

TESIS

PERKEMBANGAN TINGKAT KEKEBALAN AYAM YANG DIPAPAR *Eimeria tenella* BERDASARKAN PERUBAHAN PATOLOGI ANATOMI, PRODUKSI OOKISTA DAN TITER IgA DAN IgG



Oleh:

ROESNO DARSONO

NIM 090810812 M

PROGRAM STUDI S2

ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2012

PERKEMBANGAN TINGKAT KEKEBALAN AYAM YANG DIPAPAR *Eimeria tenella* BERDASARKAN PERUBAHAN PATOLOGI ANATOMI, PRODUKSI OOKISTA DAN TITER IgA DAN IgG

TESIS

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Veteriner dalam Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner pada Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

ROESNO DARSONO

NIM 090810812M

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Prof. Dr. Nunuk Dyah RL., M.S., drh

Pembimbing Ketua



Dr. Hani Plumerciastuti, M.Kes., drh

Pembimbing Kedua

Halaman Identitas

Telah diuji pada

Tanggal: 27 Januari 2012

KOMISI PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., drh

Anggota : Prof. Dr. Nunuk Dyah RL., M.S., drh

Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh

Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., drh

Muchammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D

Surabaya, Pebruari 2012

Program Studi S2

Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



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

Halaman Pernyataan

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam TESIS yang berjudul:

Perkembangan Tingkat Kekebalan Ayam yang Dipapar *Eimeria tenella* Berdasarkan Perubahan Patologi Anatomi, Produksi Ookista dan Titer IgA dan IgG.

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

Surabaya, 27 Januari 2012

Roesno Darsono

NIM 090810812 M

PERKEMBANGAN TINGKAT KEKEBALAN AYAM YANG DIPAPAR *Eimeria tenella* BERDASARKAN PERUBAHAN PATOLOGI ANATOMI, PRODUKSI OOKISTA DAN TITER IgA DAN IgG

Roesno Darsono

RINGKASAN

Perkembangan kekebalan perolehan secara alam pada ayam terhadap infeksi *Eimeria* telah diobservasi oleh beberapa peneliti (Yun *et al.*, 2000). Banyak laporan menunjukkan bahwa infeksi tantangan terhadap ayam yang pernah terinfeksi oleh *Eimeria* merangsang respon yang mampu memproteksi ayam terhadap infeksi berikutnya, walaupun respon tersebut biasanya diukur melalui perbandingan penambahan berat badan, konversi pakan, penurunan nilai perlukaan, perubahan histopatologis dan produksi ookista setelah infeksi tantangan. Respon yang terukur tersebut biasanya menunjukkan proteksi sebagian dan bukan proteksi secara lengkap untuk melawan infeksi tantangan (Rose, 1987). Kekebalan terhadap *Eimeria tenella* yang terjadi melalui infeksi yang diberikan setiap hari dengan dosis rendah secara signifikan lebih tinggi dibanding ayam yang memperoleh infeksi dengan dosis tinggi dengan sekali infeksi. Banyak ayam terimunisasi dan ditantang tetapi tetap mengeluarkan ookista walaupun tidak menunjukkan gejala klinis. Sedikit laporan yang menggambarkan fenomena tentang perkembangan kekebalan dan kekebalan lengkap (*absolute*) yang terjadi pada ayam yang ditantang dengan parasit *Eimeria* secara rutin pada berbagai tingkatan umur.

Pada infeksi *Eimeria*, walaupun peran *cel mediated immunity* dominan dibandingkan respon antibodi namun respon antibodi dapat digunakan untuk menggambarkan tingkat kekebalan dan mendeteksi adanya infeksi *Eimeria*. Deteksi awal terhadap infeksi *Eimeria* sebelum adanya produksi ookista secara serologi sangat berguna untuk identifikasi adanya infeksi lebih awal sehingga dapat dilakukan terapi lebih awal dan efektif sebelum infeksi menjadi lebih berat.

Infeksi spesies *Eimeria* pada ayam merangsang produksi antibodi sirkulasi dan sekretori spesifik dan berbagai teknik telah digunakan untuk mendeteksi antibodi sirkulasi dan sekretori spesifik tersebut. Khususnya Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) merupakan tes pilihan yang populer untuk mendeteksi antibody spesifik, walaupun beberapa tes seperti radioimmunoassay, radial immunodiffusion, immunofluorescence dan modifikasi Sabin-Feldman dye test dapat juga digunakan untuk mendeteksi antibodi. Kelebihan ELISA dalam deteksi antibodi spesifik terhadap *Eimeria* dapat digunakan untuk skrining banyak flock pada farm komersial ayam yang dapat menandai tingkat kekebalan dan paparan antigen *Eimeria* pada flock-flock ayam tersebut. Dengan aplikasi yang sama ELISA sangat bermanfaat untuk mengetahui keberhasilan vaksinasi dalam menentukan rata-rata paparan antigen *Eimeria* pada ayam.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini didisain untuk mengetahui perkembangan kekebalan pada ayam yang diinfeksi secara rutin melalui aplikasi penggunaan titer Ig A dan Ig G spesifik ELISA pada screening serum, dimana kondisi paparan seperti ini dapat terjadi secara alamiah pada beberapa peternakan. Lebih lanjut pengamatan terhadap waktu yang dibutuhkan untuk memperoleh kekebalan berdasarkan titer Ig A dan Ig G yang tinggi pada berbagai tingkatan umur ayam melalui

imunisasi yang diberikan secara rutin sangat diperlukan dalam mencari cara terbaik dalam menciptakan kekebalan dapatan (*acquired immunity*) yang dapat melindungi ayam dari infeksi.

sebanyak 80 ekor ayam yang terbagi dalam empat kelompok umur (7, 14, 21 dan 28 hari) masing-masing diinfeksi dengan 4×10^3 dosis ookista *E. tenella*. Pengamatan gejala klinis dimulai setelah infeksi pada masing-masing kelompok ayam sedangkan pengamatan total produksi dilakukan pada hari ke 7-12 setelah infeksi. Empat belas hari setelah infeksi pertama, dilakukan infeksi kedua. Infeksi ketiga diberikan 28 hari setelah infeksi pertama dengan dosis sama seperti dosis infeksi pertama dan kedua. Pengamatan gejala klinis dan total produksi ookista untuk infeksi kedua dan ketiga dilakukan dengan metode yang sama dengan infeksi pertama. Setiap setelah infeksi setengah dari jumlah masing-masing kelompok umur ayam dikorbankan pada hari ke 4 untuk dilakukan pemeriksaan perubahan histopatologi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan perubahan makroskopis dilakukan dengan melihat skor perlukaan sekum, sedangkan perubahan mikroskopis dilakukan untuk melihat perkembangan intraseluler parasit pada masing-masing kelompok umur ayam yang diimunisasi dengan menggunakan pewarnaan HE (Idris *et al.*, 1996). Pada pemeriksaan mikroskopis jumlah parasit dihitung per 10 unit kripta Lieberkuhn. Semua prosedur di atas dilakukan pada semua kelompok umur ayam. Pengukuran titer IgA dan IgG dilakukan 2 minggu setelah setiap kali imunisasi. Perkembangan tingkat kekebalan pada masing-masing kelompok umur ayam direpresentasikan dalam tinggi rendahnya titer IgA dan IgG, total produksi ookista, skor perlukaan sekum dan jumlah parasit yang berkembang secara intraseluler dari masing-masing infeksi (infeksi I, II dan III).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perubahan patologi anatomi dan gejala klinis yang nampak pada infeksi pertama yang secara signifikan berbeda dengan infeksi kedua dan ketiga. Pada infeksi pertama perubahan patologi berupa perdarahan pada mukosa sekum dan pembesaran sekum nampak jelas dibandingkan infeksi kedua dan ketiga utamanya kelompok ayam yang tidak diinfeksi. Gejala klinis berupa berak darah nampak terlihat pada hari keempat setelah infeksi. Kedua kondisi sangat berbeda dengan pada infeksi kedua dan ketiga dimana pembesaran dan perdarahan mukosa sekum tidak jelas serta gejala klinis yang tidak nampak. Selanjutnya penurunan jumlah schizont yang signifikan pada infeksi kedua dan ketiga dibandingkan dengan infeksi pertama, demikian juga dengan produksi ookista yang dihasilkan terjadi penurunan yang sangat signifikan pada infeksi kedua dan ketiga dibandingkan dengan infeksi pertama pada semua kelompok umur ayam perlakuan ($p < 0.01$). Sebaliknya, nilai optical density IgG pada infeksi pertama lebih tinggi dibandingkan infeksi kedua untuk setiap kelompok umur ayam perlakuan. Kemudian nilai optical density IgG pada infeksi kedua lebih rendah dari infeksi ketiga untuk kelompok ayam umur 3 minggu dan 4 minggu, kecuali infeksi kedua pada kelompok ayam umur 2 minggu dimana optical density IgG lebih tinggi daripada infeksi ketiga ($p < 0.01$). Selanjutnya pola optical density IgA dari infeksi kedua dan ketiga lebih tinggi daripada infeksi pertama dan kelompok ayam yang tidak diinfeksi. Optical density IgA infeksi pertama tidak berbeda dengan infeksi kedua untuk kelompok ayam umur 2 minggu dan 3 minggu tetapi kedua tingkat infeksi yakni infeksi pertama dan kedua lebih rendah dari infeksi ketiga untuk kelompok ayam umur 2 minggu dan lebih tinggi dari infeksi ketiga untuk kelompok ayam umur 3 minggu. Optical density IgA infeksi pertama lebih tinggi dari infeksi kedua dan ketiga untuk kelompok ayam umur 4 minggu ($p < 0.01$), sedangkan optical density IgA infeksi kedua tidak berbeda dengan infeksi ketiga. Beberapa variable di atas dapat digunakan sebagai representasi tingkat kekebalan pada tingkatan umur ayam yang terpapar *E. tenella*.

PERKEMBANGAN TINGKAT KEKEBALAN AYAM YANG DIPAPAR *Eimeria tenella* BERDASARKAN PERUBAHAN PATOLOGI ANATOMI, PRODUKSI OOKISTA DAN TITER IgA DAN IgG

Roesno Darsono

ABSTRACT

The development of immunity level of *Eimeria tenella* exposed chicken was examined based on pathology anatomy changes, oocysts production, IgA and IgG titres. Eighty broilers were divided into four groups and each group was consisted twenty. Then, every group was infected *E. tenella* for three times, each infection was administered a once two weeks for each age group, except control group was not infected anything (placebo). Pathological changes and clinical signs were dramatically decline on the second and third infections compared with first infection for each age group. The number schizont of the second and third infections was lower than the first infection for each age group. Similarly, oocysts production of second and third infections was lower than first infection ($p < 0.01$). In contrast, optical density of IgG of first infection was higher than second infection for each age group. Then, optical density of Ig G of second infection was lower than third infection for 3 weeks and 4 weeks olds group, except in 2 weeks old group that optical density of second infection was higher than third infection ($p < 0.01$). Moreover, the patern of optical density of IgA of second and third infection was higher than first infection and uninfected. Optical density of IgA of first infection was not significantly different with second infection for 2 weeks and 3 weeks old groups, but both first and second infection were lower than third infection for two weeks old group and higher than the third for three weeks old group. Optical density of IgA of first infection was higher than the second and third infection for 4 weeks old group ($p < 0.01$), whereas optical density of IgA of second infection was not significantly different with third infection. Several above variables could be used as representation of immunity level in the age level of *E. tenella* exposed chicken.

Keywords: continuous exposed chicken, *E. tenella*, ages, immune level

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas ridho dan karunia-Nya yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis dengan judul **Perkembangan Tingkat Kekebalan Ayam yang Dipapar *Eimeria tenella* Berdasarkan Perubahan Patologi Anatomi, Produksi Ookista dan Titer IgA dan IgG.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D dan Ketua Program Studi S2 IPKMV Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi S2 IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof Dr. Nunuk Dyah R.L, drh., M.S. selaku pembimbing utama dan Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes. selaku pembimbing serta, atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya tesis ini.

Ketua penguji, sekretaris penguji dan anggota penguji tesis.

Seluruh Staf pengajar S2 IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ayah, ibu dan kakak-kakakku yang tercinta yang telah memberikan segalanya, bantuan doa, dorongan dan semangat.

Surabaya, 27 Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN IDENTITAS	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang penelitian	1
1.2. Perumusan masalah	3
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat hasil penelitian	4
1.5. Hipotesis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Pengertian dan Proses Kekebalan Secara Umum	6
2.2. Kekebalan Terhadap Koksidiosis	9
2.3. Sistem Imun Mukosa	13
2.4. Respon Imun Adaptive Terhadap <i>Eimeria</i>	14
2.5. Patogenesis dan Gejala Klinis Koksidiosis	16
2.6. <i>Specificity</i> Induk Semang dari Infeksi <i>Eimeria</i>	18
2.7. <i>Immunogenicity Eimeria</i>	19
2.8. ELISA dan Respon IgA dan Ig G pada Koksidiosis Ayam	21
2.9. Vaksinasi Koksidiosis	23
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	25
3.1. Kerangka Konseptual Penelitian	25
BAB 4 MATERI DAN METODE	31
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian	31

4.2. Materi Penelitian	31
4.3. Metode Penelitian	32
4.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	33
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	36
5.1. Gejala Klinis dan Perubahan Patologi.....	36
5.2. Jumlah Parasit (Jumlah Schizont)	39
5.3. Produksi Ookista	40
5.4. Optical Density IgA dan IgG	42
BAB 6 PEMBAHASAN	43
6.1. Gejala Klinis	43
6.2. Perubahan Patologi Anatomi	43
6.3. Produksi Ookista	45
6.4. Titer IgG dan IgA	47
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	49
7.1. Kesimpulan	49
7.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1. Rata-rata dan Simpangan Baku Skor Histopatologi Sekum Pada Tiap Frekuensi Infeksi.	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
3.1. Skema Kerangka Konseptual Penelitian	25
4.1. Skema Kerangka Operasional Penelitian	35
5.1. Perubahan histopatologis dari sekum pada tingkatan umur	38
5.2. Perbandingan jumlah schizont pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi	39
5.3 Perbandingan pola produksi ookista pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi	40
5.4. Perbandingan nilai optical density (OD 450 nm) IgG pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi	42
5.5. Perbandingan nilai optical density (OD 450 nm) IgA pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Analisis Statistik Jumlah Schizont dan Produksi Ookista pada Tingkat Umur Ayam dan Infeksi	55
2. Data Analisis Statistik Optical Density IgG dan IgA pada Tingkat Umur Ayam dan Infeksi	60

SINGKATAN

CD8+	= Cluster Defferentiation
CMI	= Cell Mediated Immunity
ELISA	= Enzyme-linked immunosorbent assay
GALT	= Gut-Associated Lymphoid Tissues
IELs	= Intraepithelial Lymphocytes Intestine
IgA	= Immunoglobulin A
IgG	= Immunoglobulin G
MALT	= Mucosal-Associated Lymphoid Tissues
MHC	= Major Histocompatibility Complex
NK cell	= Natural Killer Cell
OD	= Optical Density
Th	= T helper
Th1	= T helper 1
Th2	= T helper 2
IL-2	= Interleukine 2
IL-4	= Interleukine 4

BAB 1
PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Perkembangan kekebalan perolehan secara alam pada ayam terhadap infeksi *Eimeria* telah diobservasi oleh beberapa peneliti (Yun *et al.*, 2000). Banyak laporan menunjukkan bahwa infeksi tantangan terhadap ayam yang pernah terinfeksi oleh *Eimeria* merangsang respon yang mampu memproteksi ayam terhadap infeksi berikutnya, walaupun respon tersebut biasanya diukur melalui perbandingan penambahan berat badan, konversi pakan, penurunan nilai perlukaan, perubahan histopatologis dan produksi ookista setelah infeksi tantangan. Respon yang terukur tersebut biasanya menunjukkan proteksi sebagian dan bukan proteksi secara lengkap untuk melawan infeksi tantangan (Rose, 1987). Kekebalan terhadap *Eimeria tenella* yang terjadi melalui infeksi yang diberikan setiap hari dengan dosis rendah secara signifikan lebih tinggi dibanding ayam yang memperoleh infeksi dengan dosis tinggi dengan sekali infeksi. Banyak ayam terimunisasi dan ditantang tetapi tetap mengeluarkan ookista walaupun tidak menunjukkan gejala klinis. Sedikit laporan yang menggambarkan fenomena tentang perkembangan kekebalan dan kekebalan lengkap (*absolute*) yang terjadi pada ayam yang ditantang dengan parasit *Eimeria* secara rutin pada berbagai tingkatan umur.

Banyak laporan menunjukkan bahwa infeksi tantangan terhadap ayam yang pernah terinfeksi oleh *Eimeria* merangsang respon yang mampu memproteksi ayam terhadap infeksi berikutnya. Pada infeksi *Eimeria*, walaupun peran *cel mediated immunity* dominan dibandingkan respon antibodi namun respon antibodi dapat digunakan untuk menggambarkan tingkat kekebalan dan mendeteksi adanya infeksi *Eimeria*. Deteksi awal terhadap infeksi *Eimeria* sebelum adanya produksi ookista secara serologi sangat berguna untuk identifikasi adanya infeksi lebih awal sehingga

dapat dilakukan terapi lebih awal dan efektif sebelum infeksi menjadi lebih berat. Sementara itu penggunaan metode umum yang biasa digunakan dalam menentukan prevalensi infeksi *Eimeria* di lapangan yaitu uji adanya stadium ookista pada feses atau liter dan uji nilai perlukaan mempunyai banyak kelemahan dan tidak memberikan hasil yang memuaskan. Uji adanya stadium ookista kelemahannya hanya terdeteksi apabila infeksi sudah berlangsung lebih lanjut. Uji nilai perlukaan melalui autopsy ayam yang diambil secara random tidak diinginkan karena dilakukan autopsy terlebih dahulu. Selanjutnya teknik yang cepat, sederhana dalam menentukan status ayam terhadap paparan antigen *Eimeria* baik di farm komersial atau breeding diperlukan dan teknik deteksi paparan antigen dengan spesifikasi seperti ini nampaknya menjadi teknik yang sangat efisien.

Infeksi spesies *Eimeria* pada ayam merangsang produksi antibodi sirkulasi dan sekretori spesifik dan berbagai teknik telah digunakan untuk mendeteksi antibodi sirkulasi dan sekretori spesifik tersebut. Khususnya Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) merupakan tes pilihan yang populer untuk mendeteksi antibody spesifik, walaupun beberapa tes seperti radioimmunoassay, radial immunodiffusion, immunofluorescence dan modifikasi Sabin-Feldman dye test dapat juga digunakan untuk mendeteksi antibodi. Kelebihan ELISA dalam deteksi antibodi spesifik terhadap *Eimeria* dapat digunakan untuk skrening banyak flock pada farm komersial ayam yang dapat menandai tingkat kekebalan dan paparan antigen *Eimeria* pada flock-flock ayam tersebut. Dengan aplikasi yang sama ELISA sangat bermanfaat untuk mengetahui keberhasilan vaksinasi dalam menentukan rata-rata paparan antigen *Eimeria* pada ayam.

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, penelitian ini didisain untuk mengetahui perkembangan kekebalan pada ayam yang diinfeksi secara rutin melalui

aplikasi penggunaan titer Ig A dan Ig G spesifik ELISA pada screening serum, dimana kondisi paparan seperti ini dapat terjadi secara alamiah pada beberapa peternakan. Lebih lanjut pengamatan terhadap waktu yang dibutuhkan untuk memperoleh kekebalan dengan titer Ig A dan Ig G yang tinggi pada berbagai tingkatan umur ayam melalui imunisasi yang diberikan secara rutin sangat diperlukan dalam mencari cara terbaik dalam menciptakan kekebalan dapatan (*acquired immunity*) yang dapat melindungi ayam dari infeksi

1.2. Perumusan Masalah:

Dari uraian latar belakang diatas, maka permasalahan yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
2. Apakah ada perbedaan tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
3. Apakah ada perbedaan frekuensi paparan dalam memperoleh tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam selama proses imunisasi rutin.

1.3. Tujuan Penelitian:

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
2. Perbedaan tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
3. Perbedaan frekuensi paparan dalam memperoleh tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam selama proses pemaparan rutin.

1.4. Manfaat Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk mengetahui umur dan frekuensi yang tepat untuk dilakukan imunisasi agar diperoleh tingkat dan lama kekebalan yang maksimal yang dihasilkan dari imunisasi secara rutin yang dapat dilihat dari perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan pengukuran Ig A dan Ig G. Disamping itu dapat memberikan manfaat sebagai contoh model untuk metode vaksinasi untuk infeksi *E. tenella* pada khususnya dan koksidiosis pada umumnya.

1.5. Hipotesis

Pada penelitian ini diajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.

2. Ada perbedaan tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
3. Ada perbedaan frekuensi paparan dalam memperoleh tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam selama proses pemaparan rutin.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pengertian dan Proses Kekebalan Secara Umum

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 (Girard *et al.*, 1997). Dalam kaitannya dengan pertahanan tubuh hewan dan manusia dikenal dua sistem kekebalan, yaitu sistem kekebalan non spesifik dan sistem kekebalan spesifik (Long, 1990).

Sistem kekebalan non spesifik melindungi hewan dan manusia 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 (Tizard, 2000). Faktor genetik pada akhir-akhir ini dalam imunologi sering dikaitkan dengan MHC, 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. Rupanya 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 ke dalam tubuh. Dikatakan 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 dan manusia dengan cara menekan perkembangan mikroorganisme lain dengan mendukung pembentukan antibodi alamiah dan dengan cara kompetitif dengan mikroorganisme tersebut. Pengobatan dengan antibiotik spektrum luas mengakibatkan kerusakan keseimbangan ekologi flora normal. Faktor fisiologi tubuh ikut berperan dalam meningkatkan kekebalan tubuh seperti: adanya getah lambung, getaran silia pada saluran nafas, aliran kencing, asam laktat pada kulit, enzim lysosim, substansi yang bersifat bakteriosida dalam darah, dan sistem komplemen. Koksidiosis sering terjadi terutama pada unggas muda, tetapi juga dapat terjadi pada ayam tua yang rentan. Semua burung, hewan dan manusia 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 yang sembuh mempunyai sedikit imunitas, tetapi umur imunitas ini pendek, kecuali kalau ayam itu selalu berhubungan dengan koksidia. Imunitas terhadap

koksidiosis bersifat lokal yang ditunjukkan adanya antibodi pada mukosa sekum (Girard *et al.*, 1997). Imunitas ini khusus untuk spesies tertentu: artinya imunitas terhadap satu spesies koksidia tidak melindunginya terhadap serangan koksidia spesies lain.

Rose (1987) 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) ke dalam tubuh induk semang sudah mampu membentuk kekebalan. Sekurang-kurangnya ada 3 jenis pola kekebalan terhadap *Eimeria tenella*, ayam mungkin kebal secara total terhadap parasit, dimana parasit tidak mampu berkembangbiak di dalam 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 *et al.*, (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 dibandingkan dengan kontrol. Kemudian untuk nilai ketahanan terhadap infeksi koksidiosis diukur berdasarkan pertambahan berat badan, nilai perlukaan sekum, tingkat produksi ookista per gram feses pada 7 hari setelah infeksi (Long, 1990; Ruff, 1991).

2.2. Kekebalan Terhadap Koksidiosis

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 (Girard *et al.*, 1997). Dalam kaitannya dengan pertahanan tubuh hewan dan manusia dikenal dua sistem kekebalan, yaitu sistem kekebalan non spesifik dan sistem kekebalan spesifik (Long, 1990).

Sistem kekebalan non spesifik melindungi hewan dan manusia 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 (Tizard, 2000). Faktor genetik pada akhir-akhir ini dalam imunologi sering dikaitkan dengan MHC, 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. Rupanya 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. Dikatakan kulit yang utuh merupakan barier yang lebih efektif dibandingkan dengan selaput lendir. Agen infeksi tertentu, seperti Mikobakterium tuberkulosis dapat langsung menyebar melalui selaput lendir gastrointestinal. Faktor mikrobial, flora normal dalam tubuh dapat meningkatkan ketahanan tubuh hewan dan manusia dengan cara menekan perkembangan mikroorganisme lain dengan mendukung pembentukan antibodi alamiah dan dengan cara kompetitif dengan mikroorganisme tersebut. Pengobatan dengan antibiotik spektrum luas mengakibatkan kerusakan keseimbangan ekologi flora normal. Faktor fisiologi tubuh ikut berperan dalam meningkatkan kekebalan tubuh seperti: adanya getah lambung, getaran silia pada saluran nafas, aliran kencing, asam laktat pada kulit, enzim lysosim, substansi yang bersifat bakteriosida dalam darah, dan sistem komplemen. Koksidirosis sering terjadi terutama pada unggas muda, tetapi juga dapat terjadi pada ayam tua yang rentan. Semua burung, hewan dan manusia dapat terinfeksi koksidirosis. Infeksi antar spesies (induk semang) tidak terjadi, sebab koksidirosis adalah khusus untuk spesies tertentu. Burung-burung muda lebih rentan, sebab biasanya ada kekurang dewasaan fisik dan tidak adanya imunitas.

Ayam yang sembuh mempunyai sedikit imunitas, tetapi umur imunitas ini pendek, kecuali kalau ayam-ayam itu selalu berhubungan dengan koksidia. Imunitas terhadap koksidirosis bersifat lokal yang ditunjukkan adanya antibodi pada mukosa sekum (Girard *et al.*, 1997). Imunitas ini khusus untuk spesies tertentu: artinya

imunitas terhadap satu spesies koksidia tidak melindunginya terhadap serangan koksidia spesies lain.

Rose (1996) 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, 1990). Berdasarkan percobaan yang dilakukan Pierson *et al.*, (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 pertambahan berat badan, nilai perlukaan sekum, tingkat produksi ookista per gram feses pada 7 hari pasca infeksi (Long, 1990; Ruff, 1991). Karena siklus hidup *Eimeria* terdiri dari intraseluler, ekstraseluler, asexual dan stadium seksual. Kenyataan ini tidak mengherankan bahwa imunitas induk semang terhadap infeksi *Eimeria* juga kompleks dan termasuk banyak faktor imunitas non spesifik dan spesifik, dua terakhir meliputi kedua mekanisme imun seluler dan humoral (Lillehoj, 1998; Lillehoj and Lillehoj, 2000; Yun *et al.*, 2000). Ayam yang terinfeksi *Eimeria* menghasilkan antibodi spesifik terhadap parasit dalam

keduanya yaitu sirkulasi dan sekresi-sekresi mukosa, tetapi imunitas humoral hanya mempunyai peranan yang kecil dalam proteksi melawan penyakit ini. Agaknya beberapa studi mengantarkan pada laboratorium kita tentang implikasi cell mediated immunity (CMI) sebagai faktor pertimbangan utama resistensi terhadap coccidiosis. Ia diantisipasi bahwa peningkatan pengetahuan dalam interaksi antara parasit dan induk semang akan merangsang perkembangan novel imunologi dan konsep-konsep biologi molekuler dalam mengontrol krusial parasitisme intestin untuk design dari pendekatan baru melawan coccidiosis.

Eimeria adalah parasit obligate intraseluler yang melangsungkan siklus hidupnya dalam sel epitel mukosa intestin, seringkali menyebabkan kerusakan serius terhadap integritas fisik saluran pencernaan. Ookista tertelan oleh unggas melalui makanan dan pecah menghasilkan sporozoit yang invasive dan stadium sporogony yang terjadi dalam 24 jam. Sporozoit pertama kali terlihat dalam intraepithelial lymphocytes intestine (IELs), terutama sel CD8⁺, segera setelah invasi (Trout and Lillehoj, 1995). Sporozoit mengalami stadium merogony yang dihasilkan dari pelepasan satu sporozoit menjadi 1000 merozoit, kadang-kadang stadium ini berulang 2-4 kali sebelum merozoit berdeferensiasi menjadi stadium seksual, gamont dan gamete. Microgamete (jantan) membuahi macrogamete (betina) menghasilkan ookista yang dilapisi dinding yang tebal yang tidak dapat ditembus oleh kondisi lingkungan yang jelek dan selanjutnya dikeluarkan dari tubuh induk semang. Segera setelah itu keluar dari induk semang, ookista bersporulasi dan dapat tahan hidup dalam periode waktu yang lama sebelum tertelan dan memulai siklus hidup baru kembali.

2.3. Sistem Imun Mukosa

Sistem imun mukosa terdiri dari mucosal-associated lymphoid tissues (MALT) yang ada di saluran nasal, organ bronchial, kelenjar susu, saluran genital dan gut-associated lymphoid tissues (GALT) (Brandtzaeg *et al.*, 1989; Mayer, 1997; Mayer, 2000). Peranan paling penting MALT adalah merusak patogen yang menginvasi pada bagian mereka masuk, mencegah penyebaran dan infeksi sistemik ke induk semang. Fungsi ini dilakukan dalam sejumlah cara yang berbeda. Non-specific barriers seperti sekresi lambung, lysozyme dan garam empedu, peristalsis, dan persaingan melalui adanya flora mikrobial secara alamiah adalah komponen penting garis depan pertahanan dalam MALT (Mayer, 1997). Mekanisme pertahanan spesifik dimediasi oleh antibodi dan lymphocytes. Mekanisme spesifik untuk menghilangkan patogen yang merugikan melibatkan kompleks interaksi antara imunitas humoral dan seluler menggunakan antigen spesifik dan antigen bebas (independent), proses tersebut untuk mendeteksi dan menetralkan invasi mikroorganisme.

Lebih dari setengah dari total kelompok lymphocytes yang ada di MALT terkandung di dalam GALT. Secara histologic, lapisan luar GALT terdiri sel epitel dan lymphocytes yang terletak di atas dasar membran. Di bawah dasar membran adalah lamina propria, juga mengandung lymphocytes, dan submukosa. Pada ayam, berbagai organ lymphoid spesifik (Peyers patches, caecal tonsils dan bursa Fabricius) dan beberapa tipe sel (epitelial, lymphoid, antigen presenting dan Natural Killer Cell) telah ada dalam GALT melindungi untuk melawan patogen yang jahat. Beberapa tipe sel lain dalam GALT termasuk macrophages, sel mast, fibroblast, dan sel dendritic. Semua sel ini dikenal mensekresikan dan merespon terhadap cytokines. Jaringan komunikasi seluler dalam GALT, penting untuk perkembangan *protective immunity*, adalah dua arah langsung dengan sekresi lymphocytes dan respon terhadap cytokine

yang merangsang atau menghambat aktifitas lymphocytes lain dan non lymphoid, sel-sel resident.

Sistem imun mukosa mengandung sejumlah sel tipe reflective unique dari evolusinya sebagai garis depan dari imun pertahanan (Arnaud-Battandier *et al.*, 1980). Lymphocytes T dan B dan sel plasma terletak dalam mukosa usus halus dan usus besar. Sel T adalah lebih dominan CD4⁺ memory/ effector sel T sementara sel B dan sel plasma adalah sebagian besar isotype Ig A. Dalam mukosa intestin, lymphocytes ada di dua bagian anatomi, epitelium (IELs) dan lamina propria (lamina propria lymphocytes) (Befus *et al.*, 1980). Seperti pada mamalia, Intraepithelial lymphocytes sel T ayam dapat dipisahkan secara phenotypical ke dalam CD4⁺ dan CD8⁺ subpopulation (Chan *et al.*, 1988). Komplek molekuler sama terhadap CD3, CD4, dan CD8 manusia dan mencit antigen telah ditetapkan pada IELs ayam (Chan *et al.*, 1988; Lillehoj *et al.*, 1988). Ontogeni sel T membawa dua molekul receptor sel T berbeda (TCR) yang telah dipelajari (Bucy *et al.*, 1988; Vainio and Lassila, 1989)

2.4. Respon Imun Adaptive Terhadap *Eimeria*

Pada umumnya, GALT membantu tiga fungsi dalam pertahanan induk semang melawan patogen enteric, processing dan presentasi antigen, produksi antibodi intestinal dan aktifasi CMI. Peranan antibodi specific parasit keduanya di serum dan sekresi mukosa telah dikembangkan dan diinvestigasi pada coccidiosis (Girard *et al.*, 1997; Girard *et al.*, 1999; Lillehoj and Ruff, 1987; Trees *et al.*, 1985). Pada ayam yang terinfeksi, produksi antibodi spesifik, IgA dan IgM khususnya selalu secara signifikan lebih tinggi pada area parasit di intestin dibanding dengan area yang tidak terdapat parasit (Girard *et al.*, 1997). Tetapi, kemampuan antibodi membatasi infeksi adalah minimal, jika ada, ayam agammaglobulinemic yang dihasilkan melalui

burssectomy hormonal dan chemical adalah resisten terhadap reinfeksi dengan coccidia (Lillehoj, 1987). Walaupun demikian, IgA mungkin menempel ke permukaan coccidia dan mencegah ikatan ke epitel melalui blocking langsung, penghalang steric, induksi perubahan yang menyesuaikan (kesesuaian), dan reduksi motilitas. Respon IgA mukosa diatur oleh sel T helper dan cytokine (Xu-Amano *et al.*, 1992).

Secara jelas didokumentasikan bahwa CMI dimediasi oleh aktivasi antigen spesifik dan non spesifik dari lymphocytes T, natural killer cell (NK) dan macrophages berperan besar dalam proteksi melawan coccidia (Brandtzaeg *et al.*, 1987; Chai and Lillehoj, 1988; Lillehoj and Lillehoj, 2000; Yun *et al.*, 2000). Kepentingan sel T dalam kekebalan dapatan terhadap coccidia telah didokumentasikan dengan baik (Lillehoj, 1998). Sebagai contoh, perubahan dalam subpopulasi sel T intestin di usus halus pada infeksi primer dan sekunder oleh *E. acervulina* telah diinvestigasi dan berhubungan dengan penyakit (Lillehoj, 1987; Lillehoj, 1998). Selanjutnya, pada infeksi sekunder, secara signifikan jumlah CD8⁺ IELs lebih tinggi diamati di ayam SC, yang mana termanifestasi dalam level produksi ookista lebih rendah dibanding ayam TK. Summary, hasil ini menetapkan variasi dalam subpopulasi sel T dalam GALT sebagai hasil infeksi coccidia dan menyarankan bahwa peningkatan $\alpha\beta\text{TCR}^+\text{CD8}^+$ IELs dalam ayam SC berkontribusi terhadap peningkatan kekebalan terhadap *Eimeria* dibandingkan dengan ayam TK (Lillehoj and Bacon, 1991; Lillehoj and Trout, 1994; Lillehoj and Trout, 1996). Dasar secara imunologi untuk perbedaan genetik dalam resistensi penyakit menunjukkan perbedaan kinetik dan respon kuantitatif dalam produksi cytokine lokal antara ayam SC dan ayam TK pada infeksi *Eimeria* (Yun *et al.*, 2000 a; Yun *et al.*, 2000 b). IFN- γ mRNA dalam cecal tonsil lebih tinggi pada ayam SC dibandingkan ayam TK pada infeksi primer dengan *Eimeria acervulina* (Choi *et al.*, 1999). Zhang *et al.*, (1995a;

1995b) melakukan investigasi terhadap efek cytokine dengan aktifitas tumor necrosis factor pada patogenesis coccidiosis pada ayam SC dan ayam TK. Summary, hasil ini semua mengutamakan kepentingan CMI (*Cell Mediated Immunity*) dalam protective immunity terhadap coccidiosis.

2.5. Patogenesis dan Gejala Klinis Koksidirosis

Eimeria tenella adalah koksidia yang sangat patogen terutama pada ayam yang berumur 3-4 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 (Soulsby, 1986). 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 ekskistasi ookistanya berkurang disebabkan lemahnya gerakan lambung otot (*gizzard*) dan sistem pencernaan enzimatik belum bekerja secara maksimal, sehingga pemecahan dinding ookista kurang sempurna, sedangkan ayam yang berumur antara 2-4 minggu sudah mulai peka terhadap serangan koksidirosis (Soulsby, 1986).

Long (1990) membagi gejala klinis koksidirosis mejadi 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 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. Sedangkan tanda patologi anatomi yang mencolok yaitu adanya perdarahan sampai timbulnya perkejuan yang mengeras pada sekum (Idris *et al.*, 1996). 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 Idris *et al.*, (1996) 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 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, 1990).

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 (Soulsby, 1986).

2.6. *Specificity* induk semang dari infeksi *Eimeria*

Eimeria adalah sangat spesifik untuk induk semang tertentu. Jarang terjadi satu spesies *Eimeria* menginfeksi lebih dari satu spesies induk semang, kecuali pada kondisi *experimental*. Sebagai contoh yang dilakukan McLoughlin (1969) yang mendemonstrasikan bahwa *E. meleagridis*, dimana secara normal menginfeksi kalkun, tetapi mampu menginfeksi ayam yang mengalami imunosupresi akibat perlakuan injeksi setiap hari dengan dexamethasone. Perlakuan yang sama dilakukan pada kalkun yang dapat diinfeksi *E. tenella*, dimana secara normal biasanya menginfeksi ayam. Mekanisme mendasar spesifik induk semang tidak dipahami

secara baik, tetapi sebagian besar atas pengaruh genetik (Mayberry *et al.*, 1982; Mathis and McDougald, 1987), nutrisi/biochemical (Fry *et al.*, 1984; Smith and Lee, 1986), dan faktor imun.

2.7. Immunogenicity *Eimeria*

Infeksi dengan satu spesies *Eimeria* menginduksi *protective immunity* pada induk semang yang berlangsung lama dan sangat spesifik untuk *Eimeria* tersebut. Sementara itu sejumlah besar inokulasi dengan ookista secara umum diperlukan untuk menghasilkan respon imun melawan *Eimeria*, beberapa perkecualian telah dilaporkan seperti *E. maxima* mempunyai imunogenitas yang tinggi dan hanya sedikit ookista sudah dapat menginduksi hampir kekebalan yang lengkap. Tahap awal stadium endogenous dari siklus hidup parasit diyakini mempunyai imunogenitas yang lebih tinggi dibandingkan fase akhir dari stadium seksual (Rose, 1987) walaupun Wallach *et al.*, (1990, 1995) menunjukkan bahwa imunisasi dengan rekombinan gamet (antigen) menginduksi *partial protection* untuk melawan infeksi tantangan. Studi menggunakan ookista yang diradiasi mencegah perkembangan intraseluler tetapi tidak mencegah invasi parasit dan menunjukkan *partial protection* melawan infeksi tantangan, karena itu membuktikan bahwa sporozoit juga bersifat imunogenik (Jenkins *et al.*, 1991). Karena respon imun yang ditimbulkan sporozoit tidak cukup memadai menginduksi *protective immunity* secara lengkap maka antigen lain yang diekspresikan selain sporozoit kemungkinan penting untuk menginduksi *protection immunity* secara lengkap. Invasi sel epitelial induk semang atau sel kultur oleh sporozoit terjadi tetapi *scheme* sporozoit komplek oleh kontak antara bagian ujung anterior sporozoit dan permukaan sel (Dubremetz *et al.*, 1998). Kontak awal diikuti internalisasi membrane dapat terjadi pematangan parasit dalam *vacuole*. Invasi

dikendalikan oleh parasit dan semuanya tergantung pada peluncuran bentuk motilitas menjadi ikatan actin-myosin. Organelle apical parasit, rhoptries dan microneme adalah termasuk dalam proses invasi. Microneme dikeluarkan selama kontak awal dengan sel induk semang dan membuat formasi hubungan yang bergerak dengan membrane sel induk semang. Rhoptries dikeluarkan sementara vacuole parasitophorous berkembang dan dintegrasikan ke dalam membrane vacuole. Pada beberapa apicomplexan, granula padat juga disekresikan ke dalam ruang vacuolar.

Beberapa protein parasit induk semang termasuk dalam invasi sel induk semang telah dimulai karakterisasi oleh penggunaan antibodi (Sasai *et al.*, 1996; Uchida *et al.*, 1997) dan oleh labelling selektif dengan ricin (Gurnett *et al.*, 1995). Microneme *E. tenella* mengandung sedikitnya 10 protein major keluar ke dalam media kultur selama invasi sel (Brown *et al.*, 2000; Bumsted and Tomely, 2000). Rhoptries *Eimeria* mengandung sedikitnya 60 polypeptide bebas yang dapat dipisahkan oleh 2D-elektrophoresis. Tetapi, rhoptries dari tiga spesies *Eimeria* ikut ambil bagian sedikit cross-reactive epitope antibodi (Tomely, 1994). Sequencing gen yang mengkode untuk protein organelle telah ditunjukkan beberapa domain dan ragam yang terbuat diantara apicomplexa, khususnya protein microneme (Tomely, 1997). Beberapa antibodi melawan protein permukaan sporozoit *E. tenella* dan *E. acervulina* mengeblok invasi sporozoit ke dalam sel induk semang secara *in vitro* (Sasai *et al.*, 1996; Uchida *et al.*, 1997). Untuk analisis *protective immunity* melawan *Eimeria* secara *in vivo*, monoklonal antibodi ayam dengan deretan sel B ayam dibuat (Sasai *et al.*, 1996) dan *variable fragment* rantai tunggal *recombinant* (scFv) antibodi disusun mengelilingi masalah berhubungan dengan hybridoma ayam (Kim *et al.*, 2001; Min *et al.*, 2001). Kemampuan mengembangkan secara *in vitro* sistem kultur untuk spesies *Eimeria* lain akan memfasilitasi analisis genomic stadium pengembangan spesies

Eimeria seperti *E. acervulina* dan *E. maxima*. Sequencing expressed sequence tag (EST) tinggi *Eimeria* akan memfasilitasi studi genomic bersifat fungsional *Eimeria* mempersamakan gen-gen parasit termasuk dalam invasi induk semang.

2.8. ELISA dan Respon IgA dan Ig G pada Koksidiosis Ayam

ELISA merupakan uji yang banyak digunakan untuk mengetahui respon antibodi terhadap beberapa agen infeksi (Pierson *et al.*, 1997). Teknik ELISA sangat praktis dan mudah dalam persiapan, efisien untuk waktu evaluasi dan kuantitas antigen atau sampel tes yang digunakan. Kuantitas antigen terlarut yang diperlukan tidak banyak sekitar 0,3 – 0,4 µg per well untuk ookista yang bersporulasi (Brandtzaeg *et al.*, 1989). Lillehoj *et al.*, (1988) dalam penelitiannya menggunakan 0,2 µg per well untuk *crude* antigen sudah cukup untuk deteksi sporozoit spesifik serum antibodi. Spesifik serum antibodi dapat terdeteksi secara dini pada infeksi *Eimeria* ± 1 minggu setelah inokulasi (Yun *et al.*, 2000) pada berbagai spesies induk semang baik mamalia maupun unggas. Pada umumnya level sporozoit spesifik serum Ig A mencapai puncak selama infeksi pertama *Eimeria tenella* (Lillehoj *et al.*, 1988) dan *Eimeria nieschulzi* (Rose, 1996) tetapi menurun lagi dalam beberapa hari, walaupun dalam suatu study (Lillehoj and Ruff, 1987) menyatakan bahwa level *Eimeria* spesifik serum Ig A meningkat lagi untuk beberapa periode waktu pada strain inbred ayam yang terinfeksi *E. tenella*, *E. acervulina* atau *E. maxima*. Lillehoj *et al.*, (1988) pada penelitiannya menemukan gambaran bahwa level sporozoit spesifik serum Ig A meningkat lagi pada infeksi tantangan walaupun dengan sampling waktu yang berbeda dan juga dosis infeksi yang berbeda. Berbeda dengan Ig A, *Eimeria* spesifik Ig G meningkat secara perlahan-lahan setelah infeksi pertama (Idris *et al.*, 1996) tetapi pada infeksi tantangan respon Ig G kuat. Lillehoj *et al.*, (1993) melaporkan

bahwa gambaran respon antibodi serum terhadap infeksi *E. tenella*, dimana hanya sedikit dan perlahan, respon Ig G meningkat terhadap infeksi pertama tetapi meningkat secara significant pada infeksi kedua. William *et al.*, (1996) dalam penelitiannya melaporkan bahwa sulit menggunakan titer serum antibodi spesifik *Eimeria* untuk memprediksi status kekebalan ayam secara individu, tetapi secara nyata ELISA dapat digunakan untuk menentukan apakah ayam terpapar atau tidak oleh koksidia dengan ukuran sampel yang relative kecil. Breeding ayam atau farm broiler yang tidak menggunakan obat-obatan dalam pakan, secara jelas terlihat reaksi positif serum dari ayam-ayam tersebut terhadap antigen ookista *Eimeria tenella*, sedangkan broiler yang dipelihara dengan pengobatan koksidiosis terlihat negative (Girard *et al.*, 1997) yang menggambarkan rendah atau tidak ada paparan anti *Eimeria*. Pada ayam petelur yang dipelihara dengan pakan yang menggunakan koksidiostat terlihat level konsentrasi antispороzoit serum antibodi rendah dibandingkan tanpa koksidiostat. Pola semacam ini terlihat pada total Ig, Ig A dan Ig G.

Data penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti (Lillehoj *et al.*, 1993; William *et al.*, 1986) menyimpulkan bahwa: serum dengan IgA absorbance tinggi tetapi reaksi IgG rendah terhadap antigen sporozoit *E. tenella* mengindikasikan aktif infeksi pertama yang diikuti oleh ekskresi ookista dalam feses; serum dengan IgA rendah dan IgG tinggi menggambarkan ayam telah terpapar koksidia lebih dari satu kali tetapi seperti tidak terinfeksi; serum dengan reaktivitas antispороzoit tinggi baik IgA dan IgG menggambarkan ayam yang telah terpapar koksidia tetapi sebelumnya sudah terpapar; serum dengan IgA dan IgG spesifik sporozoit rendah merepresentasikan ayam tidak terpapar oleh antigen challenge yang cukup untuk merangsang respon antibodi. Demikian juga dengan ayam yang aktif terinfeksi yang

ditandai dengan level antiparasit IgA yang tinggi dapat dibedakan dari ayam yang terpapar berulang kali yang ditandai dengan IgG tinggi dan ayam yang tidak terpapar.

2.9. Vaksinasi Koksidiosis

Vaksinasi menggunakan dosis rendah organisme infeksius telah digunakan secara luas di industri perunggasan untuk melawan koksidiosis, penyakit parasitik yang memberikan dampak ekonomi yang besar pada industri perunggasan di berbagai belahan dunia. Koksidiosis pada ayam disebabkan oleh parasit protozoa obligat intraseluler dari spesies *Eimeria*, yang mengalami sejumlah siklus aseksual untuk produksi merozoit pada sel epitel intestin (3-4 siklus merogonik) sebelum memasuki stadium perkembangan seksual dan memproduksi ookista infeksius. Oleh karena infeksi bersifat self-limiting, dan vaksinasi dengan dosis kecil ookista, sementara mempunyai sedikit dampak patologi, menginduksi solid proteksi melawan *homologous challenge*. Akhir-akhir ini perkembangan live vaksin yang mengandung ookista yang diseleksi dari infeksi yang terjadi secara alam " *precocious* " strain *Eimeria* menghasilkan siklus merogonik lebih rendah dan lebih aman digunakan. Walaupun ada banyak masalah dengan vaksin jenis ini, termasuk kebutuhan administrasi untuk mencegah infeksi unggas yang peka oleh ookista produk vaksin dan spesies dan strain spesifik imunitas, vaksin live koksidia telah berhasil digunakan selama 50 tahun lebih dan diproduksi sebagai produk komersial oleh banyak perusahaan kesehatan hewan (Lillehoj and Lillehoj, 2000).

Vaksinasi dapat digunakan untuk pengendalian koksidiosis terhadap infeksi *Eimeria* di alam. Vaksinasi pada induk semang merangsang *protective immunity* yang berkembang cepat. Organisme hidup yang *virulent*, strain hidup yang dilemahkan (Jenkins *et al.*, 1991; Shirley, 1989), derivative parasit non infeksius (Rose, 1987), dan

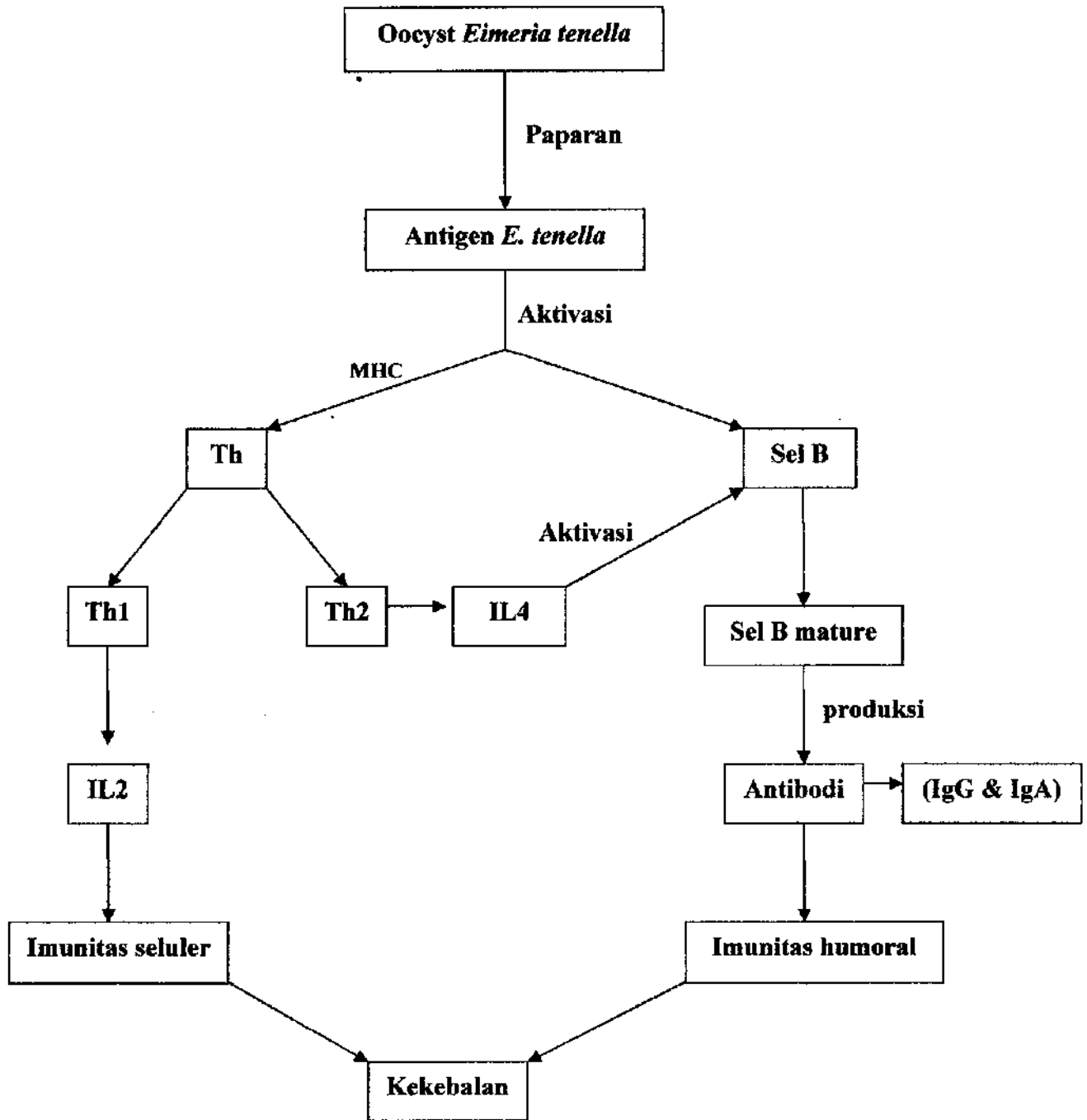
rekayasa genetik vaksin subunit (Bhogal *et al.*, 1992; Danforth *et al.*, 1989; Jenkins *et al.*, 1991) semua telah digunakan untuk imunisasi. Pada umumnya, vaksin non infeksi seperti organisme mati, ekstrak stadium perkembangan parasit yang berbeda, supernatan kultur jaringan dan cairan embrionik yang terinfeksi diberikan melalui rute yang berbeda dengan atau tanpa *adjuvants* adalah tidak efektif dan tidak merangsang *protective immunity* dalam waktu yang lama seperti vaksin hidup (Rose, 1987; Murray, *et al.*, 1985). Walaupun killed vaksin mengandung deretan luas imunogen parasit menginduksi kekebalan humoral, mereka biasanya kekurangan komponen penting yang berhubungan dengan stadium perkembangan intraseluler yang perlu untuk mengaktifkan *cell mediated immunity*. Vaksin subunit terdiri struktur atau komponen metabolik parasit tetapi secara normal tidak mampu menimbulkan spektrum yang luas dari sel T dan B host respon imun seperti yang terjadi pada infeksi dan vaksin hidup. Apabila vaksin subunit menjadi efisien dalam menginduksi *protective immunity*, ia harus mengandung epitop sel T dan sel B (Lillehoj *et al.*, 1988). Kemanjuran vaksin rekombinan koksidia dimasa yang akan datang akan tergantung pada identifikasi antigen yang tampak pada stadium siklus hidup yang berbeda dan penggunaan vektor dan sistem penghantaran untuk menimbulkan respon imun intestin. Selanjutnya keberadaan variasi genetik di antara strain *Eimeria* yang ada di lapangan menjamin evaluasi tipe antigen parasit yang digunakan dalam vaksin rekombinan subunit.

BAB 3

**KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN**

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 3.1. Skema kerangka konseptual penelitian

Eimeria tenella adalah koksidia yang sangat patogen terutama pada ayam yang berumur 3-4 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 (Soulsby, 1986). Ayam yang berumur 1-2 minggu lebih tahan karena eksistasi ookistanya berkurang disebabkan lemahnya gerakan lambung otot (*gizzard*) dan sistem pencernaan enzimatik belum bekerja secara maksimal, sehingga pemecahan dinding ookista kurang sempurna, sedangkan ayam yang berumur antara 2-4 minggu sudah mulai peka terhadap serangan koksidiosis (Soulsby, 1986).

Oocyst *E. tenella* merupakan antigen bagi induk semang, bila ayam terpapar secara terus menerus oleh antigen *E. tenella* maka akan mengaktifasi sel B serta sel T helper (Th). Sel Th akan berdeferensiasi menjadi Th1 dan Th2 sedangkan sel B akan teraktivasi menjadi sel B mature untuk memproduksi antibodi (IgG dan IgA). Sel Th1 akan mengaktivasi IL2 yang akan meningkatkan imunitas seluler. Dengan terbentuknya IgG dan IgA serta meningkatnya IL2 maka akan meningkatkan kekebalan pada ayam yang terpapar *E. tenella*.

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 di dalam 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, 1990). Berdasarkan percobaan yang

dilakukan Pierson *et al.*, (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.

Spesifik serum antibodi dapat terdeteksi secara dini pada infeksi *Eimeria* ± 1 minggu setelah inokulasi (Yun *et al.*, 2000) pada berbagai spesies induk semang baik mamalia maupun unggas. Pada umumnya level sporozoite spesifik serum Ig A mencapai puncak selama infeksi pertama *Eimeria tenella* (Lillehoj *et al.*, 1988) dan *Eimeria nieschulzi* (Rose, 1996) tetapi menurun lagi dalam beberapa hari, walaupun dalam suatu study (Lillehoj and Ruff, 1987) menyatakan bahwa level *Eimeria* spesifik serum Ig A meningkat lagi untuk beberapa periode waktu pada strain inbred ayam yang terinfeksi *E. tenella*, *E. acervulina* atau *E. maxima*. Lillehoj *et al.*, (1988) pada penelitiannya menemukan gambaran bahwa level sporozoit spesifik serum Ig A meningkat lagi pada infeksi tantangan walaupun dengan sampling waktu yang berbeda dan juga dosis infeksi yang berbeda. Berbeda dengan Ig A, *Eimeria* spesifik Ig G meningkat secara perlahan-lahan setelah infeksi pertama (Idris *et al.*, 1996) tetapi pada infeksi tantangan respon Ig G kuat. Lillehoj *et al.*, (1993) melaporkan bahwa gambaran respon antibodi serum terhadap infeksi *E. tenella*, dimana hanya sedikit dan perlahan, respon Ig G meningkat terhadap infeksi pertama tetapi meningkat secara significant pada infeksi kedua.

BAB 4
MATERI DAN
METODE PENELITIAN

BAB 4 MATERI DAN METODE

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2011 dengan beberapa tahapan mulai dari persiapan, adaptasi sampai pada pelaksanaan penelitian.

Penelitian ini dilakukan di dua lokasi yaitu kandang hewan coba Departemen Peningkatan Mutu dan Produksi Vaksin dan Antisera Pusat Veterinaria Farma Surabaya untuk pemeliharaan ayam percobaan dan pemeriksaan dan pengumpulan beberapa data dan Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk pemeriksaan perubahan patologi anatomi.

4.2. Materi Penelitian

Hewan percobaan, ayam pedaging strain Loghmann produksi PT Multibreeder Aderama sebanyak 80 ekor yang terbagi dalam empat kelompok umur (1, 7, 14, 21 hari) dan masing-masing kelompok umur ayam terdiri dari 20 ekor. Semua ayam percobaan diadaptasikan selama 7 hari dan ditempatkan dalam kandang baterai secara individual serta diberikan diet standar (Charoen Pockphand) yang tidak mengandung koksidiostat. Pakan dan minum diberikan secara ad libitum. Setelah masing-masing kelompok umur ayam beradaptasi dan mencapai umur 7, 14, 21 dan 28 hari kemudian diacak dan siap dilakukan infeksi *E. tenella*.

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

Peralatan, kandang baterai beserta perlengkapannya, timbangan digital, gelas plastik, nampan, gelas ukur, tabung sentrifus, pengaduk batangan, sarung tangan,

sprit 1 cc, peralatan untuk perhitungan ookista, pemeriksaan patologi anatomi (makroskopis dan mikroskopis) dan ELISA.

4.3. Metode Penelitian

Prosedur penelitian, sebanyak 80 ekor ayam yang terbagi dalam empat kelompok umur (7, 14, 21 dan 28 hari) masing-masing diinfeksi dengan 4×10^3 dosis ookista *E. tenella*. Pengamatan gejala klinis dimulai setelah infeksi pada masing-masing kelompok ayam sedangkan pengamatan total produksi dilakukan pada hari ke 7-12 setelah infeksi. Empat belas hari setelah infeksi pertama, dilakukan infeksi kedua. Infeksi ketiga diberikan 28 hari setelah infeksi pertama dengan dosis sama seperti dosis infeksi pertama dan kedua. Pengamatan gejala klinis dan total produksi ookista untuk infeksi kedua dan ketiga dilakukan dengan metode yang sama dengan infeksi pertama. Setiap setelah infeksi setengah dari jumlah masing-masing kelompok umur ayam dikorbankan pada hari ke 4 untuk dilakukan pemeriksaan perubahan histopatologi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan perubahan makroskopis dilakukan dengan melihat skor perlukaan sekum, sedangkan perubahan mikroskopis dilakukan untuk melihat perkembangan intraseluler parasit pada masing-masing kelompok umur ayam yang diimunisasi dengan menggunakan pewarnaan HE (Idris *et al.*, 1996). Pada pemeriksaan mikroskopis jumlah parasit dihitung per 10 unit kripta Lieberkuhn. Semua prosedur di atas dilakukan pada semua kelompok umur ayam.

Penghitungan total produksi ookista pada masing-masing infeksi dilakukan mulai awal produksi ookista (\pm hari ke 7) sampai akhir (\pm hari ke 12) setelah infeksi menggunakan metode *flotation* dan dihitung menggunakan *New McMaster Chamber* (Yunus *et al.*, 2005). Pengukuran titer IgA dan IgG dilakukan 2 minggu setelah setiap

kali imunisasi. Perkembangan tingkat kekebalan pada masing-masing kelompok umur ayam direpresentasikan dalam tinggi rendahnya titer IgA dan IgG, total produksi ookista, skor perlukaan sekum dan jumlah parasit yang berkembang secara intraseluler dari masing-masing infeksi (infeksi I, II dan III).

4.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan asumsi bahwa ayam perlakuan dikelompokkan kedalam masing-masing kelompok umur dan mendapat tahapan perlakuan infeksi. Kondisi perlakuan diusahakan sama dari pengambilan sampel sampai dengan pengerjaan serta kondisi kandang percobaan dan laboratorium. Data yang diperoleh dilakukan analisis dengan menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA)*.

Klasifikasi Variabel

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas (*independent variable*) yaitu dosis infeksi ookista *E. tenella*.
2. Variabel tergantung (*dependent variable*) yaitu gejala klinis, perubahan makroskopis dan mikroskopis sekum ayam yang diinfeksi, produksi ookista dan titer IgA dan IgG.
3. Variabel kendali meliputi isolat *E. tenella*, strain ayam pedaging dan instrumen (apparatus) yang digunakan, ketrampilan peneliti sebagai kolektor sampel dan pengumpul data.

Definisi Operasional Variabel

Dosis infeksi *E. tenella* sangat menentukan berat ringannya manifestasi dari infeksi. *E. tenella* adalah termasuk satu diantara beberapa spesies *Eimeria* patogen yang menginfeksi ayam. Penelitian yang dilakukan Suprihati dkk (2000) Berat

ringannya serangan koksidiosis dipengaruhi oleh jumlah parasit yang menginfeksi (dosis infeksi), daya kebal dan umur induk semang. Penelitian yang dilakukan Suprihati dkk (2000) menunjukkan bahwa dosis 4000 ookista menyebabkan kerusakan mucosa sekum yang 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

Gejala klinis, perubahan makroskopis dan mikroskopis sekum ayam yang diinfeksi, produksi ookista dan titer IgA dan IgG.

Berat ringannya manifestasi atau gejala klinis dari infeksi. *E. tenella* adalah termasuk satu diantara beberapa spesies *Eimeria* patogen yang menginfeksi ayam sangat ditentukan dosis infeksi, patogenitas spesies *Eimeria*, umur dan imunitas induk semang. Berat ringannya lesi dan kerusakan lain pada sekum yang ditimbulkan akibat infeksi *E. tenella* juga dipengaruhi oleh jumlah sporozoit yang berhasil menginfeksi sel epitel sekum, yang termanifestasi dalam derajat kerusakan yang lebih berat yang ditimbulkan oleh dosis infeksi yang semakin besar. 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. Penelitian yang dilakukan Suprihati dkk (2000) menunjukkan bahwa dosis 4×10^3 ookista menyebabkan kerusakan mucosa sekum yang 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. Banyak laporan menunjukkan bahwa infeksi tantangan terhadap ayam yang pernah terinfeksi oleh *Eimeria* merangsang respon yang mampu memproteksi ayam terhadap infeksi berikutnya, walaupun respon tersebut biasanya

diukur melalui perbandingan penambahan berat badan, konversi pakan, penurunan nilai perlukaan, perubahan histopatologis dan produksi ookista setelah infeksi tantangan. IgA dan IgG dapat digunakan sebagai ukuran untuk mengetahui tingkat kekebalan diantara pola kedua imunoglobulin.

Isolat *E. tenella*, strain ayam pedaging, instrumen (apparatus) dan ketrampilan peneliti

Isolat *E. tenella* adalah isolat lokal Surabaya yang diperoleh dari lapangan yang dikultur, dipasasekan berulang dan dimaintenance di laboratorium protozoologi FKH Unair oleh staff pengajar protozoologi. Strain ayam pedaging adalah Loghmann yang diperoleh dari PT Multibreeder Aderama (Java Comfeed Group). Instrumen (apparatus) yang digunakan dalam penelitian merupakan instrumen yang secara periodik digunakan dalam berbagai proyek penelitian dan secara periodik pula di validasi oleh tenaga ahli dari masing-masing instrumen. Ketrampilan peneliti ini dapat dikendalikan dan ditentukan melalui proses pengalaman dan ketrampilan yang didapat dalam kurun waktu lama dan berbagai proyek penelitian sebelumnya.

Instrumen dan Metode Pengumpulan Data

Instrumen dan metode pengumpulan data dilakukan pada beberapa variabel diantaranya gejala klinis, perubahan PA (makroskopis dan mikroskopis) dan produksi ookista. Data gejala klinis diperoleh dengan mencatat setiap perubahan dari kondisi tubuh setiap kelompok ayam yang diinfeksi mulai awal infeksi sampai selesainya proses atau periode infeksi baik infeksi I, II dan III. Kelainan histopatologi yang terdapat dalam preparat sekum diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali lalu dinilai dengan skor yang dilihat dari delapan lapangan pandang dan dalam

satu lapangan pandang diberikan skor menurut (Xavier, 2009) yang telah dimodifikasi sebagai berikut :

Apabila tingkat kerusakan ringan = 1

Apabila tingkat kerusakan sedang = 2

Apabila tingkat kerusakan berat = 3

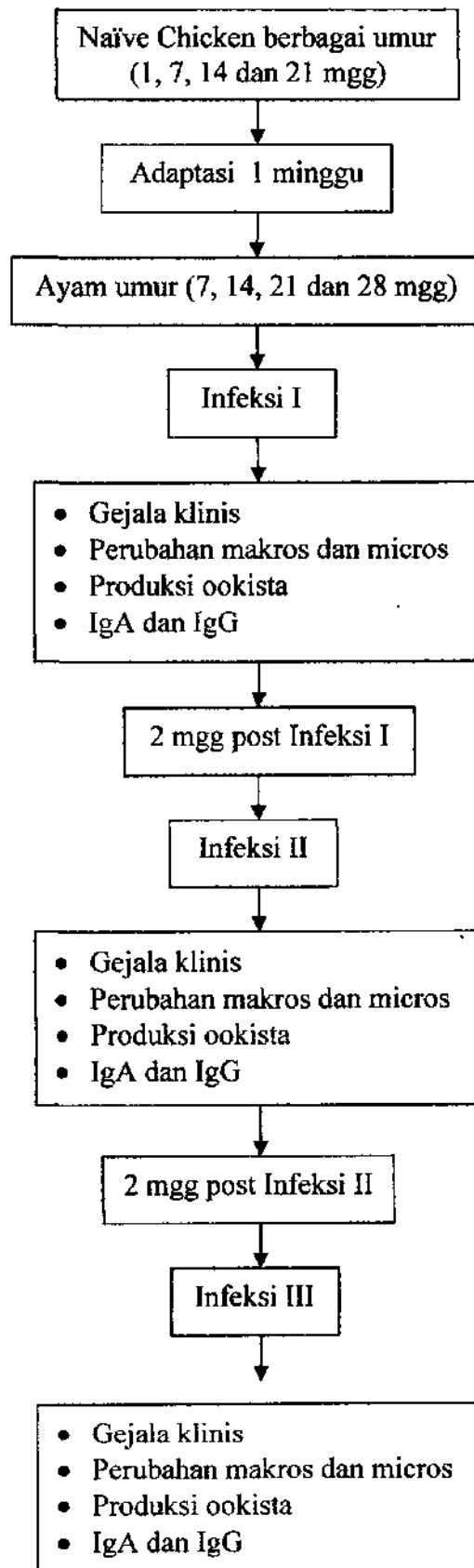
pada tingkat kerusakan ringan sel terlihat normal hingga mengalami degenerasi. Tingkat kerusakan sedang ditandai dengan adanya degenerasi dan terdapat infiltrasi sel radang. Pada tingkat kerusakan berat ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang, degenerasi, perdarahan dan sel mengalami nekrosis. Perubahan mikroskopis yang terjadi meliputi perkembangan parasit secara intraseluler dan dihitung jumlah parasit setiap 10 kripta Lieberkuhn menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Produksi ookista dilakukan pada hari ke 7 – 12 setelah infeksi dengan menggunakan metode flotation dengan New McMaster Chamber. Pola produksi ookista harian akan menggambarkan pola produksi ookista harian dan selanjutnya ditotal secara keseluruhan akan menggambarkan tingkat perkembangan parasit dan imunitas induk semang terutama setelah infeksi pertama. Pengukuran IgA dan IgG dilakukan pengambilan mukosa lendir sekum dan darah ayam setiap 2 minggu setelah infeksi (infeksi I, II dan III)

Analisis Data (Uji Statistik)

Data gejala klinis dan perkembangan parasit secara intraseluler akibat infeksi *E. tenella*, mulai infeksi pertama, kedua dan ketiga serta IgA dan IgG dianalisis dengan analisis komparasi dan deskriptif untuk setiap kelompok perlakuan. Data pemeriksaan makroskopis berupa skor perlakuan sekum dianalisa dengan Kruskal Wallis One Way Test. Total produksi ookista dan jumlah parasit yang berkembang secara intraseluler

dari tiap kelompok perlakuan diperoleh dianalisis menggunakan uji varian (ANOVA). Bila terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT). (Steel and Torrie, 1995).

Untuk memudahkan perhitungan statistik digunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 10.0. Bila didapatkan harga kemaknaan (signifikansi atau dan mendekati signifikansi) yang lebih besar dari harga $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima dan bila didapatkan harga kemaknaan (signifikansi atau dan mendekati signifikansi) yang lebih kecil dari harga $\alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak.

KERANGKA OPERASIONAL PENELITIAN

Gambar 4.1. Skema kerangka operasional penelitian

BAB 5
HASIL DAN
ANALISIS PENELITIAN

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Gejala Klinis dan Perubahan Patologi

Infeksi rutin menggunakan *E. tenella* yang diberikan pada setiap kelompok umur perlakuan menunjukkan pola gejala klinis yang hampir sama untuk setiap frekuensi dengan gejala klinis yang tampak jelas berupa diare yang dimulai pada hari keempat setelah infeksi dan semakin progresif dan disertai adanya darah. Ayam terlihat depresi, anoreksia dan lemah. Kondisi tersebut berlangsung sampai hari kesepuluh setelah infeksi dan berlangsung selama infeksi pertama. Kondisi secara terinci untuk setiap kelompok umur perlakuan menunjukkan bahwa kelompok umur perlakuan 7 dan 14 hari gejala klinis yang agak ringan dibandingkan kelompok umur perlakuan 21 dan 28 hari.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis pada sekum, didapatkan skor kerusakan secara histopatologis yang meliputi sel radang, degenerasi, nekrosis perdarahan, dan kerusakan pada mukosa sekum seperti pada Tabel 5.1 dan Gambar 5.1.

Tabel 5.1. Rata-rata dan Simpangan Baku Skor Histopatologi Sekum Pada Tiap Frekuensi Infeksi.

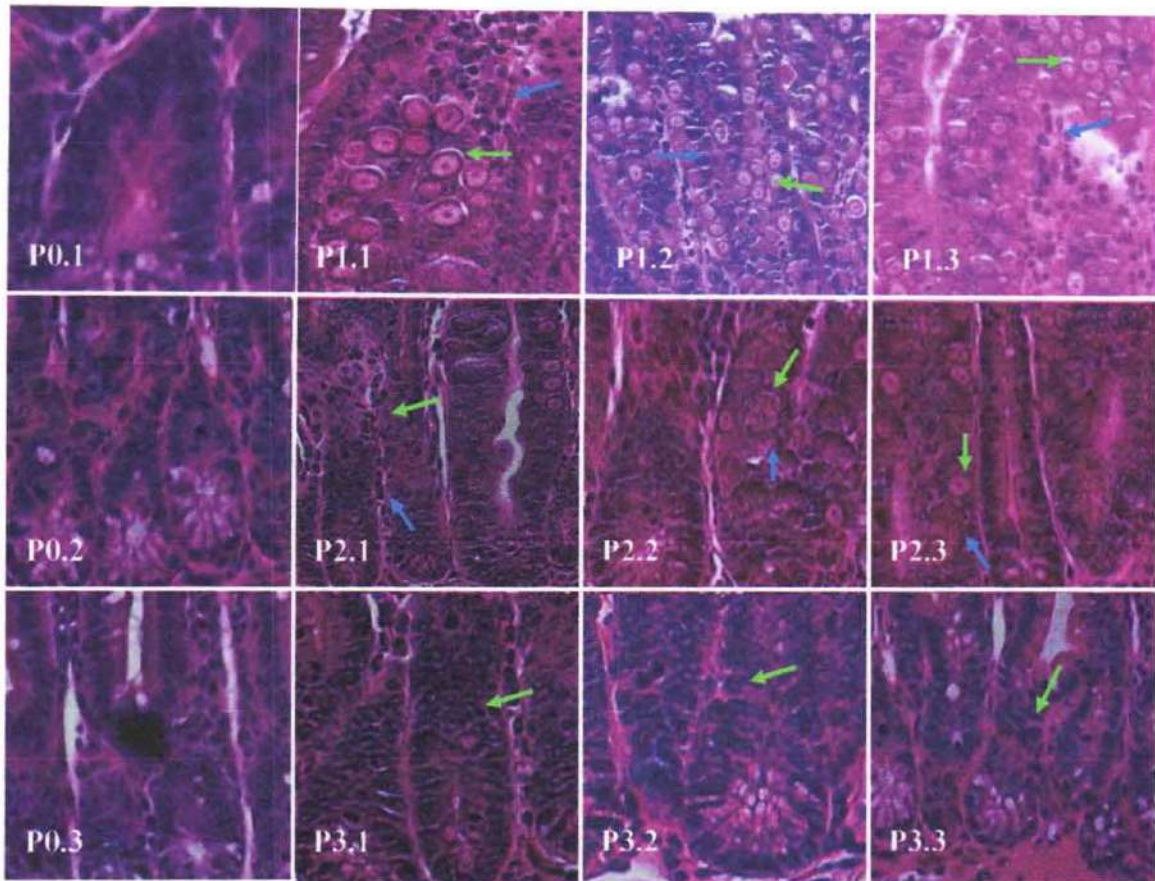
Perlakuan	7 hari	14 hari	21 hari	28 hari
	$\bar{X} \pm SD$ Skor Histopatologi			
Infeksi 1	0,00 ± 0,00	3,11 ^a ± 0,01	3,03 ^a ± 0,03	3,00 ^a ± 0,00
Infeksi 2	0,00 ± 0,00	2,02 ^{ab} ± 0,58	2,23 ^{ab} ± 0,31	2,01 ^{ab} ± 0,21
Infeksi 3	0,00 ± 0,00	1,61 ^c ± 0,47	1,41 ^c ± 0,42	1,42 ^c ± 0,33

Keterangan : superskrip yang berbeda menyatakan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Analisis statistik menggunakan uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara P1, P2, dan P3, skor kerusakan usus tertinggi terdapat pada P1 (infeksi pertama) memberikan patogenitas yang tinggi pada ayam yang belum pernah

terinfeksi. Pada P2 (infeksi kedua) dan P3 (infeksi ketiga) yang sudah diinfeksi menunjukkan skor perlakuan yang lebih rendah dari P1, sehingga terdapat pengaruh frekuensi infeksi berdasarkan penurunan dari gambaran kerusakan histopatologi sekum. Pada pengamatan yang dilakukan pada P1 terlihat peradangan yang sangat banyak, kerusakan berupa erosi dan pembengkakan, sedikit terdapat perdarahan berupa akumulasi dari sel eritrosit, Sel epitel mengalami degenerasi dan adanya nekrosis pada mukosa sekum. Pada P2 dan P3 kerusakan yang terjadi lebih ringan bila dibanding dengan P1, peradangan yang terjadi lebih sedikit, kerusakan pada mukosa sama kedua kelompok perlakuan (P2 dan P3) dimana hanya sebagian kecil saja yang mengalami perubahan, adanya degenerasi dan sedikit nekrosis. Dari ketiga kelompok perlakuan (tingkatan umur) tersebut terlihat perkembangan stadium parasit yang dikelilingi oleh sel radang (Gb. 5.1) sebagai respon tubuh ayam terhadap antigen yang masuk.

Beberapa perubahan patologi anatomi di sekum pada ayam setelah diinfeksi dengan ookista *Eimeria tenella* yang dapat dilihat antara lain degenerasi sel, peradangan, nekrosis, perdarahan serta mukosa yang mengalami erosi. Adanya peradangan mengindikasikan proses infeksi (*E. tenella*) yang masuk pada tubuh induk semang sedang berjalan. Selain sel radang juga ditemukan sel epitel yang mengalami



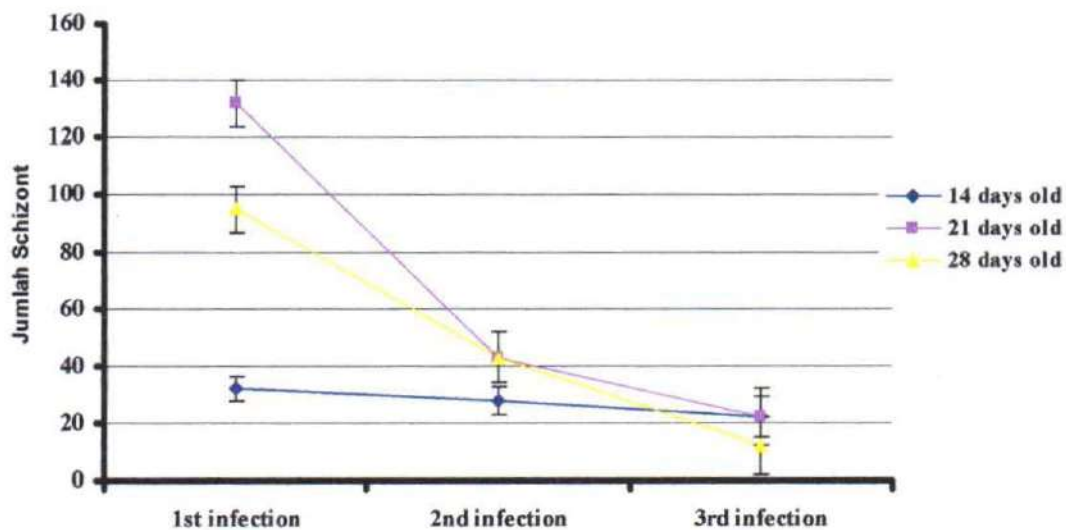
Gambar 5.1. Perubahan histopatologis dari sekum pada tingkatan umur (panel P0.1-P1.3), infeksi (P0.2-P2.3), infeksi (P0.3-P3.3). (P0.1, P0.2, P0.3 adalah placebo). →, Schizont; →, sel radang. Menggunakan pewarnaan HE, pembesaran 400x.

pembengkakan (*swelling*) akibat proses pertahanan sel terhadap adanya infeksi. Kerusakan yang jelas terjadi pada mukosa, hal ini disebabkan proses perkembangan skizon, gamet dan ookista *E. tenella* pada sel epitel mukosa terutama di bagian atas. Bentuk kerusakan mukosa yang ditimbulkan berupa pembengkakan dan erosi. Rata-rata pada infeksi kedua dan ketiga pada tingkatan umur terlihat kerusakan epitel mukosa yang terlihat secara patologi bukan merupakan kerusakan yang serius, hal ini disebabkan kerusakan yang terjadi hanya terdapat pada bagian atas dari mukosa dan tidak sampai pada daerah kript atau lapisan muskularis. Pada kenyataannya kerusakan mukosa tersebut sedikit banyak menimbulkan pengurangan luas permukaan pada mukosa sekum untuk menyerap sari makanan (Van Kruiningen, 1998). Dengan

demikian pada ayam yang diinfeksi dengan *E. tenella* dapat terjadi gangguan absorpsi nutrisi dan berpotensi untuk mempengaruhi pertambahan berat badan ayam.

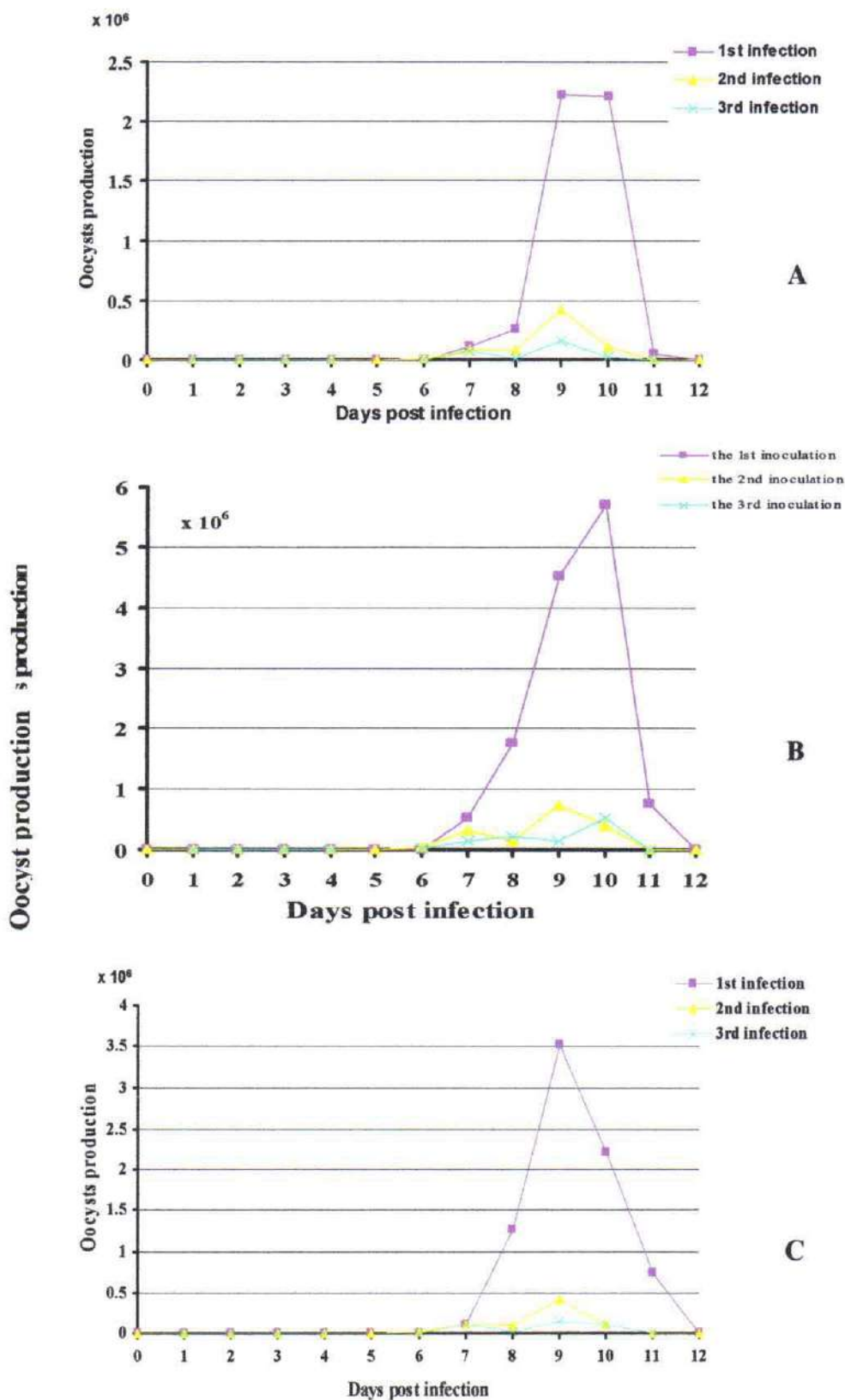
5.2. Jumlah Parasit (Jumlah Schizont)

Penghitungan jumlah schizont pada preparat histopatologi sekum dilakukan dengan melihat masing-masing sepuluh kripta Liberkhun secara acak pada tiap preparat (Sari, 2007) dengan pembesaran 400 kali terhadap lima preparat pada tiap perlakuan. Semua perlakuan dengan infeksi *E. tenella* pada tingkatan umur ayam menunjukkan pola jumlah schizont yang berkembang dalam mukosa sekum hampir sama yakni antara perlakuan infeksi pada ayam umur 3 minggu dan 4 minggu, demikian juga pada ayam umur 2 minggu menunjukkan pola yang sama dimana infeksi pertama, kedua dan ketiga menunjukkan jumlah schizont yang berkembang semakin menurun seiring dengan jumlah infeksi (Gb. 5.2).



Gambar 5.2. Perbandingan jumlah schizont pada tingkatan umur dan infeksi

5.3. Produksi Ookista



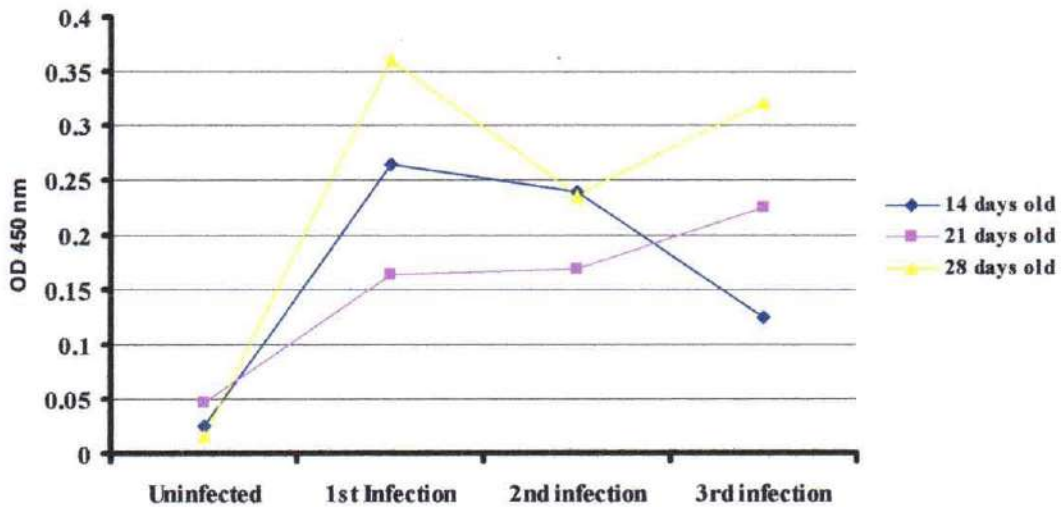
Gambar 5.3. Perbandingan pola produksi ookista pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi

Pada perhitungan produksi ookista diantara tiga perlakuan infeksi pada tingkatan umur menunjukkan pola yang hampir sama. Pada kelompok ayam umur 2 minggu rerata total produksi ookista dari infeksi pertama, kedua dan ketiga berturut-turut $[(4,85 \pm 0,82) \times 10^6]$, $[(0,72 \pm 0,12) \times 10^6]$ dan $[(0,27 \pm 0,52) \times 10^6]$. Hasil tersebut memperlihatkan total produksi ookista pada tertinggi pada infeksi pertama dan sangat signifikan berbeda dengan infeksi kedua dan ketiga ($p < 0,01$), terjadi penurunan produksi ookista $\pm 86-95\%$ jika dibandingkan antara infeksi pertama dengan infeksi kedua dan ketiga.

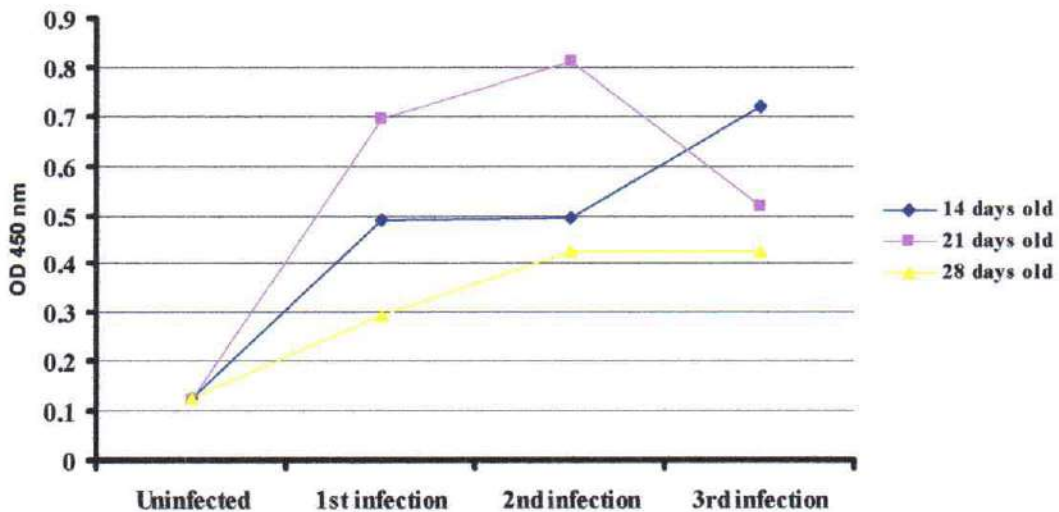
Pada kelompok ayam umur 3 minggu rerata total produksi ookista dari infeksi pertama, kedua dan ketiga berturut-turut $[(13,25 \pm 1,9) \times 10^6]$, $[(1,65 \pm 0,22) \times 10^6]$ dan $[(1,07 \pm 0,16) \times 10^6]$. Hasil tersebut memperlihatkan total produksi ookista pada tertinggi pada infeksi pertama dan sangat signifikan berbeda dengan infeksi kedua dan ketiga ($p < 0,01$), terjadi penurunan produksi ookista $\pm 88-92\%$ jika dibandingkan antara infeksi pertama dengan infeksi kedua dan ketiga.

Pada kelompok ayam umur 4 minggu rerata total produksi ookista dari infeksi pertama, kedua dan ketiga berturut-turut $[(7,85 \pm 1,11) \times 10^6]$, $[(0,76 \pm 0,12) \times 10^6]$ dan $[(0,41 \pm 0,06) \times 10^6]$. Hasil tersebut memperlihatkan total produksi ookista pada tertinggi pada infeksi pertama dan sangat signifikan berbeda dengan infeksi kedua dan ketiga ($p < 0,01$), terjadi penurunan produksi ookista $\pm 91-95\%$ jika dibandingkan antara infeksi pertama dengan infeksi kedua dan ketiga.

5.5. Optical Density IgA dan IgG



Gambar 5.4. Perbandingan nilai optical density (OD 450 nm) IgG pada tingkatan umur dan infeksi



*

Gambar 5.5. Perbandingan nilai optical density (OD 450 nm) IgA pada tingkatan umur (panel A, B dan C) dan infeksi

Hasil pengujian optical density (OD 450 nm) terhadap IgA dan IgG pada beberapa tingkatan infeksi dan tingkatan kelompok umur ayam menunjukkan pola peningkatan setelah infeksi pertama dan menurun setelah infeksi kedua pada IgG disemua kelompok umur ayam.

BAB 6
PEMBAHASAN

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Gejala klinis

Pada semua kelompok umur perlakuan pada infeksi pertama menunjukkan gejala klinis yang jelas berupa diare berdarah, depresi, penurunan nafsu makan, dan kelemahan. Hal ini dikarenakan semua kelompok umur ayam belum pernah terpapar antigen *Eimeria tenella* sehingga dalam tubuh ayam belum terbentuk *protective immunity* untuk merespon antigen yang masuk. Gejala klinis tersebut merupakan manifestasi dari perkembangan parasit yang terjadi dalam sekum dengan kerusakan yang ditimbulkan akibat perkembangan endogenous. Diare berdarah terjadi akibat pecahnya stadium schizont yang mature yang terjadi dalam sel epitel sekum dalam jumlah banyak sehingga pembuluh darah mengalami kerusakan. Banyaknya darah yang keluar pada beberapa kasus menyebabkan anemia diikuti kelemahan dan penurunan nafsu makan. Kesakitan akibat infeksi menyebabkan depresi pada yang terinfeksi. Pada infeksi kedua dan ketiga, setiap kelompok umur perlakuan tidak menunjukkan gejala klinis yang jelas dan ayam tetap survive. Hal ini dikarenakan tubuh ayam telah mengenal antigen dan telah menginduksi *protective immunity*. Respon tersebut terkait dengan peran *cell mediated immunity* dalam proses infeksi parasit intraseluler seperti *E. tenella*.

6.2. Perubahan Patologi Anatomi

Berat ringannya serangan atau infeksi koksidiosis dipengaruhi oleh jumlah parasit yang menginfeksi (dosis infeksi), daya kebal dan umur induk semang. Dosis 4000 ookista *E. tenella* pada penelitian ini menimbulkan perubahan patologi pada mukosa sekum dimana mukosa terlihat pendarahan yang dibuktikan dengan gambaran histopatologis berupa perdarahan, degenerasi dan nekrose jaringan serta infiltrasi sel-sel radang yang mencakup hampir tiga perempat lapangan pandang sampel di bawah

mikroskop pada infeksi pertama, hal disebabkan masing-masing tingkatan kelompok umur ayam masih belum terinfeksi sehingga ayam belum terstimulasi kekebalannya baik seluler melalui *cell mediated immunity* maupun humoral, hal ini disebabkan tubuh ayam belum mengenal antigen yang masuk. Ayam yang pernah terinfeksi antigen *Eimeria* dan sembuh dari infeksi akan mempunyai imunitas, tetapi umur imunitas ini pendek, kecuali kalau ayam-ayam itu selalu berhubungan dengan koksidia (Rose, 1987).

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 spp.* Reid (1972) menyatakan bahwa pada hari ketujuh terjadi pelepasan dari jaringan yang mengalami degenerasi.

Pada infeksi kedua dan ketiga perubahan patologi pada sekum serta perubahan lain seperti pada infeksi pertama pada semua kelompok umur ayam tidak nampak jelas. Pada infeksi kedua dan ketiga dijumpai kerusakan seperti pada infeksi pertama tetapi kerusakan yang terjadi lebih ringan, bahkan masih ditemukan parasit dalam stadium skizon. Khusus pada infeksi ketiga masih dijumpai pertumbuhan dan perkembangan ookista. Sel-sel radang banyak dijumpai pada lapisan mukosa dan mengelilingi parasit tetapi tidak ditemukan adanya kerusakan yang berat.

Tingkat kerusakan yang ringan pada infeksi kedua dan ketiga akibat kekebalan yang terbentuk tetapi sebagian parasit masih menunjukkan kemampuan untuk menimbulkan lesi yang berarti. Salah satu faktor yang mempengaruhi kekebalan

terhadap koksidiosis adalah paparan antigen parasit pada induk semang (Tizard, 2000). Pada penelitian ini induk semang belum mempunyai kekebalan terhadap koksidiosis baik yang bersifat kebal sebagian atau keseluruhan sehingga pada infeksi kedua dan ketiga yang sudah mengenal antigen lebih dulu sehingga infeksi pertama 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 infeksi kedua dan ketiga.

Kopko *et al.*, (2000) dalam penelitiannya menemukan suatu *antigen body refractil* (ditandai dengan istilah SO7) ditemukan dalam sporozoite dari *E. 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.

6.3. Produksi Ookista

Adanya perbedaan antara kelompok ayam umur 3 minggu dan 4 minggu dengan ayam umur 2 minggu dalam produksi ookista 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 melewati sistem kekebalan non spesifik maka perkembangan agen infeksi tersebut terganggu dan tidak sebagaimana mestinya atau sesuai dengan siklus hidupnya dan kemudian berlanjut 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 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 and Walker, 1993).

Secara alamiah ditemukan beribu-ribu populasi limfosit yang berbeda, tetapi masing-masing hanya mengenali satu epitop. Limfosit yang kontak pertama dengan epitop, 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 percobaan, pada saat pertama kali kontak dengan antigen yaitu ookista.

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 pada infeksi kedua dan

ketiga yang diberikan pada kelompok umur ayam perlakuan menurun kemampuannya untuk dapat melanjutkan perkembang biakannya dan menghasilkan ookista.

6.4. Titer IgG dan IgA

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa titer IgG dan IgA yang terdeteksi dan direpresentasikan melalui optical density terlihat pola seperti pada Gambar 5.4 dan 5.5. Secara umum pola optical density IgG pada infeksi pertama menunjukkan angka yang tinggi tetapi pada infeksi kedua mengalami penurunan dan naik kembali pada infeksi ketiga. Selanjutnya pola optical density IgA pada infeksi pertama sampai kedua menunjukkan peningkatan yang linier dan pada infeksi ketiga mengalami penurunan.

Spesifik serum antibodi dapat terdeteksi secara dini pada infeksi *Eimeria* ± 1 minggu setelah inokulasi (Yun *et al.*, 2000) pada berbagai spesies induk semang baik mamalia maupun unggas. Pada umumnya level sporozoite spesifik serum Ig A mencapai puncak selama infeksi pertama *Eimeria tenella* (Lillehoj *et al.*, 1988) dan *Eimeria nieschulzi* (Rose, 1996) tetapi menurun lagi dalam beberapa hari, walaupun dalam suatu study (Lillehoj and Ruff, 1987) menyatakan bahwa level *Eimeria* spesifik serum Ig A meningkat lagi untuk beberapa periode waktu pada strain inbred ayam yang terinfeksi *E. tenella*, *E. acervulina* atau *E. maxima*. Lillehoj *et al.*, (1988) pada penelitiannya menemukan gambaran bahwa level sporozoit spesifik serum Ig A meningkat lagi pada infeksi tantangan walaupun dengan sampling waktu yang berbeda dan juga dosis infeksi yang berbeda. Berbeda dengan Ig A, *Eimeria* spesifik Ig G meningkat secara perlahan-lahan setelah infeksi pertama (Idris *et al.*, 1996) tetapi pada infeksi tantangan respon Ig G kuat. Lillehoj *et al.*, (1993) melaporkan bahwa gambaran respon antibodi serum terhadap infeksi *E. tenella*, dimana hanya

sedikit dan perlahan, respon Ig G meningkat terhadap infeksi pertama tetapi meningkat secara significant pada infeksi kedua.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh beberapa kesimpulan antara lain:

- Perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kekebalan terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
- Ada perbedaan tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam yang dipapar secara rutin.
- Ada perbedaan frekuensi paparan dalam memperoleh tingkat kekebalan dilihat perubahan patologis anatomi, produksi ookista dan titer Ig A dan Ig G terhadap infeksi *E. tenella* pada berbagai umur ayam selama proses pemaparan rutin.
- Hasil terbaik berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa model vaksinasi untuk koksidiosis sebaiknya dilakukan pada ayam umur 2 minggu dan dibooster pada umur 4 minggu.

7.2. Saran

Saran yang dapat diberikan melalui penelitian ini antara lain:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai dosis oocyst *E. tenella* agar dapat diperoleh dosis yang optimal untuk proteksi dalam program vaksinasi koksidiosis sekum pada kondisi lapangan.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan kelompok ayam pembandingan dengan infeksi berbagai spesies *Eimeria* agar diperoleh pola standar tingkat kekebalan yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Befus, A. D., N. Johnston, G. A. Leslie and J. Bienenstock. 1980. Gut associated lymphoid tissue in the chicken. I. Morphology, ontogeny, and some functional characteristics of Payer's patches. *J. Immunol.* 125: 2626 – 2632.
- Bhogal, B. S., Miller, G. A., Anderson, A. C., Jessee, E. J., Strausberg, S., McCandliss, R., Nagle, J. and Strausberg, R. L. 1992. Potential of a recombinant antigen as a prophylactic vaccine for day-old broiler chickens against *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 31: 323 – 335.
- Brandtzaeg, P., T. S. Halstensen, K. Kett, P. Krajci, D. Kvale, T. O. Rognum, H. Scott and L. M. Sollid. 1989. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology* 97: 1562 – 1584.
- Brown, P. J., K. J. Billington, J. M. Bumstead, J. D. Clark and F. M. Tomely. 2000. A microneme protein from *Eimeria tenella* with homolog to Apple domains of coagulation factor XI in plasma pre-kallikrein. *Mol. Biochem Parasitol.* 107: 91 – 102.
- Bucy, R. P., C. L. Chen, J. Cihak, U. Losch and M. D. Cooper. 1988. Avian T cells expressing gd receptors localize in the splenic sinusoids and the intestinal epithelium. *J. Immunol.* 41: 2200 – 2205.
- Bumsted, J. and F. Tomely. 2000. Induction of secretion and surface capping of microneme proteins in *Eimeria tenella*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 110: 311 – 321.
- Chai, J. Y. and Lillehoj, H. S. 1988. Isolation and functional characterization of chicken intestinal intra-epithelial lymphocytes showing natural killer cell activity against tumor target cells. *Immunology* 63: 111 – 117.
- Chan, M. M., C. L. Chen, L. L. Ager and M. D. Cooper. 1988. Identification of the avian homologues of mammalian CD4 and CD8 antigens. *J. Immunol.* 140: 2133 – 2138.
- Choi, K. D., H. S. Lillehoj and D. S. Zalenga. 1999. Changes in local IFN- γ and TGF- β mRNA expression and intraepithelial lymphocytes following *Eimeria acervulina* infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 71: 263 – 275.
- Danforth, H. D., Augustine, P. C., Ruff, M. D., McCandliss, R., Strausberg, R. L. and Likei, M. 1989. Genetically engineered antigen confers partial protection against avian coccidial parasites. *Poult. Sci.* 68: 1643 – 1652.
- Dubremetz, J. F., N. Garcia-Reguet, V. Consell, M. N. Fourmaux. 1998. Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa. *Int. J. Parasitol.* 28: 1007 – 1013.

- Fry, M., Hudson, A. T., Randall, A. W. and Williams, R. B. 1984. Potent and selective hydroxynaphthoquinone inhibitors of mitochondrial electron transport in *Eimeria tenella* (Apicomplexa: Coccidia). *Biochem. Pharmacol.* 33: 2115 - 2122.
- Girard, F., Fort, G., Yvone, P. and Quere, P. 1997. Kinetics of specific immunoglobulin A, M, and G production in the duodenal and caecal mucosa of chicken infected with *Eimeria acervulina* or *Eimeria tenella*. *Int. J. Parasitol.* 27: 803 - 809.
- Gurnett, A. M., P. M. Dulski, S. J. Darkin-Rattray, M. J. Carrington and D. M. Schmatz. 1995. Selective labeling of intracellular parasite proteins by using ricin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 2388 - 2392.
- Idris, A. B., Bounous, D. I., Goodwin, M. A., Brown, J. and Krushinskic, E. A. 1996. Lack of correlation between microscopic lesion scores and gross lesion scores in commercially grown broilers examined for small intestinal *Eimeria* spp. *Coccidiosis. Avian Dis.* 41: 388 - 391.
- Jenkins, M. C., Castle, M. D. and Danforth, H. D. 1991. Protective immunization against the intestinal parasite *Eimeria acervulina* with recombinant coccidial antigen. *Poult. Sci.* 70: 539 - 547.
- Kopko, S. H., Martin, S and Barta, J. B. 2000. *Eimeria tenella* Administered Using Various Immunizing Strategies. *Poultry Sci.* 79: 336-342
- Kim, J. K., W. Min, H. S. Lillehoj, S. W. Kim, E. J. Sohn, K. D. Song and Han. J. Y. 2001. Generation and characterization of recombinant scFv antibodies detecting *Eimeria acervulina* surface antigen. *Hybridoma* 20: 175 - 181.
- Levine, N. D. 1995. *Protozoology Veteriner.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. pp.180 -198.
- Lillehoj, H. S. 1987. Effects of immunosuppression on avian coccidiosis: cyclosporine A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. *Infect. Immun.* 55: 1616 - 1621.
- Lillehoj, H. S. 1998. Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. *Int. J. Parasitol.* 28: 1071 - 1081.
- Lillehoj, H. S. and Bacon, L. D. 1991. Increase of intestinal intraepithelial lymphocytes expressing CD8 antigen following challenge infection with *Eimeria acervulina*. *Avian Dis.* 35: 294 - 301.
- Lillehoj, H. S., Lillehoj, E. P., Weinstock, D. and Schat, K. A. 1988. Functional and biochemical characterizations of avian T lymphocyte antigen identified by monoclonal antibodies. *Eur. J. Immunol.* 18: 2059 - 2065.
- Lillehoj, H. S. and Lillehoj, E. P. 2000. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. *Avian Dis.* 44: 408 - 425.

- Lillehoj, H. S. and Ruff, M. D. 1987. Comparison of disease susceptibility and subclass-specific antibody response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella*, *E. acervulina*, or *E. maxima*. *Avian Dis.* 31: 112 – 119.
- Lillehoj, H. S. and Trout, J. M. 1994. CD8⁺T cell-coccidia interactions. *Parasitol. Today* 10: 10 -14.
- Lillehoj, H. S. and Trout, J. M. 1996. Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 9: 349 – 360.
- Long, P. L. 1990. *Eimeria tenella*: Clinical effects in partially immune and susceptibility chickens. *Poult. Sci.* 59: 2221 – 2224.
- Long, P. L. 1990. Coccidiosis of man and domestic animals. CRS Press. Inc United State. pp.1321 – 1342.
- Mathis, G. F. and McDougald, L. R. 1987. Evaluation of interspecific hybrids of the chicken, guinea fowl, and Japanese quail for innate resistance to coccidian. *Avian Dis.* 31: 740 – 745.
- Mayberry, L. F., Marquardt, W. C., Nash, D. J. and Plan, B. 1982. Genetic dependent transmission of *Eimeria separata* from *Rattus* to Three strains of *Mus musculus*, an abnormal host. *J. Parasitol.* 68: 1124 – 1126.
- Mayer, L. 1997. Local and systemic regulation of mucosal immunity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 11 (Suppl. 3): 81 -88.
- Mayer, L. 2000. Mucosal immunity and gastrointestinal antigen processing. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30: (Suppl.), S4 – 12.
- McLoughlin, D. K. 1969. The influence of dexamethasone on attempts to transmit *Eimeria meleagrimitis* to chickens and *E. tenella* to turkeys. *J. Protozool.* 16: 145 – 148.
- Min, W., J. K. Kim, H. S. Lillehoj, E. J. Sohn, J. Y. Han, K. D. Song and Lillehoj, E. P. 2001. Characterization of recombinant scFv antibody reactive with an apical antigen of *Eimeria acervulina*. *Biotchnol. Letters* 23: 949 – 955.
- Murray, H. W., B. Rubin, S. M. Carriero, A. M. Harris and Jaffe, E. A. 1985. Human mononuclear phagocyte antiprotozoal mechanisms: oxygen-dependent and oxygen-independent activity against intracellular *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 134: 1982 – 1988.
- Pierson, F. W., Larsen, C. T. and Gross, W. B. 1997. The effect of the response of chickens to coccidiosis vaccination. *Vet. Parasitol.* 73: 177 – 180.

- Reid, W. M. 1972. Coccidiosis. In. C. H. Helbott, M. S. Hofstad, B. W. Calnek, W. M. Reid and H. W. Morder ed. Disease of poultry 6th ed. Iowa State University Press. Ames.
- Rose, M. E. 1987. Immunity to *Eimeria* infections. Vet. Immunol. Immunopathol. 17: 333 – 343.
- Ruff, M.*D. Doran, D. J. and Wilkins, G. G. 1991. Effect of aging and survival and pathogenicity of *E. acervulina* and *E. tenella*. Avian Dis. 25: 595 – 599.
- Sari, S. K. 2007. Studi Perkembangan Jumlah dan Ukuran Skizon Pada Ayam yang Diinfeksi Pertama Kali dan Mengalami Reinfeksi Oleh *Eimeria tenella* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sasai, K., Lillehoj, H. S., Matsuda, H. and W. P. Wergin. 1996. Characterization of a chicken monoclonal antibody that recognizes the apical complexes of *Eimeria acervulina* sporozoites and partially inhibits sporozoite invasion of CD8 lymphocytes *in vitro*. J. Parasitol. 82: 82 -87.
- Soulsby, E.J.L. 1986. Helminths, Arthropoda and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed. Bailliere Tindall, London.
- Suprihati, E., Mufasirin dan R.N. Wahyuti, R.N. 2000. Kajian Histopatologik pada Sekum Anak Ayam Akibat Pemberian Sporokista *Eimeria tenella*. Lemlit Universitas Airlangga.Surabaya
- Steel, R. G. D. and Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. Penerbit P.T. Gramedia Pustaka Utama Jakarta. Hal. 168-181.
- Tizard, I. R. 2000. Veterinary Immunology An Introduction 6th Edition.
- Tomley, F. 1994. Antigenic diversity of the asexual developmental stages of *Eimeria tenella*. Parasite Immunol. 6: 407 – 413.
- Tomley, F. 1997. Techniques for isolation and characterization of apical organelles from *Eimeria tenella* sporozoites. Methods 13: 171 – 176.
- Trees, A. J., S. J. Crozier, S. B. Mckellar and Wachira, T. M. 1985. Class-specific circulating antibodies in infections with *Eimeria tenella*. Vet. Parasitol. 18: 349 - 357.
- Trout, J. M. and Lillehoj, H. S. 1995. *Eimeria acervulina* infection: evidence for the involvement of CD8⁺ T lymphocytes in sporozoite transport and host protection. Poult. Sci. 74: 1117 – 1125.
- Uchida, T., K. Kikuchi, H. Takano, K. Ogimoto and Khaki, Y. 1997. Monoclonal antibodies inhibiting invasion of cultured cells by *Eimeria tenella*. J. Vet. Med. Sci. 59: 721 – 723.

- Van Kruiningen. 1998. Induction of secretion and surface capping of microneme proteins in *Eimeria tenella*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 110: 311 – 321.
- Vainio, O. and Lassila, O. 1989. Chicken T cells: Differentiation antigens and cell-cell interactions. *Crit. Rev. Poult. Bio.* 2: 97 – 102.
- 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.
- Xavier, M. N., Paixao, T. A., Poester, F. P., Lage, A. P. and Santos, R. L. 2009. Pathological, Immunohistochemical and Bacteriological Study of Tissue and Milk of Cows and Fetuses Experimentally Infected with *Brucella abortus*. *J. Comp. Vol.* 140, 149-157
- Xu-Amano, J., K. W. Beagley, J. Mega, K. Fujihashi, H. Kiyono and Meghee, J. R. 1992. Induction of T helper cells and cytokines for mucosal IgA responses. *Adv. Exp. Med. Biol.* 327: 107 – 117.
- Yun, C. H., Lillehoj, H. S. and Lillehoj, E. P. 2000. Intestinal immune responses to coccidiosis. 24: 303 – 324.
- Yun, C. H., Lillehoj, H. S. and Choi, K. D. 2000. *Eimeria tenella* infection induces local IFN- γ production and intestinal lymphocyte subpopulation changes. *Infect. Immun.* 68: 1282 – 1288.
- 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.
- Zhang, S., H. S. Lillehoj and M. D. Ruff. 1995. *In vivo* role of tumor necrosis-like factor in *Eimeria tenella* infection. *Avian Dis.* 39: 859 – 866.
- Zhang, S., H. S. Lillehoj and M. D. Ruff. 1995. Chicken tumor necrosis-like factor. I. *In vitro* production by macrophages stimulated with *Eimeria tenella* or bacterial lipopolysaccharide. *Poult. Sci.* 74: 1304 – 1310.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Analisis Statistik Jumlah Schizont dan Produksi Ookista pada Tingkatan Umur Ayam dan Infeksi

08 Dec 11 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

The variables are listed in the following order:

Age 1st Infect.	14 days	21 days	28 days				
LINE 1: PERLAKUAN		Schi	Ookis				
PERLAKUAN 1	36	4.85	130	13.5	99	7.85	
PERLAKUAN 1	32	5.35	134	13	100	7.75	
PERLAKUAN 1	35	4.50	126	13.25	90	7.95	
PERLAKUAN 1	28	4.60	121	14.25	95	8.0	
PERLAKUAN 1	29	4.95	149	12.25	91	7.70	
PERLAKUAN 2	28	0.85	46	1.75	45	0.80	
PERLAKUAN 2	32	0.66	49	1.85	48	0.75	
PERLAKUAN 2	25	0.72	35	1.55	43	0.68	
PERLAKUAN 2	29	0.75	41	1.45	40	0.76	
PERLAKUAN 2	26	0.65	45	1.65	39	0.81	
PERLAKUAN 3	25	0.30	25	1.07	16	0.60	
PERLAKUAN 3	21	0.27	22	1.15	12	0.35	
PERLAKUAN 3	22	0.25	20	1.10	10	0.40	
PERLAKUAN 3	18	0.26	18	1.0	18	0.27	
PERLAKUAN 3	24	0.27	25	1.04	20	0.41	

Description of Subpopulations

Sumaries of Schi
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		32.00	3.5355	5
PERLAKUAN	2		28.00	2.7386	5
PERLAKUAN	3		22.00	2.7386	5

Total cases 15

Sumaries of Oocyst
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		4.85	0.3335	5
PERLAKUAN	2		0.726	0.0808	5
PERLAKUAN	3		0.27	0.0187	5

Total cases 15

Sumaries of Schi
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		132	10.6536	5
PERLAKUAN	2		43.2	5.4037	5
PERLAKUAN	3		22	3.0822	5

Total cases 15

Sumaries of Oocyst
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		13.25	0.7288	5
PERLAKUAN	2		1.65	0.1581	5
PERLAKUAN	3		1.072	0.0571	5

Total cases 15

Sumaries of Schi
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		95.00	4.5276	5
PERLAKUAN	2		43.00	3.6742	5
PERLAKUAN	3		15.20	4.1472	5

Total cases 15

Sumaries of Oocyst
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
PERLAKUAN	1		7.85	0.1274	5
PERLAKUAN	2		0.76	0.0514	5
PERLAKUAN	3		0.406	0.1217	5

Total cases 15

08 Dec 11 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

ONEWAY

Variable Schi
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	125.4000	62.700	4.2149	.0069
Within Groups	9	216.6250	2.312		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

ONEWAY

Variable Oocyst
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	104.3500	52.1750	1.2149	.3209
Within Groups	9	4178.6250	450.240		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

ONEWAY

Variable Schi
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	6.3500	3.1750	1.1278	.3209
Within Groups	9	45.6250	5.312		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

ONEWAY

Variable Oocyst
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	5104.3500	2552.1750	3.1549	.0258
Within Groups	9	4178.6250	450.240		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

ONEWAY

Variable Schi
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	666.3500	333.1750	2.1278	.2209
Within Groups	9	450.6250	50.312		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

ONEWAY

Variable Oocyst
By Variable PERLAKUAN

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	5104.3500	2552.1750	3.1549	.0258
Within Groups	9	4178.6250	450.240		
Total	11				

Variable Schi
By Variable Perlakuan

Multiple Range Tests: Tukey-HSD test with significance level .010

Lampiran 2. Data Analisis Statistik Optical Density IgG dan pada Tingkatan Umur Ayam dan Infeksi

08 Dec 11 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

The variables are listed in the following order:

Age 1st Infect.	14 days	21 days	28 days
LINE 1: PERLAKUAN		IgG	
Placebo	0.035	0.049	0.0162
Placebo	0.030	0.050	0.0160
Placebo	0.040	0.048	0.0161
Placebo	0.035	0.049	0.0162
Placebo	0.035	0.049	0.0164
PERLAKUAN 1	0.27	0.16	0.361
PERLAKUAN 1	0.29	0.17	0.362
PERLAKUAN 1	0.28	0.18	0.360
PERLAKUAN 1	0.27	0.16	0.363
PERLAKUAN 1	0.24	0.15	0.362
PERLAKUAN 2	0.24	0.14	0.235
PERLAKUAN 2	0.25	0.16	0.236
PERLAKUAN 2	0.26	0.17	0.237
PERLAKUAN 2	0.29	0.18	0.236
PERLAKUAN 2	0.26	0.15	0.234
PERLAKUAN 3	0.12	0.24	0.3214
PERLAKUAN 3	0.13	0.26	0.322
PERLAKUAN 3	0.14	0.25	0.31
PERLAKUAN 3	0.11	0.26	0.318
PERLAKUAN 3	0.14	0.27	0.41

Description of Subpopulations

Sumaries of IgG
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
KONTROL	0		0.035	0.003536	5
PERLAKUAN	1		0.27	0.018708	5
PERLAKUAN	2		0.24	0.018708	5
PERLAKUAN	3		0.12	0.013038	5

Total cases 20

Sumaries of IgG
By levels of Perlakuan

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev	Cases
For Entire Population					
KONTROL	0		0.049	0.000707	5
PERLAKUAN	1		0.164	0.011402	5
PERLAKUAN	2		0.16	0.015811	5
PERLAKUAN	3		0.256	0.011402	5

Total cases 20