

PEMBERIAN EKSTRAK HERBAL I TERHADAP PROFIL ERITROGRAM KELINCI KOKSIDIOSIS

Diana Indrasanti*, Mohandas Indradji, Endro Yuwono, Muhamad Samsi, Sufiriyanto, Fadhil Arrizal
Zaen, Ibrohim Rizal Adduhri Sukirno Aziz dan Eva Rahayu

Laboratorium Kesehatan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

*Korespondensi email: diana.indrasanti@unsoed.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak herbal I terhadap profil eritrogram pada kelinci koksidosis. Profil eritrogram yang diamati yaitu sel darah merah, hemoglobin, hematokrit dan *MCV* (*Mean Corpuscular Volume*), *MCH* (*Mean Corpuscular Hemoglobin*) dan *MCHC* (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*). Materi penelitian ini adalah kombinasi ekstrak herbal I yang terdiri atas batang pisang 33 mg, biji pepaya 2mg dan bawang putih 65 mg, kelinci yang terinfeksi koksidosis umur ± 3 bulan bobot ± 650 g sebanyak 30 ekor, seperangkat alat dan bahan untuk pemeliharaan kelinci dan pemeriksaan hematologi. Penelitian dilakukan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelinci dibagi 6 kelompok perlakuan dengan 5 kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah pemberian kombinasi ekstrak herbal I per ekor sebanyak 0 mg (D0), 10 mg (D1), 20 mg (D2), 40 mg (D3), 80 (D4) mg dan 100 mg (D5). Pengambilan darah melalui jantung pada hari ke 21 sesudah perlakuan. Analisis yang digunakan adalah analisis variansi dilanjutkan Beda Nyata Jujur (BNJ). Pemberian kombinasi ekstrak herbal I memberikan pengaruh yang nyata terhadap eritrosit, hemoglobin dan hematokrit darah kelinci koksidosis. Namun tidak berpengaruh nyata terhadap *MCV*, *MCH* dan *MCHC* darah kelinci koksidosis. Pemberian kombinasi ekstrak herbal I sebanyak 40 mg kemungkinan merupakan perlakuan yang paling optimal terhadap profil darah kelinci.

Kata kunci: Koksidosis kelinci, eritrogram, ekstrak herbal

Abstract. This study aims to determine the effect of giving a combination of herbal extract I on the erythrogram profile in coccidiosis rabbits. The erythrogram profiles observed were red blood cells, hemoglobin, hematocrit and *MCV* (*Mean Corpuscular Volume*), *MCH* (*Mean Corpuscular Hemoglobin*) and *MCHC* (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*). The material of this research used a combination of herbal extract I consisting of 33 mg banana stem, 2 mg papaya seed and 65 mg garlic, 30 rabbits infected with coccidiosis, ± 3 months of age, ± 650 g, a set of tools and materials for rabbit maintenance and hematology analyzer. The research was conducted experimentally using a completely randomized design (CRD). Rabbits were divided into 6 treatment groups with 5 replications. The treatment was giving a combination of herbal extract I per head as much as 0 mg (D0), 10 mg (D1), 20 mg (D2), 40 mg (D3), 80 (D4) mg and 100 mg (D5). Blood sampling through the heart on the 21st day after treatment. The analysis was used variance analysis followed by Honest Significant Difference (HSD). The combination of herbal extract I gave a significant effect on erythrocyte, hemoglobin and blood hematocrit of coccidiosis rabbits. However, it had no significant effect on *MCV*, *MCH* and *MCHC* of coccidiosis rabbit blood. giving a combination of herbal extract I as much as 40 mg is probably the most optimal treatment for rabbit blood profile.

Keyword: Rabbit coccidiosis, erythrogram, herbal extract

PENDAHULUAN

Kelinci merupakan hewan mamalia kecil dengan spesies *Lepus spp* dan *Oryctolagus spp* (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, 2007). Koksidosis merupakan penyakit penting pada kelinci yang disebabkan oleh *Eimeria spp*. Gejala klinis pada kelinci koksidosis adalah kelinci menunjukkan gejala berupa diare hebat dan feses atau kotoran mengandung darah yang mengakibatkan dehidrasi, anemia, penurunan berat badan, perkembangan yang buruk, penurunan perkembangbiakan serta mortalitas

yang tinggi pada kelinci dan dapat mengakibatkan mortalitas yang tinggi pada kelinci dan biasanya bersifat subklinis (Yakhchali and Tehrani, 2007; Mailafia *et al.*, 2010, Kockaya and Ozsenoy, 2016; Indrasanti *et al.*, 2020). Pengobatan koksidiosis pada umumnya dilakukan dengan koxidiostat misalnya ionophores, amprolium, sulphonamides, ethopabate, clopidol and quinolones (Kant *et al.* 2013). Namun, penggunaan antikoksidia secara rutin akan menimbulkan resistensi parasit dan adanya residu obat dalam daging yang dapat berdampak negatif bagi kesehatan konsumen (Pakandl, 2009). Beberapa pengendalian koksidiosis telah mulai kami kembangkan menggunakan tanaman herbal yaitu tanaman pisang (Indrasanti *et al.*, 2015) dan bawang putih (Abed and Yakoob, 2013; Indrasanti *et al.*, 2017) serta biji pepaya (Chusniati, 2008; Rismunandar 2000). Kandungan zat aktif dalam tanaman-tanaman herbal tersebut diharapkan dapat menekan jumlah ookista *Eimeria spp.* sekaligus memperbaiki profil hematologi kelinci koksidiosis. Pemberian kombinasi ekstrak batang pisang, biji pepaya dan bawang putih (yang selanjutnya kami sebut kombinasi ekstrak herbal I) diharapkan dapat digunakan sebagai kandidat pengendali koksidiosis pada kelinci.

Koksidiosis menyebabkan perubahan pada organ baik secara makroskopis dan mikroskopis serta menyebabkan perubahan pada parameter darah. Parameter darah berperan penting untuk menentukan perkembangan infeksi (Hana *et al.*, 2015) dan membantu peneguhan diagnosa. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian yang telah dipublikasi sebelumnya (Indrasanti *et al.*, 2015; Indrasanti dkk., 2016; Indrasanti *et al.*, 2017; Indrasanti dkk, 2018). Namun, hasil penelitian yang telah didapatkan belum menunjukkan hasil maksimal. Berdasarkan hal tersebut diatas, pada penelitian ini dilakukan pemberian kombinasi ekstrak herbal I pada kelinci koksidiosis untuk mengetahui profil eritrogram yaitu sel darah merah (SDM), hemoglobin, hematokrit, *MCV*, *MCH* dan *MCHC*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi batu pijakan penelitian selanjutnya tentang pengendalian koksidiosis pada kelinci dengan memanfaatkan tanaman herbal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ternak, Experimental Farm dan Lab Keswan Tipe B Purwokerto. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan (D0 sampai dengan D5) dan 5 kali ulangan. Materi yang dibutuhkan dalam penelitian adalah ekstrak herbal yang terdiri atas ekstrak batang pohon pisang, bawang putih dan biji pepaya. Selanjutnya kelinci muda peranakan re jantan dengan umur 2-3 bulan dengan bobot kisaran $650 \text{ gram} \pm 50 \text{ gram}$. Kelinci percobaan adalah kelinci yang terinfeksi koksidiosis isolat lapang. Pakan berupa pellet kelinci dan hijauan. Sedangkan minum diberikan secara *ad libitum*.

Metode penelitian meliputi: pembuatan ekstrak herbal I dilakukan menggunakan metode maserasi berdasarkan penelitian sebelumnya Indrasanti, *et al.* (2015; 2017). Pemeriksaan feses dengan metode apung sesuai prosedur dari Laboratorium Kesehatan Hewan Tipe B Purwokerto. Ekstrak herbal yang diberikan adalah kombinasi ekstrak batang pisang 33 mg, ekstrak bawang putih 65 mg, biji papaya 2 mg yang selanjutnya diberi nama ekstrak herbal I. Ekstrak herbal I atau EH I dicampur dan pembagian

perlakuan dari campuran tersebut yaitu 0 mg (D0), 10 mg (D1), 20 mg (D2), 40 mg (D3), 80 mg (D4), 100 mg (D5). Kombinasi EH I diberikan dalam bentuk cair dengan pelarut ekstrak yang digunakan adalah akuades. Perlakuan diberikan selama 7 hari berturut-turut pada kelinci yang terinfeksi koksidiosis isolat lapang secara peroral. Sampel yang diambil adalah sampel darah kelinci yang diambil melalui jantung pada hari ke 21 setelah perlakuan. Darah ditampung pada tabung reaksi yang telah diberi antikoagulan berupa Natrium Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid, dimana 3 ml darah diberi Na-EDTA 10 % sebanyak 45 μ l (Indrasanti et al, 2018).

Parameter yang diukur adalah profil eritrogram yang diamati yaitu sel darah merah, hemoglobin, hematokrit dan MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin) dan MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) menggunakan Sysmex XP-100 automated hematology analyzer (Ike et al., 2010; Karem et al, 2016; Indrasanti et al., 2017). Data dianalisis menggunakan analisis variansi yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) (Steel and Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap eritrogram meliputi jumlah sel darah merah atau *red blood cell* (RBC), kadar hemoglobin (HGB), nilai hematocrit (HCT), perhitungan mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) dan mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). Data rataan eritrogram darah kelinci koksidiosis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Eritrogram darah kelinci koksidiosis setelah diberi ekstrak herbal I

Peubah	Perlakuan					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
SDM ($\times 10^6/\mu$ l)	5,13±0,40a	5,23±0,45a	5,07±0,79ab	5,021±0,87ab	3,51±1,38b	5,36±0,66a
HGB (g/dl)	10,66±1,36a	11,24±0,62a	10,78±1,42ab	10,52±1,20ab	8,2±1,92b	11,32±0,94a
HCT (%)	38,70±2,03	33,52±2,04	34,34±4,49	34,74±4,56	26,56±6,06	37,08±3,39
MCV (fl)	67,40±4,04	69,78±6,18	68,20±6,14	67,62±3,79	75,38±7,46	69,64±5,30
MCH (pg)	20,92±0,83	21,92±1,18	21,38±1,68	20,80±1,20	22,60±2,31	21,44±1,50
MCHC (%)	31,28±1,37	31,48±1,51	31,40±1,06	30,78±1,31	30,20±2,35	30,82±1,59

Keterangan: Kombinasi ekstrak herbal I: 0 mg (D0), 10 mg (D1), 20 mg (D2), 40 mg (D3), 80 mg (D4), 100 mg (D5). Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada BNJ 5%

Sel darah merah dan hemoglobin normal pada kelinci jantan berturut-turut adalah 5,3±0,4 $\times 10^6/\mu$ l; 11,2±0,7 g/dL (Weiss and Douglass, 2010). Tabel 1 menunjukkan bahwa sel darah merah dan hemoglobin seluruh perlakuan kecuali D4 masih dalam kisaran normal, dimana perlakuan D4 berada dibawah normal. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata terhadap sel darah merah dan hemoglobin ($P<0,05$). Uji lanjut BNJ 5% menunjukkan perlakuan D0 berbeda nyata terhadap D4, dimana hal tersebut menunjukkan perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan pemberian ekstrak herbal I sebesar 80 mg. Pemberian EH I menurunkan jumlah sel darah merah secara signifikan. Namun saat pemberian 100 mg EH I, jumlah sel darah merah kembali normal. Pembentukan sel darah merah yang terganggu akan mengakibatkan menurunnya jumlah hemoglobin. Hemoglobin merupakan zat protein dalam sel darah merah yang terdiri dari zat besi sebagai pembawa oksigen (Kee, 2007).

Hematokrit merupakan presentase volume eritrosit dalam darah dimana semakin tinggi hematokrit akan meningkatkan viskositas darah. Hematokrit normal pada kelinci jantan adalah $34\pm2\%$ (Weiss and Douglass, 2010). Perlakuan D0 dan D5 menunjukkan kadar hematokrit yang lebih tinggi dari normal, D4 kurang dari normal, sedangkan D1, D2, D3 masih dalam kisaran normal. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap hematokrit. Uji lanjut BNJ 5% menunjukkan perlakuan D0 berbeda nyata terhadap D4. *Mean Corpuscular Volume (MCV)*, *Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)* dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)* merupakan metode perhitungan parameter darah yang dapat digunakan dalam mengevaluasi suatu status anemia pada ternak (Mohandas dkk., 2015). Standar normal *MCV*, *MCH* dan *MCHC* berturut-turut adalah 65 ± 3 fL; 21 ± 1 pg; $33\pm1\%$ (Weiss and Douglass, 2010). Berdasarkan Tabel 1, perlakuan D1, D2, D4 dan D5 memiliki nilai *MCV* lebih tinggi dari normal. Sedangkan D0 dan D3 masih dalam kisaran normal. Nilai *MCH* pada seluruh perlakuan masih pada kisaran normal kecuali D4 berada diatas normal. Nilai *MCHC* pada seluruh perlakuan berada dibawah normal. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap *MCH*, *MCV* dan *MCHC*.

Pengamatan eritrogram yang meliputi jumlah sel darah merah, hemoglobin, hematokrit, *MCV*, *MCH* dan *MCHC* dapat digunakan untuk mengetahui respon tubuh terhadap anemia (Indrasanti dkk., 2018). Pemberian kombinasi ekstrak herbal I berpengaruh signifikan terhadap perubahan jumlah SDM, hemoglobin dan hematokrit dimana pemberian sebesar 80 mg dapat menurunkan SDM, hemoglobin dan hematokrit sampai dibawah normal dengan anemia makrositik hipokromik. Hal ini terjadi kemungkinan dikarenakan perdarahan yang hebat pada individu, dan kondisi ini relevan dengan kondisi kelinci percobaan karena pada infestasi koksidial pada ternak kelinci seringkali terjadi perdarahan yang hebat pada ususnya (Duncan *et al.*, 1994; Thompson, 2006; Indrasanti dkk., 2018).

Ekstrak herbal yang terdiri dari batang pisang, bawang putih dan biji pepaya memiliki zat aktif yang berpotensi dapat mengendalikan koksidiosis pada kelinci. Ekstrak batang pisang mengandung beberapa zat aktif diantaranya mengandung 16.93% mineral, 75.18% karbohidrat dan serat kasar sebesar 12.65%. Analisis fitokimia menunjukkan bahwa batang pisang mengandung beberapa metabolit sekunder diantaranya saponin, alkaloid, fenol, tannin, flavonoid dan triterpenoid dimana tannin sebesar 0.67%, flavonoid 0.06% dan saponin 0.54% (Indrasanti *et al.*, 2015). Bawang putih mengandung allicin, arginin, sterol, saponin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid sulfur aminoacid alin. Bawang putih dapat berperan sebagai antibakteri dan antiparasit dimana sebagai antiparasit (Abidin and Shukri, 2011; Karina, 2013; Indrasanti *et al.*, 2017). Sedangkan biji pepaya mengandung proteolitik dan alkaloid anthelmentik yang dapat menghambat pertumbuhan cacing dan parasit lain serta menormalkan saluran pencernaan (Rismunandar, 2000). Selain itu Nafi'ah dan Sulistyowati (2014) menambahkan bahwa biji pepaya mengandung glucosida caricin dan karpain, bactericidal aglycone of benzyl isothiocyanate (BITC), glicosida, sinigrin, enzim myroserin dan karpasemin. Penelitian ini menguatkan penelitian kami sebelumnya bahwa pemberian ekstrak batang pisang dapat

menurunkan jumlah oocista secara signifikan karena ekstrak batang pisang dan bawang putih dapat merusak oocista secara *in vitro* (Indrasanti, *et al.*, 2015; 2017).

Pemberian kombinasi ekstrak herbal yang paling optimal pada penelitian sebelumnya adalah pemberian ekstrak herbal I dimana kadar dari parameter hematologi yang mendekati normal dan ekskresi oocista yang menurun. Respon individu terhadap pemberian ekstrak herbal sangat bervariasi, dimana masuknya infeksi, ketahanan tubuh dan manajemen pemeliharaan masing-masing peternak juga bervariasi (Indrasanti *et al*, 2019). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak herbal I (D3) 40 mg, kemungkinan lebih potensial dalam mengendalikan koksidiosis dibandingkan perlakuan pemberian ekstrak herbal yang lain. Pemberian ekstrak herbal I (kombinasi ketiga ekstrak) berpengaruh terhadap profil darah, sehingga memberikan peluang sebagai kandidat pengendali koksidiosis pada kelinci.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ekstrak herbal I memberikan pengaruh yang nyata terhadap eritrosit, hemoglobin dan hematokrit darah kelinci koksidiosis. Namun tidak berpengaruh nyata terhadap *MCV*, *MCH* dan *MCHC* darah kelinci koksidiosis. Perlakuan D3 atau pemberian ekstrak herbal I sebanyak 40 mg kemungkinan merupakan perlakuan yang paling optimal terhadap profil darah kelinci.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapan terima kasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi dan Universitas Jenderal Soedirman yang telah memberikan dana penelitian skim Riset Institusional BLU Unsoed. Ucapan terima kasih juga penulis tujuhan untuk seluruh pihak yang telah membantu penelitian sehingga berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed H. H. and A. Y. Yakoob. 2013. Study the protective and therapeutic effects of crude garlic on mortality, oocyst output and hepatic lesions in experimental infection with *Eimeria stiedae* in domestic rabbits. Bas.j.vet.Res. Vol.12 (2): 314-331.
- Abidin, Z. and M. Shukri. 2011. Allicin-induced cellular destructionof haemoflagellate protozoa Trypanosoma evansi in mice. Jurnal Sains Malaysiana. Vol 40 (6): 595-599.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. 2007. Budidaya ternak kelinci di perkotaan. Prima Tani. Yogyakarta.
- Chusniati, S. dan R. Ikeda. 2008. Pengaruh pemberian biji pepaya terhadap gambaran histopatologi hepar ayam yang diinfeksi telur cacing *Ascaridia galli*. Journal of Poultry Disease. Vol. 1(1): 35.
- Cardelle-Cobas A., A. Soria., M. Corzo-Martinez, and M. Villamiel. 2010. A comprehensive survey af garlic functionally. Garlic Compsumption and Health. Nova Science Publishers, Inc. Pp:1-60.
- Duncan, J.R., K.W. Prasse dan E.A. Mahafey. 1994. Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology. 3rd ed. Iowa State Universiti, Ames.
- Hana, A., S.I.O. Salasia, S.Mangkoewidjojo and D.L. Kusindarto. 2015. Blood profile of rabbits infected with *Eimeria magna*. Animal Production. 13(3):185-190.

- Indrasanti, D., M. Indradji, S., Hastuti., H. Wihadmadyatami, and Ismoyowati. 2015. The efficacies of banana stem extract as a candidate of coccidiostat against rabbit *Eimeria stiedai* oocysts: an in vitro analysis. *Journal of Animal Production.* 17 (3): 161-168.
- Indrasanti, D., M. Indradji, S. Hastuti, E. Aprilliyani, Fatikha, dan K. A. Rosyadi. 2017. The administration of garlic extract on eimeria stiedai oocysts and the hematological profile of the coccidia infected rabbits. *Media Peternakan.* Vol: 40(3): 158-164.
- Indrasanti D., M. Indradji, S. Hastuti, Y. Purwaningsih dan E. Yuwono. 2016. Ekstrak batang pisang terhadap koksidiosis pada kelinci. Prosiding Seminar Nasional Teknologi dan Agribisnis Peternakan (Seri IV) Optimalisasi Teknologi dan Agribisnis Peternakan dalam Rangka Pemenuhan Protein Hewani Asal Ternak. Penerbit Universitas Jenderal Soedirman. Hal: 623-629.
- Indrasanti, D., M. Indradji., M. Samsi, E. Yuwono, Y. Purwaningsih, L.T. Umami, B.G. Raditya. 2018. Respon anemia pada kelinci koksidiosis yang diberi ekstrak batang pisang. Prosiding Seminar Nasional Teknologi dan Agribisnis Peternakan Seri VI. Fakultas Peternakan Unsoed. Purwokerto.
- Indrasanti, D., M. Indradji, Sufiriyanto, M. Samsi, E. Yuwono, N. Nurkhasanah, R. A. Pramudya, A. U. Fauziah. 2020. Prevalensi dan Identifikasi *Eimeria* sp. pada Kelinci di Kabupaten Banyumas. Prosiding Seminar Teknologi Agribisnis Peternakan (STAP VII). Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Kant V., P. Singh, P.K. Verma, I. Bais, M.S. Parmar, A. Gopal and V. Gupta. 2013. Anticoccidial drugs used in the poultry: an overview. *Science International.* 261-265.
- Kee, J.L.F. 2007. Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik. Edisi 6. Penerbit EGC. Jakarta.
- Kockaya, M. and Y. Ozsensoy. 2016. Determination of some blood parameters and macro elements in coccidiosis affected akkaraman kangal lambs. *Journal of Asian Scientific Research.* 6(9):138-142
- Mailafia, S., M.M. Onakpa and O.E. Owoleke. 2010. problems and prospects of rabbit production in nigeria – a review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences.* 3(2): 20 – 25.
- Matekaire T., J.F. Mupangwa and E.F. Kanyamura. 2005. The efficacy of banana plant (*Musa paradisiaca*) as a coccidiostat in rabbits. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 3 (4): 326-331.
- Mohandas I., S. Hastuti, D. Indrasanti dan T. Widiyastuti. 2015. Perhitungan MCV dan MCHC untuk menganalisis indikasi anemia pada kelinci yang disuplementasi daun katuk dalam pakan, Prosiding Seminar HITPI 2015, Fakultas Peternakan. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Nafi’ah dan Sulistyowati. 2014. Penggunaan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L) sebagai larvasida nabati terhadap kematian larva nyamuk *Anopheles* dan *Aedes aegypti* Instar III. *Jurnal STIGMA.* Volume 7(1): 24-27.
- Pakandl, M., 2009. Coccidia of Rabbit: A Review. *Folia Parasitologica.* 56(3): 153-166.
- Rismunandar. 2000. Budidaya Pepaya. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Yakhchali, M.,and A. Tehrani. 2007. Eimeriidosis and pathological finding in New Zealand White rabbit. *Journal of Biological Sciences.* 7(8):1488-1491.
- Thompson, R.B. 2006. A Short Textbook of Hematology. 7th ed. 217 p. Garden City Press Ltd. Letchworth, Hertfordshire, UK.
- Steel R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Inc.
- Weiss D.J. and K.J. Wardrop. 2010. Schalm’s Veterinary Hematology. 6th Edition. Wiley and Blackwell Publishing. USA. 852-879.
- Whitlock, H.V., 1948. Some modifications of the Mc Master Helminth Egg- Counting Technique and Apparatus. *J. Counc. Sci. Indust. Res.* 21: 117- 118.