EFEKTIFITAS Dimethylformamide (DMF) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN UNTUK KRIOPRESERVASI OOKISTA Eimeria tenella YANG DISIMPAN DALAM NITROGEN CAIR BERSUHU –196°C

SKRIPSI

Oleh :
SARI WATI
B. 29 0892

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2001
Duaan mawu

Menyungkupu manusia itu benar-benar dalam keduaan merau
Keunik, orang yang berimun dan mengangkat used zat
Dan musnah manusia supaya mengetahui kebenaran dan musnah manusia supaya
Mengetahui kebenaran
(2: 4, 6; S. a. Alkabir 4: 5)

Hargai setiap kepekaan baik
Hendak terseele, suami dan ananda Fajar terkasih
Satau antah bukaan dan adinda terdayang
RINGKASAN


Koksidiiosis adalah penyakit parasiter yang menimbulkan gangguan terutama pada saluran pencernaan bagian aboral (usus), disebabkan oleh protozoa yaitu Eimeria tenella. Penyakit tersebut banyak menimbulkan kerugian ekonomi. Koksidiiosis adalah salah satu penyakit parasitik dalam peternakan ayam. Walaupun penyakit ini dapat dikontrol dengan obat-obatan, penggunaan obat secara potensial menimbulkan beberapa masalah, seperti residu obat dalam produk daging dan bermacam strain parasit menjadi resisten terhadap obat (Chapman, 1997). Vaksinasi adalah salah satu alternatif dalam pengobatan dan beberapa antigen koksida akan diterapkan menjadi dasar komponen vaksin (Uchida et. al., 1997).


Penelitian dilakukan dengan empat perlakuan pada ookista Eimeria tenella dengan penambahan dimethylformamide (DMF) 5%, 7,5%, 10%, dan kontrol (0%). Masing-masing perlakuan terdiri dari lima ulangan, kemudian diequilibrasi pada suhu 4°C selama tiga puluh menit. Lalul straw dititunkan ke mulut tangki N2 cair bersuhu –120°C selama dua menit kemudian dimasukkan ke suhu -196°C. Ookista tersebut diamati pada saat sebelum pencampuran, setelah pencampuran pada suhu 4°C, dan thawing setelah penyimpanan selama 1 hari, 7 hari, dan 30 hari. Parameter pengamatan yang digunakan adalah ookista yang utuh, sporokista yang rusak, ookista dengan dinding yang rusak, dan ookista dengan dinding dan sporokista rusak.

Persentase ookista yang utuh pada penambah DMF 5%, 7,5%, dan 10% setelah thawing yang disimpan selama 1, 7, dan 30 hari tidak berbeda nyata dan lebih tinggi daripada tanpa memakai krioprotectan (0%), karena itu untuk pemakaian yang lebih ekonomis lebih baik menggunakan DMF 5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa DMF dapat digunakan
sebagai krioprotektan. *Dimethylformamid* merupakan CPA intra sel yang memiliki daya permeabilitas (menembus membran sel) yang cukup tinggi yang disebabkan oleh sifat fisika kekentalan cairannya (viskositas) yang rendah sehingga dapat mengurangi interaksi diantara pelarut tersebut maupun dengan air (Best, 1999). Menurut Kasai (1996) daya permeabilitas ini merupakan komponen penting yang harus dimiliki oleh krioprotektan, karena semakin cepat menembus membran sel maka waktu pemaparannya sebelum pendinginan cepat (*rapid cooling*) akan diperingkat sehingga akan mencegah toksisitas larutan dan kerusakan yang diakibatkan oleh tekanan osmosis. Persentase oookista yang utuh dengan DMF 5% dan 7,5% setelah thawing cenderung stabil sampai dengan hari ke tiga puluh dibandingkan dengan penambahan DMF 10% yang memiliki kecenderungan menurun. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 10% memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 7,5%.

Persentase oookista dengan sporokista yang rusak dengan penambahan DMF 5% dan 7,5% setelah thawing yang disimpan selama 1, 7, dan 30 hari berbeda nyata dan lebih rendah daripada tanpa memakai krioprotektan (0%). Konsentrasi krioprotektan optimal diperlukan untuk mengurangi efek toksisnya. Kerusakan sel yang disebabkan oleh proses osmosis terutama terjadi pada waktu thawing, karena sel yang telah dimasuki krioprotektan rentan terhadap pembekuan sel yang disebabkan oleh tekanan osmosis, karena pada waktu thawing air akan lebih cepat berdifusi ke dalam sel dari pada proses difusi krioprotektan (Kasai, 1996).

Persentase oookista dengan dinding yang rusak pada penambahan DMF 5%, 7,5%, dan 10% setelah thawing yang disimpan selama 1, 7, dan 30 hari nyata lebih tinggi daripada memakai krioprotektan (0%). Hal tersebut menunjukkan bahwa DMF selain berfungsi sebagai krioprotektan juga memiliki efek negatif terhadap dinding sel oookista selain dari efek kristal es intra sel dan tekanan osmosis. Dinding sel pada umumnya terdiri dari dua lapis lipid (*lipid bilayer*), dan DMF termasuk ke dalam kelompok krioprotektan yang memiliki sifat hidrofobi (lipofili) (Best, 1999). Oleh karena itu senyawa ini memiliki kecenderungan bereaksi dengan lipid dan mempengaruhi ikatan lipid-lipid maupun lipid-protein sehingga merubah bangun atau konfigurasi dinding sel (Park and Graham, 1992).

Persentase oookista *Eimeria tenella* dengan sporokista dan dinding yang rusak terlihat tidak nyata perbedaannya pada penyimpanan selama 1, 7, dan 30 hari dengan penambahan konsentrasi DMF 5%, 7,5% setelah thawing dan DMF 10% cenderung lebih tinggi dari kedua konsentrasi tersebut. Pada saat dinding oookista dan sporokista yang telah dimasuki oleh krioprotektan dimasukkan dalam air (pada waktu thawing) akan terjadi perubahan tekanan di dalam dan di luar sel, karena air akan menembus dinding dan membran sel lebih cepat daripada proses keluar krioprotektan, sehingga semakin tinggi konsentrasi krioprotektan maka proses difusinya akan semakin lambat dan sel tersebut akan cenderung mengalami penggembungan oleh air (Kasai, 1996).
EFEKTIFITAS Dimethylformamide (DMF) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN UNTUK KRIOPRESERVASI OOKISTA Eimeria tenella YANG DISIMPAN DALAM NITROGEN CAIR BERSUHU –196⁰C

SKRIPSI

Oleh :
SARI WATI
B. 29 0892

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2001
Judul Skripsi : Efektifitas Dimethylformamide (DMF) sebagai Krioprotektan untuk Kriopreservasi Ookista Eimeria tenella yang Disimpan Dalam Nitrogen Cair Bersuhu –196°C

Nama Mahasiswa : Sari Wati
Nrp. : B. 29 0892

Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing I,

[Signature]
Dr. Drh. Hj. Umi Cahyaningsih, MS.  
NIP : 131 124 821

Pembimbing II,

[Signature]
Dr. Drh. H. Yenuarso Eddy H., M.Agr.  
NIP : 680 000 662

Mengetahui :

Pembantu Dekan I FKH-IPB

[Signature]
Dr. Drh. Wayan Teguh Wibawan, MS.  
NIP : 131 129 090

Tanggal Kelulusan : 13 Februari 2001
RIWAYAT HIDUP

Pada tanggal 9 April 1974, penulis dilahirkan di Bogor, dari pasangan Darya dan Imi Sumiati. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara.


KATA PENGANTAR


Ucapan terima kasih penulis berikan kepada:

1. Ibu Dr. Drh. Hj. Umi Cahyaningsih, MS selaku dosen pembimbing I, atas segala bimbingan, dukungan, dan nasehat serta kesabarannya dalam membimbing penulis mulai dari penelitian sampai penulisan skripsi.


3. Staf Pegawai Laboratorium Protozoologi, yang telah memberikan bantuannya selama penulis melakukan penelitian.

4. Bapak Drh. Ilyus Setiawan suami tercinta yang banyak memberikan dorongan semangat, perhatian dan bantuannya baik moral maupun material dalam segala permasalahan yang dihadapi penulis, seperti penterjemahan literatur dan penyelesaian skripsi.

5. Bapak Bambang dan Ibu Nita yang senantiasa memberikan dukungannya kepada penulis dalam tersusunnya skripsi ini.


Penulis yakin skripsi ini tidak lупut dari keterbatasan, penulis sangat berterima kasih dan menghargai masukan-masukan serta kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak, demi kesempurnaan skripsi ini.

Bogor, 21 Februari 2001

Penulis
# DAFTAR ISI

<table>
<thead>
<tr>
<th>Chapter</th>
<th>Title</th>
<th>Halaman</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td><strong>RIWAYAT HIDUP</strong></td>
<td>i</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td><strong>KATA PENGANTAR</strong></td>
<td>ii</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td><strong>DAFTAR ISI</strong></td>
<td>iii</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td><strong>DAFTAR TABEL</strong></td>
<td>v</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td><strong>DAFTAR GAMBAR</strong></td>
<td>vi</td>
</tr>
<tr>
<td>I.</td>
<td><strong>PENDAHULUAN</strong></td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>1. 1</td>
<td>Latar Belakang dan Pendekatan Masalah</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>1. 2</td>
<td>Tujuan dan Manfaat Penelitian</td>
<td>3</td>
</tr>
<tr>
<td>II.</td>
<td><strong>TINJAUAN PUSTAKA</strong></td>
<td>4</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1</td>
<td><em>Eimeria tenella</em></td>
<td>4</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1. 1</td>
<td>Klasifikasi</td>
<td>4</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1. 2</td>
<td>Morfologi</td>
<td>5</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1. 3</td>
<td>Siklus Hidup</td>
<td>6</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1. 4</td>
<td>Patogenesa</td>
<td>8</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 1. 5</td>
<td>Gejala Klinis</td>
<td>9</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 2</td>
<td>Kriopreservasi Ookista</td>
<td>10</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 3</td>
<td>Pembuatan dan Penyimpanan Media Krioprotektan</td>
<td>12</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 4</td>
<td>Mekanisme Kerja Krioprotektan</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>2. 5</td>
<td><em>Dimethylformamide</em>, Krioprotektan dalam Pembekuan Ookista</td>
<td>15</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td><em>Eimeria tenella</em></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>