

FK

TKD 13/03

Yun

P

TESIS

PENGARUH BERBAGAI DOSIS INFEKSI SPOROKISTA *Eimeria tenella* TERHADAP GAMBARAN SEKUM, LEKOSIT DAN PRODUKSI OOKISTA PADA AYAM PEDAGING

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

MUCHAMMAD YUNUS

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

TESIS

**PENGARUH BERBAGAI DOSIS INFEKSI SPOROKISTA
Eimeria tenella TERHADAP GAMBARAN SEKUM, LEKOSIT
DAN PRODUKSI OOKISTA PADA AYAM PEDAGING**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



MUCHAMMAD YUNUS

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2001

**PENGARUH BERBAGAI DOSIS INFEKSI SPOROKISTA
Eimeria tenella TERHADAP GAMBARAN SEKUM, LEKOSIT
DAN PRODUKSI OOKISTA PADA AYAM PEDAGING**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

MUCHAMMAD YUNUS

NIM 099813028 / M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Tanggal 20 Juni 2001

Lembar pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 20 JUNI 2001

Oleh

Pembimbing Ketua



Nunuk Dyah Retno Lastuti, MS., drh
NIP. 130 687 546

Pembimbing



Prof. Dr. Sri Subekti, DEA., drh
NIP. 130 687 296

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Soelito, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 678 606

Telah diuji pada
Tanggal 20 Juni 2001
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Nunuk Dyah Retno Lastuti, MS., drh
Anggota : 1. Prof. Dr. Sri Subekti, DEA., drh
2. Prof. Dr. Sarmanu, MS., drh
3. Dr. Setiawan Koedarto, MSc., drh
4. Endang Suprihati, MS., drh



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas terselesaikannya penelitian dan penulisan tesis ini. Penulis menyadari bahwa banyak pihak telah membantu baik selama penelitian maupun penulisan tesis. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Nunuk Dyah Retno Lastuti, MS, drh, sebagai pembimbing ketua dalam penulisan tesis.
2. Prof. Dr. Sri Subekti, DEA, drh, sebagai pembimbing pendamping.
3. Prof. Dr. H. Sarmanu, MS., drh., Dr. H. Setiawan Koesdarto, MSc., drh dan Endang Suprihati, MS., drh. selaku dosen penguji.
4. Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui Tim Managemen Program Magister yang telah memberikan beasiswa TMPD selama penulis mengikuti pendidikan pada Program Pasca Sarjana.
5. Direktur Program Pasca Sarjana dan Pengelola Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk mengikuti program ini.
6. Kepala laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada beserta asisten yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian di laboratorium.
7. Sejawat Mufasirin, MSi., drh. yang telah banyak membantu dalam kelancaran penelitian.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan material dan spiritual.

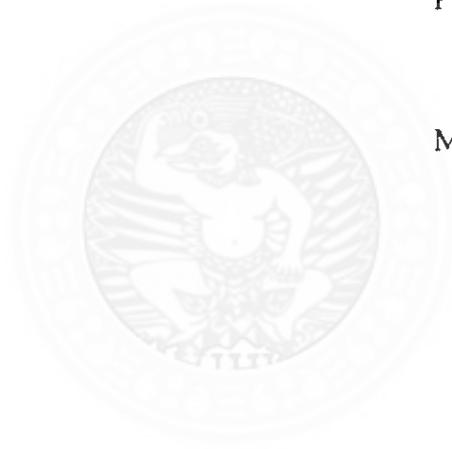
Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tesis ini jauh dari kesempurnaan, sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk perbaikan dan penyempurnaan tesis ini.

Semoga tesis ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, khususnya bidang parasitologi dan masyarakat umumnya yang membutuhkan informasi penyakit koksidiosis sekum.

Surabaya, 20 Juni 2001

Penulis

Muchammad Yunus



RINGKASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai dosis infeksi sporokista *Eimeria tenella* terhadap gambaran patologis sekum, lekosit dan produksi ookista pada ayam pedaging.

Sebanyak 80 ekor ayam umur 1 minggu dibagi dalam 5 perlakuan 0 (K(-)) dan 5000 (K(+)) ookista, 1000 sporokista (P1), 2000 sporokista (P2), 4000 sporokista (P3)) dan masing-masing perlakuan terdiri atas 16 ulangan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Prosedur penelitian meliputi isolasi dan identifikasi *Eimeria tenella*, perbanyakkan *Eimeria tenella*, isolasi ookista dengan metode pengapungan, pemecahan ookista dengan *glass beads*, persiapan hewan percobaan, infeksi sporokista pada ayam, pemeriksaan hasil penelitian dan analisis data. Variabel yang diamati adalah gambaran patologis sekum yang meliputi nilai perlukaan dan histopatologis sekum, gambaran lekosit meliputi jumlah lekosit dan *differential leukocytes*, produksi ookista. Untuk gambaran patologis sekum dan lekosit diperiksa pada hari kelima setelah diinfeksi dengan sporokista dan ookista dan produksi ookista dihitung tujuh hari setelah infeksi. Data jumlah lekosit, *differential leukocytes* dan produksi ookista yang diperoleh ditabulasikan kemudian dianalisis dengan uji F (Anava). Bila uji F bermakna dilanjutkan dengan uji Tukey-HSD. Untuk gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum digunakan uji Kruskal Wallis One-Way Anava. Bila hasil uji Kruskal Wallis One-Way Anava bermakna, dilanjutkan dengan uji Mann Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat bermakna antara ayam yang diinfeksi dengan ookista dan yang diinfeksi sporokista dalam nilai perlukaan ($p < 0,0001$) dan histopatologis sekum ($p < 0,0000$). Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara ayam yang diinfeksi dengan ookista dan yang diinfeksi sporokista dalam jumlah lekositnya tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna dalam penghitungan *differential leukocytes* ($p > 0,05$), kecuali monosit yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan yang bermakna antara ayam yang diinfeksi dengan ookista dan sporokista dalam produksi ookista ($p < 0,000$).

Dalam penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh sangat nyata terhadap gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum dan produksi ookista, berpengaruh nyata pada jumlah lekosit, sebaliknya

tidak berpengaruh nyata pada *differential leukocytes*, tetapi berpengaruh nyata pada monosit.



ABSTRACT

The purpose of this research is to know the effect of various of infection doses sporocyst of *Eimeria tenella* to the histopathological and pathological anatomy descriptions of caecum, leukocytes, differentiate leukocytes and oocyst production on broiler.

Eighty of one week old chick were divided into 5 treatments and each treatment consisted 16 replications. The Complete Random research design was used in this experiment. Procedur of research was consisted isolation and identification of *Eimeria tenella*, multiply of *Eimeria tenella*, isolation of oocyst by using the floatation method, cleavage of oocyst by using glass beads, preparation of experiment chick, sporocyst infection on chick, observation of the result and data analysis. Observation of experiment were histopathological and pathological anatomy descriptions of caecum, leukocytes, differential leukocytes and oocyst production. The number of leukocytes and oocyst production were analysed by analysis of variant and if they were differences Tukey-HSD continuously. The lesion scores used Kruskal Wallis One-Way Anova for lasting Mann Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W . In the present study, we used a complete random design for macroscopic and microscopic analysis on caecum description, leukocytes counting, and oocyst production.

No significantly affect sporocyst of *Eimeria tenella* infected chicken doses 1000, 2000 and 4000 on leukocytes differentiation counting, monocyte exception. Based on our finding, we suggest that there were some significantly affects sporocyst of *Eimeria tenella* infected chicken doses 1000, 2000 and 4000 on lesion scores, histopathological description of caecum, leukocytes counting and oocyst production.

Key words : *sporocyst, leukocyte, histopathological, pathological*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	vii
Abstrak	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritik	5
1.4.2 Manfaat Metodologik	5
1.4.3 Manfaat Aplikatif	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Morfologi dan Siklus Hidup <i>Eimeria tenella</i>	6
2.2 Patogenesis dan Gejala Klinis Koksidiosis	8
2.3 Imunitas Koksidiosis Sekum	11
2.4 Pengendalian Koksidiosis	14
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	17
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB 4 METODE PENELITIAN	19
4.1 Rancangan Penelitian	19
4.2 Sampel dan Besar Sampel	20
4.3 Variabel Penelitian	20
4.4 Bahan Penelitian	20
4.5 Alat-alat Penelitian	21
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	21
4.7 Prosedur Penelitian	21
4.7.1 Isolasi dan Identifikasi <i>Eimeria tenella</i>	23
4.7.2 Perbanyakan <i>Eimeria tenella</i>	23
4.7.3 Isolasi Ookista dengan Metode Pengapungan	24
4.7.4 Pemecahan Ookista dengan <i>Glass Beads</i>	24

4.7.5 Persiapan Hewan Percobaan	25
4.7.6 Infeksi Sporokista pada Ayam	25
4.7.7 Pemeriksaan Hasil Penelitian	25
4.7.8 Analisis Data	26
BAB 5 HASIL PENELITIAN	27
5.1 Nilai Perlukaan Sekum	27
5.2 Gambaran Histopatologis Sekum	28
5.3 Jumlah Lekosit	30
5.4 Jumlah Limfosit, Netrofil, Eosinofil dan Monosit (<i>differential leukocytes</i>)	31
5.5 Produksi Ookista	32
BAB 6 PEMBAHASAN	33
6.1 Nilai Perlukaan Sekum	33
6.2 Gambaran Histopatologis Sekum	34
6.3 Jumlah Lekosit	37
6.4 Jumlah Limfosit, Netrofil, Eosinofil dan Monosit (<i>differential leukocytes</i>)	39
6.5 Produksi Ookista	42
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	45
7.1 Kesimpulan	45
7.2 Saran	45
DARTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Tabulasi rancangan percobaan	19
Tabel 5.2 Hasil pemeriksaan nilai perlukaan sekum pada masing-masing perlakuan	27
Tabel 5.3 Hasil rata-rata dan simpangan baku jumlah lekosit pada masing-masing perlakuan	30
Tabel 5.4 Hasil rata-rata persentase jumlah limfosit, netrofil, eosinofil dan monosit pada masing-masing perlakuan	31
Tabel 5.5 Hasil rata-rata jumlah produksi ookista tujuh hari setelah infeksi pada masing-masing perlakuan	32



DAFTAR GAMBAR

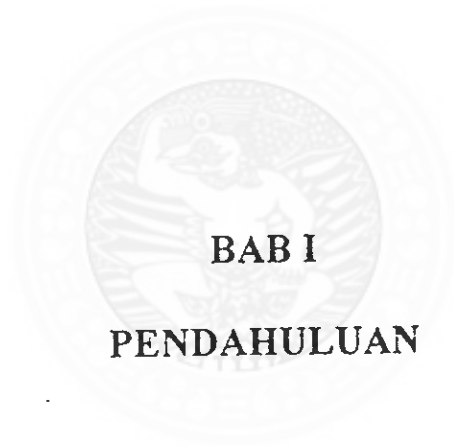
	Halaman
Gambar 2.1 Struktur ookista bersporulasi	7
Gambar 4.2 Skema prosedur penelitian	22
Gambar 5.3 Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan ookista <i>Eimeria tenella</i> dosis 5000 (K(+))	28
Gambar 5.4 Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan sporokista <i>Eimeria tenella</i> dosis 1000 (P1)	29
Gambar 5.5 Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan sporokista <i>Eimeria tenella</i> dosis 2000 (P2)	29
Gambar 5.6 Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan sporokista <i>Eimeria tenella</i> dosis 4000 (P3)	30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Daftar variabel <i>differential leukocytes</i>	51
Deskripsi subpopulasi <i>differential leukocytes</i>	53
Anava dan uji Tukey-HSD <i>differential leukocytes</i>	55
Deskripsi subpopulasi, anava dan uji Tukey-HSD produksi ookista tujuh hari setelah infeksi	60
Deskripsi subpopulasi, uji Kruskal-Wallis I-Way anava dan Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W gambaran patologi anatomi sekum lima hari setelah infeksi	62
Deskripsi subpopulasi uji Kruskal-Wallis I-Way anava dan Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W gambaran histopatologis sekum lima hari setelah infeksi	65





BABI
PENDAHULUAN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1 Latar Belakang

Koksidiosis adalah penyakit yang disebabkan protozoa genus *Eimeria* dan spesies *Eimeria tenella* merupakan salah satu penyebab koksidiosis sekum pada ayam. Spesies ini termasuk jenis yang paling patogen. Organisme tersebut menyebabkan perdarahan sekum ayam yang hebat, sehingga infeksi pada ayam muda dapat mengakibatkan kematian sampai seratus persen, sedang pada ayam dewasa dapat mengakibatkan penurunan berat badan, produksi telur dan efisiensi pakan. Laporan terakhir menyebutkan bahwa di Amerika Serikat kasus koksidiosis telah menimbulkan kerugian sebesar 100 juta US\$ per tahun dan pada peternakan unggas telah mengeluarkan biaya sebesar 50 sampai 65 juta US\$ per tahun untuk pembelian koksidostat (Anonim, 1996). Gordon (1997) menyatakan bahwa kematian ayam akibat koksidiosis dapat mencapai 5-10% pada suatu peternakan dan dapat menyebabkan kerugian ekonomi 50-100 juta Poundsterling di seluruh dunia. Di Indonesia angka kerugian akibat koksidiosis sekum pada ayam mencapai 25 miliar per tahun (Anonim, 1996).

Suatu gambaran yang menunjukkan betapa besar kerugian yang ditimbulkan akibat koksidiosis. Peternakan yang tidak memperhatikan sanitasi kandang hampir dipastikan tidak akan terhindar dari koksidiosis. Penyakit ini sering terjadi di Indonesia, dimana secara umum pola peternakan ayam di Indonesia masih bersifat tradisional. Koksidiosis sering menyerang ayam umur dua minggu sehingga

diperlukan pengendalian terhadap penyakit tersebut yang dapat dilakukan pada ayam dibawah umur dua minggu.

Usaha pengendalian terhadap koksidiosis yang selama ini diusahakan antara lain melalui peningkatan sistem sanitasi kandang dan pemberian koksidiostat baik melalui pakan maupun minum. Pemberian koksidiostat tidak banyak membantu, apa bila infeksi berat, dan ayam masih dapat terinfeksi lagi pada saat yang lain, bahkan pemakaian koksidiostat yang terus menerus dapat menimbulkan galur *Eimeria* yang resisten.

Bagaimanapun juga, perkembangan meningkatnya resistensi obat anti koksidia telah merangsang untuk mencari metode pengendalian secara biologis dengan cara vaksinasi. Vaksinasi untuk pencegahan koksidiosis sangat penting mengingat pengendalian melalui pemberian koksidiostat kurang efektif serta dampak negatif yang ditimbulkan. Beberapa vaksin yang pernah dicoba adalah vaksin bentuk ookista utuh yang dilemahkan (Shirley dkk., 1995; Shirley, 1996). Penggunaan bentuk vaksin ini hanya dapat digunakan pada ayam umur lebih dari dua minggu, karena ayam umur dibawah dua minggu belum mampu mencerna ookista.

Stotish dkk., (1978) yang disitasi dari Ryley (1986) menyatakan bahwa ookista sangat tahan terhadap pH yang terlalu tinggi atau sebaliknya, deterjen dan pengaruh enzim baik proteolitik, glikolitik, lipolitik dan kerusakan mekanik serta zat-zat lain seperti sodium hipoklorit dan sodium bikromat. Kenyataan di lapangan menunjukkan alternatif bahan untuk membuat vaksin adalah stadium sporokista dari *Eimeria tenella*. Penelitian yang telah dilakukan Suprihati dkk., (2000) menunjukkan bahwa infeksi dengan sporokista ini dapat memberikan kelainan histopatologis pada sekum

ayam. Berdasarkan hasil penelitian tersebut bahwa dosis sporokista 4000 dan 20.000 memberikan gambaran histopatologis berupa degenerasi sel epitel sekum, nekrose sel, peradangan, adanya parasit yang dikelilingi oleh sel-sel radang, dan kedua dosis tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna tetapi masih merupakan dosis yang tidak aman bila digunakan sebagai pengebalan ayam dari infeksi koksidiosis dari alam.

Pemilihan bentuk sporokista ini mempunyai keuntungan dimana dinding stadium tersebut dapat dipecah oleh pencernaan ayam umur satu minggu, sehingga pada saat ayam umur dua minggu (ayam sudah peka), diperkirakan ayam sudah mendapat kekebalan terhadap koksidiosis. Salah satu faktor yang dapat digunakan sebagai indikator bahwa seekor ayam memperoleh kekebalan adalah dengan melihat gambaran lekosit dan *differential leukocytes* pada ulasan darah. Bumstead *et al* (1998) dalam penelitiannya menemukan bahwa limfosit darah perifer dari darah ayam yang telah terinfeksi koksidiosis dapat menghambat perkembangan sporozoit *E. tenella* secara intraseluler dalam sel culture *Madin-Darby Bovine Kidney* (MDBK). Beberapa peneliti lain menggunakan produksi ookista sebagai variabel untuk melihat kekebalan ayam terhadap infeksi *E. tenella*. Produksi ookista yang dihasilkan oleh infeksi koksidiosis sekum pada ayam secara umum menggambarkan keganasan atau virulensi spesies dari *E. tenella* atau status kekebalan ayam itu sendiri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, rumusan masalah yang diajukan adalah:

1. Apakah pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 dapat mempengaruhi gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum pada ayam pedaging.
2. Apakah pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 dapat mempengaruhi gambaran lekosit (jumlah lekosit dan *differential leukocytes*) pada ayam pedaging.
3. Apakah pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 dapat mempengaruhi produksi ookista pada ayam pedaging.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Umum :

Mencoba berbagai dosis sporokista untuk menguji efektifitasnya sebagai kandidat vaksin.

Khusus :

1. Mengetahui gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum ayam pedaging yang di infeksi 1000, 2000 dan 4000 sporokista *E. tenella*.
2. Mengetahui gambaran lekosit (jumlah lekosit dan *differential leukocytes*) ayam pedaging yang diinfeksi 1000, 2000 dan 4000 sporokista *Eimeria tenella*.
3. Mengetahui produksi ookista ayam pedaging yang diinfeksi 1000, 2000 dan 4000 sporokista *Eimeria tenella*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritik

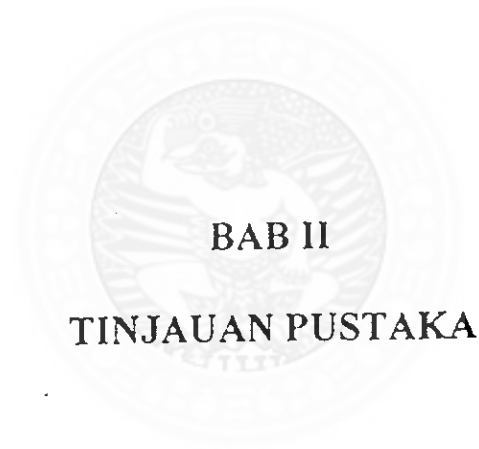
Sporokista merupakan protein asing yang diharapkan dapat memberikan manfaat terhadap potensi yang dimiliki melalui tingkatan dosis yang optimal dalam menimbulkan kekebalan pada induk semang.

1.4.2 Manfaat Metodologik

Sporokista yang didapat melalui proses pemecahan ookista dapat digunakan sebagai studi banding pada bahan infeksi lain.

1.4.3 Manfaat Aplikatif

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa stadium sporokista *Eimeria tenella* pada dosis tertentu dapat digunakan sebagai alternatif bahan imunogenik untuk vaksin koksidiosis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi dan Siklus Hidup *Eimeria tenella*

Koksidia adalah parasit intraseluler yang berkembang didalam saluran pencernaan induk semangnya. penyakit yang ditimbulkan disebut koksidiosis (Adam dkk., 1979). Menurut Hungerford (1969) koksidiosis pada ayam dibagi menjadi dua macam, yaitu koksidiosis sekum yang disebabkan *Eimeria tenella* dan koksidiosis usus halus disebabkan *Eimeria necatrix* dan spesies lainnya.

Eimeria diklasifikasikan ke dalam filum Apicomplexa, kelas Sporozoa, ordo Coccidia, famili Eimeriidae dan genus *Eimeria* (Soulsby, 1986). *Eimeria* yang menyerang ayam terdiri dari 9 spesies, yaitu: *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. mitis*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. hagani*, dan *E. mivati*, namun yang paling patogen dan menyebabkan diare berdarah adalah *E. tenella*. *Eimeria tenella* disebut juga *Eimeria avium*, *Eimeria bracket*, *Coccidium tenellum* dan *Coccidium globosum* (Levine, 1995).

Pembagian spesies koksidia tersebut didasarkan pada morfologi ookista, spesifitas induk semang, imunitas, lokasi lesi dan lama periode prepaten (Long, 1990). Bentuk ookista ovoid, berukuran 22,9 - 19,16 mikron atau panjang berkisar antara 14,2 - 31,2 mikron dan lebar 9,5 - 24,8 mikron dan struktur ookista *Eimeria tenella* menunjukkan adanya dinding ookista yang rangkap terdiri dari lapisan luar dan lapisan dalam. Ookista *Eimeria tenella* untuk bersporulasi memerlukan waktu 18 jam pada suhu 29°C, 21 jam pada suhu 26-28°C, 24 jam pada suhu 20-24 °C, 24-48 jam

pada suhu ruang dan tidak dapat bersporulasi di bawah 8°C (Soulsby, 1986). Ookista yang sudah berspora terdiri dari 4 sporokista, masing-masing sporokista berisi 2 sporozoit, tidak mempunyai mikrofil dan badan residu, tetapi mempunyai badan stieda. Sporozoit biasanya memanjang, salah satu ujungnya membulat dan yang lain meruncing seperti bentuk koma. Sporozoit berisi bulatan-bulatan kecil terang yang bersifat seperti protein.



Gambar 1. Struktur Ookista bersporulasi

Siklus hidup *Eimeria tenella* meliputi 3 tahap perkembangan yaitu sporogoni, skizogoni, dan gametogoni. Tahap sporogoni terjadi diluar tubuh induk semang, yaitu perkembangan ookista dari ookista yang tidak infeksi menjadi ookista yang infeksi (berspora). Ookista dapat berspora atau infeksi dengan sempurna dibutuhkan

kondisi lingkungan yang cukup oksigen, temperatur yang optimal dan derajat kelembaban yang sesuai.

Ookista yang berspora masuk kedalam tubuh induk semang melalui mulut (*oral*), kemudian ookista mengalami eksistasi karena aksi mekanik otot lambung dan aktivitas enzim pencernaan seperti getah pankreas dan garam empedu dan membebaskan sporokista, sporozoit-sporozoit yang ada didalam sporokista diaktifkan oleh empedu atau tripsin setelah sporokista-sporokista ini mencapai usus halus, sporozoit-sporozoit kemudian keluar dari sporokista. Oleh karena gerakan peristaltik usus, sporozoit sampai kedalam sekum dan menginfeksi sekum (Rose, 1979).

Sporozoit yang telah bebas menembus epitel sekum menuju tunika propria, sporozoit ditangkap oleh makrofag dan dibawa ke kelenjar Lieberkuhn. Sporozoit yang telah masuk ke epitel usus mengalami perkembangan secara skizogoni membentuk skizon, kemudian skizon pecah menghasilkan merozoit yang segera menyerang sel epitel baru. Selanjutnya proses ini berkembang kembali sampai stadium tiga .

Setelah proses skizogoni selesai dilanjutkan proses gametogoni yang dimulai dengan terbentuknya makrogamet dan mikrogamet yang kemudian mengadakan fertilisasi membentuk zigot. Zigot berkembang dan membentuk dinding yang disebut ookista, yang akan keluar bersama feses.

2.2 Patogenesis dan Gejala Klinis Koksidiosis

Eimeria tenella adalah koksidia yang sangat patogen terutama pada ayam yang berumur 4 minggu. Gejala klinis yang tampak tergantung dari kondisi tubuh induk

semang dan jumlah ookista yang menginfeksi, bila infeksi bersifat ringan, tidak tampak adanya gejala klinis, akan tetapi bila infeksi berat menyebabkan perdarahan yang berat sampai terjadi kematian pada hari kelima atau kedelapan (Flynn, 1973). Faktor lain yang penting dalam mempengaruhi jalannya penyakit adalah kelangsungan hidup dan ketahanan ookista diluar tubuh induk semang.

Ayam yang berumur 1-2 minggu lebih tahan karena pecahnya ookistanya berkurang disebabkan lemahnya gerakan lambung otot (*gizzard*) dan sistem pencernaan enzimatis belum bekerja secara maksimal, sehingga pemecahan dinding ookista kurang sempurna, sedangkan ayam yang berumur antara 2-4 minggu sudah mulai peka terhadap serangan koksidiosis (Ashadi, 1979).

Seddon (1966) membagi gejala klinis koksidiosis menjadi tiga stadium, yaitu keadaan akut, sub akut dan kronis yang masing-masing mempunyai ciri yang khas. Pada keadaan akut, hewan segera mengalami kematian setelah terjadi perdarahan encer berupa darah segar yang keluar dengan feses. Keadaan tersebut didahului oleh periode depresi yang sangat pendek dimana mukosa konjungtiva terlihat pucat.

Sub akut ditandai diare pada penderita yang berwarna kecoklatan dan disertai adanya bintik-bintik darah, kondisi hewan sangat lemah dan nafsu makan menurun. Apabila ayam terhindar dari kematian setelah melewati keadaan sub akut dan akut, maka akan terbentuk kekebalan dalam tubuhnya. Keadaan kronis ditandai dengan nafsu makan yang menurun, pertumbuhan terhambat dan anemia.

Levine (1985) menyatakan bahwa gejala penyakit yang berupa berak darah mulai tampak ketika skizon generasi kedua membesar dan mengeluarkan merozoit generasi kedua. Pecahnya skizon generasi kedua yang berukuran sangat besar

menyebabkan kerusakan sel-sel epitel sekum dan perdarahan yang meluas pada lumen sekum. Gambaran patologis yang terlihat pertama adalah adanya pembesaran sekum. Perubahan tersebut tampak pada hari ke tiga yaitu setelah terbentuknya skizon generasi pertama dan mulai terbentuknya skizon generasi kedua. Sedangkan tanda patologi anatomi yang mencolok yaitu adanya perdarahan sampai timbulnya perkejuan yang mengeras pada sekum (Reid, 1972).

Perubahan patologis pada sekum meningkat sejalan dengan perkembangan biakan *Eimeria* pada tahap akhir dari siklus aseksual. Levine (1985) menyatakan bahwa pada hari keempat pasca infeksi terjadi perdarahan pada selaput mukosa sekum. Secara histopatologis tunika propria terjadi infiltrasi eosinofil dan pembendungan (kongesti). Hal ini juga dikatakan oleh Ressayre (1984) bahwa gambaran patologis yang khas adalah pembengkakan kantong sekum dan berisi gumpalan darah yang kadang bercampur eksudat dengan disertai lesi-lesi pada mukosa usus, sedang histopatologisnya menunjukkan degenerasi epitel sekum yang mengandung parasit, oedema pada sub mukosa, infiltrasi eosinofil, limfosit, monosit dan plasma sel pada mukosa dan sub mukosa. Sedang pada lapisan muskularis terlihat nekrosis fokal di sekitar pembuluh darah.

Hari keempat sekum mengalami peradangan lebih dari 80 persen dan pembesaran tiga kali dari normal dan pada hari kelima sebagian besar mukosa dan lapisan muskularis mengalami kerusakan. Merozoit, darah dan jaringan yang rusak terlepas dalam lumen sekum. Volume sekum akan terus bertambah sampai hari keenam. Hari ketujuh setelah infeksi isi sekum bersifat fibrin dan bahan nekrosis

terbentuk. Mula-mula bahan ini melekat erat pada lapisan mukosa sekum, tetapi kemudian segera melepas dan terletak bebas di dalam lumen sekum (Soulsby, 1986).

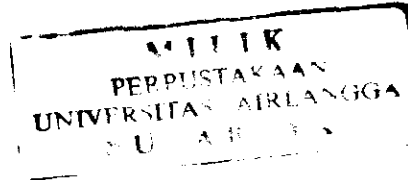
Selanjutnya hewan tampak lesu, nafsu makan menurun sampai hilang sama sekali, hewan tampak kurus, sayap terkulai, bulu kusut dan dikotori oleh darah terutama didaerah kloaka. Perdarahan yang paling berat terjadi pada hari kelima sampai tujuh pasca infeksi. Perdarahan tersebut dapat terjadi luar biasa, sehingga dapat menyebabkan kematian. Bila setelah hari kedelapan hewan masih hidup, maka selanjutnya akan memperoleh kesembuhan dan kekebalan (Long, 1980).

Dinding sekum menebal, sel-sel epitel rusak diikuti terlepasnya merozoit, darah dan jaringan yang rusak kedalam lumen sekum. Tingkat infeksi bervariasi tergantung keturunan, umur dan makanan dari ayam serta keganasan ookista yang diinfeksi (Reid dkk., 1984).

2.3 Imunitas Koksidiosis Sekum

Pertahanan tubuh manusia dan hewan terhadap suatu agen infeksi patogen terjadi dalam tiga fase, yaitu pengenalan (*recognition*), tanggapan (*response*) dan reaksi (*reaction*). Dalam fase pengenalan, komponen agen infeksi dikenal sebagai bahan asing, pada fase tanggapan, terjadi perubahan tertentu dalam sistem kekebalan, yang mana tubuh hewan atau manusia sanggup membunuh agen infeksi secara efektif, dan fase reaksi terjadi pertempuran yang aktual antara tubuh hewan dengan agen infeksi (Grange, 1982).

Dalam kaitannya dengan pertahanan tubuh hewan dikenal dua sistem kekebalan, yaitu sistem kekebalan non spesifik dan sistem kekebalan spesifik



(Antczak dkk., 1989). Sistem kekebalan non spesifik melindungi hewan terhadap serangan infeksi yang bersifat umum, sedangkan sistem kekebalan spesifik melindungi hewan dan manusia terhadap agen infeksi tertentu atau bersifat khusus, karena agen infeksi tersebut pernah kontak sebelumnya. Beberapa faktor yang sering mempengaruhi mekanisme tanggap kebal seperti faktor genetik, umur, lingkungan, anatomis, fisiologis dan mikrobial (Roitt, 1988).

Faktor genetik pada akhir-akhir ini dalam imunologi sering dikaitkan dengan MHC (*Major Histocompatibility Complex*), karena MHC ini sangat menentukan kesanggupan individu memberi tanggap kebal dan kesanggupan menampilkan antigen histokompatibilitas pada permukaan sel. Faktor umur dikaitkan dengan status hipofungsi tanggap kebal pada umur yang sangat muda dan umur yang sangat tua. Hal ini merupakan hasil dari perkembangan sistem kekebalan spesifik yang kurang sempurna dan defisiensi sistem kekebalan non spesifik.

Faktor metabolik, hormon tertentu mempunyai pengaruh terhadap tanggap kebal. Pada kasus hipoadrenal dan hipotiroid menunjukkan peningkatan kepekaan terhadap infeksi. Adanya hormon steroid dapat menghambat pengaruh fagositosis dan proses peradangan dan juga mempengaruhi kekebalan humoral dan kekebalan seluler.

Faktor lingkungan dan nutrisi, berpengaruh pada umur awal dan dihubungkan dengan kegagalan perkembangan tanggap kebal, khususnya kekebalan yang diperankan oleh sel (*cell mediated immunity*). Faktor anatomis, seperti diketahui bahwa kulit dan selaput lendir sebagai garis pertahanan non spesifik untuk mencegah masuknya agen infeksi patogen kedalam tubuh. Kulit yang utuh merupakan barier

yang lebih efektif dibandingkan dengan selaput lendir. Agen infeksi tertentu, seperti *Mycobacterium tuberculosis* dapat langsung menyebar melalui selaput lendir gastrointestinal.

Faktor mikrobial, flora normal dalam tubuh dapat meningkatkan ketahanan tubuh hewan dengan cara menekan perkembangan mikroorganisme lain dengan mendukung pembentukan antibodi alamiah dan dengan cara kompetitif dengan mikroorganisme tersebut. Pengobatan dengan antibiotika spektrum luas berakibat terhadap kerusakan keseimbangan ekologi flora normal.

Faktor fisiologi tubuh ikut berperan dalam meningkatkan kekebalan tubuh seperti : adanya getah lambung, getaran silia pada saluran nafas, saluran kencing, asam laktat pada kulit, enzim lisosim, substansi yang bersifat bakterisida dalam darah, dan sistem komplemen. Koksidiosis sering terjadi terutama pada unggas muda, tetapi juga dapat terjadi pada ayam tua yang rentan. Semua jenis burung, unggas hewan mamalia dapat terinfeksi koksidiosis. Infeksi antar spesies (induk semang) tidak terjadi, sebab koksidiosis adalah khusus untuk spesies tertentu. Burung-burung muda lebih rentan, sebab biasanya ada kekurangan dewasa fisik dan tidak adanya imunitas.

Ayam-ayam yang sembuh mempunyai sedikit imunitas, tetapi umur imunitas ini pendek, kecuali kalau ayam-ayam itu selalu berhubungan dengan koksidia. Imunitas terhadap koksidiosis bersifat lokal yang ditunjukkan adanya antibodi pada mukosa sekum (Girard dkk., 1997). Imunitas ini khusus untuk spesies tertentu: artinya imunitas terhadap satu spesies koksidia tidak melindunginya terhadap serangan koksidia spesies lain.

Rose (1976) mengatakan bahwa derajat patogenitas masing-masing spesies *Eimeria* dengan induk semangnya bervariasi. Pada ayam percobaan, imunitas dapat terjadi pada semua spesies dari *Eimeria*, walaupun demikian hal ini juga dipengaruhi oleh perbedaan antar spesies. *Eimeria tenella* yang sangat imunogenik hanya dengan satu kali infeksi dan dalam jumlah yang kecil (50-100 ookista) kedalam tubuh induk semang sudah mampu membentuk kekebalan.

Sekurang-kurangnya ada 3 jenis kekebalan terhadap *Eimeria tenella*, ayam mungkin kebal secara total terhadap parasit, dimana parasit tidak mampu berkembangbiak didalam tubuh induk semang. 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 terjadi lesi-lesi (Long, 1980).

Berdasarkan percobaan yang dilakukan Pierson dkk., (1997) menunjukkan bahwa burung yang diinokulasi dengan 400 ookista infeksi *Eimeria tenella* kemudian ditantang dengan 8000 ookista infeksi memberikan perbedaan pada nilai perlukaan sekum dan resistensi bila dibanding dengan kontrol. Kemudian untuk nilai ketahanan terhadap infeksi koksidiosis diukur berdasarkan penambahan berat badan, nilai perlukaan sekum, tingkat produksi ookista per gram feses pada 7 hari pasca infeksi (Long, 1980; Ruff, 1981).

2.4 Pengendalian Koksidiosis

Pengendalian koksidiosis secara umum dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu sanitasi kandang, penggunaan koksidiostat dan pengebalan. Pencegahan

koksidiosis dengan jalan sanitasi kandang merupakan cara yang sangat dianjurkan, mengingat pengobatan terhadap koksidiosis nampaknya tidak banyak membantu terhadap kesembuhannya. Kondisi lingkungan yang optimal mempengaruhi kelangsungan hidup ookista (Ashadi, 1979; Soulsby, 1986). Menurut Reid dkk (1977) ookista *Eimeria tenella* dapat hidup sampai 86 minggu pada tanah yang tidak terkena sinar matahari dan ookista juga tahan terhadap desinfektan. Levine (1985) mengatakan bahwa lingkungan dengan sanitasi yang jelek maka jumlah ookista akan sangat banyak, karena tempat-tempat tersebut merupakan potensi biotik yang baik.

Ayam muda yang ditempatkan pada litter yang terkontaminasi berat, kematian akan terjadi dalam beberapa hari pasca infeksi. Keadaan tersebut pada umumnya terjadi pada peternakan dengan sistem litter yang kurang memperhatikan sanitasi. Sanitasi kandang dapat dilakukan dengan membersihkan kandang secara teratur. Jika alas kandang berupa litter diusahakan litter tetap kering.

Pengendalian koksidiosis dengan pemberian koksidiostat pada umumnya dilakukan melalui pakan atau air minum. Pengobatan terhadap koksidiosis pada ayam yang sudah menunjukkan perdarahan hebat tidak akan dapat menyembuhkan (Soulsby, 1986). Antikoksidiosis lebih sering digunakan sebagai pencegahan daripada pengobatan (Jones, 1965; Robertson, 1977). Beberapa antikoksidiosis dewasa ini telah banyak dikenal dan umumnya digunakan sebagai koksidiostat antara lain : golongan Sulfonamida, Nitrofurazone, Amprolium, dan lain sebagainya. Pemberian koksidiostat dalam waktu yang lama bisa menimbulkan galur *Eimeria* yang tahan terhadap obat tertentu (Soulsby, 1986).

Pencegahan dengan cara pengebalan telah dilakukan beberapa peneliti terdahulu dan telah mempelajari cara pengebalan ini dengan menginfeksi dosis kecil ookista pada ayam muda. Ayam umur 3, 7, dan 14 minggu akan menjadi kebal setelah diinfeksi dengan dosis tertentu. Kekebalan sempurna akan didapatkan setelah diberi infeksi ulang sebanyak 3 kali dengan ookista *Eimeria tenella* dimana tiap infeksi diberikan 10 kali dari dosis yang pertama (Ashadi, 1979)





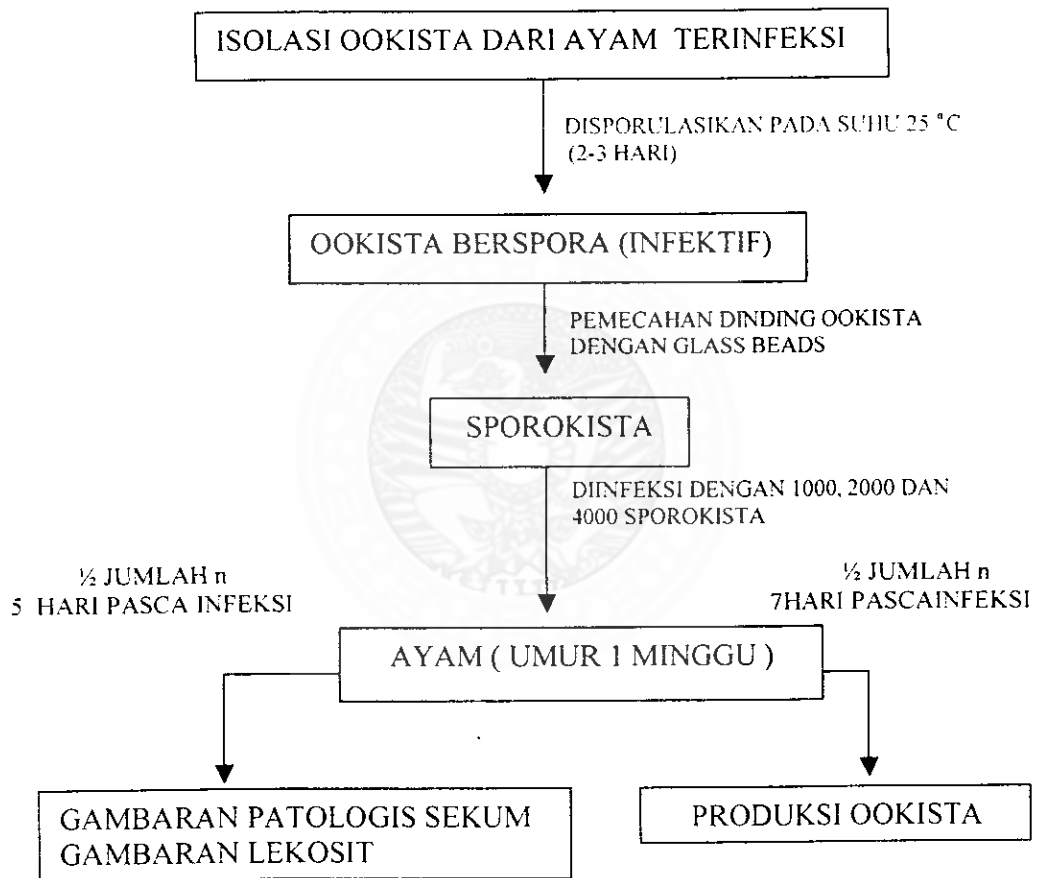
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh terhadap gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum pada ayam pedaging.
2. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh terhadap gambaran lekosit (jumlah lekosit dan *differential leukocytes*) pada ayam pedaging.
3. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh terhadap produksi ookista pada ayam pedaging.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri atas 16 ulangan yang diambil secara acak dengan menggunakan lotre, sehingga banyaknya satuan percobaan dalam penelitian ini adalah 80 satuan percobaan. Adapun rincian perlakuan dapat dilihat pada tabel 1:

Tabel 1. Tabulasi Rancangan Percobaan

Hasil Pengamatan	Perlakuan					
	N=16	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
5 hari pasca infeksi (Gambaran Patologis Sekum) (Gambaran Lekosit) 1/2 Jumlah Ulangan (n = 8)						
7 hari pasca infeksi (Produksi Ookista) 1/2 Jumlah Ulangan (n = 8)						

Keterangan :

N : Ulangan

K (-) : ayam tanpa diinfeksi (kontrol negatif)

K (+) : ayam diinfeksi dengan 5000 ookista (kontrol positif)

P1 : ayam diinfeksi dengan 1000 sporokista

P2 : ayam diinfeksi dengan 2000 sporokista

P3 : ayam diinfeksi dengan 4000 sporokista

4.2 Sampel dan Besar Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari ayam pedaging strain CP 707 produksi Charoen Pokphand sebesar delapan puluh ekor berumur satu hari (DOC) yang dipelihara dalam kandang starter dan setelah berumur satu minggu baru dipindah ke kandang baterai dan diacak dengan metode *random sampling* dengan menggunakan lotre. Ayam-ayam tersebut diberi pakan yang dibuat dengan menggunakan metode Tabrani (1985) dan tidak mengandung koksidiostat. Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis sporokista dan variabel tergantungnya adalah gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum, gambaran lekosit (jumlah lekosit dan *differential leukocytes*) dan produksi ookista. Variabel yang dikendalikan adalah spesies *Eimeria tenella*, penggunaan koksidiostat, umur ayam dan kondisi tubuh ayam.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah inokulan sporokista, larutan kalium bikromat 2,5%, akuades, larutan gula jenuh (40%), larutan NaCl fisiologis (pH 7,2), alkohol 70%, larutan formalin 2% dan 10%, antikoagulan. Sedangkan, bahan-bahan untuk membuat preparat histopatologis antara lain alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, 100%, *xylol*, parafin, *hematoxilin eosin*, *alcohol acide*, amoniak. Bahan

untuk pemeriksaan gambaran lekosit adalah : metanol absolut, larutan Giemsa, *oil immersion*, reagen rices ecker.

4.5 Alat-alat Penelitian

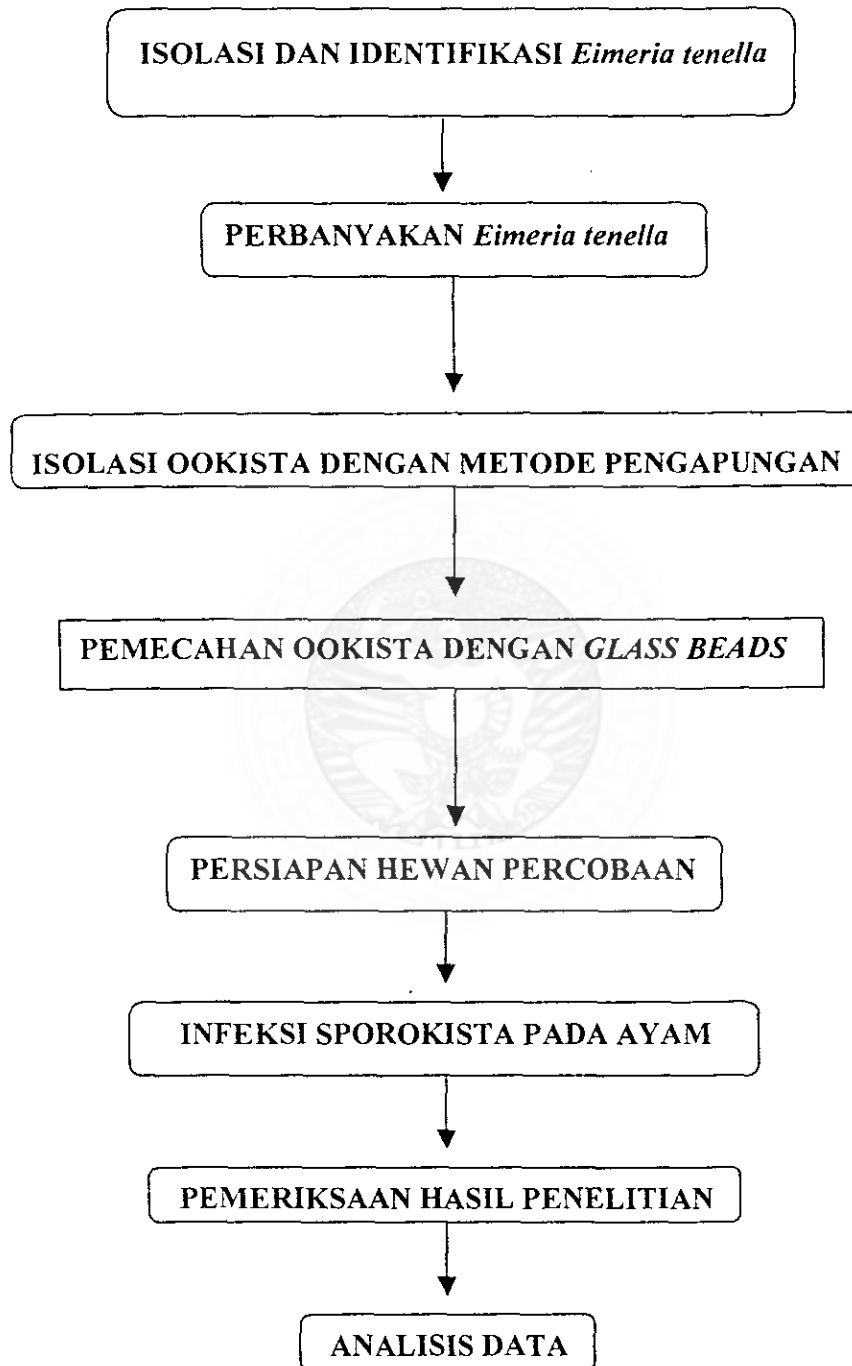
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikroskop, hemositometer, *object glass*, *cover glass*, pot plastik, gunting bedah, pinset, skalpel, tabung sentrifus, sentrifus, *petridish*, gelas ukur, *disposable spuit*, tabung reaksi, mikrotom, pipet Pasteur, *becker glass*.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi dan Protozoologi dan kandang percobaan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Waktu penelitian dimulai bulan Agustus sampai dengan Oktober 2000.

4.7 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi: isolasi dan identifikasi *Eimeria tenella*, perbanyak *Eimeria tenella*, isolasi ookista dengan metode pengapungan, pemecahan ookista dengan *glass beads*, persiapan hewan percobaan, infeksi sporokista pada ayam, pemeriksaan hasil penelitian dan analisis data yang dapat dilihat pada gambar 2.



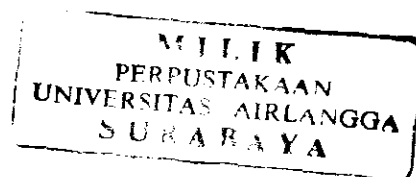
Gambar 2. Skema prosedur penelitian

4.7.1 Isolasi dan Identifikasi *Eimeria tenella*

Ookista *E. tenella* diambil dari sekum ayam yang menderita koksidiosis sekum dari lapangan yang diduga terserang koksidiosis sekum disporulasikan pada suhu kamar selama 2-3 hari dengan penambahan larutan kalium bikromat 2,5 %. Identifikasi jenis *Eimeria* dilakukan dengan melihat morfologi dan ukuran ookista serta waktu sporulasi. Isolat yang diduga *Eimeria tenella* kemudian diinfeksi pada ayam umur 2 minggu yang belum pernah terinfeksi koksidiosis dan ditunggu sampai 5 hari pasca infeksi. Setelah menunjukkan berak darah, pada hari ketujuh ayam dipotong dan sekum diambil untuk mendapatkan isolat *Eimeria tenella* murni. Feses dari dalam sekum dikeluarkan dan disporulasikan dengan larutan kalium bikromat 2,5 % dan siap untuk perbanyakkan ookista.

4.7.2 Perbanyakkan *Eimeria tenella*

Sepuluh ekor ayam umur 2 minggu diinfeksi dengan *Eimeria tenella* hasil isolasi yang sudah bersporulasi dengan dosis 5000 ookista per ekor ayam. Ayam dipelihara dengan pakan standar yang tidak mengandung koksidiostat. Setelah menunjukkan gejala klinis, ayam kemudian dibunuh dan isi sekum dikumpulkan. Feses hasil penampungan isi sekum disporulasikan pada suhu kamar dengan menambahkan larutan kalium bikromat 2,5 % dan sampel siap untuk proses isolasi ookista.



4.7.3 Isolasi Ookista dengan Metode Pengapungan

Campuran feses dengan larutan kalium bikromat dicampur dengan larutan gula 40% dengan perbandingan 1:1 dalam gelas beker dan diaduk sampai benar-benar homogen dengan magnetic stirer. Sambil menunggu larutan homogen, disediakan cawan petri A untuk menampung campuran feses tersebut. Setelah campuran feses homogen, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri A sampai membentuk permukaan cembung dan dibiarkan 5 menit untuk memberi kesempatan ookista naik ke permukaan. Cawan petri A kemudian ditutup dengan cawan petri B dengan posisi cawan terbalik. Setelah 1 jam, cawan petri B diangkat dan dicuci dengan akuades dan hasil cucian ditampung. Pengambilan ookista diulangi seperti cara tersebut diatas sampai ookista betul-betul terangkat. Hasil cucian yang mengandung ookista dikumpulkan dan larutan gula yang terbawa dicuci dengan cara disentrifus 3000 rpm, selama 10 menit. Pencucian diulangi sampai larutan benar-benar bebas dari gula.

4.7.4 Pemecahan Ookista dengan *Glass Beads*

Pelet hasil pencucian dari larutan gula kemudian ditambahkan larutan 1% *chlorox*, dicampur sampai betul-betul homogen dan dibiarkan sampai 1 jam dalam suhu kamar. Pencucian dilakukan 5 kali dengan akuades dengan cara disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Pelet ditambahkan 1 ml larutan NaCl fisiologis (pH 7,2), kemudian dimasukkan *glass beads* dengan diameter ukuran 3 ml sebanyak 50 biji, Untuk memecah ookista dilakukan pengocokan dengan *vortex* dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit.

Setelah ookista pecah, dilakukan penghitungan dengan hemositometer dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

4.7.5 Persiapan Hewan Percobaan

Delapan puluh ekor ayam pedaging umur 1 hari (DOC) dipelihara sampai umur 1 minggu, selama persiapan ayam dipelihara di kandang starter dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Pakan yang diberikan adalah pakan yang tidak mengandung koksidiostat. Setelah umur 1 minggu ayam dibagi secara acak dengan sistem lotre menjadi 5 kelompok perlakuan dan ditempatkan pada kandang baterai dan diberi nomor ulangan sesuai dengan masing-masing perlakuan.

4.7.6 Infeksi Sporokista pada Ayam

Infeksi pada ayam umur 1 minggu menggunakan spuit 1 ml secara oral dengan memasukkan kedalam kerongkongan ayam dengan dosis 0 (K(-)) dan 5000 (K (+)) ookista, 1000 sporokista (P1), 2000 sporokista (P2), 4000 sporokista (P3).

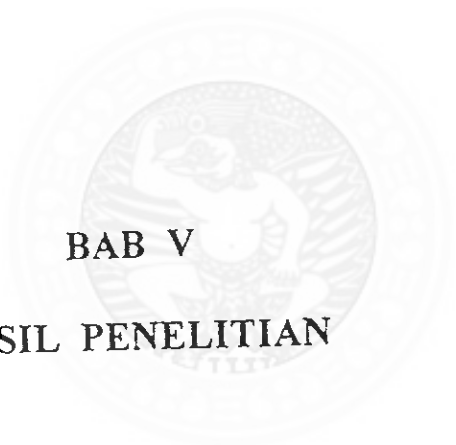
4.7.7 Pemeriksaan Hasil Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini adalah gambaran patologis sekum yang meliputi nilai perlukaan sekum dan histopatologis sekum, gambaran darah meliputi jumlah lekosit dan *differential leukocytes* serta produksi ookista. Untuk gambaran sekum dan darah diperiksa pada hari kelima setelah diinfeksi dengan sporokista dan produksi ookista dihitung tujuh hari pasca infeksi. Nilai perlukaan sekum dinilai berdasarkan metode Johnson dan Reid (1970).

4.7.8 Analisis Data

Data jumlah lekosit, *differential leukocytes* dan produksi ookista yang diperoleh ditabulasikan kemudian dianalisis dengan uji F (Anova). Bila uji F bermakna dilanjutkan dengan uji Tukey-HSD. Untuk gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum dipergunakan uji Kruskal Wallis One-Way Anova . Bila hasil uji Kruskal Wallis One-Way Anova bermakna, dilanjutkan dengan uji Mann Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.





BAB V
HASIL PENELITIAN

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Nilai Perlukaan Sekum

Hasil pemeriksaan nilai perlukaan sekum lima hari setelah diinfeksi dengan *Eimeria tenella* baik dalam bentuk ookista maupun sporokista dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan nilai perlukaan sekum pada masing- masing perlakuan

Ulangan	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
1	0	2	2	2	2
2	0	1	1	1	1
3	0	2	1	1	1
4	0	2	0	1	2
5	0	2	1	1	0
6	0	1	2	2	3
7	0	2	1	0	3
8	0	2	1	2	1

Keterangan :

K(-) : ayam tanpa diinfeksi (kontrol negatif)

K(+): ayam diinfeksi dengan 5000 ookista (kontrol positif)

P1 : ayam diinfeksi dengan 1000 sporokista

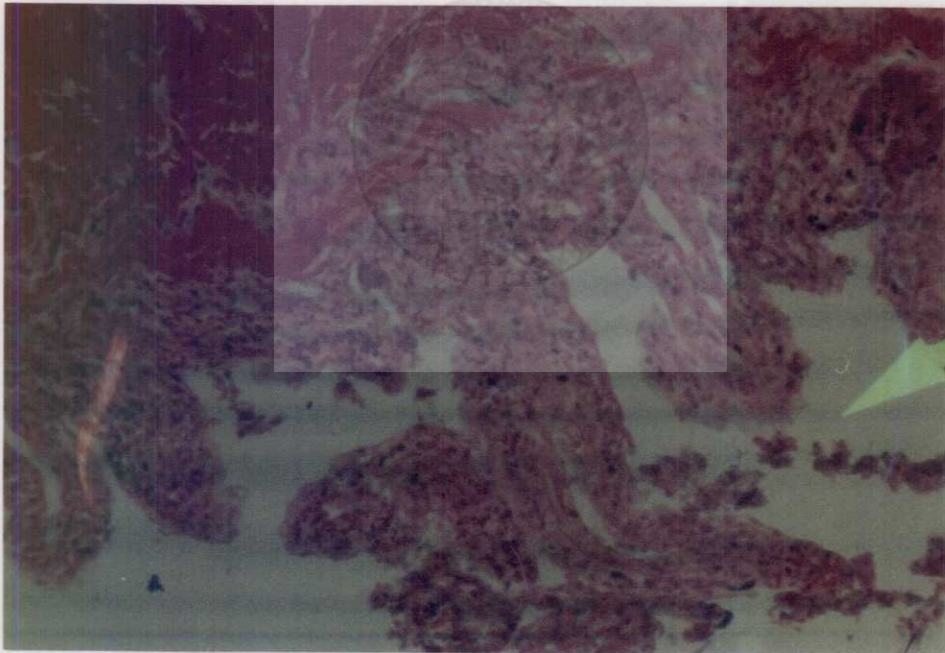
P2 : ayam diinfeksi dengan 2000 sporokista

P3 : ayam diinfeksi dengan 4000 sporokista

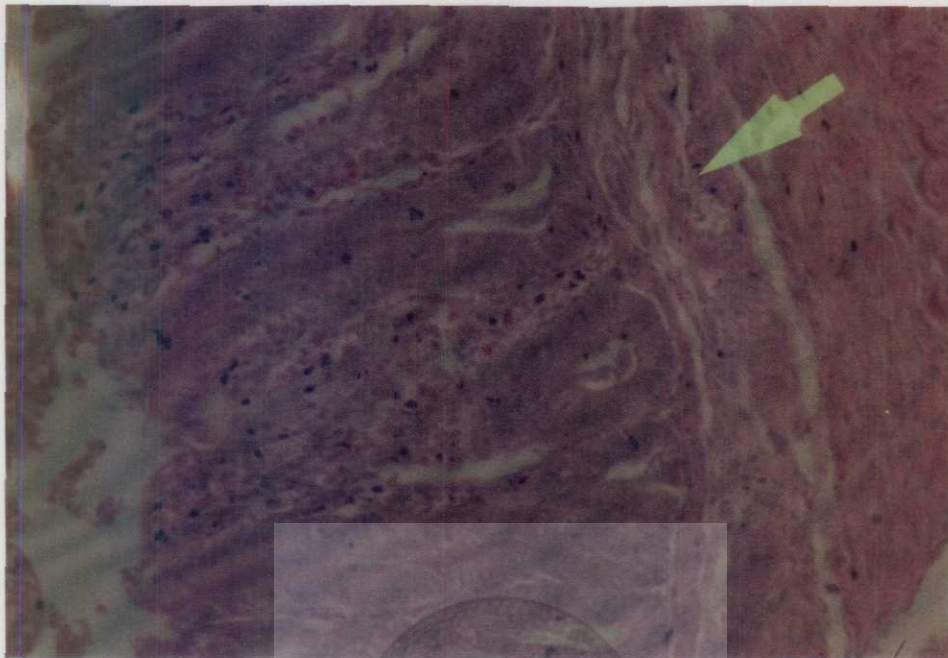
Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis One-Way Anova terhadap nilai perlukaan sekum ayam percobaan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol (K(-), K (+)) dan kelompok perlakuan ($p < 0,0001$).

5.2 Gambaran Histopatologis Sekum

Hasil pemeriksaan gambaran patologis sekum secara histologis masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3, 4, 5, 6. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis One-Way Anova terhadap gambaran patologis sekum secara histologis pada ayam percobaan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan ($p < 0,0000$), dimana masing-masing dari setiap perlakuan menunjukkan perubahan yang khas dan terlihat jelas perbedaannya dengan kontrol positif.



Gambar 3. Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan ookista *Eimeria tenella* dosis 5000 (K (+)) (perbesaran 400 x). Terlihat adanya perdarahan yang berat, peradangan, degenerasi kelenjar dan nekrose vili berat.



Gambar 4. Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan sporokista *Eimeria tenella* dosis 1000 (P1) (perbesaran 400 x). Terlihat adanya stadium skizon, bentuk vili yang masih utuh.



Gambar 5. Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan Sporokista *Eimeria tenella* dosis 2000 (P2) (perbesaran 400 x). Terlihat perdarahan, peradangan, degenerasi kelenjar dan degenerasi vili.



Gambar 6. Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan sporokista *Eimeria tenella* dosis 4000 (P3) (perbesaran 400 x). Terlihat perdarahan akibat pecahnya pembuluh darah yang diakibatkan perkembangan parasit, peradangan, degenerasi kelenjar.

5.3 Jumlah Lekosit

Hasil pemeriksaan rata-rata jumlah lekosit darah ayam yang diinfeksi dengan *Eimeria tenella* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil rata-rata dan simpangan baku jumlah lekosit pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	Rata-rata \pm Simpangan baku
K(-)	4912,50 ^{ab} \pm 2118,25
K(+)	4306,25 ^b \pm 1102,09
P1	7806,25 ^a \pm 2837,31
P2	6918,75 ^{ab} \pm 2763,27
P3	6443,75 ^{ab} \pm 2235,98

superskrip a, b yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Analisis statistik dengan menggunakan uji F terhadap jumlah leukosit darah ayam menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

5.4 Jumlah Limfosit, Netrofil, Eosinofil dan Monosit (*differential leukocytes*)

Hasil pemeriksaan *differential leukocytes* yang meliputi rata-rata persentase jumlah limfosit, netrofil, eosinofil dan monosit pada darah ayam yang diinfeksi dengan *Eimeria tenella* baik dalam bentuk ookista maupun sporokista pada penelitian ini dapat dilihat tabel 4.

Tabel 4. Hasil rata-rata persentase jumlah limfosit, netrofil, eosinofil dan monosit pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	Rata-rata \pm Simpangan baku			
	limfosit	netrofil	eosinofil	monosit
K (-)	62,750 \pm 9,79430	32,125 \pm 10,2321	1 \pm 1,3093	5,375 \pm 2,2638 ^b
K (+)	64,625 \pm 11,5751	30 \pm 10,9153	1,375 \pm 0,7440	5 \pm 2,3299 ^b
P1	66 \pm 10,1278	26,125 \pm 7,5107	1,125 \pm 0,3536	9 \pm 2,8785 ^a
P2	63,750 \pm 11,2345	30,875 \pm 11,5070	1 \pm 1,7728	4,375 \pm 2,1998 ^b
P3	61,750 \pm 11,7565	32 \pm 10,7305	1,125 \pm 0,9910	6,125 \pm 2,6959 ^{ab}

superskrip a. b. yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji F terhadap rata-rata persentase Jumlah limfosit, netrofil dan eosinofil darah ayam tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sedangkan hasil analisis statistik terhadap rata-rata persentase jumlah monosit darah ayam menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

5.5 Produksi Ookista

Hasil rata-rata jumlah produksi ookista tujuh hari setelah infeksi dengan *Eimeria tenella* baik dalam bentuk ookista maupun sporokista dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil rata-rata jumlah produksi ookista tujuh hari setelah infeksi pada masing-masing perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata ± Simpangan baku
K(-)	0 ^c ± 0
K(+)	459625 ^{ab} ± 756360,78
P1	110859,38 ^{bc} ± 189402,53
P2	41156,25 ^{ab} ± 21195,07
P3	297437,50 ^a ± 110503,29

superskrip a, b, c yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,000$)

Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji F terhadap produksi ookista menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p < 0,000$).



BAB VI
PEMBAHASAN

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Nilai Perlukaan Sekum

Hasil analisis statistik terhadap nilai perlukaan sekum menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pada ayam percobaan.

Perbedaan ini disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi tingkat kestabilan bahan infeksi yaitu ookista dan sporokista *Eimeria tenella*, salah satu faktor yang mempengaruhi kestabilan bahan infeksi adalah faktor lingkungan baik lingkungan diluar induk semang atau lingkungan saluran ayam sendiri. Pada lingkungan diluar induk semang ookista lebih stabil dibanding dengan sporokista karena pada ookista terdapat dinding yang tebal dibandingkan dengan sporokista yang hanya dilapisi dinding yang tipis sehingga diperlukan lingkungan dalam hal ini pelarut yang sesuai dengan sifat biologis sporokista. Pelarut yang sesuai dan berapa lama kestabilan sporokista diluar dinding sporokista belum pernah dilaporkan.

Faktor lain yang menyebabkan perbedaan ini adalah lingkungan saluran pencernaan ayam. Secara alami apabila ookista tertelan ayam ookista akan menuju ke esophagus, crop dan akhirnya ke lambung ayam. Pada lambung ayam ookista mengalami proses pemecahan dengan cara mekanik. Sporokista hasil pemecahan ookista kemudian menuju usus halus dan mengalami eksistasi sehingga sporokista pecah dan dikeluarkan sporozoit. Sporozoit yang lepas segera masuk ke epitel usus dan selanjutnya mengalami proses skizogoni (Soulsby, 1986).

Stotish *et al.* (1978) yang disitasi dari Ryley menyatakan bahwa ookista sangat resisten terhadap pH yang ekstrem, deterjen dan pengaruh enzim baik (proteolitik, glikolitik dan lipolitik) dan kerusakan mekanik serta zat-zat lain seperti sodium hipoklorit dan sodium bikromat. Pada perlakuan infeksi menggunakan sporokista, ada kemungkinan bahwa sporokista tidak lepas dari pengaruh lingkungan dari saluran pencernaan ayam sebelum masuk lambung sehingga secara keseluruhan kualitas dan kuantitas sporozoit yang dapat menginfeksi ayam lebih rendah dibanding dengan infeksi dengan ookista utuh. Hal ini dapat dilihat dari derajat perlukaan sekum yang lebih ringan dibandingkan dengan pada perlakuan menggunakan ookista.

6.2 Gambaran Histopatologis Sekum

Hasil pemeriksaan gambaran patologis sekum secara histologis pada kelompok ayam yang diinfeksi dengan ookista terlihat adanya perdarahan intraseluler, peradangan, degenerasi kelenjar dan skizon dalam glandula intestinal, degenerasi vili-vili, penebalan lapisan muskularis, infiltrasi sel radang dan adanya parasit yang dikelilingi oleh sel radang, dan tingkat kerusakan yang terjadi paling berat bila dibanding dengan kelompok perlakuan (Gambar 3).

Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna antara P3 (4000 sporokista) dengan P1 (1000 sporokista) dan P2 (2000 sporokista) dengan kelompok kontrol positif. Berat ringannya serangan koksidiosis dipengaruhi oleh jumlah parasit yang menginfeksi (dosis infeksi), daya kebal dan umur induk semang. Pada dosis 4000 sporokista kerusakan yang terlihat berat, yang dibuktikan dengan gambaran histopatologis berupa perdarahan, degenerasi dan nekrose jaringan serta

infiltrasi sel-sel radang yang mencakup hampir tiga perempat lapangan pandang sampel dibawah mikroskop.

Berat ringannya lesi dan kerusakan lain pada sekum yang ditimbulkan akibat infeksi *Eimeria tenella* juga dipengaruhi oleh jumlah sporozoit yang berhasil menginfeksi sel epitel sekum, hal ini terbukti adanya derajat kerusakan yang lebih berat yang ditimbulkan oleh dosis perlakuan yang semakin besar.

Levine (1985) menyatakan bahwa pada hari keempat pasca infeksi terjadi perdarahan pada selaput mukosa sekum, sedang pada lapisan tunika propria terjadi infiltrasi eosinofil, limfosit, monosit dan sel plasma pada mukosa dan sub mukosa sekum. Pada lapisan muskularis terlihat nekrose fokal disekitar pembuluh darah. Disamping adanya gambaran kerusakan diatas, juga terjadi kerusakan sampai pada lapisan muskularis eksterna. Pada keadaan ini terjadi pelepasan dari jaringan yang mengalami degenerasi akibat infeksi *Eimeria*, Reid (1972) menyatakan bahwa pada hari ketujuh terjadi pelepasan dari jaringan yang mengalami degenerasi.

Pada P2 dan P1 dijumpai kerusakan seperti pada P3 tetapi kerusakan yang terjadi lebih ringan, bahkan masih ditemukan parasit dalam stadium skizon. Khusus pada P1 masih dijumpai pertumbuhan dan perkembangan ookista. Sel-sel radang banyak dijumpai pada lapisan mukosa dan mengelilingi parasit tetapi tidak ditemukan adanya kerusakan yang berat. Gambaran histopatologis sekum ayam yang diinfeksi dengan 2000 sporokista (P2) dapat dilihat pada gambar 5.

Tingkat kerusakan yang ringan pada P2 dan P1 akibat dosis yang rendah, namun apabila digunakan untuk dosis pemacu kekebalan masih berbahaya karena masih menunjukkan kemampuan untuk menimbulkan lesi yang berarti. Hal ini

menunjukkan mekanisme kerja barier pertama (*Nonspecific barrier*) dari lumen sekum sudah terlewati dan berhadapan pada barier kedua (*Immunologic barrier*) dimana antigen dari sporokista juga merangsang timbulnya imunoglobulin A dan imunoglobulin M (Thompson dan Staines, 1991) oleh imunokompeten yang diperantarai oleh *Major Histocompatibility Complex* (MHC) II. Meskipun dihasilkan imunoglobulin tetapi mekanisme penghentian terhadap serangan antigen belum mampu dilakukan imunoglobulin yang ada. hal ini dikarenakan tubuh induk semang baru pertama kali mengenal epitop tersebut.

Salah satu faktor yang mempengaruhi kekebalan terhadap koksidiosis adalah paparan antigen parasit pada induk semang (Tizard, 1997). Pada penelitian ini induk semang belum mempunyai kekebalan terhadap koksidiosis baik yang bersifat kebal sebagian atau keseluruhan sehingga baik pada P2 dan P1 yang mempunyai dosis lebih kecil dari P3 masih ditemukan beberapa lesi dan kerusakan yang terlihat secara histologis di sekum. Gambaran histopatologis sekum menunjukkan degenerasi sel, infiltrasi eosinofil, nekrose sel dan perdarahan tetapi lebih ringan dibandingkan dengan P3 dan kelompok kontrol.

Gambaran histopatologis P1 dapat dilihat pada gambar 4. Pada P1 (1000 sporokista) gambaran histopatologis akibat kerusakan yang timbul masih ringan dibandingkan dengan infeksi dengan P3 (4000 sporokista). Adanya lesi pada beberapa ayam pada kelompok perlakuan dengan sporokista dosis 1000 mengindikasikan suatu antigen dari sporokista yang masih kuat untuk menimbulkan lesi.

Kopko *et al.* (2000) dalam penelitiannya menemukan suatu *antigen body refractil* (ditandai dengan istilah SO7) ditemukan dalam sporozoite dari *Eimeria tenella* yang mampu memberikan perlindungan yang nyata terhadap lesi sekum dan kehilangan berat badan pada ayam-ayam yang diinokulasi dengan suatu bentuk antigen SO7 tersebut. Hal ini dapat dipahami sebagai bagian dari sporokista, sporozoit telah menunjukkan kemampuan dan kesanggupan dalam merangsang timbulnya respon imun dan apabila dapat ditemukan dosis yang tepat untuk proses timbulnya kekebalan dan tidak memberikan lesi yang berarti, maka dapat digunakan sebagai bahan vaksin untuk melindungi terhadap tantangan parasit yang ganas.

6.3 Jumlah Lekosit

Analisis statistik terhadap jumlah lekosit darah ayam menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Perbedaan ini disebabkan ratio antara bahan (*agent*) yang bersifat antigenik yang terkandung dalam ookista pada kelompok kontrol lebih banyak jumlah dan macamnya serta lebih ganas bila dibanding dengan kelompok perlakuan sehingga respon tubuh ayam pada kelompok kontrol yang relatif muda (umur 1 minggu) belum mampu menerima bahan asing yang bersifat antigenik. Respon seluler tubuh ayam yang nampak, merupakan manifestasi ketidakmampuan ayam dalam menerima serangan antigen yang masuk sehingga sel-sel lekosit yang bertindak sebagai respon seluler banyak yang mati dan rusak karena jumlah yang tidak seimbang dengan bahan antigenik yang terkandung dalam ookista. Hal ini seperti yang dinyatakan Roitt

(1997), yang mengatakan bahwa kemampuan daya ikat lekosit terhadap antigen yang masuk tubuh tergantung pada jumlah dan virulensi dari antigen tersebut.

Sebaliknya pada PI setelah dilakukan uji lanjut, rata-rata jumlah lekosit lebih tinggi dibanding dengan kelompok kontrol karena jumlah dan macam protein asing yang terkandung dalam sporokista lebih sedikit sehingga respon seluler dalam hal ini lekosit yang mengadakan ikatan nampak lebih banyak. karena jumlahnya yang seimbang dengan antigen. Kesesuaian ini sebanding dengan kemampuan tubuh ayam yang relatif muda dalam memproduksi sel-sel pertahanan tubuh.

Dalam mekanisme infeksi dengan *Eimeria tenella*, lekosit juga berperan sebagai *cell-mediated immunity* yang mempunyai kemampuan melepaskan H_2O_2 (*intermediate oksigen reaktif*). Sporozoit sangat sensitif terhadap ion superoxide (H_2O_2). Penelitian terhadap kemampuan lekosit yang berperan *cell-mediated immunity* dalam memproduksi H_2O_2 pernah dilakukan oleh Prowse, *et. al.*, (1992) yang memberikan kesimpulan bahwa lekosit dari darah dan limpa dari ayam yang kebal terhadap koksidiosis menunjukkan suatu kesanggupan dalam melepaskan H_2O_2 .

Sebaliknya dugaan para ilmuwan bahwa lekosit dalam epitel mempunyai peranan aktif dalam transportasi sporozoit *Eimeria tenella* melalui lamina propria yang dapat mengaburkan analisis diatas diragukan kebenarannya karena sudah terbukti melalui penelitian yang dilakukan oleh Vervelde, *et. al.* (1995) dengan menggunakan teknik immuno histologi yang menyatakan bahwa sporozoit secara nyata lebih sedikit yang telah mencapai kripta pada ayam yang kebal.

6.4 Jumlah Limfosit, Netrofil, Eosinofil dan Monosit (*differential leukocytes*)

Hasil analisis statistik terhadap rata-rata persentase jumlah limfosit, netrofil dan eosinofil darah ayam tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada penelitian ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan dengan dosis yang terkecil yaitu 1000 sporokista sudah mampu menginduksi *cell mediated immunity* (T cell). Pada infeksi dengan *Eimeria*, peranan *cell mediated immunity* dalam hal ini T cell sangat menonjol dalam respon imun induk semang (Breed, *et al* (1997); Bhogal, *et al* (1989); Dominique, *et al* (1997) mensitir dari Wakelin dan Rose, 1990, Lillehoj dan Trout, 1993).

Pada infeksi *Eimeria* aktivitas sel T menjadi meningkat dan diekspresikan oleh CD4 dan CD8 serta karakterisasi fenotip yang terkait dengan respon limfosit. Karakterisasi fenotip (penampakan luar) yang terkait dengan respon limfosit darah perifer dari ayam yang terinfeksi oleh *Eimeria tenella*, telah dilakukan oleh Breed *et. al.*(1997). Pada penelitian Breed, *et. al.* (1997) membuktikan bahwa penampakan luar melalui jumlah limfosit, dapat menentukan kapasitasnya untuk memperbanyak dan memproduksi sitokin (IFN-gamma) pada rangsangan dengan antigen sporozoit *Eimeria tenella*. Pada penelitian tersebut dibandingkan respon dari ayam yang terinfeksi sporozoit dan ayam yang tidak diberi perlakuan apapun.

Pada saat terjadi rangsangan antigen sporozoit *Eimeria tenella* yang masuk, limfosit dari ayam yang terinfeksi merespon dengan memperbanyak dan memproduksi sitokin (IFN-gamma) yang menghambat perkembangan sporozoit

secara intraseluler, sebaliknya pada limfosit ayam yang tidak diberi perlakuan apapun tidak merespon. Fenotip dari limfosit yang terlibat dalam produksi sitokin dicirikan dalam suatu uji *blocking assay* dengan menggunakan *Monoclonal Antibody* (MoAb) yang ditujukan untuk molekul CD4 dan CD8.

Hasil tersebut menyatakan bahwa CD8⁺ dan juga limfosit CD4⁺ (CD4⁺CD8⁺ dan kemungkinan CD4⁺, single positif) adalah yang bertanggung jawab terhadap produksi IFN-gamma yang diukur setelah perangsangan dengan antigen parasit, oleh karena itu respon perbanyakan yang spesifik tersebut nampak disebabkan oleh CD4⁺ (CD4⁺CD8⁺ dan mungkin CD4⁺ single positif). Hasil yang membuktikan adanya sel CD8⁺ yang ada dalam sirkulasi darah setelah suatu infeksi primer oleh *Eimeria tenella*, bereaksi sebagai sel efektor dalam respon kekebalan untuk perlindungan, oleh karena itu sel CD4 memainkan suatu fungsi sel pembantu yang penting dalam respon ini.

Penelitian yang sama juga pernah dilakukan oleh Brake *et. al.*, (1997) dimana pada penelitian itu menggunakan jaringan biakan yang telah diinfeksi dengan sporozoit *Eimeria tenella* kemudian supernatan dari jaringan tersebut diinokulasikan pada ayam *Leghorn*. Limfosit darah perifer dan limfosit limpa dari ayam yang terimunisasi ini diperbanyak secara *in vitro*, ternyata limfosit dari ayam kebal tadi respon terhadap antigen parasit yang diturunkan dari jaringan biakan tersebut.

Pada analisis statistik terhadap netrofil juga tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil ini sama dengan analisis terhadap limfosit. Adanya angka rata-rata yang sama dengan kelompok kontrol menunjukkan bahwa pemberian sporokista pada kelompok

perlakuan telah memberi rangsangan terhadap timbulnya respon kekebalan yang diekspresikan melalui meningkatnya jumlah netrofil yang diikuti penurunan jumlah ookista yang dihasilkan oleh ayam kelompok perlakuan dari dosis yang tertinggi sampai terendah, khususnya P1.

Netrofil merupakan salah satu tipe *myeloid stem cell* yang paling banyak jumlahnya. Sel ini diproduksi dalam sumsum tulang, kemudian bermigrasi ke dalam sirkulasi darah dan sekitar 12 jam lebih bergerak masuk ke jaringan. Persentase netrofil dalam lekosit relatif besar. Persentase netrofil yang tinggi dalam sirkulasi darah menggambarkan adanya infeksi pada induk semang. Fungsi netrofil adalah menangkap dan merusak setiap benda asing yang masuk ke dalam tubuh melalui proses fagositosis (Tizard, 1997).

Hasil yang sama juga ditunjukkan eosinofil yang mengikuti pola netrofil. Seperti netrofil, eosinofil disintesis di sumsum tulang dan relatif masih dalam keadaan masih muda dan setelah itu eosinofil bergerak langsung ke limpa dan menjadi dewasa di organ tersebut. Setelah dari limpa eosinofil bermigrasi ke sirkulasi darah dan seterusnya ke jaringan. Persentase eosinofil dalam lekosit relatif tinggi variasinya dan jumlahnya akan tinggi apabila hewan tersebut terinfeksi parasit.

Fungsi utama eosinofil hampir sama dengan netrofil, melalui mekanisme fagositosis, eosinofil merusak bahan asing yang masuk tubuh induk semang. Eosinofil mempunyai granula yang di dalamnya diproduksi asam fosfatase dan H_2O_2 yang mempunyai daya rusak dan bunuh yang lebih efektif terhadap organisme atau parasit yang menginfeksi bila dibandingkan netrofil.

Basofil juga termasuk dalam salah satu tipe *myeloid stem cell*, tetapi keberadaannya dalam lekosit tidak lebih besar dari 0,5 % bahkan secara normal tidak didapatkan dalam jaringan ekstra vaskuler. Basofil dapat masuk kedalam jaringan atas pengaruh limfosit dan dalam penelitian ini yang menggunakan ayam sebagai hewan percobaan tidak didapatkan hasil perhitungan basofil, karena pada ayam hampir atau memang tidak didapatkan sel basofil.

Hasil analisis statistik terhadap rata-rata persentase jumlah monosit menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Perbedaan ini disebabkan oleh adanya tingginya infeksi sekunder oleh bakteri yang menyertai perlakuan. Tingginya infeksi bakteri merangsang tubuh induk semang memobilisasi keluarnya monosit. Tingginya infeksi bakteri kemungkinan berasal dari bahan inokulan yaitu isolat ookista yang diambil dari lapangan yang digunakan dalam penelitian ini.

Horrison (1966) menyatakan bahwa salah satu fungsi yang menonjol dari monosit adalah mencerna bakteri melalui mekanisme pembentukan kapsul lipid untuk kemudian ditelan dalam bentuk partikel-partikel kecil dari bakteri tersebut, disamping itu mekanisme ini juga dibantu oleh adanya enzim *phosphatase acide* dan bahan lain yang dihasilkan.

6.5 Produksi Ookista

Hasil analisis statistik terhadap produksi ookista menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Adanya perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan disebabkan beberapa hal antara lain peran komponen-komponen yang berperan dalam sistem kekebalan efektif. Pada komponen kekebalan non spesifik seperti komponen humoral antara lain asam lambung (HCl), lisosim, laktoferin, asam neuraminik, asam lemak volatil, interferon dan komplemen bekerja dengan efektif untuk menjalankan fungsinya sebagai pertahanan pertama terhadap adanya ookista atau sporokista yang masuk kedalam tubuh induk semang.

Setelah agen infeksi sporokista melewati sistem kekebalan non spesifik maka perkembangan agen infeksi tersebut terganggu dan tidak sebagaimana mestinya atau sesuai dengan siklus hidupnya dan kemudian pada saat berhadapan dengan komponen sistem kekebalan spesifik. Hal ini berbeda dengan kelompok kontrol, dimana ookista mampu melewati komponen kekebalan non spesifik dan spesifik. Sistem kekebalan spesifik ini melibatkan peran utama yaitu sel B dan sel T serta sel makrofag sebagai sel pengolah (APC). Peran sistem kekebalan spesifik ini timbul karena ayam percobaan pada saat pertama kontak dengan agen infeksi yaitu ookista maupun sporokista langsung merespon sehingga proses pengebalan spesifik ini juga berjalan sebagaimana mestinya, sehingga agen infeksi dalam melanjutkan perkembangan siklus hidupnya dalam tubuh induk semang tidak berjalan sempurna sampai pada akhirnya sejumlah ookista yang dihasilkan dan dikeluarkan ayam melalui feses menurun (Sanderson dan Walker, 1993).

Ookista atau sporokista yang masuk kedalam tubuh induk semang dikenali oleh makrofag melalui tampilan APC, kemudian dicerna menjadi fragmen-fragmen yang lebih halus. Fragmen-fragmen antigen yang halus ini ditampilkan oleh APC

pada permukaannya sebagai penentu antigen (epitop). Penampilan epitop ini disertai oleh MHC II untuk membantu interaksi sel imunokompeten secara genetik dalam proses tanggap kebal (kekebalan spesifik yang ditimbulkan). Caron, *et. al.* (1997) menyatakan bahwa kompleks MHC mempunyai peran dalam resistensi, kepekaan dan kekebalan terhadap *Eimeria tenella*.

Sebetulnya secara alamiah ditemukan beribu-ribu populasi limfosit yang berbeda, tetapi masing-masing hanya mengenali satu epitop. Limfosit yang kontak pertama dengan epitop akan mengalami perbanyakan diri membentuk populasi yang lebih besar dan disebut *clonal expansion* atau sering juga disebut tanggap kebal primer. Selama fase *clonal expansion* dihasilkan dua tipe sel utama yaitu sel efektor yang mengambil bagian dalam reaksi kekebalan dan sel memori yang menyimpan ingatan dan hal ini yang terjadi pada ayam-ayam percobaan, pada saat pertama kali kontak dengan antigen yaitu ookista atau sporokista langsung tubuh ayam merespon .

Pada fase *clonal expansion* ini pada keadaan tertentu tidak menguntungkan bagi induk semang karena terjadi kelambatan tanggapan terhadap agen infeksi, dimana fase ini belum terjadi perkembangan tanggap kebal yang sempurna, akan tetapi pada penelitian ini, ookista yang masuk kedalam tubuh induk semang belum mendapat perlawanan yang memadai dari sistem kekebalan spesifik sehingga masih terjadi siklus untuk memproduksi ookista kembali, sebaliknya sporokista yang diberikan pada kelompok perlakuan menurun kemampuannya untuk dapat melanjutkan perkembang biakannya dan menghasilkan ookista.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh sangat nyata terhadap gambaran patologis (nilai perlukaan dan histopatologis) sekum pada ayam pedaging.
2. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh nyata terhadap jumlah lekosit, tidak berpengaruh nyata terhadap *differential leukocytes*, tetapi berpengaruh nyata terhadap monosit pada ayam pedaging.
3. Pemberian sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis infeksi masing-masing 1000, 2000 dan 4000 berpengaruh sangat nyata terhadap produksi ookista pada ayam pedaging.

7.2 Saran

1. Sporokista sebagai protein asing, mempunyai potensi dalam menimbulkan kekebalan induk semang. tetapi perlu dikaji lebih lanjut bagian atau jenis protein apa yang berperan tersebut.
2. Dalam isolasi dan purifikasi sporokista dari ookista diperlukan metode yang lebih baik untuk mendapatkan sporokista yang sempurna.

3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan infeksi sporokista *Eimeria tenella* dengan dosis lebih rendah dan bervariasi agar didapatkan dosis yang tepat untuk penggunaan vaksin.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1996. Miliaran Rupiah Obat Berak Darah. Infovot. Edisi 038. Jakarta : 8-10.
- Anonim, 1996. Solvay animal Health. Poultry Health Short Course Manual.
- Ashadi, G. 1979. Pengebalan Aktif terhadap Koksidiosis Sekum pada ayam di Indonesia. Disertasi IPB. 4-14.
- Bhogal, B. S., Jacobson, E. B., Tse, H. Y., Schmatz, D. M. and Ravino, O. J. 1989. Parasite Exposure Elicites a Preferential T-cell Response Involved in Protective Immunity against *Eimeria* species in Chickens Primed by an internal-image anti-idiotypic antibody. *Infect Immun.* 57 (9) : 2804-2810.
- Brake, D. A., Strang, G., Lineberger, J. E., Fedor, C. H., Banas, T. A. and Miller, T. 1997. Immunogenic Characterization of a tissue Culture-derived Vaccine that Affords Partial Protection Against Avian Coccidiosis. *Poultry Science.* 76 (7) : 974-983.
- Breed, D. G., Schetters, T. P., Verhoeven, N. A. and Vermeulen, A. N. 1997. Characterization of Phenotype Related Responsiveness of Peripheral Blood Lymphocytes from *Eimeria tenella* Infected Chickens. *Parasite Immunol.* 19 (12) : 563-569.
- Breed, D. G., Dorrestein, J., Schetters, T. P., Waart, L. V., Rijke, E. and Vermeulen, A. N. Peripheral Blood Lymphocytes from *Eimeria tenella* Infected Chickens Produce gamma-interferon After Stimulation in Vitro. *Parasite Immunol.* 19 (3) : 127-135.
- Bumstead, J. M., Topham, S. J., and Tomley, F. M. 1998. Inhibition of The development of *Eimeria tenella* in Cultured Bovine Kidney Cells by a Soluble Factor Produced by Peripheral Blood Lymphocytes from Immune Chickens. *Parasitol. Today* ; 117 : 39-47.
- Caron, L. A., Abplanalp, H. and Taylor, R. L. Jr. 1997. Resistance, Susceptibility, and Immunity to *Eimeria tenella* in Major Histocompatibility (B) Complex Congenic Lines. *Poultry Sci.* 76 (5) : 677-682.
- Daszak, P. 1999. Zoite Migration During Infection : Parasite adaptation to host defences. *Parasitol. Today* 15 (2) : 67-72.
- Flynn, R.J. 1973. *Parasites of Laboratory Animals* 1st ed. The Iowa State University Press. Ames Iowa, USA: 50-60.

- Sanderson, I. R. and Walker, W. A. 1997. Mucosal Barrier An Overview. Mucosal Immunol.(Academic Press) p : 5-14.
- Girard, F. Fort, G., Yvore, P. and Quere, P. 1997 Kinetics of Specific Immunoglobulin A, M and G Production in The Duodenal and Caecal Mucosa of Chickens Infected with *Eimeria acervulina* or *Eimeria tenella*. Int. Parasitol. 27 (7) : 803-809.
- Gordon, R.F. 1997. Poultry Disease. 1sted. Bailliere Tindall and Cox. London.
- Kogut, M. H. and Lange, C. 1989. Interferon-gamma-mediated Inhibition of The development of *Eimeria tenella* in Cultured Cells. Academic Press.
- Kogut, M. H. and Lange, C. 1989. Recombinant Interferon - gamma Inhibits Cell Invasion By *Eimeria*. J. Interferon Res. 9 (1) : 67-77.
- Kopko, S. H., Martin, S and Barta, J. B. 2000. *Eimeria tenella* Administered Using Various Immunizing Strategies. Poultry Sci. 79 : 336-342.
- Lee, E. H. and Fernando, M. A. 1978. Immunogenicity of a single Sporocyst of *Eimeria maxima*. J. Parasitol. 64 (3) : 483-485.
- Levine, N.D. 1985. Textbook of Veterinary Protozoology. 2nd ed. Burgers Publishing Company. Minnesota.
- Long, P. L., Johnson, J. and Wyatt, R. D. 1980. *Eimeria tenella* : Clinical Effects in Partially Immune and Susceptible Chickens. Poultry Sci. 59 (10) : 2221-2224.
- Long, P.L. 1990. Coccidiosis of Man and Domestic Animals. CRS Press. Inc. United State. 321-1342.
- Pearay, L., Ogra, Mestecky, J., Lamm, M. E., Strober, W., Bienenstock, J. and McGhee, J. R. 1999. Mucosal Immunology 2nd ed. Academic Press. San Diego The United State.
- Pierson, F. W., Larsen, C. T. and Gross, W. B. , 1997. The Effect of The Response of Chikens to Coccidiosis Vaccination. Vet. Parasitol. 73(1-2): 177-180.
- Prowse, S. J., Michalski, W. P. and Fahey, K. J. 1992. Enhanced H₂O₂ Release from Immune Chickens Leukocytes Following Infection with *Eimeria tenella*. Immunol Cell Biol. 70 (Pt 1) : 41- 48.
- Reid, W. M. 1972. Coccidiosis. In C. H. Helbolt, M. S. Hofstad, B. W. Calnek, W. M. reid and H. W. Yorder ed. Disease of Poultry 6 th ed. Iowa State University Press. Ames.

- Ressang. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi Kedua. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. 607.
- Rose, M.E. 1976. Coccidiosis: Immunity and The Prospects Propilactic Immunitation. Vet.Rec. 98: 481-484.
- Ruff, M. D., D. J. Doran and G. G. Wilkins. 1981. Effect of aging and Survival and Patogenesity of *E. acervulina* and *E. tenella*. Avian Dis. 25: 595-599.
- Shierly, M. W., A. C. Buchell, V. McDonald and B. Robert 1995. A live attenuated vaccine for The Control of Avian Coccidiosis: Trial in Broiler Breeder and Replacement Layer Flocks in The United Kingdom. Vet. Rec. 137 (18): 453-457.
- Shierly, M. W. 1996. Biological Principle of Lives, Attenuated Vaccines. Magyar Allatorvosak Lapja, 51 (1): 23-29.
- Soulsby, E. J. L. 1986. Helminths, Arthropod and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed. Bailliere Tindall, London.
- Stotish, R. L., C. C. Wang and M. Meyenhofer 1978. Structure and Composition of the Oocyst Wall of *Eimeria tenella*. J. Parasitol., 64 (6). 1074-1081.
- Suprihati, E., Mufasirin dan Wahyuti, R. N. 2000. Kajian Histopatologik pada Sekum Anak Ayam Akibat Pemberian Sporokista *Eimeri tenella*. Lemlit Universitas Airlangga Surabaya.
- Vermeulen, A. N. 1998. Progress in Recombinant Vaccine Development Against Coccidiosis. A review and Prospects Into The Next Millenium. Int. Parasitol. ; 28 (7): 1121-1130.
- Vervelde, L., Vermeulen, A. N. and Jeurissen, S. H. 1995. *Eimeria tenella*: sporozoites rarely enter leukocytes in the cecal epithelium of the chicken (*Gallus domesticus*). J.Exp Parasitol. ; 81 (1) : 29-38.

LAMPIRAN



Daftar variabel *differentiate leukocytes*

LINE 1: PERLAKUA LYMP MONO NSEG EOS HB PCV

LINE 2: RBC TTP WBC

PERLAKUA:	1	50	9	40	1	10.1	27.0
RBC:	2.45	3.2	7100				
PERLAKUA:	1	54	3	40	3	10.9	27.0
RBC:	2.94	3.4	7600				
PERLAKUA:	1	77	7	16	0	12.0	32.0
RBC:	3.05	3.1	4000				
PERLAKUA:	1	67	6	27	0	10.9	31.0
RBC:	2.44	3.1	2600				
PERLAKUA:	1	62	6	39	3	13.3	27.0
RBC:	2.33	3.2	3900				
PERLAKUA:	1	53	2	45	0	10.9	25.0
RBC:	2.51	3.3	2600				
PERLAKUA:	1	73	4	23	0	12.3	27.0
RBC:	2.38	3.8	4100				
PERLAKUA:	1	66	6	27	1	10.4	26.0
RBC:	2.61	3.6	7400				
PERLAKUA:	2	67	4	29	0	9.8	24.0
RBC:	2.42	3.6	6800				
PERLAKUA:	2	74	4	22	0	10.4	24.0
RBC:	2.13	3.6	3750				
PERLAKUA:	2	46	10	44	0	11.6	29.0
RBC:	2.24	3.1	4600				
PERLAKUA:	2	60	4	36	0	10.4	25.0
RBC:	2.32	3.4	4200				
PERLAKUA:	2	50	3	46	1	8.5	28.0
RBC:	2.24	3.0	3300				
PERLAKUA:	2	72	4	24	0	12.0	22.0
RBC:	2.06	3.1	4300				
PERLAKUA:	2	78	4	16	-2	9.3	32.0
RBC:	2.35	3.1	4100				
PERLAKUA:	2	70	7	23	0	9.3	26.0
RBC:	2.31	3.0	3400				
PERLAKUA:	3	68	10	22	0	9.5	21.0
RBC:	2.89	3.6	8400				
PERLAKUA:	3	68	8	24	0	9.0	22.0
RBC:	2.97	3.1	8600				
PERLAKUA:	3	77	6	27	0	10.9	24.0
RBC:	2.79	3.7	5600				
PERLAKUA:	3	72	9	19	0	10.7	24.0
RBC:	2.88	3.6	3400				
PERLAKUA:	3	49	10	41	0	10.4	29.0
RBC:	3.68	3.5	11700				
PERLAKUA:	3	68	6	26	0	12.0	25.0
RBC:	2.94	4.1	7150				
PERLAKUA:	3	52	15	32	1	8.2	22.0
RBC:	2.06	3.1	11400				

PERLAKUA:	3	74	8	18	0	10.4	23.0
RBC:	2.07	3.6	6200				
PERLAKUA:	4	70	8	22	0	10.1	20.0
RBC:	1.94	3.1	6500				
PERLAKUA:	4	73	5	22	0	13.7	24.0
RBC:	1.88	3.2	4400				
PERLAKUA:	4	59	2	39	0	9.3	21.0
RBC:	1.10	2.9	4150				
PERLAKUA:	4	73	6	21	0	10.7	21.0
RBC:	1.93	2.7	6000				
PERLAKUA:	4	66	6	26	2	9.3	23.0
RBC:	2.69	2.7	6400				
PERLAKUA:	4	74	2	23	1	9.3	24.0
RBC:	2.41	3.1	9200				
PERLAKUA:	4	50	3	47	0	10.4	25.0
RBC:	2.43	3.2	6100				
PERLAKUA:	4	45	3	47	5	9.8	27.0
RBC:	2.02	3.0	12600				
PERLAKUA:	5	60	6	34	0	10.1	23.0
RBC:	1.84	3.9	6800				
PERLAKUA:	5	56	11	32	1	10.7	25.0
RBC:	1.89	3.5	8000				
PERLAKUA:	5	46	6	47	1	8.0	15.0
RBC:	1.56	5.6	9300				
PERLAKUA:	5	62	4	32	2	9.8	16.0
RBC:	2.35	3.7	2400				
PERLAKUA:	5	64	7	28	1	10.7	25.0
RBC:	1.92	2.6	5450				
PERLAKUA:	5	46	5	46	3	13.0	26.0
RBC:	2.40	4.2	8500				
PERLAKUA:	5	80	2	18	0	9.8	23.0
RBC:	1.77	4.1	6300				
PERLAKUA:	5	72	8	19	-1	9.3	21.0
RBC:	1.69	3.1	4800				

Number of cases read: 40 Number of cases listed: 40

Deskripsi subpopulasi *differentiate leukocytes*

Summaries of LYM
By levels of PERLAKUA

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population		63.5750	10.5049	40
PERLAKUA	1	62.7500	9.7943	8
PERLAKUA	2	64.6250	11.5751	8
PERLAKUA	3	66.0000	10.1278	8
PERLAKUA	4	63.7500	11.2345	8
PERLAKUA	5	60.7500	11.7565	8

Total Cases = 40

Summaries of MONO
By levels of PERLAKUA

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population		5.9750	2.8698	40
PERLAKUA	1	5.3750	2.2636	8
PERLAKUA	2	5.0000	2.3299	8
PERLAKUA	3	9.0000	2.8785	8
PERLAKUA	4	4.3750	2.1998	8
PERLAKUA	5	6.1250	2.6959	8

Total Cases = 40

Summaries of NSEG
By levels of PERLAKUA

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population		30.2250	9.9833	40
PERLAKUA	1	32.1250	10.2321	8
PERLAKUA	2	30.0000	10.9153	8
PERLAKUA	3	26.1250	7.5107	8
PERLAKUA	4	30.8750	11.5079	8
PERLAKUA	5	32.0000	10.7305	8

Total Cases = 40

Summaries of EOS
By levels of PERLAKUA

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population		.7250	1.1544	40
PERLAKUA	1	1.0000	1.3093	8
PERLAKUA	2	.3750	.7440	8
PERLAKUA	3	.1250	.3536	8
PERLAKUA	4	1.0000	1.7728	8
PERLAKUA	5	1.1250	.9910	8

Total Cases = 40

Summaries of WBC
By levels of PERLAKUA

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population		6077.5000	2538.4719	40
PERLAKUA	1	4912.5000	2118.2456	8
PERLAKUA	2	4306.2500	1102.0881	8
PERLAKUA	3	7806.2500	2837.3073	8
PERLAKUA	4	6918.7500	2763.2715	8
PERLAKUA	5	6443.7500	2235.9781	8

Total Cases = 40



Anava dan uji Tukey-HSD *differential leukocytes*

Variable LYMP
By Variable PERLAKUA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	125.4000	31.3500	.2626	.8999
Within Groups	35	4178.3750	119.3821		
Total	39	4303.7750			

Variable LYMP
By Variable PERLAKUA

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .050

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 7.7260 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 4.06

- No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 5	Grp 1	Grp 4	Grp 2	Grp 3
Mean	60.7500	62.7500	63.7500	64.6250	66.0000

Variable MONO
By Variable PERLAKUA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	104.3500	26.0875	4.2149	.0069
Within Groups	35	216.6250	6.1893		
Total	39	320.9750			

Variable MONO
By Variable PERLAKUA

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .050

The difference between two means is significant if
 $|\text{MEAN}(J) - \text{MEAN}(I)| \geq 1.7592 * \text{RANGE} * \text{SORT}(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 4.06

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	PERLAKUA	
4.3750	Grp 4	G G G G
5.0000	Grp 2	r r r r
5.3750	Grp 1	p p p p
6.1250	Grp 5	4 2 1 5 3
9.0000	Grp 3	* * *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 4	Grp 2	Grp 1	Grp 5
Mean	4.3750	5.0000	5.3750	6.1250

Subset 2

Group	Grp 5	Grp 3
Mean	6.1250	9.0000

08 Dec 00 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

----- O N E W A Y -----

Variable HSEG
By Variable PERLAKUA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	192.3500	48.0875	.4555	.7677
With Groups	35	3694.6250	105.5607		
Total	39	3886.9750			

08 Dec 00 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

Page 19

Variable HSEG
By Variable PERLAKUA

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .050

The difference between two means is significant if
 $|\text{MEAN}(J) - \text{MEAN}(I)| \geq 7.2650 * \text{RANGE} * \text{SORT}(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 4.06

- No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 3	Grp 2	Grp 4	Grp 5	Grp 1
Mean	26.1250	30.0000	30.8750	32.0000	32.1250

Variable EOS
By Variable PERLAKUA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	6.3500	1.5875	1.2178	.3209
Within Groups	35	45.6250	1.3036		
Total	39	51.9750			

Variable EOS
By Variable PERLAKUA

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .050

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq .8873 * RANGE * \sqrt{SORT(1/N(I) + 1/N(J))}$
 with the following value(s) for RANGE: 4.06

- No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 3	Grp 2	Grp 1	Grp 4	Grp 5
Mean	.1250	.3750	1.0000	1.0000	1.1250

Variable WBC
By Variable PERLAKUA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	66599750.00	16649937.50	3.1549	.0258
Within Groups	35	184710000.0	5277428.571		
Tot	39	251309750.0			

table WBC
table PERLAKUA

Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .050

rence between two means is significant if
 $-\text{MEAN}(I) \geq 1624.4120 * \text{RANGE} * \text{SORT}\{\text{L}/\text{N}(I) + \text{L}/\text{N}(J)\}$
 e following value(s) for RANGE: 4.66

icates significant differences which are shown in the lower triangle

```

          G G G G G
          r r r r r
          p p p p p
          2 1 5 4 3
    PERLAKUA
    00 Grp 2
    00 Grp 1
    00 Grp 5
    00 Grp 4
    00 Grp 3
    
```

ous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Grp 2	Grp 1	Grp 5	Grp 4
4306.2500	4912.5000	6443.7500	6918.7500

Grp 1	Grp 5	Grp 4	Grp 3
4912.5000	6443.7500	6918.7500	7806.2500

Deskripsi subpopulasi, anava dan uji Tukey-HSD produksi ookista tujuh hari setelah infeksi

Descriptives

Transformation by log y+1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
1	8	.00000	.00000	.00000	.000	.000
2	8	3.32365	2.85818	1.01052	.000	6.252
3	8	2.52409	2.73339	.96640	.000	5.688
4	8	4.55591	.25291	8.9418E-02	4.122	4.853
5	8	5.43502	.21586	7.6319E-02	4.989	5.606
Total	40	3.16773	2.53480	.40079	.000	6.252

ANOVA

Transformation by log y+1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	140.326	4	35.081	11.136	.000
Within Groups	110.258	35	3.150		
Total	250.584	39			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Transformation by log y+1
 Tukey HSD

(I) Trial	(J) Trial	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-3.32365*	.88744	.005	-5.87513	-.77217
	3	-2.52409	.88744	.054	-5.07557	2.7391E-02
	4	-4.55591*	.88744	.000	-7.10740	-2.00443
	5	-5.43502*	.88744	.000	-7.98650	-2.88353
2	1	3.32365*	.88744	.005	.77217	5.87513
	3	.79956	.88744	.895	-1.75192	3.35104
	4	-1.23226	.88744	.639	-3.78374	1.31922
	5	-2.11136	.88744	.145	-4.66285	.44012
3	1	2.52409	.88744	.054	-2.73911E-02	5.07557
	2	-.79956	.88744	.895	-3.35104	1.75192
	4	-2.03182	.88744	.172	-4.58330	.51966
	5	-2.91092*	.88744	.019	-5.46241	-.35944
4	1	4.55591*	.88744	.000	2.00443	7.10740
	2	1.23226	.88744	.639	-1.31922	3.78374
	3	2.03182	.88744	.172	-.51966	4.58330
	5	-.87910	.88744	.858	-3.43059	1.67238
5	1	5.43502*	.88744	.000	2.88353	7.98650
	2	2.11136	.88744	.145	-.44012	4.66285
	3	2.91092*	.88744	.019	.35944	5.46241
	4	.87910	.88744	.858	-1.67238	3.43059

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Transformation by log y+1

Tukey HSD^a

Trial	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
1	8	.00000		
3	8	2.52409	2.52409	
2	8		3.32365	3.32365
4	8		4.55591	4.55591
5	8			5.43502
Sig.		.054	.172	.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Deskripsi subpopulasi, uji Kruskal-Wallis 1-Way anava dan Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W gambaran patologi anatomi sekum lima hari setelah infeksi

Summaries of
By levels of

Variable	Value Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population				
		.8500	.7355	40
PERLAKUA	1	.0000	.0000	8
PERLAKUA	2	1.7500	.4629	8
PERLAKUA	3	.7500	.4629	8
PERLAKUA	4	.6250	.5175	8
PERLAKUA	5	1.1250	.6409	8

Total Cases = 40

----- Kruskal-Wallis 1-Way Anova

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
7.50	8 PERLAKUA = 1
33.25	8 PERLAKUA = 2
19.50	8 PERLAKUA = 3
17.50	8 PERLAKUA = 4
24.75	8 PERLAKUA = 5

--

40 Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
21.0512	4	.0003	24.5199	4	.0001

Corrected for ties

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
4.50	8 PERLAKUA = 1
12.50	8 PERLAKUA = 2
--	
16	Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Z	Corrected for ties 2-Tailed P
.0	36.0	.0002	-3.7033	.0002

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
5.50	8 PERLAKUA = 1
11.50	8 PERLAKUA = 3
--	
16	Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Z	Corrected for ties 2-Tailed P
8.0	44.0	.0104	-3.0000	.0027

--- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

PAS5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases			
5.00	8 PERLAKUA = 1			
11.00	8 PERLAKUA = 4			
	<u>16</u> Total			
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
12.0	48.0	.0379	-2.6112	.0090

PAS5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases			
5.00	8 PERLAKUA = 1			
12.00	8 PERLAKUA = 5			
	<u>16</u> Total			
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
4.0	40.0	.0019	-3.3029	.0010

PAS5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases			
11.75	8 PERLAKUA = 2			
5.25	8 PERLAKUA = 3			
	<u>16</u> Total			
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
6.0	94.0	.0047	-3.0089	.0026

PAS5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases			
11.88	8 PERLAKUA = 2			
5.13	8 PERLAKUA = 4			
	<u>16</u> Total			
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
5.0	95.0	.0030	-3.0571	.0022

PAS5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases			
10.63	8 PERLAKUA = 2			
6.38	8 PERLAKUA = 5			
	<u>16</u> Total			
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
15.0	85.0	.0830	-2.0035	.0451

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
9.00	8 PERLAKUA = 3				
8.00	8 PERLAKUA = 4				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
28.0	72.0	.7209	-.5222	.6015	

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
7.25	8 PERLAKUA = 3				
9.75	8 PERLAKUA = 5				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
22.0	58.0	.3282	-1.2339	.1992	

PASSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
6.88	8 PERLAKUA = 4				
10.13	8 PERLAKUA = 5				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
19.0	55.0	.1949	-1.5858	.1129	

Deskripsi subpopulasi uji Kruskal-Wallis 1-Way anava dan Mann -Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W gambaran histopatologis sekum lima hari setelah infeksi

Summaries of HP5H
By levels of PERLAKUA

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
			2.6750	1.4031	40
PERLAKUA	1		1.2500	.4629	8
PERLAKUA	2		1.7500	.4629	8
PERLAKUA	3		2.1250	.6409	8
PERLAKUA	4		3.3750	.5175	8
PERLAKUA	5		4.8750	.3536	8

Total Cases = 40

--- Kruskal-Wallis 1-Way Anova

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases	
7.75	8	PERLAKUA = 1
13.25	8	PERLAKUA = 2
17.13	8	PERLAKUA = 3
28.06	8	PERLAKUA = 4
36.31	8	PERLAKUA = 5

--
40 Total

Chi-Square	D.F.	Significance	Chi-Square	D.F.	Significance
31.2434	4	.0000	33.1266	4	.0000

Corrected for ties

--- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases	
6.50	8	PERLAKUA = 1
10.50	8	PERLAKUA = 2

--
16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Z	Corrected for ties 2-Tailed P
16.0	52.0	.1049	-1.9365	.0528

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

HPSH
by PEPLAKUA

Mean Rank	Cases
5.75	8 PERLAKUA = 1
11.25	8 PERLAKUA = 3

	16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
10.0	45.0	.0207	-2.5302	.0114

HPSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
4.50	8 PERLAKUA = 1
12.50	8 PERLAKUA = 4

	16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
.0	36.0	.0002	-3.5195	.0004

HPSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
4.50	8 PERLAKUA = 1
12.50	8 PERLAKUA = 5

	16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
.0	36.0	.0002	-3.6140	.0003

HPSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
7.25	8 PERLAKUA = 2
9.75	8 PERLAKUA = 3

	16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
22.0	55.0	.3282	-1.2839	.1992

HPSH
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases
4.50	8 PERLAKUA = 2
12.50	8 PERLAKUA = 4

	16 Total

U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P
.0	36.0	.0002	-3.5195	.0004

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
4.50	8 PERLAKUA = 2				
12.50	8 PERLAKUA = 5				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
.0	36.0	.0002	-3.6140	.0003	

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
5.13	8 PERLAKUA = 3				
11.88	8 PERLAKUA = 4				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
5.0	41.0	.0030	-3.0187	.0025	

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
4.50	8 PERLAKUA = 3				
12.50	8 PERLAKUA = 5				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
.0	36.0	.0002	-3.5688	.0004	

HP5H
by PERLAKUA

Mean Rank	Cases				
4.69	8 PERLAKUA = 4				
12.31	8 PERLAKUA = 5				
	16 Total				
U	W	Exact 2-Tailed P	Corrected for ties Z	2-Tailed P	
1.5	37.5	.0003	-3.4272	.0005	