

**ISOLASI, PEMURNIAN DAN STERILISASI Oosista *Eimeria tenella* DENGAN
Sodium hypochlorite 13%**

**(ISOLATION, PURIFICATION AND STERILIZATION OF *Eimeria tenella*
USING Sodium hypochlorite 13%)**

Oleh :

AAN AWALUDIN DAN NURKHOLIS *)

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian isolasi, pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prosentase dan sensitivitas dari *Sodium hypochlorite 13%* yang digunakan untuk proses isolasi, pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella*.

Sebanyak 48 ekor ayam broiler, jenis kelamin tidak diperhatikan dipelihara sejak DOC digunakan dalam penelitian ini. Ayam-ayam tersebut diinfeksi dengan oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi pada umur 27 hari. Infeksi dilakukan secara oral dengan dosis 50.000 oosista *Eimeria tenella* untuk satu ekor ayam. Isolasi oosista dari sekum ayam dilakukan pada hari ke-9 setelah infeksi, isolasi oosista diperoleh dari pengerokan dinding lumen sekum dan isi sekum yang kemudian disporulasikan. Oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi hasil isolasi dimurnikan dan disterilisasi dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%* yang ditujukan untuk mendapatkan oosista murni yang telah bebas dari debris.

Prosentase keberhasilan oosista *Eimeria tenella* yang dapat diisolasi kembali setelah pemurnian dan sterilisasi dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%* mencapai sensitivitas 78,33%. Disamping itu waktu yang digunakan untuk pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* dengan *Sodium hypochlorite 13%* lebih cepat dan peralatan yang diperlukan tidak terlalu banyak.

Kata Kunci: oosista, *Eimeria tenella*, *Sodium hypochlorite*, isolasi, pemurnian, sterilisasi

PENDAHULUAN

Perkembangan peternakan unggas di Indonesia dalam dasa warsa terakhir sangat pesat. Peranan unggas dalam pemenuhan kebutuhan protein hewan bagi masyarakat sangat besar yaitu melalui produksi telur dan daging, baik dari ayam ras maupun ayam bukan ras. Pemeliharaan kesehatan hewan unggas merupakan bagian integral dari usaha peningkatan produksi ternak. Produktivitas dan reproduktivitas ternak hanya dapat dicapai secara optimal apabila ternak dalam keadaan sehat (Hartono, 1995).

Koksidiosis atau sering disebut penyakit berak darah adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh infeksi salah satu spesies koksidia atau lebih, yaitu protozoa yang menciri dengan menyebabkan diare dan radang usus. Koksidia dari genus *Eimeria* yang menyerang unggas terdiri dari 9 jenis, enam diantaranya sangat patogen dan menyerang ayam. Sembilan jenis *Eimeria* tersebut adalah: *Eimeria averculina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria hagani*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mivati*, *Eimeria mitis*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox*, dan *Eimeria tenella* (Soulsby, 1982).

Eimeria tenella adalah salah satu spesies yang patogen terutama pada ayam muda. Kasus pada ayam muda menimbulkan kematian sampai 100% sedangkan pada ayam dewasa dapat mengakibatkan penurunan berat badan, menurunkan produksi telur dan kelemahan. Infeksi berat ditandai dengan berak darah. Hilangnya darah yang cukup banyak dapat mengakibatkan kematian (Soulsby, 1982).

Eimeria tenella adalah salah satu spesies *Eimeria* penyebab koksidiosis bentuk sekal pada ayam yang menyebabkan diare berdarah, penurunan berat badan, penurunan produksi telur dan menyebabkan kematian (Anonim, 1981; Soulsby, 1982; Levine, 1983 dan Groves, 1986).

Penularan penyakit ini dapat terjadi melalui tinja dan kotoran kandang yang mencemari ayam yang rentan melalui alat, pakan atau minuman. Penularan antar spesies tidak bisa terjadi, sebab infeksi koksidia bersifat spesies spesifik (Akoso, 1998).

Oosista *Eimeria tenella* dapat diidentifikasi berdasarkan bentuk dan ukurannya. Biasanya berbentuk *spherical*, *ovoid*, atau *ellipsoidal* dan pada umumnya mempunyai ukuran

*) Staf Pengajar Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Jember

dari 15-50 μm . Oosista mempunyai tonjolan pendek dan beberapa spesies memiliki kutub kecil pada salah satu ujungnya, *micropyle*, yang sering diselubungi oleh *polar cap* (Urquhart *et al.*, 1987).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prosentase dan sensitivitas dari *Sodium hypochlorite 13%* yang digunakan pada proses isolasi, pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella*, sehingga diharapkan dapat bermanfaat sebagai upaya memproduksi oosista yang bersih dari debris atau feses dalam pembuatan vaksin atau penelitian dan pengamatan lain tentang oosista.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan ayam broiler sebanyak 48 ekor yang dipelihara sejak umur 1 hari (DOC), jenis kelamin tidak diperhatikan. Strain ayam adalah AA (*Arbor Acres*) yang berasal dari PT. Malindo Feedmill.

Oosista yang digunakan adalah oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi dari Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, D.I. Yogyakarta.

Pakan untuk hewan percobaan adalah pakan ayam aduan umur 0 – 8 minggu yang tidak mengandung anti koksidia (*coccidiostat*), nama komersil pakan tersebut adalah AD-1 diproduksi oleh PT. JAPFA Comfeed Indonesia.

Bahan lain yang digunakan adalah *Kalium bikromat* ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), Aquades dan *Sodium hypochlorite 13%*.

Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang ayam beserta tempat pakan dan minum, tabung reaksi, mikroskop, labu Erlenmeyer, sentrifuse, *beker glass*, *object glass*, *deck glass*, pipet, alat hitung, spuit, *stirer* dan *vortex mixer*.

Metode penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu persiapan, pelaksanaan, pengumpulan data dan analisa data.

Tahap Persiapan

Kandang terbuat dari bambu sebanyak 3 buah, yaitu yang dipergunakan untuk memelihara ayam yang akan diinfeksi oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi untuk perbanyakan oosista. Sebelum DOC dimasukkan, dua hari sebelumnya dilakukan penyemprotan kandang dan lingkungannya dengan *Bromoquad 10%* sebagai desinfektan. *Bromoquad 10%* mengandung bahan aktif *Di-Decil-methylammonium bromide 10%* yang bersifat sebagai desinfektansia. Lantai kandang dibuat dengan sistem flat/renggang dan sumber pemanas menggunakan lampu listrik/bohlam 25 watt untuk tiap kandang.

Pembuatan *Sodium hypochlorite 13%* sebagai bahan utama dalam penelitian. *Sodium hypochlorite*, NaClO , adalah garam sumber dari ion aktif dalam *Clorox*, yang bisa digunakan sebagai desinfektan alat-alat rumah tangga dan bisa untuk pemutih (Wood *et al.*, 1966). *Sodium hypochlorite* yang terdapat di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, D.I. Yogyakarta adalah *Sodium hypochlorite 20%*, dan untuk membuat *Sodium hypochlorite 13%* maka dilakukan pengenceran dengan menambahkan 53,8 ml aquades kedalam 100 ml *Sodium hypochlorite 20%*.

Tahap Pelaksanaan

Ayam broiler umur 27 hari sebanyak 48 ekor masing-masing diinfeksi dengan oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi secara oral dengan dosis 50.000 oosista untuk setiap ekor ayam. Pada hari ke-9 setelah infeksi dilakukan pemanenan oosista dari kerokan sekum dan isi sekum. Untuk isolasi oosista dari material kerokan sekum dan isi sekum tadi dengan cara menambahkan air pada material kerokan sekum dan isi sekum kemudian diendapkan selama 1,5 jam. Setelah pengendapan maka supernatan dibuang dengan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan ada/tidaknya oosista dalam supernatan, kalau ditemukan adanya oosista dalam supernatan maka pembuangan dihentikan. Pelet hasil pengendapan tadi kemudian ditambahkan air dan dilakukan pengendapan lagi, perlakuan tersebut diulangi sampai tiga kali. Kemudian pelet hasil pengendapan terakhir yang meng

andung oosista dan debris/kotoran lain disporulasikan dengan *Kalium bikromat 2,5%*.

Oosista yang sudah bersporulasi hasil dari perbanyakan dimurnikan dan disterilisasi dari debris dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%*. Pemurnian dan sterilisasi oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* ini terdiri dari tiga langkah pokok yaitu pencucian dari *Kalium bikromat* dan mengendapkan oosista dan debris, mengapungkan oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* serta pencucian terhadap *Sodium hypochlorite 13%* dan mengendapkan oosista. Oosista hasil dari perbanyakan yang disporulasikan dan disimpan didalam larutan *Kalium bikromat 2,5%* diaduk dengan *stirer* kecepatan 400 – 500 rpm atau kecepatan rendah agar oosista bisa merata diseluruh bagian larutan (homogen) kemudian dicuci dengan menambahkan air dan disentrifuse kecepatan 3000 rpm selama 10 menit kemudian supernatan dibuang. Perlakuan ini dilakukan berulang-ulang sampai *Kalium bikromat* hilang. Pelet hasil dari pencucian pertama yang mengandung oosista dan debris tersebut kemudian ditambah *Sodium*

hypochlorite 13% kemudian diaduk dengan *stirer* dengan kecepatan 400 – 500 rpm atau kecepatan rendah dengan tujuan agar pelet tercampur homogen dengan *Sodium hypochlorite 13%*, perlakuan selanjutnya dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 8 menit yang bertujuan untuk mengapungkan oosista. Hasil dari perlakuan kedua ini berupa supernatan yang mengandung oosista dan pelet yang berisi debris. Perlakuan terakhir yaitu menghilangkan *Sodium hypochlorite 13%* yang terdapat pada supernatan yang mengandung oosista yaitu dengan cara menambahkan air dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Perlakuan ini diulang-ulang sampai *Sodium hypochlorite 13%* hilang. Hasil dari perlakuan ini adalah pelet yang berisi oosista yang sudah terpisah dari debris.

Pengumpulan Data dan Analisa Data

Pengumpulan data dilakukan setiap 100 ml oosista yang bersporulasi dalam *Kalium bikromat 2,5%* hasil perbanyakan yang akan dimurnikan dan disterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%*. Data yang diambil adalah jumlah awal oosista yang akan dimurnikan dan disterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%* yang akan dibandingkan dengan jumlah oosista setelah pemurnian dan sterilisasi, sehingga dapat diketahui prosentase dan sensitivitas dari *Sodium hypochlorite 13%* untuk proses pemurnian dan sterilisasi oosista. Analisa data dalam penelitian ini yaitu data dianalisis secara Statistik dan Deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penggunaan hewan percobaan pada ayam brolier untuk perbanyakan oosista *Eimeria tenella* dilakukan dari umur satu hari (DOC) dimaksudkan untuk memastikan penggunaan pakan yang tidak mengandung anti koksidia (*coccidiostat*) sehingga tidak muncul kekebalan pada ayam ketika nanti diinfeksi oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi untuk perbanyakan oosista. Pakan yang digunakan adalah pakan ayam aduan umur 0 – 8 minggu yang mempunyai nama komersil AD-I produksi PT. JAPFA Comfeed Indonesia, pakan tersebut tidak mengandung anti koksidia (*coccidiostat*).

Pemeliharaan ayam sejak umur satu hari ini juga berkaitan dengan pemastian waktu infeksi oosista yang optimal, umur peka ayam terhadap koksidia berkisar antara 2 – 4 minggu (Soulsby, 1982). Dalam penelitian ini untuk perbanyakan oosista *Eimeria tenella* dilakukan pada ayam broiler umur 27 hari sebanyak 48 ekor dengan masing-masing ekor diinfeksi oosista *Eimeria tenella* yang bersporulasi dengan dosis 50.000 oosista. Pada hari ke-9 setelah infeksi dilakukan pemanenan oosista dari kerokan sekum dan isi

sekum. Untuk isolasi oosista dari material kerokan sekum dan isi sekum tadi dengan cara menambahkan air pada material kerokan sekum dan isi sekum kemudian diendapkan selama 1,5 jam. Setelah pengendapan maka supernatan dibuang dengan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan ada/tidaknya oosista dalam supernatan, kalau ditemukan adanya oosista dalam supernatan maka pembuangan dihentikan. Pelet hasil pengendapan tadi kemudian ditambah air dan dilakukan pengendapan lagi, perlakuan tersebut dilakukan sampai tiga kali perulangan. Kemudian pelet hasil pengendapan terakhir yang mengandung oosista dan debris disporulasikan dengan menggunakan *Kalium bikromat*. Pelet dicampur dengan *Kalium Bikromat 5%* dengan perbandingan 1 : 1 dimana 1 bagian pelet hasil endapan dilarutkan dalam 1 bagian *Kalium bikromat 5%* sehingga diperoleh campuran oosista dan *Kalium bikromat* dengan konsentrasi 2,5%. Campuran ini dimasukkan dalam wadah terbuka untuk proses sporulasi. Agar sporulasi berjalan sempurna sehingga oosista menjadi infeksiif, maka campuran dibuat setipis mungkin dalam wadah terbuka agar suhu dapat seragam dan stabil serta sering digoyang-goyang agar diperoleh oksigen yang cukup dalam campuran untuk membantu proses sporulasi.

Waktu untuk sporulasi oosista *Eimeria tenella* adalah 18 jam sampai 2 hari (Levine, 1995). Namun pengecekan oosista tetap dilakukan setiap hari, hingga hampir semua oosista bersporulasi sempurna. Proses sporulasi dari oosista dipengaruhi oleh kadar dari oksigen (O₂) dan temperatur atau suhu lingkungan. Oksigen dapat dicukupi dengan pemberian *Kalium bikromat* pada proses sporulasi, *Kalium bikromat* mempunyai gugus O pada senyawanya yaitu K₂Cr₂O₇. Sporulasi dilakukan pada tempat yang terbuka dengan suhu kamar sehingga diharapkan temperatur/suhu untuk sporulasi dapat terjaga. Menurut Soulsby (1968), waktu untuk bersporulasi oosista *Eimeria tenella* adalah 18 jam pada suhu 29 °C, 21 jam pada suhu 26 – 28 °C, 24 jam pada suhu 20 – 24 °C, 24 – 28 jam pada suhu ruangan dan tidak bersporulasi pada suhu dibawah 8 °C.

Oosista *Eimeria tenella* yang telah bersporulasi berisi 4 sporosista dan masing-masing sporosista mengandung 2 sporozoit (Levine, 1995).

Oosista yang sudah bersporulasi hasil dari perbanyakan dimurnikan dan disterilisasi dari debris dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%*. Menurut Wood *et al* (1966), *Sodium hypochlorite*, NaClO, adalah garam sumber dari ion aktif dalam *Clorox*, yang bisa digunakan untuk disinfektan alat-alat rumah tangga dan bisa untuk pemutih yang mempunyai reaksi kimia:



Belum ada usaha untuk memisahkan NaCl dari hasil reaksi tersebut, sehingga produk baik dalam kemasan atau dipasaran NaCl dan NaClO masih dalam satu campuran NaClO dan NaCl masing-masing disusun kira-kira 5% dari campuran dalam 5 bagian larutan penyangganya yaitu air.

Sodium hypochlorite 13% yang digunakan mempunyai BJ 1,1 yang diukur dengan alat *Hidrometer Baumes and Spesific Brahito Temp.*, sehingga *Sodium hypochlorite 13%* akan selalu berada pada lapisan bagian atas bila dicampur dengan air yang memiliki BJ rendah yaitu 1,0 dan sifat ini yang dimanfaatkan dalam proses pengapungan oosista *Eimeria tenella*.

Pemurnian dan sterilisasi oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* ini terdiri dari 3 langkah pokok yaitu pencucian dari *Kalium bikromat* dan mengendapkan oosista bercampur debris, mengapungkan oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* serta pencucian terhadap *Sodium hypochlorite 13%* dan mengendapkan oosista.

Oosista *Eimeria tenella* hasil dari perbanyakan yang disporulasi dengan *Kalium bikromat* diaduk dengan *stirer* kecepatan 400 – 500 rpm atau kecepatan rendah agar oosista merata diseluruh larutan kemudian dilakukan penghitungan jumlah oosista yang bersporulasi sebagai jumlah awal oosista sebelum dilakukan pemurnian dan sterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%*. Langkah pertama dari proses pemurnian dan sterilisasi ini yaitu menghilangkan *Kalium bikromat* dengan menambahkan air ke dalam stock oosista yang akan dimurnikan dan disterilisasi kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit kemudian supernatan dibuang. Perlakuan ini dilakukan berulang-ulang sampai *Kalium bikromat* hilang. Pelet hasil pencucian pertama yang mengandung oosista dan debris tersebut kemudian ditambah *Sodium hypochlorite 13%* kemudian diaduk dengan *stirer* kecepatan 400 – 500 rpm atau kecepatan rendah dengan tujuan pelet dapat bercampur merata dengan *Sodium hypochlorite 13%*, perlakuan selanjutnya dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 8 menit yang bertujuan mengapungkan oosista. Hasil dari perlakuan kedua ini berupa supernatan yang mengandung oosista dan pelet yang mengendap berisi debris. Perlakuan terakhir yaitu menghilangkan *Sodium hypochlorite 13%* yang terdapat pada supernatan yang mengandung oosista yaitu dengan cara menambahkan air dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Perlakuan ini dilakukan berulang-ulang sampai *Sodium hypochlorite 13%* hilang. Hasil dari perlakuan ini adalah pelet yang berisi oosista yang sudah terpisah dari debris. Pelet yang mengandung oosista yang sudah terpisah dari debris atau kotoran lain ini kemudian

dikonsentrasikan dan dikumpulkan atau disuspensikan dengan menggunakan NaCl fisiologis. Setelah oosista murni yang bebas dari debris selesai disuspensikan lalu dilakukan penghitungan jumlah oosista yang bersporulasi. Hasil dari penghitungan ini diambil sebagai jumlah akhir atau jumlah oosista setelah dilakukan pemurnian dan sterilisasi dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%*. Untuk mengetahui prosentase dan sensitivitas *Sodium hypochlorite 13%* maka dilakukan perbandingan jumlah oosista yang bersporulasi sebelum dan sesudah pemurnian dan sterilisasi.

Penyimpanan oosista *Eimeria tenella* hasil pemurnian dan sterilisasi ini dapat dilakukan dengan mensuspensikan dengan NaCl fisiologis kemudian disimpan pada suhu 4 °C.

Pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi dari debris dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%* pada penelitian ini dilakukan terhadap 500 ml sampel oosista *Eimeria tenella* dalam larutan *Kalium bikromat 2,5%*, pemurnian dan sterilisasi dari oosista sampel tersebut dibagi sebanyak lima kali dengan setiap satu kali pemurnian dan sterilisasi digunakan sampel oosista *Eimeria tenella* dalam larutan *Kalium bikromat 2,5%* sebanyak 100 ml. Sebelum dan sesudah pemurnian dan sterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%* dilakukan penghitungan jumlah oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi sehingga bisa diketahui prosentase keberhasilan isolasi dan juga sensitivitas dari penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* untuk memisahkan oosista *Eimeria tenella* dari debris.

Hasil dari penghitungan oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi sebelum maupun sesudah pemurnian dan sterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi sebelum dan sesudah dilakukan pemurnian dan sterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%*.

No.	Volume (ml)	Jumlah oosista sebelum pemurnian	Jumlah oosista sesudah pemurnian
1.	100	$2,5 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^7$
2.	100	$2,8 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^7$
3.	100	$3,4 \cdot 10^7$	$2,9 \cdot 10^7$
4.	100	$3,4 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$
5.	100	$3,3 \cdot 10^7$	$2,1 \cdot 10^7$

Dari hasil penghitungan jumlah oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi tersebut maka dapat diketahui jumlah dari oosista yang bisa dipisahkan dari debris dan diketahui juga berapa banyak oosista yang terbuang dari penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* untuk pemurnian dan

sterilisasi oosista *Eimeria tenella* dari debris. Perbandingan jumlah oosista *Eimeria tenella* yang sudah bersporulasi sebelum dan sesudah dilakukan pemurnian dan sterilisasi dengan *Sodium hypochlorite 13%* ini digunakan untuk mengetahui prosentase jumlah oosista hasil pemurnian dan sterilisasi juga bisa diketahui sensitivitas dari *Sodium hypochlorite 13%* untuk separasi atau pemisahan oosista dari debris. Perbandingan jumlah oosista *Eimeria tenella* bersporulasi yang berhasil diseparasi dari debris dihitung dalam prosentase dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Prosentase oosista *Eimeria tenella* bersporulasi yang berhasil diseparasi dari debris dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%*.

No.	Jumlah oosista sebelum pemurnian	Jumlah oosista sesudah pemurnian	Jumlah oosista sesudah pemurnian (%)
1.	2,5 . 10 ⁷	2,2 . 10 ⁷	88,80%
2.	2,8 . 10 ⁷	2,3 . 10 ⁷	80,70%
3.	3,4 . 10 ⁷	2,9 . 10 ⁷	85,30%
4.	3,4 . 10 ⁷	2,5 . 10 ⁷	74,80%
5.	3,3 . 10 ⁷	2,1 . 10 ⁷	64,80%
	χ : 3,1 . 10 ⁷	χ : 2,4 . 10 ⁷	χ : 78,33%

Pemisahan oosista *Eimeria tenella* bersporulasi dari debris dengan menggunakan *Sodium hypochlorite 13%* diperoleh hasil yang bagus dengan keberhasilan oosista *Eimeria tenella* bersporulasi yang diisolasi kembali sebanyak 78,33% dari jumlah oosista sebelum pemurnian dan sterilisasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *Sodium hypochlorite 13%* bagus digunakan untuk proses pemurnian dan sterilisasi oosista karena mempunyai sensitivitas yang baik seperti pada hasil penelitian diatas.

Penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* untuk pemurnian dan sterilisasi oosista juga mempunyai keuntungan lain selain hasil oosista yang dapat diisolasi kembali berjumlah besar juga waktu yang digunakan relatif singkat atau cepat serta alat yang dipakai tidak banyak.

Waktu yang digunakan untuk satu kali proses pemurnian dan sterilisasi oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* adalah 108 menit (1 jam 48 menit). Pada langkah pertama yaitu pencucian oosista dari *Kalium bikromat* dilakukan sebanyak 5 kali dengan setiap 1 kali pencucian menghabiskan waktu 10 menit, jadi untuk menghilangkan *Kalium bikromat* membutuhkan waktu 50 menit. Pada langkah kedua yaitu pengapungan oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* membutuhkan waktu 8 menit, sedangkan padalangkah ketiga yaitu pencucian oosista dari *Sodium hypochlorite 13%* dilakukan sebanyak 5 kali dengan setiap 1 kali pencucian menghabiskan waktu 10 menit, jadi waktu yang dibutuhkan untuk

5 kali pencucian adalah 50 menit. Waktu yang diperlukan untuk pemurnian dan sterilisasi oosista dengan *Sodium hypochlorite 13%* tersebut lebih singkat bila dibandingkan dengan proses yang sama dengan menggunakan larutan gula. Pada proses pengapungan oosista dengan menggunakan larutan gula dilakukan dengan mencampur 1 bagian suspensi oosista dengan 1 bagian larutan gula dalam cawan petri. Setelah diaduk selama 30 detik dengan hati-hati cawan petri ke-2 diletakkan sedemikian rupa sehingga bagian dorsal cawan petri ke-2 bersentuhan dengan permukaan larutan gula yang mengandung oosista. Setelah 1 jam, cawan petri ke-2 diangkat kemudian oosista dan cairan yang melekat pada bagian dorsal cawan petri ke-2 disemprot dengan aquades dan ditampung dalam beker glass. Beker glass yang berisi larutan gula dan oosista dicuci berulang-ulang dengan menambahkan aquades dan disentrifuse yang bertujuan untuk menghilangkan larutan gula yang dalam suspensi sehingga membutuhkan waktu yang lama.

Oosista yang hilang atau tidak bisa diisolasi kembali pada proses pemurnian dan sterilisasi tersebut sangat mungkin terjadi karena banyak faktor, antara lain: oosista bisa ikut terbuang pada saat dilakukan proses pencucian terhadap *Kalium bikromat* maupun *Sodium hypochlorite 13%* sebelum diisolasi, oosista menempel pada dinding tabung reaksi selama proses berjalan, oosista hancur karena pengaruh *Sodium hypochlorite 13%* yang merupakan garam dengan sifat merusak permeabilitas membran dan merusak sistem enzim vital dari suatu mikroorganisme. *Sodium hypochlorite*, NaClO, adalah garam sumber dari ion aktif dalam *Clorox*, yang bisa digunakan sebagai desinfektan alat-alat rumah tangga dan bisa untuk pemutih (Wood et al, 1966).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* dalam proses pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* diperoleh hasil yang bagus dengan prosentase jumlah oosista yang bisa diisolasi kembali mencapai 78,33%.
2. Penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* dalam proses pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* memerlukan waktu yang lebih singkat dibandingkan pada proses yang sama dengan menggunakan larutan gula.

Saran

1. Penggunaan *Sodium hypochlorite 13%* dalam proses pemurnian dan sterilisasi oosista *Eimeria tenella* bisa dilakukan dan dianjurkan.
2. Perlu riset/penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sifat-sifat *Sodium hypochlorite 13%* terhadap oosista *Eimeria tenella* untuk proses separasi atau pemisahan oosista dari debris dan sifat yang mempengaruhi eksistensi dari oosista sebagai mikroorganisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso, B. T. 1998. *Kesehatan Unggas*. Cetakan I. Revisi dari buku *Manual Kesehatan Unggas*. Yogyakarta: Kanisius. 105 – 108.
- Anonim. 1981. *Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular III*. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta. 97 – 100. *J Saint Vet*, Vol XVI no.2, 1999. 9 – 15.
- Groves, P. J. 1986. *Coccidiosis in Chickens, Turkeys and Ducks*. Poultry Health Proceedings. No. 92. Australian Veterinary Poultry Association. 361 – 362. *J Saint Vet*, Vol XVI no. 2, 1999. 9 – 15.
- Hartono, A. H. S. 1995. *Beternak Ayam Negeri Petelur Super yang Berhasil*. Pekalongan: CV. Gunung Mas. 58.
- Levine, N. D. 1983. *Textbook of Protozoology*. 2nd edition. Burgess Publishing Company. Minnesota. 106 – 113.
- Levine, N. D. 1995. *Protozoologi Veteriner*. Terjemahan dari *Veterinary Protozoology*. Cetakan I. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 182 – 198, 264 – 265, 317 – 323.
- Soulsby, E. J. L. 1968. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 6th edition of *Monnig's Veterinary Helminthology and Entomology*. Balliere, Tindall and Cassel, London. 644 – 649.
- Soulsby, E. J. L. 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th edition. The English Language Book Society and Bailliere Tindall - London. 638 – 645.
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., and Jennings, F. W. 1987. *Veterinary Parasitology*. English Language Book Society / Longman. 217 – 223.
- Wood, J. H., and Bull, W. E. 1966. *Fundamental of College Chemistry*. A Harper International Edition. Harper and Row, New York. 310.