Penyakit Koksidirosis pada Sapi di Indonesia dan Perkembangan Teknik Diagnosisnya

(Coccidiosis Disease in Cattle in Indonesia and Development of Diagnostic Techniques)

Fitrine Ekawasti dan AH Wardhana

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
Kontributor utama: fitrineekawasti@gmail.com

(Diterima 31 Juli 2019 – Direvisi 20 Agustus 2019 – Disetujui 4 September 2019)

ABSTRACT

Coccidiosis is a parasitic disease caused by the protozoan of the order Coccidia, the family Eimeriidae of the genus *Eimeria* which breeds rapidly in the digestive tract and is the most difficult disease to be controlled on cattle farms. *Eimeria* spp. in cattle can cause high economic losses and increase susceptibility against infectious diseases. Therefore, coccidiosis in cattle needs attention from the government. This paper describes a number of diagnostic methods that can be used in the detection of *Eimeria* spp. in cattle based on the goals and objectives of the examination. The coccidiosis cases often do not show any clinical symptoms but can cause sudden death in livestock. The diagnostic method that still used at present is based on its morphology that should not be used in identifying *Eimeria* species because the morphological characteristics *Eimeria* spp. have similar shape and size structures between species (resembling morphology). An appropriate diagnostic method for *Eimeria* is needed in the context of controlling coccidiosis strategically.

Key words: Diagnose, coccidiosis, *Eimeria* spp., cattle, Indonesia

ABSTRAK

Koksidirosis merupakan penyakit parasitik yang disebabkan oleh protozoa ordo *Koksidia*, famili *Eimeriidae* genus *Eimeria* yang cepat berkembang biak di saluran pencernaan dan paling sulit dikendalikan di peternakan sapi dibandingkan dengan protozoa gastrointestinal lainnya. Infestasi *Eimeria* spp. pada sapi dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang tinggi dan dapat meningkatkan kerentanan terhadap adanya infeksi penyakit menular lainnya sehingga penyakit koksidirosis pada sapi perlu mendapat perhatian dari pemerintah. Tulisan ini mengulas tentang koksidirosis pada sapi dan beberapa metode diagnosis yang dapat digunakan dalam deteksi *Eimeria* spp. pada sapi sesuai dengan sasaran dan tujuan pemeriksaan. Kasus koksidirosis sering tidak menunjukkan gejala klinis dan tiba-tiba dapat langsung menyebabkan kematian ternak. Metode diagnosis yang masih sering digunakan sampai saat ini adalah identifikasi morfologi yang sebenarnya tidak dapat dijadikan acuan dalam identifikasi spesies *Eimeria*, karena karakteristik morfologi *Eimeria* spp. memiliki struktur bentuk dan ukuran yang mirip antar spesies (*resembling morphology*). Diperlukan metode diagnosis spesies *Eimeria* yang tepat dalam rangka strategi pengendalian penyakit koksidirosis.

Kata kunci: Diagnosis, koksidirosis, *Eimeria* spp. sapi, Indonesia

PENDAHULUAN

Ternak sapi potong di Indonesia merupakan salah satu komoditas peternakan yang menjadi tumpuan pemerintah dalam rangka memenuhi kebutuhan protein hewani per kapita di Indonesia. Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan menyebutkan bahwa populasi sapi potong di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Data statistika menunjukkan populasi sapi pada tahun 2018 mencapai 17.050.000 ekor (Kementan RI 2018). Kendati demikian, pemerintah Indonesia masih terus berusaha untuk meningkatkan populasi sapi potong dengan

mengimplementasikan Upaya Khusus Sapi Indukan Wajib Bunting (UPSUS SIWAB).

Manajemen pemeliharaan sapi potong tidak lepas dari kendala yang berpotensi menghambat produksi daging ataupun menurunkan daya reproduksi ternak, seperti gangguan kesehatan akibat penyakit tertentu. Jonsson et al. (2011) dan Lassen et al. (2014) melaporkan bahwa salah satu penyakit yang sering dijumpai pada industri sapi potong adalah koksidirosis, yaitu penyakit parasitik pada saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Eimeria* spp. Parasit ini mampu menyebabkan diare akut dan sekitar 75% kasus koksidirosis pada pedet berakhir dengan kematian (Dauguschies & Najdrowski 2005; Bruhn et al. 2011).

Ekawasti et al. (2019) melaporkan prevalensi koksidiosis di Banten mencapai 63,9% pada pedet, 75% pada sapi berumur 1 – 2 tahun dan 42,3% pada sapi berumur lebih 2 tahun. Sebagian besar kasus koksidiosis disebabkan oleh jenis *Eimeria* patogen, yaitu *Eimeria bovis* dan *E. zuerni*.

Eimeria spp. adalah salah satu protozoa saluran pencernaan yang susah untuk dikendalikan di industri peternakan. Penyakit ini dilaporkan mampu mempengaruhi pertumbuhan, produktivitas serta tingkat morbiditas dan mortalitas ternak (Astuti et al. 2011; Marquez 2014). Sejauh ini, lebih dari 20 spesies *Eimeria* yang telah diidentifikasi pada ternak dan 13 diantaranya menyerang sapi, yaitu *E. alabamensis*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidnonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. illinoisensis*, *E. pellita*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* dan *E. zuernii* (Sanchez et al. 2008; Bruhn et al. 2011). Adapun spesies *Eimeria* spp. pada sapi yang memiliki tingkat patogenitas tinggi adalah *E. bovis* dan *E. zuernii* karena kedua spesies tersebut dapat menyebabkan kematian, terutama pada ternak muda (Rehman et al. 2011; Koutny et al. 2012).

Walaupun *Eimeria* spp. yang non patogen tidak menimbulkan kematian, namun spesies-spesies tersebut menyebabkan kerusakan pada jaringan sehingga meningkatkan kepekaan terhadap infeksi penyakit menular lainnya. Ekawasti et al. (2019) menyatakan bahwa koksidiosis berpotensi sebagai pembuka pintu terhadap agen-agen penyakit lainnya, seperti virus, bakteri, jamur atau parasit lainnya. Oleh karena itu, manajemen strategi pengendalian koksidiosis pada industri peternakan harus diperhatikan, terutama melakukan deteksi untuk mengetahui spesies *Eimeria* yang berdistribusi di peternakan tersebut. Strategi pengendalian yang kurang tepat akan meningkatkan kasus koksidiosis karena oosista akan terus mencemari lingkungan dan berpotensi menjadi sumber penularan bagi ternak, khususnya ternak muda.

Teknik diagnosis yang akurat juga memegang peranan penting dalam strategi pencegahan dan

pengendalian koksidiosis pada sapi (Heidari & Gharekhani 2014). Selama ini, diagnosis koksidiosis di lapang banyak berdasarkan teknik parasitologis, yaitu menggunakan uji apung (*whitlock*) dengan melakukan pengamatan morfologi dibawah mikroskop. (Ananta et al. 2014; Hamid et al. 2016). Namun demikian, teknik ini memiliki beberapa kelemahan karena karakteristik morfologi antar spesies *Eimeria* mempunyai ciri bentuk dan ukuran yang hamper sama (Sánchez et al. 2008). Oleh karena itu, para peneliti mengembangkan beberapa modifikasi teknik pemeriksaan spesies *Eimeria* baik secara parasitologis maupun molekuler untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas teknik diagnosis yang digunakan di laboratorium. Tulisan ini mengulas tentang penyakit koksidiosis pada sapi di Indonesia dan beberapa pengembangan teknik deteksi *Eimeria* spesies yang mulai banyak digunakan dinegara-negara maju dan sedang berkembang.

EIMERIA SPP. PADA SAPI

Eimeria spp. merupakan protozoa *obligate intracellular* yang menyerang sel-sel epitel dan kelenjar-kelenjar pada saluran pencernaan sehingga menyebabkan koksidiosis pada hewan (Makau 2014). Oosista *Eimeria* spp. berbentuk bulat, ovoid dan elips dengan permukaan dinding oosista halus, homogen, dan transparan. Umumnya oosista tidak berwarna, namun beberapa diantaranya mempunyai warna kuning muda (Gambar 1). Ukuran panjang oosista *Eimeria* spp. berkisar antara 10 sampai 50 µm dan memiliki *shell refractil*. Beberapa spesies memiliki granula kutub, oosista dan mikrofil atau pori kecil di salah satu ujung yang tertutup oleh topi mikrofil. Setiap oosista dari spesies *Eimeria* mempunyai 4 sporosista dan masing-masing sporosista terdiri atas 2 sporozoit. Sporozoit berisi inti sporozoit, gelembung *refractil* yang jernih dari bahan protein, residu sporosista dan badan stida terdapat pada ujung sporozoit (Gambar 1; Dauschies & Najdrowski 2005).

Gambar 1. Struktur oosista *Eimeria* spp. bersporulasi

Sumber: Florião et al. 2016 (Modifikasi)

Perbedaan beberapa spesies *Eimeria* ditentukan menurut bentuk, ukuran, warna oosista, waktu dan tempat sporulasi, keberadaan mikrofil dan ketebalan dinding oosista serta karakter fisiologisnya. Struktur oosista *Eimeria* spp. yang telah bersporulasi dapat dilihat pada Gambar 1. Bentuk dan ukuran *Eimeria* spp. mirip satu sama lain sehingga sulit diidentifikasi secara mikroskopis. Struktur internal dari oosista yang telah sporulasi merupakan ciri yang dapat digunakan untuk membedakan *Eimeria* dengan protozoa dari famili *Eimeriidae* yang lainnya seperti isospora (Oluwadare 2004).

Siklus hidup *Eimeria* spp. terjadi di dalam tubuh inang (endogenus) dan di lingkungan (eksogenus) (Gambar 2). *Eimeria* spp. hanya membutuhkan inang tunggal untuk melengkapi seluruh proses siklus hidupnya yang bersifat langsung. Parasit ini tidak memerlukan vektor biologis untuk perkembangbiakannya, tetapi vektor mekanik seperti lalat atau insekta lainnya dilaporkan membantu dalam menyebarkan oosista infeksi dari tinja ke lingkungan yang baru (Indraswari et al. 2017).

Siklus hidup *Eimeria* spp. terdiri atas skizogoni, gametogoni dan sporogoni. Fase siklus hidup ini *Eimeria* spp. dimulai dari tertelannya oosista infeksi oleh ternak melalui air minum atau pakan yang terkontaminasi (Indraswari et al. 2017). Selanjutnya, dinding oosista *Eimeria* spp. pecah dan melepaskan sporosista, kemudian sporozoit yang ada di dalam

sporosista diaktifkan oleh tripsin agar keluar dari sporosista untuk mengalami fase perbanyakan/multiplikasi secara aseksual (skizogoni) di usus halus. Sporozoit menginfeksi sel epitel usus dan membulat menjadi meront dan memulai fase seksual (gametogoni) menjadi gametosit jantan (mikrogamet) dan betina (makrogamet). Mikrogamet dan makrogamet mengalami proses fertilisasi untuk menghasilkan zigot. Zigot akan terlapisi dinding sista membentuk oosista yang akan keluar melalui tinja ke lingkungan dan mengalami sporulasi pada kondisi optimal membentuk oosista infeksi di lingkungan (Makau 2014; Keeton & Navarre 2018).

Tahap sporulasi (sporogoni) terjadi di luar tubuh inang dengan waktu sporulasi selama beberapa hari hingga beberapa minggu tergantung pada spesies, ketersediaan oksigen, kelembaban dan suhu. Selama proses sporulasi, sitoplasma sel akan rusak dan terjadi perkembangan sporozoit di dalam sporosista (Lassen & Jarvis 2009; Makau 2014; Keeton & Navarre 2018). Oosista infeksi memiliki protoplasma yang mengandung massa nukleus dengan dinding pelindung yang tahan terhadap pengaruh fisik, kimia ataupun terhadap aktivitas bakteri di lingkungan (Lassen & Jarvis 2009). Oosista *Eimeria* spp. infeksi (berspora) dapat bertahan dalam waktu yang lama di bawah kondisi lingkungan baik ataupun ekstrim (Lassen et al. 2014; Indraswari et al. 2017).

Gambar 2. Siklus hidup *Eimeria* spp

Sumber: Keeton & Navarre 2018 (modifikasi)

Faktor predisposisi

Faktor pendukung yang dapat mempengaruhi kejadian koksidirosis dengan variasi gejala klinis, yaitu jumlah oosista yang tertelan, keadaan hewan dan lingkungan (Maas 2007; Makau 2014). Jika jumlah oosista per gram (OPG) tinja diatas 5.000 oosista yang tertelan, maka dapat menimbulkan gejala klinis koksidirosis pada sapi (Bangoura et al. 2012).

Faktor hewan

Tingkat kejadian koksidirosis dipengaruhi oleh kondisi atau karakter hewan seperti ras, umur dan jenis kelamin (Malek & Kuraa 2018). *Bovine Eimeria* umumnya dapat menginfeksi semua ras sapi (Makau 2014), namun pada kejadian koksidirosis di Nigeria, sapi potong memiliki nilai prevalensi lebih tinggi dibanding sapi perah (Oluwadare 2004). Laporan lain menyebutkan bahwa koksidirosis lebih tinggi dibandingkan dengan jenis ras sapi lainnya di Brazil (Bruhn et al. 2011). Ditinjau dari status biologisnya, umur anak sapi kurang dari satu tahun, mulai dari usia 3 minggu sampai 6 bulan lebih rentan terinfeksi *Eimeria* spp. karena tingkat imunitasnya yang masih rendah sehingga mudah tertular dari sapi yang lebih dewasa apabila dicampurkan dalam satu kandang (Bruhn et al. 2011; Davoudi et al. 2011; Heidari & Gharekhani 2014). Oosista mulai dapat ditemukan pada tinja pedet umur 5 minggu dengan prevalensi infeksi mencapai 20-35% dan meningkat hingga 60-70% pada pedet berumur 7 minggu (Matsubayashi et al. 2009). Sapi dewasa umumnya relatif lebih tahan dari koksidirosis karena telah memiliki tingkat kekebalan (imunitas) yang cukup dari paparan infeksi *Eimeria* spp. sebelumnya sehingga sistem imunitas meningkat secara sempurna (Heidari & Gharekhani 2014). Sapi betina dilaporkan lebih rentan terhadap infeksi *Eimeria* spp. dibanding sapi jantan (Khan et al. 2013; Fitriastuti et al. 2011). Kondisi ini terkait dengan keadaan fisiologis, stress dan berhubungan dengan masa kebuntingan atau kelahiran (Manya et al. 2008). Namun pada daerah tertentu, kejadian koksidirosis lebih tinggi pada sapi jantan dibanding sapi betina (Dawid et al. 2012; Doviansyah 2015; Sufi et al. 2016), karena kandang sapi jantan relatif jarang dibersihkan dibandingkan dengan kandang sapi betina yang selalu dibersihkan pada saat pemerahan (Doviansyah 2015).

Faktor lingkungan

Faktor lingkungan yang terdiri dari kondisi musim atau iklim (suhu dan kelembaban) dan manajemen peternakan dapat mempengaruhi tingkat prevalensi kejadian koksidirosis (Matsubayashi et al. 2009).

Koksidirosis sering terjadi pada musim dingin atau hujan dibandingkan dengan musim kering (Makau 2014), karena memiliki suhu dan kelembaban yang cocok terhadap perkembangan oosista infeksi (Lassen & Jarvis 2009; Keeton & Navarre 2018).

Pola manajemen pemeliharaan dan perkandangan juga sangat mempengaruhi angka prevalensi kejadian koksidirosis, seperti kepadatan kandang, kepadatan populasi di area penggembalaan, kadar oksigen dan pencahayaan dalam kandang, sanitasi, drainase, sistem pemberian pakan dan sumber air minum (Bangoura et al. 2012). Prevalensi infeksi dan intensitas infestasi *Eimeria* spp. lebih tinggi pada sapi yang digembalakan dibandingkan sapi yang dikandangan, karena resiko kontaminasi *Eimeria* spp. lebih kecil terjadi di kandang. Sapi yang dikandangan dapat memiliki peluang kontaminasi lebih besar jika menggunakan alas kandang tanpa semen dibandingkan menggunakan alas semen karena tipe alas kandang tanpa semen sulit dibersihkan (Rehman et al. 2011; Bangoura et al. 2012).

Selain faktor hewan dan lingkungan, tingkat kejadian koksidirosis juga dipengaruhi oleh tipe patogenitas spesies *Eimeria*. Disamping itu, variasi tingkat patogenitas spesies *Eimeria* pada sapi dapat mempengaruhi tingkat keparahan dan variasi gejala klinis. Tipe patogenitas *Eimeria* spp. didasarkan oleh beberapa faktor, antara lain jumlah sel atau jaringan inang yang rusak, jumlah merozoit dan lokasi parasit di dalam jaringan sel inang (Mundt et al. 2005). Satu oosista *Eimeria* spp. patogen dapat menyebabkan kerusakan 50 juta sel usus halus yang disebabkan oleh akumulasi dari proses peradangan dan gangguan pada lapisan sel sehingga menyebabkan kebocoran sel dan pendarahan (*haemorrhagi*). Akibatnya, sapi mengalami kehilangan banyak darah, air dan protein yang menyebabkan proses penyerapan nutrisi tidak efisien bahkan dalam kondisi yang parah dapat menyebabkan kematian (Pedersen 2013).

Gejala klinis

Perjalanan klinis penyakit ini bervariasi antara 4 - 14 hari (Oluwadare 2004; Dauschies & Najdrowski 2005). *Eimeria* spp. dapat menginduksi terjadinya enteritis serta mengakibatkan terjadinya diare pada ternak. Umumnya infeksi ringan ditandai dengan terjadinya diare ringan yang berlangsung sekitar 5 - 7 hari (Dauschies & Najdrowski 2005). Pada infeksi berat dapat menyebabkan pertumbuhan rambut pada kulit hewan menjadi kasar, anoreksia dan diare yang hebat dengan tinja cair bercampur mukus dan darah yang berwarna merah sampai kehitaman. Reruntuhan sel-sel epitel yang bercampur tinja cair sering mengotori daerah sekitar perianal, kaki belakang dan pangkal ekor. Kematian dapat terjadi akibat diare parah

yang disebabkan oleh depresi, dehidrasi, bobot badan menurun, kehilangan elektrolit, pendarahan usus atau adanya infeksi sekunder dari mikroorganisme lain dan pada saat kondisi diare, hewan terus merejan sehingga mengakibatkan prolapsus rektum pada sapi (Fraser 2006).

Mundt et al. (2005) menyatakan bahwa gejala klinis tergantung pada keseimbangan antara imunitas dengan dosis infeksi. Diagnosis koksidiosis yang didasarkan pada gejala klinis saja dapat dikelirukan dengan gejala klinis dari penyakit intestinal lainnya. Sebagai contoh, diare berair pada ternak tidak hanya disebabkan oleh *Eimeria* spp. tetapi dapat disebabkan oleh agen penyakit yang lain, seperti giardiasis dan cryptosporidiosis. Dalam beberapa kasus, sapi tidak menunjukkan gejala klinis meskipun terdapat oosista *Eimeria* pada tinjanya. Walaupun sapi menunjukkan gejala subklinis, namun tetap menyebabkan lesi-lesi pada saluran pencernaan sapi yang merusak mukosa usus. Kerusakan mukosa usus disebabkan oleh fase seksual *Eimeria* spp. yang dapat mengakibatkan gangguan penyerapan nutrisi sehingga memengaruhi kesehatan, produksi dan performa sapi (Lassen & Jarvis 2009).

KOKSIDIOSIS PADA SAPI DI INDONESIA

Kejadian koksidiosis di Indonesia telah dilaporkan di beberapa daerah di Indonesia. Pengujian koksidiosis berdasarkan pengamatan morfologi oosista *Eimeria* spp. pada sampel tinja. Fitriastuti et al. (2011) melakukan pemeriksaan pada sapi potong yang diambil dari Provinsi Gorontalo, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah dan Maluku dengan hasil 10% negatif, 2% infeksi berat dan 88% infeksi ringan. Kejadian koksidiosis juga dilaporkan di Cibungbulang, Bogor, Jawa Barat sebesar 20% (Dewi et al. 2016).

Survei yang dilakukan oleh Balai Veteriner Subang pada tahun 2013 menunjukkan tingkat kejadian koksidiosis di Jawa Barat sebesar 47,8% (B-Vet 2013) dan survei yang dilakukan oleh Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor menunjukkan bahwa tingkat prevalensi koksidiosis pada sapi potong di peternakan rakyat di Jawa Barat dilaporkan sangat bervariasi, yaitu Sumedang 59,2%, Tasikmalaya 4,1%, dan Cianjur, Ciamis, Sukabumi dan Subang, yaitu berkisar antara 19,1% sampai 23,7% (IPB 2012), serta di Sekolah Peternakan Rakyat (SPR) Kecamatan Kasiman Kabupaten Bojonegoro sebesar 41,7% (Taryu 2015). Sufi et al. (2016) melaporkan kejadian koksidiosis yang dapat terjadi juga pada sapi perah di Koperasi Peternak Sapi Bandung Selatan (KPBS) mencapai 44,75%.

Kejadian koksidiosis juga telah dilaporkan di beberapa wilayah di Jawa Tengah, meliputi lokasi Wonogiri 43,2% (Nugroho 2013), Boyolali 48,3% (Sumiarto 2013), Klaten 41,4% (Budiharta 2013), dan Sleman 78% (Raharjo 2013) serta di beberapa kabupaten, yaitu Kabupaten Karanganyar 38,7% (Istiyani 2013), Kabupaten Wonogiri 43,24% (Ardianto 2013), Kabupaten Sragen 38,78% (Nanditya 2014), dan Kabupaten Boyolali 48,2% (Wicaksana 2013).

Menurut Taryu (2015) berdasarkan identifikasi morfologi oosista secara konvensional infeksi *Eimeria* yang terjadi di SPR Bojonegoro disebabkan oleh 10 spesies yaitu *E. subspherica*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. pellita*, *E. wyomingensis*, *E. auburnensis*, *E. canadensis* dan *E. bukidnonensis*. Infeksi tertinggi disebabkan oleh *E. bovis* 77,5% sedangkan infeksi terendah disebabkan oleh *E. subspherica* 4,5%. Sebanyak 64,9% terjadi infeksi campuran 2 sampai 6 spesies *Eimeria* di setiap sampel. Prevalensi *Eimeria zuernii* dan *Eimeria bovis* yang juga dideteksi melalui pengamatan morfologi oosista dari tinja sapi di Bandung berkisar 3,7% sampai 8,7% (Iskandar 2007).

Laporan prevalensi koksidiosis pada sapi secara molekuler dengan menggunakan PCR di Pulau Jawa pertama kali di publikasi oleh Ekawasti et al. (2019). Berdasarkan penanda molekuler yang spesies spesifik mampu dideteksi prevalensi koksidiosis menurut spesiesnya, antara lain 10,4% *E. bovis*, 2,8% *E. ellipsoidalis*, 2,1% *E. alabamensis*, 1,4% *E. zuernii*, 1,1% *E. auburnensis*, dan 0,4% *E. cylindrica*, serta infeksi campuran 2 sampai 4 spesies *Eimeria* sebanyak 26,3%. Data yang dilaporkan menunjukkan bahwa *E. bovis* (*Eimeria* patogen) memiliki prevalensi yang paling tinggi dibandingkan dengan spesies yang lainnya.

Perkembangan teknik diagnosis koksidiosis

Diagnosis suatu penyakit secara umum dapat diawali dengan pengamatan gejala klinis dan tingkat kematian yang terjadi pada sapi (Suardana & Budiharta 2007). Namun demikian, menurut Maas (2007) bahwa penegakan diagnosis koksidiosis tidak disarankan hanya berdasarkan gejala klinis saja. Perlu dilakukan uji lanjutan di laboratorium dengan metode yang tepat. Beberapa metode pemeriksaan koksidiosis di laboratorium dapat dilakukan secara konvensional maupun molekuler, yang meliputi pemeriksaan secara kuantitatif dan kualitatif. Pemilihan metode yang tepat perlu dipertimbangkan sesuai sasaran dan tujuan pemeriksaan karena masing-masing teknik diagnosis memiliki kelemahan dan keunggulan yang berbeda.

Metode konvensional

Deteksi oosista *Eimeria* spp dalam sampel tinja adalah kunci utama untuk menegaskan diagnosis koksidiosis. Sejauh ini, metode konvensional merupakan metode yang paling populer dan banyak digunakan di laboratorium melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pengamatan morfologi bentuk, ukuran dan warna oosista *Eimeria*. Selain sederhana dan murah, metode ini juga mudah dilakukan (Hamid et al. 2006; Ekawasti et al. 2019). Beberapa teknik konvensional memerlukan waktu yang lebih lama dalam proses identifikasi dan tingkat akurasi yang rendah. Umumnya, infeksi *Eimeria* spp. pada ternak terjadi dalam bentuk infeksi campuran (infeksi lebih dari satu spesies). Namun demikian, karakteristik morfologi dan perubahan patologisnya masing-masing spesies *Eimeria* spp relatif serupa sehingga sulit untuk dideteksi spesies *Eimeria* secara akurat melalui metode konvensional (Mirani et al. 2012).

Selain berdasarkan pengamatan morfologi oosista, deteksi spesies secara patologi anatomi juga dapat dilakukan berdasarkan lokasi lesi-lesi yang ditimbulkan oleh *Eimeria* spp. Beberapa spesies tertentu dilaporkan memiliki daerah predileksi yang khas. Spesies *Eimeria* spp. pada sapi berdasarkan karakteristik morfologi dan lokasi lesi pada usus dapat dilihat pada Tabel 1.

Oosista *Eimeria* merupakan oosista yang memiliki berat jenis lebih ringan daripada berat jenis air, sehingga pada metode konvensional ini digunakan garam atau gula jenuh untuk mengapungkan oosista *Eimeria* spp. (flotasi tinja) sehingga mudah untuk dikoleksi dan diperiksa. Pemeriksaan secara konvensional (*coprological examination*) terbagi

menjadi dua metode, yaitu secara kuantitatif dan kualitatif.

Metode kuantitatif

Teknik *Mc. Master* dan *whitlock* merupakan metode kuantitatif dengan menghitung jumlah oosista pada sampel tinja untuk mendapatkan jumlah ookista per gram tinja (OPG) yang dapat membantu dalam mengetahui tingkat keparahan koksidiosis sebagai penyebab penyakit klinis (Mundt et al. 2005). Metode kuantitatif yang memiliki keunggulan dapat mengetahui derajat keparahan koksidiosis, namun juga memiliki kelemahan, yaitu kurang sensitif dan hanya terbatas pada identifikasi arah genus. Oleh karena itu, teknik ini hanya dapat digunakan sebagai uji skrining terhadap koksidiosis (Ekawasti et al. 2019).

Metode kualitatif

Pemeriksaan sampel secara kualitatif dengan menentukan positif dan negatif keberadaan oosista *Eimeria* spp. dapat dilakukan dengan metode apung sentrifus atau dengan apusan langsung (natif) (Zajac & Conboy 2006). Metode apung modifikasi merupakan metode konsentrasi yang lebih sensitif terhadap diagnosis oosista koksidia dan memerlukan jumlah sampel yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode kuantitatif (Ekawasti et al. 2019). Namun, teknik diagnosis ini juga hanya terbatas pada identifikasi oosista *Eimeria* tingkat genus, sehingga diperlukan uji lanjutan untuk menentukan spesies *Eimeria*.

Tabel 1. Karakteristik oosista *Eimeria* spp. pada sapi

Spesies	Ukuran (µm)		Bentuk	Lokasi Predileksi
	P	L		
<i>Eimeria alabamensis</i>	12-24	11-16	<i>Ovoid/piriform/asimetri</i>	Usus kecil (usus halus, sekum, kolon)
<i>Eimeria auburnensis</i>	32-46	20-25	<i>Ovoid/ellipsoid</i>	Usus kecil (Lokasi sepertiga bagian tengah dan bawah dari usus).
<i>Eimeria bovis</i>	23-34	17-23	<i>Ovoid/subellipsoidal</i>	Merogoni terjadi di usus kecil. Gametogoni di bagian terminal dari ileum dan sekum.
<i>Eimeria ellipsoidal</i>	20-26	13-17	<i>Ellipsoid/silindris</i>	Tahap merogoni dan gametogoni ada di usus kecil dari hospes.
<i>Eimeria cylindrica</i>	16-27	12-15	<i>Ellipsoid/subsilindris</i>	Tahap merogoni dan gametogoni berada di usus kecil.
<i>Eimeria zuernii</i>	13-22	13-18	<i>Subspherical/ellipsoid</i>	Usus besar, sekum, dan rektum sapi muda (ditemukan di lamina propis ileum bawah).

Sumber: Dauschies & Najdrowski (2005) dan Slobodian et al. (2017) (Modifikasi)

P = panjang; L= lebar

Adapun metode kualitatif lain melalui metode pengukuran panjang dan lebar oosista secara morfologi yang telah dikembangkan adalah metode komputerisasi *Coccimorph*. Metode ini dilakukan dengan cara pengambilan fotomikrograf (foto digital) oosista *Eimeria* spp yang bersporulasi dengan perbesaran 400 X. Identifikasi *Eimeria* spp. dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Coccimorph* (<http://www.coccidia.icb.usp.br/coccimorph/>). Perangkat lunak dapat diunduh secara *online* dari internet yang selanjutnya dicocokkan dengan gambar-gambar oosista berdasarkan spesies pada *software* tersebut. *Eimeria* spp. diidentifikasi oleh perangkat lunak dalam setiap sampel dicatat (Gussem 2007).

Aplikasi komputerisasi *Coccimorph* dapat digunakan untuk mengganti metode konvensional manual di laboratorium klinis dan fotomikrograf yang diunggah melalui internet sudah cukup untuk mendapatkan diagnosis spesies (Gussem 2007; Eassa et al. 2019). Secara ekonomis, metode ini terbilang murah dan lebih hemat jika diaplikasikan di laboratorium, terutama laboratorium yang tidak memiliki fasilitas biologi molekuler. Namun apabila ditinjau dari segi identifikasi ke arah spesies, keakuratan deteksinya tergantung dari kualitas fotomikrograf yang dihasilkan. Metode ini lebih sesuai digunakan untuk skrining kasus koksidiosis pada suatu peternakan.

Metode molekuler

Berbeda dengan metode konvensional, identifikasi secara molekuler bertujuan menentukan mendeteksi spesies *Eimeria* spp. dan keragaman genetik baik intraspesies atau interspesies (Kokuzawa et al. 2013). Metode molekuler yang sering digunakan untuk mendiagnosis *Bovine Coccidiosis* antara lain *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), Western Blot, Polymerase Chain Reaction (PCR) dan *Loop-mediated Isothermal Amplification* (LAMP)

ELISA

Jenis *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) yang sering digunakan adalah *Antibody Immunosorbent Enzyme-linked*, yaitu teknik yang menggabungkan antara antibodi spesifik dengan enzim spesifik secara sederhana. ELISA memberikan pengukuran antigen atau antibodi yang relatif efektif dan memberikan hasil data kuantitatif. Metode ini dilaporkan mampu mendeteksi keberadaan antigen *Eimeria* spp yang dikenali oleh antibodi atau digunakan untuk menguji antibodi yang mengenali antigen. Ahmed & Hasan (2007) menyatakan bahwa serodiagnosis ELISA dapat membuktikan terjadinya potensi infeksi *Eimeria* spp. pada sapi yang lebih

sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan secara konvensional. Beberapa kasus koksidiosis yang dinyatakan negatif pada pemeriksaan secara konvensional dikoreksi menjadi positif terinfeksi *Eimeria* spp berdasarkan pemeriksaan ELISA (*Partially Purified Antigen*). Laporan ini membuktikan bahwa tingkat sensitivitas ELISA lebih tinggi dibandingkan dengan metode konvensional. Namun demikian, kit ELISA *Eimeria* spp belum banyak di pasar dan secara ekonomis harganya relatif mahal dan memerlukan operator dengan keahlian khusus (Toaleb et al. 2011).

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) dan Western Blot (*Immunoblotting*)

Metode ini ditujukan untuk mendeteksi ekspresi protein (antigen) suatu organisme, termasuk *Eimeria* spp. Elusi fraksi antigen *Eimeria* spp. dilakukan menggunakan SDS-PAGE. Berat molekul standar diaplikasikan dalam gel yang sama untuk menghitung molekul bobot komponen yang diperiksa. Fraksi protein yang dipisahkan secara elektroforesis diwarnai dengan pewarna *Commassie blue* yang terang (Toaleb et al. 2011). Umumnya teknik SDS PAGE ini dilanjutkan dengan metode Western Blot.

Western blot adalah teknik analisis yang banyak digunakan dalam biologi molekuler dan imunogenetika untuk mendeteksi protein spesifik dalam sampel menggunakan elektroforesis gel sehingga terjadi fraksinasi protein berdasarkan bobot molekulnya oleh jarak polipeptida atau oleh struktur 3-D protein. Selanjutnya, protein yang telah terfraksinasi tersebut ditransfer ke membran sesuai dengan antibodi terhadap target protein. Uji imunoblot digunakan untuk mendeteksi pita imunoreaktif dari fraksi terisolasi menggunakan serum sapi yang terinfeksi *Eimeria* secara alami. Fraksi yang paling imunogenik (F1) memiliki satu pita imunogenik yang dapat digunakan untuk diagnosis koksidiosis (Toaleb et al. 2011).

Setelah elektroforesis, antigen *Eimeria* spp. diblotting ke nitroselulosa dalam sistem blotting. Membran nitroselulosa diinkubasi dengan sera positif *Eimeria* sapi yang telah dimurnikan dengan filtrasi gel kromatografi. Fraksi imunogenik (F1) adalah yang paling kuat seperti nilai ELISA yang menggunakan dari tiga pita bobot molekul 225, 198, 114,5 KDa sebagai antigen *Eimeria* spp (Ahmed & Hassan 2007).

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Teknik PCR primer spesifik merupakan metode diagnosis yang efektif dan terpadu untuk mendeteksi spesies *Eimeria* baik secara individu atau simultan

dalam suatu reaksi (Ekawasti et al, 2019; Kawahara et al. 2010). Penanda molekuler (primer DNA) gen *Internal Transcribed Spacer 1* (ITS-1) dikenal lebih unggul dan sensitif untuk mendeteksi spesies *Eimeria* pada sapi dibanding pemeriksaan konvensional (Ekawasti et al. 2019; Kawahara et al. 2010). Malek & Kurra (2018) membandingkan metode konvensional dan PCR (ITS-1) untuk mendeteksi kasus diare pada pedet yang terjadi di Aussit – Mesir. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa PCR (ITS-1) mampu meningkatkan sensitivitas deteksi koksidiosis hingga 42 %, yaitu prevalensi 46, 7% berdasarkan metode konvensional meningkat menjadi 88,00 % berdasarkan metode molekuler. Sementara Al-Saadoon & Al-Rubaei (2018) menyatakan bahwa teknik PCR mampu mendeteksi 70%, sedangkan metode konvensional hanya sekitar 50% pada sampel tinja sapi yang dikoleksi di Iraq.

Teknik PCR dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan pemeriksaan secara morfologis. Penanda molekuler dapat dirancang secara khusus sehingga mampu mendeteksi parasit hingga ke aras spesies. Sebanyak delapan spesies *Eimeria* berhasil dideteksi dengan teknik ini pada pedet yang mengalami diare secara alami. Berdasarkan spesiesnya, infeksi *E. zuerni* (51,4%) dan *E. bovis* (31,4%) dilaporkan sebagai dua spesies *Eimeria* patogen yang mendominasi kejadian diare pada pedet tersebut (Malek & Kurra 2018). Hasil yang serupa juga disimpulkan oleh Lee et al. (2018) yang berhasil mendeteksi *E. bovis* dan *E. zuerni* sebagai penyebab utama diare pada sapi di Korea berdasarkan penanda molekuler ITS-1.

Umumnya, kasus koksidiosis pada ternak yang terinfeksi secara alami disebabkan oleh lebih dari satu spesies *Eimeria*. Keadaan ini memicu pengembangan teknik *duplex* atau *multiplex* PCR untuk memotong alur identifikasi menggunakan PCR konvensional sehingga teknik deteksi *Eimeria* spp. menjadi lebih cepat dan murah (You 2014). Malek & Kurra (2018) menyimpulkan bahwa 48,6% kasus diare koksidiosis pada pedet disebabkan oleh infeksi tunggal, namun sekitar 51,4% merupakan infeksi campuran.

Dari segi ekonomis dan waktu yang dibutuhkan, pemeriksaan koksidiosis berdasarkan teknik *duplex* atau *multiplex* PCR akan menjadi lebih murah dan cepat dibandingkan dengan PCR tunggal (Ekawasti et al. 2019). Penggunaan beberapa reagen kimia yang dibutuhkan juga relatif lebih hemat dibandingkan dengan teknik PCR konvensional untuk pemeriksaan sampel ke arah spesies dalam waktu yang bersamaan. Kelemahan metode PCR adalah biaya yang dibutuhkan relatif mahal, memerlukan mesin Thermocycler (mesin PCR) dan membutuhkan operator yang terlatih.

Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Pengembangan teknik LAMP ditujukan untuk memberi kemudahan bagi laboratorium yang tidak memiliki mesin PCR. Metode ini dikembangkan berdasarkan kebutuhan teknologi deteksi yang mampu mengamplifikasi basa nukleotida lebih cepat, sensitif dan spesifik untuk mendiagnosis suatu penyakit infeksius. Disamping itu, metode LAMP dilaporkan lebih murah dibandingkan dengan PCR (Barkway et al. 2011). Prinsip metode LAMP didasarkan pada suhu isothermal yang dapat dilakukan dengan *water bath* sehingga tidak mesin *thermocycler* yang harganya mahal. Keunggulan metode LAMP adalah tidak memerlukan tahap isolasi dan purifikasi DNA seperti pada PCR, sehingga metode ini dapat lebih praktis dan efisien waktu. Metode sangat menjanjikan untuk diaplikasikan sebagai metode diagnosis penyakit infeksius, khususnya di negara-negara berkembang (Pooja et al. 2014; Feranisa 2016).

Ekstraksi DNA dilakukan dengan cara sederhana menggunakan metode merebus. Deteksi dapat dilakukan dengan pengamatan mata telanjang menggunakan pewarna interkalasi (*cyber green*). Secara keseluruhan, metode ini dapat dikatakan sebagai molekuler konvensional yang efektif dan hemat biaya sebagai alternatif pengganti PCR untuk diagnosis infeksi *Eimeria* pada ternak (Barkway et al. 2011). Namun, teknik LAMP juga memiliki keterbatasan, yaitu kurang sensitif dibandingkan dengan PCR untuk sampel yang kompleks, karena perbedaan enzim polimerase yang digunakan, yaitu enzim Bst DNA polymerase untuk LAMP dan enzim Taq polymerase untuk PCR. Disamping itu, metode LAMP menggunakan 4 sampai 6 pasang primer untuk mendeteksi 6 atau 8 target sekuen gen yang menyebabkan penyusunan primer menjadi cukup rumit (Torres et al. 2011; Nurwidayati 2015).

Potensi pengembangan teknik Biosensor

Perkembangan teknologi yang berbasis digital di era revolusi industri 4.0 sangat pesat, termasuk piranti diagnosis penyakit berbasis biosensor untuk mendeteksi organisme-organisme yang patogen (Yoo & Lee 2016). Metode biosensor telah dikembangkan sekitar 32 tahun yang lalu dan banyak diaplikasikan di berbagai negara karena metodenya sederhana, dapat dibuat dalam piranti yang mudah dibawa, umumnya bentuknya mini, sedikit menggunakan bahan dan hasil yang diperoleh dengan metode ini sangat cepat (*real time analysis*) serta dapat dihubungkan dengan perangkat android (Fournier-Wirth et al. 2010; Bahadir & Sezginurk 2015).

Secara prinsip, biosensor akan mengenali biomarka (penanda biologis) yang spesifik melalui elemen yang tidak bergerak (*immobilized sensing element*) (Vashist et al. 2014). Elemen ini disebut dengan bioreseptor (pengenal dari bahan biologis) yang dapat berupa antibodi monoklonal, RNA, DNA, glikan, lektin, enzim, jaringan atau sel utuh. Bioreseptor yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi merupakan titik krusial yang penting dalam mengenali biomarka. Komponen bioreseptor juga harus mampu mencegah adanya hambatan (*inhibitor*) dan interfensi yang berasal dari organisme bukan target yang mungkin terkandung pada sampel yang diuji. Interaksi kimia antara bioreseptor dan biomarka akan dikirim dalam bentuk signal elektronik pada piranti elektronik khusus sehingga hasil analisis dapat diketahui pada waktu itu juga (*real time*) (Zhu et al. 2014).

Menurut Vidic et al. (2017) bahwa deteksi *Eimeria* spesies berpotensi untuk dikembangkan ke arah biosensor karena penelitian-penelitian molekuler telah banyak dikembangkan. Hasil-hasil teknologi molekuler dengan marka DNA tertentu, atau hasil teknologi ELISA, SDS PAGE maupun LAMP dapat diadopsi untuk selanjutnya dikembangkan menjadi piranti biosensor. Marka-marka biologis spesifik yang telah diidentifikasi berpotensi dijadikan sebagai kandidat bioreseptor yang efektif untuk mengenali biomarka dari spesies *Eimeria* dari kasus-kasus diare pada industri peternakan sapi. Pemikiran ini dapat juga diterapkan untuk mengembangkan teknik-teknik diagnosis penyakit ternak lainnya ke arah biosensor, seperti penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteri, jamur maupun virus.

Berdasarkan uraian diatas diketahui bahwa masing-masing teknik diagnosis memiliki keunggulan dan kelemahan sehingga penggunaannya harus disesuaikan dengan target dan tujuan pemeriksaan. Apabila ditujukan untuk skrining koksidiosis pada industri peternakan maka metode konvensional baik secara kualitatif maupun kuantitatif dapat diaplikasikan. Namun penegakan diagnosis didasarkan pada identifikasi spesies *Eimeria* yang patogen, metode molekuler harus dilakukan sehingga strategi pengendalian penyakit ini dapat ditentukan yang berimplikasi positif terhadap peningkatan produktivitas ternak.

KESIMPULAN

Kejadian koksidiosis pada peternakan sapi yang di beberapa daerah di Indonesia sebagian besar hanya berdasarkan karakteristik morfologi, yaitu bentuk dan ukuran. Penegakan diagnosis dengan teknik tersebut tidak mampu membedakan spesies *Eimeria* yang patogen dan non patogen karena parasit ini memiliki bentuk dan ukuran yang mirip. Kondisi ini dapat

diantisipasi dengan mengimplementasikan metode molekuler yang mampu mendeteksi hingga ke aras spesies. Oleh karena itu, kombinasi antara metode konvensional dan molekuler menjadi teknik diagnosis koksidiosis yang ideal pada industri peternakan. Metode biosensor perlu juga dikembangkan sebagai teknik diagnosis alternatif yang cepat dan akurat dalam mendeteksi koksidiosis sehingga strategi pengendalian penyakit ini dapat segera ditentukan untuk meningkatkan produksi ternak.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed WM, Hassan SE. 2007. Applied studies on coccidiosis in growing buffalo-calves with special reference to oxidant/antioxidant status. *W J Zool.* 2:40-48.
- Al-Saadoon ZM, Al-Rubaie HMA. 2018. Traditional and molecular study for prevalence of coccidiosis in sheep in wasit-iraq. *Indian J Nat Sci.* 8:14394-14401.
- Alemayehu A, Belina T, Nuru M. 2013. Prevalance of bovine coccidia in kombolcha district of south wollo, Ethiopia. *J Vet Med.* 5:41-45.
- Ananta SM, Suharno, Hidayat, Matsubayashi M. 2014. Survey on gastrointestinal parasites and detection of cryptosporidium spp. on cattle in West Java, Indonesia. *Asian Pac J Trop Med.* 7:197-201.
- Ardianto A. 2013. Prevalensi koksidiosis pada pedet di kabupaten wonogiri [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Astiti LGS, Panjaitan T, Prisdimminggo. 2011. Identifikasi Parasit Internal pada Sapi Bali di Wilayah Dampungan Sarjana Membangun Desa di Lokasi Bima. Dalam: Prasetyo LH, Damayanti R, Iskandar S, Herawati T, Priyanto D, Puastuti W, Anggraeni A, Tarigan S, Wardhana AH, Darmayanti NLPI, penyunting. *Teknologi Peternakan dan Veteriner untuk Peningkatan Produksi dan Antisipatif terhadap Perubahan Iklim. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.* Bogor, 7-8 Juni 2011. Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. hlm. 384-387.
- Bahadir EB, Sezginturk MK. 2015. Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and bioterror/ biowarfare analyses. *Anal Biochem.* 478:107-120.
- Bangoura B, Mundt HC, Schmäsche R, Westphal B, Dauschies A. 2012. Prevalence of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in German cattle herds and factors influencing oocyst excretion. *J Parasitol Res.* 110:875-881.
- Bruhn FRP, Lopes MA, Demeu FA, Perazza CA, Pedrosa MF, Guimarães AM. 2011. Frequency of species of *Eimeria* in females of the Holstein-Friesian breed at the post-weaning stage during autumn and winter. *Rev Bras Parasitol Vet.* 20:303-307.

- Budiharta S. 2013. Prevalensi koksidiosis pada pedet di lokasi Klaten Jawa Tengah. Yogyakarta (Indonesia): Universitas Gadjah Mada.
- [B-Vet] Balai Veteriner Subang. 2013. Laporan tahunan penyidikan dan pengujian penyakit parasiter tahun 2013. Subang (Indonesia): Balai Veteriner Subang.
- Dauguschies A, Najdrowski M. 2005. Eimeriosis in cattle: Current understanding. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 52:417-427.
- Davoudi Y, Garedaghi Y, Nourmohammadzadeh F, Eftekhari Z, Safarmashaei S. 2011. Study on prevalence rate of coccidiosis in diarrheic calves in East - Azerbaijan province. *Adv Environ Biol*. 5:1563-1565.
- Dawid F, Amede Y, Bekele M. 2012. Calf coccidiosis in selected dairy farms of Dire Dawa, Eastern Ethiopia. *Global Veterinaria*. 9:460-464.
- Dewi DA, Wardhana AH, Sawitri DH, Ekawasti F, Akbari RA. 2016. Parasitic Diseases in Dairy Cattle in Cibungbulang District of West Java. In: Yulistiani D, Wardhana AH, Inounu I, Bahri S, Iskandar S, Wina E, Ginting SP, Tarigan S, Tiesnamurti B, Romjali E, Herawati T, Anggraeny YN, Shanmugavelu S, Aquino DL, editors. *Promoting Livestock and Veterinary Technology for Sustainable Rural Livestock Development. Proceeding of International Seminar on Livestock Production and Veterinary Technology*. Bali, August 10th-12th 2016. Bali (Indonesia): ICARD. p. 170-177.
- Doviansyah Z. 2015. Prevalensi koksidiosis dan identifikasi ookista *Eimeria* spp. pada sapi perah di kawasan usaha peternakan (Kunak) Kabupaten Bogor [Skripsi]. [Bogor (Indonesia)]: Institut Pertanian Bogor.
- Eassa A, El Ayis A, Abubaker, Muna A, Khaier M. 2019. Isolation and characterization of *Eimeria* species in poultry using conventional methods and coccimorph program in Khartoum state, Sudan. *World J Pharm Sci*. 8:54-67.
- Ekawasti F, Nurcahyo W, Wardhana AH, Shibahara T, Tokoro M, Sasai K, Matsubayashi M. 2019. Molecular characterization of highly pathogenic *Eimeria* species among beef cattle on Java Island, Indonesia. *J Par Inter*. 72:101927.
- Feranisa A. 2016. Komparasi antara Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) dalam diagnosis molekuler. *Dental*. 3:145-151.
- Fitriastuti ER, Atikah N, Ria NM. 2011. Studi penyakit koksidiosis pada sapi betina di 9 Provinsi di Indonesia Tahun 2011. Bogor (Indonesia): Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obar Hewan.
- Florião MM, Lopes Bdo B, Berto BP, Lopes CW. 2016. New approaches for morphological diagnosis of bovine *Eimeria* species: a study on a subtropical organic dairy farm in Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 48:577-584.
- Fournier-Wirth C, Jaffrezic-Renault N, Coste J. 2010. Detection of blood-transmissible agents: can screening be miniaturized. *Transfusion* 50:2032-2045.
- Fraser CM. 2006. *The Merck Veterinary Manual, a hand book of diagnosis therapy and disease prevention and control for veterinarians*. 7th ed. California (USA): National Institute of Technology.
- Gussem MDE. 2007. Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health. *Proceeding of 16th European Symposium on Poultry Nutrition*. Strasbourg, France, 26-30 August 2007. Beekbergen (The Netherlands): WPSA. p. 253-261.
- Hamid PH, Yuli PK, Joko P, Liliana MRDS. 2016. Gastrointestinal parasites of cattle in Central Java. *Am J Anim Vet Sci*. 11:119-124.
- Heidari H, Gharekhani J. 2014. Detection of *Eimeria* species in Iranian native cattle. *Int J Adv Res*. 2:731-734.
- Indraswari AAS, Suwiti NK, Apsari IAP. 2017. Protozoa gastrointestinal: *Eimeria auburnensis* dan *Eimeria bovis* menginfeksi sapi Bali betina di Nusa Penida. *Buletin Veteriner Udayana*. 9:112-116.
- [IPB] Institut Pertanian Bogor. 2012. Kajian penyakit parasiter dan kematian pedet [Laporan Survei]. Bogor (Indonesia): Bagian Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Iskandar T. 2007. Parasit penyebab diare pada sapi perah Friesian Holstein (FH) di lokasi Bandung dan Sukabumi Jawa Barat. *Prosiding Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas 2020*. Bogor (Indonesia): Balai Besar Penelitian Veteriner. hlm. 384-388.
- Istiyani ZD. 2013. Prevalensi koksidiosis pada pedet di Kabupaten Karanganyar [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Jonsson NN, Piper EK, Gray CP, Deniz A, Constantinoiu CC. 2011. Efficacy of toltrazuril 5% suspension against *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in calves and observations on the associated immunopathology. *Parasitol Res*. 109:S113-S128.
- Kaewthamasorn M, Wongsamee S. 2006. A preliminary survey of gastrointestinal and haemoparasites of beef cattle in the tropical livestock farming system in Nan Province, northern Thailand. *Parasitol Res*. 99:306-308.
- Kawahara F, Zhang G, Mingala CN, Tamura Y, Koiwa M, Onuma M, Nunoya T. 2010. Genetic analysis and development of species-specific PCR assays based on ITS-1 region of rRNA in bovine *Eimeria* parasites. *Vet Parasitol*. 174:49-57.
- Keeton ST, Navarre CB. 2018. Coccidiosis in large and small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 34:201-208.

- [Kementan RI] Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Livestock and animal health statistic. Jakarta (Indonesia): Kementerian Pertanian.
- Koutny H, Joachim A, Tichy A, Baumgartner W. 2012. Bovine *Eimeria* species in Austria. *Parasitol Res.* 110:1893-1901.
- Lassen B, Jarvis T. 2009. *Eimeria* and cryptosporidium in Lithuanian cattle farms. *Vet Med Zoot.* 48:24-28.
- Lassen B, Lepik T, Jarvis T. 2014. Seasonal recovery of *Eimeria* oocysts from soil on naturally contaminated pastures. *Parasitol Res.* 113:993-999.
- Lee SH, Kim HY, Lee H, Ki, JW, Lee YR, Chae MJ, Oh SI, Kim JH, Rhee MH, Kwon OD, Goo YK, Kim TH, Geraldino PJJ, Kwak D. 2018. *Eimeria* species in cattle with diarrhoea in the Republic of Korea regarding age, season and nature of diarrhoea. *Vet Rec.* 183:504.
- Maas J. 2007. Coccidiosis in cattle, UCD Vet Views California Cattlemen's Magazine. California (USA): School of Veterinary Medicine University of California.
- Makau DN. 2014. A study of factors associated with the prevalence of coccidia infection in cattle and its spatial epidemiology in Busia, Bungoma and Siaya Counties, Kenya [Tesis]. [Nairobi (Kenya)]: University of Nairobi.
- Malek SS, Kuraa HM. 2018. Detection and identification of *Eimeria* species in naturally infected calves at Assiut Governorate. *Zagazig Vet J.* 46:60-69.
- Manya P, Sinha SRP, Sucheta S, Verma SB, Sharma SK, Mandal KG. 2008. Prevalence of bovine coccidiosis at Patna. *J Vet Parasitol.* 22:73-76.
- Marquez JC. 2014. Calf intestinal health: assessment and dietary interventions [Disertation]. [Illinois (USA)]: University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Matsubayashi M, Kita T, Narushima T, Kimata I, Tani H, Sasai K, Baba E. 2009. Coprological survey of parasitic in pigs and cattle in slaughterhouse in Osaka, Japan. *J Vet Med Sci.* 71:1079-1083.
- Mirani AH, Shah MGU, Mirbahar KB, Khan MS, Lochi GM, Khan IU, Alam F, Hasan SM, Tariq M. 2012. Prevalence of coccidiosis and other gastrointestinal nematode species in buffalo calves at Hyderabad, Sindh, Pakistan. *Afr J Microbiol Res.* 6:6291-6294.
- Mundt HC, Bangoura B, Rinke M, Rosenbruch M, Daugschies A. 2005: Pathology and treatment of *Eimeria zuernii* coccidiosis in calves: investigations in an infection model. *Parasitol Int.* 54:223-230.
- Nanditya WK. 2014. Prevalensi koksidiosis pada sapi dan prevalensi kematian pedet di Sragen, Jawa Tengah, Indonesia: Studi kasus [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Nugroho WS. 2013. Prevalensi koksidiosis pada pedet di lokasi Wonogiri. [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Nurwidayati A. 2015. Aplikasi teknik diagnosis schistosomiasis berbasis molekuler. *J Vektor Penyakit.* 9:29-35.
- Oluwadare AT. 2004. Studies on bovine coccidia [Apicomplexa: Eimeriidae] in parts of Plateau state, Nigeria [Thesis]. [Jos (Nigeria)]: University of Jos.
- Pedersen S. 2013. Coccidiosis in cattle and sheep control and management methods. *Sptlight Pars Diss.* 1:18-19.
- Pooja S, Sudesh D, Poonam K, Joginder SD, Suresh KG. 2014. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based detection of bacteria: A Review. *Afr J Biotechnol.* 13:1920-1928.
- Raharjo S. 2013. Tingkat kejadian koksidiosis pada pedet sapi perah di Kelompok Ternak Sebrang Wetan Wukirsari Cangkringan Sleman [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Rehman TU, Khan MN, Sajid MS, Abbas RZ, Arshad M, Iqbal Z, Iqbal A. 2011. Epidemiology of *Eimeria* and associated risk factor in cattle of district Toba Tek Singh, Pakistan. *Parasitol Res.* 108:1171-1177.
- Sánchez RO, Romero JR, Founroge RD. 2008. Dynamics of *Eimeria* oocyst excretion in dairy calves in the Province of Buenos Aires (Argentina), during their first 2 months of age. *Vet Parasitol.* 151:133-138.
- Suardana IW, Budiharta S. 2007. Buku ajar epidemiologi dan ekonomi veteriner. Bali (Indonesia): Universitas Udayana.
- Sufi IM, Cahyaningsih U, Sudarnika E. 2016. Prevalensi dan faktor risiko koksidiosis pada sapi perah di Kabupaten Bandung. *J Kedokteran Hewan.* 10:195-199.
- Sumiarto B. 2013. Prevalensi dan faktor risiko koksidiosis (*Eimeria* spp.) pada pedet di lokasi Boyolali [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Taryu. 2015. Koksidiosis pada sapi potong di sekolah peternakan rakyat (SPR) Kecamatan Kasiman Kabupaten Bojonegoro [Tesis]. [Bogor (Indonesia)]: Institut Pertanian Bogor.
- Toaleb MI, Faragaila M, El-Moghazy, Soad EH. 2011. Diagnosis of Eimeriosis in cattle by ELISA using partially purified antigen. *World Appl Sci J.* 12:33-38.
- Torres C, Vitalis EA, Baker BR, Gardner SN. 2011. LAVA: an open-source approach to designing LAMP (loop-mediated isothermal amplification) DNA signatures. 2011. *BMC Bioinformatics.* 12:240.
- Vashist SK, Lam E, Hrapovic S, Male KB, Luong JH. 2014. Immobilization of antibodies and enzymes on 3-aminopropyltriethoxysilane-functionalized bioanalytical platforms for biosensors and diagnostics. *Chem Rev.* 114:11083-11130.
- Vidic J, Manzano M, Ming Chang C, Renault NJ. 2017. Advanced biosensors for detection of pathogens related to livestock and poultry. *Vet Res.* 48:1-22.

- Wicaksana TR. 2013. Prevalensi dan faktor risiko koksidiosis (*Eimeria* sp.) pada pedet di Kabupaten Boyolali [Skripsi]. [Yogyakarta (Indonesia)]: Universitas Gadjah Mada.
- Yoo SM, Lee SY. 2016. Optical biosensors for the detection of pathogenic microorganisms. *Trends Biotechnol.* 34:7-25.
- You MJ. 2014. Detection of four important *Eimeria* species by multiplex PCR in a single assay. *Parasitol Internat.* 63:527-533.
- Zajac AM, Conboy GA. 2012. *Veterinary clinical parasitology*. 8th ed. Oxford (UK): Wiley-Blackwell Publishing.
- Zhu C, Yang G, Li H, Du D, Lin Y. 2014. Electrochemical sensors and biosensors based on nanomaterials and nanostructures. *Anal Chem.* 87:230-249.