

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Itik merupakan salah satu spesies burung dalam family Anatidae. Itik adalah salah satu komoditas ternak unggas yang memiliki potensi untuk memenuhi kebutuhan sumber protein pada makanan manusia. Usaha ternak itik merupakan salah satu alternatif sumber pendapatan yang saat ini semakin banyak diminati oleh masyarakat di Indonesia, baik di pedesaan maupun di perkotaan (Cahyani et al., 2021). Itik Mojosari merupakan itik lokal yang berasal dari Desa Modopuro, Kecamatan Mojosari, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur yang memiliki tingkat produktivitas cukup tinggi. Itik telah menjadi salah satu pilihan usaha penyedia telur dan daging sehingga dapat dijadikan ternak andalan (Mulyati, 2021). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2021 menunjukkan bahwa populasi itik atau itik di Indonesia mencapai 56.569.983 ekor dan telah meningkat menjadi sebanyak 56.728.470 ekor pada tahun 2022. Hal ini menjadi peluang usaha tersendiri untuk masyarakat dalam menjalankan usaha ternak itik. Dalam memelihara ternak unggas seperti itik, tentu perlu diperhatikan aspek kesehatannya agar terhindar dari penyakit. Salah satu penyakit yang dapat menyerang itik adalah infestasi endoparasit, khususnya *helminthiasis* atau kasus kecacingan.

Ascaridia galli merupakan cacing nematoda yang menyebabkan penyakit *Ascariasis* pada itik. *Ascaridia galli* biasanya ditemukan pada itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*). Itik memiliki ketahanan terhadap infeksi, namun itik dapat berperan sebagai inang akhir untuk infestasi cacing nematoda termasuk *A. galli*. Itik mengonsumsi berbagai organisme air seperti siput, ikan, dan cacing tanah sebagai bertindak sebagai inang perantara dan menyebarkan penyakit parasit (Dalal et al., 2021). Prevalensi kasus *ascariasis* pada berbagai jenis itik di Indonesia menunjukkan variasi yang cukup beragam tergantung pada lokasi dan kondisi geografisnya. Berdasarkan penelitian Zaharah et al. (2016), pada itik manila di Pasar Flamboyan, Pontianak, prevalensi *A. galli* tercatat sebesar 2,22%. Dalam penelitian Anggrahini et al. (2025), prevalensi keseluruhan pada itik lokal di wilayah Yogyakarta ditemukan sebesar 1,49%, dengan rincian 1,51% di daerah pantai dan 2,85% di dataran rendah. Menurut Permatasari et al. (2020), angka yang lebih tinggi ditemukan pada itik Jawa di Jawa Timur yakni prevalensinya mencapai 11,7% di dataran rendah (Sidoarjo) dan meningkat menjadi 17,3% di dataran tinggi (Blitar). Berdasarkan penelitian Lievi Amanda dan Susanti (2021), pada itik petelur di peternakan intensif di Jawa Tengah melaporkan prevalensi sebesar 4%.

Perbedaan tingkat prevalensi ini sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembaban yang mendukung perkembangan telur cacing, serta manajemen pemeliharaan dan sanitasi kandang yang diterapkan oleh peternak. Pola pemeliharaan itik secara intensif dan terbuka, keberadaan yang dekat dengan kolam dan genangan air serta sumber nutrisi dari lingkungan sekitar yang terpapar parasit. Kondisi ini menjadi penyebab itik dapat terpapar oleh telur, larva, inang perantara dan vektor banyak parasit dalam feses yang mencemari tanah dan air, yang mungkin

berakhir dengan kematian sehingga prevalensi infeksi cacing gelang, seperti *A. galli*, semakin meningkat (Lahaibi et al., 2021). Penurunan berat badan pada itik dapat terjadi akibat *ascariasis* yang menyebabkan berkurangnya efisiensi penyerapan nutrisi di saluran pencernaan. Selain itu, cacing dewasa dapat bermigrasi menuju oviduk melalui kloaka atau akibat penetrasi dinding usus, sehingga memengaruhi proses pembentukan cangkang telur. Kondisi tersebut menyebabkan cangkang telur menjadi tipis dan lunak, yang pada akhirnya berdampak pada penurunan produksi telur (Hambal et al., 2019). Perlu upaya untuk mencegah dan mengendalikan perkembangan cacing terutama pada pencernaan itik. Pemberian obat cacing pada itik diharapkan dapat mengendalikan dan mengobati infeksi cacing pada itik.

Antelmintik (obat cacing) yang memiliki efektivitas sebagai pengobatan terapeutik terhadap infeksi alami dengan gastrointestinal terhadap cacing nematoda pada unggas dilakukan menggunakan obat *albendazole*, fenbendazole, *piperazine*, dan ivermectin. Setiap obat efektif terhadap cacing tertentu (Islam et al., 2012). Salah satu kekurangan *albendazole* adalah obat ini tidak disetujui oleh FDA (*Food and Drug Administration*) karena penelitian tentang konsentrasi residu obat *albendazole* di telur pada unggas petelur masih terbatas (PoultryDVM, 2024). European Medicines Agency (EMA) tahun 2018 mengonfirmasi keamanan Panacur® AquaSol (fenbendazole) pada berbagai unggas aman terutama untuk unggas baik pedaging maupun petelur dan menetapkan batas residu maksimum (MRL) dalam telur, yang menunjukkan keamanan untuk konsumsi manusia setelah masa henti obat (*withdrawal period*) terpenuhi. Sehingga penelitian ini menggunakan alternatif lain dari golongan benzimidazole, yakni obat fenbendazole karena efektivitasnya dalam mengatasi berbagai nematoda seperti *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, dan *Capillaria spp.*, serta profil keamanannya yang telah diakui secara internasional bagi unggas petelur dan konsumen manusia (Schefferlie dan Hey, 2018).

Fenbendazole merupakan salah satu golongan obat benzimidazole. Fenbendazole memiliki tingkat residu dalam telur tertinggi pada hari pertama setelah hari terakhir pengobatan, dan menurun dengan cepat setelahnya (PoultryDVM, 2024). Pada penelitian Islam et al. (2012), fenbendazole menunjukkan tingkat efikasi 100% terhadap semua cacing nematoda pada itik yang dipulihkan kecuali *Capillaria sp.* Obat tersebut memberikan perlindungan 67% hingga 21 hari. Obat ini memiliki kemanjuran 100% pada *Heterakis sp.* melalui uji EPG (*Egg Per Gram*) secara *in vivo*. Dalam temuan Tenorio (2024), mengenai penurunan efikasi dan potensi resistensi pada *A. galli* memberikan dasar yang kuat untuk melakukan evaluasi aktivitas antelmintik fenbendazole pada itik Mojosari untuk memastikan apakah dosis yang sama masih efektif pada spesies itik tersebut atau apakah sudah terjadi penurunan sensitivitas yang serupa dengan yang ditemukan pada populasi unggas lainnya.

Penelitian mengenai evaluasi aktivitas anthelmintik fenbendazole secara *in vitro* terhadap *A. galli* pada itik masih relatif terbatas, khususnya terhadap waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas. Kajian mengenai respons biologis langsung *A. galli* terhadap fenbendazole pada isolat itik lokal juga masih jarang dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk memberikan data ilmiah mengenai aktivitas antelmintik fenbendazole secara *in vitro*, yang dapat mendukung

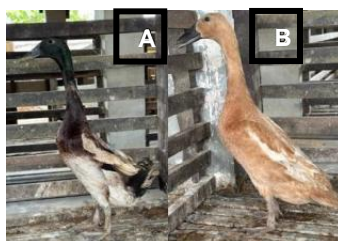
penggunaannya dalam pengendalian *ascariasis* serta sebagai kontrol positif dalam pengujian aktivitas anthelmintik pada itik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, hipotesis penelitian ini adalah bahwa pemberian fenbendazole menunjukkan aktivitas anthelmintik yang signifikan dan cenderung meningkat seiring peningkatan konsentrasi, yang ditandai dengan perbedaan waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas cacing *A. galli* yang dikoleksi dari saluran gastrointestinal itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*) secara *in vitro*. Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana aktivitas anthelmintik fenbendazole serta pola respons cacing terhadap berbagai konsentrasi perlakuan berdasarkan parameter waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas secara *in vitro*?

1.2 Teori

1.2.1 Itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*) merupakan itik lokal unggul Indonesia yang berasal dari Desa Modopuro, Kecamatan Mojosari, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur (Mulyati, 2022). Itik Mojosari dikenal sebagai itik tipe petelur yang potensial untuk dikembangkan baik secara komersial maupun intensif karena memiliki daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan serta performa produksi yang relatif stabil (Andreswari et al., 2024). Itik Mojosari mulai bertelur pada umur 6–7 bulan, namun produksi telur yang stabil umumnya baru dicapai setelah umur lebih dari 7 bulan. Secara morfologi, itik Mojosari memiliki bentuk tubuh menyerupai botol dan berdiri tegak, mirip dengan itik tipe *Indian Runner* namun dengan ukuran tubuh relatif lebih kecil dengan umumnya memiliki warna bulu yang kemerahan dengan variasi cokelat, hitam, dan putih (Mulyati, 2021). Bobot badan standar itik Mojosari pada umur 10 minggu mencapai 1,44 kg pada jantan dan 1,31 kg pada betina (Gambar 1) (Fitra et al., 2024). Rata-rata bobot badan itik Mojosari dewasa berkisar 1,7 kg (Mulyati, 2021).



Gambar 1. Itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*)

(A) Jantan dan (B) Betina (Fitra et al., 2024).

Menurut Mulyati (2021), secara *zoologi* taksonomi itik Mojosari sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Phylum : Chordata
 Class : Aves
 Order : Anseriformes (*Waterfowl*)
 Family : Anatidae
 Genus : *Anas*

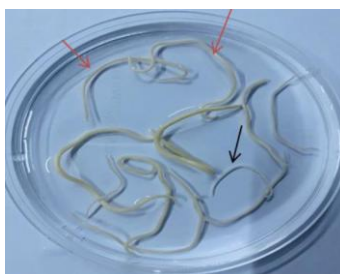
Spesies : *Anas platyhynchos domesticus*

1.2.2 *Ascaridia galli* pada Itik

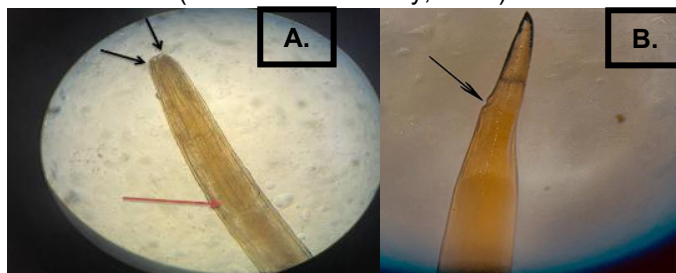
1.2.2.1 Morfologi Cacing *Ascaridia galli*

Morfologi cacing *A. galli* jantan memiliki ukuran 50–75 mm dan cacing betina 70 panjang 120 mm. Ujung anterior ditandai dengan mulut yang menonjol, yang dikelilingi oleh tiga bibir *trilobus* besar. Tepi bibir memiliki gigi palsu seperti gigi. *Posterior bulb* tidak ada di esofagus. Ekor jantan memiliki alae kecil dan juga memiliki 10 pasang *papila*. *Spikula* panjangnya hampir sama. Pada jantan terdapat pengisap *prakloakal* melingkar, yang memiliki tepi kutikuler tebal. Secara mikroskopis, cacing besar ini memiliki bentuk yang kekar, padat, dan putih lebat, betina berukuran panjang hingga 12,0 cm. Cacing dewasa memiliki *alae lateral* yang sempit seringkali tidak terlihat secara jelas (Taylor et al., 2016).

Cacing *A. galli* memiliki struktur berupa kutikula ekstraseluler yang tebal yang berfungsi melindungi membran plasma hipodermal cacing dewasa dari paparan enzim pencernaan inang. Cacing *A. galli* betina memiliki karakteristik fisik yang lebih besar, lebih kuat, dan lebih aktif dibandingkan cacing jantan. Sementara itu, cacing jantan dapat dikenali dari struktur ekornya yang memiliki *caudal alae* kecil, beberapa *caudal papillae* yang pendek dan tebal, serta sepasang spikula dengan ukuran yang seragam. Gambaran morfologi *A. galli* secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Morfologi *A. galli* secara Makroskopis
(Rhaman dan Amery, 2022)



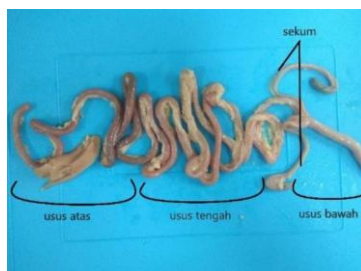
Gambar 3. Morfologi *A. galli* secara Mikroskopis.

A. Anterior; B. Posterior (Rhaman dan Amery, 2022).

1.2.2.2 Siklus Hidup dan Predileksi *Ascaridia galli* pada Itik

Siklus hidup *A. galli* pada unggas termasuk itik dimulai ketika telur cacing menular dalam waktu minimal tiga minggu pada suhu optimal dan fase non-migrasi. Setelah melalui fase histotrofik di mukosa usus, parasit dewasa akan menghuni lumen usus.

Telur dapat tertelan oleh cacing tanah, yang berfungsi sebagai inang perantara. Dalam kondisi lembab dan dingin, telur dapat bertahan hidup selama beberapa bulan, tetapi akan mati di lingkungan kering dan panas. Periode prapaten pada itik dewasa dapat mencapai 8 minggu atau lebih. Cacing dewasa dapat hidup sekitar satu tahun. Predileksi *A.galli* dewasa terdapat pada usus halus (Taylor et al., 2016). Usus halus pada itik dibedakan usus bagian atas (*duodenum*), usus bagian tengah (*jejunum*), usus bagian bawah (*ileum*) dan sekum (Aviola et al., 2022). Gambar usus halus itik dapat dilihat gambar 4.



Gambar 4. Usus Halus pada Itik (Aviola et al., 2022).

1.2.3 *Ascariasis*

1.2.2.3 Patogenesis

Masa inkubasi telur cacing yang masuk ke saluran gastrointestinal di usus halus itik berlangsung selama 3–5 hari dengan periode prepaten 6–8 minggu. *Ascaridia galli* banyak menginfestasi ayam, burung, termasuk itik dan angsa. Jalur infeksi *A. galli* terjadi secara oral melalui konsumsi pakan yang terkontaminasi telur infeksi (Mehlhorn, 2016). Setelah menetas, larva menembus mukosa usus halus dan berkembang menjadi cacing dewasa, yang selanjutnya menyebabkan kerusakan jaringan, gangguan penyerapan nutrisi, serta respons inflamasi lokal. Proses ini mengakibatkan penurunan kondisi fisiologis inang dan berkontribusi terhadap terjadinya gangguan metabolik serta immunosupresi pada itik yang terinfeksi (Ritu et al., 2024).

Keberadaan larva maupun cacing dewasa di dalam usus halus (*duodenum*) memicu terjadinya peradangan yang mengakibatkan kerusakan pada vili serta sel-sel epitel usus. Aktivitas parasit yang menyerap zat-zat hara penting secara langsung menyebabkan gangguan penyerapan nutrisi dan kerusakan jaringan pada saluran pencernaan. Secara klinis, proses patologis ini berdampak pada penghambatan pertumbuhan, penurunan bobot badan, serta penurunan kualitas fertilitas telur yang dihasilkan oleh itik (Zaharah et al., 2016).

1.2.2.4 Gejala Klinis

Gejala klinis yang sering ditemukan pada kasus *ascariasis* yang disebabkan oleh *A. galli* pada sebagian besar itik bersifat multifaktorial dan non-spesifik, meliputi diare berat, kerontokan bulu, penurunan bobot badan, kelemahan, serta munculnya tanda-tanda anemia. Pada infeksi masif, dapat terjadi penyumbatan usus yang berujung pada kematian dalam kurun waktu sekitar 8 hari akibat invasi larva secara besar-besaran ke dinding usus halus. Konfirmasi melalui pemeriksaan feses, evaluasi nutrisi, dan analisis kualitas pakan untuk menegakkan diagnosis yang akurat

(Mehlhorn, 2016). Keparahan gejala sangat dipengaruhi oleh tingkat infestasi, umur inang, serta status nutrisi dan kekebalan tubuh, infeksi berat cenderung mempercepat penurunan kondisi kesehatan dan meningkatkan angka mortalitas pada itik (Ritu et al., 2024).

1.2.3 Fenbendazole

1.2.3.1 Mekanisme Kerja



Gambar 5. Fenbendazole Sediaan Suspensi Oral (PoultryDVM, 2024).

Fenbendazole (FBZ) merupakan antelmintik dari kelompok benzimidazole yang digunakan untuk mengatasi berbagai parasit usus pada unggas peliharaan, termasuk cacing nematoda dan sebagian cacing cestoda. Pemberian fenbendazole dapat dilakukan secara oral kepada setiap unggas, menggunakan jarum suntik atau injeksi, dan dengan mencampurkannya ke dalam sumber air minum kelompok. Obat ini diserap di usus dan cepat dimetabolisme oleh hati, dengan jalur metabolisme yang serupa antara ayam dan mamalia. Pengeluaran fenbendazole dari tubuh sebagian besar terjadi melalui feses (PoultryDVM, 2024).

Mekanisme utama golongan obat benzimidazole seperti fenbendazole adalah mengganggu metabolisme energi nematoda dengan menghambat polimerisasi mikrotubulus. Mekanisme ini berujung pada kematian parasit karena faktor kelarutan obat yang rendah dan masalah palatabilitas pada unggas jika diberikan secara oral. Secara farmakodinamik antelmintik golongan fenbendazole bekerja dengan cara berikatan pada tubulin dan menghambat polimerisasi tubulin menjadi mikrotubulus cacing (Feyera et al., 2021). Fenbendazole bekerja dengan menghilangkan tahapan nematoda seperti *A. galli* dan *H. gallinarum* yang belum matang dan matang dari usus itik (Mehlhorn, 2016).

1.2.3.2 Dosis dan Efikasi

Dosis pemberian fenbendazole (Panacur®) yang efektif untuk membunuh cacing nematoda pada itik adalah 5-15 mg/kgBB per oral 1x dalam 5 hari. Fenbendazole harus diberikan selama 3-5 hari berturut-turut untuk membunuh parasit dengan menghentikan pembelahan sel dalam jangka waktu tertentu sebelum berakibat fatal bagi parasit. Pemberian obat ini tidak boleh dilakukan pada unggas peliharaan yang aktif menumbuhkan bulu baru selama tahap molting. Obat ini juga tidak efektif terhadap dugaan infestasi *Capillaria* pada unggas (PoultryDVM, 2024).

Kemanjuran optimal yang ditandai oleh dosis oral menunjukkan kerentanan yang signifikan dari isolat uji terhadap FBZ (Feyera et al., 2021). Aktivitas antelmintik fenbendazole terhadap *A. galli* bersifat konsentrasi dan waktu-dependen (*concentration and time-dependent*) (Ahmad et al., 2013). Pada unggas yang diobati

dengan fenbendazole dan/atau *albendazole*, memiliki efikasi terhadap semua *Ascarids* umum (*Ascaridia* spp. dan *Heterakis gallinarum*) berada di bawah ambang batas 90% di mana obat dianggap efektif (Höglund et al., 2023). Penurunan sensitivitas terhadap fenbendazole telah diamati pada nematoda unggas, yang kemungkinan besar disebabkan oleh penggunaan *deworming* yang terus-menerus. Penelitian *in silico* menunjukkan bahwa mutasi genetik tertentu seperti E198A pada β -tubulin *Ascaridia galli* dapat memperlemah interaksi antara obat dan protein target cacing, yang secara langsung mengurangi efikasi farmakologis (Menurut Tenorio, 2024).

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas anthelmintik fenbendazole serta menganalisis pola respons cacing terhadap berbagai konsentrasi perlakuan secara *in vitro* terhadap *A. galli* yang dikoleksi dari saluran gastrointestinal itik Mojosari (*Anas platyrhynchos domesticus*) berdasarkan waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas.

1.3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat pengembangan ilmu dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antelmintik fenbendazole terhadap cacing *A. galli* secara *in vitro* berdasarkan waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas pada berbagai konsentrasi. Manfaat aplikatif penelitian ini adalah memberikan data awal mengenai konsentrasi fenbendazole yang menunjukkan respon paling konsisten dalam rentang pengujian secara *in vitro*, yang dapat menjadi dasar pertimbangan penelitian lanjutan serta pengembangan strategi terapi anthelmintik terhadap *A. galli*.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2025. Tempat pengambilan sampel cacing *A. galli* dewasa dikoleksi dari saluran gastrointestinal itik yang dipotong di beberapa Rumah Potong Unggas di Pasar Daya Makassar. Persiapan penelitian, pemeriksaan sampel, perlakuan uji *in vitro*, dan pengamatan aktivitas fenbendazole terhadap cacing *A. galli* dilakukan di Laboratorium Terintegrasi Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri sebagai wadah perlakuan konsentrasi, gelas ukur untuk mengukur jumlah NaCl yang diperlukan setiap cawan petri, gelas beaker sebagai wadah untuk menghomogenkan larutan konsentrasi, spuit 1 mL untuk mengukur volume larutan fenbendazole dalam proses penyediaan konsentrasi perlakuan, *blade* no.11, scalpel no.3, gunting tajam-tumpul, dan pinset anatomis sebagai alat bedah saluran gastrointestinal itik, nampan, *handscoon* dan masker, jarum pentul untuk mengusik cacing selama perlakuan, kamera telepon genggam untuk dokumentasi dan mengamati secara makroskopis, label, *double spike*, mikroskop untuk mengamati *motilitas* cacing dewasa secara mikroskopis, penggaris sebagai alat ukur panjang *A. galli* dewasa, *object glass* sebagai wadah untuk meletakkan sampel yang diamati di bawah mikroskop, dan *stopwatch* untuk mencatat durasi aktivitas obat. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cacing *A. galli* stadium dewasa yang dikoleksi dari saluran gastrointesinal itik, Fenbendazole (Panacur®) 10%, NaCl 0.9% sebagai kontrol dan pelarut obat, dan saluran gastrointestinal itik.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif eksperimental untuk mengevaluasi aktivitas antelmintik fenbendazole secara *in vitro* terhadap *A. galli* pada berbagai konsentrasi. Peneliti memberikan perlakuan tertentu terkait pemberian konsentrasi fenbendazole yang berbeda pada beberapa kelompok sampel yang akan diujikan. Perlakuan yang diberikan pada beberapa kelompok sampel yaitu pemberian fenbendazole dengan konsentrasi berbeda, termasuk kelompok sampel tanpa pemberian konsentrasi fenbendazole sama sekali sebagai kontrol negatif dan tiga perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda sebagai pembanding. Sampel cacing *A. galli* dewasa yang dikoleksi dari dalam saluran gastrointestinal itik kemudian diuji secara *in vitro* untuk selanjutnya diamati dan dievaluasi aktivitas cacing berdasarkan waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas cacing *A.galli*.

Sampel merupakan cacing *A. galli* dewasa yang dikoleksi dari itik yang dipotong di pasar. Alokasi sampel dalam penelitian ini menggunakan desain *post-test only control group design*. Penentuan jumlah sampel dilakukan menggunakan rumus Federer (1963) :

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

Keterangan:

n: jumlah sampel

t: jumlah kelompok/perlakuan

Pada penelitian ini terdapat empat kelompok perlakuan, yang terdiri atas tiga kelompok dengan pemberian konsentrasi fenbendazole yang berbeda dan satu kelompok kontrol. Dengan demikian, perhitungan jumlah sampel tiap perlakuan adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}(t-1)(n-1) &\geq 15 \\ (4-1)(n-1) &\geq 15 \\ 3(n-1) &\geq 15 \\ 3n-3 &\geq 15 \\ 3n &= 18 \\ n &= \frac{18}{3} \\ n &= 6\end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah sampel yang digunakan tiap perlakuan adalah 6 sampel. Untuk menjaga reliabilitas penelitian, dilakukan pengulangan atau replikasi triplet sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah minimal 72 cacing *A. galli* dewasa yang dikoleksi dari saluran gastrointestinal itik.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pembuatan Larutan Konsentrasi Fenbendazole

Media penyimpanan cacing dewasa yang digunakan dalam menguji aktivitas antelmintik terhadap cacing *A. galli* dewasa secara *in vitro* adalah NaCl 0,9% untuk melindungi sel biologi cacing karena bersifat isotonis, dapat mempertahankan tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit (Ekawasti et al., 2017). Dosis anjuran pemberian *fenbendole* terhadap nematoda pada itik adalah 5-15 mg/kgBB per oral 1x dalam 5 hari (PoultryDVM, 2024). Fenbendazole (Panacur®) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan suspensi oral 10% atau setiap 1 mL setara dengan 100 mg fenbendazole (konsentrasi 100 mg/mL). Konsentrasi uji ditentukan dengan mengacu pada dosis anjuran fenbendazole secara *in vivo* sebagai dasar pertimbangan dalam pemilihan rentang konsentrasi. Dosis acuan yang digunakan adalah 10 mg, dengan variasi setengah dari dosis acuan (5 mg) dan dua kali lipat dosis acuan (20 mg) untuk mengamati aktivitas fenbendazole terhadap *A. galli* secara *in vitro*. Jumlah kandungan obat fenbendazole tersebut diperoleh dengan mengambil masing-masing 0,05 mL, 0,1 mL, dan 0,2 mL suspensi, kemudian diencerkan menggunakan NaCl fisiologis hingga volume akhir 20 mL. Dengan demikian dikoleksi konsentrasi akhir berturut-turut sebesar 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, dan 1 mg/mL. NaCl fisiologis digunakan sebagai kontrol negatif sekaligus pelarut. Seluruh larutan dihomogenkan sebelum digunakan untuk memastikan keseragaman konsentrasi selama pengujian *in vitro*.

2.4.2 Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Saluran gastrointestinal yang diambil di pasar berasal dari itik petelur yakni itik Mojosari jantan dan betina yang sudah tidak produktif bertelur atau afkir di atas usia 1-1,5 tahun yang diperjualbelikan. Saluran gastrointesinal itik yang telah dikoleksi dari beberapa Rumah Potong Unggas di Pasar Daya Makassar diambil kemudian

dibawa ke Laboratorium Terintegrasi Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin. Bagian usus halus dipotong dan diambil untuk koleksi cacing cacing *A. galli* dewasa yang kemungkinan ditemukan di dalam usus halus tersebut.

Predileksi *A. galli* pada itik terdapat pada usus halus (Taylor, 2016). Semua usus halus dipisahkan dan dibuka secara longitudinal. Sampel cacing *A. galli* ditemukan dari usus halus itik. Isi lumen usus halus ditampung dalam cawan petri berisi NaCl 0.9%. Cacing *A. galli* diambil dengan hati-hati menggunakan pinset anatomis. Cacing *A. galli* dikoleksi dalam cawan petri dan dibilas dengan NaCl fisiologis sebelum diberikan perlakuan dengan konsentrasi fenbendazole yang berbeda-beda seperti dalam metode Balqis et al. (2016) dengan modifikasi tertentu. Sampel cacing yang dikoleksi dari saluran gastrointestinal itik diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop pembesaran 40× untuk memastikan spesies cacing yang dikoleksi adalah benar merupakan cacing *A. galli* stadium dewasa pada teori.

Morfologi cacing *A. galli* jantan memiliki ukuran 50–75 mm dan cacing betina 70 panjang 120 mm. Ujung anterior ditandai dengan mulut yang menonjol, yang dikelilingi oleh tiga bibir *trilobus* besar. Ekor jantan memiliki *alae* kecil dan juga memiliki 10 pasang *papila*. *Spikula* panjangnya hampir sama (Taylor et al., 2016). Cacing *A. galli* dewasa dipilih yang masih aktif bergerak, ukuran cacing seragam, tidak tampak cacat secara anatomi. Seluruh cacing diadaptasikan dalam cawan petri berisi larutan NaCl fisiologis, potongan usus halus, dan isi lumen usus NaCl untuk mempertahankan hidup *A. galli*, memastikan viabilitas, dan keseragaman kondisi awal sebelum pemberian fenbendazole untuk selanjutnya dilakukan pengamatan.

2.4.3 Perlakuan Sampel

Perlakuan diberikan pada beberapa kelompok sampel berupa pemberian fenbendazole pada konsentrasi yang berbeda. Sebanyak 72 ekor cacing *A. galli* dewasa dengan ukuran panjang dan berat yang relatif seragam dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan, kemudian masing-masing kelompok ditempatkan dalam cawan petri yang berisi 20 mL larutan perlakuan. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada kelompok cacing yang berbeda. Sampel pada seluruh kelompok perlakuan disimpan pada suhu ruang yang sama dan diamati setiap 30 menit. Populasi cacing dalam masing-masing cawan petri dibagi dalam empat kelompok perlakuan yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Uji *In Vitro* Aktivitas Fenbendazole terhadap Cacing *A. galli* pada Itik

No.	Kelompok	Perlakuan
1.	Perlakuan 0	Kontrol negatif (NaCl 0.9%)
2.	Perlakuan 1	Fenbendazole 0,25 mg/mL
3.	Perlakuan 2	Fenbendazole 0,5 mg/mL
4.	Perlakuan 3	Fenbendazole 1 mg/mL

2.4.4 Pengamatan

Evaluasi aktivitas antelmintik fenbendazole dilakukan dengan mengamati dan

menghitung waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas cacing setelah pemberian perlakuan pada konsentrasi yang berbeda dan kontrol. Pengamatan dilakukan setiap 30 menit sekali untuk mengamati waktu paralisis hingga semua sampel cacing perlakuan mengalami mortalitas (mati). Menurut Ainun et al. (2022), untuk mengamati apakah cacing masih aktif atau sudah mati dapat dilakukan dengan mengusik cacing menggunakan pinset atau dengan pengamatan di bawah mikroskop. Evaluasi aktivitas dilakukan dengan perendaman cacing *A. galli* ke dalam 3 kelompok perlakuan konsentrasi fenbendazole digolongkan menjadi 3 variabel, yaitu terhadap tingkat motilitas berdasarkan waktu paralisis (WP) dan lama paralisis (LP) serta tingkat mortalitas berdasarkan waktu kematian (WM). Motilitas cacing *A. galli* dewasa dinilai berdasarkan kemampuan dan derajat pergerakan tubuh cacing setelah pemberian perlakuan.

Penilaian motilitas dilakukan menggunakan sistem skoring dalam Balqis et al. (2016), bahwa waktu paralisis dihitung ketika cacing diberi perlakuan hingga sebagian tubuhnya mengalami paralisis (kelumpuhan) atau pertama kali mencapai skor 2. Lama paralisis diukur dari saat cacing mulai mengalami kelumpuhan hingga cacing mati. Waktu mortalitas (kematian) ditentukan berdasarkan durasi yang dialami cacing dari saat diberi perlakuan hingga cacing mati atau mencapai skor 0. Semakin tinggi angka skor berarti cacing semakin aktif, semakin rendah skor berarti mendekati cacing mengalami mortalitas. Sistem skoring waktu paralisis, lama paralisis, dan waktu mortalitas dilakukan dengan membandingkan kriteria pengamatan dan status biologis cacing *A. galli* dewasa yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sistem Skoring Motilitas dan Mortalitas Cacing *A. galli* (Balqis et al. (2016))

Skor	Kriteria Pengamatan	Status Biologis
3	Seluruh tubuh cacing bergerak	Aktif
2	Hanya sebagian tubuh cacing bergerak	Paralisis sebagian
1	Cacing tidak bergerak tetapi masih hidup	Paralisis total
0	Cacing tidak bergerak	Mati

2.5 Analisis Data

Data hasil evaluasi aktivitas antihelmintik fenbendazole secara *in vitro* terhadap cacing *A. galli* dewasa pada itik dikumpulkan dari setiap sampel dalam masing-masing kelompok perlakuan semua pengulangan, kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak IBM SPSS®. Variabel yang dianalisis meliputi Waktu Paralisis (WP), Lama Paralisis (LP), dan Waktu Mortalitas (WM). Sebelum dilakukan uji perbedaan antar kelompok, dilakukan uji normalitas (Shapiro–Wilk). Penelitian ini menghasilkan sebagian data tidak berdistribusi normal, maka analisis perbedaan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis dan uji lanjut (*Post Hoc*) untuk mengetahui perbandingan berpasangan (*pairwise comparisons*) berbasis uji Mann-Whitney dengan koreksi Bonferroni. Seluruh pengujian statistik dilakukan pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.