

Efektifitas Ekstrak Sambiloto Penyarian Air terhadap Isolat *Eimeria maxima* secara *In Vitro*

Ika Nindya Irianti¹, Agustina Dwi Wijayanti^{1*}, Guntari Titik Mulyani², Salsabila Rosyidatul Aisy³, Taqiyya Pikajoti Putri Yudhianto³, Ana Annida Firdaus⁴
Amirah Ratnadilla Subyanti Putri⁴, Leonita Sephira Soebagio⁴

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

³Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

⁴Program Studi Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

*Korespondensi: tina_bdy@mail.ugm.ac.id

INTISARI

Tanaman sambiloto dikenal memiliki berbagai manfaat dan mudah ditemukan. Salah satu manfaatnya yaitu sebagai insektisida dan antimikrobia. Koksidiosis merupakan suatu penyakit yang banyak menyerang unggas dan menyebabkan hambatan produksi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari ekstrak sambiloto untuk menghambat pertumbuhan *Eimeria maxima* secara *in vitro*. Daun segar sambiloto dikumpulkan dari Kediri, Jawa Timur dengan usia tanaman 1 tahun diautentikasi, dikeringkan dengan udara pada suhu kamar, dihaluskan dengan penggilingan dan diekstraksi. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kandungan dalam ekstrak sambiloto penyarian air dan efektivitasnya terhadap isolat *Eimeria maxima* secara *in vitro*. Konikel berisi 100 ookista yang belum bersporulasi dimasukkan ke dalam delapan konsentrasi ekstrak yang berbeda (0,5, 1, 5, 10, 20, 50, 75, dan 100%), kontrol positif (45 ppm narasin-nicarbazin) serta kontrol negatif (2,5% kalium dikromat/ $K_2Cr_2O_7$). Isolat diinkubasi pada suhu kamar dan diamati setelah 48 jam untuk mengetahui penghambatan sporulasi. Ookista bersporulasi dan tidak bersporulasi dihitung menggunakan uji Mcmaster. Data dianalisa menggunakan aplikasi SPSS one way ANOVA. Kandungan fitokimia ekstrak sambiloto yang terdeteksi dalam penelitian yaitu andrografolid, flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sambiloto penyarian air memiliki aktivitas antioksidial terhadap ookista *Eimeria maxima* pada konsentrasi tertentu. Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada aktivitas penghambatan sporulasi, dengan aktivitas penghambatan sporulasi tertinggi ($0 \pm 0\%$) pada konsentrasi 100% dan aktivitas terendah ($24,67 \pm 5,03\%$) pada konsentrasi 20% ekstrak setelah 48 jam inkubasi. Penghambatan sporulasi mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak sambiloto. Temuan dari penelitian ini menunjukkan ekstrak sambiloto penyarian air memiliki efek antioksidial secara *in vitro*.

Kata kunci: Ekstrak sambiloto, *Eimeria maxima*, *in vitro*

PENDAHULUAN

Tanaman sambiloto atau *Andrographis paniculata* dikenal sebagai salah satu tanaman obat yang familiar di masyarakat. Tanaman ini mudah dibudidayakan dan dikenal akan manfaatnya yang sangat kaya, antara lain sebagai anti malaria, antidiare, antidiabetes, antiinflamasi, analgesik, antimikroba, antipiretik, antitrombolitik, dan antidota gigitan ular

(Cahyawati, 2021). Sambiloto, menurut taksonomi diklasifikasikan ke dalam divisi Angiospermae dan kelas Dicotyledoneae karena memiliki biji dengan keping ganda. Tanaman ini tergolong dalam sub kelas Gamopetalae, ordo Personales, famili Acanthaceae, sub famili Acanthoidae, genus *Andrographis*, dan spesies *Andrographis paniculata* Nees (Anonim, 2000).

Infeksi *Eimeria maxima* pada ayam tingkat kematiannya cukup rendah namun terjadi penghambatan pertumbuhan yang nyata pada hewan yang terinfeksi. Kejadian infeksi *Eimeria maxima* tentu menjadi kerugian yang cukup besar di kalangan peternak. Infeksi *Eimeria maxima* secara subklinis dapat menurunkan produksi telur pada ayam petelur (Nematollahi dkk., 2009), penambahan berat badan yang kurang optimal, pengurangan efisiensi konversi pakan, dan menimbulkan kerugian secara ekonomi akibat nilai jual ayam yang rendah (Taylor dkk., 2007). Upaya pencegahan terhadap infeksi koksidiosis banyak dilakukan, salah satunya dengan program antikoksidial secara rutin. Namun, pemberian antikoksidial yang tidak tepat memiliki resiko terjadinya resistensi terhadap antikoksidia. Resiko resistensi menjadi problem utama dalam pemberian antikoksidia kemikalia (Cervantes dan McDougald, 2022; Owusu-Doubreh dkk., 2022; Zaheer dkk., 2022). Perubahan genetik (Tang dkk., 2020; Mohsin dkk., 2021), modifikasi metabolisme, permeabilitas membrane sel, dan berbagai metode lain dapat digunakan untuk mencegah terjadinya interaksi obat dan mengembangkan adanya resistensi antikoksidia (Xie dkk., 2022; Cheng dkk., 2022; Nguyen dkk., 2021).

Penelitian yang dilakukan Glorieux dkk. (2022) kepada 23 isolat dari peternakan dengan program antikoksidia rutin menunjukkan bahwa sebanyak 83% sample tidak menunjukkan adanya perbaikan yang signifikan saat dilakukan pengobatan dengan kombinasi Narasin dan Nicarbazin. Selain itu, menurut *Anticoccidial sensitivity index*, terjadi resistensi terhadap antikoksidia kombinasi Narasin dan Nicarbazin sebesar 84% sample yang digunakan.

Ekstrak tanaman sambiloto memiliki kandungan fitokimia yang bervariasi tergantung pada pelarutnya. Sambiloto yang diekstrak dengan pelarut air memiliki kandungan senyawa fitokimia yang paling lengkap jika dibandingkan pelarut lain (Umadevi dan Kamalam, 2014). Tanaman sambiloto yang diekstraksi dengan air telah diuji memiliki kandungan alkaloid yang dikenal sebagai antimalaria (De dkk., 1999). Fenol dan tanin memiliki sifat antioksidan dan saponin digunakan dalam hiperkolesterolemia, hiperglikemia, antioksidan, antikanker, antiinflamasi dan penurunan berat badan (De-Lucca dkk., 2005). Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas anti-alergi, anti-inflamasi, anti-mikroba dan anti-kanker (Oomah, 2003). Sehingga sambiloto memiliki potensi yang tinggi sebagai alternatif pengobatan yang dapat dilakukan.

Pengobatan pada hewan mulai mempertimbangkan penggunaan obat herbal, salah satu pertimbangan tersebut adalah efektivitas sambiloto dalam memerangi koksidiosis. Penelitian perlu dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak sambiloto sebagai pengobatan koksidiosis. Potensi dalam ekstrak sambiloto dapat ketahu dengan melakukan uji *in vitro* *Eimeria maxima* terhadap ekstrak sambiloto berbagai konsentrasi.

MATERI DAN METODE

Ethical clearance

Penelitian ini telah memenuhi persyaratan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada dengan nomor 051/EC-FKH/Int./2022 terkait pemenuhan kelaikan etik untuk uji *in vitro*.

Uji Fitokimia Ekstrak Sambiloto

Uji fitokimia terhadap ekstrak sambiloto penyarian air dilakukan untuk menguji kandungan total flavonoid, tannin, alkaloid, saponin, fenol dan steroid. Pengujian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada. Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu Spektrofotometer UV-vis untuk flavonoid, tannin, alkaloid, saponin, fenol dan KLT densitometri untuk pengujian total steroid. Pengujian kandungan andrografolid dilakukan Laboratorium PT dengan Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC).

Uji *In vitro* Ekstrak Sambiloto

Uji *in vitro* terhadap ekstrak sambiloto penyarian air dilakukan dengan beberapa tahap. Tahapan uji *in vitro* diawali dengan proses isolasi, identifikasi, purifikasi *Eimeria maxima*, dan diakhiri dengan pengujian secara *in vitro*.

Isolasi dan identifikasi *Eimeria maxima*

Metode McMaster sebelum perlakuan dilakukan dengan melarutkan feses terduga positif *Eimeria maximake* dalam air dengan perbandingan 1:15. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Kemudian larutan feses homogen tersebut ditetaskan *double object glass* dan ditambahkan larutan gula jenuh dengan perbandingan 1:1 (0,3 ml larutan feses dicampur dengan 0,3 ml larutan gula jenuh). Lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dan dihitung jumlah ookista yang bersporulasi. Jumlah ookista terhitung dikalikan 50 untuk mendapatkan jumlah ookista per gram feses dan digunakan untuk menentukan tingkat keparahan infeksi.

Metode isolasi, purifikasi dan produksi ookista *Eimeria maximayang* dilakukan berdasarkan metode dari Shirley (1995) dalam tulisan milik Istiani (2004) dengan modifikasi. Isolasi dan identifikasi dari morfologi *Eimeria maximadilakukan* menggunakan metode sentrifus. Metode ini dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan nekropsi terhadap ayam terdiagnosa positif infeksi koksidia. Usus dari ayam yang telah dinekropsi diambil bagian jejunum. Jejunum dilakukan pengerokan terhadap mukosa usus dan disimpan dalam tiga tabung berbeda berdasarkan bagiannya. Kerokan usus tersebut dihomogenkan dengan 28 ml aquadest steril hingga larut. Larutan tersebut dituangkan ke dalam tabung sentrifus. Proses dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Hasil sentrifugasi akan terbentuk adanya supernatant dan endapan. Supernatan dibuang dan endapan ditambahkan larutan gula jenuh lalu dihomogenkan. Proses sentrifugasi diulang kembali dengan durasi 5 menit dan kecepatan 5000rpm.Larutangula jenuh ditambahkan ke tabung tersebut hingga permukaan menjadi cembung dan diamkan selama 3-5 menit. Gelas objek ditempelkan pada mulut tabung, lalu angkat dan tutup menggunakan deck glass. Sample diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x.

Sejumlah kecil isolat ditempatkan dalam konikel kecil. Isolat disporulasikan untuk mengidentifikasi *Eimeria maxima*. Setiap hari isolat diaduk dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x10 untuk melihat perkembangan ookista hingga bersporulasi. Pengamatan ookista hingga mengalami sporulasi minimal 80% dari keseluruhan ookista.

Individu ookista yang tampak di bawah mikroskop diamati morfologinya. Pengamatan morfologi dilakukan dengan penghitungan waktu sporulasi, pengamatan bentuk ookista, pengukuran terhadap diameter panjang dan lebar ookista, dan penentuan rasio diameter panjang dan lebar ookista. Hasil pengamatan dicatat dalam tabel.

Purifikasi oosista *Eimeria maxima*

Kerokan usus yang telah positif mengandung oosista, dilakukan pemurnian menggunakan metode flotasi gula. Kerokan usus kemudian diencerkan dalam aquades dengan perbandingan 1:1. Setelah itu, sample disentrifugasi pada kecepatan 5000G selama 5 menit hingga terbentuk sedimen. Larutan gula jenuh ditambahkan ke dalam sedimen dan disentrifugasi pada kecepatan 5000G selama 5 menit. Lalu larutan gula jenuh kembali ditambahkan hingga permukaan air menjadi cembung. Letakkan deck glass di permukaan cembung dan diamkan selama 15-30 menit sebelum proses pemanenan. Ookista *Eimeria maxima* akan mengapung dipermukaan larutan gula dan menempel pada *deck glass* dipanen menggunakan pipet Pasteur, dandicuci dengan menggunakan akuades sebanyak tiga kali. Akhirnya, ookista yang dimurnikan disimpan dalam 1-2 ml kalium dikromat 2,5% dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

Penghitungan jumlah oosista *Eimeria maxima* dalam isolat

Penghitungan jumlah oosista diperoleh dengan menghitung oosista dalam 0,1 cc kalium dikromat 2% di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x ataupun 40x. Kemudian jumlah tersebut dikalikan dengan total volume dalam konikel untuk memperoleh jumlah total isolat.

Uji Hambat Koksidia *In vitro*

Uji hambat koksidia secara *in vitro* dilakukan dengan metode yang digunakan oleh Ishaq, dkk (2022) dengan modifikasi. Ekstrak sambiloto yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dengan penyarian menggunakan air. Uji hambat koksidia secara *in vitro* dilakukan dengan mengamati proses sporulasi dan daya litik terhadap *Eimeria maxima*. Pengamatan sporulasi secara mikroskopis dilakukan dengan menambahkan ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1%, dan 0,5% ke dalam media sporulasi ookista. Penghambatan sporulasi dihitung dibawah mikroskop dan dibandingkan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan. Kontrol negatif merupakan isolat *Eimeria maximatanpa* diberi perlakuan. Kontrol positif merupakan isolat *Eimeria maximayang* diberi perlakuan menggunakan koksidiostat kombinasi narasin dan nicarbazin. Perlakuan merupakan isolat *Eimeria maximayang* diberi perlakuan menggunakan ekstrak sambiloto dengan berbagai konsentrasi.

Koksidiostat kombinasi Narasin dan Nicarbazin yang digunakan dalam pengujian ini menggunakan dosis 45 ppm, sesuai dengan pernyataan dari Long, dkk (1988). Sebanyak 0,1 gr Narasin dan Nicarbazin dilarutkan dalam akuades hingga 10 ml menggunakan dua konikel

terpisah. Kemudian melalui rumusan pengenceran maka diambil sebanyak 45 ul dari masing-masing konikel dan dilarutkan kembali dalam akuades hingga 10 ml. Kedua larutan ini telah memiliki konsentrasi masing-masing 45 ppm, lalu keduanya dihomogenkan bersama dalam satu konikel lain dengan perbandingan 1:1. Hasil kombinasi ini akan digunakan sebagai kontrol positif.

Sebagai perlakuan, terlebih dahulu disiapkan ekstrak sambiloto penyarian air yang diencerkan menggunakan akuades. Pengenceran dibuat dalam beberapa konsentrasi, yaitu 100%, 75%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1%, dan 0,5%. Kemudian, hasil pengenceran diletakkan dalam wadah tertutup dan disimpan di dalam pendingin bersuhu 4°C.

Ekstrak sambiloto terlebih dahulu diencerkan menjadi larutan induk dengan konsentrasi 100%. Larutan induk ekstrak sambiloto penyarian air 100% diperoleh dengan melarutkan sebanyak 1gram ekstrak sambiloto ke dalam 10 ml akuades dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer*. Larutan induk tersebut kemudian digunakan untuk membuat larutan pengenceran dengan pengenceran yang diperlukan secara serial. Pengenceran serial dilakukan dari konsentrasi yang tinggi ke konsentrasi rendah.

Isolat *Eimeria sp* sebelum perlakuan dihitung terlebih dahulu dibawah mikroskop. Sejumlah isolat yang dibutuhkan diletakkan dalam konikel terpisah dan diberi label kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan untuk waktu pengamatan 24 jam, serta kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan untuk waktu pengamatan 48 jam. Antikoksidia kombinasi narasin-nicarbazin sebagai kontrol positif dan ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, dan 0,5% sebagai perlakuan ditambahkan ke dalam konikel. Isolat disporulasikan dan dilakukan penghitungan dibawah mikroskop pada 24 dan 48 jam berdasarkan morfologi yang tampak. Hasil dicatat dan kemudian dilakukan analisis. Jumlah *Eimeria* yang tersporulasi dan tidak tersporulasi dihitung. Presentase penghambatan sporulasi dihitung dengan menghitung jumlah ookista tersporulasi dan tidak tersporulasi dengan total 100 ookista, kemudian jumlah tersebut dimasukkan kedalam rumus berikut

$$\text{Persentase ookista tersporulasi} = \frac{\text{ookista tersporulasi}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase ookista tidak tersporulasi} = \frac{\text{ookista tidak tersporulasi}}{100} \times 100\%$$

Analisa Data

Analisa dilakukan menggunakan *one way ANOVA* dan disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi (SD) dari 3 ulangan. Nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan secara statistic.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Uji fitokimia ekstrak sambiloto

Kandungan fitokimia ekstrak sambiloto yang terdeteksi dalam penelitian yaitu andrografolid, flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, dan saponin (Tabel 1).

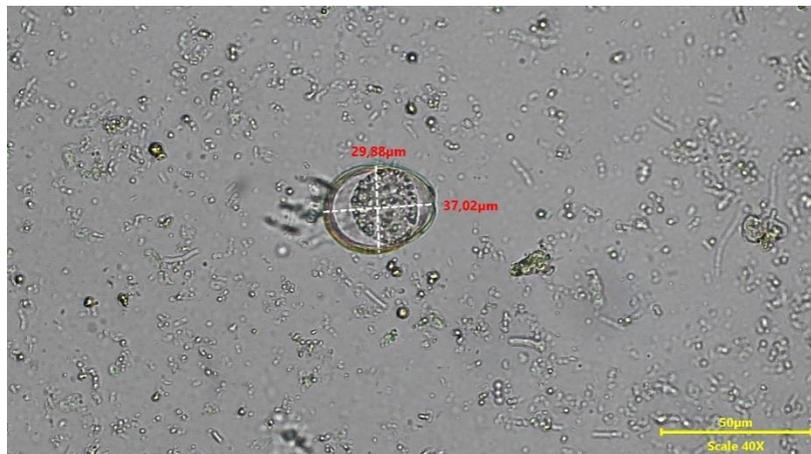
Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak sambiloto

No.	Parameter Uji	Metode	Hasil
1.	Total Flavonoid	IKU/7.2/UV-09 Spektrofotometer UV-vis	+
2.	Total Fenol Ekuivalen Asam Gallat	IKU/7.2/UV-08 Spektrofotometri UV-vis	+
3.	Tannin total ekuivalen tannic acid	Spektrofotometri UV-vis	+
4.	Total Alkaloid Ekuivalen Quinine	Spektrofotometri UV-vis	+
5.	Total Saponin from Quillaja bark	Spektrofotometri UV-vis	+
6.	Total Andragafolid	Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)	+

Keys: (+) = present; (-) = absent

Identifikasi Ookista *Eimeria maxima*

Ookista yang ditemukan pada hasil kerokan sekum dilakukan proses identifikasi berdasarkan morfologi dan pengukuran diameter ookista. Pada pemeriksaan morfologi ookista pada Gambar 1. menunjukkan bentuk ookista yang ovoid dengan ukuran diameter panjang × lebar yaitu 23,42 um × 20,86 um, rasio diameter yaitu 1,12, dengan waktu sporulasi 18 jam.



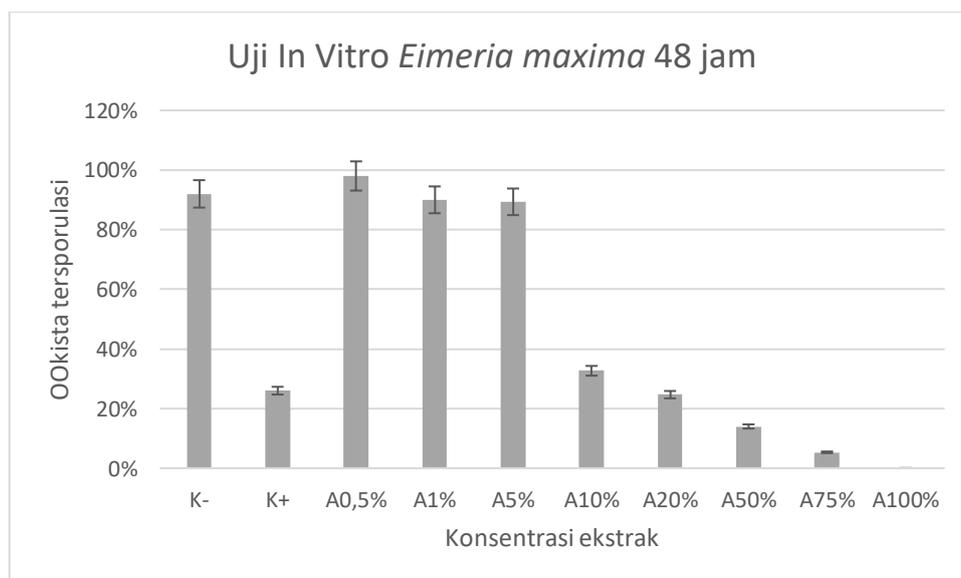
Gambar 1. Identifikasi dugaan *Eimeria maxima*. Sample yang digunakan yaitu kerokan jejunum. Memiliki ukuran 37,02 um × 29,88 um. Rasio diameter panjang:lebar yaitu 1,23. Waktu sporulasi tercatat 48 jam.

Uji in vitro pada penelitian ini dilakukan dengan mengamati aktivitas sporulasi pada pada jam ke-48 pasca pemberian ekstrak sambiloto penyarian air pada isolat. Ekstrak sambiloto penyarian air diberikan dengan variasi konsentrasi, mulai dari konsentrasi terendah 0,5% hingga konsentrasi tertinggi yaitu 100%. Hasil pengujian in vitro disajikan pada table 2.

Tabel 2. hasil pengujian in vitro *Eimeria maxima*

Isolat perlakuan	Waktu pengamatan
	sporulasi (%) 48 Jam
K-	92±2 ^e
K+	26±4 ^c
A0,5%	98±2 ^f
A1%	90±2 ^e
A5%	89.33±3.05 ^e
A10%	32.67±3.05 ^d
A20%	24.67±5.03 ^c
A50%	14±2 ^b
A75%	5.33±3.05 ^a
A100%	0±0 ^a

Keterangan: analisis menggunakan oneway ANOVA dengan p<0.05



Gambar 2. diagram tingkat penghambatan sporulasi pada waktu pengamatan 48 jam. Terjadi penurunan jumlah individu ookista yang tersporulasi seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak sambiloto yang digunakan.

Pengamatan tingkat sporulasi 48 jam menunjukkan adanya penurunan jumlah ookista yang tersporulasi dalam isolat. Penurunan ini berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi ekstrak sambiloto penyarian air yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak sambiloto yang digunakan, maka semakin rendah tingkat sporulasi ookista *Eimeria maxima* dalam isolat.

Tabel 2. menunjukkan bahwa tingkat sporulasi ookista dalam isolat kelompok A50% tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif. Kelompok perlakuan A0,5%, A1%, A5%, dan A10% memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan negatif, namun tidak lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol

positifnya. Kelompok A20% menjadi konsentrasi terendah dengan efektivitas setara kelompok kontrol positif, sehingga A20% dinyatakan sebagai konsentrasi efektif dalam menghambat laju sporulasi ookista secara *in vitro*.

PEMBAHASAN

Eimeria sp. memiliki periode prepaten minimal yaitu 115 jam dan memerlukan waktu sporulasi selama 48 jam (Levine, 1985). McDouglass (2003) menyatakan bahwa ookista *Eimeria maxima* memiliki karakteristik bentuk ookista ovoid dengan ukuran diameter panjang \times lebar yaitu 21,5-42,5 $\mu\text{m} \times$ 16,5-29,8 μm , rasio diameter yaitu 1,47. Pada identifikasi ookista yang ditemukan pada hasil kerokan jejunum menunjukkan karakteristik yang mirip dengan *Eimeria maxima*.

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak sambiloto paling efektif dengan konsentrasi 20% sebesar 24.67 ± 5.03 meskipun tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) dari kontrol positif, namun konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang memiliki kemampuan setara dengan antikoksidia kombinasi narasin dan nicarbazin. Kandungan fitokimia dalam ekstrak sambiloto memiliki peran untuk menghambat pertumbuhan *Eimeria maxima*.

Senyawa bioaktif tanaman yang paling esensial adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan senyawa fenolik (Mehmood dkk., 2015). Skrining uji fitokimia pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Malahubbandkk. (2013) bahwa ekstrak sambiloto mengandung andrografolid, flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak sambiloto penyarian air memiliki efek antikoksidial secara *In vitro* terhadap ookista *Eimeria maxima* tergantung konsentrasi yang diberikan. Hal ini sesuai dengan penelitian Cedric dkk. (2018), yang melaporkan aktivitas anticoccidial, antioksidan dan sitotoksitas ekstrak *Psidium guajava* bergantung pada konsentrasi yang diberikan terhadap empat spesies *Eimeria* yang berbeda.

Ekstrak Sambiloto penyarian air mengandung flavonoid, flavonoid memiliki kemampuan untuk menyebabkan terjadinya stress oksidatif dalam sel. Stress oksidatif diketahui menyebabkan ketidakseimbangan antara senyawa oksidan atau antioksidan dalam inang dan sering diamati pada berbagai infeksi mikroba dan parasit termasuk koksidia (Allen, 1997; Muthamilselvan, dkk. 2016). Stress oksidatif diketahui dapat memicu kerusakan di tingkat sel. Stress oksidatif menjadi dasar dari sejumlah kejadian fisiologis dan patofisiologis, serta berperan pada berbagai proses seperti inflamasi, penuaan, karsinogenesis, pertahanan terhadap protozoa, aksi dan toksisitas obat (Sies, 2000).

Kadar fenol pada ekstrak sambiloto penyarian air diketahui lebih rendah jika dibandingkan dengan penyarian ethanol (Das dkk, 2009). Beberapa penelitian telah berhasil mendokumentasikan adanya potensi penghambatan akibat adanya kandungan senyawa fenol dalam ekstrak tumbuhan (Ishaq dkk., 2022). Komponen fenol alami yang diperoleh dari tanaman bahan obat dilaporkan dapat menghambat invasi sporozoite *Eimeria sp.* secara *in vitro* (Arlette dkk., 2019).

Ekstrak sambiloto memiliki kadar tannin yang dominan. Tannin telah dibuktikan dapat menghambat sporulasi dari ookista *E. tenella*, *E. maxima*, dan *E. acervulinna*. Tannin secara aktif mampu penetrasi ke dalam dinding sel ookista dan merusak sitoplasma, serta menginaktivasi enzim endogen yang berperan dalam proses sporulasi (Molan, dkk. 2009;

Muthamilselvan, dkk. 2016). Tannin juga dapat meningkatkan aktivitas immune humoral untuk melawan infeksi koksidia pada ayam (Muthamilselvan dkk., 2016).

Alkaloid juga dapat ditemukan dalam ekstrak sambiloto. Alkaloid merupakan senyawa yang umum ditemukan pada berbagai tanaman herbal (El-Shall dkk., 2022). Alkaloid secara luas telah dikenal memiliki peran besar sebagai antioksidan dalam tubuh. Alkaloid dan fenol mampu menurunkan skor lesi pada sekum dan menurunkan jumlah ekskresi ookista pada kelompok ayam penderita koksidiosis (Dakpogan dkk., 2019).

Saponin dapat berikatan dengan molekul sterol pada permukaan membran sel ookista, sehingga dapat melisis ookista (Hassan dkk., 2008). Felici dkk., (2018) menyatakan bahwa saponin berinteraksi dengan kolesterol pada membran sel sporozoit sehingga dapat mengganggu siklus hidup dari *Eimeria maxima*.

Sebagai kesimpulan, penelitian ini mengungkapkan adanya senyawa bioaktif dalam ekstrak sambiloto penyarian air, dan hasil yang diperoleh dari pengujian In vitro mengungkapkan aktivitas antikoksidial yang baik dari ekstrak sambiloto penyarian air pada berbagai konsentrasi. Pengujian lebih lanjut yang disarankan adalah uji toksisitas, penghitungan Anti Coccidial Index (ACI), uji klinis (insectio) dan uji kemampuan penghambatan pertumbuhan pada jenis *Eimeria* lainnya.

KESIMPULAN

Ekstrak sambiloto dengan penyarian air memiliki kandungan fitokimia yang terdiri dari andrografolid, flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, dan saponin. Potensi penghambatan sporulasi ookista *Eimeria maxima* terlihat pada konsentrasi ekstrak 20%. Kandungan Andrografolid, flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, dan saponin dalam ekstrak memiliki potensi antikoksidia yang dapat di eksplorasi lebih jauh melalui penelitian yang berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, P. C. 1997. Nitric oxide production during *Eimeria tenella* infections in chickens. *Poultry Science*, vol. 76, no. 6, pp. 810– 813.
- Arlette, N.T., Nadia, N.A.C., Jeanette, Y., Gatrude, M.T., Stephanie, M.T., Josue, W.P., Mbida, M. 2019. The In vitro anticoccidial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Ageratum conyzoides* and *Vernonia amygdalina* (Asteraceae); *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(1): 38-49.
- Cahyawati, P.N. 2021. A Mini Review: Efek Farmakologi *Andrographis paniculata* (Sambiloto). *Jurnal Lingkungan dan Pembangunan*. 5(1): 19-24.
- Cedric, Y., Payne, V.K., Nadia, N.A.C., Kodjio, N., Kollins, E., Megwi, L. dan Kuate, J.R. 2018. In vitro antioxidant and anticoccidial studies of *Pentaclethra macrophylla* extracts against *Eimeria magna*, *Eimeria flavescens*, *Eimeria intestinalis*, *Eimeria stiedae* oocysts and sporozoites of rabbits. *Journal of Advance Parasitology* 5(3): 38-48.
- Cervantes HM, McDougald LR. 2022. The use of anticoccidial sensitivity tests (asts) by the poultry industry. *Avian Dis*. 66:1–5. doi: 10.1637/21-00110
- Cheng P, Wang C, Zhang L, Fei C, Liu Y, Wang M. 2022. Label-free quantitative proteomic analysis of ethanamizuril-resistant vs. -sensitive strains of *E. tenella*. *Parasit Vect*. 15:319. doi: 10.1186/s13071-022-05412-6

- Dakpogan, H. B., Gandaho, C. S., Houndonougbo, P. V., Dossa, L. H., Houndonougbo, M. F., Chrysostome, C. 2019. Anticoccidial activity of *Khaya senegalensis*, *Senna siamea* and *Chamaecrista rotundifolia* in chicken (*Gallus gallus*). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13:2121–2128.
- Das, S. Gautam, N. Dey, S.K. 2009. Oxidative stress in the brain of nicotine induced toxicity: protective role of *Andrographis paniculata* Nees and vitamin E. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 34, 124-135.
- De M, Krishna DA, Banerjee AB. 1999. Antimicrobial screening of some Indian spices. *Phytother. Res.* 1: 616-618.
- De-Lucca, A., Cleveland, T., Rajasekara, K., Boue, S., dan Brown, B. 2005. Fungal properties of CAY-1, a plant saponin, for emerging fungal pathogens. 45th Interscience Conference in Antimicrobial agents and Chemotherapy
- El-Shall, N. A., El-Hack, M.E.A., Albaqami, N. M., Khafaga, A.F., Taha, A.E., Swelum, A.A., El-Saadony, M.T., Salem, H.M., El-Tahan, A.M., AbuQamar, S.F., El-Tarabily, K.A., Elbestawy. 2022. Phytochemical control of poultry coccidiosis: a review. *Poultry Science*. 101:101542.
- Felici M, Tugnoli B, Ghiselli F, Massi P, Tosi G, Fiorentini L, Piva A & Grilli E 2020. In vitro anticoccidial activity of thymol, carvacrol, and saponins. *Poultry Science*, 99(11): 5350– 5355.
- Glorieux M, Newman LJ, Wang YT, De Herdt P, Hautekeur J, De Gussem M, Christiaens I, Verbeke J. 2022. Sustainable coccidiosis control implications based on susceptibility of European *Eimeria* field isolates to narasin + nicarbazin from farms using anticoccidial medication or coccidial vaccines. *J. Appl. Poult. Res.* 31:100263.
- Hassan, S. M., El-Gayar, A. K., Cadwell, D. J., Bailey, C. A., Cartwright, A. L. 2008. Guar meal ameliorates *Eimeria tenella* infection in broiler chicks. *Veterinary Parasitology*, vol. 157, no. 1-2, pp. 133–138.
- Ishaq, A. N., Sani, D., Abdullahi, S. A., dan Jatau, I. D. 2022. *In vitro* anticoccidial activity of ethanolic leaf extract of *Citrus aurantium* L. against *Eimeria tenella* oocysts. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 20: 37-43.
- Levine, N. D. 1985. *Veterinary Protozoology*. Ames: Iowa State University Press.
- Long, P.L., Johnson, J., dan McKenzie, E. 1988. Anticoccidial Activity of Combinations of Narasin and Nicarbazin. *Poultry Science* 67:248-252.
- Malahubban, M., Alimon, A.R., Sazili, A.Q., Fakurazi, S., dan Zakry, F.A. 2013. Phytochemical analysis of *Andrographis paniculata* and *Orthosiphon stamineus* leaf extracts for their antibacterial and antioxidant potential. *Tropical Biomedicine* 30(3): 467-480.
- McDougald, L.R. 2003. Coccidiosis. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Swayne, D.E. (Eds.), *Poultry Diseases*. Iowa State Press, Iowa, pp. 974–991.
- Mehmood, B., Dar, K.K., Ali, S., Awan, U.A., Nayyer, A.Q., Ghous, T. dan Andleeb, S. 2015. In vitro assessment of antioxidant, antibacterial and phytochemical analysis of peel of *Citrus sinensis*, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 28(1): 238-239.

- Mohsin M, Li Y, Zhang X, Wang Y, Huang Z, Yin G. 2021. Development of Crispr-Cas9 based RNA drugs against *E. tenella* infection. *Genomics*. 113:4126– 35. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.10.019
- Molan, A. L., Z. Liu, and S. De. 2009. Effect of pine bark (*Pinus radiata*) extracts on sporulation of coccidian oocysts. *Folia Parasitol*. 56:1–5.
- Muthamilselvan, T., Kuo, T.F., Wu, Y.C., Yang, W.C. 2016. Hebal Remedies for Coccidiosis Control: a Review of Plants, Compounds, and Anticoccidial Actions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2016*.
- Nematollahi, A., Moghaddam, G. H., dan Pourabad, R. F. 2009. Prevalence of *Eimeria* species among broiler chicks in Tubriz (North West of Iran). *Munis Entomology and Zoology*. 4(1): 53-58.
- Nguyen BT, Flores RA, Cammayo PLT, Kim S, Kim WH, Min W. 2021. Anticoccidial activity of berberine against *Eimeria*-infected chickens. *Korean J Parasitol*. 59:403. doi: 10.3347/kjp.2021.59.4.403.
- Owusu-Doubreh B, Appaw WO, Abe-Inge V. 2022. Antibiotic residues in poultry eggs and its implications on public health: a review. *Sci Afr*. 22:e01456. doi: 10.1016/j.sciaf.2022.e01456
- Shirley, M.W. 1995. *Maintenance in Animal Hosts : Eimeria Species and Strains of Chickens*. Biotechnology Guideline on Techniques in Coccidiosis Reserch. Brussels-Luxembourg.
- Sies, H. 2000. What is Oxidative Stress?. In: Keaney, J.F. (eds) *Oxidative Stress and Vascular Disease*. Developments in Cardiovascular Medicine, vol 224. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4649-8_1
- Tang X, Suo J, Liang L, Duan C, Hu D, Gu X. 2020. Genetic modification of the protozoan *E. tenella* using the crispr/Cas9 system. *Vet Res*. 51:1– 5. doi: 10.1186/s13567-020-00766-0.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., dan Wall, R. 2007. *Veterinary Parasitology 3rd ed*. Oxford, UK: Blackwell Publishing. 475-483.
- Umadevi U, Kamalam M. 2014. Phytochemical and Antioxidant Studies on An Important Indigenous Medicinal Plant *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees. *IJPSR*. 5(12): 5240-5244.
- Xie Y, Huang B, Xu L, Zhao Q, Zhu S, Zhao H. 2020. Comparative transcriptome analyses of drug-sensitive and drug-resistant strains of *E. tenella* by RNA-sequencing. *J Eukaryotic Microbiol*. 67:406–16. doi: 10.1111/jeu.12790.
- Zaheer T, Abbas RZ, Imran M, Abbas A, Butt A, Aslam S. 2022. Vaccines against chicken coccidiosis with particular reference to previous decade: progress, challenges, and opportunities. *Parasitol Res*. 121:2749–63. doi: 10.1007/s00436-022-07612-6.