

# EFEKTIVITAS PEMBERIAN VAKSIN KOKSIDIA MELALUI AIR MINUM DAN PAKAN TERHADAP INFEKSI TANTANGAN *Eimeria tenella*

THE EFFECTIVITY OF COCCIDIA VACCINE BY DRINKING WATER AND FEED APPLICATION TO *Eimeria tenella* CHALLENGE INFECTION

Dwi Priyowidodo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Jalan Agro Karangmalang, Yogyakarta 55281.

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan vaksin koksidia yang diberikan melalui air minum dan semprot pakan terhadap infeksi tantangan *E. tenella*. Sebanyak 60 ekor anak ayam pedaging umur satu hari dipakai sebagai hewan percobaan. Ayam dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, tiap kelompok terdiri dari 20 ekor. Pada umur 5 hari, kelompok II divaksin dengan Coccivac-D<sup>®</sup> yang diberikan melalui semprot pakan, kelompok III divaksin dengan Immucox<sup>®</sup> diberikan lewat air minum dan kelompok I (kontrol) tidak divaksin. Duapuluh satu hari sesudah perlakuan, ayam dari kelompok I, II, dan III ditantang dengan 3.000 oosista *E. tenella*. Lima hari sesudah infeksi, 10 ekor ayam dari masing-masing kelompok dikropsi untuk melihat derajat perlukaan sekum. Hari ke-7 sampai ke-11 setelah infeksi, tinja ayam diperiksa dengan metode McMaster untuk menghitung jumlah oosista per gram tinja. Data derajat perlukaan sekum dianalisis dengan metode Rank test, sedangkan data jumlah eliminasi oosista dianalisis dengan metode Split plot (Gill, 1978). Kesimpulan penelitian menunjukkan pemberian vaksin Coccivac-D<sup>®</sup> melalui semprot pakan lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian Immucox<sup>®</sup> melalui air minum..

**Kata kunci :** *Eimeria tenella*, Coccivac-D<sup>®</sup>, Immucox<sup>®</sup>

## ABSTRACT

The purpose of the research was to study of the effectivity of Coccivac-D<sup>®</sup> and Immucox<sup>®</sup> vaccine to *Eimeria tenella* challenge infection. Sixty day old chick (DOC) of the broiler were used as experimental animals, they were divided randomly into 3 groups (group of control/group I, group II and III), each group contained of 20 chickens. On the 5<sup>th</sup> day, the chickens of group II were vaccinated with Coccivac-D<sup>®</sup> by feed spray application, the chickens of group III were vaccinated with Immucox<sup>®</sup> by drinking water and the control group was not treated. On the 21<sup>th</sup> day after treatment (3 weeks) all chicken of the group chicken were infected orally with 3000 oocyst of *Eimeria tenella* as a challenge infection. On the 5<sup>th</sup> day after challenge infection, 50% chickens of each group were killed to get the data of lesion score. The data of the number of oocyst elimination per gram faeces were collected on the 7<sup>th</sup> day until the 11<sup>th</sup> day after challenge infection. The data of lesion score was analyzed statistically with the Rank test methode, whereas the data of the number of oocyst elimination per gram faeces was analyzed according to Split plot design and Modified Scheffe Interval. The result showed that Coccivac-D<sup>®</sup> vaccine could protected to challenge infection with 3000 oocyst of *Eimeria tenella*. Nevertheless either Coccivac-D<sup>®</sup> or Immucox<sup>®</sup> vaccine could decrease significantly ( $P < 0,05$ ) the number of oocyst per gram faeces.

**Keywords :** *Eimeria tenella*, Coccivac-D<sup>®</sup>, Immucox<sup>®</sup>

## PENDAHULUAN

*Eimeria tenella* adalah salah satu penyebab koksidiosis bentuk sekal pada ayam yang menyebabkan diare berdarah, penurunan berat badan, terlambatnya produksi telur dan sering menyebabkan kematian (McDougald dan Reid, 1991; Shirley, 1993). Selain itu, koksidiosis menyebabkan tingginya biaya pengobatan serta menurunnya efisiensi pakan, sehingga merupakan salah satu kendala dalam usaha peningkatan produksi daging dan telur (Soulsby, 1982). Kerugian ekonomis yang ditimbulkan oleh koksidiosis diseluruh dunia diperkirakan mencapai 50 – 100 juta Poundsterling dengan angka kematian dapat mencapai 5-10% belum ditambah biaya pengobatan yang relatif tinggi (Zakir, 1996).

*Eimeria* penyebab koksidiosis pada ayam termasuk dalam Filum Apicomplexa, Kelas Sporozoa, Subkelas Coccidia, Ordo Eucoccidiae, Subordo Eimeriina, Familia Eimeriidae dan Genus *Eimeria* (Soulsby, 1982). Menurut Stucki *et al.*, (1993), ayam dapat terinfeksi oleh sembilan *Eimeria*, kesembilan spesies tersebut adalah : *E. praecox*, *E. brunetti*, *E. mivati*, *E. acervulina*, *E. hagani*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. maxima* dan *E. tenella* yang merupakan salah satu spesies patogen (Soulsby, 1982).

*Eimeria tenella* memiliki tiga fase perkembangbiakan yaitu sporogoni, skizogoni (reproduksi aseksual), dan gametogoni (reproduksi seksual) (Urguhart *et al.*, 1987). Sporogoni terjadi di luar tubuh hospes dan akan dihasilkan oosista yang infeksi (Seneviratna, 1969), sedangkan reproduksi aseksual (skizogoni) terjadi di dalam tubuh ayam, dimulai dari masuknya oosista yang sudah mengalami sporulasi dan pada akhirnya akan terbentuk skizon yang mengandung banyak merozoit (Urguhart *et al.*, 1987). Merozoit yang dihasilkan selanjutnya akan berkembang menjadi mikrogamet dan makrogamet (gametogoni). Pada akhir stadium gametogoni akan dihasilkan oosista yang akan dikeluarkan bersama tinja (Georgi, 1980; Soulsby, 1982). Waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan 2 siklus aseksual dan 1 siklus seksual di dalam tubuh hospes adalah 5 – 6 hari, oosista mulai ditemukan di dalam tinja mulai hari ke-7 sesudah infeksi, kemudian mencapai puncak pada hari ke-8, jumlah oosista akan menurun pada hari ke-9 sesudah infeksi dan akan berangsur-angsur menurun dan pada hari ke-11 oosista tinggal sedikit tetapi kemungkinan masih akan tetap ditemukan dalam tinja sampai beberapa bulan sesudah infeksi (Reid *et al.*, 1984). Tingkat keparahan koksidiosis dapat dievaluasi dengan melihat "Lesion Scoring" (Reid *et al.*, 1984)

selanjutnya Reid *et al.*, (1984) mengatur penilaian derajat lesi sekum dengan cara membuat jangkauan antara 0 dan +4.

Usaha untuk mengatasi koksidiosis banyak dilakukan dengan sanitasi kandang dan pemberian koksidiostat dalam pakan (Wallach and Waldenstedt, 1999). Akhir-akhir ini, usaha pengendalian dan pemberantasan koksidiosis ditujukan untuk merangsang timbulnya kekebalan (pengebalan) pada ayam dengan cara vaksinasi (Shirley, 1993). Tetapi menurut Rose (1992) keberhasilan vaksinasi tergantung dari jenis vaksin yang dipakai dan cara vaksinasi.

Wallach dan Waldenstedt (1999) menyatakan bahwa pemberian vaksin untuk pemberantasan koksidiosis jauh lebih baik dibanding dengan pemberian koksidiostat karena pemberian vaksin memiliki beberapa keunggulan antara lain: tidak menimbulkan residu pada daging, tidak terjadi resistensi terhadap suatu koksidiostat serta mengurangi biaya pengobatan. Namun Long (1993) mensinyalir bahwa banyak vaksin yang beredar hanya dimanfaatkan untuk ayam petelur dan *breeder*, sedangkan untuk pedaging di Indonesia belum pernah dilaporkan. Long (1993) juga berpendapat bahwa selain memiliki keunggulan, pemberian vaksin yang dilakukan pada lahan yang baru justru dapat menyebabkan terjangkitnya koksidiosis pada lahan tersebut, karena oosista vaksin dapat mencemari lingkungan.

Pemberian vaksin *Eimeria sp.* pada ayam akan merangsang timbulnya kekebalan spesifik terhadap tantangan berikutnya dan dapat dievaluasi dari jumlah eliminasi oosista dan perubahan patologi sekum (derajat lesi sekum) karena tingkat keparahan koksidiosis dapat diketahui dengan melihat lesi sekum (Reid *et al.*, 1984).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian vaksin koksidia yang diberikan melalui semprot pakan dan yang diberikan melalui air minum pada ayam pedaging terhadap infeksi tantangan *Eimeria tenella*. Penelitian ini akan memberikan informasi tentang efektivitas penggunaan vaksin *Eimeria sp.* yang ada di lapangan, sehingga berguna dalam strategi pengendalian koksidiosis pada ayam pedaging dengan berbagai aplikasi pemberian vaksin.

## MATERI DAN METODE

Bahan utama yang dipakai dalam penelitian ini adalah 100 ekor anak ayam pedaging, vaksin Coccivac-D<sup>®</sup>\*, vaksin Immucox<sup>®\*\*</sup>, serta pakan pabrik yang tidak mengandung koksidiostat.

Alat utama yang dipakai dalam penelitian ini adalah kandang perlakuan dengan peralatannya, pengaduk magnetik, alat penghitung serta mikroskop.

### Produksi oosista *Eimeria tenella*

Oosista *E. tenella* yang dipakai untuk infeksi tantangan didapat dengan cara menginfeksi 20 ekor ayam pedaging umur 2 minggu dengan masing-masing 5.000 oosista *E. tenella* yang sudah mengalami sporulasi secara peroral. Hari ke-7 sesudah infeksi, ayam dibunuh untuk diambil isi sekum dan mukosa sekum. Setiap 1 gram isi sekum dan kerokan mukosa sekum ditambah 20 ml Kalium bikromat 2%, diaduk kemudian disaring dan dibiarkan pada suhu kamar selama 3-4 hari agar bersporulasi selanjutnya disimpan dalam lemari es untuk persiapan infeksi tantangan.

### Perlakuan ayam percobaan

Sebanyak 60 ekor anak ayam pedaging umur satu hari dipakai sebagai hewan percobaan. Ayam dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 20 ekor. Pada umur 5 hari, kelompok II divaksin dengan Coccivac-D<sup>®</sup> secara semprot pakan, kelompok III divaksin dengan Immucox<sup>®</sup> secara air minum sedangkan kelompok I sebagai kontrol tidak diberi perlakuan. Duapuluh satu hari (3 minggu) sesudah perlakuan, setiap ekor ayam dalam kelompok I,II, III ditantang dengan 3.000 oosista *E. tenella* yang sudah sporulasi secara peroral.

### Pengumpulan data

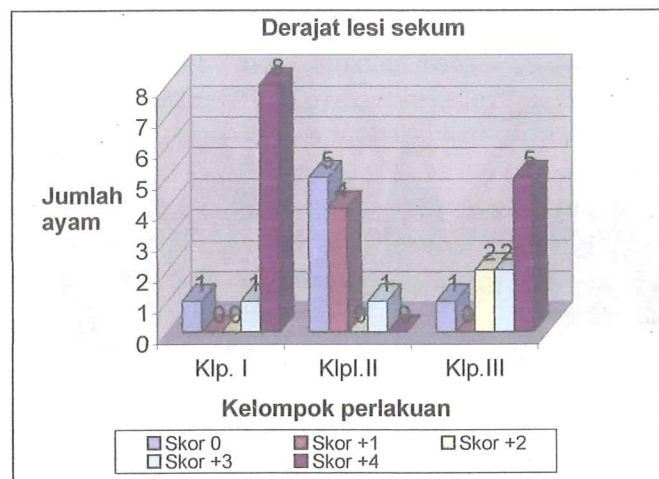
Lima hari sesudah infeksi tantangan, 10 ekor ayam dari masing-masing kelompok dinekropsi untuk melihat derajat perlukaan sekum (sesuai dengan Reid *et al.*, 1984). Mulai hari ke-7 sampai hari ke-11 sesudah infeksi tantangan, tinja ayam yang tersisa dari masing-masing kelompok diperiksa dengan metode McMaster yang dimodifikasi (Georgi, 1980) untuk menghitung jumlah eliminasi oosista pergram tinja.

## Analisis hasil

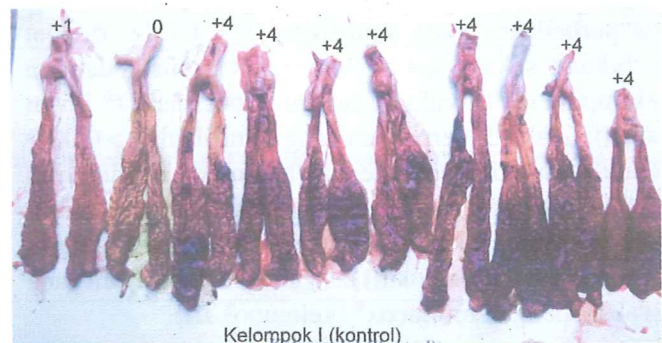
Data derajat perlukaan sekum dianalisis dengan metode *Rank test* (Ferguson dan Takane, 1989), sedangkan data jumlah eliminasi oosista dianalisis dengan metode *Split plot* (Gill, 1978).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian terhadap derajat perlukaan sekum dari ke-3 kelompok ayam penelitian yang dibunuh pada hari ke-5 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella* dapat dilihat pada Gambar 1,2,3 dan 4.



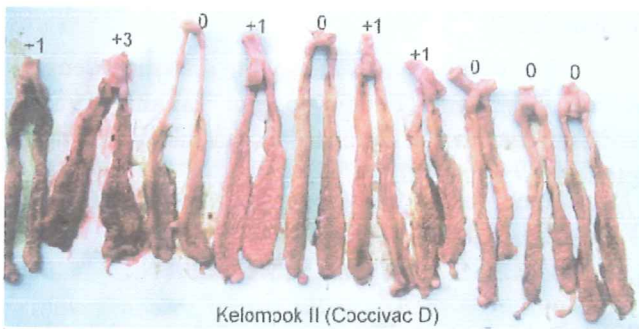
Gambar 1. Grafik penilaian derajat perlukaan sekum dari ketiga kelompok ayam penelitian yang dibunuh pada hari ke-5 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*.



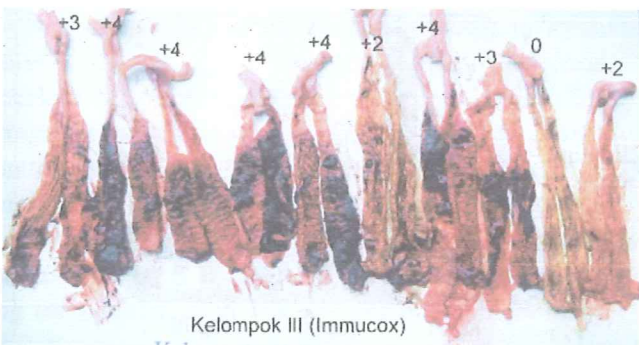
Gambar 2. Sekum ayam kelompok kontrol yang dibunuh pada hari ke-5 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*. (angka pada gambar adalah derajat perlukaan sekum)

\*) Produksi Schering Plough Animaal Health, Delaware USA

\*\*\*)Produksi Vetech Laboratories Inc., Ontario, Canada.



Gambar 3. Sekum ayam kelompok II yang divaksin dengan Coccivac-D®, dibunuh pada hari ke-5 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*. (angka pada gambar adalah derajat perlukaan sekum)



Gambar 4. Sekum ayam kelompok III yang divaksin dengan Immucox®, dibunuh pada hari ke-5 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*. (angka pada gambar adalah derajat perlukaan sekum)

Gambar 1-4, memperlihatkan derajat perlukaan sekum ayam penelitian kelompok I-III. Hasil analisis dengan metode *Rank test* (Tabel 1) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan ( $P < 0,002$ ) derajat perlukaan sekum antara kelompok kontrol dengan kelompok II (divaksin dengan Coccivac-D® lewat pakan); tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,002$ ) antara kelompok kontrol dengan kelompok III (divaksin dengan Immucox®) dan ada perbedaan yang signifikan ( $P < 0,002$ ) antara kelompok ayam yang divaksin dengan Coccivac-D® (kelompok II) dengan kelompok ayam yang divaksin dengan Immucox® (kelompok III).

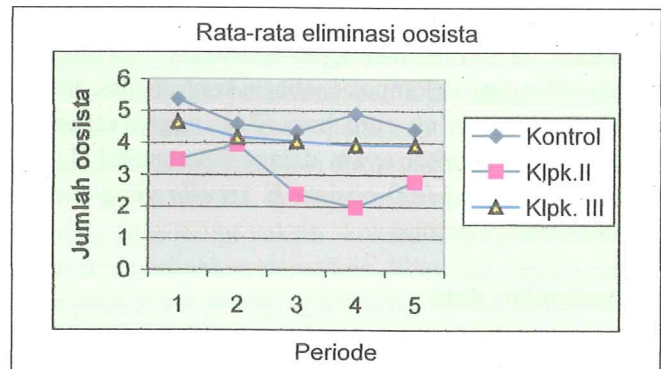
Tabel 1. Hasil analisis derajat perlukaan sekum ayam penelitian dengan metode *Rank test*

Kontrol vs kelompok II vs Kelompok III	Signifikan	$P < 0,005$
Kontrol vs Kelompok II	Signifikan	$P < 0,002$
Kontrol vs kelompok III	Non signifikan	$P > 0,002$
Kelompok II vs kelompok III	Signifikan	$P < 0,002$

Adanya perlukaan yang ringan pada ayam yang divaksin dengan Coccivac-D® disebabkan karena skizon generasi II yang terbentuk sedikit, disebabkan karena terbentuknya imunitas oleh vaksin sehingga siklus hidup *E. tenella* akan terhenti pada stadium awal (Rose, 1992) dan hal ini diperkuat dengan pendapat Richardson dan Kendall (1964) yang menyatakan bahwa imunitas yang disebabkan oleh vaksin akan menyebabkan sirkulasi *antibody* lebih aktif dan berpengaruh terhadap stadium perkembangan koksidia.

Dari penilaian derajat perlukaan sekum secara *scoring* dan analisis dengan metode *Rank test* dapat disimpulkan bahwa ayam umur 5 hari yang divaksin dengan Coccivac-D® melalui pakan terhadap infeksi tantangan 3000 oosista *E. tenella* jelas pengaruhnya jika dibandingkan dengan ayam kontrol dan ayam kelompok III yang di vaksin melalui air minum dengan Immucox®, hal ini kemungkinan disebabkan karena pemberian vaksin koksidia lewat air minum tidak rata atau karena jumlah oosita vaksin tidak cukup untuk menimbulkan kekebalan spesifik terhadap *E. tenella* karena menurut Rose (1992) keberhasilan vaksin tergantung dari jenis vaksin dan cara vaksinasi karena kekebalan yang ditimbulkan oleh koksidia bersifat spesifik dan tidak ada kekebalan silang (Urguhart *et al.*, 1987).

Rata-rata jumlah eliminasi oosista pergram tinja mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-11 setelah infeksi tantangan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 5.



Gambar 5. Grafik rata-rata (log 10) eliminasi oosista pergram tinja yang diperiksa pada hari ke-7 sampai hari ke-11 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *Eimeria tenella*.

Tabel 2. Rata-rata jumlah eliminasi oosista per gram tinja (log 10) yang diperiksa pada hari ke-7 sampai 11 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*.

Kelompok	Periode (hari ke-n)				
	7	8	9	10	11
Kontrol (K. I)	5,36 ± 0,24	4,59 ± 0,58	4,36 ± 0,91	4,91 ± 0,31	4,42 ± 0,89
Kelompok II	3,48 ± 0,93	3,39 ± 0,54	2,39 ± 1,44	1,98 ± 1,58	2,78 ± 1,16
Kelompok III	4,66 ± 0,51	4,18 ± 0,51	4,05 ± 0,46	3,93 ± 0,59	3,93 ± 0,47

Dari Gambar 5, dapat dilihat bahwa kelompok kontrol mempunyai eliminasi oosista tertinggi dibanding dengan kedua kelompok yang lain (kelompok II dan III), hal ini sesuai dengan pendapat Lillehoj (1988) yang mengemukakan bahwa semua ayam yang menerima inokulasi primer diikuti dengan inokulasi sekunder mengeluarkan sedikit oosista daripada ayam yang hanya menerima inokulasi sekunder. Eliminasi oosista yang lebih rendah pada kedua kelompok dibanding dengan kontrol dimungkinkan ayam kelompok II dan III yang divaksin telah mengembangkan imunitas terhadap reinfeksi *E. tenella* selain itu ayam juga mempunyai kemampuan

membatasi diri (*selflimiting*) terhadap koksidiosis (Reid *et al.*, 1984).

Hasil analisis statistik dengan metode *Split plot* terhadap jumlah eliminasi oosista per gram tinja dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna ( $P < 0,05$ ) diantara ketiga kelompok akibat perlakuan, periode, dan interaksi keduanya (perlakuan dan periode).

Perbandingan jumlah oosista yang dieliminasi antara kelompok dalam satu periode dan antar periode dalam satu kelompok dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 3. Analisa varian metode *Split plot* terhadap jumlah eliminasi oosista per gram tinja mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-11 setelah infeksi tantangan dengan 3000 oosista *E. tenella*.

Sumber variasi	df	Sum of square	Mean square	F hitung	F tabel
Perlakuan (A)	2	85,88	42,94	13,42	3,35*
Subyek/Perlakuan(D/A)	27	86,43	3,20		
Periode (B)	4	20,37	5,09	5,63	2,45*
Interaksi (AB)	8	15,57	1,95	2,16	2,02*
Error (E)	108	97,59	0,90		

\* = signifikan pada  $F_{0,05}$  ( $P < 0,05$ )

Tabel 4. Perbandingan jumlah oosista yang dieliminasi antar kelompok dalam satu periode dengan *t-test*.

Kelompok	Periode (hari ke-n)				
	7	8	9	10	11
Kontrol vs Kel. II	s**	ns	s*	s**	s*
Kontrol vs Kel. III	ns	ns	ns	ns	ns
Kel. II vs Kel. III	s*	ns	s*	s*	s*

S\*\* = Sangat signifikan pada ( $p < 0,005$ )

S\* = Signifikan pada ( $P < 0,1$ )

Tabel 5. Perbandingan jumlah oosista yang dieliminasi antar periode dalam satu kelompok dengan *Modified Scheffe Interval*

Kelompok	Periode			
	I vs II	II vs III	III vs IV	IV vs V
Kontrol	s	ns	s	s
Kelompok I	s	s	ns	s
Kelompok III	s	ns	ns	ns

Hasil yang signifikan ( $P < 0,005$  dan  $P < 0,1$ ) pada kelompok kontrol vs kelompok II (Tabel 4) menunjukkan bahwa vaksin mampu menimbulkan kekebalan sehingga jumlah oosista yang dieliminasi sedikit karena stadium aseksual yang dihasilkan sedikit, demikian sebaliknya dengan kelompok kontrol vs kelompok III.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksin Coccivac-D<sup>®</sup> melalui pakan mampu melindungi ayam terhadap infeksi tantangan 3000 oosista *E. tenella* dibanding dengan kontrol dan pemberian vaksin Immucox<sup>®</sup> melalui air minum, hal ini dapat dilihat dari derajat perlukaan sekum yang menunjukkan perbedaan sangat signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang divaksin Coccivac-D<sup>®</sup> ( $P < 0,002$ ); dan antara kelompok yang divaksin Coccivac-D<sup>®</sup> dan kelompok yang divaksin dengan Immucox<sup>®</sup> ( $P < 0,002$ ). Sedangkan jumlah eliminasi oosista menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $IP < 0,05$ ) diantara ketiga kelompok (kontrol, kelompok II dan kelompok III) akibat perlakuan periode dan interaksi keduanya.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Universitas Gadjah mada yang telah memberi dana penelitian melalui Dana Masyarakat Fakultas Kedokteran Hewan, dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nonor: 3944/PII/Set.R/2003.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ferguson, G.A. and Takane, Y. 1989. Statistical Analysis in Psychology and Education. 6<sup>th</sup> edition. McGraw Hill Book Company.: 441-443.
- Georgi, J.R. 1980. Parasitology for Veterinarians. W.B. Saunders Company Philadelphia, London. : 67.
- Gill, J.L. 1978. Design and Analysis of Experiment in the Animal and Medical Science. The Iowa State University Press, Iowa.
- Lillehoj, H.S. 1988. Influence of Inoculation Dose, Inoculation Schedule, Chicken Ages, and Host Genetics on Diseases Susceptibility and Development of Resistance to *Eimeria tenella* Infection. *Avian Diseases* 32: 437-444.
- Long, P.L. 1993. Potential for Live Oocyst Vaccines for The Control of Coccidiosis in Poultry. *Proceeding. VI th International Coccidiosis Conference*. Gulph, Ontario, Canada.
- McDougald, L.R. and Reid, W.M. 1991. Coccidiosis in Diseases of Poultry, 9<sup>th</sup> ed. Edited by Calnex, B.W., Barnes, H.J., Reid, M.W. and Yorder, H.W., Iowa State University Press, Iowa, USA :782-785.
- Reid, W.M., Long, P.L. and McDougald, L.R. 1984. Protozoa. In Disease of Poultry. 8<sup>th</sup> ed. Edited by Calnex, B.W., Barnes, H.J., Reid, M.W. and Yorder, H.W., Iowa State University Press, Iowa, USA :691-709.
- Richardson , U.F. and Kendall, S.B. 1964. Veterinary Protozoology. ELBS edition. Oliver and Boyd LTD., Edinburg. London. :139-140.
- Rose, M.E. 1992. Host Immune Response. In The Biology of Coccidia. P. Long ed. University Park Press, Baltimore: 329-335.
- Shirley, M.W. 1993. Live Vaccines for Control of Coccidiosis. *Proceeding. VI th International Coccidiosis Conference*. : 61-79.
- Soulsby, E.J.L. 1982. Helminth Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, 7<sup>th</sup> ed., Bailliere Tindal, London : 670-681.

Stucki, U., Braun, R. and Roditi, I. 1993. *Eimeria tenella* : Characterization of a 5s Ribosomal RNA Repeat Unit and Its Use as a Species-specific Probe. *Experimental Parasitology*. 76: 68-75.

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.P., Dunn, A.M. and Jennings, F.W. 1987. *Veterinary Parasitology*, 1<sup>st</sup> ed., ELBS, England : 227-230.

Wallach, M. and Waldenstedt, M. 1999. Immunity and Effect of Removing Coccidiostats from Poultry Feed. *Word Poultry* ed. Special. Published by Elsevier International Business Information, Part of Reed-Elsevier the Netherlands. 3: 12-15.

Zakir, Z. 1996. Tendensi Pengobatan Coccidiosis di Masa Datang. *Poultry Indonesia* No. 191: 34-36