenella* yang dikeluarkan pertama kali oleh ayam kelompok III (ookista yang telah mengalami tiga kali pasase dari kelompok I, II dan III), sedangkan kontrol dari masing-masing kelompok diinfeksi ookista muda yang telah bersporulasi dari *parent lines*. Sekum ayam yang diinfeksi pada masing-masing kelompok dikoleksi untuk kemudian dilakukan pengamatan pada tingkat kerusakannya dan diharapkan terjadi perbedaan dari setiap kelompok.

Ayam – ayam percobaan tersebut dikelompokkan berdasarkan :

P0 : Diinfeksi ookista *parent lines*

P1 : Diinfeksi ookista *precocious lines* I dari P0

P2 : Diinfeksi ookista *precocious lines* II dari P1

P3 : Diinfeksi ookista *precocious lines* III dari P2

### 3.3.5 Pengoleksian Sekum

Pengoleksian sekum ayam yang telah diinfeksi dengan ookista *E. tenella* dilakukan pada hari kelima infeksi pada setiap kelompok. Ayam dikorbankan dan sekum diperiksa terhadap perlukaan yang ada kemudian dilakukan pembuatan preparat histopatologi (lampiran 3).

### 3.3.6 Pemeriksaan dan Penilaian Skor Histopatologi

Pemeriksaan yang dilakukan meliputi adanya hemoragi, erosi sel epitel sekum dan jumlah skizon *E. tenella*. Penilaian dilakukan sebanyak lima lapang pandang dengan perbesaran 400-1000x pada setiap preparat dan di dalam satu lapang pandang diberikan nilai dalam bentuk persentase untuk adanya hemoragi dan erosi sel epitel sekum serta dalam bentuk satuan untuk jumlah skizon *E. tenella* yang ditemukan.

## 3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode laboratorium secara eksperimental untuk menguji hipotesis melalui beberapa tahapan penelitian. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL)

dengan asumsi semua perlakuan diusahakan sama dari pengambilan sampel sampai dengan pengerjaan serta kondisi laboratorium kecuali waktu pasase.

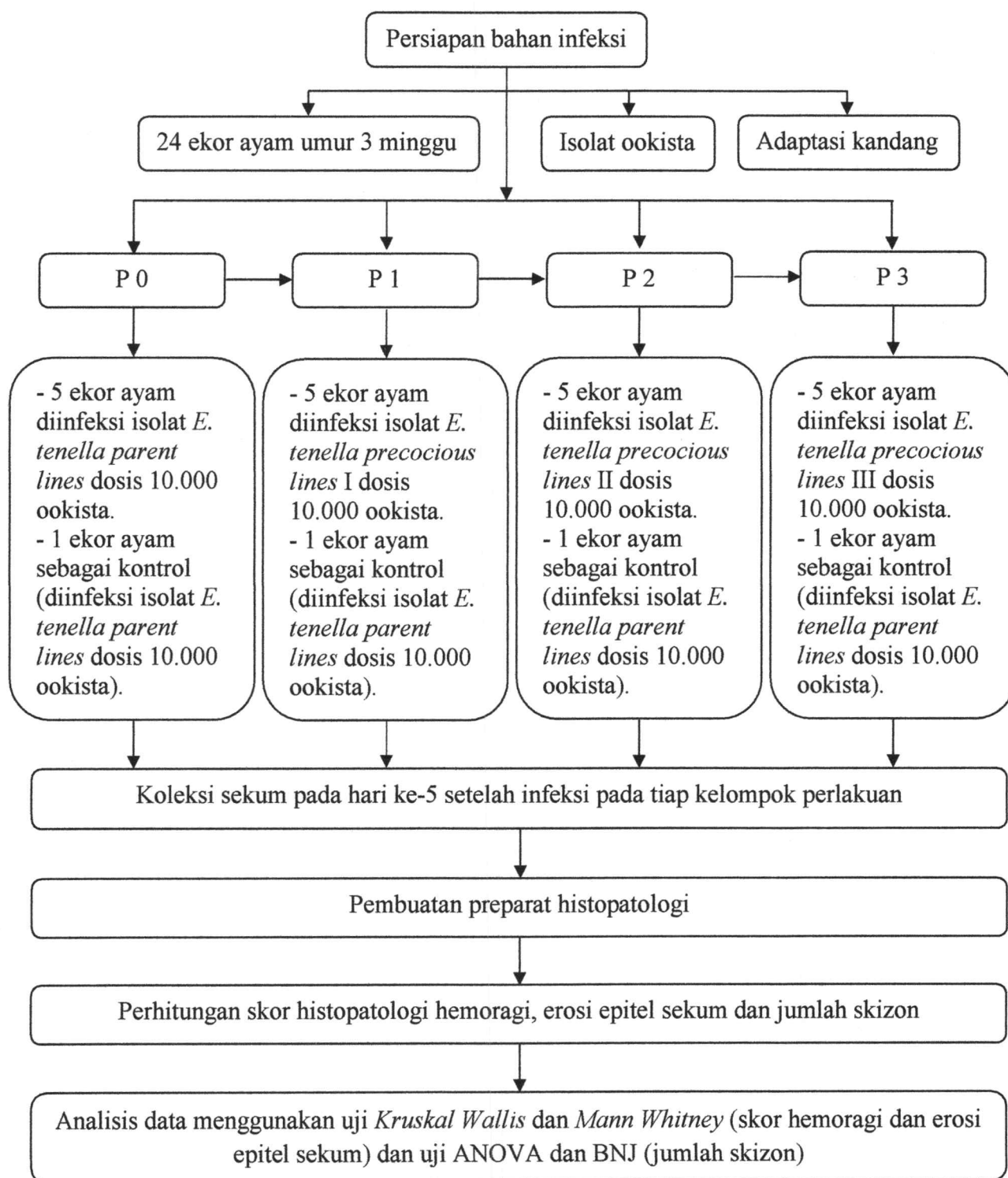
### 3.5 Peubah yang Diamati

Variabel bebas pada penelitian ini adalah frekuensi pasase, variabel tergantung sekaligus merupakan peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah gambaran perbedaan tingkat perlukaan sekum, variabel terkendali adalah strain spesies *E. tenella*, dosis infeksi, umur ayam, jenis kelamin ayam, alat-alat, dan tenaga laboratorium.

### 3.6 Analisis Data

Hasil pengamatan pada penelitian ini secara kuantitatif berupa skor hemoragi dan erosi epitel sekum yang diberikan dalam bentuk persentase yang dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* karena data yang diperoleh berdasarkan skoring atau penilaian derajat perubahan. Hasil pengamatan secara kuantitatif berupa jumlah skizon dianalisis menggunakan uji *One way ANOVA (Analysis of Variance)* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf nyata 5%. Untuk memudahkan perhitungan statistik digunakan *Statistical Program and Service Solution (SPSS) 16*.





**Gambar 3.1.** Kerangka operasional penelitian

**BAB 4**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

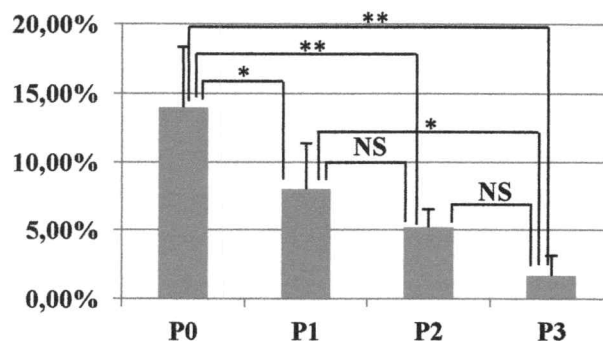
### 4.1. Skor Hemoragi

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, didapatkan data skor hemoragi pada sekum ayam akibat pemberian ookista *Eimeria tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri pada kelompok I (P0) yang diinfeksi menggunakan ookista *parent lines*, kelompok II (P1) yang diinfeksi menggunakan ookista *precocious lines* I, kelompok III (P2) yang diinfeksi menggunakan ookista *precocious lines* II, dan kelompok IV (P3) yang diinfeksi menggunakan ookista *precocious lines* III disajikan pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1.** Rerata skor hemoragi pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Mean $\pm$ SD
P0	14,00 $\pm$ 4,358 <sup>a</sup>
P1	8,00 $\pm$ 3,391 <sup>b</sup>
P2	5,20 $\pm$ 1,303 <sup>bc</sup>
P3	1,68 $\pm$ 1,418 <sup>d</sup>

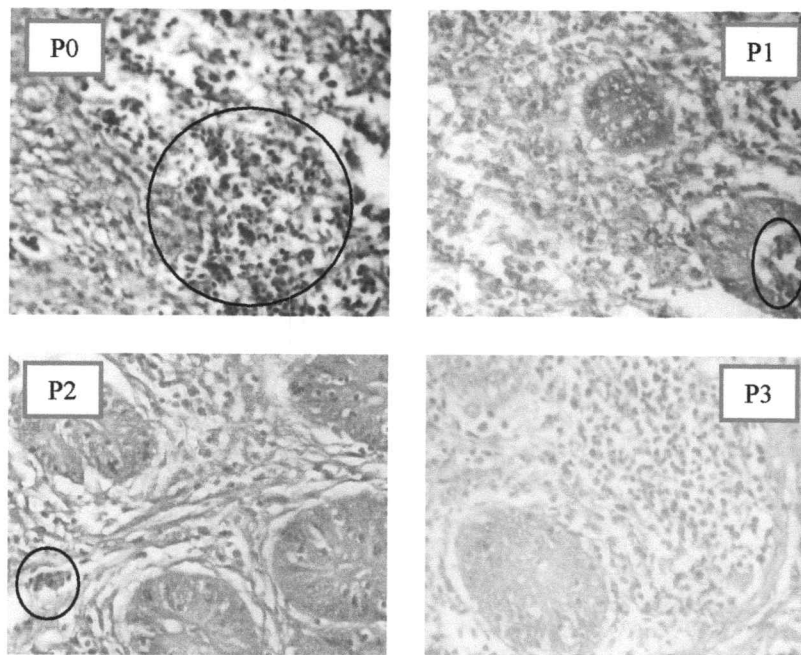
Keterangan: Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )



**Gambar 4.1.** Diagram batang skor hemoragi pada sekum

Keterangan :

(\*\*) : berbeda sangat nyata, (\*) : berbeda nyata, NS : tidak berbeda nyata



**Gambar 4.2.** Hemoragi pada sekum yang diinfeksi *E. tenella* (400x)

Setelah dilakukan analisis data dengan uji *Kruskal Wallis* terhadap skor hemoragi sekum diperoleh tingkat kepercayaan sebesar 0,002 yang berarti  $p < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri berpengaruh nyata terhadap skor hemoragi pada sekum ayam, analisis data selengkapnya terdapat pada lampiran 5. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk membandingkan pengaruh diantara masing-masing kelompok.

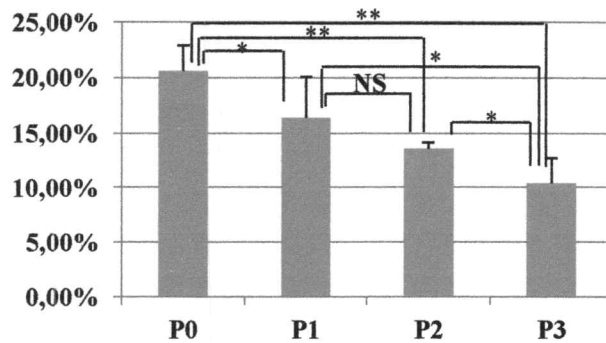
#### 4.2. Skor Erosi Epitel Sekum

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, didapatkan data skor erosi epitel sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri pada kelompok I (P0), II (P1), III (P2), dan IV (P3) disajikan pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2.** Rerata skor erosi epitel sekum pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Mean ± SD
P0	20,60 ± 2,302 <sup>a</sup>
P1	16,40 ± 3,646 <sup>b</sup>
P2	13,60 ± 0,547 <sup>bc</sup>
P3	10,40 ± 2,302 <sup>c</sup>

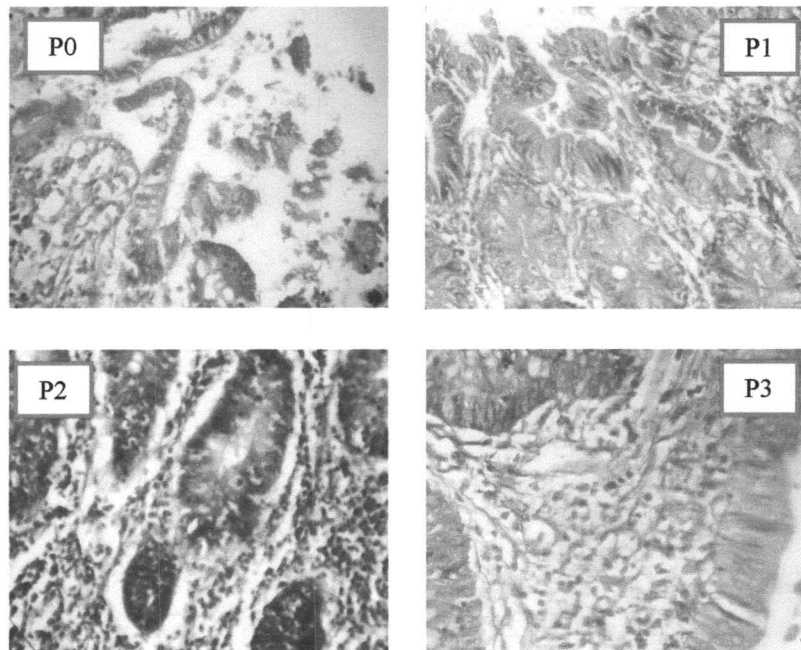
Keterangan: Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (p<0,05)



**Gambar 4.3.** Diagram batang skor erosi epitel sekum

Keterangan :

(\*\*) : berbeda sangat nyata, (\*) : berbeda nyata, NS : tidak berbeda nyata



**Gambar 4.4.** Erosi sel epitel sekum yang diinfeksi *E. tenella* (400x)

Berdasarkan analisis data dengan uji *Kruskal Wallis* terhadap skor erosi epitel sekum diperoleh tingkat kepercayaan sebesar 0,003 yang berarti  $p < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri berpengaruh nyata terhadap skor erosi epitel sekum pada ayam, analisis data selengkapnya terdapat pada lampiran 7. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk membandingkan pengaruh diantara masing-masing perlakuan.

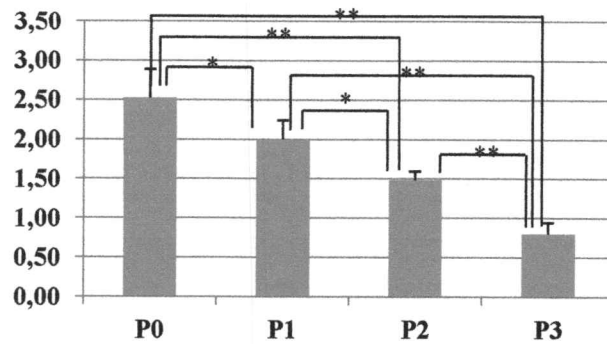
#### 4.3. Jumlah Skizon

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis pada sekum, diperoleh data jumlah skizon pada sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri pada kelompok I (P0), II (P1), III (P2), dan IV (P3) disajikan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3.** Rerata jumlah skizon pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Mean $\pm$ SD
P0	2,52 $\pm$ 0,363 <sup>a</sup>
P1	2,00 $\pm$ 0,244 <sup>b</sup>
P2	1,48 $\pm$ 0,109 <sup>c</sup>
P3	0,80 $\pm$ 0,141 <sup>d</sup>

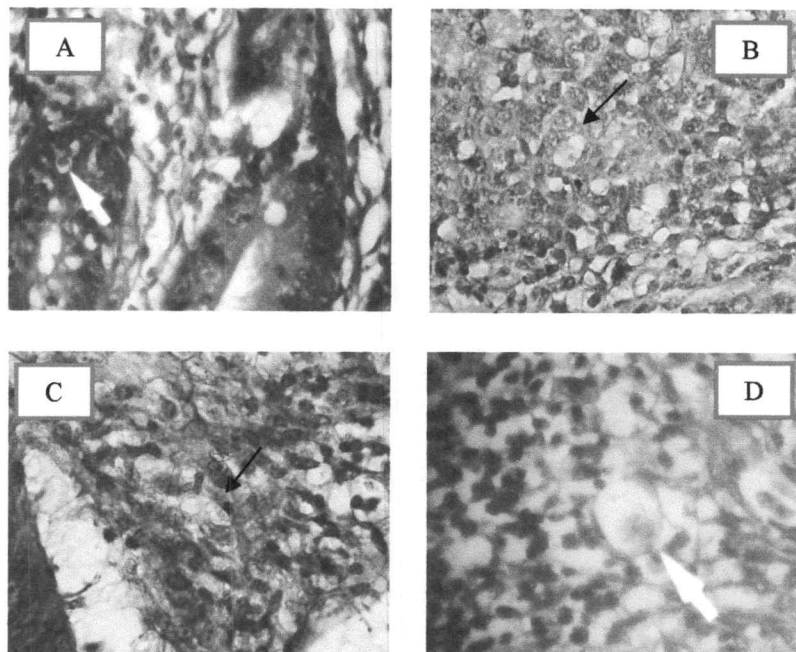
Keterangan: Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )



**Gambar 4.5.** Diagram batang jumlah skizon pada sekum

Keterangan :

(\*\*) : berbeda sangat nyata, (\*) : berbeda nyata



**Gambar 4.6.** Skizon *E. tenella* pada sekum dengan pembesaran 400x (A dan B) dan 1000x (C dan D)

Setelah dilakukan analisis data terhadap jumlah skizon dengan menggunakan uji ANOVA diperoleh F hitung sebesar 48,238. F hitung yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan F tabel. Berdasarkan hal tersebut bermakna bahwa pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri berpengaruh nyata terhadap jumlah skizon ( $p < 0,05$ ), analisis

data selengkapnya terdapat pada lampiran 9. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ untuk membandingkan pengaruh diantara masing-masing perlakuan.



## **BAB 5**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan tentang atenuasi *Eimeria tenella* menunjukkan hasil penurunan patogenitas *E. tenella* tetapi tidak menghilangkan induksi kekebalan terhadap induk semang. Pasase berseri merupakan salah satu upaya atenuasi patogenitas *E. tenella* sehingga dapat digunakan sebagai salah satu kandidat material vaksin koksidiosis. Hal tersebut dikarenakan *strain* yang dihasilkan melalui pasase berseri memiliki patogenitas yang lebih rendah dibandingkan dengan *strain* induknya (Shirley and Bedrnik, 1997). Penelitian sebelumnya didapatkan hasil atenuasi dengan indikasi majunya periode prepaten, berkurangnya persentase kematian ayam akibat infeksi dan menurunnya skor lesi pada usus (Li *et al.*, 2003). Pengujian patogenitas *E. tenella* yang diatenuasi melalui pasase berseri dapat dilakukan melalui pengamatan histopatologi meliputi skor hemoragi, erosi epitel sekum dan jumlah skizon.

Hasil pengamatan terhadap skor hemoragi dan erosi epitel sekum menunjukkan penurunan persentase pada tiap kelompok perlakuan. Demikian pula pada jumlah skizon yang mengalami penurunan jumlah tiap kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara skor hemoragi, erosi epitel dan jumlah skizon.

### 5.1 Skor Hemoragi

Hasil pengamatan skor hemoragi pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan adanya penurunan pada tiap kelompok perlakuan. Hal tersebut terlihat pada kelompok I (P0) yang memiliki kisaran skor hemoragi antara 9-

19%, kelompok II (P1) 2-10%, kelompok III (P2) 3-6% dan kelompok IV (P3) 0,4-4%. Dengan menggunakan uji *Mann Whitney*, terlihat adanya perbedaan persentase skor hemoragi yang nyata antara kelompok I (P0) dengan kelompok II (P1), kelompok III (P2) dan IV (P3), kelompok II (P1) dengan kelompok III (P2) dan kelompok III (P2) dengan kelompok IV (P3). Persentase skor hemoragi terendah terdapat pada kelompok IV (P3) dengan rata-rata 1,68% dan tertinggi pada kelompok I (P0) dengan rata-rata 14,00%.

Keluarnya eritrosit dari sistem sirkulasi ke jaringan di sekitarnya atau yang disebut hemoragi salah satu faktor penyebabnya adalah kerusakan pada dinding pembuluh darah. *E. tenella* merupakan parasit intraseluler. Infiltrasi parasit ini mengakibatkan rusaknya dinding pembuluh darah yang disusun oleh sel endotel sehingga eritrosit yang berada dalam sirkulasi keluar ke jaringan di sekitarnya. Semakin besar ukuran atau semakin banyak jumlah *E. tenella* yang menginfeksi sekum berpengaruh terhadap peningkatan hemoragi pada sekum, begitu pula sebaliknya. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Shirley and Bedrnik (1997) memperoleh hasil pengurangan jumlah maupun ukuran dari skizon *precocious lines*. Hal ini menyebabkan penurunan skor hemoragi pada sekum pada setiap kelompok perlakuan.

## 5.2 Skor Erosi Epitel Sekum

Hasil pengamatan skor erosi epitel sekum pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan adanya penurunan pada tiap kelompok perlakuan. Hal tersebut terlihat pada kelompok I (P0) yang memiliki kisaran skor hemoragi antara 18-23%, kelompok II (P1) 10-19%, kelompok III (P2) 13-

14% dan kelompok IV (P3) 8-14%. Dengan menggunakan uji *Mann Whitney*, terlihat adanya perbedaan persentase skor erosi epitel sekum yang nyata antara kelompok I (P0) dengan kelompok II (P1), kelompok III (P2) dan IV (P3) dan kelompok II (P1) dengan kelompok III (P2). Persentase skor erosi epitel sekum tertinggi pada kelompok I (P0) dengan rata-rata 20,60% dan terendah terdapat pada kelompok IV (P3) dengan rata-rata 10,40%.

Fase infeksi *E. tenella* pada sekum adalah ketika stadium sporozoit *E. tenella* menembus sel epitel pada vili dan kripta sekum. Kemudian di dalam epitel sekum, parasit mengadakan perkembangan secara aseksual (skizogoni) dan seksual (gametogoni). Perkembangan ini mengakibatkan rusaknya (erosi) sel epitel sekum induk semang karena pecahnya skizon yang membebaskan merozoit, infeksi merozoit yang bebas ke sel epitel baru, dan keluarnya ookista hasil fertilisasi. Semakin besar ukuran atau semakin banyak jumlah *E. tenella* yang menginfeksi sekum berpengaruh terhadap peningkatan erosi epitel sekum, begitu pula sebaliknya. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Shirley and Bedrnik (1997) memperoleh hasil pengurangan jumlah maupun ukuran dari skizon *precocious lines*. Hal ini menyebabkan penurunan skor erosi epitel sekum pada setiap kelompok perlakuan.

### 5.3 Jumlah Skizon

Hasil perhitungan jumlah skizon menunjukkan adanya penurunan pada tiap kelompok perlakuan. Hal tersebut terlihat pada kelompok I (P0) yang memiliki kisaran jumlah skizon antara 2-3 skizon, kelompok II (P1) 1,6-2,2 skizon, kelompok III (P2) 1,4-1,6 skizon dan kelompok IV (P3) 1-0,8

skizon. Dengan menggunakan uji *One Way* ANOVA, terlihat adanya perbedaan jumlah skizon yang nyata antara kelompok I (P0) dengan kelompok II (P1), kelompok III (P2) dan IV (P3). Jumlah skizon tertinggi pada kelompok I (P0) dengan rata-rata 2,52 dan terendah terdapat pada kelompok IV (P3) dengan rata-rata 0,80.

Hasil penelitian Shirley *and* Bedrnik (1997) menyatakan bahwa pada tahap skizon dari *precocious lines* terjadi pengurangan jumlah maupun ukuran dari skizon. Hal ini menyebabkan penurunan potensi reproduksi dan penyelesaian yang cepat dari siklus hidup *E. tenella*. Dari infeksi pada kelompok I hingga kelompok IV, semakin tampak gejala klinis akibat infeksi ookista *precocious lines* seperti kondisi ayam yang sehat, nafsu makan yang baik, dan konsistensi feses yang semakin padat, ini menunjukkan bahwa atenuasi ookista melalui pasase berseri dapat menurunkan patogenitas infeksi *E. tenella*.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data dan rangkain pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya, maka dalam penelitian dikemukakan beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Pasase berseri *precocious lines* dapat menurunkan patogenitas *E. tenella*.
2. Atenuasi patogenitas *E. tenella* melalui pasase berseri *precocious lines* dapat menurunkan tingkat hemoragi, erosi epitel sekum dan jumlah skizon pada gambaran histopatologi sekum ayam yang terinfeksi.
3. Adanya korelasi antara penurunan tingkat hemoragi, erosi epitel sekum dan jumlah skizon pada gambaran histopatologi sekum ayam yang diinfeksi oleh *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri.

### 6.2. Saran

Adapun saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hal-hal sebagai berikut :

1. Korelasi tingkat kerusakan sekum akibat infeksi *E. tenella* secara makroskopis dan mikroskopis.
2. Respon imun *precocious lines E. tenella* terhadap induk semang.

# RINGKASAN



## RINGKASAN

ANITA RAHMAWATI. Koksidiosis merupakan penyakit parasiter yang disebabkan oleh protozoa dari genus *Eimeria* yang menyerang unggas. Salah satu spesiesnya yang paling patogen adalah *Eimeria tenella* yang menyebabkan kerusakan sekum yang khas dengan adanya perdarahan. Koksidiosis dapat menimbulkan kerugian besar bagi peternak. Pengendalian koksidiosis menggunakan obat antikoksidia memerlukan biaya yang mahal dan dapat menimbulkan resistensi dan penimbunan residu obat pada daging maupun telur. Alternatif pengendalian koksidiosis dapat dilakukan dengan pemberian *live vaccine* menggunakan *strain Eimeria* yang telah dilemahkan.

Atenuasi *E. tenella* adalah upaya memperlemah patogenitas *E. tenella*. Proses atenuasi bisa dilakukan dengan seleksi *precocious lines* melalui pasase berseri dari *parent lines E. tenella*. *Precocious lines Eimeria* merupakan strain *Eimeria* yang mempunyai siklus hidup di dalam induk semang lebih cepat dari pada *parents lines*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri. Gambaran histopatologi yang dilihat meliputi hemoragi, erosi epitel sekum dan jumlah skizon.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dan dilanjutkan di Laboratorium Protozoologi Departemen Parasitologi Veteriner, serta pembuatan preparat

histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah 24 ekor ayam pedaging jantan (CP 707) berumur 3 minggu yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok I (P0), kelompok II (P1), kelompok III (P2), dan kelompok IV (P3). Kelompok I ayam diinfeksi dengan *parent lines E. tenella*, kelompok II ayam diinfeksi dengan *precocious lines E. tenella* dari kelompok I, kelompok III ayam diinfeksi dengan *precocious lines* dari kelompok II, dan kelompok IV ayam diinfeksi dengan *precocious lines* dari kelompok III. Pada masing-masing kelompok terdapat 1 ayam sebagai kontrol (diinfeksi dengan *parent lines*). Dosis yang digunakan adalah 10.000 ookista. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi adanya hemoragi, erosi sel epitel sekum dan jumlah skizon *E. tenella*. Penilaian dilakukan sebanyak lima lapang pandang dengan perbesaran 400-1000x pada setiap preparat dan di dalam satu lapang pandang diberikan nilai dalam bentuk persentase untuk adanya hemoragi dan erosi sel epitel sekum serta dalam bentuk satuan untuk jumlah skizon *E. tenella* yang ditemukan. Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap. Data skor hemoragi dan erosi epitel sekum yang diberikan dalam bentuk persentase dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* sedangkan data jumlah skizon dianalisis menggunakan uji *One way ANOVA (Analysis of Variance)* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf nyata 5%. Untuk memudahkan perhitungan statistik digunakan *Statistical Program and Service Solution (SPSS) 16*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan skor hemoragi pada tiap kelompok perlakuan. Penurunan skor erosi epitel sekum yang signifikan ditunjukkan pada tiap kelompok perlakuan, begitu pula pada jumlah skizon yang mengalami penurunan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada gambaran histopatologi sekum ayam akibat pemberian ookista *E. tenella* yang telah diatenuasi melalui pasase berseri dapat menurunkan patogenitas *E. tenella*. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan rata-rata skor hemoragi dari 14% menjadi 1,68%. Penurunan yang sama terjadi pada skor erosi epitel sekum dari 20,60% menjadi 10,40%. Rata-rata jumlah skizon mengalami penurunan dari 2,52 skizon tiap lapang pandang menjadi 0,8 skizon tiap lapang pandang.

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bhogal, B.S., G.A. Miller, A.C. Anderson, E.J. Jessee, S. Strausberg, R. McCandliss, J. Nagle, and R.L. Strausberg. 1992. Potential of a Recombinant Antigen as a Prophylactic Vaccine for Day-Old Broiler Chickens Against *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* Infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 31(3-4) : 323-335.
- Brake, D.A., C.H. Fedor, B.W. Werner, T.J. Miller, R.L. Taylor and R.A. Clare. 1997. Reviews : Characterization of Immune Response to *Eimeria tenella* Antigens in a Natural Immunity Model with Hosts which Differ Serologically at The B Locus of The Major Histocompatibility Complex. *Infect. Immun.* 65(4) : 1204-1210.
- Cahyaningsih, U., dan Ashadi, H. G. 1993. Atenuasi Ookista *Eimeria tenella* Isolat Lokal dengan Seleksi Precocious (Abstr). Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Caron, L.A., H. Abplanalp, and R.L. Taylor Jr. 1997. Resistance, Susceptibility, and Immunity to *Eimeria tenella* in Major Histocompatibility (B) Complex Congenic Lines. *Poult. Sci.* 76 : 667-682.
- Dong H., J. Lin, H. Han, L. Jiang, Q. Zhao, S. Zhu and B. Huang. 2011. Analysis of Differentially Expressed Genes in The Precocious Lines of *Eimeria maxima* and Its Parent Strain Using Suppression Subtractive Hybridization and cDNA Microarrays. *Parasitol Res.* 108(4) : 1033-1040.
- Elmusharaf, M.A., V. Bautista, L. Nollet and A.C. Beynen. 2006. Effect of a Mannan Oligosaccharide Preparation on *Eimeria tenella* Infection in Broiler Chickens. *J. Poult. Sci.* 6 : 583-588.
- Faisol, M. Yunus, dan M. Mafruchati. 2011. Atenuasi Patogenitas *Eimeria tenella* melalui Serial Pasase *Precocious Lines* terhadap Jumlah Skizon dan Gambaran Histopatologi pada Sekum Ayam Pedaging. <http://www.fkh.unair.ac.id/artikel1/at.pat.pdf>. [11 November 2012].
- Idayanti, W. 2008. Gambaran Histopatologi Mukosa Sekum Ayam akibat Infeksi Berulang *E. tenella* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.

- Jangi S, Puay-Eng Soon and Kiew-Lian Wang. 2006. Pengenalpastian Protein Membran Putatif dalam Sporozoit *Eimeria tenella* melalui Penyaringan. Imuno. J. Parasitol Malaysian. 35(2): 23 - 28.
- Jenkins, M.C., P.C. Augustine, H.D. Danforth and J.R. Berta. 1991. X-Irradiation of *Eimeria tenella* Oocysts Provides Direct Evidence that Sporozoite Invasion and Early Schizont Development Induce a Protective Immune Response(s). Infect. Immun. 59 : 4042-4048.
- Jenkins, M.C., M.D. Castle and H.D. Danforth. 1991. Protective Immunization Against The Intestinal Parasite *Eimeria acervulina* with Recombinant Coccidial Antigen. Poult. Sci. 70(3): 539-547.
- Jensen, J.B. 1983. In vitro Cultivation of Protozoan Parasites. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 24-38.
- Juwandi. 2000. Patogenitas Infeksi Sporokista *E. tenella* Ditinjau dari Skor Perlukaan Sekum Ayam [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Kennedy, J.M. 2001. Coccidiosis in Chickens. College of Veterinary Medicine. University of Missouri. Columbia.
- Li, G.Q., S. Kanu, F.Y. Xiang, S.M. Xiao, L. Zhang, H.W. Chen and H.J. Ye. 2003. Isolation and Selection of Ionophore Tholerant *Eimeria* Precocious Lines : *Eimeria tenella*, *Eimeria maxima*, and *Eimeria acervulina*. Vet. Parasitol. 119 : 261-276.
- Lillehoj, H.S. 1998. Role of T Lymphocytes and Cytokines in Coccidiosis. Int. J. Parasitol. 28(7) : 1071-1081.
- Lillehoj, H.S. and E.P. Lillehoj. 2000. Avian Coccidiosis a Review of Acquired Intestinal Immunity and Vaccination Strategies. Avian Dis. 44 : 408-425.
- Lillehoj, H.S. and J.M. Trout. 1996. Avian Gut-Associated Lymphoid Tissues and Intestinal Immune Responses to *Eimeria* Parasites. Clin. Microbiol. Rev. 9(3) : 349-360.
- Long, P.L. 1990. Coccidiosis of Man and Domestic Animals. CRC Press, Boca Rattan, Ann Arbor, Boston, USA. 356 pp.

- McDougald, L.R. 2003. Coccidiosis. In : Saif, Y.M., Barnes, H.J., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R. Swayne D.E. (Eds), Poultry Diseases. Iowa State Press, Iowa. pp : 947-991.
- McDougald, L.R. and S.H. Fitz-Coy. 2008. Coccidiosis. In: Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K. and Swayne, D.E.(Eds.), Disease of Poultry, 12th ed. Iowa State, Blackwell Publishing, USA.
- Meeusen, E.N., J. Walker, A. Peters, P.P. Pastoret, and G. Jungersen. 2007. Current Status of Veterinary Vaccine. Clin. Microbiol. Rev. 20(3): 489-510.
- Patra, G., M.A. Ali, K.V. Chanu, L. Jonathan, L.K. Joy, M. Prava, R. Ravindran, G. Das and L.I. Devi. 2010. PCR Based Diagnosis of *Eimeria tenella* Infection in Broiler Chicken. Int. J. Poult. Sci. 9(8): 813-818.
- Rohayati, E.S., D. Rahmawati, A. Sahara dan B. Sutrisno. 2011. Pengaruh Temperatur terhadap Patogenesitas Oosista *Eimeria tenella* pada Ayam Pedaging. J. Sain Vet. 29(1): 30-36.
- Setyawati, S.J.A. dan E. Yuwono. 2006. Upaya Peningkatan Kekebalan Broiler terhadap Penyakit Koksidiosis Melalui Infeksi Simultan Ookista. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- Shirley, M.W. 1993. Control of Coccidiosis with Live Vaccine. World Poultry . p. 24-27.
- Shirley, M.W. and P. Bedrnik. 1997. Live Attenuated Vaccines Against Avian Coccidiosis: Success with Precocious and Egg-Adapted Lines of *Eimeria*. Parasitology Today, 13, 481-484.
- Shirley, M.W., A.L. Smith and D.P. Blake. 2007. Challenges in The Successful Control of Avian *Coccidia*. Vaccine 25(30): 5540-5547.
- Shirley, M.W., A.L. Smith and F.M. Tomley. 2005. The Biology of Avian *Eimeria* with an Emphasis Their Control by Vaccination. Adv. Parasitol. 60: 285-330.
- Soekardono, S. 1995. Terjemahan Parasitologi Veteriner. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 180-198.

- Soulsby, E.J.L. 1986. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7<sup>th</sup> ed. Bailliere Tindall.
- Sumartono, 2001. Produksi Antigen Rekombinan DNA *Eimeria tenella* sebagai Vaksin Pemberantasan Koksidiosis pada Ayam. Litbang Pertanian. p. 385.
- Suprihati, E., Mufasirin dan R.N. Wahyuti. 2000. Kajian Histopatologis pada Sekum Anak Ayam Akibat Pemberian Sporokista *Eimeria tenella*. <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/Endang.pdf>. [24 Desember 2012].
- Tabbu, C.R. 2002. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Edisi 2. Kanisius. Yogyakarta. 2-22.
- Tampubolon, M.P. 1996. Protozoologi. Bogor : Pusat Studi Ilmu Hayati IPB. 154-161.
- Todar, K. 2007. A Text Book of Immunology. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison. Wisconsin.
- Wibowo, M.Y. 2011. Serial Pasase Precocious Lines sebagai Upaya Atenuasi Patogenitas *Eimeria tenella* Terhadap Produksi Ookista dan Periode Prepaten (Abstr). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Williams, R.B. 1992. The Development, Efficacy and Epidemiological Aspects of Paracox, a New Coccidiosis Vaccine for Chickens. Harefield, UK: Pitman-Moore Europe. pp. 1-16.
- Williams, R.B. 1994. Safety of The Attenuated Anticoccidial Vaccine Paracox in Broiler Chickens Isolated from Extraneous Coccidial Infection. Vet. Res. Commun. 18(3) : 189-198.
- Yun, C.H., H.S. Lillehoj, and E.P. Lillehoj. 2000. Intestinal Immune Response to Coccidiosis. Complex Immune 24 : 303-32.



# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Bahan kimia yang digunakan**

## ➤ Larutan gula jenuh

Bahan	:	Gula pasir	128 gram
		Air	100 ml

➤ Larutan Rodalon *Prydam veteriner - Germany*

Bahan	:	Rodalon	5 ml
		Air	10 liter

➤ Larutan Kalium Bikromat *Riedel-de Haën – Germany 2,5%*

## ➤ Formalin 10%

## ➤ Alkohol 70%

## ➤ Alkohol 80%

## ➤ Alkohol 90%

## ➤ Alkohol 96%

## ➤ Xylol

## ➤ Parafin

## ➤ Canada balsam

## Lampiran 2. Prosedur metode apung

Feses yang telah ditimbang, kemudian diencerkan dengan air dengan perbandingan 1 : 10 (1 gram feses dengan 10 ml air). Suspensi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse, masing-masing tabung diisi  $\pm$  12 ml dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuse akan terbentuk endapan pada dasar atau tepi tabung sentrifuse. Buang supernatan, lalu tambahkan air seperti volume awal. Homogenkan isi tabung kemudian sentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Buang supernatan. Lakukan berulang-ulang hingga supernatan jernih. Setelah supernatan jernih, buang supernatan kemudian tambahkan larutan gula jenuh hingga 10 ml. Homogenkan lalu sentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Ambil cairan berwarna keruh pada bagian atas  $\pm$  3 ml, masukkan ke tabung sentrifuse baru lalu tambahkan *aquadest* hingga 10 ml. Sentrifuse kembali dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Ookista *E. tenella* dapat dilihat pada tabung sentrifuse berupa bentukan berwarna putih yang menempel pada dasar atau tepi tabung. Buang supernatan dan sisakan 3 ml lalu masukkan ke cawan petri yang telah diisi dengan Kalium bikromat 2,5%.

### Lampiran 3. Pembuatan preparat histopatologi

Setelah ayam dikorbankan, sekum dipotong pada 1/3 bagian proximal dan diambil dengan ukuran 2 cm. Kemudian sekum difiksasi pada kertas. Sisa feses yang masih terdapat pada sekum dibersihkan menggunakan formalin 10% dengan cara dicelup-celupkan. Sekum yang telah bersih disimpan dalam pot salep yang berisi formalin 10% sebanyak 50 ml.

Setelah proses koleksi, selanjutnya sekum akan dibuat menjadi preparat histopatologi. Sekum diambil 0,5 cm dan diletakkan dalam *tissue cassette* kemudian didehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 85%, 90%, 96%) lalu dijernihkan dengan *xylol* sebanyak 3 kali dan dilakukan *embedding* dalam parafin. Blok parafin dipotong 3  $\mu$ m dengan mikrotom, sayatan dimasukkan dalam *water bath* (40-50°C) dan diletakkan di atas gelas objek. Untuk merekatkan organ pada gelas objek dan melelehkan parafin, gelas objek diletakkan pada *hot plat* (50-60°C) selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan deparafinisasi dengan *xylol*, rehidrasi dengan alkohol, pembilasan preparat dengan air dan diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin/HE sesuai metode Harris.

Lampiran 4. Hasil pengamatan skor hemoragi

Perlakuan	Kontrol/Ulangan	Lapang Pandang					Rerata
		1	2	3	4	5	
P0	Kontrol	5%	5%	5%	0%	0%	3%
	1	15%	10%	5%	15%	10%	11%
	2	5%	10%	15%	20%	15%	13%
	3	20%	20%	10%	20%	20%	18%
	4	20%	20%	20%	15%	20%	19%
	5	10%	5%	10%	10%	10%	9%
Rerata ulangan							14%
P1	Kontrol	10%	10%	5%	10%	25%	12%
	1	10%	0%	0%	0%	0%	2%
	2	10%	10%	5%	10%	10%	9%
	3	10%	10%	10%	10%	10%	10%
	4	5%	10%	5%	15%	10%	9%
	5	10%	10%	15%	5%	10%	10%
Rerata ulangan							8%
P2	Kontrol	10%	5%	10%	15%	0%	8%
	1	10%	5%	0%	5%	5%	5%
	2	10%	5%	0%	0%	0%	3%
	3	5%	5%	10%	5%	5%	6%
	4	5%	10%	5%	5%	5%	6%
	5	10%	5%	5%	5%	5%	6%
Rerata ulangan							5,2%
P3	Kontrol	10%	20%	10%	10%	5%	11%
	1	0%	0%	2%	0%	0%	0,4%
	2	0%	0%	0%	0%	5%	1%
	3	0%	0%	0%	5%	0%	1%
	4	0%	5%	3%	0%	2%	2%
	5	5%	2%	5%	5%	5%	4%
Rerata ulangan							1,68%

**Keterangan :**

- P0 : diinfeksi *parent lines E. tenella*  
P1 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P0  
P2 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P1  
P3 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P2  
Kontrol : diinfeksi *parent lines E. tenella*

**Lampiran 5. Analisis data skor hemoragi****Kruskal-Wallis Test**

Ranks			
	PERLA KUAN	N	Mean Rank
Hemoragi	P0	5	17.40
	P1	5	12.30
	P2	5	8.80
	P3	5	3.50
	Total	20	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Hemoragi
Chi-Square	14.800
Df	3
Asymp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

PERLAKUAN

**Mann-Whitney Test**

		Ranks		
PERLA KUAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi	P0	5	7.40	37.00
	P1	5	3.60	18.00
Total		10		

Test Statistics <sup>b</sup>		Hemoragi
Mann-Whitney U		3.000
Wilcoxon W		18.000
Z		-2.015
Asymp. Sig. (2-tailed)		.044
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.056 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

		Ranks		
PERLA KUAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi	P0	5	8.00	40.00
	P2	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics <sup>b</sup>		Hemoragi
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		15.000
Z		-2.643
Asymp. Sig. (2-tailed)		.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi P0	5	8.00	40.00
P3	5	3.00	15.00
Total	10		

	Hemoragi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi P1	5	7.00	35.00
P2	5	4.00	20.00
Total	10		

	Hemoragi
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.596
Asymp. Sig. (2-tailed)	.110
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN



**Ranks**

PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi P1	5	7.70	38.50
P3	5	3.30	16.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Hemoragi
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.326
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

**Ranks**

PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hemoragi P2	5	7.80	39.00
P3	5	3.20	16.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Hemoragi
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.440
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Lampiran 6. Hasil pengamatan skor erosi epitel sekum

Perlakuan	Kontrol/Ulangan	Lapang Pandang					Rerata
		1	2	3	4	5	
P0	Kontrol	20%	30%	20%	15%	10%	19%
	1	25%	30%	20%	10%	10%	19%
	2	20%	30%	10%	30%	25%	23%
	3	15%	20%	30%	20%	15%	20%
	4	20%	20%	25%	20%	30%	23%
	5	30%	10%	10%	15%	25%	18%
Rerata ulangan							21%
P1	Kontrol	50%	50%	25%	30%	10%	33%
	1	10%	10%	5%	10%	15%	10%
	2	15%	20%	15%	15%	20%	17%
	3	20%	20%	20%	15%	15%	18%
	4	15%	15%	30%	10%	20%	18%
	5	20%	20%	20%	15%	20%	19%
Rerata ulangan							16%
P2	Kontrol	10%	20%	25%	10%	20%	17%
	1	10%	15%	15%	15%	15%	14%
	2	15%	10%	15%	10%	15%	13%
	3	10%	15%	15%	15%	10%	13%
	4	10%	20%	10%	15%	15%	14%
	5	20%	10%	10%	20%	10%	14%
Rerata ulangan							14%
P3	Kontrol	30%	75%	50%	75%	75%	61%
	1	10%	5%	10%	10%	5%	8%
	2	5%	10%	5%	10%	15%	9%
	3	5%	10%	15%	15%	5%	10%
	4	15%	15%	15%	5%	3%	11%
	5	20%	10%	15%	15%	10%	14%
Rerata ulangan							10%

**Keterangan :**

- P0 : diinfeksi *parent lines E. tenella*  
P1 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P0  
P2 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P1  
P3 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P2  
Kontrol : diinfeksi *parent lines E. tenella*

### Lampiran 7. Analisis data skor erosi epitel sekum

#### Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	PERLA KUAN	N	Mean Rank
Erosi_Epitel_Sekum	P0	5	17.50
	P1	5	12.00
	P2	5	8.30
	P3	5	4.20
	Total	20	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Erosi_Epitel_Sekum
Chi-Square	13.871
Df	3
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

PERLAKUAN

**Mann-Whitney Test**

		Ranks		
PERLA KUAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P0	5	7.50	37.50
	P1	5	3.50	17.50
	Total	10		

Test Statistics <sup>b</sup>		Erosi_Epitel_Sekum
Mann-Whitney U		2.500
Wilcoxon W		17.500
Z		-2.128
Asymp. Sig. (2-tailed)		.033
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.032 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

		Ranks		
PERLA KUAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P0	5	8.00	40.00
	P2	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics <sup>b</sup>		Erosi_Epitel_Sekum
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		15.000
Z		-2.660
Asymp. Sig. (2-tailed)		.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Ranks

	PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P0	5	8.00	40.00
	P3	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Erosi_Epitel_Sek um
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Ranks

	PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P1	5	7.00	35.00
	P2	5	4.00	20.00
	Total	10		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Erosi_Epitel_Sek um
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.596
Asymp. Sig. (2-tailed)	.110
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Ranks

	PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P1	5	7.50	37.50
	P3	5	3.50	17.50
	Total	10		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Erosi_Epitel_Sek um
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.102
Asymp. Sig. (2-tailed)	.036
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Ranks

	PERLA KUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Erosi_Epitel_Sekum	P2	5	7.30	36.50
	P3	5	3.70	18.50
	Total	10		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Erosi_Epitel_Sek um
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	18.500
Z	-1.946
Asymp. Sig. (2-tailed)	.052
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Lampiran 8. Hasil pengamatan jumlah skizon

Perlakuan	Kontrol/Ulangan	Lapang Pandang					Rerata
		1	2	3	4	5	
P0	Kontrol	2	1	2	1	1	1,40
	1	2	1	3	2	4	2,40
	2	3	4	2	2	2	2,60
	3	3	2	4	2	2	2,60
	4	4	2	4	2	3	3,00
	5	1	3	2	2	2	2,00
Rerata ulangan							2,52
P1	Kontrol	2	2	3	3	2	2,40
	1	2	1	1	1	3	1,60
	2	3	3	3	0	1	2,00
	3	3	2	2	2	2	2,20
	4	2	2	1	2	3	2,00
	5	2	2	2	3	2	2,20
Rerata ulangan							2,00
P2	Kontrol	2	2	2	2	3	2,20
	1	2	2	1	1	1	1,40
	2	2	0	0	2	3	1,40
	3	2	2	0	2	2	1,60
	4	2	2	1	1	1	1,40
	5	2	2	2	1	1	1,60
Rerata ulangan							1,48
P3	Kontrol	2	2	2	2	3	2,20
	1	0	2	0	0	1	0,60
	2	1	2	0	1	0	0,80
	3	0	2	0	2	0	0,80
	4	1	1	1	0	1	0,80
	5	2	0	1	2	0	1,00
Rerata ulangan							1,00

**Keterangan :**

- P0 : diinfeksi *parent lines E. tenella*  
P1 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P0  
P2 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P1  
P3 : diinfeksi *precocious lines E. tenella* dari P2  
Kontrol : diinfeksi *parent lines E. tenella*

**Lampiran 9. Analisis data jumlah skizon**

**ANOVA**

Jumlah_Skizon	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.104	3	2.701	48.238	.000
Within Groups	.896	16	.056		
Total	9.000	19			

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Jumlah\_Skizon

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PERLA KUAN	PERLA P1	.52000*	.14967	.015	.0918	.9482
	PERLA P2	1.04000*	.14967	.000	.6118	1.4682
	PERLA P3	1.72000*	.14967	.000	1.2918	2.1482
P1	P0	-.52000*	.14967	.015	-.9482	-.0918
	P2	.52000*	.14967	.015	.0918	.9482
	P3	1.20000*	.14967	.000	.7718	1.6282
P2	P0	-1.04000*	.14967	.000	-1.4682	-.6118
	P1	-.52000*	.14967	.015	-.9482	-.0918
	P3	.68000*	.14967	.002	.2518	1.1082
P3	P0	-1.72000*	.14967	.000	-2.1482	-1.2918
	P1	-1.20000*	.14967	.000	-1.6282	-.7718
	P2	-.68000*	.14967	.002	-1.1082	-.2518

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



## Homogeneous Subsets

### Jumlah\_Skizon

Tukey HSD

PERLA KUAN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	5	.8000			
P2	5		1.4800		
P1	5			2.0000	
P0	5				2.5200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

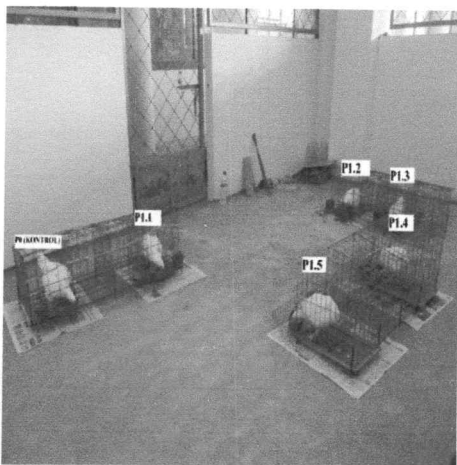
Lampiran 10. Dokumentasi kegiatan



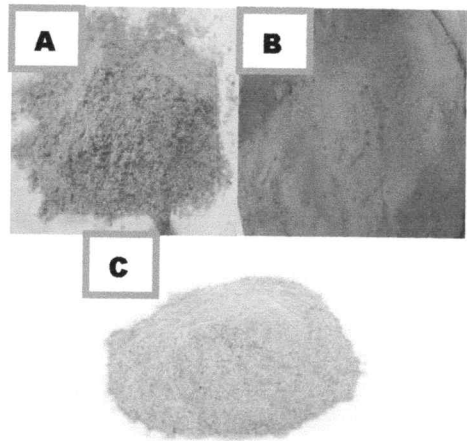
Gambar 1. Desinfektan



Gambar 2. Isolat *E. tenella* dan *Universal Whitlock McMaster chamber* yang telah dimodifikasi



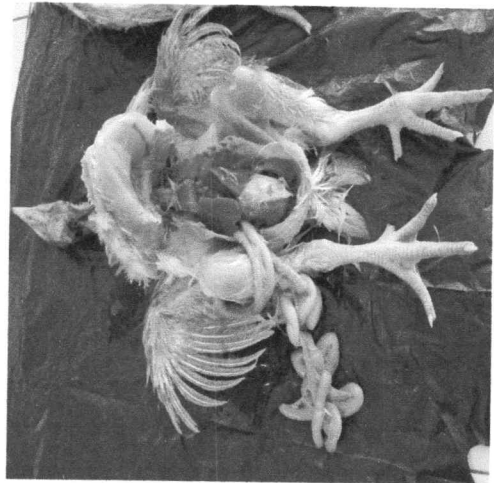
Gambar 3. Ayam jantan *strain CP 707* sebagai hewan coba



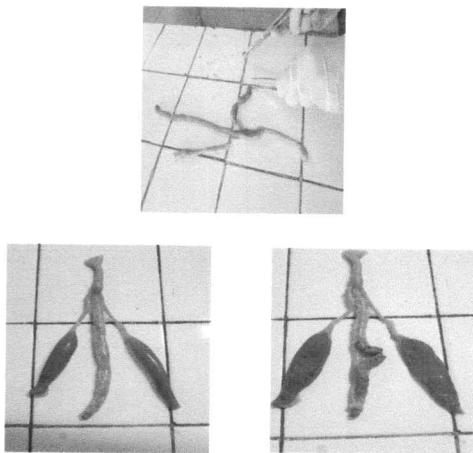
Gambar 4. A) Konsentrat, B) dedak padi, C) dedak jagung sebagai pakan ayam



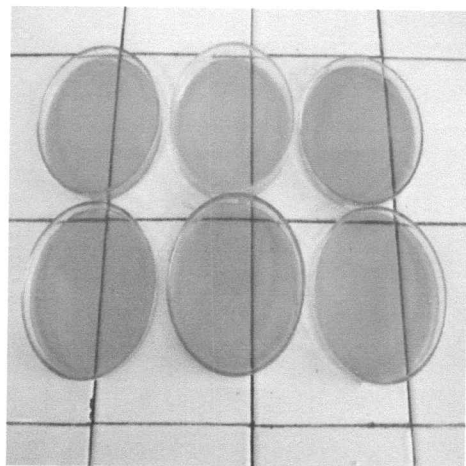
**Gambar 5.** Menginfeksi ayam dengan *E. tenella*



**Gambar 6.** Nekropsi ayam



**Gambar 7.** Koleksi sekum



**Gambar 8.** Mensporulasikan *E. tenella*