

Pengaruh Pemberian Air Rebusan Akar Delima (*Punica granatum* L.) terhadap Mortalitas *Ascaris suum* Goesze. secara *In Vitro*

Bayu Sandika, Raharjo, Nur Ducha

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Delima merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk mengobati askariasis karena mengandung alkaloid dan tannin yang sangat tinggi terutama di bagian kulit batang dan akar. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan daya anthelmintik air rebusan akar delima berdasarkan tingkat kematian/mortalitas cacing *A. suum* Goesze. Penelitian ini dilakukan dengan cara merendam cacing pada air rebusan akar delima yang terdiri dari 4 konsentrasi berbeda, yakni 0%, 21,56%, 43,12% dan 64,68%. Penelitian ini dilakukan dalam 3 kali ulangan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), selanjutnya data yang diperoleh ditransformasi menggunakan arcsin $\sqrt{y\%}$ dan dianalisis dengan anava satu arah. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa air rebusan akar delima berpengaruh signifikan terhadap mortalitas *Ascaris suum* Goesze. setelah 48 jam pemaparan pada konsentrasi 64,68% dan ciri-ciri cacing yang mati memiliki tubuh yang lunak dan kutikula yang transparan

Kata kunci: air rebusan akar delima; tannin; alkaloid; mortalitas; *Ascaris suum* Goesze

ABSTRACT

Pomegranate is one of plants that has a potential to treat askariasis because it contains high alkaloids and tannins, especially in the bark and roots. This study aims to prove the anthelmintic power of pomegranate root decoction water based on the rate of death or the mortality of *A. suum* Goesze. The research was carried out by soaking worms in the decoction water of pomegranate root which consists of four different concentrations, namely 0%, 21.56%, 43.12% and 64.68%. The research was conducted in three replications using a completely randomized design (CRD), then the data that was obtained is transformed using arcsin $\sqrt{y\%}$ and analyzed by one-way ANOVA. From the research result, it can be concluded that the decoction water of pomegranate root affects to the mortality of *A. suum* Goesze. significantly after 48 hours exposure at a concentration of 64.68% and the characteristic of a dead worm is having a soft body and a transparent cuticle.

Key words: pomegranate root decoction water; tannin; alkaloid; mortality; *Ascaris suum* Goesze

PENDAHULUAN

Askariasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi cacing *Ascaris* sp. dalam usus, dengan prevalensi yang tinggi. Rusmartini (2009) menyebutkan bahwa pencegahan atau pengobatan askariasis ditujukan untuk memutus salah satu mata rantai dari siklus hidup *Ascaris*.

Obat anti cacing yang sekarang banyak digunakan untuk mengobati askariasis antara lain *Mebendazol*, *Albendazole*, *Pirantel pamoat*, *Levamisol hidroklorida*, Garam *piperazin* dan *Cyclobendazole* (Rusmantini, 2009) yang harganya sangat mahal dan hanya dapat dijangkau oleh kalangan tertentu saja serta masih dikhawatirkan mempunyai efek samping yang belum diketahui, sehingga perlu dicari alternatif lain untuk mengobati askariasis dengan harga murah tetapi tetap mempunyai khasiat yang ampuh dan tidak memberi efek samping pada peggunaanya.

Tumbuhan yang diketahui memiliki khasiat anthelmintik adalah *Zingiber cassumar* (bangle)

dan *Curcuma heyneana* (temu giring), menurut Setiawan dkk. (1999) dalam Istiah (2005) kedua tumbuhan ini mengandung zat aktif berupa *flavonoid* dan *saponin*. Berdasarkan penelitian Istiah (2005) menunjukkan bahwa pemberian serbuk biji mahoni memberikan efek nyata terhadap mortalitas *A. suum*. Tumbuhan yang juga telah terbukti memiliki kemampuan anthelmintik terhadap *A. suum* adalah *sambiloto* (*Andrographis paniculata*, Ness) karena mengandung androgafolid, tannin dan saponin (Budiyanti, 2010).

Tumbuhan lain yang memiliki kandungan zat aktif yang hampir sama dengan tumbuhan di atas adalah delima (*Punica granatum*). Menurut Dalimartha (2003) selain digunakan sebagai sumber antioksidan, pencegah kolesterol, dan kanker, kandungan zat aktif pada delima juga dapat digunakan untuk obat cacing.

Kandungan zat aktif pada tumbuhan delima antara lain *ellagitannin* (12%), *triterpenoid*, dan 0,5-

1% alkaloid yang terdiri dari *pelletierine*, *methylpelletierine*, dan *pseudopelletierine* yang terkandung dalam kulit batang dan akarnya (Astawan, 2009). Alkaloid *pelletierine* dapat menyebabkan paralisis (kelumpuhan) otot cacing bahkan dapat menyebabkan kematian pada dosis yang besar (Henry, 1949). Cara kerja alkaloid adalah dengan menghambat kerja enzim *asetilkoliesterase*, sedangkan *tannin* dapat mengubah permeabilitas membran dan mendenaturasi protein, sedangkan Kurniawan (2007) melaporkan bahwa ekstrak kulit akar *Punica granatum* mempunyai aktivitas anthelmintik terhadap *Ascaridia galli*.

Uji pendahuluan dilakukan dengan waktu pengamatan 24 jam dalam waktu pemaparan 96 jam menggunakan air rebusan akar delima konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, memperlihatkan bahwa air rebusan akar delima 100% menyebabkan kematian *A. suum* Goesze 100%, air rebusan akar delima konsentrasi 75% menyebabkan kematian sebesar 75%, konsentrasi 50% mengakibatkan kematian sebesar 50%, dan konsentrasi air rebusan akar delima 25% mengakibatkan kematian 43,75%.

Penelitian ini menggunakan *A. Suum* sebagai pengganti *A. lumbricoides*. Hal ini karena *A. lumbricoides* sukar ditemukan karena jarang keluar secara spontan dari tubuh penderita askariasis. *A. suum* merupakan kerabat dekat dari *A. lumbricoides* yang mempunyai kemiripan morfologi dan kesamaan cara infeksi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan cara *in vitro* yakni dengan merendam cacing pada air rebusan akar delima dalam berbagai konsentrasi antara lain 0%, 21,56%, 43,12% dan 64,68% yang diperoleh dari pengenceran air rebusan akar delima dengan NaCl fisiologis 0,9%, sedangkan cacing yang digunakan adalah cacing *A. suum* Goesze. dewasa. Cacing dewasa ditentukan dengan panjang tubuhnya, yakni 15-25 cm untuk

cacing jantan, dan 20-35 cm untuk cacing betina. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator dengan suhu 37-38 °C, mangkuk/wadah cacing volume 100 ml, gelas ukur, penggaris, dan kawat ose.

Penelitian ini dilakukan antara bulan Agustus 2011 sampai Maret 2012 di Laboratorium Fisiologi Jurusan Biologi, Gedung C10 lantai 1 FMIPA Unesa.

Metode penelitian dilakukan dengan cara *in-vitro* atau merendam cacing *A. suum* Goesze. dalam air rebusan akar delima pada konsentrasi yang telah ditentukan selama 96 jam. Penelitian ini dilakukan dalam 3 kali ulangan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pengambilan data dilakukan tiap 12 jam pengamatan. Data yang diperoleh adalah persentase mortalitas cacing, selanjutnya ditransformasi menggunakan $\arcsin \sqrt{y\%}$, setelah itu diuji distribusi datanya menggunakan Kolmogorov-Smirnov dan dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) satu arah serta uji lanjutan BNT (Beda Nyata Terkecil) jika hasilnya signifikan

HASIL

Tabel 1 menunjukkan hasil pengamatan mortalitas *A. suum* Goesze. setelah 96 jam pemaparan air rebusan akar delima. Data pengamatan berupa persentase mortalitas cacing *A. suum* Goesze. kemudian dirata-rata dari 3 pengulangan dengan standar deviasi (SD).

Tabel 2 menunjukkan hasil pengamatan mortalitas *A. suum* Goesze. pada tiap 12 jam pengamatan. Hasil pengamatan berupa rerata dari 3 pengulangan dengan standar deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 2 diketahui air rebusan akar delima berpengaruh signifikan pada pengamatan 12 jam keempat atau 48 jam pemaparan pada konsentrasi 64,68%, konsentrasi 43,12% signifikan pada waktu pemaparan 60 jam, dan konsentrasi 21,56% signifikan pada waktu pemaparan 84 jam.

Tabel 1. Persentase mortalitas *A. suum* Goesze. pada pemberian air rebusan akar delima

Replikasi	Konsentrasi Air Rebusan Akar Delima (%)			
	0	21,56	43,12	64,68
1	0	30	50	70
2	0	30	50	70
3	0	20	60	80
Rerata ± SD	0 ^a ± 0	26,67 ^b ± 5,57	53,33 ^c ± 5,57	73,33 ^d ± 5,57

Keterangan: notasi berbeda (a,b,c,d) menunjukkan persentase mortalitas yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan

Tabel 2. Persentase rerata mortalitas *A. suum* Goesze. tiap pengamatan

Konsentrasi	Pengamatan 12 jam ke- (% \pm SD)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0%	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0
21,56%	0 ^a \pm 0	3,33 ^a \pm 5,57	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	3,33 ^a \pm 5,57	6,67 ^b \pm 5,57	16,67 ^b \pm 5,57
43,12%	0 ^a \pm 0	3,33 ^a \pm 5,57	3,33 ^a \pm 5,57	0 ^a \pm 0	10 ^b \pm 0	6,67 ^b \pm 5,57	13,33 ^b \pm 5,57	16,67 ^b \pm 5,57
64,68%	0 ^a \pm 0	6,67 ^a \pm 11,55	3,33 ^a \pm 5,57	16,67 ^b \pm 5,57	13,33 ^b \pm 5,57	6,67 ^b \pm 5,57	10 ^b \pm 0	16,67 ^b \pm 5,57

Keterangan: notasi berbeda (a,b) menunjukkan persentase mortalitas yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis statistik parametrik menggunakan Analisis Varian (ANOVA) satu arah dari empat perlakuan perendaman *A. suum* Goesze. dalam larutan NaCl fisiologis 0,9%, air rebusan akar delima 21,56%, 43,12%, dan 64,68% memberikan hasil mortalitas yang signifikan setelah seluruh pengamatan selesai dilakukan, yakni setelah 96 jam pemaparan (Tabel 1). Dari analisis data dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi air rebusan akar delima, akan menyebabkan semakin tinggi mortalitas *A. suum* Goesze.

Dari analisis data hasil pengamatan tiap 12 jam, diketahui pada pengamatan pertama tidak ditemukan adanya cacing *A. suum* Goesze. yang mati. Kematian cacing *A. suum* Goesze. terjadi setelah lebih dari 12 jam pemaparan, yakni pada pengamatan 12 jam kedua atau 24 jam pemaparan. Kematian ditemukan pada seluruh konsentrasi perlakuan, masing-masing pada ulangan kedua. Akan tetapi data yang diperoleh pada pengamatan kedua ini tidak menunjukkan adanya signifikansi mortalitas cacing *A. suum* Goesze. Hal yang sama terjadi pada pengamatan 12 jam ketiga (36 jam).

Efek air rebusan akar delima berpengaruh secara signifikan terhadap mortalitas *A. suum* Goesze mulai nampak pada pengamatan 12 jam keempat (48 jam) hingga pengamatan 12 jam kedelapan (96 jam). Pada rendaman larutan NaCl fisiologis 0,9%, tidak ada cacing yang mati sampai dengan batas waktu 96 jam. Berdasarkan penelitian terdahulu, cacing *A. suum* Goesze dapat hidup diluar tubuh inangnya dengan pemberian garam fisiologis 0,9% selama 7 hari, dengan pengaturan suhu yang sesuai (Budiyanti, 2010).

Pada pengamatan 12 jam pertama, belum terdapat adanya cacing *A. suum* Goesze yang mati. Hal ini karena waktu pemaparan masih terlalu singkat sehingga belum berpengaruh pada cacing *A. suum* Goesze. Menurut Shargel & Yu (1988), obat memerlukan waktu untuk mencapai sasaran organ yang dituju dan melewati membran

sel. Selain itu faktor yang mempengaruhi lama reaksi obat atau zat aktif adalah kemampuannya dalam melewati membran sel. Shargel & Yu (1988) menambahkan, obat atau zat kimia yang larut dalam lemak lebih mudah melewati membran sel dari pada obat atau zat kimia kurang larut dalam lemak (larut dalam air). Tannin dan alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat larut dalam air maupun etanol (Henry, 1949), sehingga memerlukan waktu yang lebih lama untuk dapat melewati membran sel dan berpengaruh terhadap sel dan organ sasaran.

Dari hasil penelitian (Tabel 2) diketahui bahwa air rebusan akar delima memberikan efek terhadap mortalitas *A. suum* Goesze setelah pemaparan lebih dari 12 jam, yakni nampak pada waktu pengamatan kedua (24 jam). Namun pada pengamatan ini nilai F_{hitung} tidak signifikan. Hal ini berlanjut hingga pengamatan ketiga (36 jam) dimana hasil analisis F_{hitung} masih berada dibawah angka $F_{tabel0,05}$.

Pada penelitian ini lingkungan dibuat sehomogen mungkin, sehingga kematian *A. suum* Goesze. pada pengamatan kedua (24 jam) dan ketiga (36 jam) bukan merupakan akibat dari faktor lingkungan, melainkan akibat dari cacing itu sendiri. Mengingat penyembelihan dan pembersihan usus babi yang merupakan inang cacing dilakukan antara pukul 02.00 hingga pukul 04.30, dan pengambilan sampel cacing sendiri dilakukan sekitar pukul 05.00, sehingga cacing *A. suum* Goesze. berada di tempat terbuka tanpa media apapun dalam waktu relatif lama, yakni antara setengah hingga 3 jam. Selain itu menurut Connel dan Miller (1995) setiap individu memiliki daya adaptasi yang berbeda-beda terhadap lingkungan. Begitu juga daya adaptasi cacing terhadap zat toksik di lingkungannya, sehingga waktu yang dibutuhkan zat aktif dalam air rebusan akar delima untuk mematikan cacing berbeda-beda pada tiap individu.

Perbedaan signifikan dari data hasil penelitian didapat mulai dari pengamatan 12 jam keempat (48 jam) hingga pengamatan 12 jam

kedelapan (96 jam). Pada perlakuan A (21,56%) berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (0%) pada pengamatan 12 jam ketujuh (84 jam) dan 12 jam kedelapan (96 jam). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang terkecil memerlukan waktu paling lama untuk dapat mematikan cacing *A. suum* Goesze.. Untuk perlakuan B (43,12%) memerlukan waktu pemaparan 60 jam untuk memberikan efek mortalitas cacing *A. suum* Goesze. yang berbeda nyata dengan kontrol. Dan perlakuan C (64,68%) memerlukan waktu pemaparan yang lebih singkat untuk memerikan efek mortalitas cacing *A. suum* Goesze. yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol yakni selama 48 jam. Menurut Shargel dan Yu (1988) pengaruh suatu obat atau zat aktif tergantung dari jumlah partikel dan lamanya waktu pemaparan.

Reaksi zat aktif pada air rebusan akar delima terhadap *A. suum* Goesze memerlukan waktu yang relatif lama untuk sampai pada organ sasaran. Selain karena kelarutannya dalam air, zat aktif pada air rebusan akar delima juga harus melewati beberapa lapisan dinding *A. suum* Goesze untuk dapat masuk ke dalam tubuh cacing *A. suum* Goesze.. Lapisan tubuh *A. suum* Goesze yang paling luar adalah lapisan kutikula.

Kutikula pada *A. suum* Goesze terdiri dari tiga zona yang mengandung serabut protein, sedikit karbohidrat dan lipid (Sherman & Sherman, 1988), sedangkan menurut Kastawi, *dkk.* (2003) lapisan kutikula terdiri dari 6 lapis protein albumin. Mula-mula tannin akan merusak serabut-serabut protein pada kutikula cacing *A. suum* Goesze, baru kemudian akan masuk kedalam tubuhnya, meningat tannin merupakan zat penyamak yang sangat mudah berikatan dengan protein dan menggumpalkannya, atau dapat menyatukan protein-protein kecil yang terpisah (Harbone, 1987).

Pada pengamatan 12 jam kedua (24 jam) mulai nampak cacing yang mati dikarenakan zat aktif dalam air rebusan akar delima pada tiga konsentrasi yang digunakan. Kematian cacing *A. suum* Goesze karena air rebusan akar delima ditunjukkan dengan kondisi tubuh cacing yang lebih lunak atau lembek jika dibandingkan dengan cacing pada kelompok kontrol yang masih hidup.

Pada pengamatan-pengamatan selanjutnya cacing yang mati memiliki ciri-ciri yang sama, yakni tubuh cacing lunak atau lembek saat disentuh, warna tubuh putih pucat dan lebih transparan dari pada cacing *A. suum* Goesze perlakuan kontrol, sehingga organ dalam cacing terlihat lebih jelas. Berubahnya kutikula ini dimungkinkan akibat terdegradasinya protein

sehingga pada kutikula hanya tertinggal serabut kolagen dan lapisan keratin.

Selain pengamatan pada cacing *A. suum* Goesze yang telah mati, pengamatan terhadap cacing *A. suum* Goesze yang masih hidup pada masing-masing perlakuan juga dilakukan. Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa zat aktif *Alkaloid pelletierine* pada air rebusan akar delima membuat cacing *A. suum* Goesze yang masih hidup mengalami penurunan intensitas pergerakan dan terlihat lebih lemas dari cacing pada kelompok kontrol. Kandungan zat aktif *Alkaloid pelletierine* ini menyebabkan paralisis (kelumpuhan) otot (Henry, 1949).

Kelumpuhan otot ini disebabkan terhambatnya enzim *asetilkolinesterase* oleh alkaloid. Enzim *asetilkolinesterase* merupakan enzim yang paling penting di dalam transmisi impuls syaraf (Suhara, 2010). *Asetilkolinesterase* mengkatalisis hidrolisis *asetilkolin* (suatu senyawa *neurotransmitter*) yang berfungsi di dalam bagian sinaps yang dihasilkan oleh ujung syaraf yang telah menerima impuls, dengan terhambatnya enzim *asetilkolinesterase* maka akan berpengaruh juga terhadap aktifitas otot-otot pada cacing *A. suum* Goesze. Karena apabila *asetilkolinesterase* terhambat maka *asetilkolin* tidak dapat berdifusi ke membran pascasinaps untuk bergabung dengan suatu reseptor. Apabila *asetilkolin* tidak dapat bergabung dengan reseptor maka tidak akan terjadi depolarisasi untuk permulaan kontraksi otot. Otot dan syaraf merupakan organ kedua yang terlebih dahulu mengalami kerusakan, mengingat letaknya yang berada langsung dibawah kutikula (Sherman and Sherman, 1988).

Menurut Del Castillo *et.al.* (1963), paralisis otot oleh zat anthelmitik dapat ditunjukkan dari penurunan tingkat pergerakan cacing. Kelumpuhan otot tidak hanya berpengaruh terhadap pergerakan cacing saja, akan tetapi dalam waktu yang lama kelumpuhan otot juga akan berpengaruh terhadap pencernaan cacing. Otot-otot pada sistem pencernaan cacing akan tidak berfungsi. Akibatnya, cacing tidak lagi dapat melakukan aktifitasnya dalam mencerna makanan, karena cacing *A. suum* Goesze membutuhkan otot untuk menelan makanan setengah jadi dari inang atau menggigit mukosa dan mengisap makanan dari darah inang (Kastawi, *dkk.*, 2003). Dengan tidak berfungsinya organ pencernaan ini akan membuat cacing *A. suum* Goesze semakin lemas dan pada akhirnya mati. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan NaCl 0,9% yang merupakan cairan isotonik yang mempunyai sifat sama dengan

cairan tubuh inang, sehingga ketika cacing dimasukkan ke dalam larutan tidak mengalami terlalu banyak perubahan. Dan untuk membuat lingkungan lebih menyerupai dengan kondisi dalam tubuh inang, media berisi cacing dimasukkan dalam inkubator dengan suhu berkisar antara 37-38°C. Penelitian yang telah dilakukan ini membuktikan bahwa beberapa konsentrasi air rebusan akar delima (*Punica granatum* L.) memberikan pengaruh signifikan terhadap mortalitas *A. suum* Goetze. secara *in-vitro* berbeda nyata pada semua perlakuan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa air rebusan akar delima berpengaruh signifikan terhadap mortalitas *A. suum* Goetze. setelah 48 jam pemaparan, pada konsentrasi 64,68% dan ciri cacing yang mati memiliki tubuh yang lunak dan kutikula yang transparan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. *Pomegranate*. Web publication <http://www.wunderground.com/blog/aSigiam/comment.html?entrynum=5>. Diunduh tanggal 22 September 2011
- Alba JE, Comia MN, Oyong G, and Claveria F. 2009. *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*: A Comparison of Electrophoretic Banding Patterns of Extracts From The Reproductive Organs and Body Wall. *Veterinarski Arhiv*, 3: 281-291.
- Agoes, Ridad. 2009. Zoonosis Parasitik. Hal 412-438 dalam Natadisastra D, dan Agoes R. *Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang..* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Astawan, Made. 2009. *Obat Segala Penyakit*. Web publication <http://sari-buah-delima-merah-2.html>. Diunduh tanggal 15 September 2009.
- Budiyanti, Rani Tiyas. 2010. Efek Antihelmintik Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees) terhadap *Ascaris suum* secara *In Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Connel DW dan Miller GJ. 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Dalimartha, Setiawan. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid Ketiga. Jakarta: Puspa Swara.
- Del Castillo J, De Mello and Morales T. 1964. Influence of Some Ions on The Membrane Potential of *Ascaris* Muscle. *The Journal of General Physiology*, 8: 129-140.
- Finney DJ. 1971. *Probit Analysis*. Third Edition. London; Cambridge University Press.
- Galzerano A, Sabatini E, and Duri D. 2010. *Ascaris lumbricoides* infection: an unexpected cause of pancreatitis in a western Mediterranean country. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16: 350-351.
- Hanafiah, Kemas Ali. 2008. *Rancangan Percobaan Aplikatif*. Jakarta: PT. RajaGrafindo Persada.
- Harbone HJ. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, and William EM. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Diterjemahkan oleh Winny R. Syarief, Cucu Aisyah, Ella Elviana. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Henry TA. 1949. *The Plant Alkaloids*. Fourth Edition. Philadelphia: The Blakiston Company.
- Heyne, K. 1978. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Istiah, Hilda M. 2005. Pengaruh Suspensi Serbuk Biji *Swietenia mahagoni* Terhadap Mortalitas *Ascaris suum* L. Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- Jang-Gi, Choi *et.al.* 2008. *In Vitro* and *In Vivo* Antibacterial Activity of *Punica granatum* Peel Ethanol Extract againsts *Salmonella*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011.
- Kawaii S and Lansky EP. 2003. Differentiation-Promoting Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Fruit Extract in HL-60 Human Promyelocytic Leukemia Cells. *Journal of Medicinal Food* 7 1: 13-18.
- Kastawi Y, Indriwati SE, Ibrohim, Masjhudi, dan Rahayu SE. 2001. *Common Textbook: Zoologi Avertebrata*. Malang: JICA Universitas Negeri Malang.
- Kurniawan, Sony. 2007. Pengaruh Ekstrak Kulit Akar Delima (*Punica granatum* L.) terhadap Cacing *Ascaridia galli* secara *In-Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Lansky EP and Newman RA. 2006. *Punica granatum* (Pomegranate) and Its Potential for Prevention and Treatment of Inflammation and Cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 177-206.
- Levine ND. 1990. *Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner*. Diterjemahkan oleh Gatut Ashadi. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

- Madrigal-Carballo S, Rodriguez G, Krueger CG, Dreher M and Reed JD. 2009. Pomegranate (*Punica granatum*) Supplements: Authenticity, Antioxidant and Polyphenol composition. *Journal of Functional Food* 2009.
- Mahmudah, Tita Rif'atul. 2010. Efek Antihelmintik Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap *Ascaris suum* Goeze *In Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Natadisastra, Djaenudin. 2009. *Parasitologi Umum dalam Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*. Natadisastra D, dan Agoes R. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Noble ER, and Noble GA. 1989. *Parasitologi: Biologi Parasit Hewan*. Edisi kelima. Diterjemahkan oleh Wardianto. Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Orwa, et al. 2009. *Punica granatum* Agroforestry Database. Web publication <http://www.mdpi.com/1420-3049/14/5/1808/pdf> diunduh tanggal 6 Maret 2011
- Paolini V, Bergeaud JP, Grisez C, Prevot, F, Dorchie Ph and Hoste H. 2003. Effects of Condensed Tannins on Goats Experimentally Infected with *Haemonchus contortus*. *Journal of Veterinary Parasitology* 113: 253-261.
- Prakoso, Budi. 2007. *Kelebihan dan Kelemahan Obat Tradisional*. Web publication <http://sehatherbal.blogspot.com/2007/03/kelebihan-dan-kelemahan-obat.html> Diunduh tanggal 10 Maret 2011
- Rusmantini, Tinni. 2009. Penyakit Parasit pada Usus. Hal 69-145 dalam Natadisastra D, dan Agoes R. *Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sastrapradja S, Asy'ari M, Djajakusuma E, Kasim E, Lubis I, Lubis SHA. 1978. *Tumbuhan Obat Lembaga Biologi Nasional-LIPI*. Bogor: Proyek Sumber Daya Ekonomi Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- Shargel L, and Yu ABC. 1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*. Edisi Kedua. Diterjemahkan oleh Fasich dan Siti Sjamsiah. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sherman IG, and Sherman VG. 1988. *The Invertebrates Function and Form*. New York; MacMillan Publishing Co. Inc.
- Smith JB, and Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Soedarto. 1995. *Helmintologi Kedokteran*. Edisi Kedua. Jakarta: EGC.
- Subekti S, Koesdarto S, Kusnoto, dan Sosiawati SM. 2010. *Buku Ajar Helmintologi Veteriner*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sudjana. 1996. *Metoda Statistik*. Bandung: Tarsito.
- Suhara. 2010. *Pengantar Tentang Enzim*. Web publication <http://upi.ac.id> Diunduh tanggal 8 Desember 2011.
- Supali, Taniawati dan Margono, Sri S. 2009. Epidemiologi Soil Transmitted Helminths dalam Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran*. Edisi Keempat. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Wiryowidagdo, Sumali. 2008. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*. Edisi Kedua. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.