

DATA TENTANG EFIKASI INSEKTISIDA NEOCIDOL TERHADAP CAPLAK PADA SAPI

Oleh

Ngepkep GINTING, Tarmudji dan BPA Radjagukguk

P E N D A H U L U A N

Insektisida senyawa organophosphor telah diperkenalkan oleh peneliti Jerman sejak Perang Dunia kedua. Senyawa organophosphor yang pertama ditemukan ialah tetra ethyl pyro phosphor (TEPP). Insektisida ini tidak lama dipakai karena sangat toksik bagi mammalia (2, 3, 5).

Schrader (1944) menemukan parathion, senyawa organophosphor yang banyak dipergunakan pada pertanian (2).

Setelah itu banyak sekali ditemukan insektisida yang termasuk senyawa organophosphor dan diperdagangkan dengan beraneka nama dagang seperti : Carbyl, Trithion, Ciodrin, Coumaphos, Demetron, Diazinon, Dichlorovos, Dioxathion, Di Syston, Endosulfan, Ethion, Cuthion, Methyl Parathion, Meimphos, Naled, Phorate, Ronnel, Dipterex, Disulfatan, Azimphosmethyl, Chlor fenvinphos, Dimethoate, Chlorothion dan Abate (2, 5, 7).

Neocidol adalah nama dagang dengan bahan aktif Diazinon produksi CIBA GEIGY Limited, Basle, Switzerland. Neocidol telah banyak dipergunakan di luar Switzerland seperti : Australia, New Zealand, Afrika Selatan dan Amerika Selatan dengan hasil yang memuaskan. Namun di Indonesia masih perlu dicoba kembali untuk menilai efikasi, safety, residu dan dosis yang sesuai dengan iklim tropik.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Neocidol adalah bahan berupa bubuk yang dapat disuspensikan. Bahan aktif Diazinon bekerja sebagai penghambat (inhibitor) Cholinesterase, enzim yang mengatur perombakan Acethyl Choline pada insekta (8, 9).

Dengan demikian tidaklah terjadi detoksikasi dalam bahan insekta dan insekta akan mati oleh karena asphyxia. Diazinon adalah racun kontak dan racun pernafasan.

Neocidol peka terhadap oksidasi, stabil dalam media alkali, lambat mengalami hidrolisa dalam air dan asam encer, dapat disimpan selama 2 (dua) tahun dalam wadah asli yang tidak dibuka. Kompatibel dengan banyak

pestisida lainnya, tetapi tidak boleh dicampur dengan fungisida yang mengandung tembaga. (1, 4).

Cara Kerja

Rancangan percobaan yang digunakan ialah rancangan acak kelompok (blok) yang komplit. Blok yang dimaksud adalah perbedaan waktu perlakuan (6, 11).

Ada empat perlakuan yang dilaksanakan yaitu :

- Neocidol konsentrasi bahan aktif 0,08 %
- Neocidol konsentrasi bahan aktif 0,10 %
- Neocidol konsentrasi bahan aktif 0,12 %
- Kontrol konsentrasi bahan aktif 0,00 %

Setiap perlakuan dalam tiap kelompok diberikan pada satu ekor sapi, baik pada sapi yang dikandangkan maupun pada sapi yang digembalakan.

Sapi-sapi yang dikandangkan sebelum perlakuan telah diserang oleh caplak dalam berbagai stadia, sedangkan sapi-sapi yang digembalakan harus bebas dari caplak dari seluruh stadia sebelum perlakuan.

Perlakuan diberikan dengan cara menyemprotkan dua liter suspensi Neocidol pada tubuh setiap ekor sapi. Penyemprotan tersebut dilakukan dua kali dengan interval satu bulan dan dilaksanakan pada waktu dan tempat yang sama terhadap sapi-sapi yang dikandangkan dan yang digembalakan. Untuk menguji daya kuratif dari pada Neocidol maka dua belas ekor sapi disemprot dan empat ekor tidak disemprot sebagai pembanding.

Keenambelas ekor sapi kemudian dimasukkan ke dalam kandang, satu ekor setiap kandang. Untuk menguji daya preventif Neocidol maka dua belas ekor sapi disemprot dan empat ekor tidak disemprot sebagai pembanding. Keenambelas ekor sapi kemudian digembalakan secara bebas di lapangan yang penuh dengan caplak.

HASIL PERCOBAAN

Kuratif

Untuk membuktikan kebenaran keampuhan Neocidol sebagai pembasmi caplak pada hewan ternak, telah dicoba pada ternak sapi yang sedang terinfestasi oleh caplak. Percobaan dilakukan dengan 4 kali ulangan dalam 2 blok (kelompok) waktu yang berbeda. Tiap ulangan dilakukan pada tiap ekor sapi. Waktu pemberian Neocidol (blok) dilakukan 2 kali yaitu pada tanggal 23 Mei 1977 dan pada tanggal 27 Juni 1977. Curah hujan di waktu

sapi digembalakan dari tanggal 23 Mei sampai tanggal 4 Juni 1977 adalah 597 mm, sedangkan dari tanggal 27 Juni sampai tanggal 8 Juli adalah 0 mm (data diperoleh dari Lembaga Pusat Penelitian Pertanian Bogor). Masing-masing perlakuan dengan pemberian dosis Neocidol 0,00% (kontrol), 0,08%, 0,10% dan 0,12%, diamati selama 13 hari sesudah pemberian Neocidol tersebut.

Dari daftar 1, terlihat adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) dari antara perlakuan-perlakuan tersebut. Pengaruh dosis Neocidol sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan pengaruh waktu (blok) dan stadia caplak tidak mempunyai arti penting ($P > 0,05$). Tidak ditemukan adanya interaksi antara dosis Neocidol dengan stadia caplak. Pada kontrol (tidak diberi Neocidol), dalam pengamatan selama 13 hari jumlah populasi caplak semakin meningkat, sedangkan pada sapi yang diberi Neocidol jumlah populasi caplak semakin berkurang, yang terlihat rata-rata pada hari kedua sesudah pemberian Neocidol. Pada pemberian Neocidol dengan dosis 0,08% dapat menurunkan populasi caplak rata-rata 94,50% (larva = 97,49%, nimfa = 96% dan dewasa = 90%); dengan pemberian Neocidol 0,10% dapat menurunkan populasi caplak 96,56% (larva 96,89%, nimfa 95% dan yang dewasa 97,80%), dan dosis Neocidol 0,12% dapat menurunkan populasi caplak rata-rata 95,42% (larva 94,09%, nimfa 94,73% dan yang dewasa 97,45%).

Dari sidik ragam daftar 2, dengan uji perbandingan orthogonal, ternyata perbedaan antara kontrol dengan pemberian Neocidol berbeda sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan perbedaan pengaruh antara dosis Neocidol 0,08%, 0,10% dan 0,12% tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Demikian juga antara larva, nimfa dan dewasa, tidak ditemukan perbedaan yang berarti jika diberi Neocidol dengan dosis 0,08%, 0,10% ataupun 0,12%.

Untuk mencari hubungan antara dosis Neocidol dengan jumlah penurunan populasi caplak, telah dicoba, namun tidak dapat diandalkan ($P > 0,05$).

Preventif

Dalam waktu yang bersamaan dengan percobaan kuratif, juga telah dicoba keampuhan Neocidol sebagai preventif, dengan rancangan percobaan seperti pada kuratif. Dalam percobaan preventif ini, semua sapi dibebaskan terlebih dahulu dari caplak, kemudian disemprotkan Neocidol 0,00%, 0,08%, 0,10% dan 0,12%, dan kemudian diamati jumlah caplak selama 13 hari pada sapi-sapi tersebut.

Daftar 1. Prosentase penurunan populasi caplak, yang diamati selama 13 hari sesudah pemberian Neocidol dengan 4 ulangan dalam 2 blok waktu.

Stadia	Dosis	B L O K				Jumlah		Rata-rata	No. Perlakuan
		I		II		ΣX	$\Sigma X'$	\bar{X}	
		X	X'	X	X'				
Larva	0,00	0,00	3,24	16,62	24,06	16,62	27,30	8,31	1
	0,08	96,25	78,81	98,72	83,50	194,97	162,31	97,49	2
	0,10	95,38	77,58	98,39	82,71	193,77	160,29	96,89	3
	0,12	90,02	71,58	98,15	82,14	188,17	153,72	94,09	4
Nimfa	0,00	0,00	3,09	0,00	6,42	0,00	9,51	0,00	5
	0,08	93,63	75,38	98,37	82,66	192,00	158,04	96,00	6
	0,10	91,78	73,23	98,21	82,31	189,99	155,54	95,00	7
	0,12	91,47	73,02	97,99	81,85	189,46	154,87	94,73	8
Dewasa	0,00	0,00	5,53	0,00	5,41	0,00	10,94	0,00	9
	0,08	99,23	84,97	80,77	63,95	180,00	148,92	90,00	10
	0,10	97,80	81,47	97,80	81,47	195,60	162,94	97,80	11
	0,12	95,48	77,72	99,41	85,60	194,89	163,32	97,45	12
Jumlah		705,62	762,08		1467,70				

SIDIK RAGAM

Sumber Ragam	d.b	SS	MS	F
Blok	1	132,82	132,82	2,77
Perlakuan	11	22.832,40	2.075,67	43,23 **
Stadia (S)	2	42,97	21,49	0,45
Dosis (D)	3	22.646,38	7.548,79	157,20 **
Interaksi (SD)	6	143,05	23,84	0,50
Kesalahan	11	528,23	48,02	
Total	23	23.493,45		

Daftar 2. Perbandingan orthogonal dari prosentase penurunan populasi caplak pada daftar 1.

Perlakuan	Ti	Perbandingan (Ci)												7 VS 8	
		1,5,9 Sisa	2,6,10 VS 3,4,7,8 11,12	2 VS 3,4	6 VS 7,8	10 VS 11,12	2,3,4 VS 6,7,8 10,11	2 VS 6,10	6,7,8 VS 10,11,12	3 VS 7,11	4 VS 8,12				
1	27,30	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	162,31	1	2	-2	0	0	2	0	0	-2	0	0	0	0	0
3	160,29	1	-1	1	0	0	2	0	0	0	0	-2	0	0	0
4	153,72	1	-1	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0
5	9,51	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	158,04	1	2	0	2	0	-1	1	1	1	1	0	0	0	0
7	155,54	1	-1	0	-1	0	-1	0	1	0	1	1	0	0	-1
8	154,87	1	-1	0	-1	0	-1	0	1	0	1	0	-1	0	1
9	10,94	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	148,92	1	2	0	0	-2	-1	1	1	-1	-1	0	0	0	0
11	162,94	1	-1	0	0	1	-1	0	0	-1	-1	1	0	0	0
12	163,32	1	-1	0	0	1	-1	1	0	-1	-1	0	-1	0	0
Q		1276,7	-12,14	-10,61	5,67	28,42	9,01	-17,66	-6,73	-2,1	-10,75	-0,67			
KS		72	36	12	12	12	36	12	12	12	12	4			
SS		22.638,37	4,09	9,38	2,68	67,31	2,26	25,99	3,77	0,37	9,63	0,11			

SIDIK RAGAM

Sumber Ragam	d.b	SS	MS	F
I. Blok	1	132,82		
II. Perlakuan :				
1,5,9, VS Sisa	1	22.638,37	22.638,37	471,44 **
2,6,10 VS 3,4,7,8,11,12	1	4,09	4,09	0,09
2 VS 3,4	1	9,38	9,38	0,20
6 VS 7,8	1	2,68	2,68	0,06
10 VS 11,12	1	67,31	67,31	1,40
2,3,4, VS 6,7,8,10,11,12	1	2,26	2,26	0,05
2 VS 6,10	1	25,99	25,99	0,54
6,7,8 VS 10,11,12	1	3,77	3,77	0,08
3 VS 7,11	1	0,37	0,37	0,01
4 VS 8,12	1	9,63	9,63	0,20
7 VS 8	1	0,11	0,11	0,00
III. Kesalahan	11	528,23	48,02	

Dari hasil pengamatan selama 13 hari pada sapi kontrol (Neocidol 0,00%) jumlah populasi terlihat banyak dibandingkan dengan pada sapi yang diberi Neocidol 0,08%, 0,10% dan 0,12%. Rata-rata populasi caplak yang terdapat pada sapi yang tidak diberi Neocidol adalah 30 kali populasi caplak dari sapi yang diberi 0,08% Neocidol atau 22 kali populasi caplak dari sapi yang diberi Neocidol 0,10% ataupun 26 kali populasi caplak dari sapi yang diberi Neocidol 0,12%.

Berdasarkan sidik ragam daftar 3, terlihat adanya pengaruh dosis Neocidol yang sangat nyata ($P < 0,01$), namun pengaruh stadia caplak dan waktu (blok) tidak nyata ($P > 0,05$). Demikian juga interaksi antara stadia caplak dengan dosis Neocidol tidak dijumpai.

Dari sidik ragam daftar 4, dengan uji perbandingan orthogonal, ternyata perbedaan antara kontrol dengan pemberian Neocidol berbeda sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan perbedaan pengaruh antara dosis Neocidol 0,08%, 0,10% dan 0,12% tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Demikian juga antara larva, nimfa dan dewasa, tidak ditemukan perbedaan yang berarti jika diberi Neocidol dengan dosis 0,08%, 0,10% ataupun 0,12%.

Sama halnya seperti pada percobaan kuratif, garis regresi yang menghubungkan antara jumlah populasi caplak dengan dosis Neocidol, tidak dapat diandalkan ($P > 0,05$).

Daftar 3. Rata-rata jumlah caplak per-ekor sapi per-hari dalam pengamatan selama 13 hari sesudah pemberian Neocidol dengan 4 ulangan dalam 2 blok waktu.

Stadia Caplak	Dosis Neocidol	Blok		Jumlah	Rata-rata	Nomor Perlakuan
		1	2			
Larva	0,00	326	169	495	248	(1)
	0,08	7	15	22	11	(2)
	0,10	12	20	32	16	(3)
	0,12	16	15	31	16	(4)
Nimfa	0,00	270	50	320	160	(5)
	0,08	4	1	5	3	(6)
	0,10	1	4	5	3	(7)
	0,12	2	1	3	2	(8)
Dewasa	0,00	19	3	22	11	(9)
	0,08	0	0	0	0	(10)
	0,10	0	0	0	0	(11)
	0,12	0	0	0	0	(12)
Jumlah :		657	278	935		

SIDIK RAGAM

Sumber Ragam	d.b	SS	MS	F
Blok	1	5.985,04	5.985,04	2,14
Stadia (S)	2	19.545,59	9.772,80	3,50
Dosis (D)	3	80.877,79	26.959,26	9,65 **
Interaksi (SD)	6	38.368,71	6.394,79	2,29
Kesalahan	11	30.741,46	2.794,68	

Daftar 4. Perbandingan orthogonal dari rata-rata jumlah caplak pada daftar 3.

Perlakuan	Ti	Perbandingan (Ci)											
		1,5,9 VS Sisa	2,6,10 VS 3,4,7,8, 11,12	2 VS 3,4	6 VS 7,8	10 VS 11,12	2,3,4 VS 6,7,8, 10,11,12,	2 VS 6,10	6,7,8 VS 10,11,12	3 VS 7,11	4 VS 8,12	7 VS 8	
1	495	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	22	1	2	-2	0	0	2	-2	0	0	0	0	0
3	32	1	-1	1	0	0	2	0	0	-2	0	0	0
4	31	1	-1	1	0	0	2	0	0	0	2	0	0
5	320	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	5	1	2	0	2	0	-1	1	1	0	0	0	0
7	5	1	-1	0	-1	0	-1	0	1	1	0	0	-1
8	3	1	-1	0	-1	0	-1	0	1	0	-1	1	0
9	22	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	1	2	0	0	-2	-1	1	-1	0	0	0	0
11	0	1	-1	0	0	1	-1	0	-1	1	0	0	0
12	0	1	-1	0	0	0	-1	1	-1	0	-1	0	0
Q		-2413	-17	-19	-2	-44	-157	-39	85	-59	59	-2	
Kr		72	36	12	12	12	36	12	12	12	12	4	
SS		80.869,01	8,03	30,08	0,33	161,33	684,69	126,75	602,08	290,08	290,08	1,00	

SIDIK RAGAM

Sumber Ragam	d.b	SS	MS	F
I. Blok	1	5.985,04		
II. Perlakuan :				
1,5,9 VS Sisa	1	80.869,01	80.869,01	28,94 **
2,6,10 VS 3,4,7,8,11,12	1	8,03	8,03	0,00
2 VS 3,4	1	30,08	30,08	0,01
6 VS 7,8	1	0,33	0,33	0,00
10 VS 11,12	1	161,33	161,33	0,6
2,3,4 VS 6,7,8,10,11,12	1	684,69	684,69	0,24
2 VS 6,10	1	126,75	126,75	0,05
6,7,8 VS 10,11,12	1	602,08	602,08	0,22
3 VS 7,11	1	290,08	290,08	0,10
4 VS 8,12	1	290,08	290,08	0,10
7 VS 8	1	1,00	1,00	0,00
III. Kesalahan	11	30.741,46	2.794,68	

P E M B A H A S A N

Pada tahun 1975 pernah dicoba efikasi dan safety Neocidol terhadap caplak pada sapi. Konsentrasi bahan aktif yang dipakai adalah 0,04%, 0,06%, 0,08% dan 0,00% sebagai kontrol. Setelah diolah secara statistik hasilnya hanya mematikan caplak kira-kira 55% pada konsentrasi 0,08% (data belum dipublikasi).

Berdasarkan kenyataan di atas pada percobaan ini ditentukan dosis Neocidol yang lebih tinggi yaitu 0,08%, 0,10% dan 0,12% dengan harapan daya bunuhnyapun akan lebih tinggi.

Di luar negeri dianjurkan pemakaian konsentrasi 0,06% dengan cara dip dan konsentrasi 0,08% dengan semprot. Berdasarkan hasil percobaan, di Indonesia dianjurkan mempergunakan konsentrasi 0,08% untuk semprot atau dioleskan pada tubuh sapi. Cara dip tidak diutamakan dalam percobaan ini mengingat situasi dan kondisi di Indonesia namun perlu juga dipikirkan pada penelitian berikutnya.

Keampuhan Neocidol untuk memberantas caplak pada hewan-hewan lain sungguh diperlukan juga datanya. Selama percobaan tidak ditemukan gejala-gejala keracunan, hal itu menunjukkan bahwa dosis yang dipergunakan masih dalam batas tidak membahayakan hewan-hewan percobaan.

Untuk meyakinkan data ini masih perlu diadakan percobaan pada lapangan yang berbeda-beda di seluruh Indonesia, sekurang-kurangnya tiga wilayah yaitu Indonesia bagian Timur, Tengah dan Barat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kuratif

Untuk membuktikan kemampuan Neocidol secara kuratif telah dicoba dengan pemberian dosis 0,08%, 0,10%, 0,12% pada ternak sapi, disertai kontrol yang tidak diberi Neocidol. Dari hasil percobaan ternyata : Ada pengaruh yang sangat nyata terhadap populasi caplak yang diberi Neocidol dengan dosis 0,08%, 0,10% dan 0,12% dibandingkan dengan jika tidak diberi Neocidol. Akibat pemberian Neocidol dengan dosis 0,08%, 0,10% dan 0,12%, dapat menurunkan populasi caplak berturut-turut rata-rata 94,50%, 96,56% dan 95,42%. Berdasarkan uji statistik, tidak ditemukan adanya pengaruh waktu pemberian, maupun pengaruh stadia caplak dan juga tidak ditemukan perbedaan yang nyata antara dosis Neocidol 0,08%, 0,10% dan 0,12% terhadap penurunan jumlah populasi caplak. Ditinjau dari segi ekonomi, pemberian Neocidol 0,08% adalah lebih dianjurkan dibandingkan dengan dosis 0,10% ataupun 0,12%. Untuk mendapatkan dosis yang paling optimal dan juga untuk meyakinkan hasil percobaan ini, masih perlu penelitian yang lebih lanjut. Pada penelitian selanjutnya sample hendaknya berasal dari tempat-tempat penjualan di pasar. Sebelum diperoleh data yang lebih sempurna maka pemakaian Neocidol sebagai pembasmi caplak dapat dibenarkan.

Preventif

Selain sebagai kuratif, juga sebagai preventif, Neocidol telah dicoba dengan dosis 0,08%, 0,10%, 0,12% pada ternak sapi, disertai kontrol. Dari hasil percobaan ternyata : Ada pengaruh yang sangat nyata di dalam mempertahankan keadaan bebasnya sapi-sapi dari infestasi caplak, jika diberi Neocidol dengan dosis 0,08%, 0,10% dan 0,12% dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan uji statistik, tidak ditemukan adanya pengaruh waktu pemberian, maupun pengaruh stadia caplak, dan juga tidak ditemukan perbedaan yang nyata antara dosis Neocidol 0,08%, 0,10% dan 0,12% terhadap pengaruh dalam mempertahankan keadaan bebasnya ternak sapi dari infestasi caplak. Populasi caplak pada ternak sapi yang tidak diberi Neocidol

rata-rata 30 kali jumlah populasi caplak dari sapi yang diberi 0,08% Neocidol, atau 22 kali populasi caplak dari sapi yang diberi Neocidol 0,10% ataupun 26 kali populasi caplak dari sapi yang diberi Neocidol 0,12%. Ditinjau dari segi ekonomi, pemberian Neocidol 0,08% secara preventif adalah lebih dianjurkan dari pada dengan dosis 0,10% ataupun 0,12%. Untuk mendapatkan dosis yang paling optimal dan juga untuk meyakinkan percobaan ini, lebih lanjut. Sample untuk penelitian berikutnya sebaiknya diambil dari tempat penjualan di pasar. Sebelum diperoleh data yang lebih sempurna maka pemakaian Neocidol untuk mencegah infestasi caplak dapat dibenarkan.

Penyemprotan harus diulang setiap dua belas hari baik untuk kuratif maupun untuk preventif di waktu musim panas dan setiap tujuh hari di waktu musim hujan dan infestasi caplak yang berat. Anak sapi berumur kurang dari dua bulan dan sapi-sapi yang sakit tidak boleh disemprot dengan Neocidol. Rekomendasi ini didasarkan pada hasil penelitian prosentase penurunan populasi caplak yang diamati selama 13 hari (perhatikan daftar 1 dan 3).

S U M M A R Y

The Experiment in Indonesia realized that Neocidol is a Product, that has Active Diazinon, is good to fight against tick on stabled or tented cows. The concentration that (was) recommended is 0,08% from the Active with Application to be sprayed and smeared on cow's body. Neocidol can also be used as a preventing and medical Treatment to tick on cows.

Observing the economical Reason, Spraying is Suggested to be done with interval; 7 days in the rainy season and 12 in the dry. Observing the toxicologic, Neocidol is one of the safe ectoparasiticide (s).

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama ditujukan kepada Drh. Moch. Sya'ban Maidie atas nasehat-nasehat yang diberikan, Kepada Dekan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor dan seluruh Staf Bagian Ternak Potong yang telah membantu dalam pengadaan hewan-hewan percobaan, kandang serta pelaksanaan percobaan. Juga ucapan terima kasih ditujukan kepada Saudara Oeko, Sriyana dan Komarudin yang telah membantu pelaksanaan percobaan. Terakhir ditujukan kepada pihak CIBA GEIGY Ltd, yang telah membantu dalam pengadaan sample insektisida Neocidol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anderson, P.H. & Machim, A.F. (1969). *Vet. Rec.* 85 : 484 - 487.
2. Andrews, A. H., Metrose, D.R. & Lewis, W. H. E. (1976), *Vet. Rec.* 99 : 187.
3. Clarke, E. G. C. & Clarke Myra L. (1967). *Garner's Veterinary Toxicology* 3rd ed. : 247 - 248.
4. Clarke, E. G. C. & Clarke Myra, (1975), *Veterinary Toxicology* 1st ed : 210.
5. Casarett, Louis J. & Doull John (1975), *Toxicology. The Basic Science of poisons* : 416 - 418.
6. Federer, W. T. (1974) *Experimental Design* 2nd Indian reprint.
7. Hungeford T. G. (1970), *Diseases of Livestock* 7th ed. : 959 - 963.
8. Khan, M. A. (1973) *Vet. Rec.* 92 : 411 - 419.
9. Smith Hilton Atmore; Jones Thomas Carlyle & Hunt Ronald Duncan (1972), *Veterinary Pathology* 4th ed. : 966 - 967.
10. Snedecor, G. W. & Cochran, W. G. (1968), *Statistical Methods* 6th ed.
11. *The Merck Veterinary Manual* 4th ed, 1973.