

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

SETYONO, W.*, KUSTANTINAH**, L. M. YUSIATI**,
B. SUWIGNYO**, DAN R. W. NURCAHAYO***

*Sekolah Vokasi Universitas Sebelas Maret Surakarta, Jawa Tengah

**Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

***Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

e-mail: wahyu.setyono@staff.uns.ac.id

ABSTRAK

Nematoda gastrointestinal adalah satu di antara 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 95.60% dan memiliki daya mortalitas terhadap cacing *H. contortus* dewasa sebesar 89.67%. 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.

Kata kunci: Indigofera tintoria L., infusa, bioanthelmintika, in vitro.

IN VITRO: ANTHELMINTIC ACTIVITY OF AQUEOUS LEAF EXTRACT OF *Indigofera tintoria* L AGAINST *Haemonchus contortus*

ABSTRACT

Gastrointestinal nematodes are one of the causes of reduced production efficiency in sheep and goats in Indonesia, especially the *Haemonchus contortus* abomasum parasite. This parasite causes Haemonchosis disease which causes anemia and is fatal for productive sheep and goats. This study evaluated the inhibition of egg hatchability and mortality of adult *H. contortus* worms from *in vitro* infusaion of *Indigofera tintoria* L leaves. *Indigofera* leaf infusaion testing at five concentrations of 20%, 40%, 60% and 80%(w/v) was used both treatments. Albendazole at a dose of 2 mg/ml was used as a positive control, while negative control used 0.9% NaCl solution. At the highest concentration of 80% *Indigofera* leaf infusaion was able to inhibit egg hatching by 95.60% and had a mortality rate against adult *H. contortus* worms by 89.67%. The 80% concentration has the same effect when compared to the positive control using Albendazole. Phytochemical analysis of *Indigofera tintoria* L leaves contains condensed tannins and is useful as a bioanthelmintic.

Key words: Indigofera tintoria L., infusion, bio-anthelmintic, in vitro.

PENDAHULUAN

Nematoda gastrointestinal adalah satu di antara 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 29.0% dari

populasi kambing di Asia Tenggara terinfeksi oleh *H. contortus* (Sani *et al.*, 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). Di antara 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 (Alonzo Diaz *et al.*, 2011; Kustantinah *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 tintoria* L untuk membantu usaha peternakan tersebut.

Daun *Indigofera tintoria* 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 tintoria* 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 tintoria* L terhadap daya hambat tetas telur dan mortalitas *H. contortus* dewasa.

MATERI DAN METODE

Persiapan infusa *Indigofera*

Daun *Indigofera tintoria* L dikumpulkan dari kebun hijauan Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Daun *Indigofera tintoria* L yang dipilih adalah daun tua yang memiliki kandungan tanin terkondensasi (CT) lebih tinggi dibandingkan daun muda berdasarkan analisis CT 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.* (2000) dan jumlah telur dihitung menurut metode *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitologi* (W.A.A.V.P) (Coles *et al.*, 2000). 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 30 tabung reaksi disiapkan yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 5 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.*, 2000) 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 3 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

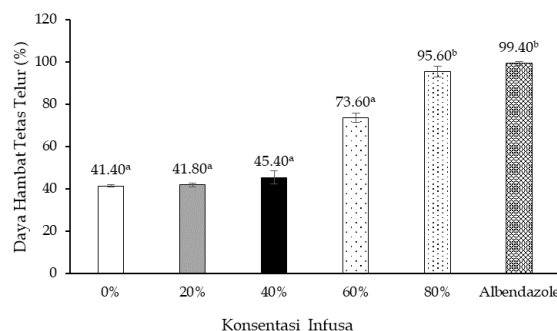
Kandungan Tanin Kondensasi (TK) *Indigofera tintoria* L

Daun *Indigofera tintoria* L pada penelitian ini diketahui memiliki kadar TK sebesar 6.59% bahan kering pada daun tua dan 2.78% bahan kering pada daun muda. Data penelitian menunjukkan bahwa kematangan daun *Indigofera tintoria* L pada umur tua dan muda berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap peningkatan kadar senyawa aktif metabolit sekunder pada daun *Indigofera tintoria* L tua. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa daun *Indigofera tintoria* L mengandung metabolit sekunder yang salah satunya terdeteksi oleh TK pada penelitian ini. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian (Oliviera *et al.*, 2011).

Uji EHI In Vitro

Pengaruh pemberian infusa daun *Indigofera tintoria* 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 tintoria* 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 tintoria* L pada konsentrasi 80% secara nyata menghambat penetasan telur *H. contortus* 95.60% atau lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif ($P < 0,05$). Efikasi infusa daun *Indigofera tintoria* L konsentrasi 80% tidak berbeda nyata dengan Albendazol 2 mg/ml. Hal ini menunjukkan 80% infusa daun *Indigofera tintoria* 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 tintoria* L. Tanaman yang mengandung senyawa TK diketahui memiliki efek langsung terhadap nematoda dan secara tidak langsung meningkatkan imunitas inang (Oliviera *et al.*, 2011; Sakti *et al.*, 2018). Fase

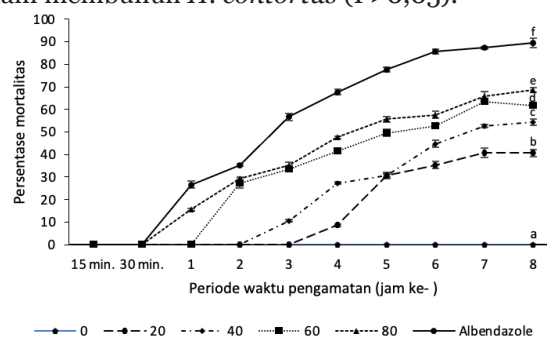
telur merupakan salah satu fase yang penting untuk dihambat, mengingat telur *H. contortus* yang dikeluarkan melalui feces domba akan menetas menjadi larva stadium 1 (L1) (Jackson *et al.*, 2012).



Gambar 1. Efek penghambatan infusa daun *Indigofera tintoria* L pada konsentrasi berbeda pada uji penetasan telur *H. contortus* secara in vitro. Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Uji AWM In Vitro

Kemampuan antelmintik infusa daun *Indigofera tintoria* L terhadap kematian cacing *H. contortus* betina dewasa ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian infusa daun *Indigofera tintoria* 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* ($P > 0,05$).



Gambar 2. Efek penghambatan infusa daun *Indigofera tintoria* L pada konsentrasi berbeda pada uji penetasan telur *H. contortus* secara in vitro. Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa infusa daun *Indigofera tintoria* 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 (Sakti *et al.*, 2018, Vieira *et al.*, 2017; Nawaz *et al.*, 2014, Ferreira *et al.*, 2013, Eguale *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Infusa daun *Indigofera tinctoria* L pada tingkat konsentrasi 80% menunjukkan aktivitas *in vitro* antihelmintik *H. contortus* dengan mengurangi penetasan telur dan motilitas cacing dewasa. Infusa daun *Indigofera tinctoria* L berpotensi penuh sebagai bioanthelmintik terhadap cacing *H. contortus*. Perlu penelitian lebih lanjut melalui uji *in vivo* pada domba maupun kambing terinfeksi *H. contortus*, sehingga diperoleh hasil kajian secara komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulrazak, S. A and T. Fujihara. 1999. Animal Nutrition: A Laboratory Manual. Laboratory of Animal Science. Faculty of Life and Environmental Science. Shimane University. Japan. 1: 24 – 28
- Alonzo-Diaz, M. A., J. F. J. Torres-Acosta, C. A. Sandoval-Castro, and H. Hoste. 2011. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe. *Small Rumin. Res.* 89: 164-173.
- Barrau, E., N. Fabre, I. Fouraste, and H. Hoste. 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, G. C., C. Bauer, F. H. M. Borgsteede, S. Geerts, T. R. Klei, and M. A. Taylor. 2000. 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. *Vet. Parasitol.* 44: 35- 44
- Eguale, T., D. Tadesse, and 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, L. E., P. M. N. Castro, A. C. S. Changas, S. C. Franca, and R. O. Belebani. 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, J. S. 2006. Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics. *Int. J. Parasitol.* 36: 1227-1239
- Githiori, J. B. 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, SLU. Acta Universitatis Agriculture Science. 76.
- Haryuningtyas, D. and W. T. Artama. 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., F. Jackson, S. Athanasiadou, S. M. Thamsborg, and S. O. Hoskin. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.* 22: 253-261
- Jackson, F., M. Varady, and D. J. Bartley. 2012. Managing anthelmintic resistance in goats-can we learn lessons from sheep? *Small Rumin. Res.* 103: 3-9.
- Kaplan, R. M. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: A status report. *TRENDS Parasitol.* 20: 478-481.
- Kustantinah, A., J. Daryatmo, E. R. Orskov, R.W. Mayes, and H. Hartadi. 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.
- Martins, A. C., P. L. F. Bergamasco, G. Felippelli, J. H. Tebaldi, M. F. D. Moraes, A. J. P. Testi, I. M. Lapera, and E. G. L. Hoppe. 2017. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep: fecal egg count reduction and metabolism of methionine, cystine, and inorganic sulfur in sheep. *Br. J. Nutr.* 70: 647-661
- Mengist, Z., N. Abeb, G. Gugsu, and N. Kumar. 2014. Assessment 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, J. E. and D. W. Haorhohov. 2006. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. *Journal of Animal Science.* 84.E124-E132.
- Nawaz, M., S. M. Sajid, J. Zubair, Z. Hussain, Abbasi, A. Mohi-Ud-Din, and M. Waqas. 2014. *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of leaves *Azadirachta indica*, *Dalbergia sisso* and *Morus alba* against *Haemonchus contortus*. *Global Veterinaria.* 13: 996-1001.
- Ngeh, J. T., W. Jacob, N. Mopoi, and D. Sali. 2007. Ethno veterinary medicine. A practical approach to the treatment of cattle diseases in Sub-Saharan African. 2nd Edition. Agromisa Foundation and CTA, Wageningen. 88.
- Oliveira, L. M. B., C. M. L. Bevilaqua, I. T. F. Macedo, S. M. Morais, M. V. B. Monteiro, C. C. Campello, W. L. C. Ribeiro, and E. F. K. Batista. 2011. Effect of six tropical tanniferous plant extracts on larval exsheathment of *Haemonchus contortus*. *Rev. Bras.*

Parasitol. Vet. 20: 155–160

- Sakti, A. A., R. W. Kustantinah, R. W. Nurcahayo, L. Perdani, and M. Ekaningrum. 2018. Extraction of condensed tannins from tropical plants as affected by leaves maturity, maceration time, and centrifugal force. *Materials Science Forum.* 78 – 84
- Sani, R. A., G. D. Gray, and R. L. Baker. 2004. Worm Control for Small Ruminants in Tropical Asia. ACIAR Monograph Series 113. Australian Centre for International Agriculture Research.
- Setyono, W. 2014. Kontrol Parasit Menggunakan Hijauan sebagai Agen Anthelmintika pada Kambing Bligon Betina. Tesis. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Setyono, W., Kustantinah, E. Indarto, N. D. Dono, Zuprizal, and I. H. Zulfa. 2019. *Calliandra calothyrsus* and *Artocarpus heterophyllus* as anti parasite for Bligon Goat. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 44(4): 400-407.