

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Memelihara hewan menjadi tren yang kian dilakoni oleh masyarakat Indonesia. Persentase tingkat kepemilikan hewan peliharaan mencapai 67% dari jumlah populasi masyarakat di Indonesia. Dalam hal ini tingkat kepemilikan kucing sebesar (37%) dan kepemilikan anjing sebesar (16%) (Amiruddin *et al.*, 2020). Dalam memelihara hewan peliharaan, kesehatan dan kebersihan menjadi hal yang krusial untuk menekan potensi timbul dan menyebarnya penyakit baik ke hewan lain maupun kepada pemilik. Adapun penyakit pada kucing seringkali disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, dan parasit (Natasya *et al.*, 2021).

Parasit merupakan salah satu mikroorganisme yang sering menginfeksi hewan kesayangan. Dalam hal ini, pinjal merupakan salah satu jenis ektoparasit yang seringkali menginfeksi hewan kesayangan. Adapun *Ctenocephalides felis* sendiri merupakan jenis pinjal yang tercatat seringkali menginfeksi kucing dengan mudah, dalam penelitian terdahulu yang dilakukan oleh (Bashofi *et al.*, 2015) diidentifikasi 70% dari 30 ekor sampel acak populasi kucing yang dikumpulkan terinfeksi pinjal *Ctenocephalides felis* di tubuhnya. *Ctenocephalides felis* merupakan jenis pinjal yang berpotensi untuk menjadi vektor penyebaran mikroorganisme pada inangnya. Adapun contoh penyakit yang berpotensi untuk berpatogenesis melalui pinjal *Ctenocephalides felis* adalah *haemobartonellosis* serta *rickettsia* (Satriawan dan Octaviani, 2021; Contreras *et al.*, 2019).

Infestasi *Ctenocephalides felis* pada kulit dapat kemudian menyebabkan inflamasi pada lapisan epidermis yang seringkali memicu terjadinya *alergic dermatitis* pada hewan yang terinfeksi. Penanganan dan pencegahan infeksi akibat *Ctenocephalides felis* biasanya dilakukan dengan menggunakan obat kimia sintetik melalui pemberian secara topikal maupun sistemik. Pengobatan secara topikal umumnya dilakukan dengan memberikan antibiotik, antiinflamasi, dan anti parasit (Maslim dan Batan, 2021; Praing *et al.*, 2021).

Saat ini, pemberian obat antiparasitik sintesis tercatat berpotensi untuk menciptakan akumulasi efek samping yang ditimbulkan obat-obatan sintesis, serta potensi untuk obat-obatan tersebut terjerat, baik oleh hewan yang diberi perawatan maupun hewan lain yang hidup bersama dengan hewan tersebut. Selain itu, penggunaan obat kimia sintetik cenderung memiliki harga yang relatif lebih mahal. Dampak dari obat-obatan sintetik juga dapat berupa efek samping yang langsung terakumulasi maupun efek samping yang tidak langsung terakumulasi dikarenakan sifatnya yang anorganik dan kompleks (Weka, 2019).

Oleh karena itu penggunaan bahan alam untuk pengobatan infeksi pinjal *Ctenocephalides felis* dapat dijadikan dipilihan dalam terapi/pengobatan. Alternatif dari permasalahan yang diuraikan terkait bahan obat, yaitu dengan pemanfaatan bahan berbasis organik atau herbal. Pemanfaatan obat herbal didalam bidang veteriner dapat diterapkan untuk terapeutik, profilaksis, maupun diagnostik pemeliharaan kesehatan hewan. Penggunaan obat-obatan herbal dianggap tidak memiliki efek samping atau efek samping yang ditimbulkan cenderung minim serta

bahan baku pembuatannya yang dinilai banyak tersedia, dapat diakses dengan mudah dan memiliki harga yang terjangkau (Herdiana *et al.*, 2021).

Salah satu bahan obat herbal yang banyak tumbuh dan mudah dijangkau adalah daun sirsak. Daun sirsak bersifat anti kanker, anti parasit, insektisida, anti cacing, anti bakteri dan antivirus. Terdapat banyak zat aktif berkhasiat yang terkandung di dalam daun sirsak, diantaranya *acetogenin*, *annocatalin*, *annohexocin*, *annonacin*, *annomuricin* dan sebagainya (Febrianto, 2018).

Pada riset (Lesmana, 2017) menunjukkan ekstrak daun sirsak dapat menimbulkan kematian terhadap pinjal sapi. Atas dasar latar belakang yang telah disebutkan sebelumnya, ekstrak daun sirsak diyakini dapat dengan efektif membasmi *Ctenocephalides felis* yang memiliki ukuran tubuh lebih kecil dan struktur tubuh yang lebih lunak. Oleh karena itu, untuk pertama kalinya dilakukan riset untuk menemukan substitusi pengobatan beserta formulasi yang tepat untuk membunuh pinjal *Ctenocephalides felis* menggunakan ekstrak daun sirsak.

1.2 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan Penelitian

1. Menentukan kemampuan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam membunuh *Ctenocephalides felis* pada kucing domestik
2. Menentukan konsentrasi efektif untuk membunuh *Ctenocephalides felis* pada kucing domestik

1.2.2 Manfaat Penelitian

Riset ini diharapkan dapat menciptakan inovasi dalam terapi preventif serta kuratif yang disebabkan oleh *Ctenocephalides felis* pada hewan kesayangan yang lebih mudah untuk dijangkau oleh semua kalangan serta minim efek samping dibandingkan terapi yang sebelumnya dilakukan.

1.3 Kajian Pustaka

1.3.1 Kucing

Kucing merupakan salah satu hewan berbulu yang juga merupakan hasil domestikasi dari *miacis* yang juga merupakan nenek moyang dari anjing dan beruang. *Miacis* ini kemudian mengalami evolusi menjadi kucing besar seperti singa dan harimau yang kemudian berevolusi menjadi nenek moyang kucing *domestic*. Nenek moyang kucing *domestic* pertama kali ditemukan berdasarkan hasil fosil murni kucing yang di temukan di Mesir (Ngitung, 2021). Kucing *domestic* merupakan jenis kucing yang banyak dijumpai di lingkungan permukiman penduduk dan tempat-tempat umum seperti pasar, rumah makan, dan tempat lain. Kucing jenis ini masih sering ditemukan sebagai hewan peliharaan. Jika kebersihan kucing kurang diperhatikan akan banyak dijumpai pinjal pada tubuh kucing (Lestari *et al.*, 2020).

1.3.2 *Ctenocephalides felis*

1.3.2.1 Morfologi *Ctenocephalides felis*

Pinjal *Ctenocephalides felis* merupakan jenis ektoparasit yang populasinya tersebar di seluruh dunia. *Ctenocephalides felis* berpotensi untuk menjadi vektor penyebaran penyakit apabila dibiarkan menginfestasi. Jenis penyakit yang umumnya disebabkan oleh *Ctenocephalides felis* adalah *haemobartonellosis* serta

Rickettsia. Dimana *haemobartonellosis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Haemobartonella felis* atau *Mycoplasma haemofelis*, dan bersifat menyerang sel darah merah, sedangkan *Rickettsia* merupakan jenis penyakit yang disebabkan oleh *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. parkeri* dan berbagai spesies bakteri *Rickettsia* lainnya. Salah satu jenis dari spesies *Rickettsia*, yakni *Rickettsia anaplasmae* menginfeksi dengan menyerang sel hematopoietik pada hewan yang terinfeksi, kondisi tersebut kemudian mengganggu proses pembentukan sel-sel darah pada hewan inang, sehingga tanda klinis yang umum ditemukan adalah *trombositopenia* serta abnormalitas platelet darah (Allison dan Susan, 2013). Kejadian infeksi tersebut disebabkan karena kemampuan alami dari *Ctenocephalides felis* sebagai vektor *intermediate* dari *Haemobartonella felis*, *Mycoplasma haemofelis* maupun jenis-jenis spesies bakteri *Rickettsia* (Satriawan dan Devi, 2021).

1.3.2.2 Taksomi dan Morfologi *Ctenocephalides felis*

Menurut Kramer dan Mencker (2001), taksonomi dari *Ctenocephalides felis*, ialah:

Filum : Arthropoda
Subfilum : Tracheata
Class : Insecta
Ordo : Siphonapterida
Familia : Pulicidae
Genus : *Ctenocephalides*
Species : *C. felis*

Adapun untuk morfologi tubuh dari *Ctenocephalides felis* ialah :

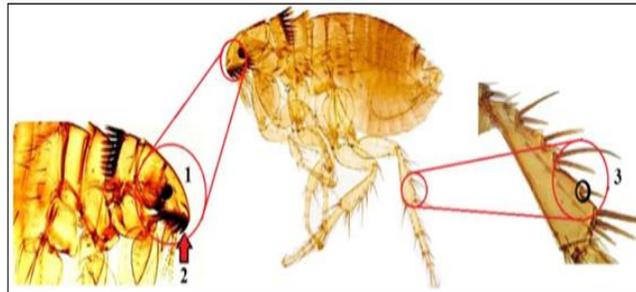


Gambar 1. Morfologi tubuh *Ctenocephalides felis* (Kramer dan Mencker, 2001)

Source : Kramer Friederike dan Norbert Mencke. 2001. *Flea Biology and Control*. New York : Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Ctenocephalides felis memiliki morfologi tubuh yang terdiri dari tiga bagian utama: kepala, sisir genal, dan kaki. Kepalanya berbentuk agak memanjang dengan sepasang antena pendek dan mulut tipe penusuk-pengisap yang digunakan untuk menghisap darah inangnya. Salah satu ciri khasnya adalah adanya sisir genal, yaitu deretan duri seperti sisir di bagian depan kepala yang berfungsi membantu perlekatan pada bulu inang serta membedakannya dari spesies kutu lainnya. Selain itu, *Ctenocephalides felis* memiliki tiga pasang kaki panjang yang kuat, terutama kaki belakang yang berkembang dengan baik dan memungkinkan kutu ini untuk melompat jauh, sehingga memudahkan pergerakan

dari satu inang ke inang lainnya. Kaki-kaki ini dilengkapi dengan rambut-rambut halus atau seta yang berfungsi untuk meningkatkan daya cengkeram pada bulu inang serta membantu kutu dalam merasakan getaran atau perubahan lingkungan di sekitarnya. Struktur ini memungkinkan *Ctenocephalides felis* untuk bergerak dengan lincah di antara rambut atau bulu inangnya serta bertahan lebih baik saat melekat pada tubuh inang meskipun inang bergerak atau menggaruk.

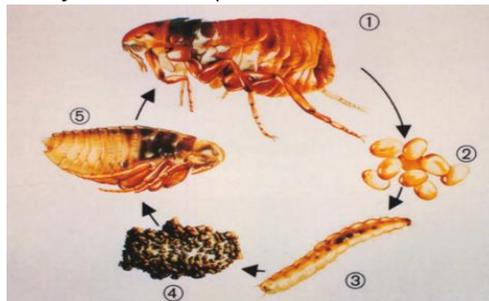


Gambar 2. Morfologi tubuh *Ctenocephalides felis*. 1) Bagian Kepala, 2) Sisir genal, 3) Kaki dengan bulu atau seta (Azarm *et al.*, 2016)

Source : Azarm Amrollah, Abdolhossin Dalimi, Mahdi Mohebali, Anita Mohammadiha and Zabihollah Zarei. 2016. Morphological and molecular characterization of *Ctenocephalides* spp isolated from dogs in north of Iran. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(4): 713-717

1.3.2.3 Siklus Hidup *Ctenocephalides felis*

Pinjal berkembang melalui beberapa tahap, dimulai dari telur, diikuti oleh larva, kepompong, dan akhirnya tahap dewasa. Siklus hidup pinjal adalah salah satu metamorfosis sempurna. Siklus hidup ini dapat diselesaikan dalam waktu 14 hari atau diperpanjang hingga 140 hari, terutama tergantung pada suhu dan kelembaban. Siklus hidup sebagian besar spesies pinjal ditandai dengan tiga peristiwa: penetasan telur, periode dari instar pertama hingga menjadi pupa, dan periode dari pupa hingga menjadi dewasa (Kramer dan Mencker, 2001).



Gambar 3. Siklus hidup *Ctenocephalides* secara umum (Kramer dan Mencker, 2001)

Source : Kramer Friederike dan Norbert Mencke. 2001. *Flea Biology and Control*. New York : Springer-Verlag Berlin Heidelberg

1.3.2.4 Prevalensi *Ctenocephalides felis*

Pada umumnya, kucing banyak terinfeksi *Ctenocephalides felis* dan juga *Ctenocephalides canis* (Levine, 1990). Menurut Susanti (2001), kucing liar yang berada di Bogor sebanyak 100% jenis pinjal yang ditemukan ialah *C. felis*. Hal tersebut sesuai dengan teori yang disampaikan oleh Wall & Shearer (2001) bahwa jenis pinjal yang paling umum di temukan pada karnivora di seluruh dunia ialah *C. felis*. Menurut Bashofi *et al.* (2015), tingkat prevalensi pinjal sangat tinggi tetapi dari segi infestasinya sebagian besar ringan. Tingkat prevalensi yang tinggi bisa disebabkan oleh kondisi lingkungan yang bisa mendukung perkembangan pinjal, dimana pinjal dapat bertahan hidup dan berkembang di suhu 13°C hingga 35°C dengan tingkat kelembaban nisbi 50% sampai dengan 92%

1.3.3 Daun Sirsak

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman yang mempunyai warna daun dari hijau muda hingga hijau tua. Buah sirsak terdiri atas 67,5 % daging buah yang dapat dinikmati, 20 % kulit, 8,5 % biji, dan 4 % empulur. Tanaman sirsak memiliki biji yang bersifat racun dan dapat dimanfaatkan sebagai insektisida alami, sedangkan daun sirsak dapat bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menginduksi apoptosis, analgetik, anti disentri, anti asma, *antihelmitic*, dilatasi pembuluh darah, menstimulasi pencernaan, dan mengurangi depresi. Analisis fitokimia ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan bahwa daun sirsak mengandung steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin (Wiradharma, 2021). Selain itu, daun sirsak juga banyak mengandung zat aktif yang berkhasiat, diantaranya *acetogenin*, *annocatalin*, *annohexocin*, *annonacin*, *annomuricin* dan sebagainya. Dimana zat *acetogenin* pada ekstrak daun sirsak ditemukan memiliki potensi antiparasitik (Febrianto, 2018).

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) adalah daun dari tanaman golongan *annonaceae* yang dari penelitian sebelumnya diketahui memiliki kandungan berbagai zat seperti *annonaceus acetogenin*, N-p *coumaroyl tyramine* dan N-*fatty acid triptamin*. Efek antiparasit dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) ini kemungkinan besar diakibatkan oleh kandungan zat aktif *Annonaceous acetogenin*. Mekanisme kerja dari senyawa golongan *Annonaceous acetogenin* ini adalah melalui proses inhibisi respirasi (spesifik pada kompleks NADH *ubiquinon oxidoreductase*). Proses inhibisi mengakibatkan terganggunya transfer elektron dari NADH menuju *ubiquinone* sehingga mengganggu proses respirasi seluler pada mitokondria secara keseluruhan. Akibat terganggunya proses respirasi ini maka proses pembentukan ATP tidak akan berjalan dengan benar sehingga organisme tidak akan bisa memperoleh energi yang cukup memenuhi kebutuhan metabolismenya, dengan tidak terpenuhinya kebutuhan metabolisme akan menyebabkan kematian pada ektoparasit.

Selain memiliki potensi sebagai inhibitor respirasi, senyawa golongan *Annonaceous acetogenin* yang bersifat racun kontak ektoparasit. Kematian pada ektoparasit disebabkan oleh senyawa bioaktif yang terkandung pada daun sirsak oleh zat kimia tertentu yang menstimulasi kemoreseptor yang kemudian dilanjutkan pada sistem saraf pusat. Adapun cara masuknya bahan aktif ekstrak daun sirsak kedalam tubuh organisme pengganggu melalui dinding tubuh, saluran pernafasan dan alat pencernaan. Dinding tubuh merupakan bagian yang dapat menyerap bahan aktif seperti acetogenin dalam jumlah besar. Dinding tubuh ini memiliki lapisan membran dasar yang bersifat semipermeabel sehingga dapat memilih jenis senyawa yang dapat melewatinya. Saluran pernafasannya disebut trakea. Udara dan oksigen memasuki trakea secara difusi dibantu dengan pergerakan abdomen. Oksigen akan langsung berhubungan dengan jaringan.

Selain senyawa acetogenin, ada pula beberapa senyawa yang disinyalir memiliki kemampuan sebagai *antiparasitic*, diantaranya yaitu flavonoid dan ada pula saponin. Flavonoid merupakan senyawa 15 atom karbon yang berperan sebagai pigmen tumbuhan. Fungsi flavonoid adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efek vitamin C, sebagai antiparasit dan memiliki sifat antiinflamasi dan antibiotik. Saponin adalah glikosida triterpenoid dan sterol. Saponin berasal dari kata Latin "sapo," yang berarti sabun. Nama saponin berasal dari sifatnya yang seperti sabun. Saponin sangat berguna dalam bidang farmasi dan medis, karena tidak hanya digunakan sebagai pengawet, tetapi juga sebagai antibakteri, antijamur, insektisida, antiinflamasi, dan antikanker (Putri *et al.*, 2024).

1.3.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan zat pelarut (Mukhriani, 2014). Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran. Ekstraksi berlangsung secara sistematis pada suhu tertentu dengan menggunakan pelarut (Supaya, 2019). Tujuan dilakukannya ekstraksi yaitu untuk menarik semua zat aktif maupun komponen yang ada pada simplisia (Munaeni *et al.*, 2022). Adapun faktor-faktor yang dapat memengaruhi proses ekstraksi adalah pelarut yang digunakan, waktu ekstraksi, suhu, ukuran partikel, dan pengadukan (Anwar *et al.*, 2021).

Pemilihan metode ekstraksi disesuaikan dengan adanya senyawa yang terkandung didalamnya. Dalam hal ini digunakan maserasi dengan pelarut yang sesuai, yakni yang memenuhi kriteria yang ditetapkan. Dalam proses ekstraksi efektifitas penarikan senyawa aktif bergantung dari pelarut yang digunakan. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut antara lain toksisitas, kemudahan untuk diuapkan, selektivitas, kepolaran, dan harga pelarut.

Salah satu contoh teknik ekstraksi adalah maserasi yang merupakan metode ekstraksi dingin karena pengerjaannya tidak membutuhkan suhu tinggi. Maserasi adalah proses penyaringan simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar (Purnamasari, 2021).

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Riset dilaksanakan secara eksperimental pada bulan Agustus sampai dengan selesai di Laboratorium Terintegrasi Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.

2.2 Materi Penelitian

2.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dimulai dari pembuatan ekstrak hingga pengoleksian sampel adalah toples kaca, elenmeyer 1000 mL (Pyrex®), corong kaca (Pyrex®), batang pengaduk, *vacuum rotary evaporator*, timbangan digital, cawan porselen, gelas ukur 100 mL (Pyrex®), gelas beker 500 mL dan 250 mL (Pyrex®), pipet tetes, cawan petri (Pyrex®), pinset (Renz®), kertas saring, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, pentul, botol coklat, cawan porselen 100 mL, toples kaca, *spoit* 1cc dan *stopwatch*.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun sirsak, *C. felis*, *water one*, *plastic wrap*, NaCl 0.9%, DMSO 10%, etanol 70%.

2.3 Variabel Riset

1. Variabel bebas berupa jumlah ekstrak yang dihasilkan dan konsentrasi ekstrak daun sirsak
2. Variabel kontrol berupa pelarut NaCl 0.9%, *selamectine*, dan ekstrak daun sirsak yang dibagi menjadi dua konsentrasi. Jenis pinjal yang digunakan yaitu *Ctenocephalides felis*
3. Variabel terikat berupa jumlah kematian pinjal *Ctenocephalides felis* dan waktu kematian *Ctenocephalides felis*

2.4 Sampel Penelitian

Sampel merupakan wakil populasi yang akan diteliti. Data yang valid dapat diperoleh setelah melakukan pengulangan sesuai rumus Federer:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok (perlakuan)

Terdapat 4 perlakuan dalam penelitian ini, yang mana terdiri atas 3 perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun sirsak dan kelompok kontrol. Bila dihitung menggunakan rumus di atas, maka penentuan jumlah sampel tiap perlakuan yaitu:

$$(t - 1) \times (n - 1) \geq 15$$

$$(4 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$3(n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n = 18$$

$$3n = 18$$

$$n = 6$$

Berdasarkan perhitungan, maka jumlah sampel per perlakuan minimal 6. Demi menjaga reliabilitas penelitian, dilakukan replikasi sebanyak 3 kali sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan yaitu:

$$6 (\text{sampel per perlakuan}) \times 4 (\text{jumlah perlakuan}) \times 3 (\text{jumlah replikasi}) = 72$$

2.5 Prosedur Riset

2.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Bubuk simplisia daun sirsak dimaserasi dengan cara dimasukkan ke dalam wadah kaca berwarna gelap kemudian diberi pelarut etanol 70% sampai serbuk simplisia terendam, larutan kemudian dibiarkan selama 5 hari sambil sekali-kali diaduk. Kemudian maserat dipisahkan dan ampas sisa maserasi dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode yang sama selama kurun waktu 2 hari, maserat kemudian dipisahkan. Semua maserat yang diperoleh kemudian digabungkan, dan diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu ± 40 derajat celcius untuk memperoleh ekstrak kental (Surbakti dan Nadiya, 2018).

Dalam riset ini, dilakukan pembuatan larutan suspensi dengan volume 10 mL menggunakan bahan pengencer berupa DMSO 10%. Dimetil Sulfoksida (DMSO) merupakan senyawa organosulfur yang mampu melarutkan senyawa polar maupun nonpolar serta tidak bersifat toksik sehingga tidak akan mengganggu pengamatan (Pratiwi, 2008). Pengenceran bertujuan untuk mendapatkan 2 ragam konsentrasi ekstrak yakni konsentrasi 10% dan konsentrasi 30%. Adapun penggunaan konsentrasi 30% didasarkan atas penelitian sebelumnya yang juga menggunakan konsentrasi dengan kelipatan 10%.

2.5.2 Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel pinjal diambil secara acak di Kampus Universitas Hasanuddin Tamalanrea dan daerah Bumi Tamalanrea Permai. Pinjal yang dikoleksi disimpan di cawan petri berisi NaCl 0,9% setelah dibersihkan dari kotoran dengan NaCl 0,9%

di cawan petri berbeda. Cawan sampel ditutup kemudian dibawa ke Laboratorium Terintegrasi Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk diidentifikasi menggunakan mikroskop guna memastikan pinjal yang dikoleksi adalah benar sesuai dengan morfologi *Ctenocephalides felis* pada tinjauan pustaka.

2.5.3 Uji *In Vitro*

Uji efektivitas ekstrak daun sirsak dilakukan dengan memasukkan sampel *Ctenocephalides felis* kedalam ekstrak daun sirsak. Pada uji perlakuan, kelompok perlakuan dibagi menjadi 4. Perlakuan pemberian suspensi ekstrak daun sirsak dilakukan satu tetes tiap kelompok dan pengamatan akan *Ctenocephalides felis* dilakukan tiap kurun waktu 1 jam sekali. Periode pengamatan akan jumlah kematian kemudian dibagi menjadi 6 periode pengamatan yang dimana aktivitas pinjal akan terus diamati secara berkala tiap 1 jam hingga jam ke 6.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Uji *In Vitro* Ekstrak Daun Sirsak

No.	Kelompok	Perlakuan
1	KP-	Kontrol negatif dengan tidak diberikan perlakuan apapun
2	KP+	Kontrol positif dengan pemberian obat tetes kutu <i>selamectin</i> dengan merk dagang " <i>Revolution</i> " yang mengandung 60mg/ml <i>selamectin</i>
3	KP 1	Diberikan ekstrak daun sirsak 10 %
4	KP 2	Diberikan ekstrak daun sirsak 30 %

2.5.4 Uji Konfirmasi Kematian Pinjal *Ctenocephalides felis*

Uji ini berfungsi sebagai parameter efektivitas dari ekstrak daun sirsak terhadap mortalitas pinjal *Ctenocephalides felis*. Tolak ukur kematian yang digunakan adalah tidak adanya pergerakan dari *Ctenocephalides felis* selama lima menit secara konstan dan ketika diusik menggunakan jarum pentul tetap tidak menunjukkan reaksi.

Untuk mengetahui apakah *Ctenocephalides felis* telah mati setelah terpapar obat antiparasit, beberapa metode dapat digunakan. Salah satunya adalah dengan mengamati perilaku pinjal setelah diberi perlakuan obat, seperti tidak adanya pergerakan atau respon terhadap rangsangan. Pinjal yang mati biasanya tidak menunjukkan aktivitas atau gerakan apapun, bahkan jika diberi rangsangan fisik ringan. Metode lain adalah dengan memeriksa kondisi fisik pinjal menggunakan mikroskop: pinjal yang mati akan menunjukkan tanda-tanda perubahan fisik seperti tubuh yang kaku, perubahan warna, atau pembengkakan, serta tidak ada gerakan pada bagian tubuhnya. Selain itu, teknik seperti tes mortalitas yang melibatkan pemantauan waktu kematian pinjal setelah diberi dosis obat tertentu dapat digunakan untuk mengonfirmasi efektivitas antiparasit. Teknik analisis kimiawi juga bisa diterapkan untuk memeriksa perubahan dalam struktur tubuh pinjal yang menunjukkan kematian setelah paparan obat antiparasit (Herliana *et al.*, 2024)

2.5.5 Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versi 25.0 dengan rumus *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc duncan* untuk melihat ada atau tidak adanya perbedaan yang signifikan nilai rata-rata dari tiap perlakuan.