

Daya Ovisidal dan Larvisidal Infusa Daun Bambu Apus (*Gigantochloa apus*) terhadap *Haemonchus contortus* Secara *In Vitro*

*In Vitro Ovicidal and Larvicidal Apus Bamboo Leaves (*Gigantochloa apus*) Infusion Against *Haemonchus contortus**

Budi Purwo Widiarso¹, Wisnu Nurcahyo², Kurniasih³, Joko Prastowo²

¹ Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP), Jl.Magelang-Kopeng
Km 7 Purwosari Tegalrejo Magelang PO BOX 152

² Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³ Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

*Email:budipw2000@yahoo.com, wisnu-nc@ugm.ac.id

Naskah diterima : 30 November 2017, direvisi : 7 Maret 2018, disetujui : 30 Mei 2018

Abstract

Gastrointestinal nematodes are one among cause decrease production *efficiency in* goat and sheep in Indonesia, especially parasite of abomasum namely *Haemonchus contortus*. This parasite causes disease of Haemonchosis causing anemia, and causes mortality to young goat or sheep. Loss of economics caused by high morbidity and mortality this parasite so that can improve the expense of prevention and medication of this disease. This research aim was to evaluate ovicidal and larvicidal apus bamboo leaf infusion (*Gigantochloa apus*) against *Haemonchus contortus* by *in vitro*. Examination of apus bamboo leaves infusion to seven concentrations namely : 1.2; 1.0; 0.8; 0.6; 0.4; 0.2; 0.1; 0.05 and 0 mg / ml as negative control. Positive control uses Albendazole with concentration 0,025 mg / ml. The highest concentration 1.2 mg / ml apus bamboo leaves infusion inhibited 92.35% egg hatching (LC 0.49 mg / ml) and have larvicidal activity equal to 90% (LC50 0,47mg / ml). The concentration 1.2 mg / ml also have similar effect with positive control which use Albendazole. Phytochemical apus bamboo leaf analysis revealed the presence tanin condensed, saponins, and alkaloids.

Key words : Ovicidal, larvicidal, apus bamboo leaves, *Haemonchus contortus*, *in vitro*

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 atau kambing muda. Kerugian ekonomi disebabkan karena morbiditas dan mortalitas parasit ini cukup tinggi, sehingga dapat meningkatkan biaya pencegahan dan pengobatan penyakit ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi daya ovisidal dan larvisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap *Haemonchus contortus* secara *in vitro*. Pengujian infusa daun bambu apus pada tujuh konsentrasi :1,2; 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2;0,1; 0,05 dan 0 mg /ml sebagai kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan Albendazole dengan konsentrasi 0,025 mg/ml. Pada konsentrasi tertinggi 1.2 mg/ml infusa daun bambu apus mampu menghambat penetasan telur sebesar 92,35% (LC 0,49 mg/ml) dan menghambat perkembangan larva sebesar 90% (LC50 0,47mg/ml). Konsentrasi 1.2 mg /ml mempunyai efek yang sama jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan Albendazole. Analisis fitokimia daun bambu apus mengandung tanin terkondensasi, saponin, dan alkaloid.

Kata kunci : Ovisidal, larvisidal, daun bambu apus, *Haemonchus contortus*, *in vitro*

Pendahuluan

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 atau kambing muda (Aliasghar *et al.*, 2012). Ternak kecil merupakan hewan yang mudah terinfeksi parasit ini terutama yang berada di daerah panas dan lembab di iklim tropis dan subtropis. Kerugian ekonomi disebabkan karena morbiditas dan mortalitas parasit

ini cukup tinggi, sehingga dapat meningkatkan biaya pencegahan dan pengobatan penyakit ini (Miller *et al.*, 2006). Menurut Parson dan Vere (1984), penelitian dilakukan pada dua provinsi di Indonesia, menunjukkan bahwa prevalensi *haemonchosis* pada kambing mencapai 89,4% dan kerugian ekonomi yang disebabkan *haemonchosis* pada kambing di Indonesia ditaksir mencapai 4,7 juta dolar US. Di Kenya kerugian ekonomi akibat *Haemonchus contortus* pada ruminansia kecil diperkirakan mencapai 26 juta US dollar tiap tahun (Githiori, 2004).

Selama ini untuk mengontrol parasit menggunakan antelmintik kimia, namun karena peningkatan resistensi antelmintik pada negara-negara berkembang, adanya residu pada produk hewan, dan polusi lingkungan maka perlu dicari alternatif pengobatan lain. Pengobatan alternatif menggunakan tumbuhan berkhasiat antelmintik (Hammond *et al.*, 1997), karena mampu menyelesaikan masalah infeksi parasit, mengurangi resistensi obat dan memiliki efek samping terhadap lingkungan yang lebih rendah daripada pengobatan kimia (Ngeh, *et al.*, 2007).

Inovasi penemuan antelmetika 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, peneliti, untuk membantu meningkatkan kinerjanya peternakannya. Salah satu sumber hayati tumbuhan yang dapat menjadi alternatif baru adalah penggunaan daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) untuk membantu usaha peternakan tersebut.

Daun bambu mempunyai potensi yang tinggi untuk menjadi alternatif karena populasi yang cukup banyak dan limbahnya jarang digunakan untuk keperluan yang bermanfaat. Daun bambu dikenal dengan istilah *Gold of The Poor* karena nilainya yang cukup tinggi dan peranannya sebagai agen farmakologis yang bersifat motorik spontan,

antibakteri, antioksidan dan antitumor (Rates, 2001). Daun bambu juga mengandung berbagai nutrien yang bermanfaat untuk meningkatkan kinerja ternak. Kandungan tanin dalam daun bambu dilaporkan mampu memberikan manfaat sebagai obat cacing untuk ternak sehingga selanjutnya perlu dikaji lagi potensinya sebagai obat anthelmetika pada ternak.

Daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan tanin yang tinggi, serta kandungan zat aktif lainnya. Berdasarkan pengujian tanin, saponin, antraquinon dan flavonoid di laboratorium penelitian dan pengujian terpadu Universitas Gadjah Mada tahun 2016 diketahui bahwa : daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) tua mengandung tanin sebesar 8,81% b/b, saponin 1,55% b/b, flavonoid 8,12% b/b dan antraquinon kurang dari 15,6 mg/kg. Daun bambu apus muda mengandung tanin sebesar 2,97% b/b. Daun bambu petung (*Dendrocalamus asper*) tua mengandung tanin sebesar 4,84% b/b, dan pada daun bambu legi (*Gigantochloa atter*) tua mengandung tanin sebesar 3,19% b/b. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi daya ovisidal dan larvisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap *Haemonchus contortus* secara *in vitro*.

Materi dan Metode

Materi

Materi penelitian yang digunakan berupa alat dan bahan penelitian. Alat yang digunakan adalah mikroskop elektron, kamar hitung Mc Master, counter, pipet, gelas ukur, well plate mikrotiter, obyek gelas, dan deck gelas. Bahan yang digunakan adalah infusa daun bambu apus, cacing dewasa *Haemonchus contotus* betina, NaCl 0,62%, aquadestilata, dan lugol.

Pembuatan Infusa Daun bambu apus

Menurut Daryatmo (2010) dan Widiarso el al

(2017) simplisia daun bambu apus dibuat dengan menggunting atau menyacah daun bambu menjadi lebih lembut atau lebih kecil. Cacahan daun bambu apus ditimbang sesuai dengan berat atau konsentrasi yang diinginkan yaitu 0,5 gram, 1 gram, 2 gram, 4 gram, 6 gram, 8 gram, 10gram, dan 1,2 gram. Potongan daun bambu apus dimasukkan ke dalam gelas beker. Gelas beker yang sudah terisi daun bambu selanjutnya diisi dengan aquades sebanyak 100 ml. Gelas beker selanjutnya dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 90°C selama 15 menit. Cairan sisa dalam gelas beker diambil dan disaring untuk didapatkan infusa daun bambu dengan berbagai konsentrasi.

Uji ovisidal

Menurut Coles *et al.*, (1992) suspensi telur (0,3 ml : 1000 telur) didistribusikan ke dalam 24 sumuran plat mikrotiter dengan berbagai konsentrasi daun bambu apus 0,05 mg/ml; 0,1 mg/ml; 0,2 mg/ml; 0,4 mg/ml; 0,6 mg/ml; 0,8 mg/ml; 1 mg/ml; dan 1,2 mg/ml.. Kontrol positif menggunakan albendazole dengan konsentrasi 0,025 mg/ml. Kontrol negatif diisi oleh cairan telur dalam aquadestilata.

Telur diinkubasikan pada suhu kamar 27°C. Setelah 48 jam, satu tetes larutan lugol diteteskan pada telur yang diamati. Semua telur dan larva 1 masing-masing sumuran dihitung terdapat 3 ulangan untuk masing-masing perlakuan dan kontrol. Pengambilan data dilakukan sebanyak 3 kali.

Tabel 1. Daya ovisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap telur cacing *Haemonchus contortus*

Konsentrasi (mg/ml)	Daya ovisidal (LC50 = 0,49 mg/ml)
1,2	92,34± 1,67
1	87,77± 2,46 ^e
0,8	83,33± 2,25 ^e
0,6	68,10± 1,10 ^d
0,4	42,85± 7,29 ^c
0,2	35,24± 6,97 ^b
0,1	16,92± 4,11 ^b
0,05	5,33± 5,61 ^a
Kontrol positif /Albendazole (0,025)	90,9± 1,39 ^{f,g}
Kontrol negatif/ Aquadestilata	1,32± 2,48 ^a

^{a,b,c,d,e,f,g}Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (P<0,05). Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan

Uji Larvisidal

Suspensi berisi telur *Haemonchus contortus* 0,3 ml (1000 telur) diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 30°C. Suspensi yang berisi telur menetas menjadi larva dihitung. Selanjutnya larva dibiakkan ke dalam biakan feses yang bebas nematoda dan diberikan larutan infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) dengan berbagai konsentrasi yang berbeda selama 7 hari dengan suhu 30°C (Maciel *et al.*, 2006). Larva yang mengalami kematian dihitung jumlahnya. Pengambilan data dilakukan sebanyak 3 kali dengan masing-masing konsentrasi 3 kali ulangan.

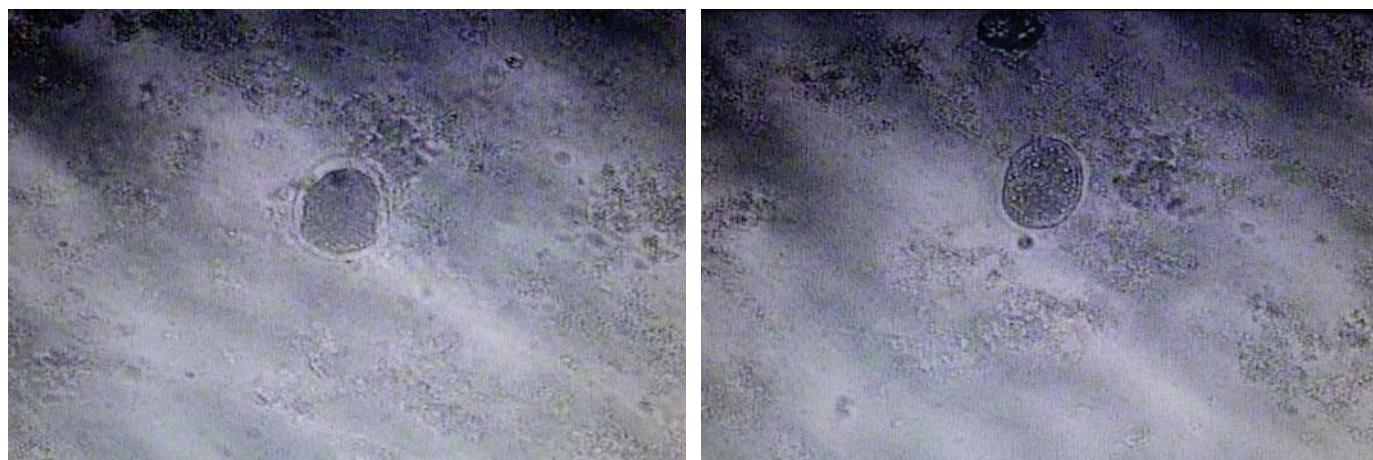
Analisis data

Hasil uji ovisidal dan larvisidal berbagai konsentrasi diuji menggunakan ANOVA dan apabila terdapat perbedaan yang nyata diuji lanjut menggunakan uji tukey serta menggunakan alat bantu SPSS 7.0 for windows . Nilai rata-rata konsentrasi efektif (EC-50) juga dihitung menggunakan SPSS 7.0 for windows.

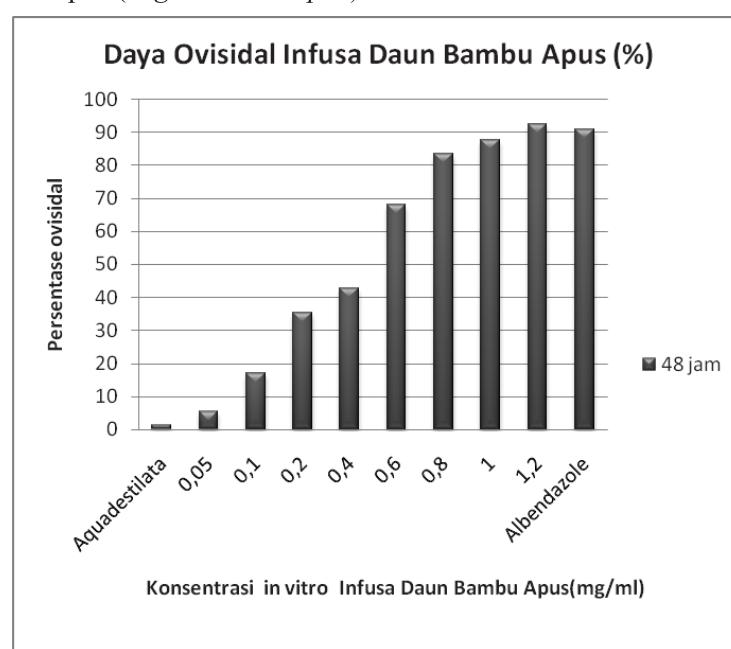
Hasil dan Pembahasan

Daya ovisidal

Hasil uji daya ovisidal *Haemonchus contortus* oleh infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.



Gambar 1. Gambar telur cacing *Haemonchus* yang mengalami penghambatan menjadi larva karena pemberian infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) secara *in vitro*



Grafik 1. Daya ovisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap telur cacing *Haemonchus contortus*

Pada Tabel 1 dapat diketahui adanya perbedaan yang signifikan efikasi infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap aktivitas ovisidal telur *Haemonchus contortus* ($P<0,05$) pada semua konsentrasi dan memiliki daya ovisidal tinggi pada 3 konsentrasi (0,8 mg/ml; 1 mg/ml; dan 1,2 mg/ml) dibandingkan dengan kontrol negatif. Efikasi yang sama dengan kontrol positif albendazole pada konsentrasi 1,2 mg/ml. Dosis LC50 adalah 0,49 mg/ml belum menunjukkan daya ovisidal secara signifikan. infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) memiliki daya ovisidal telur *Haemonchus contortus* ($P<0,05$)

pada semua konsentrasi. Daya ovisidal tinggi terjadi pada 3 konsentrasi (0,8mg/ml; 1 mg/ml; dan 1,2 mg/ml) dengan persentase berturut-turut 93,34%, 87,77%, dan 83,33% dibandingkan dengan kontrol negatif. Efikasi yang sama dengan kontrol positif albendazole pada konsentrasi 1,2 mg/ml. Dosis LC50 adalah 0,49 mg/ml belum menunjukkan daya ovisidal secara signifikan. Hal tersebut dapat terjadi karena infusa daun bambu mengandung 8.81% tanin, alkaloid, dan triterpenoids yang memiliki kemampuan menghambat perkembangan atau proses digesti cacing dan serangga (Matias *et al.*, 2002). Daya ovisidal

infusa daun bambu sedikit lebih efektif daripada menggunakan albendazole 0,025 mg/ml yang mampu menghambat penetasan telur sebesar 92,34%. Albendazole adalah zat aktif murni, sementara infusa daun bambu berisi beberapa komponen kimia sebagai bahan aktif ovisidal dalam jumlah sedikit. Secara umum, tumbuhan dengan konsentrasi sedikit zat aktif memiliki prospek yang menjanjikan sebagai ovisidal (Rates, 2001). Rujukan penelitian lain menggunakan ekstrak *Azadirachta indica* terhadap *Haemonchus contortus* mampu menghambat perkembangan telur sebesar 97,77%. Ekstrak etanol *Azadirachta indica* sedikit lebih efektif dibandingkan dengan thiabendazole yang mampu menghambat penetasan telur sebesar 98,10% (Costa *et al.*, 2008). Adanya tanin

terkondensasi berhubungan dengan pertahanan alami tumbuhan terhadap terhadap serangga sesuai dengan struktur kimia dan kandungan zat aktif (Athanasiadou *et al.*, 2001). Penelitian lain menggunakan rumput keybar (*Biophytum petersianum Klotzch*) yang juga mengandung tanin terkondensasi juga mampu digunakan sebagai antelmintik nematoda gastrointestinal ruminansia, karena mampu menghambat perkembangan telur (Alnita *et al.*, 2017).

Daya larvisidal

Hasil uji daya larvisidal *Haemonchus contortus* oleh infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel. 2. Daya larvisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap telur cacing *Haemonchus contortus*

Konsentrasi (mg/ml)	Daya larvisidal (LC50 = 0,47 mg/ml) (%)
1,2	91,44± 2,67 ^g
1	87,77± 2,46 ^f
0,8	83,33± 2,25 ^f
0,6	76,73± 1,10 ^e
0,4	67,85± 7,29 ^d
0,2	35,24± 6,97 ^c
0,1	16,92± 4,11 ^b
0,05	15,33± 5,61 ^b
Albendazole (0,025)	90,9± 1,39 ^g
Aquadestilata	0,00± 2,48 ^a

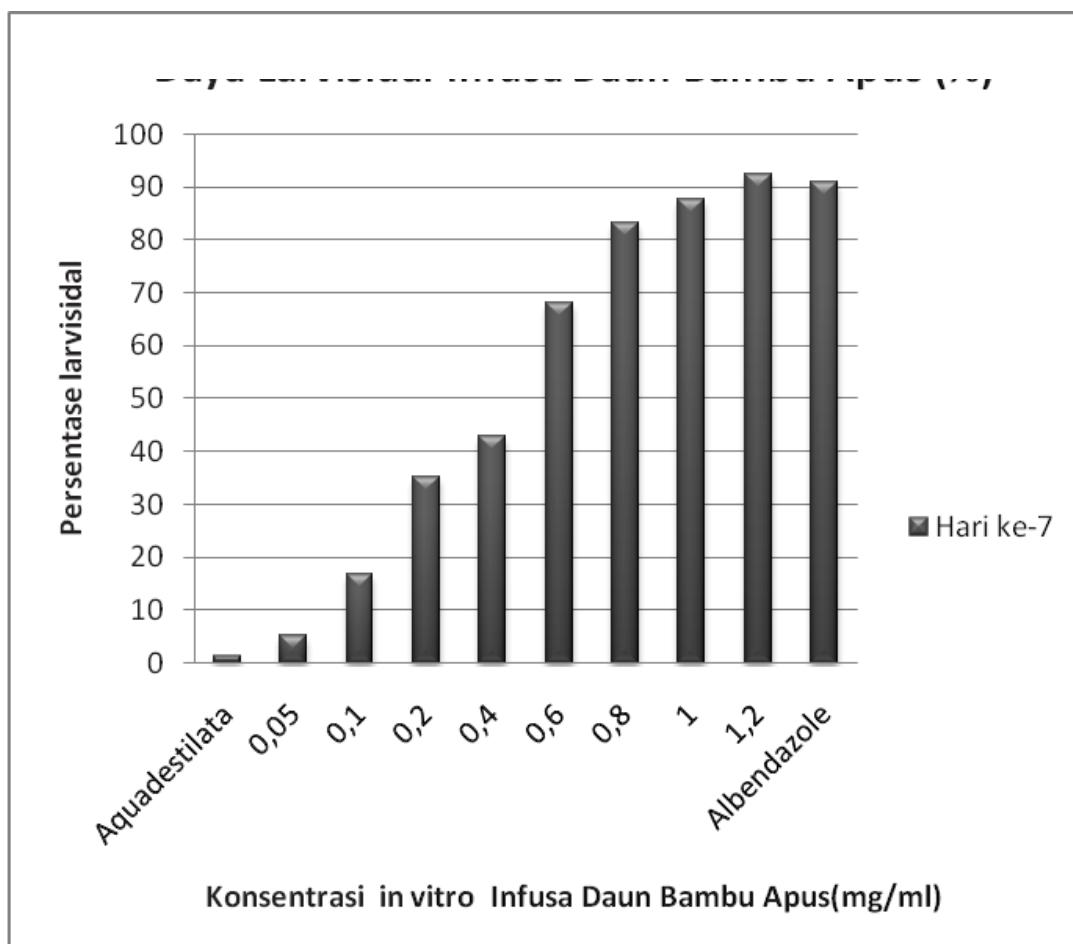
^{a,b,c,d,e,f,g} Superskrip yang berbeda pada satu kolom menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P<0,05$). Superskrip yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan

Pada Tabel 2 diketahui bahwa infusa daun bambu apus pada berbagai konsentrasi memberikan perbedaan yang signifikan ($P<0,05$) terhadap kontrol negatif. Aktivitas infusa daun bambu apus terhadap larva *Haemonchus contortus* memberikan efikasi yang baik pada konsentrasi 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; dan 1,2. Namun pada konsentrasi 0,05; 0,1, dan 0,2 tidak memberikan efek yang baik. Pada konsentrasi infusa daun bambu 1,2 mg/ml menghasilkan efek larvisidal 91,44 % yang setara terhadap kontrol positif menggunakan albendazole dengan efek larvisidal 90,9%. Aktivitas antiparasit pada tanin terkondensasi

ini ditujukan pada kapasitasnya untuk mengikat protein membran sel. Pengikatan protein ini menurunkan jumlah protein yang tersedia bagi larva yang menyebabkan larva kelaparan dan mati (Athanasiadou *et al.*, 2001). Tanin terkondensasi yang dimakan oleh serangga dewasa dan larva menghambat kemampuan membrana mucosa intestinal sehingga tidak mampu menggunakan protein, selanjutnya menyebabkan autolisis (Silva *et al.*, 2004). Selain itu pada tumbuhan lain mengandung tanin seperti *Azadirachta indica* juga memiliki kemampuan untuk menghambat penetasan telur *Haemonchus contortus*

sebesar 51,31% dalam ekstrak etil asetat dan 100% dalam ekstrak etanol. Tumbuhan mengandung tanin *Azadirachta indica* ini juga memiliki kemampuan

larvisidal 68% dalam ekstrak etil asetat dan 87,11% dalam ekstrak etanol (Costa *et al.*, 2008).



Gambar 2. Daya larvisidal infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) terhadap telur cacing *Haemonchus contortus*

Pendapat lain yang mendukung adalah tumbuhan yang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, anthraquinon, dan tanin melalui ekstrak air panas, dan metanol mampu menghambat proses embrionisasi, menghambat penetasan telur, dan memicu kematian larva (Eguale *et al.*, 2011). Kandungan saponin dilaporkan memiliki aktivitas nematisidal dan dapat berinteraksi dengan membran sel, yang menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel (Ademola *et al.*, 2010). Saponin dan tanin juga berinteraksi dengan protein kolagen dari kutikula nematoda dan interaksi ini mungkin mempengaruhi efek nematotoksik (Argentieri *et al.*, 2008). Tanaman

taniniferous seperti tanaman *Meliaceae* pernah diteliti oleh Koul *et al.*, (2003) yang menghasilkan efek menghambat pertumbuhan larva sebesar 69%. Pada konsentrasi tinggi Ekstrak tumbuhan *taniniferous* secara signifikan mampu menghambat perkembangan larva L1 dan L2. Substansi tanin dan saponin dapat menembus kutikula nematoda dan mencegah penyerapan glukosa, atau dapat memblokade reseptor syaraf sinapsis sehingga larva mengalami paralisis. Tanin juga dapat mengikat kutikula larva dan memicu kematian larva. Analisis EC50 dan LC50 menunjukkan bahwa infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) aktif menghambat telur daripada

larva.

Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) memiliki aktivitas ovisidal dan larvisidal pada *Haemonchus contortus*

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada Kepala Badan Pengembangan Sumberdaya Manusia Pertanian Kementerian Pertanian yang telah memberikan beasiswa penelitian, Kepala Laboratorium Parasitologi yang telah memberikan tempat dan fasilitas penelitian, Ketua Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Magelang yang telah memberikan segala fasilitas penelitian. Selanjutnya diucapkan penghargaan setinggi-tingginya kepada rekan-rekan penelitian, Bapak Abu Mas'ud yang membantu memberikan kemudahan dalam koleksi cacing *Haemonchus contortus*.

Daftar Pustaka

- Aliasghar, T., Javad, J., Meysam, J., Farhang, S., Amirali., Farshid, K., Hamid, A. anf Mohammadreza, M. 2012. Histopathological Study of *Haemonchus contortus* in Henik Sheep Abomasum. *Bacteriology and Parasitology*.3.
- Ademola, O.I. and Eloff, J.N. 2010. In vitro Anthelmintic Activity of Combretum molle against *Haemonchus contortus* Ova and Larvae. *Veterinary Parasitology*. 169. 198-203
- Alnita, B.,Isti, W., Noviyanti. 2017. Ekstrak Air Rumput Keybar (*Biophytum petersianum* Klotzsh) Sebagai Penghambat Perkecambangan Telur Cacing Gastrointestinal Ruminansia secara In Vitro. *Jurnal Sain Veteriner*. 35(1).Juni 2017.
- Argentieri, P.M., D'Addabbe, T., Tava, A., Agostinelli, A., Jurzysta, M. and Ananto, P. 2008. Evaluation of Nematicidal Properties of Saponins from *Medicago sativa* spp.

European Journal of Plant Pathology. 120.189-197.

Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R.L., 2001. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.* 99, 205–219.

Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K., Bandyopadhyay, U.,2002. Biological activities and medicinal properties of neem *Azadirachta indica*. *Curr. Sci.* 82, 1336–1345.

Coles, G.C., Bauer, F.H.M., Borgsteede, S., Greets, S., Klei, T.R., Tay;or, M.A., Waller, P.J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) Methods for the detection of anthelmintic Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. *Veterinary Parasitology*. 44. 35-44.

C.T.C. Costa, C.M.L. Bevilaqua, A.L.F. Camurca-Vasconcelos, M.V. Maciel,S.M. Morais, C.M.S. Castro, R.R. Braga, L.M.B. Oliveira. 2008. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta Indica* extracts on *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research* 74 (2008) 284–287.

Daryatmo, J., Hartadi, H., Orskov,E.R., Adiwimarta, K., Nurcahyo, W. 2010. In vitro screening of various forages for anthelmintic activity on *Haemonchus contortus* eggs. *Advances in Animal Biosciences*. 1 : 113-113.

Eguale, T., Tadesse, D., and Giday, M. 2011. In vitro Anthelmintic Activity of Crude Extract of Five Medicinal Plants against Egg Hatching and Larval Developmnet of *Haemanochus contortus*. *Journal Ethnopharmacology*. 137. 108-113.

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 Dissertation. Department Biomedical Sciences and Veterinary Public Health, SLU. Acta Universitatis Agriculture Science.76 p.

Hammond, J.A., Fielding, D., Bishop,S.C. 1997. Prospects for Plant Anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Vet Res. Community*. 21, 213-218.

- Koul,O., Multani, J.S., Singh, G., Wahab, S. 2003. Bioefficacy of toosendanin from *Melia dubia* (syn. *M. azedarach*) against gram pod-borer. *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Curr.Sci.* 83. 1387-1390.
- Matias,R.,Solon, S., Resende,U.M., Gomes, A., Koller, W.W. 2002. *Melia azedarach*, uso popular x estudos quimicos e farmacologicos:breve revisao. *Ensaiose Ciencia*:ed., Vol 6.UNIDERP, *Campo Grande*.pp.91-121.
- Miller, J.E. and Haorohov, D.W. 2006. Immunological Aspects of Nematode Parasite Control in sheep. *Journal of Animal Science*.84. E124-E132.
- M.V. Maciel,S.M. Morais, C.M.L. Bevilaqua, A.L.F. Camurça-asconcelos, C.T.C. Costa, C.M.S. Castro.2006. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarachta* extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* 140(2006) 98–104.
- Parson, S.A. dan Vere, D.T. 1984. A benefit-Cost Analysis of Bakitwan Project, Bogor. Indonesia. A report to the Australian Development Assistance Bureau New South Wales. Department of Agriculture. Australia.
- Pessoa, 2001. Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra *Haemonchus contortus*. Master thesis. Universidade Estadual do Ceara, Fortaleza, 57 pp.
- Matthew Adamu, Vinasan Naidou, and Jacobus Nelloz. 2013. Efficacy and Toxicity of Thirteen plant leaf acetone extracts used in ethnoveterinary medicine in South Africa on Egg Hatching and Larval Development of *Haemonchus contortus*. *Biomed. Central Veterinary Research*. 9:38.
- Ngeh, J.T., Jacob W., Mopoi, N. and 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, 88p.
- Rates, S.M.K. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon*.39. 603-613.
- Silva, H.H.G., Silva, I.G., Santos.,R.M.G., Rodrigues Filho, E., Elias, C.N., 2004. Atividade Larvacida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St.Hill (sapindaceae) sobre *Aedes Aegypti* (diptera Culicidae). *Rev.Soc.Bras. Med. Trop.*37. 396-399.
- Widiarso, B.P., Nurcahyo, W., Kurniasih, and Prastowo, J. 2017. The Effect of *Apus Bamboo* (*Gigantochia apus*) Leaves Infusion on Mortality Rate and Morphometry of *Haenmonchus contortus* Adult Worm in vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan* II(4); 156 - 159.