

The Anthelmintic Activity of Ethanol Extract of Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina*) Against *ascaridia galli* Worm *in vitro*

Uji Efektivitas Daya Antihelministik Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Terhadap Cacing *ascaridia galli* Secara *in vitro*

¹⁾Amelia Dwita Safitri, ²⁾Iwan Sahrial Hamid, ³⁾Poedji Hastutiek, ³⁾Setiawan Koesdarto,
²⁾Rahmi Sugihartuti, ³⁾Endang Suprihati

¹⁾Student, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

²⁾Department of Basic Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

³⁾Department of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

Received: 25-02-2019 , Accepted: 10-03-2019 , Published Online: 19-03-2019

Abstract

The aims of this study is to know the anthelmintic activity of ethanol extract of bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) against *Ascaridia galli* worm *in vitro*, as well as knowing effective concentration 50 (EC₅₀) and lethal time 50 (LT₅₀). Method that used in the research was completely randomized design. There were five treatments of physiological NaCl solution (K₀), piperazine sitrate (K+), ethanol extract of bitter leaf 0,35% (P₁), ethanol extract of bitter leaf 1,4% (P₂), ethanol extract of bitter leaf 4,2% (P₃), and each treatment was done in four replications. This research used ten *Ascaridia galli* in each treatment for all replications. The observation and recording of dead *Ascaridia galli* was done at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours. *Ascaridia galli* were declared dead if there was no movement when disturbed by anatomy tweezer and when dipped in slightly warm water (50°C). The obtained data was analyzed using ANAVA and continued with Duncan Multiple Range Test. The result of this research show that ethanol extract of bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) has anthelmintic effects against *Ascaridia galli* worm *in vitro*. In the extract with 4,2% concentration, there is anthelmintic property that almost the same as Piperazine sitrate 10 mg/ml. the higher the concentration of extract, the higher the property of anthelmintic. In probit analysis show that EC₅₀ achieved by concentration 2.093% with the low concentration of .002% and the highest concentration of 3.632%. LT₅₀ of ethanol extract of bitter leaf was 0.35% at 10.323 hours, 1.4% at 9.800 hours, 4.2% at 7.864 hours and Piperazine sitrate 10 mg/ml at 9.013 hours.

Keywords: *Vernonia amygdalina*, piperazine sitrate, *Ascaridia galli*, anthelmintic

Pendahuluan

Selera konsumen di Indonesia terhadap ayam buras sangat tinggi. Terlihat dari pertumbuhan populasi dan permintaan ayam buras yang semakin meningkat dari tahun ke tahun (Bakrie *et al.*, 2003).

Berkembangnya cacing *A. galli* dalam saluran pencernaan ayam buras dapat menimbulkan berbagai macam kerugian yaitu menurunkan performa pada ternak, terhambatnya waktu bertelur, produksi telur berkurang, menurunnya kondisi ternak sehingga mempermudah terinfeksi oleh penyakit lainnya, dan konversi pakan menjadi lebih besar sehingga menurunkan efisiensi pakan (Tabbu, 2002).

Penggunaan antelmintik komersial dapat menimbulkan masalah resistensi cacing terhadap antelmintik, selain itu harganya relatif

lebih mahal dan susah untuk didapatkan untuk masyarakat yang berada di pedesaan. Sedangkan penggunaan antelmintik yang bersumber dari bahan alam berpotensi sebagai pembasmi cacingan yang lebih aman dari ancaman resistensi, mudah didapatkan dan harganya lebih murah.

Vernonia amygdalina banyak digunakan dalam mengobati parasit gastro-intestinal pada manusia dan ternak (Nalule *et al.*, 2011). Penggunaan ekstrak *V. amygdalina* juga telah digunakan untuk anthelmintik, antimalaria, anti tumourigenik serta efek bakteriostatik dan bakterisida pada beberapa sifat bakteri (Abort and Raserika, 2003; Izevbogie *et al.*, 2004). Analisis kimia daun dan batang menemukan berbagai kelompok metabolit, seperti lakton seskuiterpen (vernolide, vernodalol, Vernolide

A), saponin, polifenol, dan flavonoid (Márcia et al., 2013). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Molgaard, et al. (2001), daun, batang, akar dan kulit akar ekstrak air *V. amygdalina* secara efektif membunuh *Cestodes hymenolepis* setelah 24 jam pengobatan.

Besaran umum dalam uji hayati yang biasa digunakan untuk menyatakan keefektifan zat biokatif dalam menimbulkan respon pada sampel uji adalah *effective dose 50* atau *effective concentration 50*, yaitu dosis atau konsentrasi yang dapat menyebabkan respon pada 50% jumlah sampel (Zaridah, 2005). Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah Apakah ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki efektivitas daya antihelmintik terhadap cacing *Ascaridia galli* secara *in vitro*.

Materi dan Metode Penelitian

Pembuatan ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner. Daun afrika yang dikumpulkan dijadikan simplisia lalu di ekstraksi dengan metode ekstraksi maserasi. Hasil penyaringan didapatkan residu dan filtrat. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* pemanas *water bath* dengan suhu 50°C. kecepatan 70rpm, hingga diperoleh ekstrak kental daun afrika sebanyak yang siap digunakan. Penelitian ini menggunakan enam perlakuan yaitu K(+) *Ascaridia galli* yang direndam piperazin sitrat, K(-) *Ascaridia galli* yang direndam NaCl fisiologis, (P₁) *Ascaridia galli* yang direndam ekstrak etanol daun afrika 0,35%, (P₂) *Ascaridia galli* yang direndam ekstrak etanol daun afrika 1,4%, (P₃) *Ascaridia galli* yang direndam ekstrak daun afrika 4,2%. Pada penelitian ini setiap perlakuan membutuhkan 10 ekor cacing dan empat kali pengulangan.

Tabel 1. Rerata Persentase Cacing *A. galli* yang mati pada 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, dan 12 jam setelah perlakuan

Perlakuan	2 jam (%)	4 jam (%)	6 jam (%)	8 jam (%)	10 jam (%)	12 jam (%)
NaCl fisiologis	0	0	0	0	0	12.5
Piperazine 10 mg/ml	0	2.5	7.5	32.5	55	92.5
EDA 0.35 %	0	0	5	25	45	65
EDA 1.4 %	0	2.5	7.5	25	52.5	72.5
EDA 4.2 %	0	5	15	52.5	72.5	95

Pengamatan mortalitas cacing *Ascaridia galli* dilakukan selama 12 jam dan diamati setiap 2 jam. cacing *A. galli* dinyatakan mati jika tidak ada pergerakan saat disentuh dengan cara cacing diusik dengan batang pengaduk kaca. Jika cacing diam, pindahkan kedalam air panas dengan suhu 50°C. Jika cacing tidak lagi bergerak maka cacing dinyatakan mengalami kematian. Jika cacing bergerak kembali maka cacing dinyatakan paralisis (Ali et al., 2012).

Analisis Data Pada penelitian ini, data yang diperoleh dari hasil perhitungan berupa cacing *Ascaridia galli* yang mati kemudian dianalisis menggunakan Analisis Varian (ANAVA) dan untuk membandingkan antar perlakuan dilakukan uji jarak berganda Duncan. Setelah mengetahui perbandingan dari masing – masing perlakuan, kemudian dilakukan analisis probit untuk mengetahui EC₅₀ dan LT₅₀ ekstrak pada setiap jam pengamatan. Uji statistik menggunakan bantuan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 24.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap cacing *A. galli* dalam lima perlakuan perendaman yaitu perendaman dalam larutan NaCl fisiologis (K-), perendaman dalam larutan piperazine sitrat 10mg/ml (K+), perendaman dalam ekstrak etanol daun Afrika 0,35% (P₁), perendaman dalam ekstrak etanol daun Afrika 1,4% (P₂), perendaman dalam ekstrak etanol daun Afrika 4,2% (P₃), didapatkan hasil kumulatif kematian cacing tertinggi pada konsentrasi 4,2%. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan rerata persentase jumlah kematian cacing *A. galli* pada semua perlakuan dalam waktu pengamatan 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, dan 12 jam setelah perlakuan adalah seperti yang di sajikan pada Tabel 1.

Rerata kematian dan simpangan baku *Ascaridia galli* jam ke - 2 yang mati pada setiap perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata. Rerata dan simpangan baku *A. galli* yang mati pada Jam ke - 4 diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p>0,05$). Jumlah rerata terendah didapatkan pada perlakuan NaCl fisiologis yaitu sebesar 0.00 ± 0.00 dan Jumlah rerata tertinggi pada perlakuan EDA 4,2% yaitu sebesar 0.50 ± 0.57 . Rerata dan simpangan baku *A. galli* yang mati pada Jam ke - 6 dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p>0,05$). Jumlah rerata terendah didapatkan pada perlakuan NaCl fisiologis yaitu sebesar 0.00 ± 0.00 dan Jumlah rerata tertinggi pada perlakuan EDA 4,2% yaitu sebesar 1.5 ± 1.29 . Rerata dan simpangan baku *A. galli* yang mati pada Jam ke-8 diketahui bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p<0,05$). Jumlah rerata terendah didapatkan pada perlakuan NaCl fisiologis yaitu sebesar 0.00 ± 0.00 yang berbeda nyata dengan semua perlakuan yang menggunakan Piperazine, EDA 0,35%, EDA 1,4%, EDA 4,2%. Jumlah rerata tertinggi pada perlakuan EDA 4,2% yaitu sebesar 5.25 ± 0.95 . Rerata dan simpangan baku *A. galli* yang mati pada Jam ke - 10 diketahui bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p<0,05$). jumlah rerata terendah didapatkan pada perlakuan NaCl fisiologis yaitu sebesar 0.00 ± 0.00 yang berbeda nyata dengan semua perlakuan yang menggunakan Piperazine, EDA 0,35%, EDA 1,4%, EDA 4,2%. Jumlah rerata tertinggi pada perlakuan EDA 4,2% yaitu sebesar 7.25 ± 0.95 . Rerata dan simpangan baku *A. galli* yang mati pada Jam ke - 12 diketahui bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p<0,05$). Jumlah rerata terendah didapatkan pada perlakuan NaCl fisiologis yaitu sebesar 1.25 ± 0.50 yang berbeda nyata dengan semua perlakuan yang menggunakan Piperazine, EDA 0,35%, EDA 1,4%, EDA 4,2%. Jumlah rerata tertinggi pada perlakuan EDA 4,2% yaitu sebesar 9.50 ± 0.57 .

Tabel 2. Data Jumlah kematian Cacing *Ascaridia galli* pada jam ke - 10 untuk mencari nilai EC_{50} Ekstrak Etanol *V. amygdalina* menggunakan analisis probit

Konsentrasi ekstrak etanol daun Afrika (%)	Jumlah cacing (ekor)	Prosentase kematian (%)
EDA 0,35%	10	25
EDA 1,4%	10	25
EDA 4,2%	10	52,5

Dapat diketahui bahwa Nilai EC_{50} yaitu sebesar 2.093%. Nilai tersebut dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun Afrika efektif membunuh 50% populasi cacing *A. galli* pada konsentrasi 2.093%. Tingkat konsentrasi ekstrak etanol *V. Amygdalina* berpengaruh nyata ($p<0,05$) terhadap kematian cacing *A. galli*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Afrika, maka kandungan bahan aktif ekstrak daun Afrika juga semakin tinggi dan meningkatkan keefektifan yang ditimbulkan terhadap kematian cacing *A. galli*.

Tabel 3. Nilai LT_{50} Ekstrak Etanol *V. amygdalina* pada Berbagai Konsentrasi Perlakuan

Konsentrasi (%)	LT_{50} (Jam)
Piperazine sitrate 10mg/ml	9.013 Jam
EDA 0,35%	10.281 Jam
EDA 1,4%	9.810 Jam
EDA 4,2%	7.913 Jam

Nilai LT_{50} pada Piperazine yaitu pada 9.013 Jam dan berbagai konsentrasi perlakuan yaitu konsentrasi 0,35% pada 10.281 Jam, konsentrasi 1,4% pada 9.810 Jam, dan konsentrasi 4,2% pada 7.913 Jam. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Afrika, maka kandungan bahan aktif ekstrak daun Afrika juga semakin tinggi dan meningkatkan keefektifan waktu yang ditimbulkan terhadap kematian cacing *A. galli*. Tabel tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Afrika dengan konsentrasi 4,2% mematikan 50% cacing *Ascaridia galli* lebih cepat dibandingkan kontrol positif yang diberi larutan piperazine sitrat.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) diantara perlakuan pada pengamatan 8 jam, 10 jam, dan 12 jam. Perendaman cacing *A. galli* pada ekstrak etanol daun Afrika konsentrasi 4,2% menyebabkan mortalitas lebih tinggi dibandingkan larutan piperazine sitrat 10 mg/ml. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun Afrika memiliki daya anthelmintik yang baik untuk cacing *A. galli* secara *in-vitro*.

Penelitian yang dilakukan oleh Sirama *et al.*, (2015) Ekstrak akar *Vernonia amygdalina* memiliki mortalitas terhadap cacing tanah rata-rata 20-33,3% pada 6,25 mg / ml; 23,3-46,7% pada 12,5 mg / ml dan 26,7-56,7% pada 25 mg / ml setelah 6 jam perlakuan. Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh Molgaard *et al.*, (2001), daun, batang, akar dan kulit akar ekstrak air *V. amygdalina* secara efektif membunuh *Cestodes*

hymenolepis setelah 24 jam pengobatan. Abdul *et al.*, (2000) menyarankan bahwa pelarutan ekstrak air *V. amygdalina* diperlukan potash (kalium karbonat) dalam kasus pengobatan cacing. Selain itu, ekstrak metanol *Vernonia amygdalina* memiliki median dosis efektif (ED₅₀) pada 3,5 mg / ml terhadap *Ascaris suum*. Ekstrak ini membunuh 50% *Ascaris* setelah 12 jam pada 6 mg / ml (Innocent and Deogracious, 2006).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol *Vernonia amygdalina* memiliki efektivitas daya antihelmintik terhadap cacing *Ascaridia galli* secara *in-vitro*. Konsentrasi 4,2% memberikan hasil terbaik dalam hal jumlah kematian cacing *A. galli* yaitu mencapai 95% dibandingkan dengan konsentrasi lainnya dan juga piperazin sitrat. Setelah dilakukan analisis probit didapatkan Nilai EC₅₀ ekstrak etanol *Vernonia amygdalina* yang efektif terhadap cacing *Ascaridia galli* secara *in-vitro* yaitu sebesar 2.093%. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika efektif membunuh 50% populasi cacing *A. galli* pada konsentrasi 2.093% dan nilai LT₅₀ pada Piperazine yaitu pada 9.013 Jam, konsentrasi 0,35% pada 10.281 Jam, konsentrasi 1,4% pada 9.810 Jam, dan konsentrasi 4,2% pada 7.913 Jam.

Daftar Pustaka

- Abdul, P. A., Jagun, A. G., Gefu, J. O., Mohammed, A. K. Alawa, C. B. I., and Omokanye, A. T. 2000. A Survey of Etnoveterinary Practices of Agropastoralists in Nigeria. Nigeria. 25 - 37.
- Abort, A. O. and Raserika, B. H. 2003. In vivo antimarial activity of *Vernonia amygdalina*. British J of Biomed Sci., 60: 89-91.
- Bakrie, B., D. Andayani., M. Yanis., dan D. Zainuddin. 2003. Pengaruh Penambahan Jamu Ke Dalam Air Minum Terhadap Preferensi Konsumen dan Mutu Karkas Ayam Buras. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan, Bogor. 490-495.
- Beriajaya, Martidah, E., dan Nurhayati, I. S. 2006. Masalah Ascariasis Pada Ayam. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. 194-200.
- Innocent, T., and Deogracious, O. 2006. The anthelmintic activity of selected indigenous medicinal plants used by the Banyankole of Western Uganda. J. Anim. Vet. Adv., 5: 712-717.
- Izevbige, E. B., Bryant, J. L., and Walker A. 2004. A novel natural inhibitors of extracellular signal-regulated kinases and human breast cancer cell growth, Experimental Bio Med., 229: 163-169.
- Marcia, D. R. and Silva, A. G. 2013. Anatomical characters of the medicinal leaf and stem of *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip. ex Walp. (Asteraceae). Brazilian J. of Pharm. Sciences. 49(4): 719-727.
- Molgaard, P., Nielsen, S. B., Rasmussen, D. E., Drummond, R. B., and Makaza, N., Andreassen, J. 2001. Anthelmintic screening of Zimbabwean plants traditionally used against schistosomiasis. J. Ethnopharmacol., 74: 257-264.
- Nalule, A. S., Mbaria, J. M., Olila, D., and Kimenju, J. W. 2011. Ethnopharmacological practices in management of livestock helminthes by pastoral communities in the drylands of Uganda; Livestock Research for Rural Development, 23(2).
- Sirama, V., Kokwaro, J., Owuor, B., Yusuf, A., and Kodhiambo, M. 2015. *In-vitro* Anthelmintic Activity of *Vernonia amygdalina* Del. (asteraceae) Roots Using Adult *Haemonchus contortus* worm. Int. J. Of Pharmacological Research. 5: 1-7.
- Tabbu, C. R. 2002. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Kanisius. Yogyakarta. 2: 73-76.
- Zaridah, M. Z. 2005. Mosquitocidal Activities of Malaysian Plants. J. of Tropical Forest. 18(1): 74 - 80.