

Effectivity of Etanol Extract in Peel a Pomegranate Fruit (*Punica granatum*) as Antelmintic Toward the Number of Deaths *Ascaridia galli* Worm *in Vitro*

Efektifitas Anthelmintika Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum*) terhadap Jumlah Kematian Cacing *Ascaridia galli* secara *in Vitro*

¹⁾Nilia Murodah, ²⁾Sri Mumpuni Sosiawati, ³⁾Iwan Sahrial Hamid, ²⁾Setiawan Koedarto, ³⁾Rochmah Kurniasanti dan ²⁾Poedji Hastutiek

¹⁾Student, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

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

³⁾Department of Basic Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga.

Received: 27-06-2020, Accepted: 27-06-2020, Published Online: 29-06-2020

Co-Author email : sri-m-s@fkh.unair.ac.id

Abstract

This research was conducted to determine the anthelmintics effect of peel a pomegranate fruit extract etanol against *Ascaridia galli* worm *in vitro*. In this research, using 240 samples of *A. galli* with length 7-11cm without differentiating sex. The concentration of peel a pomegranate fruit extract etanol for immersing the *Ascaridia galli* were 10 mg/ml, 20 mg/ml, 40 mg/ml, and 80 mg/ml. Negative control was used PBS. Positif control was used piperazin citrate 10 mg/ml. Observation death *A. galli* worm and analysis of the data at the 6 hour, 12 hour, 18 hour, 24 hour, 30 hour and 36 hour using ANOVA test and Duncan Range Test. ANOVA result showed significant differences between treatments ($p < 0,05$). Duncan Range Test result showed peel a pomegranate extract etanol 40 mg/ml had anthelmintics effects the 36 hour which comparable with piperazin citrate 10 mg/ml.

Key words: peel a pomegranate, *A. galli*, anthelmintic

Pendahuluan

Prevalensi penyakit yang disebabkan oleh *Ascaridia galli* ini masih sangat tinggi (Darmawidjaja, 2007). Pengamatan pada empat distrik di wilayah pinggiran Amhara (Ethiopia) menunjukkan bahwa prevalensi cacing Nematoda yang menginfeksi pada ayam adalah *A. galli* (35,58%), *Heterakis gallinae* (17,28%), *Subulura brupti* (17,60%), *Cheilospirura hamulosa* (0,75%) dan *Dyspharynx spiralis* (2,62%) (Eshetu dkk, 2001).

Prevalensi cacing *A. galli* di beberapa kabupaten di Jawa Barat (Sukabumi, Ciamis, Bekasi, Subang) masing-masing sebesar 10%, 18% dan 5% (Iskandar dkk, 2002). Salah satu dari 18 jenis cacing gastrointestinal yang menginfeksi ayam muda di kawasan pembuangan sampah di Gana, Afrika Barat, adalah *A. galli* dengan prevalensi 24% (Polusen dkk, 2000). Ayam yang rentan cacing *A. galli* adalah ayam yang masih muda, *A. galli* ini banyak di temukan pada usus halus ayam bagian tengah menurut (Permin dan Hansen, 1998).

Cacing *A. galli* ini dapat menyebabkan enteritis hemorhagi, anemia, nafsu makan turun, bulu rontok, kusam, pucat, sayap

terkulai, dan lemah. Ayam leyer yang sedang berproduksi dapat mengakibatkan penurunan produksi telur atau sampai terhenti sama sekali. Ayam broiler pertumbuhan akan terganggu dan berat badan menurun (Subekti dkk, 2007). Infeksi pada umumnya ringan sampai sedang tidak menimbulkan gejala yang nyata, tetapi infeksi yang berat dapat menyebabkan kematian (Soulsby, 1986). Infeksi yang berat terjadi berak berlendir, selaput lendir pucat, pertumbuhan terhambat dan produksi telur menurun (Fahrimal and Raflesia, 2002).

Indonesia adalah negeri yang memiliki ribuan jenis tanaman obat yang bisa dimanfaatkan, dan kebanyakan belum diteliti dengan optimal. Pengetahuan mengenai hal ini sudah diwariskan oleh nenek moyang kita secara turun temurun (Lusia, 2006). Banyak tumbuhan yang digunakan untuk mengobati cacingan seperti delima, temu hitam, lidah buaya, dan bawang putih (Dalimartha, 2003).

Delima (*Punica granatum*) adalah tanaman yang sering ditanam di kebun sebagai tanaman hias, tanaman obat atau karena buahnya bisa dimakan. Hampir semua bagian tanaman delima dapat digunakan sebagai obat

tradisional. Bunga delima (*Granati flos*) dapat digunakan untuk mengatasi sariawan, daging delima (*Granati fructus*) dapat digunakan untuk menurunkan tekanan darah, kulit delima (*Granati pericarpium*), akar delima (*Granati radix*), dan kulit kayu delima (*Granati cortex*) dapat digunakan untuk mengobati cacingan (Dalimartha, 2003 yang dikutip oleh Sandika, 2012).

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah kulit buah delima (*Punica granatum*) yang diperoleh dari Madiun, etanol 96%, Tween 80 spiritus, Piperazin sitrat *Contra-Worm*[®] sebagai kontrol obat serta cacing *A.galli* dewasa yang diperoleh dari usus halus ayam kampung yang diperoleh dari pasar tradisional Surabaya.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : cawan petri, gunting bedah, scalpel, pinset, mangkok plastik, timbangan digital, sarung tangan bedah, nampan plastik, batang pengaduk kaca, alat maserasi, saringan, bak perendam, pot plastik, inkubator, kompor, gelas ukur, baker glass *pyrex* 500ml, api bunsen, spiritus, lap kain, *rotary evaporator*.

Metode Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol kulit delima

Pembuatan Ekstrak etanol kulit buah delima dilakukan dengan metode maserasi yaitu dengan cara mengeringkan kulit buah delima kemudian dihaluskan dan diayak, setelah didapatkan serbuk halus direndam dengan etanol 96%, perendaman 2x24 jam yang ditampung dalam suatu wadah setelah itu di saring. Perbandingan banyak etanol dengan kulit buah delima 10:1. Kemudian hasil saringan maserasi dari ekstrak etanol dilakukan evaporasi dengan alat *rotary evaporator* (40°C dengan kecepatan 50 rpm) yang bertujuan untuk menguapkan pelarutnya hingga berupa ekstrak kental (Depkes RI, 1989 yang dikutip dari Kurniawan 2013).

Pembuatan larutan piperazin sitrat

Larutan piperazin yang digunakan sebagai kontrol untuk obat pembanding diperoleh dari obat bubuk *Contra-Worm* yang mengandung piperazin sitrat 600 mg/g (Ashab dan Lina, 2011). Penelitian membutuhkan 10 mg/ml. Berdasarkan perhitungan (Lampiran I) maka dibutuhkan 0,25 gram obat *Contra-Worm*[®] dalam setiap 25 ml larutan PBS.

Persiapan pengadaan cacing *A. galli*

Pada penelitian ini menggunakan cacing *A. galli* yang berukuran 7-11 cm, pengambilan cacing secara acak tanpa membedakan jenis kelamin. Cacing *A. galli* yang di butuhkan adalah 240 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dan setiap perlakuan ada 4 ulangan, tiap ulangan dimasukkan 10 ekor cacing *A. galli*. Cacing *A. galli* tersebut diperoleh dari usus halus ayam yang terinfeksi, yang diperoleh dari pasar-pasar tradisional di kota Surabaya. Setelah didapatkan usus ayam yang terinfeksi, usus ayam dibedah dengan menggunakan gunting bedah dan pengambilan cacing dengan menggunakan pinset kemudian diletakkan di mangkok plastik yang berisi cairan PBS.

Perlakuan terhadap cacing *A. galli*

Perlakuan yang digunakan adalah enam perlakuan, sedangkan ulangan pada penelitian ini berdasarkan rumus Federer (1963) dalam Kusrieningrum (2010) adalah sebagai berikut: $t(n-1) \geq 15$, $6(n-1) \geq 15$, $6n-6 \geq 15$, $6n \geq 21$, $n \geq 3,4 = 4$. t sebagai jumlah perlakuan dan n sebagai jumlah ulangan.

dari hasil perhitungan di atas, maka dibutuhkan minimal 4 ulangan pada setiap perlakuan, jadi dibutuhkan 24 cawan petri. Adapun perlakuan pada cacing tersebut adalah sebagai berikut : (I) Perlakuan dengan merendam cacing *A. galli* dalam PBS, perlakuan (II) yaitu perlakuan dengan merendam cacing *A. galli* pada piperazin 10 mg/ml, perlakuan (III) yaitu perlakuan dengan merendam cacing *A. galli* dalam ekstrak kulit buah delima 10 mg/ml, perlakuan (IV) yaitu dengan merendam cacing *A. galli* dalam ekstrak kulit buah delima 20 mg/ml, perlakuan (V) yaitu dengan merendam cacing *A. galli* dalam ekstrak kulit buah delima 40 mg/ml, dan perlakuan ke (VI) yaitu dengan merendam cacing *A. galli* dalam ekstrak 80 mg/ml. Semua cawan petri diisi larutan perlakuan dengan volume 25 ml dan 10 cacing *A. galli* yang masih bergerak aktif (Ali dkk, 2012), kemudian masing-masing cawan petri di masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada jam ke-6, ke-12, ke-18, ke-24, ke-30 dan ke-36.

Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental yang dilakukan di laboratorium dengan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (Kusrieningrum, 2010). Untuk mengetahui daya anthelmintik ekstrak etanol

Kulit delima (*P. granatum*) dengan melihat mortalitas cacing *A. galli*. Data yang diperoleh di analisis dengan ANAVA dan untuk membandingkan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan*

Hasil dan Pembahasan Hasil Pengamatan Terhadap Jumlah Kematian Cacing *A. galli*

Pemberian ekstrak kulit buah delima (*Punica granatum*) pada kelompok perlakuan menyebabkan kematian cacing *A. galli*. Keberhasilan penggunaan kulit buah delima (*P. granatum*) sebagai anthelmintik ini ditandai dengan adanya kematian pada tiap perlakuan dan pada pengamatan yang dilakukan tiap 6 jam sekali.

Hasil yang diperoleh setelah melakukan penelitian dapat diketahui bahwa pemberian dari berbagai perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda antara yang satu dengan yang lainnya, penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan rerata jumlah kematian cacing *A. galli* pada semua perlakuan dalam waktu pengamatan jam ke-6, ke-12, ke-18, ke-24, ke-30, dan ke-36, disajikan dalam Tabel 1.

Hasil pengamatan yang didapat selanjutnya ditabulasi dan diolah dengan program SPSS 18 for windows. Uji normalitas data dilakukan terlebih dahulu dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai signifikan uji 0,147 lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), jadi data berdistribusi normal. Selanjutnya uji statistik parametrik bisa dilakukan dengan analisis varian (ANAVA). Hasil ANAVA menunjukkan terjadi perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) kenaikan jumlah kematian cacing *A. galli* dengan pemberian berbagai dosis ekstrak kulit buah delima (*P. granatum*).

Setelah diketahui dari hasil ANAVA menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dapat

dilakukan uji lanjutan menggunakan uji jarak berganda *Duncan*. Pada uji jarak berganda *Duncan* diperoleh perbedaan angka pada setiap kelompok, digunakan untuk membandingkan semua perlakuan yang ada.

Berdasarkan hasil perbandingan rerata jumlah kematian cacing *A. galli* pada setiap kelompok dengan perhitungan statistik secara keseluruhan menunjukkan perbedaan yang nyata. Kelompok kontrol positif sebagai pembandingnya menunjukkan angka ($7,75^{bc} \pm 1,70$), hasil tersebut menunjukkan bahwa obat telah diabsorpsi oleh cacing *A. galli* sampai menimbulkan efek kematian. Kelompok perlakuan VI (ekstrak 80 mg/ml) memberikan hasil yang terbaik dalam menimbulkan kematian pada cacing *A. galli*, dengan menunjukkan presentase kematian tertinggi yaitu 87,5%, kelompok perlakuan V (ekstrak 40 mg/ml) dengan presentase kematian 82,5%, sedangkan kelompok perlakuan IV (ekstrak 20 mg/ml) dan III (ekstrak 10 mg/ml) menunjukkan presentase kematian 72,5% dan 62,5%. Kontrol negatif menunjukkan angka kematian 7,50%, hal ini dapat dijelaskan jika pemberian pelarut PBS saja tidak memberikan pengaruh kematian. Kematian yang terjadi dapat diakibatkan karena terlalu lamanya cacing di dalam pelarut atau dapat diakibatkan karena *in vitro* tidak selalu mutlak seperti kondisi di dalam tubuh, selain itu dapat juga diakibatkan karena suhu. Selisih angka kontrol positif dan perlakuan IV menunjukkan angka yang berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa efek dari ekstrak kulit buah delima (*P. granatum*) dapat menyebabkan kematian pada cacing *A. galli*. Pada perlakuan V menunjukkan bahwa jumlah rata-rata kematian cacing *A. galli* setara dengan Piperazin sitrat, sehingga ekstrak kulit buah delima 40 mg/ml dapat menggantikan penggunaan piperazin sitrat pada penanganan pengobatan ascariasis.

Tabel 1. Rerata Presentase Jumlah Kematian Cacing *A. galli* pada jam ke-6, ke-12, ke-18, ke-24, ke-30 dan ke-36.

Perlakuan	Jumlah kematian (%)					
	Jam ke-6	Jam ke-12	Jam ke-18	Jam ke-24	Jam ke-30	Jam ke-36
PBS	0	0	0	0	0	7,5
Piperazin 10 mg/ml	0	0	0	7,5	42,5	77,5
Ekstrak 10 mg/ml	0	0	2,5	10	52,5	62,5
Ekstrak 20 mg/ml	0	0	5	15	50	72,5
Ekstrak 40 mg/ml	0	2,5	12,5	25	65	82,5
Ekstrak 80 mg/ml	0	7,5	20	32,5	70	87,5

Tabel 2. Rerata Jumlah Kematian Cacing *A. galli* Setiap Kelompoknya.

No	Kelompok perlakuan	Jumlah kematian cacing <i>A.galli</i>
1.	Kontrol Negatif (PBS)	0,75 ^a ± 0,95
2.	Kontrol Positif piperazin 10 mg/ml	7,75 ^{bc} ± 1,70
3.	Ekstrak 10 mg/ml	6,25 ^b ± 1,50
4.	Ekstrak 20 mg/ml	7,25 ^{bc} ± 0,95
5.	Ekstrak 40 mg/ml	8,25 ^{bc} ± 0,95
6.	Ekstrak 80 mg/ml	8,75 ^c ± 1,50

^{a,b,c} Superskip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Kesimpulan

Ekstrak kulit buah delima (*P. granatum*) mempunyai daya anthelmintika terhadap cacing *Ascaridia galli* secara *in vitro*. Terdapat perbedaan yang nyata di antara pemberian ekstrak kulit buah delima (*P. granatum*) dalam berbagai konsentrasi terhadap cacing *A. galli* secara *in vitro*. Ekstrak kulit buah delima 40 mg/ml setara dengan piperazin sitrat setelah perendaman 36 jam terhadap mortalitas cacing *A. galli* secara *in vitro*.

Daftar Pustaka

- Ashab I and Lina SMM. 2011. In vitro phytochemical and anthelmintic activity of cocculus hirsutus Linn, and Rumex dentatus Linn. S. J. Pharm. Sci 4 (2) : 63-65
- Dalimartha S. 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid Ketiga. Jakarta: Puspa Swara.
- Darmawi R, Tiuria RD, Soejoedono FH, Pasaribu dan Balqis U. 2007. Populasi L₃ pada ayam petelur yang diinfeksi dengan dosis 6000 L₂ *Ascaridia galli*. Jurnal Kedokteran Hewan. 1(2) :71-76.
- Eshetu Y, Mulualem E, Ibrahim H, Berhanu A, and Aberra K. 2001. Study of gastrointestinal helminths of scavenging chickens in four rural districts of Amhara region, Ethiopia. Rev. Sci. tech. off. Int. Epiz. 20(3):791-796.
- Kurniawan S. 2007. Pengaruh Ekstrak Kulit Akar Delima (*Punica granatum*) terhadap Cacing *Ascaridia galli* secara *In-Vitro*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Kurniawan A. 2013. Uji Efek Imunostimulan Estrak Etanol Daun Tekelan (*chromolaena odorata* (L.) terhadap Aktivitas Sel Makrofag Mencit Yang diinduksi Bakteri *Staphylococcus Aureus*.
- Kusriningrum RS. 2010. Perancangan Percobaan, Airlangga University press Surabaya.
- Lusia. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. Halaman 1-7.
- Permin A and Hansen JW. 1998. Epidemiology, Diagnosis and Control of Poultry Parasites. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Sandika B. 2012, Pengaruh pemberian air rebusan akar delima (*Punica granatum*) terhadap mortalitas *Ascaris suum* Goesze secara in vitro.
- Soulsby EJJ. 1986. Helminth, Arthropods and Protozoa or Domesticated Animals. 7th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Soulsby EJJ. 1990. Anthelmintic activity of ivermectin against experimental *Ascaridia galli* infection in chickens.
- Subekti S, Koesdarto S, Kusnoto, Sosiawati SM dan Puspitawati H. 2007. Penuntun Praktikum Helmintologi Veteriner Edisi 1 Revisi ke 3.
- Subekti S, Koesdarto S, Sosiawati SM dan Kusnoto 2013, Buku Teks Helminthiasis Veteriner. Global Persasa press. Surabaya.
- Wiryowidagdo S. 2007. Kimia dan Farmakologi Bahan Alam. Edisi Kedua. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.