

Aktivitas Daun Bambu sebagai Anthelmintik Cacing *Haemonchus contortus* pada Kambing Bligon secara *In Vitro*

(Bamboo Leaves Activity as Anthelmintic on *Haemonchus contortus* in Bligon Goat *In Vitro*)

Widiarso BP¹, Nurcahyo W², Ekawasti F³

¹Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang, Indonesia Jurusan Peternakan
Jl. Magelang-Kopeng Km 7 Tegalrejo, Magelang

²Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna Bulaksumur Caturtunggal Sleman DIY

³Balai Besar Penelitian Veteriner, Jalan RE Martadinata Kota Bogor.
budipw2000@yahoo.com

ABSTRACT

Hemonchosis is caused by the nematode worm *Haemonchus contortus* with own character such as blood-sucking intestinal, lives in ruminant abomasums and cause high economic losses worldwide. *H. contortus* can be detrimental to producers by causing decreased production levels due to clinical signs such as anemia, edema and if didn't treat well cause the death. The most common treatment and control of worms is the application of broad-spectrum chemical anthelmintics, but if used continuously for a long time, it can result in resistance and residues to livestock products which are a serious threat to livestock production. The tannin content in bamboo leaves have potential as an anthelmintic agent. This study aimed to determine the potential of bamboo leaves as an anthelmintic against the protein profile of *H. contortus*. *H. contortus* worms were obtained from abomasum of infected Bligon goats slaughtered in slaughterhouses in Sleman. *H. contortus* was immersed in a bamboo leaf extract solution of 0.1-1%. Isolation of *H. contortus* protein to see the worm protein profile of each of these treatments. Most of the proteins analyzed by Sodium–dodecylsulphate polyacrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) were found in the 9-125 kDa range. Bamboo leaf infusion has potential as an anthelmintic because it can destroy several *Haemonchus contortus* proteins.

Key words: Bamboo leaves, anthelmintic, protein, *Haemonchus contortus*, goat

ABSTRAK

Haemonchosis disebabkan oleh cacing nematoda *Haemonchus contortus*, dengan karakteristik menghisap darah, hidup di abomasum ruminansia dan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi di seluruh dunia. Parasit ini dapat menyebabkan anemia, edema dan jika tidak ditangani serius dapat menimbulkan kematian. Penanganan dan pengendalian menggunakan anthelmintika kimia yang berspektrum luas dapat menjadi ancaman serius kesehatan konsumen akibat timbulnya

resistensi dan residu jika digunakan secara terus menerus dalam waktu yang lama. Kandungan tanin dalam daun bambu berpotensi sebagai agen anthelmintik. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi anthelmintic daun bambu terhadap tingkat mortalitas cacing dewasa secara *in vitro* dan keberadaan profil protein dalam *H. contortus*. Cacing *H. contortus* diperoleh dari abomasum kambing bligon terinfeksi *H. contortus* yang dipotong di RPH Sleman. *H. contortus* direndam pada ekstrak larutan daun bambu 0,1-1%. Isolasi protein *H. contortus* untuk melihat profil protein cacing dari masing-masing perlakuan tersebut. Protein yang dianalisis melalui SDS-PAGE menunjukkan hanya 6 pita protein dominan dengan berat molekul 9-125 kDa. Infusa daun bambu memiliki potensi sebagai anthelmitika karena mampu merusak beberapa protein *Haemonchus contortus*.

Kata kunci : Daun bambu, anthelmintik, protein, *Hemonchus contortus*, kambing

PENDAHULUAN

Kambing Bligon (*Capra aegagus*) merupakan ternak ruminansia kecil yang populer di Indonesia, mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi, mampu beradaptasi dengan topografi Indonesia, cukup mudah pengembangannya, tidak memerlukan lahan yang luas dalam pemeliharannya, dan modal yang diperlukan relatif sedikit. Permasalahan yang dihadapi adalah tingginya tingkat infestasi cacing. Infestasi cacing *Haemonchus contortus* merupakan salah satu masalah serius dalam upaya pengembangan peternakan di Indonesia.

Cacing *H. contortus* menyerang kambing pada berbagai umur dengan prevalensi yang tinggi. *Haemonchus contortus* pada kambing dapat mengakibatkan kematian mencapai 66,7% (Suteky & Dwatmadji 2010; Ningsih et al. 2013). Dilihat dari angka prevalensi tersebut menunjukkan penyakit haemonchosis di Indonesia masih tinggi. Infeksi cacing ini sendiri banyak menimbulkan kerugian bagi ternak karena menyebabkan penurunan bobot badan, anemia bahkan kematian. Cacing dewasa juga mengakibatkan penurunan digesti serta penurunan absorpsi protein, kalsium, dan fosfor dalam tubuh ternak (Noviana et al. 2017; Nugroho 2013).

Selama beberapa dekade penggunaan obat anthelmintik untuk pengobatan berbagai infeksi nematoda gastrointestinal pada sapi menimbulkan resistensi obat dan residu pada produk ternak-yang menimbulkan masalah bagi keamanan produk pangan asal hewan (Athanasiadou et al. 2012). Oleh karenanya, alternatif pengganti anthelmintik kimia, yaitu dengan anthelmintik yang berasal dari tanaman perlu dipertimbangkan. Hal ini bertujuan untuk mengantisipasi dampak resistensi yang ditimbulkan oleh anthelmintik kimia, selain itu penggunaan obat tradisional akan memungkinkan untuk penyediaan obat secara murah dan mudah diperoleh.

Menurut Kamaraj et al. (2011) menyarankan agar bahan alami tersebut mengandung bahan aktif tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid. Tanaman yang mengandung ekstrak tanin 5% dapat mengurangi kontaminasi larva, sehingga dapat digunakan sebagai anthelmintik (Min & Hart 2005). Selain itu Min & Hart

(2003), telah membuktikan bahwa tanin terkondensasi juga mengikat protein, dan mengubah dinding nematoda menjadi menjadi inaktif dan selanjutnya mati. Secara tidak langsung tanin akan mengikat protein cacing di dalam rumen, sehingga mencegah degradasi mikrobial dan meningkatkan aliran protein ke duodenum (Hoste et al. 2006).

Tanaman *tanniferous* dianggap sebagai potensi anthelmintic alternatif strategis untuk pengendalian infestasi nematoda pada ternak ruminansia kecil (Akkari et al. 2008). Daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan tanin yang tinggi, serta kandungan zat aktif lainnya yang berpotensi sebagai anthelmintik. Penelitian ini bertujuan melihat keberadaan profil protein dalam *Haemonchus contortus* pada kambing yang telah diberi perlakuan infusa daun bambu sebagai anthelmintic alternatif secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain elektrofresis (ec 105,E-C Apparatus Corporation, USA), kamera (canon EOS 1200 D, Jepang), spuit 3 ml (Terumo, Jepang), mortar, mikroskop cahaya (Olympus BX 51,Tokyo Japan), timbangan elektrik (Shimadszu TXB6201L), dan peralatan bedah minor (Yamako, Japan).

Bahan yang digunakan antara lain cacing dewasa *Haemonchus contortus*, NaCl 0,62%, infusa daun bambu apus, alkohol 70%, alkohol 96%, akuades, dan ethanol absolut.

Koleksi *Haemonchus contortus*

Abomasum kambing Bligon yang terinfeksi secara alami diperoleh dari Rumah Potong Hewan Besi Sleman dan kemudian dibawa ke Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Cacing diambil dari abomasum dan direndam dalam NaCl 0,62% (Kuchai et al. 2012). Setelah itu cacing diperlakukan menggunakan tiga variabel. Variabel pertama (T1) sebagai kontrol cacing direndam dalam NaCl 0,62%. Variabel kedua (T2) cacing direndam dalam infusa daun bambu apus 0,1%, diamati mortalitasnya, kemudian diambil sampel untuk SDS PAGE setelah 4 jam. Variabel ketiga (T3) cacing direndam dalam infusa daun bambu apus 1%, diamati mortalitasnya dan diambil untuk sampel SDS PAGE setelah 4 jam.

Pembuatan infusa daun bambu 1%

Menurut Daryatmo (2010) simplisia daun bambu apus (*G. apus*) dibuat dengan menggunting atau mencacah daun bambu menjadi lebih lembut atau lebih kecil. Cacahan daun bambu apus ditimbang sesuai dengan berat atau konsentrasi yang

diinginkan, yaitu 1 gram. Cacahan daun bambu apus dimasukkan ke dalam gelas beker. Gelas beker yang sudah terisi daun bambu selanjutnya diberi dengan akuades 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 mendapatkan infusa daun bambu 1%.

Isolasi protein dari *H. contortus*

Haemonchus contortus sebanyak 2 ekor dihomogenisasi dalam alat penghomonogen jaringan kaca secara terpisah dalam 10 ml PBS 0,05 M. Ekstrak parasit yang telah hancur disentrifugasi pada suhu 4°C pada 10.000-15.000 rpm selama 15 menit dan supernatan dikoleksi dan disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan.

Pemeriksaan profil protein cacing *Haemonchus contortus* dengan SDS-PAGE

Cacing *Haemonchus contortus* dicuci beberapa kali dalam media Hanks untuk menghilangkan debris dan bahan-bahan yang berasal dari hospes. Individu cacing dihomogenisasi secara terpisah dalam 0,1 M buffer sodium fosfat (pH 7,4) yang berisi 0,265 M sukrosa, kemudian direbus dalam 2 X buffer lisis selama 5 menit. Protein terlarut diisolasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit dan digunakan untuk elektroforesis. *Sodium-dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS PAGE) dilakukan sesuai dengan metode Laemmli (1970). Sampel protein terlarut dengan berat molekul standar yang digunakan sebagai marker direbus selama 5 menit dalam buffer sampel dengan rasio volume 2:1 yang berisi 50% *stacking gel buffer* (pH 6,8), 20% *glycerol*, 10% SDS, 20% *b-mercaptoethanol*, dan 0,05%(w/v) cairan *bromophenol blue* sebagai bahan celup marker. Elektroforesis dilaksanakan pada *vertical slab gel system* 90 V dengan gel diwarnai dalam 0,25% (w/v) *coomasie brilliant blue R-250*.

Estimasi protein dengan metode Lowry

Konsentrasi protein sampel diestimasi nilainya menggunakan uji Lowry (Lowry et al. 1951). Ini adalah metode yang sangat sensitif dan dapat mendeteksi protein. Ini adalah metode yang paling banyak digunakan untuk estimasi protein (Zargar et al. 2000).

Analisis protein

Analisis profil protein total parasit dilakukan dengan elektroforesis gel poliakrilamida natrium dodesil sulfat (SDS-PAGE) (Laemmli 1970). Pada SDS-PAGE, pemisahan protein dilakukan berdasarkan ukuran molekul protein. Agen denaturasi bersama dengan *b-mercaptoethanol* (zat pereduksi) diaplikasikan pada

campuran protein untuk mengganggu struktur sekunder, tersier, dan kuaterner yang melekat padanya.

Elektroforesis

Disiapkan loading gel 10% dan sampel buffer dan larutan protein dicampur dengan perbandingan 1:4 dalam tabung Eppendorf. Tabung kemudian ditempatkan pada termostat selama sekitar 3 menit. Sebanyak 30 μ l sampel protein dan 15 μ l penanda berat molekul (sigma) juga dimasukkan di jalur terpisah. Tegangan konstan 200 Volt dipertahankan selama migrasi protein. Ketika pewarna pelacak (*bromofenol blue*) mencapai kira-kira sampai akhir gel, proses dihentikan. Kemudian dilakukan staining gel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antelmintik ekstrak air daun bambu secara *in vitro* pada beberapa dosis yang dilakukan dapat dilihat hasilnya pada Tabel 1. Tingkat kematian cacing tertinggi pada kelompok perlakuan 2 dan 4 jam terjadi pada dosis 1%, sedangkan kematian terendah adalah pada dosis 0,1%.

Tabel 1. Efek infusa daun bambu apus (*Gigantochloa apus*) pada tingkat mortalitas *Haemonchus contortus*

Konsentrasi ekstrak daun bambu (mg/ml)	Tingkat kematian <i>H. contortus</i> (Ekor/10 cacing) dengan ulangan 3 kali	
	2 jam	4 jam
0 (Kontrol, akuades)	0 \pm 0,00	0 \pm 00
0,1	0 \pm 0,07	2 \pm 0,06
0,2	2 \pm 0,05	3 \pm 0,06
0,4	3 \pm 1,17	5 \pm 1,23
0,6	5 \pm 1,64	6 \pm 0,87
0,8	6 \pm 0,76	8 \pm 0,78
1,0	9 \pm 0,45	10 \pm 0,00
Albendazole/positive control	7 \pm 1,88	10 \pm 0,00

Analisa ANOVA, menunjukkan bahwa lama waktu perlakuan berbeda nyata terhadap mortalitas *H. contortus* secara *in vitro*. Hasil analisis variansi diketahui bahwa waktu menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dan berbagai dosis juga menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap tingkat mortalitas cacing *H. contortus* secara *in vitro*. Pada dosis 1 mg/mL ekstrak infusa daun bambu mampu

membunuh total jumlah cacing dewasa *H. contortus*, sedangkan pada dosis 0,1 mg/ml belum mampu membunuh secara total cacing dewasa *H. contortus*.

Berdasarkan pengujian tanin, saponin, antraquinon, dan flavonoid diketahui bahwa daun bambu apus (*G. 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. Kandungan tanin pada daun bambu apus sangat tinggi dan berperan dalam mengikat protein dan mengubah dinding nematoda menjadi inaktif dan membunuhnya (Athanasiadou et al. 2012).

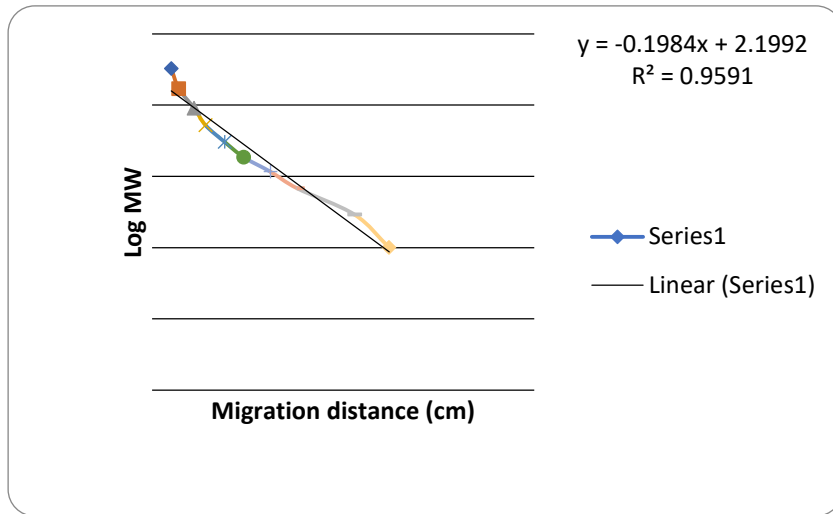
Tanin yang umum terdapat dalam tumbuhan leguminosa adalah tanin terkondensasi. Tanin terkondensasi efektif melawan parasit gastrointestinal baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung melalui interaksi tannin kondensasi-nematoda, mempengaruhi penetasan telur, dan mempengaruhi pertumbuhan larva infeksi. Tanin terkondensasi dapat mengikat protein, sehingga dinding nematoda menjadi menjadi inaktif dan selanjutnya mati. Secara tidak langsung tanin akan mengikat protein tumbuhan di dalam rumen, sehingga mencegah degradasi mikrobial, akan meningkatkan aliran protein ke duodenum (Min & Hart 2003)

Peningkatan nutrisi protein akan menurunkan infeksi parasit dengan meningkatkan imunitas hospes. Adanya perlakuan infusa daun bambu yang memiliki kandungan tanin dapat merusak protein (polipeptida) dalam tubuh cacing yang dapat mengakibatkan cacing mati. Konsentrasi protein parasit (marker-kontrol) yang diperkirakan dengan Metode Lowry (Lowry et al. 1951) adalah 4,2 mg/ml.

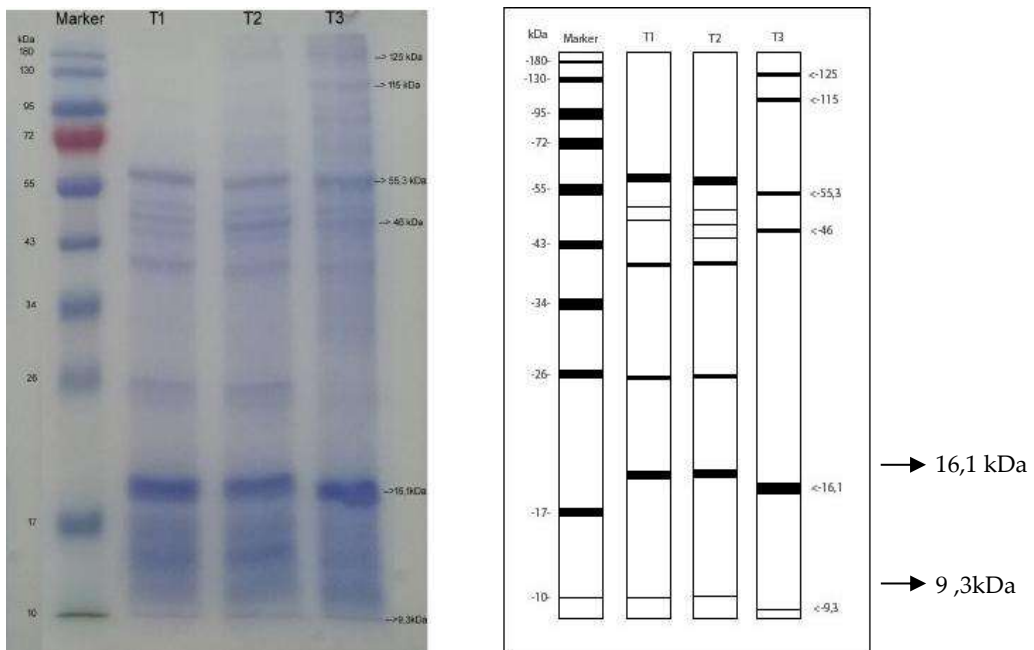
Tabel 2. Jarak migrasi 3 perlakuan dan berat penanda pada sampel *Haemonchus contortus*

Jarak (cm)	MW ¹	Log MW
0,5	180	2.26
0,7	130	2.11
1,1	95	1.98
1,4	72	1.86
1,9	55	1.74
2,4	43	1.63
3,1	34	1.53
3,8	26	1.41
5,3	17	1.23
6,2	10	1.00

¹MW from *Thermosciencetific Page Ruler Prestained Protein Ladder*



Gambar 1. Kurva berat molekular standar pada SDS-PAGE terhadap *Haemonchus contortus*



Gambar 2. Elektroferogram SDS PAGE *H. Contortus in vitro* (a). Skema SDS PAGE (b). Kolom 1 marker; kolom 2 Kontrol (T1), kolom 3 (T2): profil protein cacing dewasa yang direndam dalam dosis infusa daun bambu 0,1 mg/mL, dan kolom 4 (T3): profil protein cacing dewasa yang direndam dalam dosis infusa daun bambu 1 mg/ml

Elektroforesis SDS-PAGE protein *H. contortus* menunjukkan adanya 6 pita protein dominan dengan berat molekular mulai dari 9 sampai 125 kDa. Pita-pita ini

jika dibandingkan dengan penanda molekuler *thermo scientific* mempunyai berat molekul 9,3; 16,1; 46; 55,3; 115; dan 125 kDa (Gambar 1). Berdasarkan hasil tersebut bahwa protein *H. contortus* yang rusak setelah cacing diberi perlakuan ekstrak daun bambu. Rusaknya protein *H. contortus* atau hilangnya polipeptida pada tubuh cacing dapat memblokir proses metabolisme fisiologi cacing, sehingga menghambat pertumbuhan cacing bahkan dapat mematikan cacing.

Ashman et al. (1995) menyatakan keberadaan protein larva dari *H. contortus* hanya pada kisaran berat molekul 70-90k Da. Fetterer et al. (1999) mengatakan protein yang dimurnikan dari *H. contortus* dewasa hanya terlihat pada protein dengan berat molekul 33kDa oleh SDS-PAGE. Gomez et al. (1996) mengidentifikasi dan memurnikan sebagian protein dari *H. contortus* oleh SDS-PAGE hanya pada berat molekul 26kDa. Pendapat lain menurut Crab et al. (2002) SDS PAGE mampu memurnikan sebagian protein 23,8 kDa dari parasit *Haemonchus contortus*. Ranthore et al. (2006) mengidentifikasi adanya protein dengan berat molekul 66 kDa pada antigen sekretori ekskresi dari *H. contortus*. Prasad et al. (2007) juga mampu mengenali adanya protein dengan berat molekul 60 dan 120 kDa polipeptida dari *H. contortus* dengan *kromatografi immunoaffinity* dan SDS-PAGE.

Arunkumar (2012) melaporkan bahwa tentang karakterisasi antigen E/S yang dimurnikan dari *H. contortus* oleh SDS-PAGE menunjukkan pita terbakar pada 66kDa. Clarke & Slocombe (1984) mengamati pita tunggal yang sesuai dengan berat molekul 172.000 kDa dari cairan yang keluar dan ekstrak somatik *H. contortus*. Lebih jauh Siamba et al. (2012) mengamati 13 pita peptida utama di SDS PAGE dari larva L3 infeksi *H. contortus* dan mengamati protein 46kDa spesifik pada parasit tanpa tekanan dan protein 32 kDa yang tertekan. Band protein pada cacing yang diberi infusa daun bambu 1 mg/mL (T3) tampak: 125kDa, 115kDa, 55,3kDa, 46kDa, 16,1kDa, dan 9,3kDa (Gambar 2). Pasila (2008) mengamati protein cacing *H. contortus* yang dihasilkan oleh SDS PAGE, antara lain 42,3 kDa; 39,3 kDa; 24,4 kDa, dan 13,9 kDa. Dari kelima profil protein tersebut, profil protein dengan berat molekul 28,9 kDa dan 24,4 kDa adalah profil yang tercatat tebal, di mana tebal tipisnya pita protein yang tercatat merupakan gambaran banyaknya protein yang terkandung dalam profil protein ekskresi-sekresi. Hasil SDS PAGE pada penelitian ini tercantum dalam Tabel 3.

Beberapa polypeptide cacing *H. contortus* hilang atau rusak, sehingga tidak tampak pada hasil SDS page terhadap cacing yang telah mengalami perlakuan jika dibandingkan dengan markernya (control). Lastuti et al. (2001) melaporkan bahwa, pada bagian usus *H. contortus* didapatkan 13 profile protein, antara lain 46 kDa; 41,2 kDa; 36 kDa; 27,4 kDa; 24 kDa; 19,6 kDa; 14,9 kDa; 11,4 kDa; 9 kDa; 7 kDa; 4 kDa; 3,8 kDa; and 3,6 kDa. Profil protein yang dominan adalah 19,6 kDa; 14,9 kDa; 11,4 kDa; 9 kDa; 7 kDa; 4 kDa; 3,8 kDa; dan 3,6 kDa. Menurut Jaiswal et al. (2014) menyatakan bahwa ada 35 polipeptida dengan berat molekul berbeda-beda pada cacing betina. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh tannin dalam infusa daun bambu apus. Tanin terkondensasi memiliki afinitas dengan *proline-rich protein*,

sedangkan kutikula nematoda diketahui terbentuk dari struktur *proline-rich protein* yang menutupi tubuhnya (Hoste et al. 2006).

Tabel 3. Perbandingan pendapat penulis terhadap band protein *H. contortus* yang hilang pada SDS PAGE

Penulis	Band protein <i>H. contortus</i> yang tidak ada
Fetterer et al. (1999)	33kDa
Gomez et al. (1996)	26kDa
Crab et al. (2002)	23,8kDa
Ranthore et al. (2006)	66kDa
Prasad et al. (2007)	60kDa dan 120kDa
Arunkumar (2012)	66kDa
Siamba et al. (2012)	172kDa

KESIMPULAN

Infusa daun bambu apus mampu membunuh cacing *Haemonchus contortus* setelah 4 jam pada dosis 1mg/mL secara *in vitro*. Profil protein *H. contortus* setelah mengalami perlakuan memiliki profil yang berbeda terhadap control, antara lain 93; 16,1; 46; 55,3; 115; 125 kDa. Protein cacing yang rusak merupakan salah satu indikator bahwa infusa daun bambu memiliki potensi sebagai anthelmitika.

SARAN

Inovasi lebih lanjut perlu dilakukan untuk mendeteksi adanya protein yang hilang melalui elektroforesis SDS PAGE dan immunoblotting secara *in vivo* dan perlu juga dilakukan uji toksisitas daun bambu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ademola OI, Elof JN. 2010. In vitro anthelmintic activity of combretun molle against *Haemonchus contortus* ova and larvae. Veterinary Parasitology. 169:198-203.
- Akkari H, Darghout MA, Salem HB. 2008. Preliminary investigations of the antinematode activity of *Acacia cyanophylla* Lindl.: Excretion gastrointestinal nematode eggs in lambs browsing *A. Cyanophylla* with and without PEG or grazing native grass. J Small Rum Res. 74(b):78-83.
- Alawa CBI, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezy NP, Alawa JN, Bowman DD. 2003. In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernona amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. J Vet Parasitology. 113:73-81.

- Arunkumar A. 2012. Immunoprotection sheep against *Haemonchus contortus* using its thiol-purified excretory/secretory proteins. *Vet Res Forum* 3:239-244.
- Ashman K, Mather J, Wiltshire C, Jacobs HJ, Meeusen E. 1995. Isolation of larval surface glycoprotein from *Haemonchus contortus* and its possible role in evading host immunity. *Mol Biochem Parasitology*. 70:175-175.
- Athanasiadou SL, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. 2012. Direct effects of condensed tannins anthelmintic towards different gastrointestinal nematodes of sheep: In vitro and in vivo studies. *Veterinary Parasitology*. 99.
- Crab A, Noppe W, Pelicaen C, Van Hoorelbeke K, Deckmyn H. 2002. The Parasitic hematophagous worm *Haemonchus contortus* inhibits human platelet aggregation and adhesion: partial purification of platelet inhibitor. *Thromb Haemost*. 87:899-904.
- Daryatmo J, Hartadi H, Orskov ER, 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.
- Fetterer RH, Hill DE, Rhoads ML. 1999. Characterization of Hemoglobiin-like protein from adult *Haemonchus contortus*. *J Parasitology*. 85:295-300.
- Gomez-Munoz MT, Cuquerella M, Alunda JM. 1996. Identification and Partial Purification of a 26 kilodalton antigen of adult *Haemonchus contortus*. *Int J Parasitology*. 26:311-318.
- Haring DA, Suter D, Armhein N, Luscher A. 2006. Biomass Allocation is an important Determinant of the Tanin Concentration in growing plants. *Oxford J*. 99.
- Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. 2006. The effect of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trend Parasitol*. 22:253-261.
- Jaiswal AK, Sudan V, Pandey V, Singh A, Gaur RS, Kanojiya D, Nigam R, Shanker D. 2014. Sex Dependent Alterations in the Protein Characterization Patterns of *Haemonchus contortus*. *J Parasit Dis*.
- Kamaraj CA, Rahman G, Elango A, Bagavan, Zahir AA. 2011. Anthelmintic activity of botanical extract against sheep gastrointestinal nematodes, *Haemonchus contortus*. *Parasitol Res*. 108:37-45.
- Kuchai JA, Ahmad F, Chisty MZ, Tak J, Achmad, Ahmad S, Rassol M. 2012. A study on morphology and morphometry of *Haemonchus contortus*. *Pakistan J Zoology*. 44:1737-1741.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-684.
- Lastuti NDR, Mufasirin, Hamid IS. 2001. Deteksi Protein *Haemonchus sp* pada Domba dan Kambing dengan Uji Dot Blot Menggunakan Antibodi Poliklonal Protein Ekskresi dan Sekrei *Haemonchus contortus*. *Media Kedokteran Hewan*. 22: 62-167.

- Lowry OH, Rusbrought NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275.
- Manolaaraki F, Sotiraki S, Stefanaki, A, SkampardonisV, Volanis M, Hoste H. 2010. Anthelmintic activity of some mediterranean browse palnts againts parasitic nematodes. *Parasitology*. 137: 684-696.
- Min BR, Hart SP. 2003. Tannins for Suppression of Internal Parasites. *J Animal Science*. 81.
- Min BR, Hart SP, Miller D, Tomita GM, Loetz E, Sahlu T. 2005. The Effect of Grazing Forage Containing Condensed Tannins on Gastrointestinal Parasite Infection and Milk Composition in Angora Does. *J Veterinary Parasitology*. 130.
- Ningsih WD, T. Suteky, Dwatmadji. 2013. Pengaruh Ekstrak Melastoma Malabathricum Terhadap Fisiologi Pada Kambing Kacang Yang Terinfestasi *Haemonchus Contortus*. *J Sain Peternakan Indonesia*. 8:25-34.
- Noviana R, Chairul A, Sunarso A, Koesdarto S, Sri Mumpuni S, Sahrial I. 2017. Daya Anthelmintika Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum americanum* Linn.) Terhadap Mortalitas Cacing *Haemonchus contortus* Secara in Vitro. *Journal of Parasite Science*. *J Parasite Sci*. 1(2).
- Pasila A.R. 2008. Identification of Excretion-Secretion Protein Profile of the Adult *Haemonchus contortus* with SDS-PAGE. [Journal.unair.ac.id/filterPDF/8.%20Cacing.doc.abstrak](http://journal.unair.ac.id/filterPDF/8.%20Cacing.doc.abstrak)
- Prasad A, Nasir A, Singh N. 2007. Dot-ELIZA for detection of preclinical *Haemonchus contortus* infection in sheep by using an adult ssomac antigen and an immunoaffinitypurified fraction. *J Parasit Dis*. 31:22-28.
- Ranthore DK, Suchitra S, Saini M, Singh BP, Joshi P. 2006. Identification of 66kDa *Haemncus contortus* excretory/secretory antigen that inhibits host moocytes. *Vet Parasitology*. 138:129-300.
- Siamba DN, Gatongi PN, Mualambalah CS, Ngeiywa MM, Wamae LW. 2012. Stress response in infective larvae (L3) of the parasitic nematode *Haemonchus contortus* is accompanied by enhanced epression of heat shock proteins (HSP 70). *Curr Res J Biol Sci*. 4:345-349.
- Sujarwo W, Arinasa IBK, Peneng IN. 2010. Inventory types of bamboo Potential as Drug in Karangasem Bali. *Botanical Garden Bulletin*. 13(1).
- Suteky T, Dwatmadji. 2010. Suplementasi pakan dengan fortifikasi anthelmintika alami untuk mengatasi infestasi *Haemonchus sp* dalam rangka mendukung sistem integrasi sawit ternak di Bengkulu. Laporan Penelitian HPSN Batch IV. Universitas Bengkulu, Bengkulu.
- Suratiningsih S, Rahayu S, Suhartati FM. 2013. Supplementation. Ethanol Extract Bamboo Leaves Petung (*Dendrocalamus asper*) Effect on Concentration of N-NH3 and VFA Total In In Vitro. *J Scientific Ranch*. 1:590-596.