

Uji Aktivitas Antelmintik Infus Bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) (L.) Dryand terhadap *Fasciola sp.* secara *In Vitro*

The In Vitro Anthelmintic Activity of Flower Infusion of Milkweed (Calotropis gigantea) (L.) Dryand on Fasciola sp.

Iman Surya Pratama¹, Zurriatun Toyyibah², Galuh Tresnani¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

²Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram

Email: imanespe@gmail.com

Naskah diterima: 8 Juli 2019, direvisi: 1 November 2020, disetujui: 8 Januari 2021

Abstract

The high prevalence rate of cattle fasciolosis in Lombok Island on the period of 2012-2017 make an urge search for natural antifasciolosis agent such as the anthelmintic product from milkweed flower (*Calotropis gigantea*). The aim of this study was to determine the effectivity of milkweed flower infusion as antifasciolosis agent including death time and histopathology aspects. An *in vitro* antifasciolosis test was carried out by soaking *Fasciola sp* worm into the infusion in four different concentration: 5, 10, 15, and 30 % w/v. Saline solution pH 7.8 were used as a negative control and Albendazole 10 % as the positive control. The worms were observed for the motility after incubating at 37°C. Death time was observed and recorded. The dead flukes were fixed in formaldehyde fixative, processed and embedded in paraffin. Tissue section stained with hematoxylin-eosin. Death time was analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U Test, while histopathology data were analyzed descriptively. The result showed that the death time of the *Fasciola sp.* was 660, 135, 240, 345, 360 and 360 minutes for negative control, positive control, flower infusion (5,10,15,30 % w/v) respectively. The histological analysis illustrated the damage of tegumen and the spine structure in tegument. The most severe damage was caused by concentration 30% w/v. Based on death time, relative motility and survival index, it is concluded that milkweed flower infusion 5% w/v is more effective as an antifasciolosis than Albendazole 10% w/v (p<0.05).

Keywords: antifasciolosis; *Calotropis gigantea* flower; *Fasciola sp*; histology; infusion

Abstrak

Angka prevalensi fasciolosis yang tinggi pada sapi di pulau Lombok periode 2012-2017 mendorong pencarian antifasciolosis bahan alam diantaranya bunga Widuri (*Calotropis gigantea*). Penelitian ini bertujuan menentukan efektivitas infus bunga widuri terhadap *Fasciola sp.* secara *in vitro* ditinjau dari lama waktu kematian dan aspek histopatologi. Uji antifasciolosis *in vitro* dilakukan dengan merendam *Fasciola sp* pada infus bunga widuri dalam empat konsentrasi berbeda : 5, 10, 15, dan 30% b/v. Larutan garam fisiologis pH 7,8 dan *Albendazole* 10% b/v berturut-turut digunakan sebagai kontrol negatif dan positif. Seluruh kelompok diinkubasi pada suhu 37 °C kemudian lama waktu kematian diamati dan dicatat. Preparat awetan dibuat dari cacing yang mati menggunakan metode paraffin dan pewarnaan hematoksilin eosin. Data lama waktu kematian dianalisa dengan uji *Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney U* sementara data histologi dianalisa secara deskriptif. Lama waktu kematian untuk berturut-turut 660, 135, 240, 345, 360, 360 menit untuk kelompok kontrol (negatif, positif) dan perlakuan (infus bunga widuri 5, 10, 15, dan 30% b/v). Kerusakan terjadi pada tegumen dan spina. Berdasarkan lama waktu kematian, indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup, infus bunga widuri 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis meski lebih rendah dibandingkan *Albendazol* 10% b/v (p <0.05). Kerusakan tegumen terbesar terjadi pada infus bunga widuri 30% b/v.

Kata kunci: antifasciolosis; bunga *Calotropis gigantea*; *Fasciola sp*; histologi, infus

Pendahuluan

Fasciolosis merupakan salah satu zoonosis penting pada ruminansia yang disebabkan trematoda *Fasciola hepatica* dan *gigantica* (Mehmood et al., 2017). Spesies *gigantica* sering ditemukan pada sapi di Indonesia sementara spesies *hepatica* sering terdeteksi pada sapi impor (Wariata, W. et al., 2019) Meski spesies *hepatica* lebih sering menginfeksi manusia, tahun 2018 dilaporkan infeksi spesies *gigantica* di Vietnam dan Nepal pada manusia (Nguyen, et.al., 2018 ; Sah et.al., 2018).

Fasciolosis terjadi di seluruh belahan dunia termasuk Indonesia. Angka prevalensi fasciolosis yang menyerang sapi di dunia pada tahun 2000 hingga 2015 berkisar dari 0.71 – 86,0% (Mehmood et al., 2017). Angka prevalensi fasciolosis sapi Bali di pulau Lombok pada tahun 2012 sebesar 96,23% dan 52,78% pada sampel hati dan feses (Astiti dan Panjaitan, 2012). Angka prevalensi sapi Bali fasciolosis pada 10 kecamatan di Kabupaten Lombok Barat sebesar 54, 25% (Karlina, 2017).

Fasciolosis berdampak pada morbiditas dan mortalitas pada sapi meliputi penurunan berat badan, anemia dan hiperproteinemia. Fasciolosis juga sering dikaitkan dengan kerusakan organ hati yang ditemui di rumah potong hewan, infertilitas, dan bobot anak sapi yang rendah ketika kelahiran (Alemneh dan Ayelign, 2018). Fasciolosis juga menyebabkan kerugian ekonomi, kurang lebih 16.450 USD pada kasus di Berau, Kalimantan Timur sebagai contoh berdasarkan studi Prasetya, dkk. tahun 2019.

Triklabendazol, Nitazoksanid, Rafoxanid, Mebendazol dan Albendazol termasuk antifasciolosis (Direktorat Kesehatan Hewan, 2014). Albendazol merupakan salahsatu antifasciolosis yang sering digunakan (Rana, et.al., 2014). Kegagalan terapi flukisidal sintetis termasuk Albendazol akibat resistensi telah dilaporkan dalam studi (Novobilsky dan Höglund, 2015). Efikasi Albendazol 10 mg/kg BB pada sapi fasciolosis di daerah Sleman menurun hingga 30% menimbulkan dugaan resistensi (Kristiyani, et al., 2019).

Isu resistensi flukisid yang ada mendorong alternatif pengembangan antifasciolosis salahsatunya berbasis herbal (Alvarez-Mercado, et.al,

2015). *Calotropis gigantea* atau dikenal dengan widuri merupakan salah satu tanaman khas Indonesia dengan bagian bunga telah dikenal berkhasiat mengobati kecacingan (Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional, 1992).

Hasil penapisan ekstrak air bunga widuri mengandung komponen antelmintik seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Kumar et al., 2013). Studi lain menunjukkan ekstrak air bunga widuri yang diperoleh melalui Soxhletasi mengandung alkaloid dan flavonoid (Patel, et al., 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Maulana et al., (2015), ekstrak daun widuri dalam cairan empedu dengan rentang konsentrasi 2,5-10% b/v menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar rentang konsentrasi ($p < 0,05$) namun berbeda signifikan dengan kontrol negatif yang hanya berisi cairan empedu ($p < 0,01$).

Kajian efek antelmintik infus bunga widuri masih terbatas sehingga diperlukan studi lanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektivitas infus bunga widuri terhadap *Fasciola* sp secara *in vitro* dan mendeskripsikan gambaran histologi tegumen pasca pemaparan infus.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 18 ekor cacing *Fasciola* sp. dewasa (ukuran 25-27 x 3-12 mm), akuades, albumin, Albendazol 10% b/v (Industrial Veterinaria, Spanyol), alkohol berbagai konsentrasi, bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) segar, larutan formaldehid 10% v/v, larutan NaCl 0,9% b/v, larutan NaOH 0,1 M, larutan paraffin. larutan xylol, larutan metilen biru 1%, pewarna eosin, pewarna hematoksilin.

Peralatan penelitian yang digunakan adalah ayakan bertingkat, batang pengaduk, blender, cawan petri, alat gelas laboratorium, cetakan kayu, plat panas, inkubator, kaca benda, kaca penutup, kain, kamera, mikrotom, mikroskop cahaya (Zeiss®, Jerman), oven, panci infus, seperangkat alat bedah, tangas air dan termometer.

Bunga widuri diperoleh dari pantai Setangi, Desa Malaka, Kabupaten Lombok Utara. Adapun *Fasciola* sp. dewasa diperoleh dari Rumah Potong Hewan di daerah Pagesangan. Identifikasi cacing uji melalui analisis morfometri kemudian

dibandingkan dengan literatur (Mas-Coma *et.al*, 2008).

Bunga widuri disortasi, dicuci, dikeringkan, disortasi kemudian diserbukkan dengan ayakan berukuran 40/80 mesh. Infus bunga widuri 30% b/v diperoleh melalui prosedur berikut : Sejumlah 30 g serbuk dicampurkan dengan 100 mL akuades dan dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit mulai suhu mencapai 90 °C sembari sesekali diaduk. Campuran diserkai selagi panas dan ampas ditambahkan akuades hingga volume 100 mL (BPOM, 2006).

Infus selanjutnya diencerkan bertingkat dengan menggunakan akuades hingga diperoleh konsentrasi 5, 10, 15% b/v. Penentuan konsentrasi berdasarkan kelipatan dengan acuan konsentrasi terbaik adalah 5% sesuai dengan penelitian Maulana tahun 2015.

Cacing uji dikelompokkan menjadi kelompok perlakuan (5, 10, 15, 30% b/v), kontrol positif Albendazol 10% b/v dan kontrol negatif (NaCl 0,9% b/v + NaOH 0,1 M). Cacing uji diletakkan pada cawan petri yang berisi larutan kemudian diinkubasi.

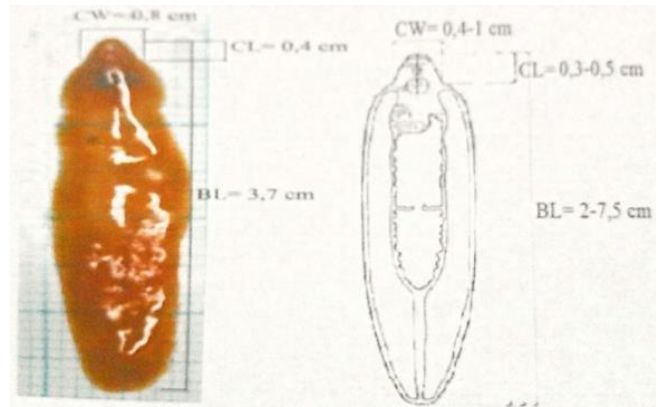
Skor pergerakan diamati kemudian diolah menjadi indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup sesuai dengan Lorsuwannarat *et al.*, 2014. Lama waktu kematian dicatat kemudian perbedaan masing-masing kelompok dianalisa secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney U-Test.

Preparat awetan permanen dibuat dari cacing yang telah diuji secara *in vitro* mengikuti prosedur Jayethilakan *et al.*, 2012. Hematoksisilin-eosin digunakan sebagai pewarna untuk pengamatan gambaran histologis tegumen. Hasil pengamatan tegumen dianalisa secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Cacing uji yang diperoleh berwarna coklat, berbentuk seperti daun. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh ukuran panjang tubuh, panjang bahu, dan lebar bahu berturut-turut 3,7; 0,4; dan 0,8 cm (Gambar 1). Selaras dengan pustaka, hal ini menunjukkan spesies *Fasciola gigantica* (Mas-Coma *et al.*, 2008).

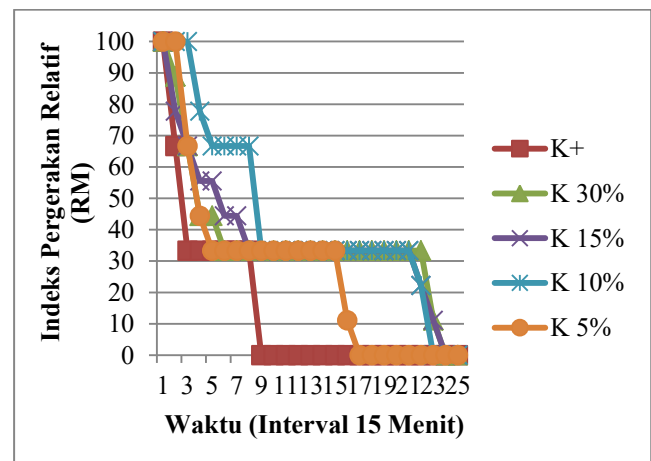
Bunga yang digunakan adalah bunga Widuri (*Calotropis gigantea*) sesuai dengan surat deter-



Gambar 1. *Fasciola gigantica* (kiri) : hasil pengamatan (kanan)

minasi no. 290/UN18/PN/2016 yang dirilis oleh PS Biologi FMIPA UNRAM.

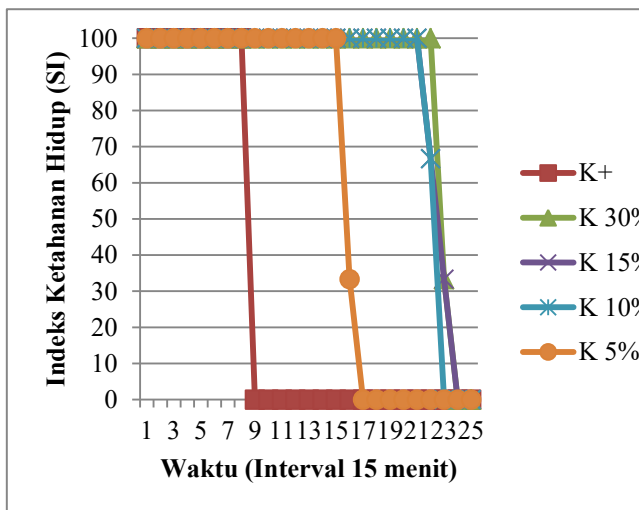
Berdasarkan hasil uji *in vitro* yang telah dilakukan diperoleh indeks pergerakan relatif (RM) dan indeks ketahanan hidup (SI) yang berturut-turut diilustrasikan dalam Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Indeks Pergerakan Relatif (RM). Keterangan simbol (atas ke bawah) : kontrol positif dan kelompok perlakuan : infus 30, 15,10 dan 5 % b/v

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa pergerakan relatif terendah dimiliki kontrol positif Albendazol 10% b/v dengan waktu kematian tercepat 2 jam 15 menit. Pergerakan relatif yang rendah selanjutnya ditunjukkan oleh kelompok infus 5 % b/v kemudian meningkat 10, 15 dan 30 % b/v (waktu kematian 4 jam, 5 jam 45 menit dan 6 jam).

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa indeks ketahanan hidup terendah ditunjukkan oleh Albendazol 10% b/v, selanjutnya disusul oleh kelompok infus 5, 10, 15 dan 30 % b/v. Dari kedua parameter tersebut menunjukkan infus bunga widuri 5% b/v memberikan indeks



Gambar 3. Indeks Ketahanan Hidup (SI) . Keterangan simbol (atas ke bawah) : kontrol positif dan kelompok perlakuan : infus 30, 15,10 dan 5 % b/v

pergerakan relatif dan ketahanan hidup terendah pada perlakuan meski lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

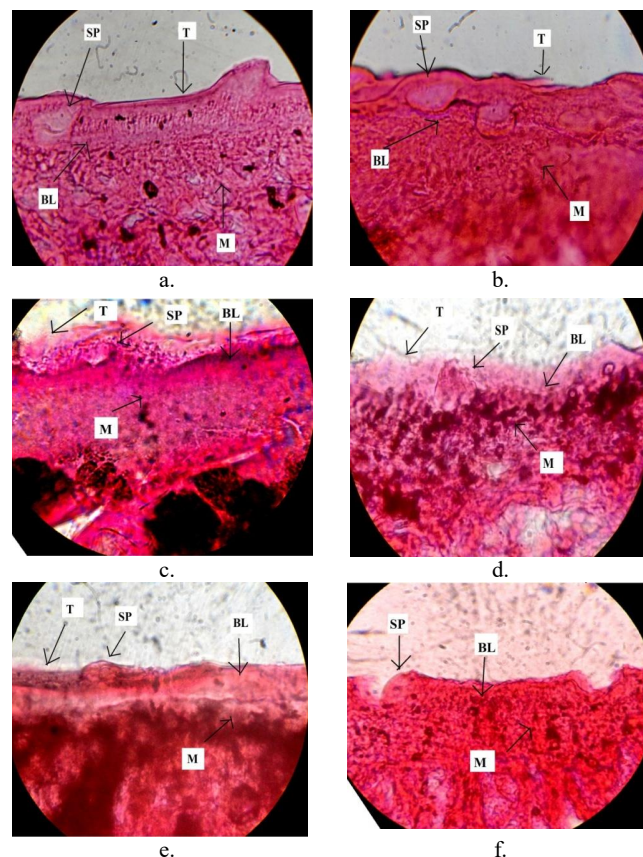
Perbandingan lama waktu kematian cacing diilustrasikan dalam Tabel 1. Kelompok kontrol positif dan infus memiliki efek antifasciolosis berdasarkan parameter waktu kematian, ditinjau dari perbedaan signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Infus 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis dengan lama waktu kematian terendah 240 menit meski lebih lama dibandingkan kontrol positif.

Studi Fereirra, et.al., (2011) menunjukkan beberapa antifasciolosis bahan alam seperti *A. annua*, *A. absinthium*, *A. triloba* dan *F.officinalis* cenderung efektif pada konsentrasi rendah, Efek antifasciolosis diduga akibat beberapa zat aktif pada infus seperti flavonoid, tanin dan saponin (Pratama et al., 2016).

Flavonoid bekerja dengan menghambat transmisi neuromuskular sehingga menyebabkan paralisis dan kematian (Asmaydo, et al., 2019).

Tanin diduga bekerja dengan cara menghambat pembangkitan energi melalui hambatan kopling via reduktase yang memperantarai reaksi fosforilasi oksidatif (Adeniran dan Sonibare, 2013).

Saponin bekerja menurunkan tegangan permukaan sehingga kontak antara ekstrak dan tegumen menjadi lebih cepat dan efektif. Saponin juga diketahui dapat menyebabkan destabilisasi membran sel sehingga permeabilitas membran meningkat (Mahardika, et al.,2017)



Gambar 4. Irisan melintang abdomen *Fasciola* sp. perbesaran 10x10 a. kontrol negatif; b. kontrol positif; c.,d.,e.,f., berturut-turut infus bunga widuri konsentrasi 5, 10, 15 dan 30 % b/v; (Sp) spina; (BL) lamina basalis; (T) tegumen; (M) otot.

Tabel 1. Perbandingan Durasi Kematian Cacing

Kelompok Perlakuan	Waktu Kematian Cacing (Menit)
Kontrol Negatif ^{a)}	660
Kontrol Positif ^{a)}	135
Konsentrasi 5% ^{b)}	240
Konsentrasi 10% ^{b)}	345
Konsentrasi 15% ^{b)}	360
Konsentrasi 30% ^{b)}	360

Keterangan : ^{a)} berbeda signifikan pada $p < 0,05$

^{b)} berbeda signifikan pada ($p < 0,05$) dengan kontrol positif dan negatif

Pada kelompok kontrol negatif terlihat tegumen *Fasciola* sp. normal yang terdiri dari lapisan tegumen paling luar, kemudian spina yang menempel pada lamina basalis dan lapisan otot dibawah lamina basalis tersebut sesuai dengan pustaka (Lorsuwannarat *et al.*, 2014).

Hasil pada kontrol positif menunjukkan bahwa beberapa lokasi pada lapisan tegumen mengalami sedikit kerusakan, akan tetapi bagian spina, lamina basalis dan otot tidak mengalami kerusakan.

Gambaran histologi *Fasciola* sp. pada kelompok infus bunga widuri menunjukkan hasil sebagai berikut. Infus bunga widuri konsentrasi 5% menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan kontrol positif, Adapun infus bunga widuri konsentrasi 10% menunjukkan kerusakan sebagian lapisan tegumen.

Pada infus bunga widuri konsentrasi 15% lapisan tegumen hancur, akan tetapi spina, lamina basalis dan otot masih terlihat baik. Infus bunga widuri konsentrasi 30% menunjukkan kerusakan pada bagian tegumen dan spina. Lapisan tegumen hampir tidak teramati dan spina masuk kedalam jaringan, sedangkan lamina basalis dan otot tetap utuh

Berdasarkan gambaran histologis pada Gambar 4, menunjukkan peningkatan konsentrasi seiring dengan peningkatan kerusakan tegumen. Kerusakan terbesar ditunjukkan oleh infus bunga widuri konsentrasi 30%. Tegumen merupakan salah satu target antifasciolosis (Mahardika *et al.*, 2017). Tegumen berperan penting dalam respirasi, absorpsi nutrien, fungsi metabolik dan imunopatologi pada inang. Hal ini menjelaskan kerusakan tegumen yang memacu kematian cacing (Vanda, *et al.*, 2020)

Trend peningkatan konsentrasi infus dalam menyebabkan kerusakan struktur tegumen berbanding terbalik dengan lama waktu kematian cacing. Semakin meningkat konsentrasi infus, kerusakan tegumen semakin besar namun kematian cacing semakin lambat.

Hal ini dapat diakibatkan diantaranya sifat serbuk widuri yang meruah menyebabkan peningkatan konsentrasi dapat berefek pada peningkatan kepekatan infus dan ukuran molekul yang ada di dalamnya. Berdasarkan Hukum Ficks, laju difusi berbanding lurus dengan koefisien difusi. Adapun

menurut persamaan Stokes-Einstein menyatakan bahwa koefisien difusi menurun seiring peningkatan ukuran molekul dan peningkatan viskositas pelarut (Bordin, *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, konsekuensi kedua hukum ini menyebabkan peningkatan konsentrasi menghambat difusi molekul sehingga tetap merusak struktur tegumen di bagian luar akibat kontak yang lama dengan komponen dalam infus, namun sulit untuk masuk target kerja lain yang berada di dalam jaringan.

Dalam penelitian ini terdapat keterbatasan bahwa tidak dilakukan analisis kuantitatif pada masing-masing metabolit sekunder dalam berbagai konsentrasi infus sehingga tidak dapat ditentukan kandungan mana yang secara pasti berperan dalam kerusakan tegumen. Flavonoid diduga berperan penting merusak tegumen melalui hambatan enzim tegumen seperti AcPase dan ATPase sebagaimana studi genistein pada tegumen *F. hepatica* (Toner *et al.*, 2008)

Kesimpulan

Berdasarkan lama waktu kematian, indeks pergerakan relatif dan ketahanan hidup, infus bunga widuri 5% b/v efektif sebagai antifasciolosis meski lebih rendah dibandingkan dengan Albendazol 10% b/v ($p < 0,05$). Infus bunga widuri 30% b/v menunjukkan kerusakan pada tegumen dan spina lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain dan kontrol positif.

Daftar Pustaka

- Adeniran, A. A dan Sonibare, M. A. 2013. In vitro potential anthelmintic activity of bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. on earthworms and liverflukes. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 5 (12) :196-203.
- Alemneh, T dan Ayelign, M. 2018. Fasciolosis-Public Health and Economic Impacts : A Review. *International Journal of Zoological Investigations*. 4 (2) :186-195.
- Alvarez, J. M., Ibarra-Velarde, F., Alonso-Diaz, M.A., Vera-Montenegro, Y, Avila-Acevedo, J. G., dan Garcia-Bores, A. M. 2015. In vitro anthelmintic effect of fifteen tropical plant extracts on excysted flukes of *Fasciola*

- hepatica. *BMC Veterinary Research*. 11(45) : 5-6.
- Asmaydo, D., Hamid, I. S., Yunus, M., Kusnoto, Sukmanadi, M., Suprihati, E. 2019. The Anthelmintics Activity of Ethanol Extract of African Leaf (*Vernonia amygdalina*) on Mortality of *Fasciola gigantica* In Vitro. *Journal of Parasite Science*. 3(1) : 15-18.
- Astiti, L. G. S. dan Panjaitan, T. 2012. Mapping of Fasciolosis on Bali Cattle in Lombok. *Dipresentasikan pada International Conference on Livestock Production and Veterinary Technology*. Bogor, 1-4 Oktober 2012.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2006. *Acuan Sediaan Herbal Volume Kedua*. Edisi Pertama. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Brodin, B., Steffansen, B., Nielsen, C. U. 2009. Passive diffusion of drug substances : the concepts of flux and permeability. In Brodin, B., Steffansen, B., Nielsen, C. U. (Ed.), 2009. *Molecular Biopharmaceutics*. London : Pharmaceutical Press
- Direktorat Kesehatan Hewan. 2014. *Manual Penyakit Hewan Mamalia*. Cetakan Ke-2. Jakarta : Subdit Pengamatan Penyakit Hewan Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.
- Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional. 1992. *Usada Gede..* Jakarta : Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional Direktorat Jenderal Kebudayaan Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Fereira, J. F. S, Peaden, P., Keiser, J., 2011. In vitro trematocidal effects of crude alcoholic extracts of *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *Asimina triloba* and *Fumaria officinalis*. *Parasitology Research*. 109 : 1585-1592.
- Jayethilakan, N, Murali, K., Anandaraj, A. 2012. In vitro evaluation of anthelmintic property of ethno-veterinary plant extracts against the liver fluke *Fasciola gigantica*. *Journal of Parasitic Disease*. 36(1) : 26-30.
- Karlina, A. 2017. Prevalensi Cacing Hati (*Fasciola sp.*) Pada Sapi Bali di Kabupaten Lombok Barat. Skripsi. Universitas Mataram.
- Kristiyani, F., Aini, N., dan Wijayanti, A. D. 2019. Evaluasi Pengobatan Trematodiasis Menggunakan Albendazole pada Sapi di Kecamatan Pakem, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*. 37 (1) : 104-11.
- Lorsuwannarat, N., Piedrafita, D., Chantree, P., Sansri V., Songkoomkrong S., Bantuchai, S., Sangpaio T, K., Kueakhai, P., Changklungmoa, N., Chaichanasak, P., Chansela, P., Sobhon P. 2014. The *In Vitro* Anthelmintic Effects of Plumbagin on Newly Excysted and 4-Weeks-Old Juvenile Parasites of *Fasciola gigantica*. *Experimental Parasitology* 136: 5-13.
- Mahardika, M. M, Sudjarwo, S. A., Koesdarto, S. 2017. Anthelmintic activity of *Ocimum sanctum* Linn. Leaves Ethanol Extracts Against *Fasciola gigantica* In Vitro. In *The Veterinary Medicine International Conference 2017*, KnE Life Sciences, 266-277.
- Mas-Coma, S, Curtale., F., Desquesnes, M., Mohamed, M. Y., El Wakeel, A., Ashrafi, K., El Sayed, M., Valero, M. A., Periago, M. V., 2008. First Phenotypic Description of *Fasciola hepatica/Fasciola gigantica* Intermediate Forms from the Human Endemic Area of the Nile Delta, Egypt. *Infection, Genetics and Evolution*. 8 (1): 51-58.
- Maulana, K. G., Oka, M. B. I., Dwinata, M. I. 2015. Aktivitas Vermisidal dan Ovisidal Daun Biduri (*Calotropis spp.*) Terhadap Cacing *Fasciola gigantica* Secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 4(4): 314-320.
- Mehlhorn, H, Aksu, G., Fischer, K., Strassen, B., Ghaffar, F. A., Al-Rasheid, K. A. S., Klimpel, S., 2011, *The Efficacy of Extracts from Plants- Especially from Coconut and Onion- Against Tapeworms, Trematodes, and Nematodes* In Mehlhorn, H (Ed.), 2011. *Nature Helps : How Plants and Other Organism Contribute to Solve Health Problems*. Heidelberg : Springer.

- Mehmood, K., Zhang, H., Sabir, A. J., Abbas, R. Z, Ijaz M., Durrani, A. Z., Saleem, M. H., Rehman, M. U, Iqbal, M. K., Wang, Y., Ahmad, H. I., Abbas, T., Hussain, R., Ghorri, M. T., Ali, S., Khan, A. U., Li, J. 2017. A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. *Microbial Pathogenesis* 109: 253-262
- Nguyen, T. B. N., Van De, N., Nguyen, T. K. L., Quang, H. H., Doan, H. T. T., Agatsuma, T., Le, T. H., 2018. Distribution Status of Hybrid Types in Large Liver Flukes, *Fasciola* Species (Digenea : Fasciolidae), from Ruminants and Humans in Vietnam. *The Korean Journal of Parasitology.*, 56(5): 453-461
- Novobilsky, A. dan Höglund, J. 2015. First Report of Closantel Treatment Failure Against *Fasciola hepatica* in Cattle. *International Journal for Parasitology : Drugs and Drug Resistance.* 5 (3) : 172-177
- Patel, H. V., Patel, J. D., dan Patel, B. 2014, Comparative Efficacy of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Calotropis gigantea* and *Calotropis procera*. *International Jpurnal of Biological & Pharmaceutical Research.* 5 (2) :107-113
- Pratama, I. S., Tresnani , G., dan Maharani, B. F., 2016. Efek Antelmintik Infus Bunga Widuri (*Calotropis gigantea*). Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Matarm
- Prasetya, M. R., Koesdarto, S., Lastuti, N. D. R., Suwanti, L. T., Kusnoto, K., dan Yunus, M. 2019. Study on the Morphology of *Fasciola gigantica* and Economic Losses due to Fasciolosis in Berau, East Kalimantan. *Biosantifika* 11 (1) : 156-161
- Rana, M. A. A., Roohi, N., Khan, M. A. 2014. Fascioliasis in Cattle- A Review. *The Journal Animal & Plant Sciences* 24 (3) :668-675
- Sah. R, Khadka, S., Lakhey, P. J., Pradhan, S., Shah, N. P., Singh, Y. P., Mas-Coma, S., 2018. Human case of *Fasciola gigantica*-like infection, review of human fascioliasis reports in Nepal, and epidemiological analysis within the South Central Asia. *Acta Parasitologica*, 63 (435-443)
- Toner, E., Brennan, G. P., Wells, K., McGeown, J. G., dan Fairweather, I. 2008. Physiological and morphological effects of genistein against the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Parasitology.* 135(10) : 1189-203
- Vanda, H., Parindra, R., Hambal, M., Athaillah, F., 2020. Anthelmintic Activity of *Curcuma aeruginosa* Roxb Extract on *Fasciola gigantica* In Vitro. In *The E3S Web of Conference 2017*, 151 : 1-3
- Wariata, W., Sriasih, M., Rosyidi, A., Ali, M, Depamede S. 2019. Infeksi dan Tingkat Penyebaran Parasit Zoonosis Cacing Hati (*Fasciola sp.*) Pada Sapi Di Kabupaten Lombok Tengah dan Lombok Timur. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia.* 5(2) : 86-92