

AKTIVITAS ANTHELMINTIKA SECARA *IN VITRO* INFUSA DAUN *Indigofera tintoria L* TERHADAP *Haemonchus contortus*

In Vitro: Anthelmintic Activity of Aqueous Leaf Extract of Indigofera tintoria L Against Haemonchus contortus

Wahyu Setyono^{1*}, Kustantinah², Lies Mira Yusiaty², Bambang Suwignyo² and Raden Wisnu Nurcahyo³

¹Sekolah Vokasi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl. Kolonel Sutarto 150, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

²Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia, Jl. Fauna No. 3, Bulaksumur, Yogyakarta, Indonesia

³Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Jl. Fauna 2 Bulaksumur, Yogyakarta 55281, Indonesia

*Corresponding Author: wahyu.setyono@staff.uns.ac.id

ABSTRAK

Nematoda gastrointestinal adalah satu diantara penyebab berkurangnya efisiensi produksi pada domba dan kambing di Indonesia, terutama parasit abomasum *Haemonchus contortus*. Parasit ini menyebabkan penyakit *Haemonchosis* yang menyebabkan anemia dan berakibat fatal bagi domba dan kambing produktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi daya hambat tetas telur dan mortalitas cacing *H. contortus* dewasa dari infusa daun *Indigofera tintoria L* secara *in vitro*. Pengujian infusa daun *Indigofera* pada lima konsentrasi yaitu 0% sebagai kontrol negatif, 20%, 40%, 60% dan 80%. Kontrol positif menggunakan Albendazole dengan konsentrasi 2 mg/ml. Pada konsentrasi tertinggi 80% infusa daun *Indigofera* mampu menghambat penetasan telur sebesar 95.37% dan memiliki daya mortalitas terhadap cacing *H. contortus* dewasa sebesar 68.67%. Konsentrasi 80% mempunyai efek yang sama jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan Albendazole. Analisis fitokimia daun *Indigofera tintoria L* mengandung tanin terkondensasi dan berdaya guna sebagai bioanthelmintika terhadap cacing *H. contortus*. Kesimpulannya Infusa daun *Indigofera tintoria L* pada tingkat konsentrasi 80% menunjukkan aktivitas *in vitro* anthelmintik *H. contortus* dengan mengurangi penetasan telur dan motilitas cacing dewasa.

Kata kunci : *Indigofera tintoria L*, *Infusa*, *Bioanthelmintika*, *In vitro*.

ABSTRACT

Gastrointestinal nematodes are one of the causes of reduced production efficiency in sheep and goats in Indonesia, especially the abomasum parasite *Haemonchus contortus*. This parasite causes *Haemonchosis* disease which causes anemia and is fatal for productive sheep and goats. This study aims to evaluate the inhibition of egg hatching and mortality of adult *H. contortus* worms from *Indigofera tinctorial L* leaf infusion *in vitro*. Testing of *Indigofera* leaf infusion at five concentrations, namely 0% as a negative control, 20%, 40%, 60% and 80%. Positive control using Albendazole with a concentration of 2 mg/ml. At the highest concentration of 80%, *Indigofera* leaf infusion inhibited egg hatching by 95.37% and had a mortality rate against adult *H. contortus* worms of 68.67%. The concentration of 80% had the same effect as the positive control using Albendazole. Phytochemical analysis of *Indigofera tinctorial L* leaves contains condensed tannins and is effective as an anthelmintic against *H. contortus* worms. In

conclusion, *Indigofera tinctoria* L leaf infusion at a concentration level of 80% showed in vitro anthelmintic activity of *H. contortus* by reducing egg hatching and adult worm motility.

Keywords : *Indigofera tinctoria* L, Infusa, Bioanthelmintic, In vitro.

PENDAHULUAN

Nematoda gastrointestinal adalah satu diantara penyebab berkurangnya efisiensi produksi pada domba dan kambing di Indonesia, terutama parasit abomasum *H. contortus*. Parasit ini menyebabkan penyakit *haemonchosis* yang berdampak anemia dan berakibat fatal bagi domba atau kambing muda (Mengist *et al.*, 2014). Sekitar 10% dari populasi kambing di dunia dan 29% dari populasi kambing di Asia Tenggara terinfeksi oleh *Haemonchus contortus* (McLeod, 2004). Penelitian yang telah dilakukan di Indonesia menunjukkan bahwa prevalensi *haemonchosis* pada kambing mencapai 89.4% (Miller *et al.*, 2006) dan kerugian ekonomi yang disebabkan *haemonchosis* pada kambing di Indonesia ditaksir mencapai 4.7 juta dolar US. Di negara Kenya kerugian ekonomi akibat *H. contortus* pada ruminansia kecil diperkirakan mencapai 26 juta US dollar setiap tahun (Githiori, 2004).

Kontrol parasit gastrointestinal pada ruminansia yang dilakukan sejauh ini adalah bergantung pada penggunaan obat-obatan sintetik dan komersial yang tersedia (Jackson *et al.*, 2012; Oliviera *et al.*, 2011). Penggunaan obat-obatan sintetik diketahui telah menyebabkan kasus resistensi yang telah terdeteksi pada kambing dan domba, sehingga pengobatan menjadi tidak efektif (Martins *et al.*, 2017; Haryuningtyas, 2008; Gilleard *et al.*, 2006; Kaplan, 2004). Diantara pendekatan baru, pengobatan alternatif dilakukan menggunakan tumbuhan berkhasiat anthelmintika (Setyono, 2014; Setyono *et al.*, 2019), karena mampu menyelesaikan masalah infeksi parasit, mengurangi resistensi obat

dan memiliki efek samping terhadap lingkungan yang lebih rendah daripada pengobatan kimia (Adiwimarta *et al.*, 2021, Alonzo-Diaz *et al.*, 2011; Adiwimarta *et al.*, 2010; Ngeh *et al.*, 2007; Hoste *et al.*, 2006; Barrau *et al.*, 2005).

Inovasi penemuan anthelmintika baru salah satunya adalah menggunakan sumber hayati baru untuk mendukung keberhasilan usaha dengan jalan meningkatkan kinerja produksi ternak. Sumber hayati tumbuhan sudah banyak digunakan oleh peternak dan juga peneliti untuk membantu meningkatkan kinerja peternakan. Salah satu sumber hayati tumbuhan yang dapat menjadi alternatif baru adalah penggunaan daun *Indigofera tinctoria* L untuk membantu usaha peternakan tersebut.

Daun *Indigofera tinctoria* L mempunyai potensi yang tinggi untuk menjadi alternatif karena sifatnya yang mudah tumbuh di seluruh wilayah di Indonesia dan memiliki potensi sumber pakan ternak ruminansia yang unggul. Daun *Indigofera tinctoria* L diketahui mengandung berbagai nutrisi yang bermanfaat untuk meningkatkan kinerja ternak. Kandungan tanin dalam daun *Indigofera* dilaporkan mampu memberikan manfaat sebagai obat cacing untuk ternak sehingga selanjutnya perlu dikaji lagi potensinya sebagai obat anthelmintika pada ternak ruminansia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi infusa daun *Indigofera tinctoria* L terhadap daya hambat tetas telur dan mortalitas *H. contortus* dewasa.

MATERI DAN METODE

Persiapan infusa daun *Indigofera tintoria* L

Daun *Indigofera tintoria* L dikumpulkan dari kebun koleksi hijauan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Daun *Indigofera tintoria* L yang dipilih adalah daun tua yang memiliki kandungan tanin terkondensasi (TK) lebih tinggi dibandingkan daun muda berdasarkan analisis TK menurut (Abdulrazak dan Fujihara, 1999). Pembuatan infusa dilakukan mengikuti metode Ferreira et al. (2013) dengan modifikasi level konsentrasi infusa daun. Cara pembuatan infusa yaitu dengan memanaskan daun *Indigofera tintoria* L yang telah dipotong ± 1 cm dengan menambahkan akuades pada suhu 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk, sehingga diperoleh konsentrasi infusa 20%, 40%, 60% dan 80% (b/v).

Penghambat Penetasan Telur (*Egg Hatch Inhibiting/EHI*)

Studi EHI secara *in vitro* dilakukan menurut Coles et al. (1992) dan jumlah telur dihitung menurut metode *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitologi* (W.A.A.V.P) (Coles et al., 1992). Sampel telur diambil dari cacing *H. contortus* betina yang dikoleksi dari abomasum domba ekor tipis yang dipotong di rumah potong hewan di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Domba yang dipilih adalah domba dengan infestasi >1500 telur cacing per gram feses (EPG).

Sebanyak 18 tabung reaksi disiapkan yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 3 ulangan pada masing-masing kelompok. Selanjutnya, 3 ml NaCl 0.9% dituang ke dalam kelompok A sebagai kontrol negatif. Secara berurutan, kelompok B, C, D dan E diisi infusa sebanyak 3 ml dengan kadar konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%, sedangkan kelompok F menggunakan Albendazole (Wormzol-B, Medion) 2

mg/ml sebagai kontrol positif. Tiga ekor cacing *H. contortus* betina dewasa dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi selama perlakuan kemudian digiling hingga larut ke dalam masing-masing larutan. Pengamatan jumlah telur cacing pada setiap ulangan dilakukan pada menit ke-0 untuk mengetahui jumlah telur awal pada setiap sampel dan pada jam ke-24 sebagai data perhitungan telur terakhir. Semua pengamatan dilakukan pada suhu ruang (25°C-32°C) selama 24 jam. Telur yang gagal menetas ditandai dengan lapisan membran telur yang padat dan tidak terlihat pergerakan larva pada cairan sel.

Tes motilitas cacing dewasa (*Adult Worm Motility/AWM*).

Cacing *H. contortus* dewasa yang digunakan dalam penelitian ini adalah cacing betina dengan ciri fisik berwarna merah putih pada tubuhnya yang panjangnya mencapai 3 cm (Jackson et al., 2012). Seperti pada Uji EHI, cacing *H. contortus* pada uji AWM diperoleh dari abomasum domba berekor tipis yang dipotong di RPH Kabupaten Sleman, Yogyakarta, Indonesia. Sebuah studi *in vitro* infusa daun *Indigofera tintoria* L dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap keberadaan cacing *H. contortus* betina dewasa dengan mengamati mortalitas cacing (%) mengikuti prosedur (Coles et al., 1992) dengan beberapa modifikasi (Abdulrazak dan Fujihara, 1999). Cacing betina dewasa dikumpulkan menggunakan *loop* kemudian dibilas dengan NaCl 0.9% untuk dipisahkan dari pencemar dan disimpan dalam larutan NaCl 0.9% lainnya. Sedangkan infusa 20%, 40%, 60% dan 80% dituang ke dalam masing-masing cawan petri berdiameter 3 cm sebanyak 5 ml untuk masing-masing kelompok perlakuan B, C, D dan E. Semua kelompok diulang sebanyak 5 kali. Kemudian masing-masing cawan petri diisi 5 ekor cacing dan diinkubasi pada suhu

ruang (25°C-32°C) selama 8 jam. Pengamatan motilitas cacing dilakukan pada menit ke 15 dan 30, dilanjutkan dengan *post* perlakuan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan

8 jam dengan cara menyenggol cacing dengan *loop*. Jika cacing tidak bergerak selama 10 detik, itu menunjukkan motilitas.

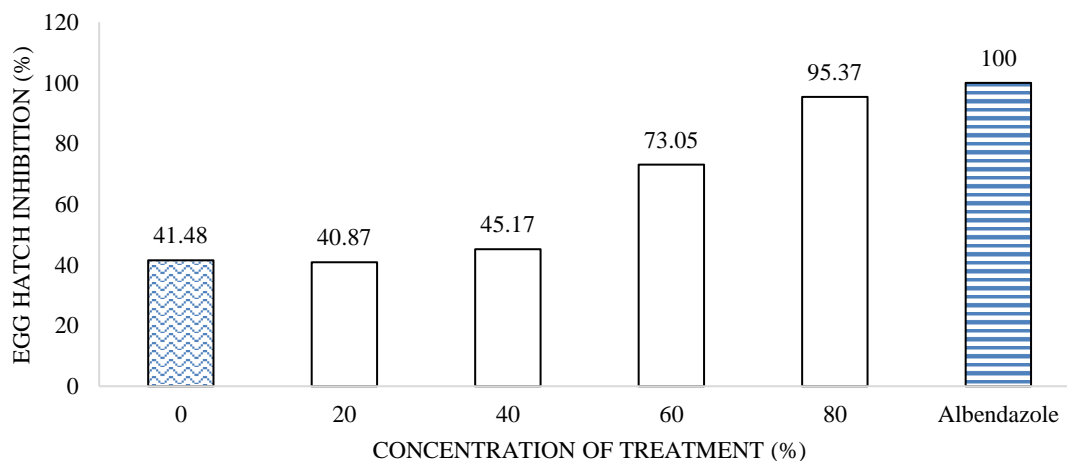
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan tanin kondensasi (TK) *Indigofera tinctoria L*

Daun *Indigofera tinctoria L* pada penelitian ini diketahui memiliki kadar tanin kondensasi (TK) sebesar 6.59% bahan kering pada daun tua dan 2.78% bahan kering pada daun muda. Data penelitian menunjukkan bahwa kematangan daun *Indigofera tinctoria L* pada umur tua dan muda berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap peningkatan kadar senyawa aktif metabolit sekunder pada daun *Indigofera tinctoria L* tua. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa daun *Indigofera tinctoria L* mengandung metabolit sekunder yang salah satunya terdeteksi oleh CT pada penelitian ini. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian (Oliviera *et al.*, 2011).

Uji Penetasan Telur (*Egg Hatch Inhibiting/EHI*) Secara *In Vitro*

Pengaruh pemberian infusa daun *Indigofera tinctoria L* terhadap perbedaan kadar pada uji daya hambat penetasan ditunjukkan pada Gambar 1. Setelah 24 jam inkubasi dibandingkan dengan pengamatan jumlah telur cacing awal terlihat pemberian infusa daun *Indigofera tinctoria L* pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% tidak mampu menunjukkan daya tetas yang lebih baik dibandingkan kontrol negatif ($P > 0.05$), sedangkan infusa daun *Indigofera tinctoria L* pada konsentrasi 80% secara nyata menghambat penetasan telur *H. contortus* 95.37% atau lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif ($P < 0.05$).



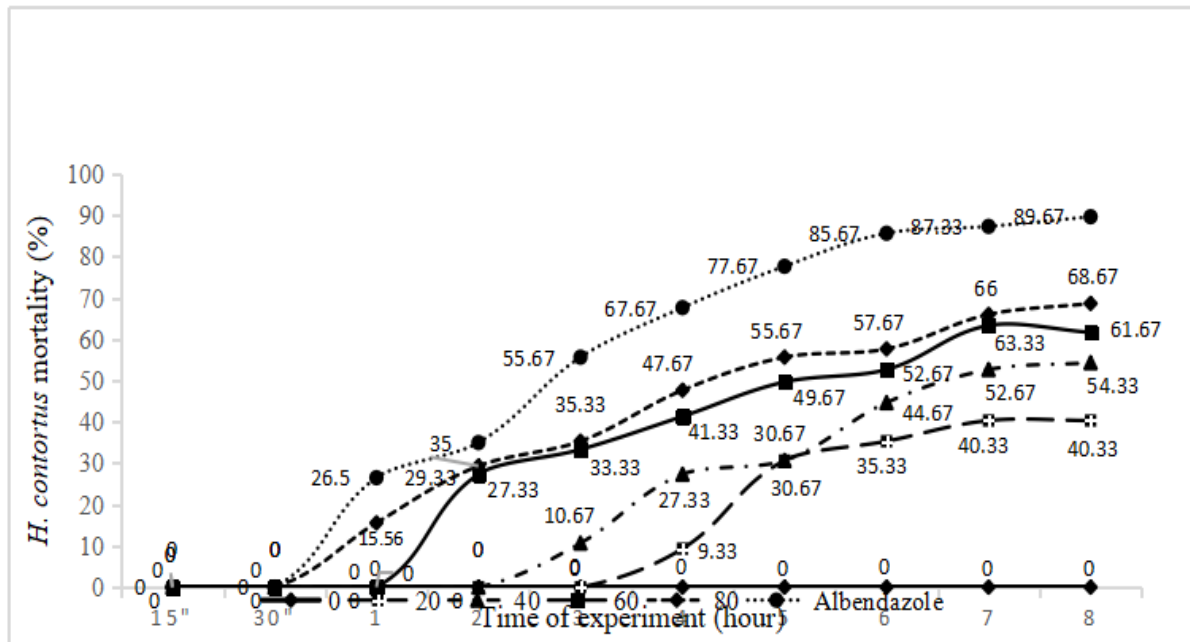
Gambar 1. Efek penghambatan *in vitro* infusa daun *Indigofera tinctoria L* pada konsentrasi berbeda pada uji penetasan telur *H. contortus*. Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)

Efikasi infusa daun *Indigofera tinctoria L* konsentrasi 80% tidak berbeda nyata dengan Albendazol 2 mg/ml. Hal ini

menunjukkan 80% infusa daun *Indigofera tinctoria L* tidak mampu menghambat penetasan telur *H. contortus*, namun

mampu bersaing dengan obat antelmintik komersial spektrum luas seperti Albendazole pada konsentrasi 2 mg/ml. Kemampuan menghambat penetasan telur *H. contortus* dimungkinkan karena peran aksi farmakologi metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *Indigofera tinctoria* L. Tanaman yang mengandung senyawa stadium 1 (L1s) (Jackson et al., 2012).

TK diketahui memiliki efek langsung terhadap nematoda dan secara tidak langsung meningkatkan imunitas inang (Oliviera et al., 2011; Sakti et al., 2018). Fase telur merupakan salah satu fase yang penting untuk dihambat, mengingat telur *H. contortus* yang dikeluarkan melalui feses domba akan menetas menjadi larva



Gambar 2. Efek penghambatan *in vitro* infusa daun *Indigofera tinctoria* L pada konsentrasi berbeda terhadap uji motilitas cacing dewasa *H. contortus*. Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$).

Uji Motilitas Cacing Dewasa (Adult Worm Motility/AWM) Secara In Vitro

Kemampuan antelmintik infusa daun *Indigofera tinctoria* L terhadap kematian cacing *H. contortus* betina dewasa ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian infusa daun *Indigofera tinctoria* L konsentrasi 80% memiliki efikasi yang lebih baik dibandingkan konsentrasi lainnya, bahkan kontrol negatif ($P < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi infusa maka semakin efektif kemampuan membunuh *H. contortus* betina dewasa. Namun kemampuan konsentrasi

tertinggi 80% tidak dapat dibandingkan dengan kemampuan Albendazole dalam membunuh *H. contortus* ($P > 0.05$). Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa infusa daun *Indigofera tinctoria* L kadar 80% yang mengandung TK dapat menghambat penetasan telur dan motilitas cacing *H. contortus* betina dewasa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menggunakan tanaman tradisional mengandung TK (Setyono et al., 2019; Sakti et al., 2018, Vieira et al., 2017, Setyono, 2014; Nawaz et al., 2014, Ferreira et al., 2013, Eguale et al., 2011).

KESIMPULAN

Infusa daun Indigofera tinctoria L pada tingkat konsentrasi 80% menunjukkan aktivitas in vitro anthelmintik *H. contortus* dengan mengurangi penetasan telur dan

motilitas cacing dewasa. Infusa daun Indigofera tinctoria L berpotensi penuh sebagai bioanthelmintik terhadap cacing *H. contortus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Laboratorium Ilmu Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada dan

Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulrazak, SA., Fujihara, T. 1999. Animal Nutrition: A Laboratory Manual (Shimane: Shimane University) 24 – 28.
- Adiwimarta, K., Daryatmo, J., Orskov, ER., Mayes, RW., Hartadi, H. 2010. Utilization of Cassava leaf and Carrica papaya leaf as feed and anthelmintic for goat. Proceedings of the British Society of Animal Science and the Agricultural Research Forum. 1:114.
- Alonzo-Diaz, MA., Torres-Acosta JFJ., Sandoval-Castro, CA., Hoste, H. 2011. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe. Small Rumin. Res. 89: 164-173.
- Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., Hoste, H. 2005. Effect of bioactive compounds from sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the in vitro larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. Parasitology 131: 531–538.
- Coles, GC., Bauer, C., Borgsteede, FHM., Geerts, S., Klei, TR., Taylor, M.A. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W. A. A. V. P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.
- Eguale, TD., Tadesse, M., Giday. 2011. In vitro anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. J. Ethnopharmacol. 98: 319-324.
- Ferreira, LE., Castro, PMN., Changas, ACS., Franca, SC., Belebani, RO. 2013. In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. Experimental parasitology. 134:327-332.
- Gilleard, JS. 2006. Understanding anthelmintic resistance: the need for genomics and genetics. Int. J. Parasitol. 36: 1227-1239.
- Githiori, JB. 2004. Evaluation of anthelmintic properties of ethnoveterinary plants preparation used as livestock dewormers by pastoralist and small holder farmers in

- Kenya. Doctoral Disertation. Departemen Biomedical Sciences and Veterinary Public Health,
- Haryuningtyas, D., Artama, WT. 2008. Analisis Sekuen Gen Tubulin- β Isotipe 1 Cacing *Haemonchus contortus* Isolat Resisten terhadap Benzimidazole pada Domba di Indonesia. *J. AgroBiogen*, 4: 45–50.
- Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, SM., Hoskin, SO. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.* 22: 253–261.
- Jackson, F., Varady, M., Bartley, DJ. 2012. Managing anthelmintic resistance in goats-can we learn lessons from sheep. *Small Rumin. Res.* 103: 3–9.
- Kaplan, RM. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance : a status report. *Trends Parasitol.* 20: 478–481.
- Martins, AC., Bergamasco, PLF., Felippelli, G., Tebaldi, JH., Moraes, MFD., Testi, AJP., Lopera, IM., Hoppe, EGL. 2017. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep: fecal egg count reduction tests and randomized controlled trials. *Br. J. Nutr.* 7
- McLeod, RS. 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.
- Mengist, Z., Abeb, N., Gungsa, G., Kumar, N. 2014. Assesment of small ruminant *Haemonchus* and its associated risk factors in and around Finoteselam, Ethiopia. *Journal of Agriculture and Veterinary Science.* 7(12): 36-41.
- Miller, JE., Haorohov, DW. 2006. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. *Journal of Animal Science.* 84.E124-E132.
- Nawaz, M., Sajid, SM., Zubair, M., Hussain, J., Abbasi, Z., Mohi-Ud-Din, A., Waqas, M. 2014. In vitro and in vivo anthelmintic activity of leaves *Azadirachta indica*, *Dalbergia sissoo* and *Morus alba* againts *Haemonchus contortus*. *Global Veterinaria.* 13: 996-1001
- Ngeh, JT., Jacob, W., Mopoi, N., Sali, D. 2007. *Ethno veterinary medicine. A practical approach to the treatment of cattle diseases in Sub-Saharan African.* 2nd Edition. Agromisa Foundation and CTA, Wageningen. Pp 88.
- Oliveira, LMB., Bevilaqua, CML., Macedo, ITF., Morais, SM., Monteiro, MVB., Campello, CC., Ribeiro, WLC., Batista, EFK. 2011. Effect of six tropical tanniferous plant extracts on larval exsheathment of *Haemonchus contortus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20: 1
- Sakti, AA., Kustantinah., Nurcahyo, RW., Perdani, L., Ekaningrum, M. 2018. Extraction of condensed tannins from tropical plants as affected by leaves maturity, maceration time, and centrifugal force. *Materials Science Forum (Yogyakarta) Switzerland: Trans*

Setyono, W., Kustantinah., Indarto, E., Dono, ND., Zuprizal, Z. 2019. *Calliandra calothyrsus* and *Artocarpus heterophyllus* as anti-parasite for Bligon Goat. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 44(4): 400-407.

Setyono, W. 2014. Kontrol Parasit Menggunakan Hijauan Sebagai Agen

Anthelmintika Pada Kambing Bligon Betina. Tesis. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Vieira, TM., Fonseca, LD., Bastos, GA., Vasconcelos, VO., Silva, MLF., Morais-Costa, F., Ferreira, AVP., Duarte, ER. 2017. Control of *Haemonchus contortus* in sheep using basidiocarps of *Agaricus blazei* Murril. *Vet. Res. Commun.* 41: 99 – 106.