



**LAPORAN PENELITIAN  
HIBAH PROYEK DUE-LIKE  
BATCH III**



**JUDUL PENELITIAN**

**RESPON SEL GOBLET SEKUM TERHADAP PERKEMBANGAN  
INTRASELULER *Eimeria tenella* PADA  
AYAM PEKA DAN KEBAL**

Oleh :

**Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., Drh  
Muchammad Yunus, Ph.D., M.Kes., Drh.  
Mufasirin, M.Si., Drh**

010407191

**PROYEK DUE-LIKE BATCH III  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
DESEMBER 2006**

**MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL  
PENELITIAN HIBAH PROYEK DUE-LIKE BATCH III**

Judul : Respon Sel Goblet Sekum Terhadap Perkembangan Intraseluler *Eimeria tenella*  
pada Ayam Peka dan Kebal

**Ketua Peneliti**

Nama : Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., Drh.  
Jenis Kelamin : Wanita  
Pangkat /Golongan : Penata Tk. I / IIID  
NIP : 131 837 001  
Jabatan : Lektor  
Fakultas : Kedokteran Hewan

Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Jangka Waktu Penelitian : 6 bulan

Biaya yang diajukan : Rp. 30.000.000,-

---

Surabaya, 12 Desember 2006

Ketua Peneliti

Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., Drh.  
NIP. 131 837 001

Mengetahui :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh  
NIP. 130 687 297

Menyetujui  
Direktur Eksekutif LPIU  
Universitas Airlangga

Tjitjik Sri Tjahjandari, Ph.D  
NIP 131 801 627

## RINGKASAN

### **Respon Sel Goblet Sekum terhadap Perkembangan Intraseluler *Eimeria tenella* pada Ayam Peka dan Kebal**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran secara jelas respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* pada ayam peka dan kebal yang dapat digunakan sebagai landasan teori bagi pengembangan penelitian yang berkaitan.

Sebanyak 85 ekor ayam pedaging CP-707 umur 3 minggu dibagi menjadi 3 kelompok percobaan. Kelompok I (kelompok ayam peka) terdiri dari 40 ekor yang dipelihara sampai umur 5 minggu kemudian diinfeksi  $1 \times 10^3$  dosis ookista bersporulasi *E. tenella* kemudian setiap 2 hari sekali ayam dikorbankan masing-masing sebanyak 5 ekor mulai hari ke 0 sampai hari ke 12 setelah infeksi untuk mengamati respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* dalam hubungannya dengan perubahan patologi (patogenitas) *E. tenella* pada ayam peka melalui pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS) dan 5 ekor terakhir dilakukan perhitungan produksi ookista per hari mulai hari 7-12 setelah infeksi. Kelompok II (kelompok ayam terpapar) terdiri dari 40 ekor umur 3 minggu diinfeksi  $1 \times 10^3$  dosis ookista bersporulasi *E. tenella* dan dilakukan perhitungan produksi ookista per hari mulai hari 7-12 setelah infeksi, kemudian umur 5 minggu dilakukan reinfeksi dengan dosis yang sama seperti infeksi pertama dan dilakukan prosedur yang sama seperti pada kelompok I untuk mengamati respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* dalam hubungannya dengan perubahan patologi (patogenitas) *E. tenella* pada ayam peka melalui pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS). Pada kedua kelompok ayam tersebut dilakukan juga pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis (histopatologis) dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE) untuk mengetahui perubahan patologi (patogenitas) dan perkembangan intraseluler *E. tenella*. Kelompok III terdiri dari 5 ekor ayam yang dipelihara sampai umur 7 minggu dan tidak diinfeksi, kemudian dikorbankan bersama dengan 5 ekor ayam terakhir dari kelompok I dan II untuk diuji OD 405 dari IgA pada mukosa sekum.

Respon sel goblet sekum diekspresikan dalam ratio rata-rata jumlah sel goblet yang aktif dan pasif dan komposisi mucin yang dihasilkan pada kedua kelompok ayam yang terinfeksi dibandingkan dengan ayam kontrol (ayam yang tidak di infeksi atau ayam yang dikorbankan pada hari ke 0 setelah infeksi pada kelompok I). Penghitungan rata-rata jumlah sel goblet dan macam mucin yang dihasilkan dilakukan per 10 unit kripta *Lieberkuhn*. Penghitungan produksi ookista per hari per ekor dilakukan pada awal produksi ookista ( $\pm$  hari ke 7) sampai akhir ( $\pm$  hari ke 12) setelah infeksi baik pada infeksi pertama maupun kedua dengan menggunakan metode pengapungan (*New McMaster Chamber*).

Ayam peka ditandai dengan jumlah produksi ookista yang tinggi serta gejala klinis yang jelas sebaliknya ayam terpapar ditandai dengan jumlah produksi ookista sedikit atau hampir mendekati nol serta gejala klinis tidak kelihatan jelas pada infeksi kedua. Perubahan makroskopis ditandai peradangan, perdarahan dan pembesaran sekum beberapa kali dibandingkan sekum normal dan perubahan mikroskopis ditandai dengan banyak kerusakan epitel mukosa sekum, perdarahan, peradangan dan banyaknya proliferasi parasit pada sel epitel baik dalam stadium schizont maupun gamet pada infeksi pertama (ayam peka), sedangkan perubahan makroskopis dan mikroskopis pada infeksi kedua sangat tereduksi atau sedikit (ayam terpapar).

Sel goblet aktif adalah sel goblet yang besar yang menunjukkan aktif memproduksi mucin dan sebaliknya sel goblet pasif adalah sel goblet kecil dan sedikit memproduksi mucin. Warna sel goblet terlihat biru yang menunjukkan tipe mucin adalah acid pada infeksi *E. tenella* melalui pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS). Perubahan jumlah sel goblet aktif menurun (hypoplasia) pada infeksi *E. tenella* pada ayam peka tetapi pada ayam terpapar tidak terjadi perubahan yang bermakna diduga berhubungan dengan dengan intensitas kerusakan yang ditimbulkan oleh parasit atau jumlah parasit yang dapat berkembang dengan baik. OD 405 Ig A pada mukosa sekum dari ayam yang terpapar lebih tinggi dari ayam peka dan ayam yang tidak diinfeksi.

(Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang dibiayai oleh Proyek DUE-Like Batch III dengan Nomor Kontrak 52/PL/DUE-Like/UA/2006)

## SUMMARY

# RESPONSE OF CECAL GOBLET CELL ON INTRACELLULAR DEVELOPMENT OF *Eimeria tenella* IN SUSCEPTIBLE AND IMMUNE CHICKENS

Lucia Tri Suwanti, Muchammad Yunus, Mufasirin

Department of Veterinary Parasitology  
Faculty of Veterinary Medicine  
University of Airlangga

The purpose of this study is to know clearly illustration of response of cecal goblet cells on intracellular development of *E. tenella* in susceptible and immune chickens. The present study is useful for developing basic science and orientation of interconnected research.

85 males broiler CP-707, 3 weeks old were divided into 3 groups. Group 1 (susceptible chickens) were consisted of at least 40 chickens and kept up to 5 weeks old, then they infected with  $1 \times 10^3$  *E. tenella* sporulated oocysts. Moreover, infected chickens were killed every 2 days from day 0 to day 12 post infection using goblet cell examination and the last 5 chickens were especially the daily oocyst production examination from day 7 to 12 pi. Group 2 (infected chickens) were consisted of at least 40 chickens, 3 weeks old infected with  $1 \times 10^3$  *E. tenella* sporulated oocysts. The daily oocyst production counting was done from day 7 to 12 pi, then at 5 weeks old challenged with the same dose and procedure of group 1. Both group 1 and 2 were performed histopathological examination using Hematoxylin and Eosin staining. Group 3 (uninfected chickens) consisted of 5 chickens, they kept until 7 weeks old and no infection. All chickens of group 3 and the last 5 chickens of group 1 and 2 were tested for IgA titer.

Response cecal goblet cells represented in ratio mean number of active goblet cell and passive goblet cell per 10 crypt units, the type of goblet cell secreted mucin of both groups compared with pre-infected chickens. The daily ooyst production calculated by the McMaster chamber method. Susceptible chickens assessed high number oocyst production and appeared coccidiosis clinical signs and contrary with infected chickens Macroscopical changes (i.e. inflammation, blood diarrhea, cecal enlargement) was

appeared in first infection (as susceptible chickens). Then, microscopical changes determined the great damage of cecal mucosa epithel, bloody, inflammation and proliferation of parasites in the epithel cell as schizont and gamet of first infection, while in the second infection (as infected chickens), to those changes were disappeared. Hypolplasia goblet cells were seen in site infection of susceptible chickens, whereas in infected chickens were relatively unchange. These phenomenon associated with damage intensity by parasite. OD 405 of Ig A in cecal mucosa of infected chickens was higher than susceptible chickens.



## PRAKATA

Puji syukur kami ucapkan kehadirat Allah swt bahwa penelitian yang berjudul: Respon Sel Goblet Sekum terhadap Perkembangan Intraseluler *Eimeria tenella* pada Ayam Peka dan Kebal telah selesai, maka dengan ini kami berharap hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai landasan teori bagi pengembangan penelitian lain yang berkaitan.

Pada kesempatan ini, kami sampaikan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu terlaksananya dan terselesaikannya penelitian ini, antara lain:

1. Prof. Dr. H. Fasich Apt., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya
2. Tjitjik Sri Tjahjandari, Ph.D., selaku Direktur LPIU Unair
3. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh., selaku Dekan FKH Unair
4. Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S., drh., selaku Asisten Direktur bidang Akademik
5. Retno Biyanti, M.S., drh., selaku Koordinator Due-like Batch III FKH Unair
6. Dr. Fedik A. Rantam, selaku PIC Hibah Penelitian dan Kepala Laboratorium Biomolekuler Veteriner FKH Unair
7. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini hingga selesai

Kami menyadari bahwa laporan penelitian ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran kami harapkan untuk kesempurnaan hasil penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi dunia peternakan dan perkembangan ilmu dan teknologi.

Desember, 2006

Peneliti

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN .....	iii
SUMMARY .....	v
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. TUJUAN DAN MANFAAT .....	3
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	10
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	15
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	24
DAFTAR PUSTAKA .....	25
LAMPIRAN .....	28





## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Siklus hidup secara umum <i>Eimeria</i> sp.....	6
Gambar 2. Pengaruh perbedaan status kekebalan ayam terhadap rata-rata total produksi ookista pada infeksi <i>E. tenella</i> .....	15
Gambar 3. Pola produksi ookista per hari pada ayam peka dan kebal pada infeksi <i>E. tenella</i> .....	17
Gambar 4. Pengaruh kekebalan pada jumlah sel goblet sekum pada masing-masing kelompok ayam .....	18
Gambar 5. Pola sel goblet sekum ayam peka dan kebal selama infeksi <i>E. tenella</i> .....	19
Gambar 6. Histologi respon sel goblet sekum selama infeksi <i>E. tenella</i> .....	21
Gambar 7. Rerata OD 405 IgA ayam tidak diinfeksi, ayam peka dan kebal pada infeksi <i>E. tenella</i> .....	22

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Rerata Total Produksi Ookista pada Ayam Peka dan Terpapar.....	15



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Abstrak penelitian mahasiswa yang mengikuti penelitian Hibah Proyek Due-like .....	28



## BAB I

### PENDAHULUAN



Saluran pencernaan merupakan saluran terbuka terhadap setiap organisme baik patogen atau non patogen serta agen toksik yang berada di lingkungan saluran pencernaan tersebut. Sel goblet adalah sel epitel khusus yang secara rutin dan terus menerus memproduksi mukus dan membentuk lapisan mukus yang berperan penting dalam melindungi lapisan mukosa epitel. Sel goblet memberikan respon terhadap keadaan yang bersifat patologi melalui peningkatan produksi dan perubahan komposisi dari mukus yang dihasilkan.

*E. tenella* adalah salah satu spesies patogen dari sembilan spesies *Eimeria* yang menyerang saluran pencernaan ayam dan dapat menimbulkan kerusakan yang berat pada sel epitel sekum dan ditandai dengan gejala klinis berupa berak darah, penurunan produksi serta morbiditas dan mortalitas yang tinggi.

Gejala klinis koksidiosis sekum dengan perubahan yang dramatis berupa kerusakan yang hebat dari mukosa sekum menyebabkan penurunan kemampuan absorpsi, perdarahan yang berhubungan erat dengan dinamika respon kekebalan dan peradangan (Rose and Hesketh, 1991). Pada keadaan subklinis, koksidiosis sekum mengakibatkan kerusakan lokal epitel tetapi seringkali diikuti infeksi sekunder yang potensial dari bakteri patogen seperti *Clostridium perfringens*. Fakta, beberapa hasil penelitian yang telah dikembangkan menunjukkan bahwa infeksi *Eimeria* selalu diiringi dengan kejadian enteritis nekrotik yang diakibatkan *Clostridium* sering terjadi ayam (William *et al.*, 2003).

Belum ada atau sedikit sekali literatur yang menggambarkan secara jelas hubungan antara sel goblet sebagai sel epitel khusus yang memproduksi mucin yang berperan sebagai barier permukaan mukosa usus dari infeksi *Eimeria* sp.

Bertolak dari latar belakang tersebut, penelitian ini di disain untuk mengetahui respon sel goblet sebagai salah satu sel pertahanan mukosa usus pada ayam peka dan kebal terhadap infeksi *E. tenella*.

### **RUMUSAN MASALAH:**

1. Apakah ada perbedaan respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* pada ayam peka dan sudah kebal
2. Apakah ada perbedaan karakteristik respon sel goblet (kualitatif dan kuantitatif) terhadap infeksi *E. tenella* pada kedua jenis status ayam tersebut
3. Apakah ada perbedaan profile IgA mukosa sekum pada ayam yang peka dan kebal terhadap infeksi *E. tenella*.

## BAB II

### TUJUAN DAN MANFAAT

#### Tujuan Penelitian

1. Mengetahui gambaran secara jelas tentang respon sel goblet terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* pada ayam peka maupun yang sudah kebal serta bagaimana titer antibodinya.
2. Mengetahui karakteristik respon sel goblet (kualitatif dan kuantitatif) terhadap infeksi *E. tenella* pada kedua jenis status ayam tersebut
3. Mengetahui profile IgA antibodi pada ayam yang peka dan kebal terhadap infeksi *E. tenella*.

#### Manfaat Penelitian

Mendapatkan informasi baru tentang peranan dan respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* pada ayam peka dan kebal serta profile IgA dari kedua status ayam yang dapat digunakan sebagai landasan teori bagi pengembangan penelitian lain yang berkaitan.

Informasi ini dapat mengetahui keadaan fungsi sel goblet sebagai sel pertahanan pertama terhadap *Eimeria* sp. yang menyerang intestin yang secara tidak langsung dapat mengontrol agen patogen yang lain berupa infeksi ikutan yang sering menyertai infeksi *Eimeria*.

## BAB III

### TINJAUAN PUSTAKA

#### Etiologi

Koksidia adalah parasit intraseluler yang berkembang dalam saluran pencernaan induk semangnya, penyakit yang ditimbulkan disebut koksidiosis (Yun *et al.*, 2000). Menurut Soulsby (1986) koksidiosis pada ayam dibagi menjadi dua macam, yaitu koksidiosis sekum yang disebabkan *E. tenella* dan koksidiosis usus halus disebabkan *E. 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*. *E. tenella* disebut juga *E. avium*, *E. bracket*, *Coccidium tenellum* dan *Coccidium globosum* (Levine, 1985).

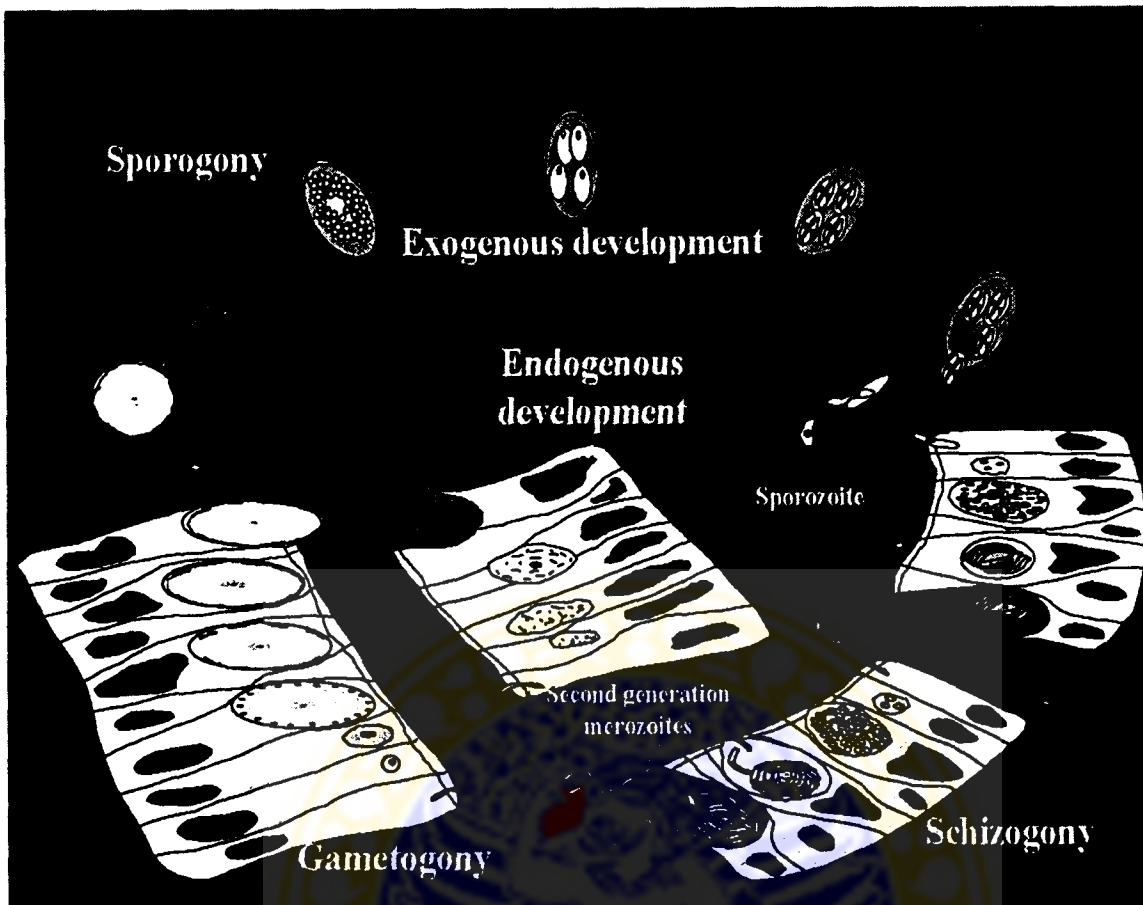
#### Siklus Hidup *Eimeria tenella*

Siklus hidup *E. tenella* meliputi 3 tahap perkembangbiakan 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). Agar ookista berspora atau infeksi dengan sempurna maka 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 eksistensi 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 (Lillehoj, 1998). Sporozoit yang telah bebas menembus epitel sekum menuju tunika propria. Sporozoit ditangkap oleh makrofag dan dibawa ke kelenjar *Lieberkuhn*. *Eimeria* sp. kebanyakan menginvasi daerah kript *Lieberkuhn* dari epitel usus, walaupun schizont atau gametosit atau zigot ada di permukaan sel epitel. Sporozoit yang telah masuk ke epitel usus berkembangbiak secara skizogoni membentuk skizon, kemudian skizon pecah keluarlah merozoit yang segera menyerang sel epitel baru. 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. Periode prepaten *E. tenella* adalah 7 hari, produksi ookista mencapai puncak pada hari ke 10 setelah infeksi, setelah itu menurun drastis.





Gambar 1. Siklus Hidup Secara Umum *Eimeria* sp. (Shirley, 1999)

### Patogenesis

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 patologi 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. Tanda patologi anatomi yang mencolok dan terlihat jelas yaitu adanya perdarahan sampai timbulnya perkejuan yang mengeras pada

sekum (Reid, 1972). Perubahan patologi pada sekum meningkat sejalan dengan perkembang 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 Ressang (1984) bahwa gambaran patologi anatomi yang khas adalah pembengkakan kantong sekum dan berisi gumpalan darah yang kadang bercampur eksudat dengan disertai lesi-lesi pada mukosa usus, sedang histopatologinya 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 terlepas 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 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 *et al.*, 1980).

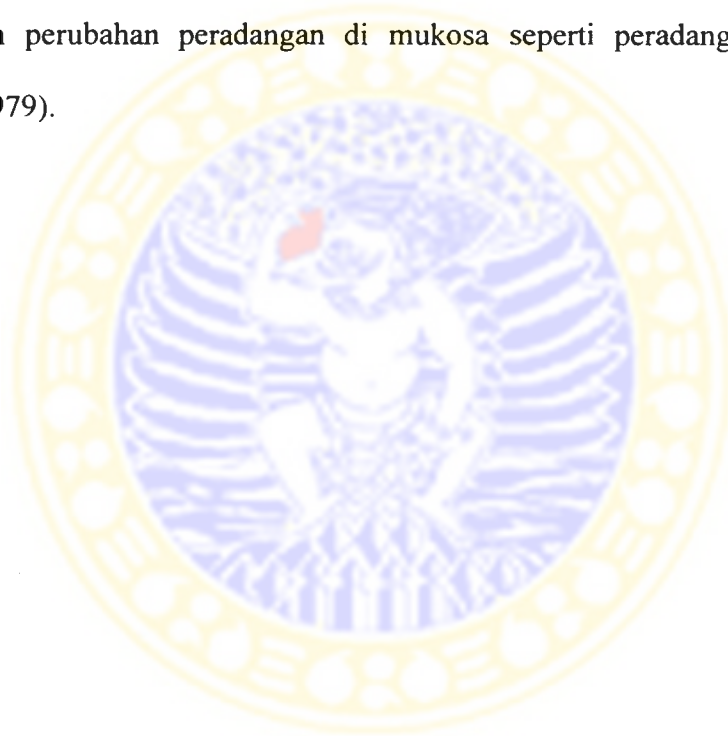
Dinding sekum menebal, sel-sel epitel rusak diikuti terlepasnya merozoit, darah dan jaringan yang rusak kedalam lumen sekum. Tingkat infeksi bervariasi tergantung breed, umur dan makanan dari ayam serta keganasan ookista yang diinfeksi (Reid *et al.*, 1984).

### **Sel Goblet Saluran Pencernaan**

Sel goblet berasal dari hasil mitosis sel stem multipotensial yang berada di dasar dari kript *Lieberkuhn* (Cheng dan Leblond, 1974) atau hasil diferensiasi dari sel yang berada di dasar kript *Lieberkuhn* yaitu sel oligomucus (Cheng, 1974). Analisis kinetik dinamika sel goblet pada usus halus mencit menunjukkan bahwa sel goblet bermigrasi dari dasar kript *Lieberkuhn* ke ujung vili usus, di mana sel ini banyak mengalirkan produksi mucin ke dalam lumen usus (Merzel dan Leblond, 1969). Sel goblet usus tersebar sepanjang saluran usus mamalia. Jumlah dan volume sel goblet di usus halus dan usus besar tikus semakin ke belakang semakin meningkat (Kemper dan Specian). Sel goblet memproduksi mucin yang berfungsi menjaga dan membentuk lapisan mucus yang berada di permukaan mukosa usus. Mucus adalah bahan pekat kental elastis yang melapisi seluruh permukaan mukosa (Miller, 1987). Mucus saluran pencernaan mempunyai tiga fungsi antara lain: proteksi lapisan mukosa dari kerusakan akibat pengaruh kimia dan fisik, melumasi permukaan mukosa untuk memfasilitasi jalannya isi lumen usus, dan menghilangkan parasit melalui pengikatan dan penjeratan (Florey, 1955).

Diferensiasi sel goblet dalam konteks respon proteksi melawan parasit usus tidak jelas. Korelasi antara hiperplasia sel goblet dan perkembangan kekebalan terhadap nematoda dan *Eimeria* adalah dua fenomena yang saling berkaitan (Miller, 1987)

Serum antibodi diketahui merangsang sekresi sel goblet diikuti formasi kompleks imun (Walker *et.al.*, 1977) dan umpan atau signal balik antara sekresi sel goblet dan kelenjar kripa yang mana merangsang diferensiasi stem sel (Miller, 1984). Kemungkinan lain, kompleks imun mengaktivasi sel-sel lain di lamina propria untuk memproduksi atau mengeluarkan faktor stimulasi sel goblet. Perubahan permeabilitas usus dilaporkan terjadi selama infeksi nematoda (Murray, 1972; Jarrett dan Miller, 1982; Miller, 1984) dan infeksi *Eimeria* pada ayam (Rose, 1987). Infeksi pertama menyebabkan perubahan permeabilitas yang mana mungkin dirangsang oleh kerusakan mekanis sederhana, dan oleh perkembangan perubahan peradangan di mukosa seperti peradangan sel yang terinfeksi (Nawa, 1979).



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Hewan coba

Ayam pedaging strain CP 707 produksi Charoen Pokphand sebanyak 100 ekor berumur satu hari (DOC) dipelihara dalam kandang *brooder* dan diberikan diet standar yang disusun berdasarkan metode Sabrani dkk., (1981) dan tidak mengandung koksidiostat. Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Setelah mencapai umur 3 minggu ayam dipindah ke kandang baterai secara individual, acak, dan siap dilakukan perlakuan.

#### 4.2 Parasit

Agen patogenik yang digunakan adalah ookista infeksi *E. tenella* yang diisolasi dari strain lokal yang dipelihara secara rutin dan dipasasekan berulang melalui oral pada ayam pedaging.

#### 4.3 Prosedur penelitian

Sebanyak 85 ekor ayam pedaging CP-707 umur 3 minggu dibagi menjadi 3 kelompok percobaan. Kelompok I (kelompok ayam peka) terdiri dari 40 ekor yang dipelihara sampai umur 5 minggu kemudian diinfeksi  $1 \times 10^3$  dosis ookista bersporulasi *E. tenella* kemudian setiap 2 hari sekali ayam dikorbankan masing-masing sebanyak 5 ekor mulai hari ke 0 sampai hari ke 12 setelah infeksi untuk mengamati respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* dalam hubungannya dengan perubahan patologi (patogenitas) *E. tenella* pada ayam peka melalui pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS) dan 5 ekor terakhir dilakukan

perhitungan produksi ookista per hari mulai hari 7-12 setelah infeksi dengan menggunakan metode pengapungan (*New McMasterChamber*) (Yunus *et al.*, 2005).. Kelompok II (kelompok ayam kebal) terdiri dari 40 ekor umur 3 minggu diinfeksi  $1 \times 10^3$  dosis ookista bersporulasi *E. tenella* dan dilakukan perhitungan produksi ookista per hari mulai hari 7-12 setelah infeksi, kemudian umur 5 minggu dilakukan reinfeksi dengan dosis yang sama seperti infeksi pertama dan dilakukan prosedur yang sama seperti pada kelompok I untuk mengamati respon sel goblet sekum terhadap perkembangan intraseluler *E. tenella* dalam hubungannya dengan perubahan patologi (patogenitas) *E. tenella* pada ayam peka melalui pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS). Pada kedua kelompok ayam tersebut dilakukan juga pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis (histopatologis) dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE) untuk mengetahui perubahan patologi (patogenitas) dan perkembangan intraseluler *E. tenella*. Kelompok III (kelompok ayam yang tidak diinfeksi) terdiri dari 5 ekor ayam yang dipelihara sampai umur 7 minggu dan tidak diinfeksi, kemudian dikorbankan bersama dengan 5 ekor ayam terakhir dari kelompok I dan II untuk diuji OD 405 IgA pada mukosa sekum. Penghitungan rata-rata jumlah sel goblet dilakukan per 10 unit kripa *Lieberkuhn* (Chadee dan Meerovitch, 1985; Seo, *et al.*, 2003).

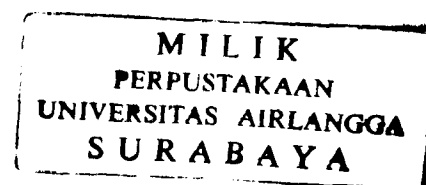
#### 4.4 Pewarnaan Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS)

Sekum difiksasi dalam *Neutral Buffer formalin* 10% selama 12 jam. Jaringan sekum selanjutnya didehidrasi dengan alkohol bertingkat dan diblok dalam paraffin. Pemotongan jaringan sekum sebesar 4-5  $\mu\text{m}$  dalam *embedding* paraffin. Setiap sampel dibuat 2 slide dan didefaraffinisasi dengan Xylol (dipping 3 kali masing-masing 10

menit) → rehidrasi (alkohol konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70% dengan jalan dipping 4-5 kali untuk masing-masing konsentrasi) → cuci dengan air mengalir → Dipping dalam 3% acetic acid selama 3 menit → Dipping dalam Alcian-Blue ( $\pm$  10-30 menit) → Dipping dalam aquadest ( $\pm$  3-5 menit) → Dipping dalam Schiff reagen ( $\pm$  15-30 menit) → Dipping dalam Sulfurous Acid Solution (3 menit sebanyak 3 kali) → cuci dengan air mengalir ( $\pm$  5 menit) → dehidrasi dalam alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100% dengan jalan dipping 4-5 kali untuk masing-masing konsentrasi) → clearing dalam Xylool (dipping 3 kali masing-masing 10 menit). Interpretasi hasil dari pewarnaan AB-PAS sbb: Acid mucin berwarna biru, Neutral mucin berwarna merah dan campuran antara acid dan neutral mucin berwarna ungu.

#### 4.5. Pembuatan whole protein dari ookista *E. tenella*

Ekstraksi protein dilakukan dengan teknik sonikasi. Suspensi ookista *E. tenella* dicuci dengan PBS dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 16.000 rpm selama 5 menit. Pelet dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali dengan cara yang sama. Pelet dilarutkan dengan PBS 1 ml kemudian disonikasi pada 45 Hz selama 10 x 1 menit. Larutan hasil sonikasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 16.000 rpm selama 5 menit kemudian supernatan diambil. Pelet yang didapatkan kemudian dicuci dengan PBS 3-5 kali sampai bersih dengan cara sentrifugasi dengan cara yang sama seperti di atas. Pelet yang didapatkan dilarutkan dengan PBS sebanyak 1-2 ml. Untuk memurnikan, protein didialisis semalam sehingga didapatkan protein yang bebas dari garam lain. Konsentrasi protein diukur menggunakan spektrofotometer pada OD 590.



#### 4.6. Preparasi IgA mukosa anti *E. tenella*

Dua minggu setelah infeksi kedua dikorbankan dan sekum diambil. Sekum kemudian dibersihkan dari feces kemudian dikerok permukaan mukosanya dan hasil kerokan ditimbang kemudian diencerkan dengan PBS

#### 4.7. ELISA

Seratus  $\mu\text{l}$  larutan protein *E. tenella* protein dalam PBS (konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$ ) diinkubasikan dalam sumuran mikroplet semalam pada suhu 4 ° C. Cuci dengan *washing buffer* tiga kali. Tambahkan ke dalam sumuran 200  $\mu\text{l}$  *blocking solution* dan inkubasi selama 1 jam pada suhu 37 ° C, lakukan pencucian tiga kali dengan *washing buffer*. Selanjutnya tambahkan ke dalam sumuran 100  $\mu\text{l}$  supernatan mukosa sekum dan di inkubasi 1 jam pada suhu 37 ° C. Cuci dengan *washing buffer* tiga kali lalu tambahkan 150  $\mu\text{l}$  *goat anti-chicken Ig A* yang di label dengan alkaline phosphatase (pengenceran 1: 600) dan diinkubasi 1 jam pada suhu 37 ° C. Cuci dengan *washing buffer* tiga kali dan tambahkan 100  $\mu\text{l}$  substrat PNPP lalu inkubasi 15 menit pada suhu 37 ° C. Reaksi warna dihentikan dengan NaOH 1 N lalu dibaca dengan ELISA *reader*.

#### 4.8. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

#### 4.9 Analisa data

Respon sel goblet sekum terhadap infeksi *E. tenella* dan total produksi ookista pada infeksi pertama (ayam peka) dan kedua (ayam kebal) masing-masing ditandai dengan jumlah rata-rata sel goblet aktif / pasif dan tipe mucin yang dihasilkan tiap 10 kripta *Lieberkuhn* dan jumlah total produksi ookista selama infeksi (periode paten) dan ekspresi IgA.



Data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisa secara statistik dengan menggunakan *F test* dengan taraf kepercayaan 5 %



## BAB V

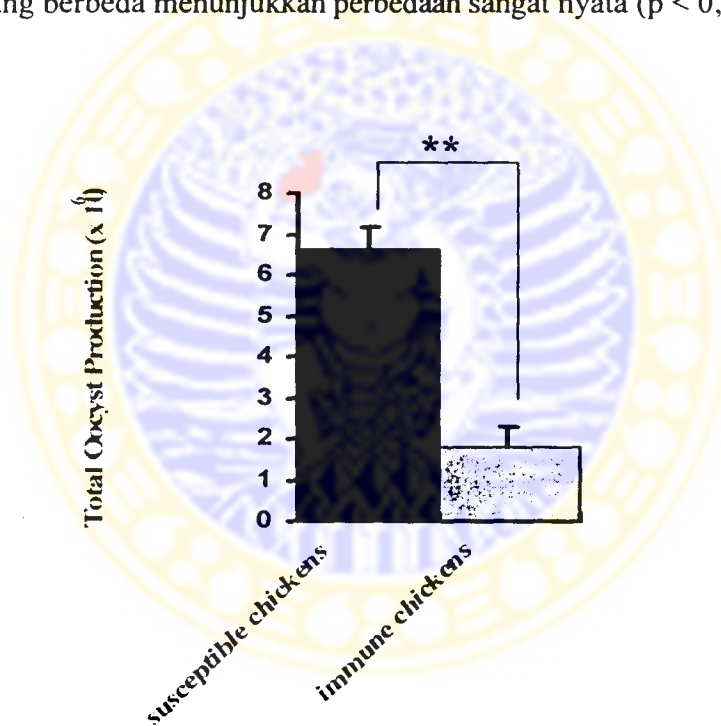
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Pengaruh Kekebalan terhadap Total Produksi Ookista

Tabel 1. Rerata Total Produksi Ookista pada Ayam Peka dan Terpapar

Status Ayam	Rerata Total Produksi Ookista
Ayam Peka	6631524 <sup>a</sup> ± 547361,9
Ayam Kebal	1792285 <sup>b</sup> ± 507565,4

Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ( $p < 0,01$ )



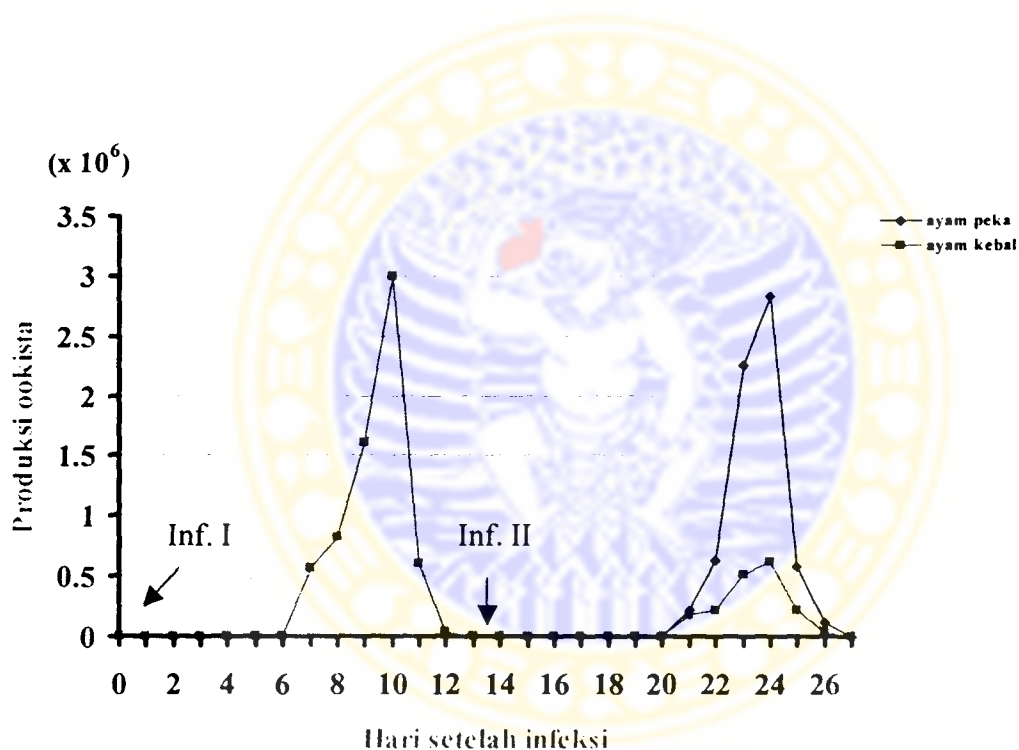
Gambar 2. Pengaruh perbedaan status kekebalan ayam terhadap rata-rata total produksi ookista pada infeksi *E. tenella*, \*\*  $p < 0,01$

Pada penelitian ini, kekebalan ayam berpengaruh sangat nyata terhadap total produksi ookista. Secara statistik total produksi ookista pada ayam kebal menurun sangat

signifikan ( $p < 0,01$ ) sekitar 75 % dibanding ayam peka atau yang baru pertama kali terinfeksi *E. tenella* (Gambar 2). Gejala klinis anemia, anoreksia yang timbul pada ayam kebal jauh lebih ringan dibandingkan dengan ayam peka. Warna dan konsistensi feses mendekati normal pada ayam kebal dibandingkan ayam peka. Perubahan patologi dari sekum dan skor perlukaan sekum pada ayam kebal lebih ringan dibandingkan ayam peka. Perkembangan endogenus dari *E. tenella* yang meliputi perkembangan intraseluler (skizogoni dan gametogoni) pada ayam kebal mengalami hambatan dan tidak berjalan dengan sempurna. Perkembangan skizon dari beberapa generasi mengalami degenerasi sehingga tidak mengalami mature dimana pada saat skizon matur biasanya selalu diikuti pecahnya skizon dan pecah sel epitel sekum yang mengakibatkan perdarahan dan kerusakan epitel mukosa sekum. Sebagian besar parasit yang tidak dapat berkembang sesuai dengan siklus hidupnya. Perkembangan gamet yang tidak sempurna menimbulkan gangguan pada perkawinan antara mikrogamet dan makrogamet sehingga banyak terjadi kegagalan dalam pembentukan ookista. Sebaliknya pada ayam peka, parasit dapat berkembang sesuai dengan siklus hidupnya dan dapat membentuk ookista dengan sempurna karena proses perkawinan mikrogamet dan makrogamet tidak mengalami hambatan. Infeksi dengan satu spesies *Eimeria* akan menginduksi kekebalan induk semang secara spesifik terhadap spesies *Eimeria* tersebut (Yun *et al.*, 2000). Beberapa fakta membuktikan bahwa inokulasi ookista dalam jumlah besar dikehendaki untuk menghasilkan respon kekebalan melawan *Eimeria*, kecuali *E. maxima* yang sangat imunogenik, dengan sedikit inokulasi ookista sudah menginduksi kekebalan lengkap. Stadium awal dari perkembangan endogenus dari siklus hidup diyakini lebih imunogenik dibandingkan fase akhir dari stadium seksual (Yun *et al.*, 2000), tetapi Wallach *et al.*,

(1990, 1995) menunjukkan bahwa imunisasi dengan gamet rekombinan dapat menginduksi kekebalan sebagian terhadap infeksi tantangan. Studi menggunakan ookista yang telah diradiasi dapat menghambat perkembangan intraseluler tetapi tidak sampai pada tahap invasi dan menunjukkan kekebalan sebagian melawan infeksi tantangan. Hal ini membuktikan bahwa sporozoit mungkin juga bersifat imunogenik

**Gambaran Pola Produksi Ookista per hari Ayam Peka dan Kebal yang diinfeksi *E. tenella***

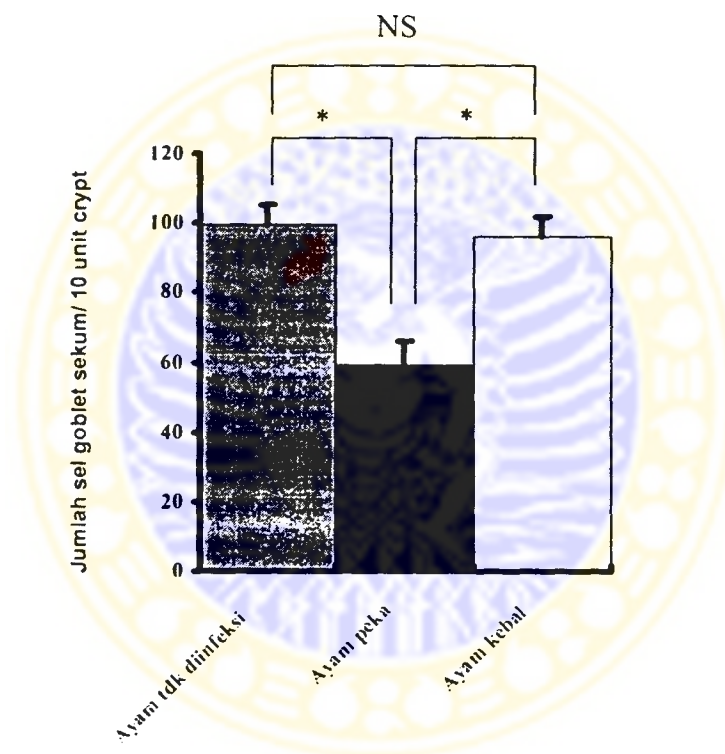


Gambar 3. Pola produksi ookista per hari pada ayam peka dan kebal pada infeksi *E. tenella*. Ookista pertama kali dikeluarkan pada hari 7 setelah infeksi, kemudian mencapai puncak produksi pada hari ke 10 dan berkurang secara drastis dan hampir mendekati nol pada 12 hari setelah infeksi. Masing-masing nilai dari produksi ookista per hari direpresentasikan dalam rata-rata 5

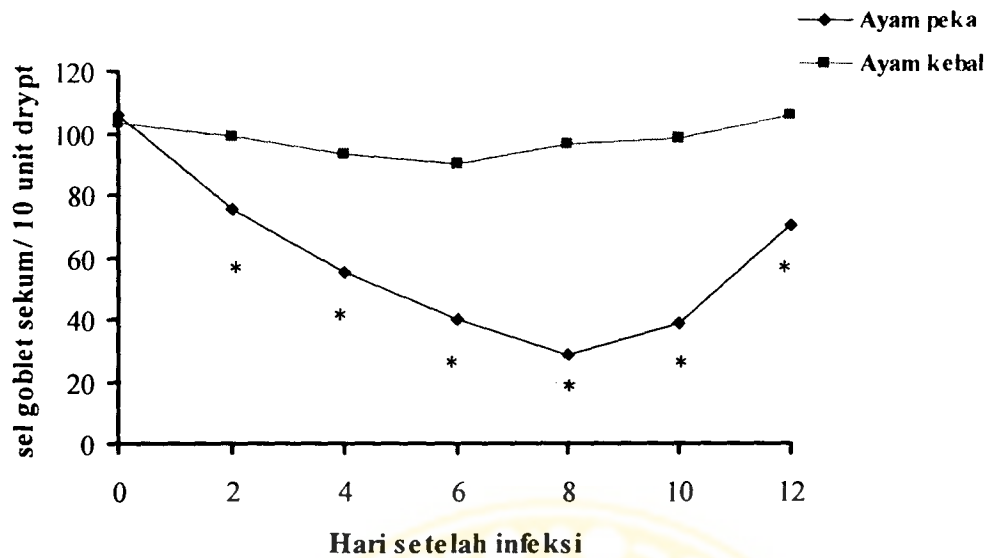
Secara umum pola produksi ookista per hari pada ayam peka dan kebal adalah sama akan tetapi pada infeksi pertama puncak produksi ookista jauh lebih tinggi, sekitar 6 kali

dibandingkan infeksi tantangan (Gambar 3). Infeksi pertama dengan *E. tenella* pada ayam akan menginduksi kekebalan melawan infeksi tantangan sehingga perkembangan parasit pada infeksi tantangan terhambat oleh kekebalan yang terjadi dan produksi ookista per hari secara dramatis menurun seiring dengan hambatan perkembangan endogenous parasit.

### Respon Sel Goblet Sekum pada Perkembangan Intraseluler *E. tenella*



Gambar 4. Pengaruh kekebalan pada jumlah sel goblet sekum pada masing-masing kelompok ayam. Dari kiri ke kanan, masing-masing kolom merepresentasikan status kekebalan. Setiap nilai merepresentasikan mean  $\pm$  SD dari 5 ayam. \*  $p < 0.05$



Gambar 5. Pola sel goblet sekum ayam peka dan kebal selama infeksi *E. tenella*. Sel goblet direpresenyasikan dalam jumlah rata-rata per 10 unit crypt masing-masing 5 ayam/kelompok dan \* menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan hari ke 0 dari ayam yang diinfeksi.

Secara dramatis penurunan jumlah sel goblet sekum yang terjadi pada ayam peka dibandingkan dengan ayam yang tidak diinfeksi tetapi tidak ada penurunan yang signifikan pada ayam kebal (Gambar 4, 5 dan 6). Jumlah sel goblet sekum menurun dari hari ke 2 setelah infeksi dan berlanjut sampai hari ke 8 (Gambar 5). Pada hari ke 8 setelah infeksi jumlah sel goblet sekum mendekati 4 kali lebih rendah dibanding pada hari 0. Jumlah sel goblet sekum mengalami peningkatan kembali setelah hari ke 10 setelah infeksi. Infeksi selalu berhubungan dengan berbagai perubahan histopatologis di lokasi infeksi (Gambar 6). Perubahan histopatologis termasuk hiperplasia dari sel enterocyte dari crypt, kerusakan terhadap permukaan mukosa dan infiltrasi ekstensif dalam lamina propria merupakan bukti dari adanya infeksi pada sekum. Jumlah parasit yang banyak secara intraseluler selalu berhubungan dengan lesi histopatologis. Pada infeksi *E. tenella*

secara dominan parasit menginvasi daerah kript dari sekum dan epitel, meskipun gametosit/ sigot ada dalam permukaan sel epitel. Keadaan ini adalah tipikal dari infeksi parasit koksidia yang menginfeksi epitel usus besar (Gregory dan Catchpole, 1990) dan respon peradangan induk semang nampak adanya perubahan-perubahan (Ruff dan Allen, 1990). Fakta yang ada infeksi *E. tenella* menyebabkan penurunan dramatis jumlah sel goblet sekum terbatas pada lokasi infeksi dan bukan pada tempat yang lain. *E. tenella* berkembang dalam area crypt yang mengandung *multipotential stem cells* (Cheng, 1974), penurunan jumlah sel goblet merefleksikan kerusakan populasi *stem cell*. Sesungguhnya sel goblet berasal dari mitosis *multipotential stem cells* pada dasar crypt dan pengurangan jumlah sel goblet merupakan bukti yang kuat adanya infeksi di daerah crypt dan daerah sekitarnya. Sebagian peristiwa dan perubahan ini terjadi pada ayam peka, tetapi sebaliknya tidak demikian halnya dengan ayam kebal dimana kekebalan yang ada melindungi atau menekan daerah kerusakan crypt dan sekitarnya sehingga depresi dari jumlah sel goblet sekum relatif tidak berubah (Gambar 4, 5 dan 6).

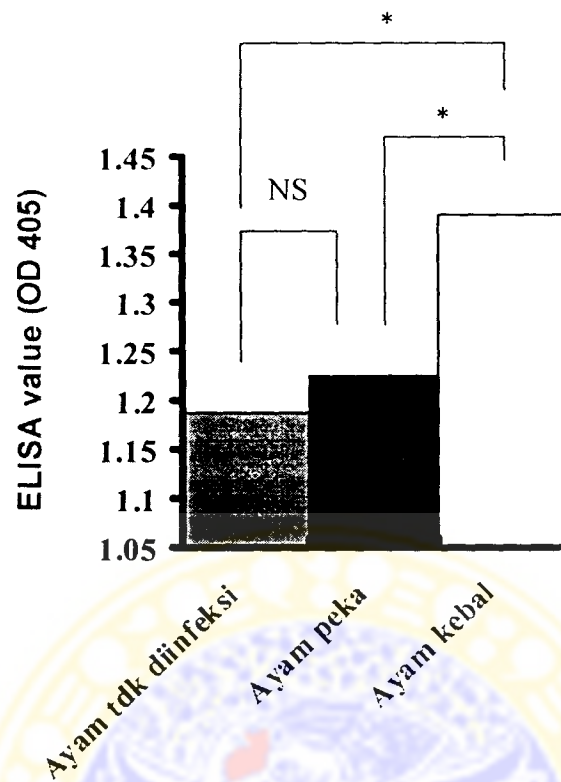
### **Gejala Klinis, Perubahan Histopatologi pada Ayam Peka dan Kebal**

Ayam peka ditandai dengan jumlah produksi ookista yang tinggi, gejala klinis yang jelas sebaliknya ayam kebal, jumlah produksi ookista sedikit atau hampir mendekati nol, gejala klinis tidak jelas. Perubahan makroskopis berupa peradangan, perdarahan dan pembesaran sekum beberapa kali dibandingkan normal dan perubahan mikroskopis berupa kerusakan epitel mukosa sekum, perdarahan, peradangan dan proliferasi parasit pada sel epitel pada stadium schizont, gamet pada ayam peka, sedangkan perubahan makroskopis dan mikroskopis pada ayam kebal sangat tereduksi.



Gambar 6. Histologi respon sel goblet sekum selama infeksi *E. tenella*. Panel A, B merepresentasikan ayam yang tidak diinfeksi; panel C, D merepresentasikan ayam peka pada hari ke 8 setelah infeksi dan panel E, F merepresentasikan ayam kebal terhadap infeksi *E. tenella* pada hari ke 8 setelah infeksi. Sampel sekum (ABCDEF) ditampilkan pada perbesaran 100x. Tissue difiksasi dalam 10% neutral buffered formalin dan diwarnai dengan Alcian Blue and Periodic Acid Schiff AB-PAS (panel A, C, E) or H & E (panel B, D, F). Representasi sel goblet ditunjukkan anak panah (A, C, E) dan parasit anak panah (D, F)

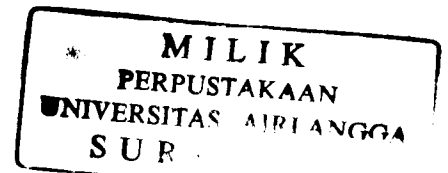




Gambar 7. Rerata *Optical Density* 405 IgA ayam tidak diinfeksi, ayam peka dan kebal pada infeksi *E. tenella*. Dari kiri ke kanan, masing-masing kolom merepresentasikan status kekebalan. Setiap value direpresentasikan rerata 5 ayam. NS, tidak berbeda secara signifikan;

Pada ayam peka *Optical Density* 405 IgA secara signifikan lebih rendah daripada ayam kebal (Gambar 7) dan juga pada ayam yang tidak diinfeksi dikarenakan pada ayam yang terinfeksi pertama kali belum banyak antigen parasit yang dikenali sel M dan merangsang respon imun aktif menggunakan jalan konvensional. Antigen melalui sel M, mereka berinteraksi dengan macrophages subepitel yang terdapat dalam kantong sel M (Ermak *et al.*, 1990) dan dalam kantong sel M juga mengandung sel B (*plasma cell*) yang mensintesis IgA. Pada ayam kebal banyak area yang terdapat banyak parasit sehingga antibodi spesifik IgA lebih tinggi. Girard *et al.*, (1997) mengatakan bahwa pada ayam

yang terinfeksi *Eimeria*, produksi antibodi spesifik IgA dan IgM secara signifikan lebih tinggi pada area infeksi dibandingkan dengan area yang tidak banyak parasitnya.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

- Respon sel goblet sekum pada perkembangan intraseluler *E. tenella* bersifat lokal pada tempat infeksi.
- Ayam peka: perkembangan intraseluler *E. tenella* menekan jumlah sel goblet sekum pada tempat infeksi (*hypoplasia goblet cell*) berhubungan dengan kerusakan yang ditimbulkan.
- Ayam kebal: kekebalan ayam melindungi tempat infeksi dari kerusakan yang diakibatkan perkembangan intraseluler *E. tenella* sehingga jumlah sel goblet sekum pada tempat infeksi relatif tidak berubah.
- Sebagian besar mucin yang dihasilkan sel goblet sekum pada infeksi *E. tenella* bersifat acid mucin (biru).
- OD 405 IgA pada ayam kebal lebih tinggi dari pada ayam peka.

#### SARAN

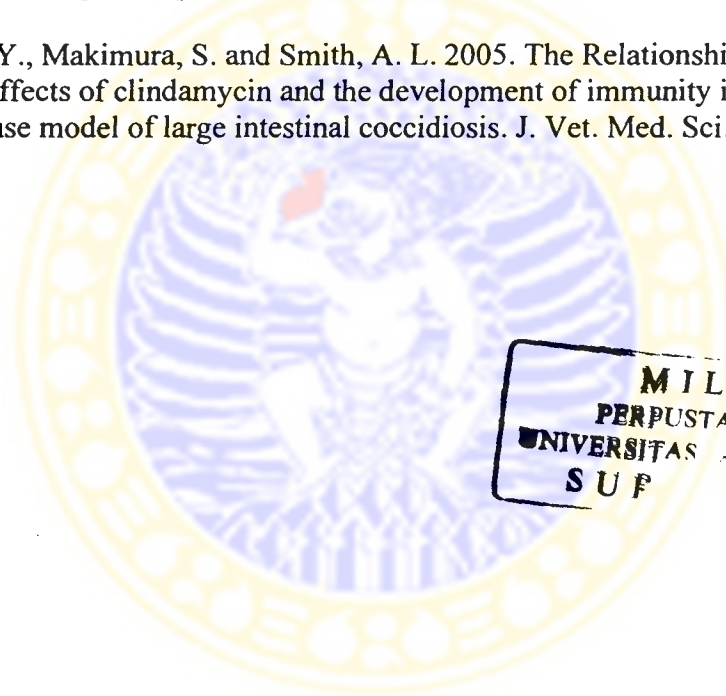
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komposisi dari mucin yang dihasilkan sel goblet sekum pada saat terinfeksi *E. tenella*.
- Dari hasil penelitian ini dianjurkan agar ayam yang dipelihara secara intensif dilakukan vaksinasi terhadap *Eimeria*

**DAFTAR PUSTAKA**

- Chadee, K. and Meerovitch, E. 1985. *Entamoeba histolytica*: early progressive pathology in the cecum of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). Am. J. Med. Hyg. 34: 283-291.
- Cheng, H. 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. II. Mucous cells. Am. J. Anat. 141: 481-501.
- Cheng, H. And Leblond, C. P. 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. IV. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. Am. J. Anat. 141: 537-561.
- Ermak, T. H., Steger, H. J. and Pappo, J. 1990. Phenotypically distinct subpopulations of T cells in domes and M-cell pockets of rabbit gut-associated lymphoid tissues. Immunology 71: 530-537.
- Florey, H. W. 1955. Mucin and the protection of the body. Proceeding of the royal society of London, B 143: 147-158.
- 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. J. Parasitol. 27: 803-809.
- Gregory, M. W. and Catchpole, J. 1990. Ovine coccidiosis: the pathology of *Eimeria crandallis* infection. Int. J. Parasitol. 20: 849-860.
- Jarrett, E. E. E. and Miller, H. R. P. 1982. Production and activities of Ig E in helminth infection. Progress in Allergy 31: 178-233.
- Kemper, A. C. and Specian, J. S. Rat small intestinal mucins: a quantitative analysis. Am. J. Anat. In press.
- Levine, N. D. 1985. Veterinary Protozoology. 2<sup>nd</sup> ed. Burgess Publishing Company. Minnesota, USA.
- Lillehoj, H. S. 1998. Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. Int. J. Parasitol. 28; 1071-1081.
- Long, P. L., Johnson, J. and Wyatt, R. D. 1980. *Eimeria tenella*: Clinical effects in partially immune and susceptible chickens. Poult. Sci. 59: 2221-2224.
- Merzel, J. and Leblond, C. P. 1969. Origin and renewal of goblet cells in the epithelium of the mouse small intestine. Am. J. Anat. 124: 281-306.
- Miller, H. R. P. 1984. The protective mucosal response against gastrointestinal

- Nematodes in ruminants and laboratory animals. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 6: 167-259.
- Miller, H. R. P. 1987. Gastrointestinal mucus, a medium for survival and for elimination of parasitic nematodes and protozoa. *Parasitology* 94: S77-S100.
- Murray, M. 1972. Immediate hypersensitivity effector mechanisms. II *In vivo* reactions. *In Immunity to Animal Parasites* (ed. E. J. L. Soulsby), pp. 155-90. New York: Academic Press.
- Nawa, Y. 1979. Increased permeability of gut mucosa in rates infected with *Nippostrongylus brasiliensis*. *Int. J. Parasitol.* 9: 251-256.
- Reid, W. M. 1972. Coccidiosis. pp 944-989 in Hofstad, M. S., Calnek, B. W., Helmboldt, C. H., Reid, W. M. and Joyner Jr, H. W. *Disease of Poultry*. 6<sup>th</sup> ed. Iowa-State Univ. Press. Ames-Iowa
- Reid, W. M., Long, P. L. and McDouglad, L. R. 1984. Coccidiosis In Hofstad, M. S., Calnek, B. W., Helmboldt, C. H., Reid, W. M. and Joyner Jr, H. W. ed. *Disease of poultry* 8<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press. Ames. Iowa 692-704.
- Ressang, A. A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. 2<sup>nd</sup> ed. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. 607.
- Rose, M. E. 1987. The influence of age of host on infection with *Eimeria tenella* *J. Parasitol.* 53: 924-929.
- Rose, M. E. and Hesketh, P. 1991. *Eimeria tenella*: localization of the sporozoites in the caecum of the domestic fowl. *Parasitology* 102: 317-324.
- Ruff, M. D. and Allen, P. C. 1990. Pathophysiology. pp. 263-280. *In: Coccidiosis of man and domestic animals* (Long, P. L. ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Sabrani, M., Suroprawiro, P. dan Siregar, A. P. 1981. *Teknik Beternak Ayam Ras di Indonesia* Margie Group Jakarta 43-78.
- Shirley, M.W. 1999. *Eimeria*. Cited from <http://www.iah.bbsrc.ac.uk/eimeria/lifecycle.htm>
- Seo, M., Guk, S.-M., Han, E. -T. and Chai, J. -Y. 2003. Role of intestinal goblet cells in the expulsion of *Gymnophalloides seoi* from mice. *J. Parasitol.* 89: 1080-1082.
- Soulsby, E. J. L. 1986. *Helminth, Arthropod and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th ed. Bailliere Tindall London. 630-635.
- Walker, W. A., Wu, M. and Bloch, K. J. 1977. Stimulation by immune complexes of mucus release from goblet cells of the rat small intestine. *Science* 197: 370-372.

- Wallach, M., Pillemer, G., Yarus, S., Halabi, A., Pugatsch, T. and Mencher, D. 1990. Passive immunization of chickens against *Eimeria maxima* infection with a monoclonal antibody developed against a gametocyte antigen. *Infect. Immun.* 58: 557-562.
- Wallach, M., Smith, N. C., Petracca, M., Miller, C. M., Eckert, J. and Braun, R. 1995. *Eimeria maxima* gametocyte antigens: potential use in a subunit maternal vaccine against coccidiosis in chickens. *Vaccine* 13: 347-354.
- Williams, R. B., Marshall, R. N., La Ragione, R. M. and Catchpole, J. 2003. A new method for the experimental production of necrotic enteritis and its use for studies on the relationships between necrotic enteritis, coccidiosis and anticoccidial vaccination of chickens. *Parasitol. Res.* 90: 19-26.
- Yun, C. H., Lillehoj, H. S. and Lillehoj, E. P. 2000. Intestinal immune responses to coccidiosis. *Develop. Comp. Immunol.* 24: 303-324.
- Yunus, M., Horii, Y., Makimura, S. and Smith, A. L. 2005. The Relationship between the anticoccidial effects of clindamycin and the development of immunity in the *Eimeria praagensis*/mouse model of large intestinal coccidiosis. *J. Vet. Med. Sci.* 67(2): 165-170.



## LAMPIRAN



**PERTAMBAHAN BERAT ,UKURAN LIMPA dan  
DIAMETER PULPA PUTIH LIMPA TERHADAP INFEKSI *Eimeria tenella*  
PADA AYAM PEKA dan AYAM KEBAL**

Veronica Hardiani  
NIM:060313225

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk dapat mengetahui pertambahan berat, ukuran limpa dan diameter pulpa putih terhadap infeksi *Eimeria tenella* pada ayam peka dan ayam kebal. Ayam pedaging strain CP 707 yang berumur 3 minggu diberikan perlakuan berupa infeksi *E.tenella* dengan dosis infeksi  $1 \times 10^3$ . Ayam dibagi menjadi 2 kelompok percobaan, yaitu kelompok I (ayam peka) dan kelompok II (ayam kebal) yang masing-masing terdiri dari 40 ekor yang akan dikorbankan setiap 2 hari sekali masing-masing sebanyak 5 ekor mulai hari ke 0 sampai hari ke 12 setelah infeksi. Setiap ayam yang dikorbankan diamati makroskopis berupa pertambahan berat dan ukuran limpa, kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan mengukur diameter pulpa putih limpa. Data yang didapat diolah dengan menggunakan analisa data ANOVA diharapkan ada perbedaan pertambahan berat, ukuran dan diameter pulpa putih limpa yang signifikan terhadap infeksi *Eimeria tenella* pada ayam peka dan ayam kebal.

Kata kunci : *E.tenella*, pulpa putih, limpa



## **PENGARUH INFEKSI *Eimeria tenella* TERHADAP SKOR PERLUKAAN SEKUM PADA AYAM PEKA DAN AYAM KEBAL**

Happy Tritanio  
NIM:060313216

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infeksi *Eimeria tenella* yang diinfeksi dalam bentuk ookista terhadap skor perlukaan sekum pada ayam peka dan ayam kebal. Sejumlah 70 ekor ayam pedaging strain CP 707 yang berumur 3 minggu. Ayam dibagi menjadi 2 perlakuan percobaan, yaitu perlakuan I (ayam peka) dan perlakuan II (ayam kebal) masing-masing 35 ekor ayam akan dikorbankan setiap 2 hari sekali sebanyak 5 ekor mulai hari ke-0 sampai hari ke-12 setelah infeksi. Setiap ayam dikorbankan dilakukan pemeriksaan makroskopis pada sekum untuk melihat tingkat keparahan sekum baik ayam peka maupun ayam kebal. Data yang didapat kemudian diolah dengan metoda Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dianalisa menggunakan data ANOVA. Diharapkan terdapat perbedaan yang signifikan mengenai skor perlukaan sekum terhadap infeksi *Eimeria tenella* pada ayam peka dan ayam kebal.

Kata kunci : *Eimeria tenella*, sekum, ookista

**PERBANDINGAN JUMLAH DAN UKURAN SKIZON PADA AYAM  
PEKA DAN AYAM KEBAL TERHADAP INFEKSI *Eimeria tenella***

**SELA KARTIKA SARI**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan jumlah dan ukuran skizon pada ayam peka dan ayam kebal terhadap infeksi *E.tenella* yang diharapkan dapat digunakan untuk membantu penelitian selanjutnya dan untuk mengontrol penyakit ini.

Ookista yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari sample lapangan yang diisolasi dari usus ayam kampung yang menderita koksidiosis. Ookista yang sudah diisolasi tersebut kemudian diinfeksi pada dua kelompok ayam yaitu kelompok ayam peka yang diasumsikan belum pernah terkena koksidiosis dan kelompok ayam kebal yang diasumsikan telah menadapat infeksi tantangan (challenge infection). Kemudian ayam dari dua kelompok tersebut diotopsi setiap dua hari sekali dan sekumnya diambil untuk dibuat preparat histologis. Setelah dibuat preparat histologis, skizonnya kemudian dihitung dan diukur untuk kemudian hasilnya dibandingkan antara ayam peka dan ayam kebal.

Hasil dari penelitian ini adalah pada ayam peka jumlah skizon lebih banyak bila dibandingkan jumlah skizon pada ayam kebal dan ukuran skizon pada ayam peka rata-rata lebih besar daripada ukuran skizon pada ayam kebal.

# PENGARUH INFEKSI *Eimeria tenella* TERHADAP KERUSAKAN SEL EPITELSEKUM PADA AYAM PEKA DAN AYAM KEBAL

WIWIK IDAYANTI

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dampak kerusakan sel epitel sekum pada ayam peka dan ayam kebal terhadap pengaruh infeksi *Eimeria tenella* ditinjau dari histopatologi sekum.

Sejumlah 85 ekor ayam berumur 1 hari digunakan dalam penelitian ini. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 1 perlakuan dan 5 ulangan. Kedua perlakuan diinfeksi dengan 1000 ookista *Eimeria tenella*. Pengaruh kerusakan sel epitel sekum dilihat dari jumlah rata-rata sel goblet aktif dan pasif tiap 10 kripta *Lieberkuhn* dan jumlah total produksi ookista selama diinfeksi. Data histopatologi sekum diuji dengan menggunakan uji Anava.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan antara perlakuan infeksi pada ayam peka dan ayam kebal terhadap kerusakan sel epitel sekum dimana kerusakan lebih banyak pada ayam peka dibanding ayam kebal.