

## Daya Larvasida Ekstrak Daun Muda Kedondong Hutan Terhadap *Haemonchus contortus* Secara *In-vitro*

(LARVICIDAL EFFECT OF SPONDIAS PINNATA LEAF EXTRACT AGAINST HAEMONCHUS CONTORTUS IN VITRO)

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,  
Jln. Prof. Dr. Herman Yohanes, Kelurahan Lasiana,  
Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia  
PO Box 152, Kupang 85111.

Telepon (0380) 881601-881265; *E-mail*: oka\_sayun@yahoo.com

<sup>2</sup>Bagian Parasitologi, <sup>3</sup>Bagian Patologi,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,  
Yogyakarta-Indonesia

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi efektif tanin kondensasi di dalam Ekstrak Daun Muda Kedondong Hutan (EDMKH) sebagai antelmintik yang bersifat larvasida terhadap *Haemonchus contortus* (*H. contortus*) secara *in-vitro*. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan lima perlakuan yaitu tiga perlakuan EDMKH konsentrasi: 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2 g/mL larutan tersedia, satu kelompok kontrol (-) menggunakan air suling, satu kelompok kontrol (+) menggunakan albendazole konsentrasi 0,055%. Variabel yang diukur dan dianalisis: jumlah persentase L1 yang berkembang dan tidak berkembang dalam kelompok rendaman. Data persentase daya larvasida *H. contortus* dari konsentrasi tanin kondensasi EDMKH secara *in-vitro* dianalisis menggunakan analisis varian mengikuti prosedur Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan SPSS Versi 23 (IBM-SPSS 2015). Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa persentase larvasida EDMKH 2,5% nyata lebih rendah dibandingkan 3,5%, 4,5% dan albendazole 0,055% ( $P < 0,05$ ) tetapi lebih tinggi dari kontrol negatif. Konsentrasi efektif EDMKH terhadap larva *H. contortus* adalah konsentrasi 4,5%, memberikan efektivitas larvasida 100%, dan tidak berbeda nyata dengan kontrol positif ( $P > 0,05$ ).

Kata-kata kunci: larvasida; kedondong hutan; *Haemonchus contortus*

### Abstract

This study aimed to assess effective concentration of condensed tannins in the extract of *Lannea grandis* leaves (EDMKH) as larvacide anti-helminths on *Haemonchus contortus*. Experimental design used in this study was completely randomised design. The treatments group were administrated with 2.5%, 3.5%, and 4.5% EDMKH in the 0.2 g/mL solution, respectively. Moreover aqueduct was used for the negative control group, while 0.055% albendazole was applied to the positive control group. Variables measured were percentage of developed and undeveloped L1 in the incubation media. The data were the statistically analysed following General Linear Model format for completely randomised design. The software used in the analysis was SPSS v. 23.0 (IBM-SPSS 2015). Results showed that among the EDMKH treatments, the lowest larvacidal effect was recorded for 2.5% EDMKH treatment compared with 3.5% and 4.5% EDMKH. However, the value achieved by 2.5% EDMKH treatment was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than that of negative control treatment. The highest larvacidal effect (100%) was shown by 4.5% EDMKH treatment which was not significantly different ( $P > 0.05$ ) from the positive control treatment.

Key words: larvacide; *Lannea grandis*; *Haemonchus contortus*

## PENDAHULUAN

Kedondong hutan atau *Spondias pinnata* (*S. pinnata*) termasuk pohon tropis yang tumbuh subur sepanjang musim di daerah basah maupun kering di Indonesia. Pemanfaatan pohon ini di Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) digunakan sebagai tanaman reboisasi terutama di daerah *marginal* dan daunnya sebagai pakan ternak terutama pada saat musim kemarau, sedangkan potensi yang lain sebagai antelmintik belum pernah dilaporkan. Berdasarkan uji tetes dengan ferri klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) keberadaan tanin kondensasi pada ekstrak daun muda *S. pinnata* diindikasikan dengan adanya perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi hijau kehitaman. Komposisi tanin kondensasi pada ekstrak tersebut secara farmakodinamik mempunyai kemampuan sebagai antelmintik yang bersifat larvasida. Min dan Hart (2003) melaporkan bahwa ekstrak tanin kondensasi dari berbagai tanaman dapat memperpendek kelangsungan hidup stadium larva nematoda pada domba dan kambing.

Penyakit endoparasit gastrointestinal dari kelas nematoda yang berpotensi menurunkan populasi ternak kambing di NTT dan berpengaruh terhadap perekonomian peternak adalah penyakit yang disebabkan oleh *Haemonchus contortus* (*H. contortus*). Endoparasit ini menghisap darah sehingga dapat menimbulkan anemia yang berpengaruh terhadap kondisi fisiologi ternak, penurunan bobot badan, menghambat pertumbuhan, dan reproduksi ternak. Jika kejadian haemonchosis berlanjut dapat menyebabkan 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. Qamar et al. (2011) melaporkan bahwa kerugian ekonomi yang disebabkan oleh haemonchosis pada domba dan kambing berupa penurunan produksi daging dan susu, pengeluaran biaya pengobatan serta diperlukan tenaga tambahan untuk merawat ternak yang terinfeksi.

Pengendalian haemonchosis pada ternak kambing sudah dilakukan oleh tenaga medis kesehatan hewan di Indonesia melalui pendekatan epidemiologi maupun klinik, khususnya menggunakan antelmintik konvensional.

Namun, dalam pelaksanaannya mengalami kendala terutama di propinsi-propinsi yang terletak di kawasan timur Indonesia, seperti NTT. Kendalanya adalah keterbatasan persediaan antelmintik terutama derivat benzimidazole yang salah satu mekanisme kerjanya bersifat larvasida sehingga pengendaliannya lebih efektif karena siklus hidup endoparasit tersebut dapat dihambat dan aplikasinya lebih mudah. Harga derivat obat tersebut relatif mahal sehingga tidak terjangkau oleh peternak kambing yang berpenghasilan rendah dan ternak lebih mudah mengalami resistensi. Waller dan Chandrawathani (2005), melaporkan bahwa *H. contortus* pada ruminansia kecil juga resisten terhadap antelmintik yang ada di pasaran di seluruh Negara di dunia.

Terkait dampak kerugian ekonomi dan permasalahan yang dihadapi oleh peternak kambing akibat kejadian haemonchosis terutama di NTT, maka sangat diperlukan penelitian mengenai potensi tanin kondensasi yang terkandung di dalam ekstrak daun muda kedondong hutan (EDMKH) sebagai antelmintik dan menentukan konsentrasi efektif yang secara farmakodinamik mempunyai kemampuan sebagai antelmintik yang bersifat larvasida secara *in-vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi efektif tanin kondensasi di dalam ekstrak daun muda kedondong hutan sebagai antelmintik yang bersifat larvasida terhadap *H. contortus* secara *in-vitro*. Manfaat praktis dari penelitian ini adalah dapat digunakan sebagai acuan oleh peternak kambing dalam pengendalian haemonchosis pada kambing kacang dengan biaya yang relatif murah, bahan baku tersedia di alam, proses pengolahan relatif mudah sehingga dapat meningkatkan produksi dan reproduksi ternak kambing.

## METODE PENELITIAN

Daun muda tanaman kedondong hutan (*S. pinnata*), cacing *H. contortus*, ingesta kambing yang tidak terinfeksi dikumpulkan dari wilayah Kotamadya Kupang.

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap yaitu pembuatan serbuk daun muda *S. pinnata* dan pembuatan ekstrak, uji senyawa tanin, koleksi cacing dan perlakuan terhadap L1 *H. contortus*.

### Tahap pertama

Daun muda *S. pinnata* dikeringkan selama 10 hari di lantai steril dengan kondisi udara bebas, di bawah naungan pada suhu kamar sampai mencapai berat konstan. Sampel yang sudah kering diolah menjadi bubuk menggunakan *blender* atau penumbuk dalam skala laboratorium, sampel bubuk disaring atau diayak menggunakan saringan tepung. Sebanyak 10 g bubuk tersebut ditambahkan ke dalam 50 mL metanol 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 Britto dan Gracelin (2011); Jain *et al.* (2014), sehingga dalam 1 mL pelarut metanol mengandung 0,2g/mL larutan EDMKH. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Terpadu Biotek, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

### Tahap kedua

Uji keberadaan senyawa tanin kondensasi di dalam EDMKH, dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL EDMKH yang ditambahkan ke dalam 10 mL air panas, kemudian ditetesi ferri klorida ( $\text{FeCl}_3$ ). Keberadaan tanin kondensasi di dalam ekstrak ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman, prosedur ini telah dimodifikasi dan mengacu pada Matheos *et al.* (2014). Uji senyawa tanin kondensasi dilakukan di Laboratorium Kimia, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

### Tahap ketiga

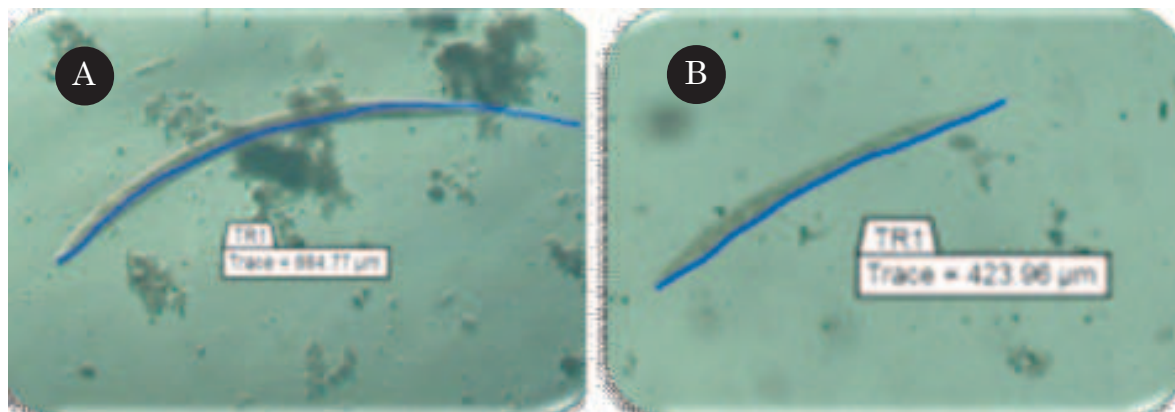
Setelah telur *H. contortus* diinkubasi pada 27°C selama 24 jam, maka telur yang sudah menjadi L1 dihitung menggunakan teknik Baermann. Cairan pengikubasi di-aliquot dengan volume 1,5 mL mengandung 100-150 L1 *H. contortus*, kemudian dicampur dengan 10 g ingesta dari abomasum kambing yang tidak terinfeksi. Kemudian diberikan perlakuan yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu tiga kelompok perlakuan EDMKH dengan konsentrasi: 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/mL larutan tersedia (penentuan konsentrasi berdasarkan penelitian Tahap I), satu kelompok kontrol (-) menggunakan air suling dan satu

kelompok kontrol (+) menggunakan albendazole konsentrasi 0,055%. Materi uji diinkubasi selama enam hari pada suhu kamar (28°C). Pada akhir hari ke-6 dinding setiap cangkir mengandung sampel dibilas dengan 10 mL air suling untuk mengumpulkan L3. Kemudian satu tetes larutan yodium lugol ditambahkan dan semua L3 dihitung di bawah mikroskop stereo (Hirox KH-8700, Serial No. H08754, Japan) pada pembesaran lensa objektif 140-350 kali. Pengulangan uji untuk setiap perlakuan dari masing-masing ekstrak dilakukan sebanyak lima kali. Uji hambatan perkembangan larva telah dimodifikasi dan mengacu pada prosedur yang dijelaskan oleh Alemu *et al.* (2014).

Variabel yang diukur dan dianalisis adalah jumlah persentase L1 yang berkembang dan tidak berkembang dalam kelompok rendaman. Data persentase daya larvasida *H. contortus* dari konsentrasi tanin kondensasi EDMKH secara *in-vitro* dianalisis menggunakan analisis varian mengikuti prosedur Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan SPSS Versi 23 (IBM-SPSS 2015).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini ditemukan bahwa semua konsentrasi perlakuan EDMKH yaitu 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/mL larutan tersedia, berpotensi sebagai antelmintik yang bersifat larvasida dan secara farmakodinamik kemungkinan sama seperti albendazole 0,055% sebagai kontrol (+), sedangkan kontrol negatif semua larva ke satu (L1) berkembang menjadi larva ke tiga (L3). Indikator daya larvasida dari konsentrasi perlakuan EDMKH ditentukan oleh panjang tubuh larva yang ditemukan tidak sesuai dengan ukuran standar L3. Larva yang ditemukan berukuran panjang tubuh berkisar 400-450  $\mu\text{m}$  dan sebagian besar larva tersebut tidak berfilamen (Gambar 1). Indre *et al.* (2009) melaporkan bahwa rata-rata panjang tubuh larva ketiga *H. contortus* 726,36  $\mu\text{m}$  dengan spesifikasi panjang oesophagus 142,02  $\mu\text{m}$  dan panjang selubung ekor 140,25  $\mu\text{m}$ . Lebih lanjut Molan *et al.* (2000) melaporkan bahwa larva *Trichostrongylus colubriformis* yang terpapar tanin kondensasi ditemukan 83-93% masih hidup dengan aktivitas lamban dan terjadi kelumpuhan sebagian. Tanin kondensasi juga dapat menyebabkan kelumpuhan pada otot-otot larva tersebut.



Gambar 1. Kontrol negatif panjang tubuh larva 884,77μm (A) dan pascaperlakuan panjang larva berkisar 400 – 450μm (B). Pembesaran lensa objektif: 350μm

Daya larvasida dari masing-masing konsentrasi perlakuan EDMKH, perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif, disajikan pada Tabel 1. Pada tabel tersebut ditunjukkan bahwa hasil analisis statistika persentase larvasida *H. contortus* dengan EDMKH konsentrasi: 2,5%, 3,5%, 4,5% dari 0,2g/ml larutan tersedia dibandingkan dengan kontrol positif (0,055%) dan kontrol negatif adalah berbeda sangat nyata ( $P < 0,001$ ). Persentase larvasida EDMKH 2,5% nyata lebih rendah dibandingkan EDMKH 3,5%, EDMKH 4,5% dan albendazole 0,055% ( $P < 0,05$ ) tetapi lebih tinggi dari air suling. Persentase larvasida EDMKH 4,5% memberikan efek farmakodinamik sebesar 100% sama dengan albendazole 0,055% ( $P > 0,05$ ). Efek larvasida terendah ditemukan pada EDMKH 2,5% (88,48%).

Tabel 1. Perbedaan persentase daya larvasida ekstrak daun muda kedondong hutan (EDMKH) dari masing-masing perlakuan

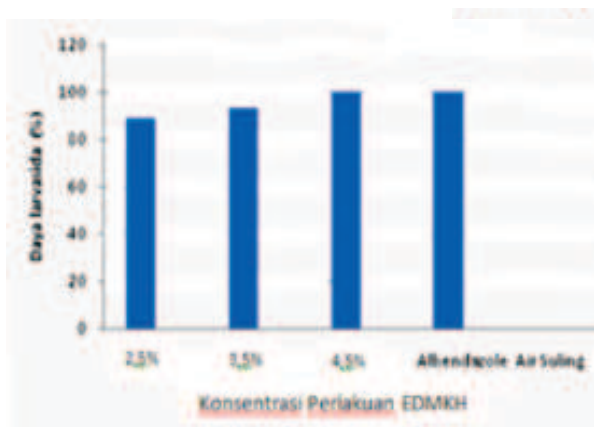
Perlakuan	N	Daya larvasida EDMKH (%)
EDMSP 2,5%	5	88,48 ± 0,89 <sup>a</sup>
EDMSP 3,5%	5	92,88 ± 0,42 <sup>b</sup>
EDMSP 4,5%	5	100,00 ± 0,00 <sup>c</sup>
Albendazole 0,055% (K+)	5	99,78 ± 0,49 <sup>c</sup>
Air suling (K-)	5	0,00 ± 0,00 <sup>d</sup>

Keterangan: K (+) = kontrol positif, K (-) = kontrol negatif. Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

Perbedaan tingkat larvasida antar konsentrasi perlakuan EDMKH, berkaitan dengan konsentrasi tanin kondensasi yang terdapat di dalam EDMKH. Semakin tinggi konsentrasi perlakuan EDMKH yang diberikan maka tanin kondensasi pada EDMKH konsentrasinya meningkat, sehingga daya larvasidanya sangat linier dengan konsentrasi perlakuan, seperti pada Gambar 2. Alemu *et al.* (2014) melaporkan bahwa ekstrak jenis tanaman dengan tanin kodensasi konsentrasi tertinggi (188 g/kg DM) yaitu pada tanaman perdu *Rhus glutinosa* (tumbuhan ini tidak ada di Indonesia) memberikan pengaruh penghambatan perkembangan larva dan kematian cacing *H. contortus* yang paling tinggi dibandingkan perlakuan tanaman *Sycomorus ficus* (tumbuhan ini tidak ada di Indonesia/sejenis beringin) dan *Phyllanthus sepialis* (tumbuhan ini tidak ada di Indonesia/sejenis meniran) dengan konsentrasi tanin secara berurutan 120 g/kg DM, 110 g/kg DM ( $P < 0,01$ ). Lebih lanjut Molan dan Faraj (2010) melaporkan bahwa tanin kondensasi selain menghambat perkembangan larva juga membunuh larva yang sedang berkembang sehingga siklus hidup nematoda tersebut menjadi terganggu.

Efektivitas tanin kondensasi dengan konsentrasi EDMKH 4,5% mempunyai konsentrasi yang lebih pekat dibandingkan dengan konsentrasi EDMKH 2,5% dan 3,5% sehingga memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghambat protein yang terdapat pada kutikula L1 sehingga berpengaruh terhadap perkembangan larva bahkan dapat menyebabkan kematian. Athanasiadou *et al.* (2001) mengemukakan bahwa kemampuan tanin kondensasi untuk mengikat protein melalui





Gambar 2. Perbedaan daya larvasida antar konsentrasi perlakuan ekstrak daun muda kedondong hutan

berbagai mekanisme. Tanin kondensasi mungkin dapat mengikat kutikula larva sampai pada bagian glikoprotein sehingga menyebabkan kematian endoparasit tersebut. Lebih lanjut Lem *et al.* (2014) melaporkan bahwa tanin kondensasi konsentrasi tinggi ( $IC_{50}$  dan  $LC_{50}$ ), ekstrak *Terminalia glaucescens* (tumbuhan ini tidak ada di Indonesia/sejenis ketapang) secara signifikan menghambat perkembangan L1 menjadi L2. Senyawa ini mampu menembus kutikula nematoda dan mencegah penyerapan glukosa, atau memblok *pasca reseptor sinaptik* sehingga melumpuhkan larva, tanin juga dapat mengikat kutikula larva sehingga menyebabkan kematian.

Tanin kondensasi yang terdapat pada EDMKH konsentrasi 4,5% mempunyai aktivitas daya larvasida yang lebih kuat, sehingga mengganggu proses perkembangan larva ke tahap perkembangan lebih lanjut dibandingkan dengan perlakuan EDMKH yang lainnya. Tingkat penghambatannya berdasarkan analisis statistika tidak berbeda nyata dengan kontrol positif ( $P > 0,05$ ). Menurut Alonso-Dí'az *et al.* (2008), ekstrak tanaman lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) yang mengandung tanin kondensasi mungkin mempunyai mekanisme kerja mengganggu proses pergantian selubung pada saat perkembangan menjadi L3. Lebih lanjut menurut Min dan Hart (2003), tanin kondensasi yang terdapat pada berbagai tanaman memberikan efek langsung yang mungkin dimediasi oleh interaksi antara tanin kondensasi dengan agen nematoda sehingga dapat menurunkan kelangsungan hidup tahap larva dari beberapa nematoda pada

domba dan kambing sehingga mengganggu perkembangan ke stadium larva infeksi.

Daya larvasida EDMKH pada konsentrasi perlakuan ini tidak menutup kemungkinan adanya kerjasama sama yang sinergis antara tanin kondensasi dengan senyawa fenolik yang lain dalam daun tumbuhan. Mekanisme kerjanya adalah saling memperkuat sehingga dapat memberikan efektivitas terhadap penghambatan perkembangan larva. Costa *et al.* (2011) melaporkan bahwa triterpenoid, saponin, dan tanin kondensasi yang terdapat di dalam ekstrak cairan serat sabut kelapa hijau dan butanol pada perlakuan 2,5 mg/mL dan 10 mg/mL memberikan dampak ovisidal 100%. Jika pemberian konsentrasi yang lebih tinggi dari 2,5 mg/mL dan 10 mg/mL maka akan memberikan efektivitas larvasida 81,30% dan 99,80%.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi efektif senyawa tanin kondensasi yang terdapat pada EDMKH memiliki daya larvasida 100% terhadap *H. contortus* adalah konsentrasi 4,5%.

## SARAN

Penelitian ini perlu dilanjutkan ke dalam penelitian secara *in-vivo* sehingga dapat diketahui efektivitasnya terhadap tingkat penurunan infeksi *H. contortus* pada kambing kacang atau spesies ruminansia kecil yang lainnya. Hasil dari EDMKH disarankan untuk dilakukan uji fitokimia terhadap senyawa fenolik yang lain selain tanin kondensasi sehingga dapat diketahui hubungan senyawa tersebut di dalam aktivitasnya sebagai antelmintik yang bersifat larvasida secara *in-vitro*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Franciscus Umbu Kambaru Windi, Mahasiswa Program Studi Kesehatan Hewan, Politani Kupang, yang telah membantu dari tahap persiapan sampai tahap pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alemu Z, Kechero Y, Kebede A, 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.
- Alonso-Díaz MA, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Aguilar-Caballero AJ, Hoste H. 2008. In vitro larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* larvae exposed to four tropical tanniniferous plant extracts. *Veterinary Parasitology* 153: 313–319.
- Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, dan Coop RL. 2001. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *Veterinary Parasitology* 99: 205-219.
- Britto AJD, Gracelin DHS. 2011. Screening Of A Few Flowers For Their Phytochemical Constituents. *Life Sciences Leaflets* 20: 866-871.
- Costa CTC, Bevilaqua CML, Morais SMD, Oliveira LMBD, Camurça-Vasconcelos ALF, Maciel MDV, Lima KSBD. 2011. Ovicidal and Larvicidal Activity of *Cocos nucifera* L. Extracts on *Haemonchus contortus*. *Ciência Animal* 21(2): 87-95
- Indre D, Dărăbus Gh, Oprescu I, Morariu S, Mederle N, Ilie MS, Măndișă DN. 2009. The Identification Of Gastrointestinal Nematodes Species In Sheep In Five Localities From Timis County. *Lucrări Stiințifice Medicină Veterinară* 42(1): 94-100.
- Jain P, Hossain KR, Mishu TR. 2014. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Spondias pinnata* Kurz. Leaves. *European Journal of Medicinal Plants* 4(2): 183-195.
- Lem MF, Vincent KP, Josue WP, Jeannette Y, Gertrude MT, Joseph T. 2014. *In Vitro* Ovicidal and Larvicidal Activities of Stem Bark of *Terminalia glaucescens* (Combretaceae) against *Haemonchus contortus*. *American Journal of Plant Sciences* 5: 2859-2868
- Matheos H, Runtuwene MRJ, dan Sudewi S. 2014. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-Universitas Sam Ratulangi* 3(3): 235-246
- 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.
- Min BR, Hart SP. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science* 81(E. Suppl. 2): E102–E109.
- Molan AL, Waghorn GC, Min BR, McNabb WC. 2000. The effect of condensed tannins from seven herbage on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration *in vitro*. *Folia Parasitologica* 47: 39-44.
- Molan AL, Faraj AM. 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.
- Qamar MF, Maqbool A, Ahmad N. 2011. Economic Losses Due To Haemonchosis in Sheep And Goats. *Science International* 23(4): 321-324.
- Waller PJ, 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.