

Sintesis Antihelmintik Nano Herbal Daun Pepaya dan Kemangi dengan Teknik Ultrasonikasi serta Efikasinya Secara In Vivo

(The Efficacy of Papaya Leaves and Basil Leaves Synthesis as Nano Herbal Anthelmintic using Ultrasonication In Vivo Test)

Nurfara Islami¹, Ridi Arif^{2*}, Reza Mahdiah Refianti¹, Tasya Anum¹

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

²Divisi Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima: 26/01/2024, Disetujui: 05/04/2024, Terbit Online: 30/09/2024

*Penulis untuk korespondensi: ridiarif88@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Infeksi cacing parasit *Haemonchus contortus* atau haemonchosis yang sering menyerang ruminansia kecil seperti domba dan kambing merupakan salah satu permasalahan yang dihadapi peternak. Minimnya pengetahuan mengenai penyakit ini serta pengulangan penggunaan antibiotik yang tidak memiliki banyak variasi menyebabkan kerugian ekonomi yang disertai dengan kejadian resistensi antihelmintik. Herbal seperti daun pepaya dan kemangi dikenal memiliki zat aktif sebagai antihelmintik serta berpotensi digunakan sebagai alternatif untuk mengurangi penggunaan antihelmintik sintetik. Modifikasi sediaan herbal melalui penerapan teknologi nano diharapkan mampu meningkatkan efikasi kedua herbal tersebut sebagai antihelmintik. Pada penelitian ini, pembuatan nano herbal dilakukan dengan membuat maserasi ekstrak daun pepaya dan daun kemangi. Selanjutnya, ekstraksi tersebut kemudian dilanjutkan dengan proses homogenisasi emulsi dan ultrasonikasi. Hasil dari ultrasonikasi kemudian diuji menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui distribusi ukuran partikel. Nilai rata-rata ukuran kedua sampel tersebut sebesar 921.35 nm. Pada pengujian secara in vivo, pemberian dosis tunggal nano herbal memberikan hasil kecenderungan penurunan jumlah telur cacing pada kelompok herbal dengan dosis 350 mg/kgBB di hari ke-3 dan hari ke-7 *post treatment*. Nano herbal kombinasi daun pepaya dan daun kemangi dapat berperan sebagai antihelmintik potensial untuk mengatasi haemonchosis pada ruminansia kecil.

Kata kunci: antihelmintik, *Haemonchus contortus*, in vivo, nano herbal

ABSTRACT

Haemonchus contortus infection or haemonchosis is often found in small ruminants, such as sheep. This is one of the reasons many farmers are struggling with economic loss without their knowing. Lack of knowledge towards this disease and repetitive usage of the same anthelmintic could lead to anthelmintic resistance. The use of papaya leaves and basil leaves as an anthelmintic could be an alternative for this matter because they have active ingredients such as tannin, flavonoid, saponin, etc. Using nano technology to make this anthelmintic hopefully could alleviate the efficacy of these herbs. Nano herbs were made by extracting both simplicias, homogenizing the emulsion with homogenizer, and lastly displaying the emulsion with ultrasonication. The end product is being examined for the particle size distribution with Particle Size Analyzer. The mean z-average of both nano herbs is estimated to 921.35 nm. Egg reduction was calculated with an in vivo test from day 3 to day 7 post treatment. Nano herbs with dosage of 350 mg/kg/body weight showed a reduction trend in both day 3 and day 7 post treatment. These concluded combinations of papaya leaves and basil leaves in nano form could act as an anthelmintic to *H. contortus* in small ruminants.

Keywords: anthelmintic, nanoherbs, *H. contortus*, in vivo

1. Pendahuluan

Haemonchosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh helminth *H. contortus* yang sering menyerang hewan ruminansia kecil terutama domba. Gejala klinis yang muncul akibat haemonchosis dapat berupa anemia, hipoproteinemia, letargi, serta mortalitas^[1]. Kejadian ini dapat berlangsung secara akut maupun kronis tergantung dengan jenis infeksi *H. contortus* dan lama periode infeksi. Gejala klinis pada tingkat akut adalah anemia, submandibular edema, serta hipoproteinemia akibat kehilangan banyak darah dari infeksi 2.000–20.000 cacing serta nilai Telur Tiap Gram Tinja (TTGT) sebanyak ≥ 50.000 . Kejadian kronis berlangsung pada periode yang lama dan tidak menimbulkan gejala klinis yang begitu tampak, namun beberapa kerugian dialami oleh peternak akibat penurunan pada status nutrisi hewan, serta produksi susu dan daging^[2].

Maraknya kasus kronis dengan gejala klinis yang jarang terlihat membuat peternak kesulitan untuk mengetahui status Kesehatan hewan ternak mereka sehingga dapat menyebabkan kerugian ekonomi. Penurunan produksi daging dan susu bukan hanya merugikan peternak secara umum namun dapat memicu kerugian nasional. Perlunya pengendalian *H. contortus* untuk menghindari terjadinya kasus ini dengan menggunakan anthelmintik. Sayangnya, penggunaan anthelmintik sintetik yang berulang dan secara terus menerus karena kurangnya variasi dapat mengakibatkan resistensi anthelmintik^[3].

Pemanfaatan herbal seperti daun pepaya dan daun kemangi yang mengandung bahan aktif anthelmintik seperti tanin, flavonoid, dan saponin dapat menjadi alternatif penggunaan anthelmintik sintetik^[4]. Kemampuan daun pepaya sebagai anthelmintik telah dilakukan oleh Mahatrinny *et al.* (2014) dengan konsentrasi paling efektif dalam membunuh cacing gelang pada babi sebesar 8,301% dalam waktu 28,885 jam. Kemampuan daun kemangi sebagai anthelmintik tercatat dilaporkan dapat membunuh cacing *H. contortus* secara *in vitro* dengan konsentrasi 10%. Menggabungkan ekstrak herbal daun pepaya dengan teknologi nano yang mampu mengecilkan partikel hingga ke ukuran 1-1000 nm diharapkan dapat meningkatkan efikasi at aktif yang ada di dalam kedua herbal tersebut serta dapat menjadi alternatif penggunaan anthelmintik sintetik^[5].

2. Materi dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah timbangan digital, tabung maserasi, kapas, *plastic wrap*, *hot plate stirrer*, Ultra Turrax T18 *homogenizer*, *sonicator*, Horiba-SZ 100z *Particle Size Analyzer* Laboratorium ILRC Universitas Indonesia, plastik sampel, gelas, sendok teh, McMaster *counting chamber*, tabung uji, mikroskop cahaya, pipet tetes, *object glass*, *cover glass*, tabung mikro, mikropipet, spuit 1 ml dan 20 ml. Bahan yang digunakan meliputi simplisia bubuk daun pepaya dan kemangi, larutan etanol 96%, asam palmitat, tween 80, maltodekstrin, akuades, feses domba, larutan pengapung, dan vermiculite.

2.2. Teknik Ekstraksi dan Ultrasonikasi

Simplisia bubuk daun pepaya (*Carica papaya*) dan daun kemangi (*Ocimum africanum*) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO). Simplisia dimaserasi dengan perbandingan antara simplisia dan pelarut etanol sebesar 1 : 10. Proses maserasi dilakukan selama 3×24 jam (ditampung setiap 24 jam, lalu diremaserasi). Seluruh maserat dievaporasi di PAU IPB University menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental berupa pasta. Nanopartikel dibuat dengan mendispersikan dua fase yaitu fase lemak dan fase cair. Fase lemak terdiri atas 1 gram ekstrak kental masing-masing daun dan 1 gram asam palmitat. Fase lemak dipanaskan di atas *hot plate stirrer* selama 5 menit pada suhu 75°C. Fase cair terdiri atas 0.5 gram tween 80, 0.5 gram maltodekstrin, dan 100 ml aquades. Fase berair kemudian dipanaskan pada suhu 75°C di atas *hot plate stirrer* selama 5 menit. Dispersi dilakukan dengan pemanasan kembali di atas *hot plate stirrer*^[6]. Proses dilanjutkan dengan homogenisasi menggunakan Ultra Turrax T18 *homogenizer* kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit. Emulsi yang terbentuk di ultrasonikasi selama 20 menit dengan 30% amplitudo menggunakan *sonicator*. Karakterisasi ukuran partikel dilakukan dengan di Laboratorium Kromatografi ILRC Universitas Indonesia menggunakan Horiba Sz 100z *Particle Size Analyzer*.

2.3. Uji Telur Tiap Gram Tinja (TTGT) dan Uji Flotasi

Pengujian TTGT dilakukan dengan mengambil 4 gram feses domba yang telah dikoleksi. Setiap sampel feses dimasukkan ke dalam

gelas dan dicampur dengan larutan pengapung yang terdiri atas air, gula, dan garam. Feses kemudian dihancurkan dan disaring sebanyak 5–6 kali. Larutan dihomogenkan lalu dimasukkan ke dalam McMaster, lalu dibiarkan selama 2–3 menit. Telur dihitung pada kedua kamar McMaster menggunakan mikroskop cahaya. Larutan yang tersisa pada gelas kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi hingga membentuk meniskus cembung. *Cover glass* diletakkan di atas tabung reaksi dan ditunggu selama 15 menit. Setelah itu, *cover glass* diambil dan diletakkan di atas *object glass*. Keberadaan telur diperiksa menggunakan mikroskop cahaya lalu dihitung jumlahnya menggunakan *counter*. Uji flotasi digunakan sebagai justifikasi bahwa domba mengalami *haemonchosis*^[7].

2.4. Uji *In Vivo*

Pengujian secara *in vivo* dilakukan di MT Farm dengan memberikan antihelmintik kepada 24 ekor domba jantan berusia 1 tahun dengan berat sekitar 15 kg. Perlakuan dibedakan menjadi empat kelompok uji dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor domba. Kelompok I merupakan kontrol negatif berupa aquades diberikan sebanyak 10 mL per ekor domba, kontrol positif berupa albendazole 10% sebanyak 1 mL per ekor domba, kelompok nano herbal dosis 35 mg/kgBB, dan kelompok nano herbal dosis 350 mg/kgBB. Jumlah dosis diperoleh dari rasio daun pepaya dan daun kemangi (1 : 2.5) dari penelitian yang dilakukan oleh Zingare *et al.* (2018) dan Kanojiya *et al.* (2015)^[8,9]. Nilai TTGT setiap domba dihitung pada hari ke-0, hari ke-3, dan hari ke-7 lalu diolah menggunakan rumus *Fecal Egg Count Reduction Test* (FECRT) untuk mengetahui nilai reduksinya. Berikut penghitungan rumusnya:

$$FECR = 100 \times (1 - [T2/T1][C1/C2]),$$

dimana T merupakan kelompok *treatment*, C merupakan kelompok kontrol, serta 1 dan 2 adalah *pre-treatment* dan *post-treatment*

3. Hasil

3.1. Ekstraksi dan Ultrasonikasi

Simplisia pepaya sebanyak 500 gram menghasilkan 180,4 gram ekstrak kental sehingga didapatkan rendemen sebesar 36,08%. Simplisia kemangi sebanyak 1000 gram menghasilkan 147,6 gram ekstrak kental, sehingga nilai rendemennya sebesar 14,76%.

Hasil pengujian distribusi partikel emulsi pepaya didapatkan nilai *z-average* dan *polydispersity index* (PI) secara berurut sebesar 824.7 nm dan 1.220. Nilai *z-average* dan *polydispersity index* (PI) emulsi kemangi secara berurut sebesar 1.018 nm dan 1.402 nm. Secara umum ukuran emulsi daun pepaya masuk ke dalam skala nanopartikel karena berada dalam rentang 100–1000 nm^[10], sementara emulsi daun kemangi berukuran >1000 nm. Hasil pengujian PSA pada ekstrak pepaya dan kemangi disajikan pada **Gambar 1** dan **Gambar 2**.

3.2. Hasil Uji *In Vivo*

Nilai rataan TTGT pre- dan post-treatment dari domba percobaan disajikan pada **Gambar 3**. Pada Gambar 3 terlihat bahwa nilai TTGT dari domba percobaan memiliki nilai yang bervariasi pada hari ke-0 atau sebelum dilakukan perlakuan. Hal tersebut karena domba yang digunakan merupakan domba yang didapatkan dengan kondisi sebagaimana adanya saat di peternakan yang kemudian dikelompokkan secara acak ke dalam 4 perlakuan.

Selanjutnya, hasil analisis terhadap nilai pengurangan TTGT setelah pemberian nanoherbal (nilai FECRT) disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil analisis nilai FECRT hari ke-3

Akuades	FECRT Hari Ke-3		
	Albendazole 10%	NH 35 kg/BB	NH 350 kg/BB
0%	47.69%	11.18%	88.35%
FECRT Hari Ke-7			
0%	60%	5.66%	78.77%

4. Pembahasan

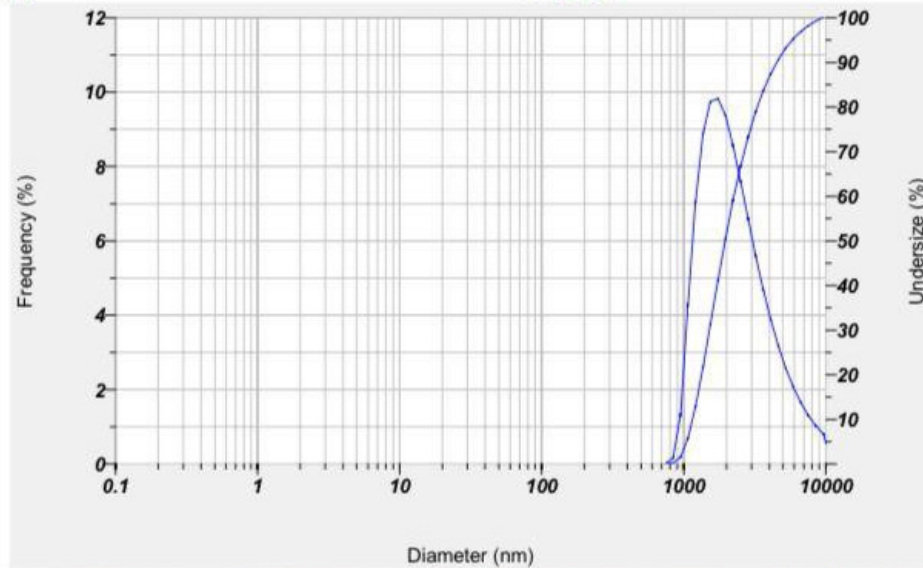
Nilai kedua rendemen yang diperoleh cukup tinggi yakni berada di atas 10 %. Nilai rendemen berbanding lurus dengan kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak^[11]. Ukuran partikel yang tidak mencapai skala nano setelah dilakukan ultrasonikasi dapat disebabkan oleh rendahnya energi ultrasonik yang digunakan sehingga tidak mampu untuk memecah partikel secara maksimal. PI atau keseragaman ukuran partikel dari kedua nano herbal yakni >0.3, yang bermakna distribusi data lebar^[12]. Penambahan waktu dalam tahap ultrasonikasi mampu mendistribusikan ukuran partikel menjadi lebih sempit serta sebagai

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	2463.6 nm	1537.0 nm	1634.1 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	2463.6 nm	1537.0 nm	1634.1 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 824.7 nm
 PI : 1.220



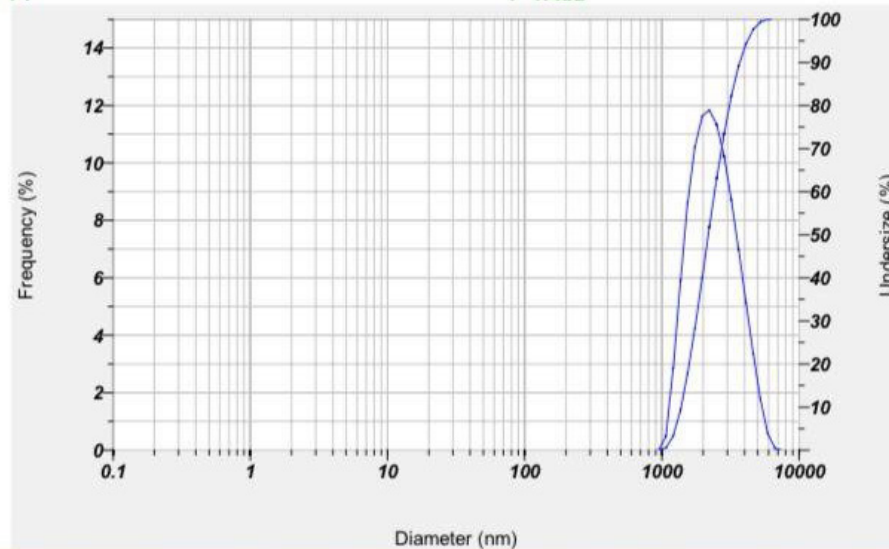
Gambar 1. Hasil uji PSA emulsi pepaya

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	2381.4 nm	915.1 nm	2087.6 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	2381.4 nm	915.1 nm	2087.6 nm

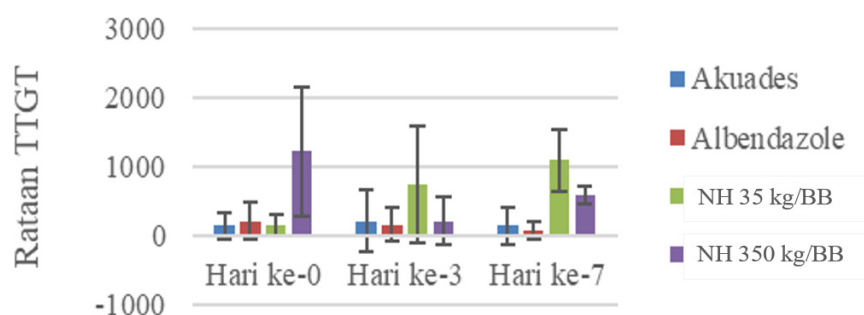
Cumulant Operations

Z-Average : 1018.0 nm
 PI : 1.402



Gambar 2. Hasil uji PSA emulsi kemangi

Rataan Nilai TTGT *Pre-* dan *Post-* *Treatment*



Gambar 3. Rataan Nilai TTGT *pre-* dan *post-treatment*

indikator dalam pembuatan emulsi yang baik [6]. Hasil PSA menunjukkan bahwa kemangi tidak mencapai ukuran nano, tepatnya 1 mikron. Penelitian lain mengungkap bahwa obat berskala mikro meter memiliki potensi keunggulan yang hampir mengimbangi obat berskala nano meter. Mikropartikel memiliki kelarutan, stabilitas, dan bioavailabilitas yang tinggi. Hal ini berdampak pada peningkatan aktivitas obat^{[13][14]}. Penelitian terdahulu juga merumuskan formula dalam menghitung FECRT pada kelompok uji dengan kontrol^[15]. **Tabel 1** Nilai FECRT hari ke-3 dan hari ke-7 menunjukkan penurunan jumlah telur tiap gram tinja (TTGT) pada hari ke-3 dan hari ke-7 setelah perlakuan nano herbal diberikan pada domba percobaan di MT Farm, Ciampea. Albendazole berperan sebagai kontrol positif pada uji ini dan memperoleh persentase penurunan sebesar 47.69% pada hari ke-3 pemberian antihelmintik dan mengalami peningkatan sebesar 60% pada hari ke-7 pemberian antihelmintik. Nano herbal dengan dosis 1/10 menunjukkan penurunan jumlah telur yang tidak terlalu signifikan yaitu 11.18% pada hari ke-3 dan 5.66% pada pemberian antihelmintik hari ke-7. Pada nanoherbal full dosis menunjukkan penurunan jumlah telur sebesar 88.35% pada hari ke-3 pemberian antihelmintik dan pada hari ke-7 sebesar 78.77%.

Data pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa terjadi penyimpangan besar pada setiap perlakuan. Hal ini dapat terjadi karena karakter data yang diolah (TTGT) memiliki rentang nilai yang sangat besar untuk mewakili nilai 1 telur. Penyimpangan nilai ini dapat diminimalisir dengan menambahkan jumlah sampel yang diuji serta meratakan nilai

TTGT pada setiap perlakuan sehingga pencilan yang sangat besar dapat ditutupi dengan jumlah sampel yang lain.

5. Kesimpulan

Sintesis nano herbal antelmintik dari kombinasi daun pepaya dan kemangi dapat dilakukan dengan teknik ultrasonikasi yang memberikan efikasi yang cukup baik. Pemberian nano herbal dengan single dosis telah memberikan efek penurunan nilai TTGT namun pemberian dalam multiple dosis dimungkinkan dapat memberikan efikasi yang lebih tinggi sehingga perlu untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.

Daftar Rujukan

- [1] **Ahmad, R.Z., & Tiffarent, R.** 2020. Aspek patologi haemonchosis pada kambing dan domba. *Wartazoa* 30(2):91–102. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v30i2.2185>.
- [2] **Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., & Van Wyk, J.A.** 2016. The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. *Advances in parasitology*. 93:95-143. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.022>.
- [3] **Mahatrinny, N.N., Payani, N.P.S., Oka, I.B.M., & Astuti, K.W.** 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali. *J. Farm. Udayana* 3(1):813.
- [4] **Dewardari, K.T., Yuliani, S., & Yasni.** 2013. Ekstraksi dan karakterisasi nanopartikel ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pascapanen* 58–65.
- [5] **Patil, R.Y., Patil, S.A., Chivate, N.D., & Patil, Y.N.** 2018. Herbal drug nanoparticles: advancements in herbal treatment. *Res. J. Pharm. Technol.* 11(1):91–15. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2018.00078.1>.

- [6] **Mujib, M.A.** 2011. Pencirian nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [7] **Roepstorff, A. & Nansen, P.** 1998. *Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine* (Vol. 3). Rome: Fao.
- [8] **Zingare, S., Pajai, K., Waghmare, S., Siddiqu, MFME, Kuralkar, S., hajare, S., & Wakhade, V.** 2018. Anthelmintic evaluation of *Carica papaya* against gastrointestinal helminths of goats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(6):1746–1748.
- [9] **Kanojiya, D., Shanker, D., Sudan, V., Jaiswal, A.K., & Parashar, R.** 2015. Assesment of in vitro and in vivo anthelmintic potential of extracts of *Allium sativum* bulb against naturally occurring bovine gastrointestinal nematodiosis. *Veterinary Quarterly* 35(4):200–206. <https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1099080>.
- [10] **Musthaba, S.M., Baboota, S., Ahmed, S., Ahuja, A., & Ali, J.** 2009. Status of novel drug delivery technology for phytotherapeutics. *Expert Opinion on Drug Delivery* 6(6):625–637. <https://doi.org/10.1517/17425240902980154>.
- [11] **Senduk, T.W., Montolalu, L.A., & Dotulong, V.** 2020. Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove sonneratia alba. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* 11(1):9–15. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>.
- [12] **Yang, H., Wang, C., & Su, Z.** 2008. Growth mechanism of synthetic imogolite nanotubes. *Chemistry of Materials* 20(13):4484–4488. <https://doi.org/10.1021/cm8001546>.
- [13] **Chaturvedi, M., Kumar, M., Sinhal, A., & Saifi, A.** 2011. Recent development in novel drug delivery systems of herbal drugs. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)* 5(2):87-94. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.85155>.
- [14] **Kulkarni, G.T.** 2011. Herbal drug delivery systems: an emerging area in herbal drug research. *Journal of Chronotherapy and Drug Delivery* 2(3):113–119.
- [15] **Dash, K.M., Hall, E., & Barger, I.A.** 1988. The role of arithmetic and geometric mean worm egg counts in faecal egg count reduction tests and in monitoring strategic drenching programs in sheep. *Australian Veterinary Journal* 65(2):66–68. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1988.tb07359.x>.