

## **Daya Ovicidal Ekstrak Kulit Buah Muda (*Calotropis procera*) terhadap *Haemonchus contortus* secara *in vitro***

### **In Vitro Ovicidal Effect of Young Fruit Skin Extract (*Calotropis procera*) on *Haemonchus contortus***

**I Gusti Komang Oka Wirawan<sup>1</sup>, Wisnu Nurcahyo<sup>2</sup>, Joko Prastowo<sup>2</sup>, Kurniasih<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kesehatan Hewan Politeknik Pertanian Negeri Kupang

Jl. Prof. Dr. Herman Yohanes Kelurahan Lasiana, Kupang, Nusa Tenggara Timur

<sup>2</sup>Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Jl. Fauna No. 2, Karangmalang, Yogyakarta

<sup>3</sup>Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Jl. Fauna No. 2, Karangmalang, Yogyakarta

Email: oka\_sayun@yahoo.com

### **Abstract**

This study aims to determine the effective concentration of young fruit skin *Calotropis procera* (*C. procera*) in inhibiting the development of *Haemonchus contortus* worm eggs in vitro. The study was divided into 5 treatment groups consisting of 3 *C. procera* extracts treatment groups with concentrations: 2.5%, 3.5%, 4.5% of 0.2g / ml of the stock solution, a negative control group (-) using distilled water and a positive control group (+) using albendazole with concentration of 0.055%. The data were analyzed descriptively. The effective concentration of skin extracts from young *C. procera* (SEYCP) in inhibiting the development of eggs hatching worms *Haemonchus contortus* *in vitro* were: treated SEYCP concentration of 4.5% with a 88% inhibitory effect, SEYCP treatment in 2.5% and 3.5 % yielding inhibitory effect of 70.5% and 81% respectively.

**Key words:** Ovicidal, *Calotropis procera*, *Haemonchus contortus*

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi efektif ekstrak kulit buah muda *Calotropis procera* (*C. procera*) dalam menghambat perkembangan telur cacing *Haemonchus contortus* secara *in-vitro*. Penelitian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan ekstrak *C. procera* dengan konsentrasi masing-masing: 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/ml sediaan larutan ekstrak stok, satu kelompok kontrol negatif (-) menggunakan air suling dan satu kelompok kontrol positif (+) menggunakan albendazole konsentrasi 0,055%. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Konsentrasi efektif ekstrak kulit buah muda *C. procera* (EKBMCP) dalam menghambat perkembangan daya tetas telur cacing *Haemonchus contortus* secara *in-vitro* adalah perlakuan EKBMCP konsentrasi 4,5% dengan daya hambat 88% sedangkan perlakuan EKBMCP konsentrasi 2,5% dan 3,5% daya hambatnya secara berturut-turut adalah 70,5% dan 81%.

**Kata kunci :** Ovicidal, *Calotropis procera*, *Haemonchus contortus*

## Pendahuluan

### Latar Belakang

Kolon susu (*Calotropis procera*) termasuk tumbuhan tropis yang tumbuh secara liar sepanjang musim diberbagai tempat di Indonesia dan berpotensi sebagai antelmintik alternatif, namun potensi ini belum dikembangkan secara maksimal terutama di Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Berdasarkan uji fitokimia kulit buah muda *Calotropis procera* (*C. procera*) mengandung senyawa tanin kondensasi yang secara farmakologik mempunyai daya antelmintik yang kemungkinan bersifat ovicidal, larvacidal, dan vermicidal sehingga dapat digunakan untuk pengendalian prevalensi haemonchosis di propinsi ini yang secara *gradual* dari tahun ke tahun terus meningkat. Alemu *et al.* (2014) melaporkan bahwa ekstrak jenis tanaman dengan konsentrasi tanin kondensasi tinggi dapat mempengaruhi daya tetas telur, perkembangan larva, dan kematian cacing dewasa *Haemonchus contortus*.

*Haemonchus contortus* (*H. contortus*) merupakan cacing penghisap darah dengan organ predileksi di abomasum yang dapat menimbulkan kerugian ekonomi, karena terjadi penurunan berat badan, menghambat produksi dan reproduksi serta anemia. Anemia dapat mengakibatkan gangguan kondisi fisiologi ternak sehingga ternak lebih peka terhadap infeksi mikroorganisme yang lain, dan jika kejadian ini berlanjut dapat menimbulkan kematian. McLeod (2004) melaporkan bahwa sekitar 10% dari populasi domba dunia dan 29% dari populasi kambing yang dipelihara di Asia Tenggara terinfeksi oleh *H. contortus* dan telah diidentifikasi sebagai masalah yang paling serius pada ruminansia kecil di wilayah tersebut. Menurut Suweta (1989) melaporkan bahwa Direktorat Kesehatan Hewan

memperkirakan bahwa kerugian ekonomi akibat infestasi *Haemonchus sp.* pada domba adalah 4.366 juta rupiah pertahun.

Pengendalian haemonchosis pada kambing di Indonesia telah dilakukan oleh tenaga medis kesehatan hewan melalui pendekatan epidemiologik maupun pendekatan klinik, khususnya menggunakan antel mintik konvensional tetapi pengendaliannya mengalami kendala terutama propinsi-propinsi yang terletak di wilayah Timur, seperti Propinsi NTT. Kendalanya adalah keterbatasan persediaan antelmintik yang mempunyai mekanisme kerja ovicidal seperti derivate benzimidazole sehingga secara tidak langsung dapat memutus siklus hidup dari cacing *H. contortus*. Harga dari antlemintik tersebut relatif mahal sehingga tidak terjangkau oleh peternak kambing berpenghasilan rendah dan antelmintik sintetis lebih mudah mengalami resistensi, sesuai dengan pendapat Waller dan Chandrawathani (2005), melaporkan bahwa *H. contortus* pada ruminansia kecil juga resisten terhadap antelmintik yang ada dipasaran diseluruh negara di dunia.

Terkait dengan dampak kerugian dari kejadian haemonchosis dan permasalahan yang dihadapi oleh masyarakat peternak kambing khususnya di Propinsi NTT maka diperlukan penelitian mengenai potensi tanin kondensasi yang terkandung di dalam ekstrak kulit buah muda *C. procera* sebagai antelmintik dan konsentrasi efektif secara farmakoterapi dapat menghambat perkembangan telur cacing *H. contortus* secara *in-vitro*.

### Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi efektif kulit buah muda *C. procera* dalam menghambat perkembangan telur

cacing *Haemonchus contortus* secara *in-vitro*.

Manfaat teoritis hasil penelitian ini, diharapkan dapat sebagai sumber data mengenai konsentrasi efektif kulit buah muda *C. procera* yang dapat menghambat perkembangan telur cacing *H. contortus* secara *in-vitro*. Manfaat praktis yang diharapkan dari penelitian ini adalah data yang diperoleh dapat digunakan sebagai acuan oleh peternak kambing dalam pengendalian haemonchosis pada kambing kacang di Indonesia pada umumnya dan khususnya propinsi NTT dengan biaya yang relatif murah, bahan baku tersedia di alam, proses pengolahan relatif mudah sehingga dapat meningkatkan produksi dan reproduksi ternak kambing.

## Materi dan Metode

Materi utama dalam penelitian ini adalah kulit dan daging buah *Calotropis procera* diperoleh dari wilayah disekitar kampus Universitas Nusa Cendana Propinsi Nusa Tenggara Timur. Cacing *H. contortus* diambil dari abomasum kambing kacang ditempat pemotongan penduduk di wilayah Kotamadya Kupang. Bahan pendukung yang diperlukan adalah NaCl fisiologis 0,9% dan salin, methanol, FeCl<sub>3</sub>, albendazole 0,055% positif(+) dan air suling kontrol negatif(-).

Peralatan yang digunakan meliputi: timbangan elektrik dengan ketelitian 0,001 g, *blender* dan penumbuk, saringan, botol *vacuum*. Botol berbentuk kerucut, kertas saring Whatman No 1, rotari evaporator. Mortir, kamar hitung whitlock (*Egg counting whitlock*), mikroskop (Hyrox, sistem 3D), tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, inkubator, gelas objek, dan gelas penutup.

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi tiga

tahap yaitu pembuatan serbuk kulit buah muda *C. procera* dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak, uji senyawa tanin yang terdapat didalam ekstrak tersebut, koleksi cacing dan perlakuan terhadap telur cacing *H. contortus*.

### Tahap pertama

Kulit buah muda *C. procera* dikeringkan di lantai steril dengan kondisi udara bebas di bawah naungan pada suhu kamar sampai mencapai berat konstan ( $\pm$  10 hari), Sampel yang sudah kering diolah menjadi bubuk menggunakan *blender* atau penumbuk dalam skala laboratorium, sampel bubuk disaring atau diayak menggunakan saringan tepung. Bubuk *C. procera* sebanyak 10 g ditambahkan ke dalam 50 ml methanol dalam botol yang berbentuk kerucut dan ditutup dengan kapas. Setelah 24 jam supernatan dikumpulkan kemudian disaring menggunakan kertas saring (Whatman No 1) dan filtrat diuapkan sampai kering dengan rotari evaporator. Ekstrak ditempatkan pada botol *vacuum* disimpan pada suhu 4°C (lemari es) dan digunakan sesuai dengan kebutuhan, prosedur ini telah dimodifikasi dan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Harbone, (1973) yang disitasi oleh Britto dan Gracelin, (2011) dan Jain *et al.* (2014). Jadi dalam 1 ml pelarut methanol mengandung 0,2 g ekstrak *C. procera*. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Terpadu Biotek Universitas Nusa Cendana.

### Tahap kedua

Uji keberadaan senyawa tanin kondensasi didalam ekstrak *C. procera*, sebanyak 1 ml ekstrak dari setiap simplisia ditambahkan ke dalam 10 ml air panas, kemudian ditetesi menggunakan ferrik khlorida (FeCl<sub>3</sub>). Keberadaan tanin kondensasi di

dalam ekstrak ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman (Matheos *et al.*, 2014). Uji senyawa tanin kondensasi dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Nusa Cendana.

### Tahap ketiga

Jumlah cacing betina *H. contortus* yang digunakan sebanyak 10 ekor, cacing dari abomasum kambing kacang diambil kemudian dimasukkan ke dalam pot yang telah diberi larutan NaCl fisiologis 0,9%. Cacing dicuci dengan saline suhu 37°C, digerus menggunakan mortir dan ditambahkan air suling  $\pm$  10 ml, suspensinya disaring menggunakan saringan teh, telur cacing yang terdapat di dalam suspensi dihitung menggunakan metode McMaster. Prosedur penghitungan telur cacing adalah sebagai berikut: suspensi sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam setiap kamar hitung *Whitlock* kemudian telur yang ditemukan pada setiap kamar hitung dikalikan 50.

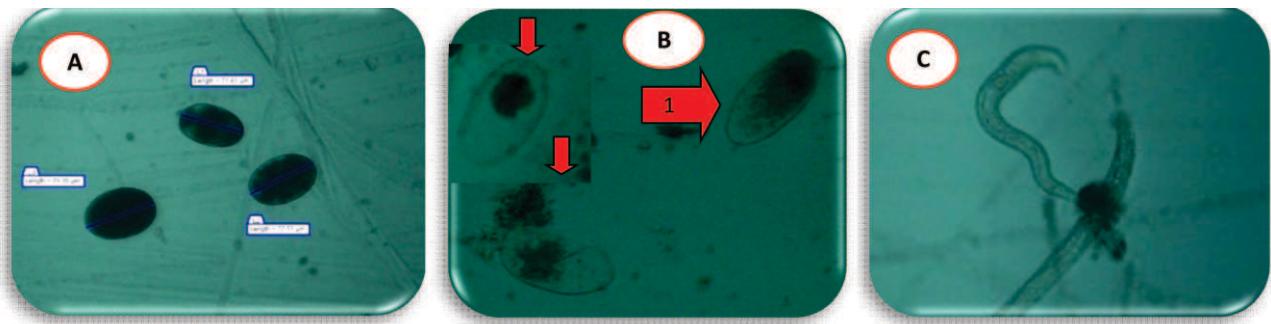
Percobaan ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, terdiri dari 3 kelompok perlakuan ekstrak *C. procera* dengan konsentrasi: 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/ml larutan ekstrak (penentuan konsentrasi berdasarkan penelitian Tahap I), satu kelompok kontrol negatif (-) menggunakan air suling dan satu kelompok kontrol positif (+) menggunakan albendazole konsentrasi 0,055%. Suspensi diambil 1,5 ml kemudian dimasukkan kedalam masing-masing tabung dan diberikan perlakuan sesuai dengan konsentrasi ataupun perlakuan yang telah ditentukan. Setiap tabung ditutup dengan alumunium foil dan dibuatkan lubang pada aluminium foil sebanyak 15 sampai 20 buah untuk sirkulasi udara dan disimpan dalam inkubator pada 27°C selama 48 jam. Pengulangan uji konsentrasi ekstrak untuk setiap perlakuan dilakukan sebanyak 5

kali. Telur yang menetas menjadi larva dan telur yang belum menetas kemudian dihitung di bawah mikroskop stereo pada pembesaran 140 - 350x. Prosedur mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Zaman *et al.* (2012)

Uji penurunan jumlah telur dalam bidang yang dihitung menurut Coles *et al.*, 2006 yang disitasi oleh Alemu *et al.* (2014). Variabel yang diukur dan dianalisis adalah jumlah persentase (%) telur cacing yang menetas dan tidak menetas dalam kelompok rendaman. Prosentase penghambatan daya tetas telur cacing dihitung menggunakan rumus: jumlah telur cacing sebelum perlakuan dikurangi jumlah setelah perlakuan dibagi dengan jumlah telur cacing sebelum perlakuan dikalikan seratus. Data yang diperoleh mengenai konsentrasi efektif kulit buah muda *C. procera* dalam menghambat perkembangan telur cacing *Haemonchus contortus* secara *in-vitro* dianalisis secara deskriptif.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil dari penelitian ekstrak kulit buah muda *C. procera* (EKBMCP) pada perlakuan konsentrasi 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/ml larutan ekstrak secara *in-vitro* semuanya memberikan efektivitas antelmintik yang bersifat ovicidal sama seperti efek farmakoterapi dari perlakuan kontrol positif albendazole 0,055%. Efek ovicidal dapat ditentukan dari morfologi dinding telur masih tetap utuh dan beberapa dari telur cacing *H. contortus* infertil yang ditandai dengan mengecilnya segmen embrional. Keadaan ini sangat berbeda dengan perlakuan kontrol negatif yang sama sekali tidak memberikan pengaruh penghambatan terhadap perkembangan telur cacing atau telur cacing tersebut berkembang menjadi larva satu (L1), seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. (A) Morfologi dinding telur *H. contortus* tetap utuh (350x), (B) Telur *H. contortus* infertil (350x), (C) Kontrol negatif larva 1 (350X)

Kapabilitas dari EKBMCp didalam menghambat perkembangan telur cacing *H. contortus* kemungkinan disebabkan karena senyawa tanin kondensasi mampu berinteraksi dengan mengikat protein yang terdapat pada selaput vitellin atau bagian lapisan paling luar dari kulit telur (Gambar 1. B., pengamatan penulis, Hathaway dan Herlevich, 2011) sehingga sirkulasi oksigen kedalam telur terganggu yang berpengaruh terhadap perkembangan embrio. Pada Gambar 1 (B) terlihat jelas segmen embrio di dalam telur tidak berkembang dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1. A). Sesuai dengan pendapat Saunders *et.al.*, (2000) yang melaporkan bahwa ketersediaan

oksigen penting pada telur *H. gallinarum* yang berembrio untuk menjadi ke tahap infektif. Manurut Hathaway dan Herlevich (2011) prekursor kulit telur cacing telah diidentifikasi berasal dari protein, zat fenolik, dan phenolase yang ditemukan dalam gelembung-gelembung sel vitellin. Menurut Tiwow *et.al.*, (2013) tanin juga memiliki aktivitas ovicidal, karena dapat mengikat lapisan luar telur cacing yang terdiri dari protein sehingga pembelahan sel didalam telur tidak berlangsung dan larva tidak terbentuk.

Kemampuan senyawa tanin yang terdapat pada EKBMCp didalam menghambat perkembangan telur cacing *H. contortus* berdasarkan konsentrasi perlakuan, seperti Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Perlakuan EKBMCp

Konsentrasi Perlakuan (0,2 g/ml larutan EKBMCp)	2,5%	3,5%	4,5%	K (+) 0,055%	K (-) Air Suling
Rataan Persentase Inhibitor (%)	70,5	81	88	84	0

Keterangan persentase penghambatan: 0 = tidak terjadi penghambatan telur cacing *H. contortus*

Konsentrasi senyawa tanin kondensasi yang ditampilkan pada Tabel 1., menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi perlakuan EKBMCp akan memberikan reaksi efek langsung yang sinergis dengan peningkatan daya hambat penetasan telur cacing *H. contortus*. Karena menurut Min dan Hart (2003) menyatakan bahwa tanin kondensasi dapat

bereaksi secara langsung dengan menghambat penetasan telur cacing dan perkembangan stadium larva infektif. Sesuai dengan pendapat Alemu *et al.*, (2014) melaporkan bahwa persentase penghambatan penetasan telur cacing dihubungkan dengan dosis ekstrak tanin kondensasi, nilai tertinggi persentase penghambatan daya tetas telur cacing tercatat pada

dosis tertinggi perlakuan ekstrak tanaman yang digunakan. Lebih lanjut Bekele *et al.*, (2011) berdasarkan hasil penelitiannya, konsentrasi kandungan tannin kondensasi yang lebih tinggi pada tanaman *Rhus glutinosa* (18,80%) memberikan daya hambat terhadap penetasan telur cacing *H. contortus* yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman *Albizia gummifera* dan *Syzygium guineensa* yang mempunyai konsentrasi kandungan tanin secara berturut-turut yaitu 7,20% dan 17,20%.

Kemampuan tanin kondensasi pada EKBMCP konsentrasi 4,5% mempunyai efektivitas didalam menghambat perkembangan telur cacing *H. contortus* lebih tinggi (88%) dibandingkan perlakuan konsentrasi EKBMCP 2,5% dan 3,5% (70,5% dan 81%). Konsentrasi yang lebih tinggi menggambarkan bahwa kemungkinan senyawa tanin kondensasi dari EKBMCP memberikan pengaruh penghambatan yang lebih besar terhadap enzim-enzim yang ikut berperan aktif dalam proses penetasan telur cacing sehingga daya tetas telur cacing tersebut menjadi rendah. Sesuai dengan pendapat Oh dan Hoff (1986) dan Horigome *et al.*, (1988) yang disitasi oleh Molan dan Faraj (2010) melaporkan bahwa tanin terkondensasi telah terbukti menghambat aktivitas enzim endogen. Menurut Rogers dan Brooks (1977) menyatakan bahwa enzim endogen meliputi protease, lipase, kitinase, beta-glycosidases dan aminopeptidase leusin. Penghambatan beberapa enzim ini telah terbukti berpengaruh terhadap penurunan tingkat menetasnya telur cacing bahkan telur cacing tersebut tidak berkembang sama sekali.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi efektif kulit

buah muda *C. procera* dalam menghambat perkembangan telur cacing *Haemonchus contortus* secara *in-vitro* adalah perlakuan EKBMCP konsentrasi 4,5% dengan daya hambat 88% sedangkan perlakuan EKBMCP konsentrasi 2,5%, 3,5% daya hambatnya secara berturut-turut 70,5% dan 81%. Kapabilitas EKBMCP dalam menghambat perkembangan telur cacing dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti: kemampuan tanin kondensasi dari EKBMCP mengikat protein pada selaput vitellin, jumlah konsentrasi didalam perlakuan dan kemungkinan kemampuannya menghambat pelepasan enzim endogen. Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk menunjukkan mekanisme kemampuan ovicalidal EKBMCP yang lebih mendetail.

### Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Mahasiswa Program Studi Kesehatan Hewan Politani Kupang a/n. Franciscus Umbu K. Windi yang telah membantu dari tahap persiapan sampai tahap pelaksanaan penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Alemu, Z., Kechero, Y., Kebede, A., dan Mohammed, A. 2014. Comparison of the *In vitro* Inhibitory Effects of Doses of Tannin Rich Plant Extracts and Ivermectin on Egg Hatchability, Larvae Development and Adult Mortality of *Haemonchus contortus*. *Acta Parasitologica Globalis* 5 (3): 160-168. ISSN 2079-2018.
- Bekele, M., Gessesse, T., Kechero, Y., dan Abera, M. 2011. *In-vitro* Anthelmintic Activity of Condensed Tannin from *Rhus glutinosa*, *Syzygium guineensa* and *Albizia gummifera* Against Sheep *Haemonchus contortus*. *Global Veterinaria*, 6 (5): 476-484. ISSN 1992-6197.

- Britto, A.J.D., dan Gracelin, D.H.S. 2011. Screening Of A Few Flowers For Their Phytochemical Constituents. *Life Sciences Leaflets* 20:866-871. ISSN 0976–1098.
- Hathaway, H., dan Herlevich, J.C. 2011. A Histochemical Study of Egg Shell Formation in the Monogenetic Trematode *Octomacrum lanceatum*. Department of Biology, The Colorado College, Colorado Springs, Colorado 80903. The Helminthological Society of Washington.
- Jain, P., Hossain, K.R., dan Mishu, T.R. 2014. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Spondias pinnata* Kurz. Leaves. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(2): 183-195.
- Matheos, H., Runtuwene, M.R.J., dan Sudewi, S. 2014. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 3 No. 3. ISSN 2302–2493.
- McLeod, R.S. 2004. The economic impact of worm infections in small ruminants in Southeast Asia, India and Australia in: Worm Control for Small Ruminants in Tropical Asia. ACIAR Monograph 113: 23-33.
- Min, B.R., dan Hart, S.P. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2): E102–E109.
- Molan, A-L., dan Faraj, A.M. 2010. The effects of condensed tannins extracted from different plant species on egg hatching and larval development of *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Folia Parasitologica* 57(1): 62–68, 2010. ISSN 1803-6465 (online).
- Rogers, W.P., dan Brooks, F. 1977: The mechanism of hatching of egg of *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 7: 61–65.
- Saunders, L.M., Tompkins, D.M., dan Hudson, P.J. 2000. The role of oxygen availability in the embryonation of *Heterakis gallinarum* eggs. *International Journal for Parasitology* 30 (2000): 1481-1485.
- Suweta, I.G.P. 1989. Review on important helminthic diseases in animal in Indonesia. *Buletin Penelitian Kesehatan* 17(2) : 34-43.
- Tiwow, D., Bodhi, W., dan Kojong, N.S. 2013. Uji Efek Antelmintik Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu*) Terhadap Cacing *Ascaris Lumbricoides* Dan *Ascaridia Galli* Secara *In Vitro*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 2 No. 02. ISSN 2302–2493.
- Waller, P.J., dan Chandrawathani, P. 2005. *Haemonchus contortus*: Parasite problem No. 1 from Tropics - Polar Circle. Problems and prospects for control based on epidemiology. *Tropical Biomedicine* 22(2): 131–137.
- Zaman, M.A., Iqbal, Z., Khan, M.N. dan Muhammad, G. 2012. Anthelmintic Activity of a Herbal Formulation Against Gastrointestinal Nematodes of Sheep. *Research Article. Pak Vet J*, 32(1): 117-121.