

Daya Reduksi Cendawan *Duddingtonia flagrans* dan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Larva Cacing *Haemonchus contortus* pada Domba

(THE REDUCTION POTENCY OF DUDDINGTONIA FLAGRANS AND SACCHAROMYCES CEREVISIAE FUNGI AGAINST LARVAE HAEMONCHUS CONTORTUS IN SHEEP)

RIZA ZAINUDDIN AHMAD¹, FADJAR SATRIJA², NAMPIAH SUKARNO³, FACHRIAN HASMI PASARIBU²

¹Lab Mikologi Balai Besar Penelitian Veteriner, Jalan RE Martadinata, Bogor, Mahasiswa Pascasarjana IPB

²Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Jalan Agathis Dramaga, Bogor

³Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, jurusan Biologi Institut Pertanian Jalan Agathis Dramaga Sains Veteriner Bogor.

Abstrak

Salah satu masalah pada ternak domba adalah cacingan (haemonchosis) yang disebabkan oleh nematoda *Haemonchus contortus*. Pada umumnya pengendalian penyakit tersebut dilakukan secara kimia dengan menggunakan anthelmintika. Penelitian pengendalian secara biologi (hayati), telah dilakukan dengan menggunakan cendawan *Duddingtonia flagrans* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian tersebut dilakukan melalui 2 percobaan sebagai berikut; Percobaan I. Duapuluh ekor domba dibagi ke dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok (5 ekor domba) selama 5 minggu diperlakukan sebagai berikut; A. Tidak diberi perlakuan (kontrol), B. Diberi perlakuan 1×10^6 spora *D. flagrans*, C. Diberi perlakuan 1×10^6 spora *S. cerevisiae*, D. Diberi perlakuan 1×10^6 spora *D. flagrans* dan 1×10^6 spora *S. cerevisiae*. Percobaan II. Dilakukan dengan menggunakan lima ekor domba yang tidak terinfeksi *H. contortus* (EPG=0). Setiap ekor domba diberi perlakuan sebagai berikut; A. Diberi 1×10^6 *D. flagrans*; B. Diberi 1×10^7 *D. flagrans*; C. Diberi 1×10^6 *S. cerevisiae*; D. Diberi 1×10^{12} *S. cerevisiae*; dan E. Tidak diberi perlakuan (kontrol). Percobaan dilakukan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 5 ulangan. Hasil percobaan I menunjukkan bahwa jumlah larva *H. contortus* pada domba yang diberi perlakuan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Hasil percobaan II menunjukkan bahwa larva *H. contortus*/ gram tinja pada domba yang diberi perlakuan, nyata lebih rendah ($P < 0,05$) dibanding dengan kontrol. Dari percobaan ini dapat disimpulkan bahwa *D. flagrans* dan *S. cerevisiae* mampu mengurangi (mereduksi) populasi larva nematoda *H. contortus* pada domba.

Kata kunci : *D. flagrans*, *H. contortus*, *S. cerevisiae*, reduksi

J Vet 2007 8 (1) : 46-52

Abstract

One of the problems in sheep is worm disease (haemonchosis) caused by *Haemonchus contortus* nematode. Commonly the control of the disease is done by using anthelmintic chemical. The biological control was done by using *Duddingtonia flagrans* and *Saccharomyces cerevisiae* fungi. This research was done in two experiments as followed; the first experiment. 20 Sheep were divided into 4 groups. Each group (5 sheep) for 5 weeks was treated following; A. group as the control; B. group was given 1×10^6 *D. flagrans*; C. group was given 1×10^6 *S. cerevisiae*; and D. group was given 1×10^6 *D. flagrans*, and 1×10^6 *S. cerevisiae*. The second experiment was done by using uninfected 5 sheep with (nil) EPG of *H. contortus*. Each sheep was treated in the following; A. sheep was given 1×10^6 *D. flagrans*; B. sheep was given 1×10^7 *D. flagrans*; C. sheep was given 1×10^6 *S. cerevisiae*; D. sheep was given 1×10^{12} *S. cerevisiae* and E. sheep was as the control. The experiment was done in complete random design (CRD). The first experiment result showed that the number of *H. contortus* larvae in sheep treated was not differ significantly ($P > 0.05$) compared to the control. The result of the second experiment showed that number of *H. contortus* larvae in gram in feces in sheep treated was significantly lower ($P < 0.05$) compared to the control. From this experiment it can be concluded that *D. flagrans* and *S. cerevisiae* can reduce *H. contortus* larvae in sheep.

Key words: *D. flagrans*, *S. cerevisiae*, *H. contortus*, reduction.

J Vet 2007 8 (1) : 46-52

PENDAHULUAN

Penyakit Haemonchosis yang disebabkan oleh *Haemonchus contortus* (HC) merupakan salah satu masalah pada ruminansia kecil khususnya domba. Penyakit ini menyebabkan penurunan bobot badan, diare, dan kekurusannya yang diderita oleh ternak dan merupakan salah satu masalah yang dihadapi peternakan di Indonesia. Kerugian akibat infeksi nematoda pada kambing dengan populasi kurang dari 9.000.000 ekor diperkirakan mencapai Rp 7 miliar/tahun (Rachmat *et al.* 1998), sedangkan pada tahun 2004 akan lebih besar karena populasi kambing telah mencapai 13.441.699 ekor dan domba 8.245.871 ekor (Dirjen Peternakan 2004).

Penanggulangan haemonchosis umumnya dilakukan dengan anthelmintika yang beresiko resistensi, sedangkan dengan pengendalian lain seperti penggunaan agen hayati, manajemen penggembalaan, vaksinasi, dan seleksi ras yang resisten belum banyak dilakukan di Indonesia. Di Indonesia pemilihan penanggulangan secara hayati dengan menggunakan cendawan telah dilakukan mulai tahun 2000, karena peluangnya cukup besar (Ahmad 2005a) namun sampai sekarang penggunaannya belum memasyarakat. Meskipun hasil beberapa penelitian terbatas di laboratorium dan padang gembala di dalam negeri dapat dikatakan memuaskan (Mustika dan Ahmad, 2004; Ahmad 2005a), namun penelitian intensif perlu ditingkatkan. Sementara itu di luar negeri penggunaan *Duddingtonia flagrans* (DF) sebagai cara pengendalian hayati terhadap cacing nematoda pada ternak sudah dilakukan dengan hasil yang memuaskan, khususnya pada ruminansia (Larsen 2000; Sanyal and Mukhopadhyaya, 2004;

Waller *et al.* 2006; Gomez *et al.* 2007; Paraud *et al.* 2007).

Selain DF, khamir *Saccharomyces cerevisiae* (SC) telah diketahui dan digunakan sebagai probiotik, *feed additive*, dan imunostimulan untuk ternak (Ahmad 2005b; Pelizon *et al.* 2003; Chaucheyras-durand *et al.* 2005). Selain itu SC dilaporkan juga dapat mereduksi (menurunkan) angka kelahiran kelinci dengan cara merusak proses spermatogenesis (Pitojo 1995), diduga hal yang sama akan terjadi pada saluran reproduksi cacing dewasa (pada penelitian terdahulu). Namun sejauh ini masih belum ada publikasi reduksi secara *in vitro*. Percobaan ini bertujuan untuk mengevaluasi daya reduksi dari DF dan SC terhadap larva₃ HC secara *in vivo*.

METODE PENELITIAN

Isolat Cendawan dan Larva₃ *H. contortus*

Isolat kapang DF yang digunakan adalah isolat lokal yang telah diteliti dan dikarakterisasi Ahmad (2003), dan khamir SC yang digunakan adalah isolat yang telah diisolasi dan identifikasi dari Kabupaten Cianjur Jawa Barat pada tahun 2002 (Istiana *et al.* 2002).

Larva diambil dari saluran pencernaan (abomasum) domba dari jagal (rumah potong hewan), diambil seperlunya untuk membuat domba donor tinja yang mengandung larva, kemudian cairan abomasum ditampung, cacing yang mengandung telur diambil lalu dipupuk untuk mendapatkan larvanya.

Inokulum DF dibuat dengan cara menginkubasikan pada media *Yeast Corn Meal Agar* (YCMA) selama 10 hari pada temperatur kamar 24°C -30°C, lalu spora (konidia) dipanen dengan cara mengerok-

nya, kemudian spora dihitung dengan hemositometer. Hal yang sama dilakukan pada SC dengan waktu inkubasi 3 hari pada media CMA.

Domba dan Anthelmintika

Pada percobaan I dipakai domba lokal sebanyak 20 ekor, dengan bobot badan rata-rata 10 kg, dan berumur 10-12 bulan. Domba tersebut dibagi menjadi 4 kelompok (masing-masing 5 ekor). Ternak dipelihara dalam kandang, diberi makan rumput *ad libitum*, dan konsentrat. Diberi obat cacing levamisol (anthelmintika), setelah diperiksa dan dihitung telur per gram tinjanya (EPG) kosong dengan modifikasi metode Whitlock (1948), maka domba tersebut diinfeksi kembali dengan larva HC. Setelah domba-domba terinfeksi lebih dari 1000 epg, maka hewan siap diberi perlakuan. Khusus kontrol (kelompok I), setelah EPG kosong tidak diinfeksi kembali dengan larva HC. Tinja domba tersebut diambil untuk diperiksa telur dan larva cacing. Sementara itu pada percobaan ke II domba yang disiapkan 5 ekor yang bebas cacing dan 1 ekor sebagai domba donor.

Perlakuan

Pada percobaan I dilakukan terhadap 20 ekor domba yang telah disiapkan tersebut di atas dengan cara diberikan perlakuan secara berturut-turut selama 5 minggu sebagai berikut; (A) domba tidak diberi perlakuan; (B) domba diberi 1×10^6 konidia dan klamidospora DF; (C) domba diberi 1×10^6 spora SC; dan (D) domba diberi 1×10^6 konidia dan klamidospora DF dan 1×10^6 spora SC. Pemeriksaan larva dilakukan terhadap setiap 5 gram tinja persampel. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 5 ulangan.

Percobaan II dilakukan dengan menggunakan 5 ekor domba yang tinjanya

tidak mengandung telur HC (EPG =0). Perlakuan yang diuji sbb: (A) Domba yang diberi 1×10^6 konidia dan klamidospora DF; (B) domba diberi 1×10^7 konidia dan klamidospora DF; (C) domba diberi 1×10^6 spora SC; (D) diberi spora 1×10^{12} SC; (E) domba tidak diberi diperlakukan sebagai kontrol. Pemeriksaan larva dilakukan pada setiap 3 gram tinja per ekor domba, kemudian larva pergram tinja dihitung seminggu kemudian. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 ulangan.

Pengamatan

Pada percobaan pertama setiap 1 minggu diperiksa larva per gram tinja (LPG) dengan metode *Ministry of Agriculture, Fisheries and Food* (1979) yang dimodifikasi selama 5 minggu. Pada percobaan ke dua pengambilan dan pengamatan terhadap larva tinja domba dilakukan pada hari ke 1, 3, 5, dan 7 hari setelah perlakuan.

Analisis Statistika

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini diuji secara statistika. Adapun uji statistika yang dipakai adalah bartlett's test dan dapat dilanjutkan dengan bonferroni test bila diperlukan dengan bantuan program Stata (2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I : Hasil percobaan I (dapat dilihat pada Tabel 1), menunjukkan bahwa penurunan jumlah larva HC pada domba yang diberi perlakuan DF dan SC baik secara tunggal maupun gabungan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Hal ini diduga karena jumlah dosis dan interaksi yang terjadi antara ketiga mikroorganisma (DF, HC, SC) di dalam tubuh domba hidup. Diketahui

bahwa hewan mempunyai sistem kekebalan tubuh, bila ada infeksi maka hewan akan melakukan tanggap kebal terhadap serangan penyakit termasuk serangan cacing HC. DF efektif bekerja di luar tubuh inang (domba). Sedangkan SC dapat sebagai probiotik bila dengan mikroorganisma lainnya, dan sebagai imunostimulan (Ahmad 2005b). SC akan mendukung kesehatan tubuh inang. Namun lebih jauh lagi SC akan mengurangi larva HC seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Meski pada tabel 1 ini belum ada bedanya. Hal ini karena dosisnya belum tepat benar.

Pada Tabel 1 percobaan I belum menunjukkan perbedaan nyata terhadap penurunan larva per gram tinja setelah perlakuan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Di dalam percobaan ini dosis sangat berpengaruh terhadap reduksi selain interaksi antara mikroba di dalam inang. Di dalam tubuh inang telah terjadi beberapa proses, antara lain cacing dewasa masih terus bertelur, SC dapat berkembang biak di dalam rumen dan berinteraksi positif dan negatif dengan mikroba rumen (Callaway and Martin, 1997; Sullivan and Martin, 1999; Chaucheyras-durand *et al.* 2005). Di duga pada ambang batas (dalam jumlah yang tidak mengganggu keseimbangan mikroflora di dalam tubuh inang) tertentu SC akan efektif di dalam mereduksi. Pada percobaan ke II dengan dosis 1×10^6 dapat menurunkan larva dengan jumlah telur per gram tinja kira-kira 1000 pada satu

kali infeksi pada waktu pengamatan 1 dan 2. Hal ini terjadi karena perlakuan di luar tubuh inang (HC, DF dan SC) dipisah, masing-masing pada hewan yang berbeda, pencampuran perlakuan dilakukan di luar tubuh inang, sehingga jumlah infeksi HC tidak berubah, interaksi ketiga mikroorganisma tersebut di dalam tubuh inang tidak ada). Namun pada waktu pengamatan berikutnya tidak efektif karena tidak beda nyata (Tabel 2), karena itu dosis harus benar-benar tepat, demikian pula untuk itu perlakuan di dalam tubuh inang dosis perlu ditingkatkan (Tabel 1 hasil belum menunjukkan beda nyata).

Menurut Sanyal dan Mukhopadhyaya (2004) pemberian DF dengan dosis 1×10^6 klamidospora/kg berat badan atau lebih merupakan dosis yang paling efektif mereduksi larva dibandingkan dengan dosis 1 dan 2×10^6 . Hal ini mendukung percobaan ini karena dari hasil pemberian dengan spora dan klamidospora 1×10^6 /ekor/hari pada percobaan ini belum menunjukkan hasil beda nyata ($P > 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk itu dilakukan percobaan II, dengan dosis yang lebih ditingkatkan dan perlakuan yang berbeda.

Perbedaan cara perlakuan antara percobaan I dan II dengan dosis perlakuan yang sama, ternyata memberikan hasil yang berbeda. Pada percobaan I cacing dan cendawan perlakuan ada di dalam tubuh domba yang sama, sedangkan pada percobaan II cacing dan cendawan

Tabel 1. Rataan reduksi larva per gram tinja (LPG) selama 5 minggu

Kelompok	Jumlah larva telur pergram tinja (Minggu ke)					
	0	1	2	3	4	5
Kontrol	684,5 ^a ± 356,7	2864,5 ^a ± 1834,5	470 ^a ± 192,2	1069 ^a ± 343,1	548 ^a ± 140,7	2362 ^a ± 3589,7
DF 1×10^6	2822,4 ^a ± 2158,5	2393,6 ^a ± 785,0	616 ^a ± 245,5	1191,2 ^a ± 619,6	339,2 ^a ± 54,1	612 ^a ± 149,0
SC 1×10^6	3385,2 ^a ± 3062,4	2277,4 ^a ± 661,6	1516 ^a ± 1055,2	2051,2 ^a ± 1240,8	576,8 ^a ± 332,6	1036 ^a ± 468,5
DF 1×10^6 + SC 1×10^6	2534,8 ^a ± 809,7	2415 ± 1123,6	644 ^a ± 232,4	1471,2 ^a ± 449,3	385,6 ^a ± 49,4	628 ^a ± 401,0

Keterangan: Angka-angka dengan huruf kecil superskrip yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf $P > 0,05$.

Tabel 2. Rataan reduksi cendawan terhadap larva *H. contortus*

Kelompok	Jumlah larva yang tereduksi pada hari uji ke- dibandingkan dengan jumlah awal		
	1	2	3
DF 1x 10 ⁶	61,61 ^{ab} ± 9,70	63,90 ^{ab} ± 7,64	71,91 ^{ab} ± 5,79
DF 1 x 10 ⁷	46,16 ^{ab} ± 12,95	43,38 ^{ab} ± 15,64	64,68 ^{abd} ± 7,27
SC 1 x 10 ⁶	10,39 ^c ± 19,33	0,93 ^{cbd} ± 20	1,80 ^{cdc} ± 36,49
SC 1 x 10 ¹²	20,64 ^d ± 17,43	14,72 ^{cbd} ± 1,67	32,77 ^{bede} ± 7,08
Kontrol	-46,15 ^e ± 21,81	-37,62 ^e ± 19,31	18,64 ^{ede} ± 11,20

Keterangan: Angka-angka dengan huruf kecil yang sama superskrip menunjukkan berbeda nyata pada taraf P < 0.05.

perlakuan ada di dalam tubuh domba yang berbeda. Pada Tabel 2 hasil pengamatan terhadap selisih reduksi (jumlah larva waktu pengamatan akhir dikurangi pengamatan awal) dari awal perlakuan mempunyai perbedaan yang nyata dan tidak pada hari perlakuan ke-1, ke-2 dan ke 3. Setelah hari ke-3 perlakuan pengamatan ke-1 menunjukkan pemberian dengan dosis 1 x 10⁶ spora DF dan dosis 1 x 10⁷ spora DF keduanya dapat menurunkan larva HC meskipun dengan jumlah tidak berbeda (p>0,05) bila dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan). Keduanya menurunkan lebih banyak larva dari pada yang diberi perlakuan dengan SC. Sedangkan SC dengan dosis 1x10¹² spora SC lebih mereduksi larva HC dibandingkan dengan kelompok dosis 1x10⁶ spora SC, sehingga pada hari pertama dosis DF tidak terlalu berpengaruh dalam menurunkan larva, sebaliknya dosis SC sudah berpengaruh. DF lebih mereduksi larva di bandingkan dengan SC. Pengamatan ke-2 yaitu hari ke-5 sesudah perlakuan pada Tabel 2 menunjukkan kelompok yang diberi spora DF tidak berbeda nyata dalam menurunkan larva dan berbeda dengan kelompok yang diberi SC. Pada kelompok DF dengan dosis spora 1 x 10⁶ dan SC dosis spora 1 x 10¹² tidak berbeda nyata dalam

menurunkan larva. Ke-4 kelompok perlakuan dapat menurunkan larva bila dibanding dengan kontrol. Pada pengamatan ke-3 yaitu hari ke-7 setelah perlakuan kelompok yang diberi spora DF dapat mereduksi larva dan tidak berbeda hasilnya dengan dosis yang berbeda tersebut. Sebaliknya kelompok yang diberi spora SC tidak dapat menurunkan larva HC bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan adanya suatu interaksi dalam reduksi larva HC. Pada awalnya DF dan SC masih dapat mereduksi larva namun setelah hari ke-7 perlakuan SC secara statistika tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan) di dalam menurunkan larva HC. Berbagai macam faktor dapat mempengaruhi hal tersebut, antara lain metabolisme interaksi antar mikroba (Sullivan and Martin, 1999). Beberapa penelitian dengan pemberian spora (konidia) DF pada berbagai jenis hewan (domba, kambing, kuda, sapi) pada berbagai macam kondisi yaitu hewan digembalakan atau dikandangkan dengan dosis berkisar antara 1 x 10⁶ sampai dengan 1x10⁷ telah memberikan hasil yang signifikan dalam mereduksi larva (Larsen 2000; Paraud et al. 2007).

Interaksi dapat bersifat positif atau negatif sehingga akhirnya akan

mempengaruhi kemampuan cendawan di dalam mereduksi cacing. Hal ini dapat di atasi bila sudah menemukan dosis yang benar-benar tepat, karena diketahui bahwa pemberian SC akan mempengaruhi keseimbangan mikroflora di dalam rumen, juga berfungsi sebagai probiotik dan imunostimulan bagi domba. Selain itu di dalam tubuh domba hidup ada sistem pertahanan tubuh terhadap serangan penyakit yang sangat mempengaruhi cacing di dalam tubuh inang. Bila pertahanan lemah maka jumlah cacing yang berkembang biak lebih banyak di dalam tubuh, sebaliknya bila kuat maka jumlah cacing yang ada di dalam tubuh sangat sedikit. Sehingga untuk SC dosis haruslah tepat karena khamir ini bekerja dengan cara berbeda di dalam tubuh diduga dapat membunuh telur, merusak reproduksi cacing dewasa (hasil pada penelitian sebelumnya yang belum dipublikasi) sedangkan DF hanya bekerja membunuh larva di luar tubuh inang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Cendawan DF dan SC dapat mereduksi larva HC secara in vivo pada dosis tertentu. DF dengan jumlah spora 1×10^6 dan 1×10^7 dapat mereduksi larva, sedangkan SC dengan dosis 1×10^6 sebaiknya untuk percobaan pertama dipakai dosis 1×10^{12} SC dan 1×10^7 DF dalam waktu penggunaan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad RZ. 2005a. Pemanfaatan cendawan *Arthrobotrys oligospora* dan *Duddingtonia flagrans* untuk pengendalian haemonchosis pada ruminansia kecil di Indonesia. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 24 (4): 143-148.
- Ahmad RZ. 2005b. Pemanfaatan khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk ternak. *Wartazoa*. 15 (1): 49-55.
- Ahmad R.Z. 2003. Potensi *Duddingtonia flagrans* sebagai kapang nematofagus. *J. Mikol Ked Indon* ; (4);14-20/ 2004; 5 (1-2):14-20.
- Callaway ES, Martin SA. 1997. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci* 80: 2035-2044.
- Chaucheyras-Durand F, Masegila S, Fonty G. 2005. Effect of the microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM1-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown in vitro. *Curr Microbiol* (2): 96-101.
- Dirjen Peternakan 2004. *Statistik Peternakan*. Dirjen Bina Produksi Peternakan. Jakarta
- Gomez_Rincon C, Uriarte J, Valberrabano J. 2007. Effect of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* and energy supplementation on the epidemiology of naturally infected kids. *Vet. Res*. 38: 141-150.

- Istiana, Kusumaningtyas E, Gholib D, Hastiono S. 2002. Isolasi dan Identifikasi *Saccharomyces cerevisiae* beserta *in vitro* terhadap (*Salmonella typhimurium*). *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Ciawi Bogor 30 Sept –1 Okt 2002: 459-462.
- Larsen M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. *Parasitology*. 120: S121-S131.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1979. *Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques..* Technical Bulletin No: 18, second edition Her Majesty's Stationery Office. London.
- Mustika I, Ahmad RZ. 2004. Peluang pemanfaatan jamur nematofagus untuk mengendalikan nematoda parasit pada tanaman dan ternak. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 23(4): 115-122.
- Paraud C, Pors I, Chartier C. 2007. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydo spores to control nematode parasities of first-season grazing goats in France. *Vet Res Comm* 31 : 305-315 .
- Pelizon AC, Kaneno R, Soares AM, Meira DA, Sartori A. 2003. Down-modulation of lymphoproliferation and interferon gamma production by beta-glucan derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (8): 1083-1087.
- Pitojo TB. 1995. Perubahan struktur testis, hati dan ginjal kelinci akibat perlakuan ragi *Buletin IPKHI*, (4):1 Jan-jun : 30-34.
- Rachmat R, Rauf A, Kanro MZ. 1998. Kontribusi getah pepaya dalam pengendalian penyakit cacing pada kambing. *Prosiding Seminar Hortikultura*. Kerjasama Fakultas Pertanian dan Kehutanan UNHAS dengan IP2TP JenePonto. B P T P Kendari : 432-434.
- Sanyal PK, Mukhopadhyaya PN. 2003. Top Dressing of Feed with Desiccated Chlamydo spores of *Duddingtonia flagrans* for Biological Control of The Pre-Parasitic Stages of ovine *Haemonchus contortus*. *Vet Res Com.* (27) 5 : 381-390.
- Stata. 2003. Statistics Data Analysis. <http://www.stata.com> stata@stata.com
- Sullivan HM, Martin SA. 1999. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Dairy Sci* 82: 2011-2016
- Waller PJ, Ljungstrom BL, Schwan O, Martin LR, Morrison DA, Rydzik A. 2006. Biological Control of Sheep Parasites using *Duddingtonia flagrans*: Trials on Commercial Farms in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 47 : 23-32.
- Whitlock HV. 1948. Some modification of the McMaster helminth egg counting technique and apparants. *J the Council for scientific and Industrial Research* 21: 177-180.