

## RINGKASAN

Faktor yang menjadi kendala dalam pemeliharaan sapi adalah gangguan kesehatan (penyakit) dan gangguan reproduksi. Koksidiosis merupakan penyakit parasitik yang berpengaruh terhadap gangguan kesehatan dan reproduksi yang disebabkan oleh *Eimeria* spp. (Astuti *et al.*, 2011). Koksidiosis erat kaitannya dengan kesehatan saluran pencernaan (*gut health*) yang merupakan salah satu faktor penting dalam kelancaran proses absorpsi nutrisi, sehingga dapat menghambat pertumbuhan akibatnya kualitas dan produktivitas ternak menurun, serta morbiditas dan mortalitas cukup tinggi (Pandit, 2009; Astuti *et al.*, 2011; Marquez, 2014).

*Eimeria* spp. memiliki siklus hidup monoxenous yang terdiri dari dua fase yaitu fase eksogenus dan fase endogenus. Fase eksogenus dihasilkan oosista yang tahan lama dalam kotoran di lingkungan dan terhadap beberapa jenis disinfektan yang dapat menjadi sumber potensial infeksi. Struktur dinding oosista yang terdiri dari dua lapisan, inner (40 nm) dan outer layer (50-200 nm) membuat oosista dapat bertahan lama di lingkungan serta mencegah rusaknya sporon, sehingga infeksi dapat terjadi setelah oosista telah mengalami perkembangan sporogoni secara aerobik (Lopez-osorio *et al.*, 2021).

*Eimeria bovis* dan *E. zuernii* memiliki tingkat patogenitas paling tinggi dan sering menyebabkan kematian, terutama pada anak sapi di bawah umur satu tahun (Rehman *et al.*, 2011; Koutny *et al.*, 2012). *Eimeria bovis* merupakan salah satu spesies paling patogenik pada sapi dan kejadian di Indonesia cukup tinggi. Kejadian koksidiosis di Daerah Istimewa Yogyakarta dilaporkan dengan prevalensi 54,9% pada tahun 2016, kemudian 81,8% di tahun 2019, dan 41,4% di tahun 2021 (Hamid



*et al.*, 2016; Ekaswati *et al.*, 2019; Ekaswati *et al.*, 2021). Oosista *E. bovis* memiliki ketahanan yang tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti pada suhu rendah, kelembaban rendah ataupun pada kondisi anaerobik (Lassen and Seppälä, 2014; Waldenstedt *et al.*, 2001; Pyziel and Demiaszkiewicz, 2015).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui prevalensi infeksi *Eimeria* pada sapi potong dan faktor yang mempengaruhinya, membedakan morfologi, mengamati proses sporulasi yang terjadi, serta melakukan pemurnian sporozoit yang telah eksistasi dari oosista, mengidentifikasi dan mengkarakterisasi profil ekspresi protein yang dimiliki oleh oosista sporozoit *Eimeria* spp. menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulphate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE), dan mengidentifikasi protein dari oosista dan sporozoit *Eimeria* spp. dengan LC-MS.

Oosista *E. bovis* yang belum bersporulasi diisolasi dengan disuspensikan kembali dalam larutan kalium dikromat 2 % pada suhu kamar (RT) dengan oksigenasi konstan. Setiap hari, diperiksa dengan mikroskop cahaya untuk mengamati perubahan dinding oosista yang dua lapis, sporon, *sporoblast*, badan stida, dan mikrofil, serta sporosista yang mengandung perkembangan *sporozoite* (Berto *et al.* 2014; Florião *et al.* 2016).

Hasil analisis menunjukkan yang berperan signifikan dalam kejadian koksidiosis pada penelitian ini adalah jenis kelamin dan umur dengan p value <0,05. Hasil pengukuran menunjukkan rata rata panjang oosista adalah  $28,48 \pm 1,83 \mu\text{m}$ , lebar  $20,71 \pm 1,4 \mu\text{m}$  dengan *shape* indeks adalah  $1,38 \pm 0,06$  sehingga oosista dikategorikan berbentuk ovoid.

Pengamatan sporulasi dilakukan selama 120 jam dengan interval setiap 24 jam dilakukan proses pengamatan dan pengambilan dokumentasi. Terdapat 50 oosista yang di dokumentasi dan terbagi dalam 3 fase proses sporulasi total 15 oosista pada fase pertama, 21 oosista pada fase kedua, dan 14 oosista pada fase ketiga. Proses sporulasi yang teramati di mulai dengan proses kontraksi sitoplasmik yang membuat zigot berdiameter lebih besar dan memenuhi isi ruang oosista. Kemudian zigot berkembang bentuk menjadi tidak teratur dan diameter masih memenuhi ruang oosista. Perkembangan selanjutnya zigot akan membentuk bulat kembali untuk memulai pembelahan.

Vesikel ekstraseluler terlihat di sekeliling membran, pembelahan inti pertama terlihat ditandai dengan membelahnya zigot. Pembelahan pertama selesai kemudian nucleus membelah sekali lagi atau pada tahap second nuclear division. Memasuki tahap selanjutnya, terjadi sitokinesis awal masing masing 4 nucleus mulai membentuk *sporoblast*, *sporoblast* kemudian berbentuk segitiga. *Sporoblast* kemudian menjadi bentuk bundar dan telah terpisah masing masing nuklues dan mulai memanjang berbentuk lonjong seperti cerutu. *sporoblast* mengalami proses pematangan dan matang jika *sporozoite* sudah terbentuk di dalam sporosista.

Studi proteomik pada parasit ini penting untuk memahami patogenesis, mengidentifikasi antigen potensial untuk pengembangan vaksin, dan alat diagnostik. Penelitian proteomik *Eimeria* pada sapi masih terbatas dibandingkan dengan unggas, sehingga data variasi proteomik antarspesies atau isolat *Eimeria* sapi belum memadai. Analisis protein menggunakan teknik seperti SDS-PAGE, LC-MS/MS, dan elektroforesis 2D menjadi kunci dalam karakterisasi proteomik,



meskipun menghadapi tantangan teknis seperti konsentrasi protein rendah dan kebutuhan antibodi spesifik.

Hasil SDS-PAGE pada Isolat Sumedang dan Bantul Visualisasi protein melalui SDS-PAGE pada isolat Sumedang menunjukkan pita protein dengan berat molekul ~10, 13, 16, 25, 37, dan ~45 kDa, sedangkan isolat Bantul menunjukkan pita ~10, 22, 25, dan ~27 kDa. Tidak ada pita di atas 50 kDa pada kedua isolat, yang mungkin disebabkan oleh konsentrasi protein *Eimeria* yang sangat rendah atau ukuran molekul protein terlalu besar sehingga tidak terpisah optimal dalam gel. Temuan ini mengindikasikan variasi profil protein antarisolat, yang mungkin berkaitan dengan perbedaan patogenisitas atau adaptasi lingkungan. Heise (1999) mengidentifikasi antigen *E. bovis* pada *merozoit* dengan berat molekul 55–200 kDa dalam kondisi non-reduksi. Perbedaan berat molekul dengan studi terkini mungkin disebabkan oleh perbedaan stadium parasit (*merozoit* vs. *sporozoit*) atau metode preparasi sampel. Alcalá-canto (2010) membandingkan *E. bovis* dan *E. alabamensis* menggunakan elektroforesis 2D, menemukan 938 dan 692 spot protein masing-masing, dengan beberapa protein unik pada *E. bovis* yang diduga terkait patogenisitas. Studi ini menjadi referensi penting untuk karakterisasi proteomik, meskipun belum ada konfirmasi fungsional protein tersebut. 4 protein (23–28 kDa) pada *sporozoit Eimeria* yang berperan dalam interaksi dengan sel inang. Protein ini mungkin terlibat dalam memicu respons imun, tetapi diperlukan kloning cDNA untuk validasi lebih lanjut (Abrahamsen, 1998).

Kuantifikasi protein menggunakan BCA Assay menunjukkan konsentrasi rendah pada sampel (SC1: 0.654 µg/µL; SC2: 0.448 µg/µL), sehingga volume yang



harus dimuat ke gel melebihi kapasitas sumur (20  $\mu$ L) setelah penambahan Laemmli buffer. Hal ini berpotensi menyebabkan pita melebar atau tumpang tindih. Konsentrasi optimal untuk SDS-PAGE adalah 10–100  $\mu$ g per sumur, sehingga konsentrasi rendah pada studi ini mungkin menghasilkan pita samar atau hilang, terutama untuk protein besar (>50 kDa). Kesalahan dalam interpretasi intensitas pita juga dapat terjadi jika kuantitas protein tidak seragam antarsampel.

Produksi antibodi poliklonal memerlukan 0.5–2 mg protein per injeksi, yang sulit dicapai karena keterbatasan isolat dan konsentrasi protein rendah. Tantangan ini menghambat studi lebih lanjut seperti Western blot, yang memerlukan antibodi spesifik. Alternatif seperti LC-MS/MS menjadi penting karena tidak membutuhkan antibodi dan mampu mengidentifikasi ribuan protein sekaligus.

*Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) digunakan untuk mengidentifikasi protein dari sampel kompleks, termasuk *Eimeria*. Studi ini, LC-MS menunjukkan 15 puncak spektrum dalam *Total Ion Chromatogram* (TIC), yang dianalisis menggunakan perangkat lunak seperti Mascot untuk mencocokkan dengan basis data protein. Teknik ini telah diaplikasikan pada *E. necatrix* (Qu, 2022) untuk mengidentifikasi protein terkait organel, enzim, *heat-shock protein*, dan protein permukaan. *Eimeria* sapi menunjukkan hasil LC-MS yang dapat mengungkap protein yang berperan dalam invasi sel inang atau modulasi imun, yang menjadi kandidat vaksin atau target diagnostik.

Kesenjangan penelitian yaitu belum ada data komprehensif yang membandingkan proteom *Eimeria* sapi antarisolat atau spesies. Studi lebih lanjut



diperlukan untuk memetakan apakah perbedaan profil protein berkorelasi dengan virulensi atau resistensi obat. Identifikasi protein unik (misalnya pada *E. bovis*) perlu dilanjutkan dengan uji fungsional, seperti *knockout gen* atau penghambatan protein. Kombinasi proteomik dengan data genomik dan transkriptomik akan mempercepat penemuan antigen dan pemahaman mekanisme infeksi.

**PERSETUJUAN RINGKASAN DISERTASI**

**KARAKTERISASI DAN PROFIL PROTEIN *Eimeria* spp.  
PADA SAPI POTONG DI JAWA**

Vika Ichsanita Ninditya

22/507095/SKH/00150

Yogyakarta, 16 Juni 2025

Telah disetujui oleh:

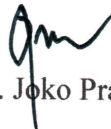
Promotor



Prof. Dr. drh. Raden Wisnu Nurcahyo

Ko-Promotor I

Ko-Promotor II



Prof. Dr. drh. Joko Prastowo, M. Si.



Prof. Dr. drh. Irkham Widiyono