

The Number Of Leukocyte And Leukocyte Differential In Broilers That Infected With Eimeria tenella And Given Neem Leaf Extract And Jaloh Extract

Rizki Aulia¹, Sugito², M. Hasan³, T. Fadrial Karmil⁴, Gholib⁵, Rinidar⁶

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Email : rizkijahe.92@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the effect of giving neem leaf extract combined with jaloh towards the total of leukocytes and differential leukocyte in broilers that was infected with Eimeria tenella. This research samples were 20 Cobb stain broilers 14 days old. Design the research was complete randomized design with five treatments and each treatment consists of four repetitions. First treatment (P1) as negative control which was only given mineral water; second treatment (P2) as positive control was is given 5 mg/L anti-stress commercial in drinking water; Third treatment (P3) was given 1000 mg/L Jaloh extract; Fourth treatment (P4) was given 250mg/L neem extract; and fifth treatment (P5) was given 1000mg/L jaloh extract combined with 250mg/L neem extract. Anti-stress commercial and extract treatment dissolved in drinking water. The treatment start from 08.00 until 18.00 for ten days. Next in the 11th day (chicken 25 days old) was inoculated Eimeria tanella sporulatif as much as 1 x 10⁴ ookista/ml orally. Then the blood was taken sampling when the chicken 30 days old (five days after infected). Blood sampling was done in the brachial vein. Furthermore, the number of leukocytes and differential leukocyte. Was calculated data were analyzed using complete randomized design with the help of SPSS for Windows 1.8 program. The result of this research showed that giving jaloh and neem leaf extract were not giving significant effect ($P > 0,05$) towards the number of leukocyte as well as differential leukocyte of broilers that was infected with Eimeria tenella. The conclusion of this research were giving jaloh leaf extract and neem for 10 days was not giving significant effect towards number of leukocytes and differential leukocyte broilers that infected with Eimeria tenella.

Keyword : Broiler, Eimeria tanella, leukocyte, differential.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Eimeria tenella merupakan protozoa penyebab koksidiosis pada ayam yang dapat mengakibatkan diare berdarah, penurunan berat badan, terlambatnya produksi telur dan sering menyebabkan kematian pada ayam (Shirley, 1993). Menurut Zakir (1996), kerugian ekonomis yang diakibatkan koksidiosis diseluruh dunia diperkirakan mencapai 50-100 juta Poundsterling dengan angka kematian dapat mencapai 5-10%. Ditambahkan oleh Cahyaningsih dan Supriyanto (2007) koksidiosis pada ayam menimbulkan kerugian ekonomi

meliputi morbiditas tinggi, mortalitas, penurunan konsumsi pakan dan minum, penurunan produksi telur dan bobot badan.

Pengobatan yang biasa dilakukan untuk mencegah koksidiosis adalah pemberian preparat koksidiostat, Koksidiostat adalah obat yang bekerja menghentikan perkembangbiakan koksidia (Soulsby, 1982). Namun koksidiostat memiliki kelemahan karena dapat menyebabkan resistensi *Eimeria tenella* terhadap obat yang digunakan secara terus menerus dalam jangka waktu lama (Harismah, 2006).

Pengobatan koksidiosis secara tradisional menjadi pilihan utama, karena lebih aman dibandingkan obat yang diolah oleh pabrik

(Harismah, 2006). Pengobatan tradisional dapat dilakukan dengan memanfaatkan tanaman obat, diantaranya adalah tanaman mimba dan daun jaloh. Tanaman Mimba (*Azadirachta indica juss*) merupakan tumbuhan yang umum ditanam sebagai tanaman peneduh. Menurut (Sukrasno dkk., 2003), daun dan biji mimba mempunyai banyak manfaat, yaitu sebagai fungisida dan antibakteri. Daun Mimba mempunyai kandungan kimia antara lain: Azadirachtin, paraisin, alkaloid dan komponen-komponen minyak atsiri yang mengandung senyawa sulfide yang bermanfaat sebagai antibakteri (Syarmalina dan Laksmiawati, 2005).

Manfaat daun mimba sebagai antibakteri telah banyak dibuktikan dalam beberapa penelitian, namun manfaat daun mimba sebagai antiprotozoa belum banyak dikaji peneliti, akan tetapi mimba dapat mempengaruhi limfosit, monosit dan makrofag sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis. Dari hasil penelitian tersebut diketahui mimba dapat memodulasi respon imunitas alami, seluler dan humoral (Sastrodiharjo, 1998).

Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb) merupakan jenis tanaman yang digunakan oleh masyarakat di daerah Aceh sebagai tanaman obat tradisional (Sugito dkk., 2008) diantaranya sebagai obat antioksidan (Kahkonen dkk., 1999), obat anti-piuretik (Chrubasik dkk., 2000; Fabricant dan Farnsworth, 2001), dan anti-inflamasi (Fiebich dan Chrubasik 2004; Khayyal dkk., 2005). Menurut Asgarpanah (2012), kandungan beberapa senyawa dalam famili *Salix*, seperti salisin, mirisetin, kaempferol, kuersetin, dan luteolin memiliki efek sebagai immunomodulator dan antiinflamasi.

Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh dengan menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap agen infeksi. Leukosit dibagi menjadi dua kelompok yaitu granulosit yang terdiri dari heterofil, eosinofil, basofil dan kelompok agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit. Granulosit dan monosit mempertahankan tubuh terhadap organisme penyerang dengan cara fagositosis, sedangkan fungsi utama limfosit

adalah berhubungan dengan sistem kekebalan tubuh (Guyton, 1996).

Melalui pemeriksaan persentase rata-rata jumlah sel darah putih, dapat diketahui dan dievaluasi tingkat keefektifan pemberian ekstrak daun mimba dan daun jaloh dalam mengeliminasi antigen dan mempertahankan fisiologis tubuh dari infeksi koksidia. Persentase masing-masing jenis sel darah putih berubah sesuai dengan fungsinya masing-masing dalam melawan infeksi (Ganong, 1995).

Berdasarkan penjelasan di atas perlu dilakukan suatu penelitian untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun mimba yang dikombinasikan ekstrak jaloh terhadap leukosit dan diferensial leukosit ayam yang telah terinfeksi *Eimeria tenella*.

MATERI DAN METODE

Metode Penelitian

Pengelompokan Perlakuan Terhadap Ayam

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor ayam, Isolat *Eimeria tenella* yang digunakan adalah hasil dari isolasi sel tunggal dengan menggunakan metode Edgar dan Seibold dengan cara mengoleksi bahan infeksi yang diduga terinfeksi koksidiosis. Adapun masing-masing perlakuan diuraikan sebagai berikut:

- P1 : tidak diinfeksi dan tidak diberi perlakuan hanya diberi *Vitachick*.
- P2 : diinfeksi ookista *Eimeria tenella* dan tidak diberi *Vitachick* dan perlakuan lain.
- P3 : diberi ekstrak daun jaloh 1000 mg/L perhari dan diinfeksi ookista *Eimeria tenella*.
- P4 : diberi ekstrak daun mimba 250 mg/L perhari dan diinfeksi ookista *Eimeria tenella*.
- P5 : diberi ekstrak daun jaloh 1000 mg/L dikombinasi ekstrak daun mimba 250 mg/L perhari dan diinfeksi ookista *Eimeria tenella*.

Pemberian perlakuan *Vita Chick*, ekstrak daun jaloh, dan ekstrak daun mimba dengan cara dilarutkan dalam air minum ayam dan diberikan selama 10 hari dari pagi sampai sore hari. Pada saat umur ayam 25 hari, akan diinfeksi ookista *Eimeria tenella* yang telah bersporulasi dengan dosis 1×10^4 per ekor secara oral.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Jaloh dan Mimba

Proses ekstraksi daun jaloh dan daun mimba dilakukan dengan metode maserasi. Sebelum dimaserasi, terlebih dahulu daun jaloh dan daun mimba dikering anginkan dan dibuat serbuk. Masing-masing bahan simplesia yang akan diekstraksi dimaserasi sebanyak 2 kali (selama 24 jam) dengan pelarut etanol 70%. Filtrat yang diperoleh, diuapkan pelarutnya atau dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Formulasi daun jaloh dan daun mimba dibuat dengan kombinasi masing-masing konsentrasi. Pemakaian formulasi diproses menjadi campuran serbuk yang dilarutkan dengan karbon-metil-selulosa (CMC) 1% agar mudah dilarutkan dalam air minum ayam.

Cara Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan tiga hari setelah di inokulasi ookista *Eimeria tenella*. Darah diambil dari vena brachialis yang terletak dibawah sayap ayam. Sebelum dilakukan pengambilan darah, vena brachialis dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%. Setelah bersih dilakukan pengambilan darah menggunakan spuit 3 cc kemudian dimasukkan kedalam tabung *ependorf* yang telah berisi anti koagulan.

Kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk dilakukan pemeriksaan.

Penghitungan Jumlah Eritrosit dan Nilai Hematokrit

Preparat ulas darah dibuat di atas objek glass yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan dikeringkan. Darah ditetaskan pada salah satu ujung tepi objek glass, objek glass lain ditempatkan pada bagian darah tadi dengan membentuk sudut 45° , sehingga darah menyebar sepanjang garis kontak antara kedua objek glass. Selanjutnya, objek glass di dorong kearah depan dengan cepat hingga terbentuk usapan darah tipis diatas objek glass. Ulasan tersebut dikeringkan di udara, kemudian difiksasi dalam metanol selama 5 menit, lalu dimasukkan dalam pewarna Giemsa selama 15-30 menit. Selanjutnya dicuci di air keran yang mengalir dan dikeringkan di udara (Brown, 1980).

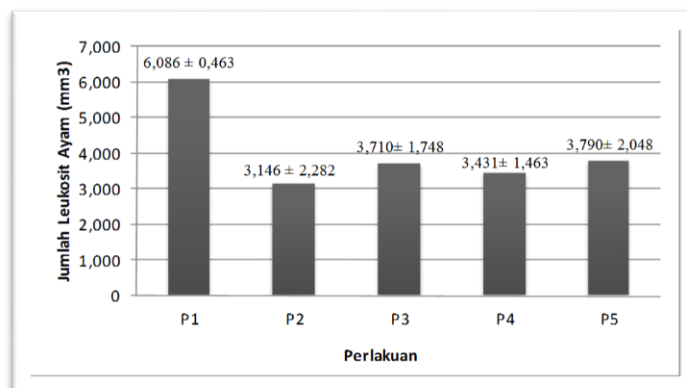
Analisis Data.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan metode Analisis sidik ragam rancangan acak lengkap dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) untuk menguji perbedaan diantara perlakuan yang ada (Steel dan Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Leukosit

Data hasil pengamatan terhadap jumlah leukosit ayam broiler setelah pemberian ekstrak jaloh kombinasi mimba dan diinfeksi *Eimeria tenella*, dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Rata-rata (\pm SD) jumlah leukosit ayam broiler yang diinfeksi *E.tenella*. P1 = Air mineral (kontrol₀); P2 = Anti-stres komesial 5 mg/l air mineral (kontrol₁); P3 = Ekstrak jalo 1000 mg/l air mineral; P4 = Ekstrak Mimba 250 mg/l air mineral; P5 = Ekstrak jalo 1000 mg/l + Ekstrak mimba 250 mg/l air mineral.

Pada Gambar 1, hasil uji statistik perlakuan P1, P2, P3, P4, dan P5 menunjukkan bahwa jumlah leukosit ayam broiler tidak ada pengaruh yang nyata terhadap jumlah leukosit. Rata-rata jumlah leukosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$) ayam broiler pada kelompok P1 adalah $6,086 \pm 0,463$, pada kelompok P2 adalah $3,146 \pm 2,282$, pada kelompok P3 adalah $3,710 \pm 1,748$, pada kelompok P4 adalah $3,431 \pm 1,463$, dan pada kelompok P5 adalah $3,790 \pm 2,048$. Jumlah leukosit ayam dalam penelitian berada pada kisaran dibawah normal. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), leukosit ayam normal berkisar $16,0-40,0 \times 10^3/\text{mm}^3$. Leukosit merupakan unit yang mobil/aktif dari sistem pertahanan tubuh. Leukosit ini sebagian dibentuk di sumsum tulang (granulosit, monosit dan sedikit limfosit) dan sebagian lagi di jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma).

Setelah dibentuk sel-sel ini diangkut dalam darah menuju berbagai bagian tubuh untuk digunakan. Kebanyakan sel darah putih ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius yang diakibatkan oleh bakteri, virus, ataupun protozoa seperti *E. Tenella* (Guyton, 1995)

Pemberian ekstrak daun jalo yang dikombinasikan daun mimba tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit yang telah mengalami penurunan, hal ini dikarenakan senyawa yang terkandung dalam jalo dan kunyit belum cukup mencegah penyakit koksidiosis yang disebabkan *E. tenella*.

Diferensial Leukosit

Hasil perhitungan diferensial leukosit dapat dilihat pada Table 1. Pada Tabel 1 terlihat jumlah eosinofil, basofil, heterofil, monosit, limfosit berada dalam kisaran dibawah normal.

Dilihat secara umum jumlah eosinofil yang tertinggi terdapat pada P1, jumlah basofil yang tertinggi terdapat pada P3, jumlah heterofil yang tertinggi terdapat pada P2, jumlah monosit yang tertinggi terdapat pada P1, dan jumlah limfosit yang tertinggi terdapat pada P5.

Tabel 1. Rata-rata persentase diferensial leukosit ayam pedaging yang diinfeksi *Eimeria tenella* setelah pemberian perlakuan ekstrak jalo dikombinasi mimba.

Perlakuan	Diferensial leukosit (%)				
	Eosinofil	Basofil	Heterofil	Monosit	Limfosit
P1	21,0 \pm 9,9	0,8 \pm 0,5	24,0 \pm 9,8	18,8 \pm 4,8	35,0 \pm 10,6
P2	17,0 \pm 10,1	0,8 \pm 0,9	26,3 \pm 16,6	10,3 \pm 8,3	45,8 \pm 16,1
P3	18,5 \pm 12,5	5,5 \pm 8,4	15,5 \pm 6,4	13,5 \pm 6,1	47,0 \pm 17,1
P4	15,5 \pm 12,3	1,8 \pm 2,1	16,5 \pm 6,0	18,0 \pm 6,8	48,3 \pm 14,2
P5	9,3 \pm 4,3	3,0 \pm 1,8	15,0 \pm 3,6	16,0 \pm 2,4	59,3 \pm 1,7

Tabel 1. Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama tidak menunjukkan pengaruh

yang nyata. P1 = Air mineral (kontrol negatif); P2 = Anti-stres Komersial 5 mg/l air mineral

(kontrol positif); P3 = Ekstrak jalo 1000 mg/l air mineral; P4 = Ekstrak Mimba 250 mg/l air mineral; P5 = Ekstrak jalo 1000 mg/l + Ekstrak mimba 250 mg/l air mineral.

Eosinofil

Berdasarkan hasil uji statistik, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jalo dikombinasi daun mimba tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah eosinofil ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella*. Pada Tabel 1, terlihat bahwa pada P1 yang hanya diberi air mineral terjadi peningkatan eosinofil, hal ini terjadi karena infeksi dari *E. tenella* tanpa adanya pengobatan mampu menggertak lebih banyak pengeluaran eosinofil dari sumsum tulang ke dalam sistem peredaran darah. Tizard (1982), menyatakan bahwa eosinofil memiliki peranan aktif dalam mengatur reaksi alergi akut, peradangan, mengatur investasi parasit, memfagositosis bakteri, dan membentuk kompleks antigen-antibodi. Jumlah eosinofil dalam darah ayam sekitar 10 % dari jumlah total leukosit dan memiliki jumlah 0,78-2,48 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) atau 0,67-2,27 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) (Mitruka dan Rawnsley, 1981).

Peningkatan jumlah eosinofil pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak jalo (P3) dikarenakan adanya senyawa flavonoid yang terkandung di dalam tanaman jalo. Prapanca dan Marianti (2003), menyatakan bahwa senyawa flavonoid berperan sebagai immunostimulan yang akan menstimulasi keluarnya eosinofil untuk melakukan proses fagositosis.

Penurunan eosinofil terlihat pada kelompok perlakuan ekstrak mimba (P4) dan kombinasi ekstrak jalo dan mimba (P5). Peningkatan dan penurunan persentase kelompok perlakuan ekstrak mimba diduga erat kaitannya dengan adanya interaksi antara nimbin dan nimbidin berperan sebagai anti mikro organisme seperti anti-inflamasi, bakterisida, dan sebagai imunomodulator (Ruskin, 1993).

Basofil

Basofil mempunyai fungsi yang sama dengan sel mast, yaitu membangkitkan peradangan akut pada tempat deposisi antigen (Tizard, 1988). Sewaktu jaringan mengalami suatu peradangan basofil akan melepaskan

heparin, histamin, sedikit bradikinin, dan serotonin. Hasil pengamatan terhadap rata-rata basofil ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella* setelah pemberian perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji statistik tidak menunjukkan adanya berpengaruh nyata pemberian ekstrak jalo terhadap nilai basophil.

Rata-rata persentase basofil pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan berada pada kisaran persentase basofil normal, yaitu 1-4 % (Melvin dan William, 1993) atau 0,5-3,1% (Tizard, 1988). Namun, pada kelompok perlakuan P1 rata-rata persentase basofil cenderung mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan karena telah terjadi kerusakan mukosa usus yang diakibatkan infeksi *E. tenella* yang menyebabkan basofil bermigrasi menuju ke daerah peradangan. Pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P4, rata-rata persentase basofil berkurang. Hal ini dapat terjadi karena sel-sel epitel usus yang dirusak oleh *E. tenella* telah mengalami proses penyembuhan. Tampubolon (2004), menyatakan bahwa ayam yang terinfeksi *E. tenella* menjelang hari ke-8 dan ke-9 ayam sudah dalam proses penyembuhan.

Heterofil

Hasil pengamatan terhadap rata-rata persentase heterofil ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella* setelah pemberian perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jalo dikombinasi ekstrak mimba tidak menunjukkan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap heterofil ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella*.

Berdasarkan data pada Tabel 1, terlihat bahwa rata-rata persentase heterofil dalam keadaan normal. Heterofil berperan sebagai pertahanan pertama. Heterofil akan bergerak menuju benda asing dan akan menghancurkan dengan segera, tetapi tidak mampu bertahan lama (Tizard, 1988). Heterofil dalam sirkulasi darah akan bertahan hidup selama 4-10 jam, sedangkan di dalam jaringan akan bertahan hidup selama 1-2 hari (Metcalf, 2006).

Monosit

Hasil uji statistik pengamatan terhadap rata-rata persentase monosit disajikan pada Tabel 1. Rata-rata persentase monosit pada setiap

perlakuan cenderung mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan adanya peradangan oleh merozoit generasi pertama yang mengakibatkan banyaknya makrofag yang bergerak ke daerah peradangan (Tizard, 1988). Peningkatan jumlah monosit ini sebagai respon homeostatis karena banyak monosit yang menuju jaringan untuk berubah menjadi makrofag yang akan mengatasi peradangan.

Sel monosit yang masuk jaringan akan menjadi makrofag jaringan (Ganong, 1995). Peran utama makrofag adalah melakukan fagositosis, menghancurkan partikel asing dan jaringan mati, serta mengolah bahan asing sedemikian rupa sehingga bahan asing itu dapat membangkitkan kekebalan.

Makrofag yang aktif akan bermigrasi sebagai respon terhadap rangsangan kemotaktik. Menurut Tizard (1988), tidak hanya pada produk mikroorganisme dan produk reaksi kebal tapi juga pada faktor yang dikeluarkan oleh sel-sel yang rusak, terutama heterofil yang rusak. Jumlah monosit antara 0,06-0,94 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) atau 0,06-0,78 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) (Mitruka dan Rawnsley, 1981).

Limfosit

Hasil pengamatan terhadap rata-rata persentase limfosit disajikan pada Tabel 1. Hasil perhitungan limfosit dengan pengujian Anova menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) persentase limfosit.

Namun peningkatan rata-rata persentase limfosit terlihat pada perlakuan P5. Peningkatan jumlah limfosit ini diduga disebabkan oleh adanya peran senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman jaloh dan daun mimba.

Ahmed dkk. (2011) dan Asgarpanah (2012) menyatakan bahwa pada beberapa jenis tanaman *Salix* (termasuk jaloh) diketahui mengandung senyawa flavonoid, seperti rutin, kuersetin, luteolin, synarosida, saliprena, eugenol, dan naringenin. Flavonoid dapat menghambat perkembangan parasit dengan bertindak sebagai inhibitor enzim.

Limfosit merupakan sel utama dalam kekebalan karena fungsi utamanya adalah memproduksi antibodi atau sebagai sel efektor khusus dalam menanggapi antigen terikat makrofag. Tanggap kebal ini akan terjadi bila tersedia lingkungan untuk interaksi yang efisien

antara limfosit, makrofag, dan antigen. Ayam memiliki jumlah limfosit antara 5,45-17,3 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) atau 5,91-18,4 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) (Mitruka dan Rawnsley, 1981).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun jaloh yang dikombinasikan ekstrak daun mimba tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit, eosinofil, basofil, heterofil, dan limfosit pada ayam broiler yang diinfeksi *E. tenella*. Namun jumlah monosit jauh meningkat dibandingkan nilai normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A., W.A. Shah, S. Akbar, M. Younis, and D. Kumar. 2011. A short chemical review on *salix caprea* commonly known as goat willow. **Int. J. Res. Phytochem. Pharmacol.** 1:17-20.
- Asgarpanah, J. 2012. Phytopharmacology and medicinal properties of *Salix aegyptiaca* L. **African J. Biotechnol.** 11(28): 7145-7150.
- Brown, B.A. 1980. **Hematology: Principles and Procedures.** 3rd ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Cahyaningsih, U dan Supriyanto. 2007. Kejadian Koksidirosis pada Domba Umur 6-12 Bulan di Ciomas Bogor. **Prosiding Seminar PERSADA XIII.** Institut Pertanian Bogor, Bogor. Hal. 159
- Chrubasik, S., E. Eisenberg, E. Balan, T. Weinberger, R. Luzzati, and C. Conradt. 2000. Treatment of low back pain exacerbations with willow bark extract: A randomized double-blind study. **Am. J. Med.** 109: 9-14.
- Fabricant, D.S. and N.R Farnsworth. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environ. Health Perspect.** 109(1): 69-75.
- Fiebich, B.L. and S. Chrubasik. 2004. Effects of an ethanolic salix extract on the release of selected inflammatory mediators in vitro. **Phytomedicine.** 11: 135-138.
- Ganong, W. 1995. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.** (Diterjemahkan oleh M.D. Widjajakusuma). Penerbit EGC, Jakarta.
- Guyton, A.C. 1995. **Fisiologi Kedokteran dan Mekanisme Penyakit.** Penerbit EGC, Jakarta

- Guyton, A.C. 1996. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**. Penerbit EGC, Jakarta.
- Harismah, A. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sambiloto (*Andropogon squarrosus*) dengan Pelarut Air Dosis Bertingkat Terhadap Jumlah Skizon, Makrogamet, Mikrogamet dan Ookista *Eimeria tenella* pada Sekum Ayam. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kahkonen, M.P., A. I. Hopia, dan H.C. Fuorella. 1999. Antioxidant Activity of Extract Containing Phenolic Compound. *J. Agric. Food Chem.* 4(7): 3954-3962
- Melvin, J.S. and O.R. William. 1993. **Dukes Physiology of Domestic Animal**. 11th ed. Cornell University Press. London.
- Metcalf, D. 2006. **Leukocyte**. <http://en.wikipedia.org/Leukocyte>. Diakses [27 November 2014].
- Mitruka, B. M and Rawnsley. H. M. 1981. **Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals**. Masson. New York.
- Prapanca, I dan Marianto, L.A. 2003. **Khasiat dan Manfaat Sambiloto Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit**. Agromedia Pustaka Jakarta.
- Ruskin. 1993. **Pestisida Nabati Ramuan Dan Aplikasi**. P.T. Penebar Swadaya, Bogor.
- Sastrodiharjo, S. 1998. Evaluasi Daya Insektisida dari Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). **Seminar Hasil Penelitian Pangan dan Gizi**. Ilmu Hayati, Jakarta.
- Shirley, M.W. 1993. Live Vaccines for Control of Coccidiosis. **Proceeding: 6th International Coccidiosis Conference**. New York :
- McGraw Hill. Hal. 24-27
- Smith, B.J. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. **Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis Indonesia**. University Press. Jakarta.
- Soulsby, E.J.L. 1982. **Helminth Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**. 7th ed. Bailliere Tindal, London.
- Steel, R. and Torrie, J. 1991. **Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik**. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sugito, E. Rahmi, dan R. Sumarni. 2008. Penentuan dosis letal ekstrak n-heksan kulit batang jaloh (*Salix tetrasperma* roxb) dan efeknya terhadap perubahan histopatologi hati dan ginjal mencit. **Seminar hasil-hasil Penelitian Dosen dan Mahasiswa BKS-PTN Barat**, Banda Aceh.
- Sukrasno dan Tim Lentera. 2003. **Mengenal Lebih Dekat Mimba Tanaman Obat Multifungsi**. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Syarmalina, dan D.R. Laksmiawati, 2005. Uji Antibakteri ekstrak daun Mimba (*Azadirachta indica* A Juss) Terhadap Bakteri. **Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII**, Bogor.
- Tampubolon, M.P. 2004. **Protozoologi**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tizard, I. 1982. **Veterinary Immunology**. 3rd ed. Airlangga University Press. Surabaya.
- Tizard, I.R.. 1988. **Pengantar Immunologi Veteriner**. Airlangga University Press, Surabaya.
- Zakir, Z. 1996. **Tendensi Pengobatan Coccidiosis di Masa Datang**. Poultry Indonesia.