

Daya Anthelmintik Infusa Biji Buah Pinang (*Areca catechu*) terhadap Cacing *Ascaridia galli* secara *In Vitro*

In Vitro Anthelmintic Areca catechu Crude Aqueous Extract against Ascaridia galli

Wida Wahidah Mubarakah^{1*}, Wisnu Nurcahyo², Kurniasih³

¹Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang,

Jl. Magelang-Kopeng Km.7 Purwosari Tegalrejo Magelang, PO BOX 152;

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

*Email : wida_wahidah02@yahoo.co.id

Naskah diterima : 1 November 2018, direvisi : 9 Desember 2018, disetujui : 9 Desember 2018

Abstract

A. galli infection caused high economic losses and decreased the amount and quality of egg production. The existence of anthelmintic resistance lead to the development of research on alternative treatments for *A. galli*. This aim of the research was to study LC50 of *Areca catechu* on infestation of *A. galli*. In this research *A. galli* was taken from a chicken slaughter house in Terban, Yogyakarta, and was divided into 8 groups for in vitro research. Group I was treated with an 10% infusion of *A. catechu*; group II was treated with 12.5% infusion of *A. catechu*; group III was treated with a 15% infusion of *A. catechu*; group IV was treated with a 17.5% infusion of *A. catechu*; group V was treated with 20% infusion of *A. catechu*; group VI was treated with a 22.5% infusion of *A. catechu*; group VII was treated with 25% *A. catechu* infusion and group VIII as negative control (0.9% NaCl). *A. galli* mortality was recorded every one hour until worm mortality was 100%. The results were then analyzed using the Reed and Muench method. Based on the in vitro test the infusion of *Areca catechu* against *Ascaridia galli* can cause death in worms with an LC 50 calculation of 21.18%.

Key words: Anthelmintic; *Areca catechu*; *Ascaridia galli*; in vitro; LC50

Abstrak

Infeksi *Ascaridia galli* dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi serta penurunan jumlah dan kualitas produksi telur ayam. Adanya resistensi terhadap anthelmintik menyebabkan pengembangan penelitian mengenai alternatif pengobatan terhadap *A. galli*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh *Areca catechu* terhadap *A. galli* secara *in vitro* sehingga dapat diketahui LC50. *A. galli* diambil dari rumah potong ayam di Terban, Yogyakarta, dan dibagi menjadi 8 kelompok untuk penelitian *in vitro*. Kelompok I diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 10%; kelompok II diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 12,5%; kelompok III diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 15%; kelompok IV diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 17,5%; kelompok V diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 20%; kelompok VI diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 22,5%; kelompok VII diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 25% dan kelompok VIII sebagai kontrol negatif (NaCl 0,9%). Mortalitas *A. galli* dicatat setiap satu jam sampai mortalitas cacing adalah 100%. Hasil kemudian dianalisis menggunakan metode Reed dan Muench. Berdasarkan uji *in vitro* infusa *Areca catechu* terhadap *Ascaridia galli* dapat menyebabkan mortalitas pada cacing dengan hasil perhitungan LC 50 sebesar 21,18%.

Kata kunci: anthelmintik; *Areca catechu*; *Ascaridia galli*; in vitro; LC50

Pendahuluan

Produksi unggas di Indonesia dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah infeksi parasit

pada usus (Iqbal *et al.*, 2003; Nnadi dan George., 2010; Ozaraga *et al.*, 2015). Parasit internal pada usus menyebabkan penyakit berat pada peternakan unggas

terutama di negara berkembang termasuk Indonesia. Infeksi ini menyebabkan penurunan produktivitas unggas (Kuchai *et al.*, 2012). *Ascaridia galli* merupakan jenis nematoda yang paling umum ditemukan pada ayam. Infeksi *A. galli* dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi serta penurunan jumlah dan kualitas produksi telur (Zalizar *et al.*, 2006). Ayam yang terinfeksi berat dapat menyebabkan kerusakan integritas vili usus (Alrubaie, 2015; Salam, 2015), kerusakan pada mukosa usus (Darmawi *et al.*, 2013), lumen usus menjadi sempit karena cacing berada di lumen usus, enteritis, dan dinding usus tampak menebal dengan mukosa tampak berwarna abu-abu atau keruh (Salam, 2015), hal ini menyebabkan pemanfaatan nutrisi yang buruk sehingga dapat menurunkan berat badan dan produksi telur (Das *et al.*, 2010; Rivera *et al.*, 2016; Teixeira, 2012).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *A. galli* resisten terhadap anthelmintik seperti benzimidazole, imidothiazole-tetrahydropyridine dan lactonmacrocyclic (Max *et al.*, 2002; Kaplan, 2004). Resistensi obat ini disebabkan karena pengobatan yang tidak tuntas dengan dosis dan waktu yang ditentukan (Butaye *et al.*, 2003; Ozaraga *et al.*, 2015). Adanya resistensi terhadap anthelmintik menyebabkan pengembangan penelitian mengenai alternatif pengobatan terhadap *A. galli*. Anthelmintik yang berasal dari herbal dapat digunakan dalam pengobatan infeksi parasit. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai anthelmintik adalah *Areca catechu*. *Areca catechu* atau pinang adalah milik keluarga *Arecaceae*. Secara tradisional, pinang digunakan sebagai obat pada anoreksia, gangguan kulit, nyeri punggung, dan helminthiasis. *Areca catechu* mengandung zat aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, monoterpen, sesquiterpen, fenol, kuinon dan alkaloid (arecoline dan arecaine) (Febriani *et al.*, 2014;

Amudhan *et al.*, 2012). Arecolin bersifat toksik bagi beberapa cacing dan dapat membuat paralisis dengan menghambat kerja enzim kolinesterase transmisi impuls syaraf kolinesterase mengkatalisis hidrolisis asetilkolin (suatu senyawa neurotransmitter) yang berfungsi pada bagian sinaps yang dihasilkan oleh ujung syaraf yang telah menerima impuls, dengan terhambatnya enzim kolinesterase maka akan berpengaruh juga terhadap aktivitas otot-otot pada cacing. Proantosianidin (tanin kondensasi) dapat merusak protein (enzim) pada kutikula dan menyebabkan degradasi membran. Inhibisi enzim berupa protein membuat kegagalan metabolisme sehingga menurunkan produksi energi dan kematian cacing. Efek lain dari tanin yang merupakan kandungan dari *A. catechu* adalah ovisidal karena dapat digunakan untuk anthelmintik (Susanti dan Prabowo, 2014). Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh *Areca catechu* terhadap *A. galli* secara *in vitro* sehingga dapat diketahui LC50 terhadap kematian *A. galli*.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Pembuatan infusa biji buah pinang (*A. catechu*)

Biji buah pinang didapatkan dari kebun yang berlokasi di Muntilan, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Biji buah pinang dipotong lalu dikeringkan. Biji buah pinang dibuat sebagai infusa dalam konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, dan 25%. Infusa biji buah pinang dengan konsentrasi 10%, dibuat dengan biji buah pinang 10 gram ditambahkan aquades 100 ml. Kemudian dipanaskan dengan suhu 90° C selama 15 menit, lalu infusanya dipisahkan menggunakan kertas saring dan disimpan dalam lemari es selama 24 jam (Widiarso *et al.*, 2018).

Uji *in vitro* infusa biji buah pinang (*A. catechu*) terhadap *A. galli*

Cacing *A. galli* diperoleh dari lumen usus ayam kampung yang telah dipotong di rumah potong ayam di Terban, Yogyakarta. Cacing *A. galli* diambil secara acak atau random sebanyak 80 ekor dibagi menjadi 8 kelompok untuk penelitian *in vitro* dengan masing-masing kelompok 10 ekor cacing *A.galli*. Kelompok I diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 10%; kelompok II diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 12,5%; kelompok III diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 15%; kelompok IV diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 17,5%; kelompok V diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 20%; kelompok VI diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 22,5%; kelompok VII diperlakukan dengan infusa *A. catechu* 25% dan kelompok VIII sebagai kontrol

negatif (NaCl 0,9%). Mortalitas *A. galli* dicatat setiap satu jam sampai mortalitas cacing mencapai 100%. Hasil kemudian dianalisis menggunakan metode Reed dan Muench (1938) untuk mendapatkan LC50.

Hasil dan Pembahasan

Mortalitas *A. galli* dicatat setiap satu jam sampai mortalitas cacing mencapai 100%. Berdasarkan penelitian ini, menunjukkan dalam waktu 6 jam infusa biji buah pinang 10% tidak menyebabkan kematian. Aktivitas anthelmintik infusa biji buah pinang menunjukkan bahwa kematian tertinggi terjadi pada kelompok VII yang diperlakukan dengan infusa biji buah pinang 25%. Data mortalitas cacing dari uji *in vitro* dianalisis dengan Metode Reed dan Muench (Tabel 1).

Tabel 1. Perhitungan mortalitas *A. galli* secara *in vitro*

Kelp.	Konsentrasi	mg/ml	Log konsentrasi	Ma ti	Hid up	Komulatif			Rasio Mortalit as	% mortalit as
						Mati	Hidu p	Tot al		
1	10	100	2,000	0	10	0	49	49	0/49	0
2	12,5	125	2,096	1	9	1	39	40	1/40	3
3	15	150	2,176	1	9	2	30	32	2/32	6
4	17,5	175	2,243	1	9	3	21	24	3/24	13
5	20	200	2,301	3	7	6	12	18	6/18	33
6	22,5	225	2,352	5	5	11	5	16	11/16	69
7	25	250	2,397	10	0	21	0	21	21/21	100

$$\begin{aligned} \text{Jarak Proporsional} &= \frac{50\% - \text{mortalitas di atasnya}}{\text{mortalitas di bawahnya} - \text{mortalitas di atasnya}} \\ &= \frac{50\% - 33\%}{69\% - 33\%} \\ &= \frac{17}{36} \\ &= 0,47 \end{aligned}$$

Logaritma dari kenaikan konsentrasi dihitung sebagai berikut:

$$225 \text{ mg/ml} = 2,352$$

$$200 \text{ mg/ml} =$$

$$0,051 \times 0,47 = 0,02397$$

$$\text{Log LC50} = 2,301 + 0,02397$$

$$= 2,32497$$

$$\text{LC50 anti log } 2,32497$$

$$\text{LC50} = 211,77 \text{ mg/ml} = 21,177\% \approx 21,18\%$$

Perhitungan dengan metode Reed dan Muench dapat dilihat bahwa LC50 kematian semua cacing yang digunakan ada pada konsentrasi 21,18%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tiwow *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol Pinang terhadap cacing *A. galli* secara *in vitro*, konsentrasi 20% dapat membuat cacing *A. galli* menjadi lisis atau mati.

Dari penelitian Amudhan *et al.*, (2012) menyatakan bahwa *A. catechu* mengandung flavonoid, tanin, saponin, monoterpen, seskuiterpen, fenol, kuinon dan alkaloid (arecoline dan arecaine). Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa asam tanin dapat mempengaruhi cacing dewasa baik secara langsung maupun tidak langsung. Reaksi langsung terjadi dengan adanya kerusakan kutikula cacing (Zhong *et al.*, 2014). Dalam literatur parasitologi, diketahui bahwa kutikula nematoda memainkan peran multi-fungsi yang penting dalam melakukan fungsi penyerapan makanan, pelindung dan selektif. Kutikula pada nematoda menjadi target utama anthelmintik (Alvarez *et al.*, 2007). Cacing dewasa *A. galli* yang diobati dengan albendazole mengalami kerusakan pada kutikulanya (Lalchandama *et al.*, 2009). Efek anthelmintik yang serupa menunjukkan adanya kerusakan stria transversal sepanjang tubuh pada kutikula *W. bancrofti* (Oliveira-Menezes *et al.*, 2007). Sebelumnya, Robinson *et al.* (2004) menjelaskan bahwa albendazole memiliki efek pada penyumbatan mikrotubulus polimerisasi β -tubulin sehingga menyebabkan kerusakan struktural dan fungsional pada parasit. Temuan ini mirip dengan yang diamati oleh Roy *et al.* (2012), ekstrak *A. oxyphylla* dapat menyebabkan kerusakan pada kutikula cacing dewasa *A. galli*. Peneliti lain melaporkan bahwa efek dari ekstrak *Micrantha calendula* menunjukkan permukaan berkerut dengan hilangnya striasi di

sepanjang tubuh pada kutikula *A. galli* (Hassanain *et al.*, 2009). Efek dari senyawa aktif yang diisolasi dari *A. oxyphylla* pada nematoda menyebabkan disorganisasi permukaan tubuh *A. galli* (Roy *et al.*, 2012)

Tanin juga merusak kutikula *Haemonchus contortus*. Perubahan kutikula dengan kerutan longitudinal dan transversal setelah paparan *in vitro* dengan *Biophytum persianum* yang kaya akan tanin (Sambodo *et al.*, 2018). Kerutan di kutikula dan ujung anterior *H. contortus* juga diamati oleh Martinez-Ortiz-de-Montellano *et al.* (2013). Kutikula berperan pada bentuk cacing dewasa dan juga terlibat dalam motilitas serta pertukaran metabolik di saluran pencernaan hospes (Kuchai *et al.*, 2012). Lorent *et al.* (2014) menjelaskan bahwa aktivitas sitotoksik saponin mampu membentuk pori-pori di membran sel sehingga dapat mengganggu keseimbangan ion sel yang mengakibatkan lisis dan kematian sel. Aksi alkaloid yang diekstraksi dari *Combretum zeyheri* mampu menghambat transportasi melintasi membran sel. Secara umum, mekanisme aktivitas anthelmintik dari ekstrak alkaloid terjadi dengan mengganggu kerja membran sel sehingga menyebabkan perubahan pada komposisi sel. Distabilitas membran, perubahan permeabilitas membran, dan kehilangan potensial membran yang menyebabkan lisis sel, hal ini memiliki konsekuensi merusak kutikula dan menyebabkan perubahan morfologi yaitu adanya kerusakan permukaan pada tubuh cacing dan morfometri cacing (Nyambuya *et al.*, 2017).

Kesimpulan

Berdasarkan uji *in vitro* infusa biji pinang terhadap *Ascaridia galli* didapatkan hasil LC 50 sebesar 21,18%.

Daftar Pustaka

- Alrubaie, A.L. 2015. Effect of alcoholic extract of *Curcuma longa* on *Ascaridia* infestation affecting chickens. *Indian J. Exp. Biol.*, 53: 452-456.
- Alvarez, L. I., Mottier, M. L. and Lanusse, C. E. 2007. Drug transfer into target helminths parasites. *Trends Parasitol.*, 23: 97-104.
- Amudhan, M. S., Begum, V. H. and Hebbar, K. B. 2012. A review on phytochemical and pharmacological potential of *areca catechu* l. seed. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* Vol 3. 4151-4156
- Butaye, P., Devriese, L. A. & Haesebrouck, F. 2003. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well known antibiotics on gram positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 175-188
- Darmawi, D., Balqis, U., Hambal, M., Tiuria, R., Frengki, and Priosoeryanto, B.P. 2013. Mucosal mast cell response in jejunum of *Ascaridia galli*-infected laying hens. *Media Peternak*, 36(2): 113-119.
- Das, G., Kaufmann, F., Abel, H. and Gauly, M. 2010. Effect of extra dietary lysine in *Ascaridia galli*-infected grower layers. *Vet. Parasitol.*, 170: 238-243.
- Febriani, Y., Hidayat, S., dan Seftiana, S. 2014. Aktivitas Anti Cacing Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *Ascaridia galli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* Vol., III No.2. 1-6
- Hassanain, M.A., Rahman, E.H.A. and Khalil, F.A.M. 2009. New scanning electron microscopy look of *Ascaridia galli* (Schrank 1788) adult worm and its biological control. *Res. J. Parasitol.*, 4: 1-11.
- Iqbal, Z., Akhtar, M.S., Sindhu, Z., Khan, M.N. and Jabbar, A. 2003. Review Herbal Dewormers in Livestock - A Traditional Therapy. *International Journal of Agriculture & Biology*: 199-206
- Kaplan, R.M. 2004. Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. A Status Report. *Trends Parasitol.*, 20: 477-481.
- Kuchai, J.A., Ahmad, F., Chishti, M.Z., Tak, H., Ahmad, J.A.S. and Razool, M. 2012. A study on morphology and morphometry of *Haemonchus contortus*. *Pak. J. Zool.*, 44(6): 1737-1741.
- Lalchhandama, K., Roy, B. and Dutta, B.K. 2009. Anthelmintic activity of *Acacia oxyphylla* stem bark against *Ascaridia galli*. *Pharm. Biol.*, 47(7): 578-583.
- Lorent, J.H., Quetin-Leclercq, J. and Mingeot-Leclercq, M.P. 2014. The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. *Org. Biomol. Chem.*, 12: 8803-8822.
- Martinez-Ortiz-de-Montellano, C., Arroyo-Lopez, C., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. and Hoste, H. 2013. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under *in vivo* and *in vitro* conditions. *Exp. Parasitol.*, 133(3): 281-286.
- Max, R.A., Dawson, J.M., Wakelin, D., Buttery, P.J., Kimambo, A.E., Kassuku, A.A. dan Mtenga, L.A. 2002. Effect of Condensed Tannin Extracts on Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. In: Proceedings of the Second Dfid Livestock Production Programme Link Project (R7798) Workshop for Smallstock Holders. Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania, 71:195-207
- Nnadi, P.A. and George, S. O. 2010. *Research Article A Cross-Sectional Survey on Parasites of Chickens in Selected Villages in the Subhumid Zones of South-Eastern Nigeria. Journal of Parasitology Research.*, Vol.1 :1-5
- Nyambuya, T., Mautsa, R. and Mukanganyama, S. 2017. Alkaloid extracts from *Combretum zeyheri* inhibit the growth of *Mycobacterium smegmatis*. *BMC Compl. Altern. Med.*, 17(124): 1-11.

- Oliveira-Menezes, A., Lins, R., Norões, J., Dreyer, G. and Lanfredi, R.M. 2007. Comparative analysis of a chemotherapy effect on the cuticular surface of *Wuchereria bancrofti* adult worms *in vivo*. *Parasitol. Res.*, 101: 1311-1317.
- Ozaraga, B., Sylvia, M.A., Ozaraga, I. and Barrios, M.B. 2015. Ethnobotanical Dewormer Composition for Free Range Native Chickens. *Mindanao Journal of Science and Technology*, vol.13:12-19
- Reed, L.J. and Muench, H. 1938. A Simple Method of Estimating Fifty Per Cent Endpoints. *The American Journal of Hygiene.*, 27(3): 493-497
- Rivera, K.C., Cortes, J.A.V., Lara, A.A., and Grandvallet, L.A.L. 2016. A Diagnostic Survey of Gastroenteric Helminths in Backyard Poultry of a Rural Village in Mexican Tropics. *APRN Journal of Agricultural and Biological Science.*, Vol 11. No 12: 46-469
- Robinson, M.W., McFerran, N., Trudgent, A., Hoey, L. and Fairweather, I. 2004. A possible model of benzimidazole binding to β -tubulin disclosed by invoking an inter-domain movement. *J. Mol. Graph. Model.*, 23: 275-284.
- Roy, B., Dasgupta, S., Manivel, V., Parameswaran, P.S. and Giri, B.R. 2012. Surface topographical and ultrastructural alterations of *Raillietina echinobothrida* and *Ascaridia galli* induced by a compound isolated from *Acacia oxyphylla*. *Vet. Parasitol.*, 185: 322-326
- Salam, S.T. 2015. Research article ascariasis in backyard chicken-prevalence, pathology and control. *Int. J. Recent Sci. Res.*, 6(4): 3361-3365.
- Sambodo, P., Prastowo, J., Kurniasih, K. and Indarjulianto, S. 2018. *In vitro* potential anthelmintic activity of *Biophytum petersianum* on *Haemonchus contortus*. *Vet. World.*, 11(1): 1-4.
- Susanti, A.E., dan Prabowo, A. 2014. Potensi Pinang (*Areca catechu*) sebagai Antelmintik untuk Ternak. *Prosiding Seminar Nasional Pertanian Ramah Lingkungan Mendukung Bioindustri di Lahan Sub Optimal Palembang, 16 September 201*
- Teixeira, M., Monteiro, J. P., Catenacci, L. S., Rodrigues, M. L. A., and Sato, M.CB. 2012. Ascariasis in Peafowl *Pavo Cristatus* (*Phasianidae*) Due to *Ascaridiagalli* Schrank. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 43 (3). 585-587
- Tiwow, D., Bodhi W. & Kojong, N.S. 2013. Uji Efek Antelmintik Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu*) Terhadap *Ascaris lumbricoides* dan *Ascaridia galli* Secara In Vitro. *Pharmakon*, 76-80.
- Widiarso B.P., Kurniasih K, Prastowo, J., Nurcahyo, W. 2018. Morphology and morphometry of *Haemonchus contortus* exposed to *Gigantochloa apus* crude aqueous extract, *Veterinary World*, 11(7): 921-925.
- Zhong, R.Z., Sun, H.X., Liu, H.W. and Zhou, D.W. 2014. Effects of tannin acid on *Haemonchus contortus* larvae viability and immune responses of sheep white blood cells *in vitro*. *Parasite Immunol.*, 36: 100-106.
- Zalazar, L., Satrija, F., Tiuria, R., dan Astuti, D.A. 2006. Dampak Infeksi *Ascaridia galli* terhadap Gambaran Histopatologi dan Luas Permukaan Vili Usus. *JITV Vol. 11 No. 3*. 222-228