

Hematological Changes in *Rattus Norvegicus* infected with *Trypanosoma evansi* after Administration of Ethanol Extract of *Phyllanthus Emblica*

Dina Maulidya Siregar¹, Nuzul Asmilia^{*2}, Yudha Fahrimal³, Abdullah Hamzah², M. Hasan², Razali Daud², M. Isa⁴, Dasrul⁵, Cut Nila Thasmi⁵, Priyo Sambodo⁶

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁶Laboratorium Kesehatan Hewan, Fakultas Peternakan, Universitas Papua, Papua

*Corresponding author: nuzulasmilia@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

This research aims to determine the value of erythrocyte, hemoglobin, and hematocrit of white rats (*Rattus norvegicus*) infected with *Trypanosoma evansi* and given ethanol extract of Malacca leaves (*Phyllanthus emblica*). The animals used in this study were 20 male rats. All rats were randomly divided into 5 treatment groups, each group consisting of 4 rats. The negative control group (K0) without *T. evansi* infection and without malacca leaf ethanol extract, the positive control group (K1) was infected with *T. evansi* without giving malacca leaf ethanol extract, the treatment group K2, K3, K4 were infected with *T. evansi* and were given ethanol extract Malacca leaf with doses of 300mg/kg BW, 600mg/kg BW, and 900mg/kg BW, respectively. The extract was given orally for 3 consecutive days. On the fourth day, blood was drawn for all groups through the orbital vein with a hematocrit pipette after administration of 0,2 ml Ketamin. Then the erythrocyte, hemoglobin, and hematocrit values were calculated using a hematology analyzer. The mean ($\pm$ SD) erythrocyte values (106 / μ l) were 7.66 ± 0.10 , respectively; 2.65 ± 0.24 ; 4.56 ± 0.91 ; 6.58 ± 0.10 ; 5.86 ± 0.27 ; hemoglobin (g / dl) were 13.64 ± 0.26 , respectively; 4.67 ± 0.13 ; 8.38 ± 0.72 ; 11.25 ± 0.58 ; 9.55 ± 0.56 , the hematocrit (%) were 40.97 ± 0.67 , respectively; 28.27 ± 0.76 ; 30.44 ± 0.48 ; 37.70 ± 0.40 ; 34.06 ± 0.17 . The results showed that administration of ethanol extract of malacca leaves at a dose of 600mg/kg BB had a significant effect in maintaining the value of erythrocytes, hemoglobin, and hematocrit of white rats that had been infected with *Trypanosoma evansi*.

Keywords: erythrocyte, hemoglobin, hematocrit, ethanol extract of *phyllanthus emblica*

PENDAHULUAN

Trypanosomiasis atau yang dikenal dengan penyakit surra adalah penyakit parasit yang menular pada beberapa jenis hewan terutama unta, kuda, kerbau, sapi yang disebabkan oleh parasit protozoa darah *Trypanosoma evansi* yang tersirkulasi di dalam darah dan cairan jaringan. Menurut (Martindah dan Husein, 2006). Penyakit surra ditularkan dari satu hewan ke hewan lainnya melalui gigitan lalat penghisap darah yang bertugas sebagai vector mekanis terutama *Tabanus sp.* dan lalat *Haematopota*

spp. Olsen (1986) menyatakan bahwa *T. evansi* hidup di dalam darah kuda, ternak, unta, dan mamalia lainnya baik liar maupun domestik dan diketahui telah menyebar di wilayah Indonesia.

Di Indonesia kasus penyakit surra pertama kali dilaporkan pada tahun 1897 pada populasi kuda di Pulau Jawa. Semenjak itu, secara sporadik menyebar ke hampir seluruh wilayah Indonesia (Partoutomo, 1996). Aceh adalah salah satu daerah yang terserang penyakit surra sejak pertama kali ditemukan adanya surra di Indonesia (Sukanto, 1994). Penyakit surra ditetapkan

sebagai salah satu penyakit pada hewanmenular strategis di Indonesia berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian No. 4026/Kpts./OT.140/3/2013 (Deptan, 2013).

Infeksi yang disebabkan *T.evansi* dapat menyebabkan kerugian berupa penurunan berat badan, daya reproduksi yang rendah dan bahkan menimbulkan kematian pada hewan (Luckins, 1996). *Trypanosoma evansi* juga dilaporkan dapat menimbulkan imunosupresi atau menurunnya tanggap kebal inang atau disebut juga dengan keadaan alergi klinis (Mackenzie *et al.*, 1979). Infeksi yang disebabkan oleh *T. evansi* dapat menurunkan jumlah eritrosit, PCV, dan Hb. Hal tersebut dikarenakan toksin yang dikeluarkan oleh *T.evansi* dapat menyebabkan anemia (Wayan *et al.*, 1981).

Pengendalian *T. evansi* sangat bergantung pada obat-obat kimia. Obat tripanosida yang telah digunakan untuk mengobati penyakit surra di berbagai negara yaitu: *suramin*, *diminazene*, *isomedium*, *quinapyramine* dan *cymelarsen*. Namun beberapa peneliti melaporkan bahwa adanya resistensi obat terhadap beberapa strain *Trypanosoma* (Stevenson *et al.*, 2000). Kondisi ini memicu penelitian untuk mencari obat anti *Trypanosoma* yang baru dengan menggunakan tanaman untuk mengantisipasi resistensinya *T. evansi* terhadap semua obat anti *Trypanosoma*.

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa lebih dari 20.000 tanaman yang dapat dijadikan obat oleh penduduk Indonesia. Hingga saat ini penggunaan tanaman obat sangat banyak digunakan dan mengalami perkembangan yang sangat pesat. Selain itu, bahan-bahan tanaman obat mudah ditemukan di lingkungan sekitar (Mulyani, 2016). Salah satu tanaman yang dipakai sebagai obat bagi warga Indonesia salah satunya adalah tanaman malaka (*Phyllanthus emblica*).

Phyllanthus emblica adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional bagi masyarakat. Di India, malaka dijadikan salah satu tanaman yang sangat bermanfaat karena buahnya yang bergizi dan berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit dan dapat pula untuk penambahan vitamin. Buah malaka juga dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit seperti anemia, pusing, hemoragi, diabetes, asma, dan bronchitis (Tripathi, 2003).

Tanaman malaka dapat kita temukan pada daerah yang mempunyai iklim tropis. Banyak khasiat dari daun malaka terutama dapat digunakan menjadi obat untuk menyembuhkan beberapa penyakit. Hal ini dikarenakan senyawa aktif yang terkandung pada daun malaka. Menurut Dhale (2012) kandungan dari daun, buah, dan akar pohon malaka mengandung flavanoid dan polifenol (tannin). Selain itu, ekstrak daun malaka juga bagus digunakan untuk pengobatan seperti kemoterapi (Singh *et al.*, 2011), antivirus, antimutagenik, antialergi (Khopde *et al.*, 2001), dan sebagai antimalaria (Asmilia *et al.*, 2018). Malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium spp* merupakan parasit protozoa darah yang merupakan satu kelompok dengan *T. evansi* sehingga diharapkan tanaman malaka mempunyai aktivitas anti *Trypanosoma evansi*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun malaka terhadap nilai eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit tikus yang diinfeksi *T. evansi*.

MATERI DAN METODE

Hewan Coba

Dalam penelitian ini menggunakan hewan coba sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 90-100 gram.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Malaka

Sebanyak 3 kg daun malaka dikeringkan pada suhu ruang tanpa terkena sinar matahari. Kemudian daun malaka yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga menjadi serbuk dan dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol, pelarut yang digunakan diganti setiap 24 jam sekali. Proses maserasi dilakukan berulang-ulang sampai diperolehnya larutan yang jernih. Larutan hasil maserasi kemudian di saring dengan pompa vakum yang diberikan kertas saring. Ekstrak cair yang didapatkan tersebut kemudian diuapkan (dikentalkan) menggunakan alat rotary evaporator yang dilengkapi penagas air dan pompa vakum pada suhu 30-40°C sampai diperoleh ekstrak yang kasar/kental.

Propagasi *Trypanosoma evansi* pada mencit

Trypanosoma evansi yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. *Trypanosoma evansi* dalam tabung hematokrit dari tabung Nitrogen cair dikeluarkan dan diletakkan di dalam box yang berisi es yang berguna untuk mencairkan nya. Setelah cair, dicampur dengan 0,1ml PBS-G(*Phosphat Buffer Saline Glucose*) dan disuntikkan secara intra peritoneal kepada mencit. Darah mencit yang sudah disuntik diperiksa setiap hari untuk melihat pertumbuhan *T.evansi*. Apabila jumlah *T. evansi* pada mencit sudah mencapai 10^7 - 10^8 siap digunakan untuk penelitian.

Infeksi *Trypanosoma evansi* pada tikus

Sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 90-100 gram digunakan

dalam penelitian ini. Tikus dibagi secara acak dalam 5 kelompok perlakuan (setiap kelompok terdiri dari 4 tikus). Kelompok kontrol (K0) tanpa infeksi *T. evansi* dan tanpa ekstrak etanol daun malaka. Tikus-tikus kelompok 1 – 4 (K1 – K4) diinfeksi secara intraperitoneal dengan 1×10^3 *T. evansi*. Kelompok 1 (K1) diberi tanpa ekstrak daun malaka, kelompok 2 (K2) diberi ekstrak daun malaka dosis 300mg/kg bb. Kelompok 3 (K3) diberi ekstrak daun malaka dosis 600mg/kg bb. Kelompok 4 (K4) diberi ekstrak daun malaka dosis 900mg/kg bb. Ekstrak diberikan secara oral dengan menggunakan spuid 1ml.

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah tikus dilakukan melalui sinus orbitalis dengan menggunakan pipet hematokrit. Darah tersebut dimasukkan ke dalam tabung vacutainer yang telah terisi dengan EDTA sebagai antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah.

Perhitungan Eritrosit, Hemoglobin, dan Hematokrit

Darah tikus diambil pada hari ke-4 pada pagi hari, darah diambil sebanyak ± 1 ml/ 1 ekor tikus dan dimasukkan ke masing-masing tabung vacutainer yang sudah berisi dengan antikoagulan. Kemudian darah yang sudah tersedia dihitung dengan pemeriksaan hematologi menggunakan alat hematology analyzer Mindray YSTE880V. Sampel darah yang sudah tercampur antikoagulan dihomogenkan terlebih dahulu. Lalu nyalakan alat hematology analyzer Mindray YSTE880V. Tekan tombol power pada posisi on di main YSTE880V (tepat di sebelah belakang kiri bawah) dan tunggu inisialisasi atau alat bekerja sampai selesai (± 7 menit), alat dikontrol terlebih dahulu kemudian jalankan sampel dengan menekan ID sampel dengan mengisi data sampel dan tekan tombol OK dan arahkan tabung vacuum

dengan tutup terbuka ke dalam jarum pada alat dan tekan tombol penghisap. Secara otomatis darah pada tabung diambil sebanyak $0,2\text{mm}^3$ oleh sampling needle. Hasil pemeriksaan total eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit muncul secara otomatis setelah menunggu ± 2 menit dalam bentuk print out.

Analisis Data

Data kuantitatif dari parameter yang diukur dianalisis berdasarkan ANAVA (Analisis Varians) dan jika terdapat pengaruh dosis data selanjutnya diuji dengan

Beda Nyata Terkecil/BNT (Garpersz, 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai Eritrosit

Rata-rata ($\pm$ SD) nilai eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *T. evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) ditunjukkan pada Tabel 1. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh sangat nyata terhadap nilai eritrosit tikus putih yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Aceh Besar.

Tabel 1. Rata-rata ($\pm$ SD) nilai eritrosit ($10^6/\mu\text{l}$), haemoglobin (g/dl) dan Hematokrit (%) tikus yang diinfeksi *T. evansi* setelah diberi perlakuan ekstrak daun malaka berbagai dosis selama 3 hari berturut-turut.

Perla-kuan	Nilai Rata-rata rata ($\pm$ SD)			Nilai Normal
	Eritrosit(10^6)	Hemoglobin(g/dl)	Hematorit(%)	Eritrosit :
K0	$7,66 \pm 0,10^c$	$13,64 \pm 0,26^c$	$40,97 \pm 0,67^{ab}$	$7 \times 10^6 - 11 \times 10^6$
K1	$2,65 \pm 0,24^a$	$4,67 \pm 0,13^a$	$28,27 \pm 0,76^a$	Hemoglobin :
K2	$4,56 \pm 0,91^a$	$8,38 \pm 0,72^a$	$30,44 \pm 0,48^a$	$11,6 - 16,1 \text{ g/dl}$
K3	$6,58 \pm 0,10^{ab}$	$11,25 \pm 0,58^{bc}$	$37,70 \pm 0,40^{ab}$	Hematokrit :
K4	$5,86 \pm 0,27^{ab}$	$9,55 \pm 0,56^{ab}$	$34,06 \pm 0,17^{ab}$	$37,6\% - 51\%$

K0 (tanpa infeksi *T.evansi* dan tanpa ekstrak etanol daun malaka)

K1 (diinfeksi *T.evansi* tanpa ekstrak etanol daun malaka)

K2 (diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka 300mg/kgBB)

K3 (diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka 600mg/kgBB)

K4 (diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka 900mg/kgBB)

Superskrip huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Menurut Douglas dan Wardrop (2010) kisaran jumlah eritrosit normal pada tikus adalah $7.10^6 - 11.10^6$. Tabel menunjukkan bahwa nilai eritrosit tikus putih jantan terendah terdapat pada kelompok K1 dan jumlah eritrosit tertinggi terdapat pada kelompok K0. Jumlah eritrosit tikus pada K0 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan K1, K2, K3, dan K4 dikarenakan K0 merupakan kontrol negatif yang tidak diinfeksi *T.evansi* dan juga

tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka maka nilai eritrositnya berada dalam kisaran normal yaitu $7,66 \times 10^6/\mu\text{l}$. Sedangkan K1 merupakan kelompok kontrol positif yaitu dengan diinfeksi *T. evansi* kedalam tubuh tikus putih tanpa pemberian ekstrak etanol daun malaka sehingga nilai eritrositnya menurun hingga mencapai $2,65 \times 10^6/\mu\text{l}$.

Jumlah eritrosit pada tikus dari masing-masing kelompok menunjukkan peningkatan pada setiap dosis perlakuan dan

sangat berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K1 kecuali tikus dari kelompok K2 yang mungkin dikarenakan dosis ekstrak daun malaka masih rendah. Dari semua dosis perlakuan, dapat dilihat bahwa dosis ekstrak etanol daun malaka yang hampir mencapai nilai normal yaitu terlihat pada dosis 600mg/kg BB dengan nilai eritrositnya adalah $6,58 \times 10^6 \mu\text{l}$. Pada penelitian Agusty (2016), *T. evansi* yang diinfeksi ke tikus serta diberikan ekstrak daun mimba dengan dosis 800mg hanya mampu mempertahankan eritrosit $2,56 \pm 0,59$, sedangkan pada penelitian ekstrak etanol daun malaka mampu mempertahankan eritrosit $6,58 \pm 0,10$ dengan dosis 600mg/kg BB. Penurunan jumlah eritrosit disebabkan karena rusaknya sel darah merah akibat infeksi yang terjadi (Wayan *et al.*, 1981). Paim *et al.* (2011) menyatakan bahwa tikus merupakan hewan yang sangat peka terhadap *T. evansi* sehingga dapat menunjukkan beberapa perubahan hematologi dan biokimia darah.

Trypanosoma evansi menyebabkan rusaknya membran sel eritrosit sehingga memicu terjadinya oksidasi dan hemolisis yang mengakibatkan berkurangnya jumlah eritrosit (Ngure *et al.*, 2009). Selain itu toksin dari *T. evansi* dapat menyebabkan peruntuhan eritrosit sehingga jumlah eritrosit menurun dan menyebabkan anemia (Ressang, 1984).

Nilai Hemoglobin

Rata-rata ($\pm$ SD) nilai hemoglobin tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) ditunjukkan pada Tabel 1. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh sangat nyata terhadap nilai hemoglobin tikus putih yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Aceh Besar.

Nilai hemoglobin tikus tanpa diinfeksi *T. evansi* dan tanpa ekstrak etanol daun malaka (K0) dalam penelitian ini adalah (13,64g/dl). Nilai tersebut masih berada dalam batas kisaran nilai normal hemoglobin normal tikus yaitu 11,6-16,1g/dl (Douglas dan Wardrop 2010). Sedangkan rata-rata nilai hemoglobin tikus yang diinfeksi *T. evansi* tanpa pemberian ekstrak etanol daun malaka lebih rendah dibandingkan nilai hemoglobin normal dan berbeda sangat nyata (0, 01) yaitu 4,67g/dl. Semua dosis ekstrak etanol daun malaka mampu meningkatkan nilai hemoglobin tikus yang diinfeksi *T. evansi*. Akan tetapi, kadar hemoglobin semua kelompok perlakuan masih lebih rendah dan berbeda nyata dibandingkan dengan kadar hemoglobin normal tikus pada penelitian ini. Kadar hemoglobin tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* akan mengalami penurunan setiap harinya (Afandi, 2017). Jumlah parasit di dalam darah berbanding terbalik dengan kadar glukosa darah, semakin banyak jumlah parasit maka kadar glukosa yang terdapat dalam darah semakin sedikit dan menyebabkan anemia berat (Jatkar dan Singh, 1974).

Menurut Kumar *et al.* (2011) kadar hemoglobin merupakan salah satu parameter untuk mengetahui terjadinya anemia. Penurunan kadar hemoglobin bisa terjadi akibat adanya hemolisis. Namun hal yang lain juga terjadi akibat anemia. Dampak anemia tikus yaitu kadar hemoglobin mengalami penurunan dibawah nilai normal. Hal ini juga berpengaruh terhadap jumlah eritrosit yang berada dalam darah (Guyton dan Hall, 1997). Apabila jumlah hemoglobin dalam eritrosit rendah, maka kemampuan eritrosit membawa oksigen ke seluruh jaringan tubuh juga akan menurun dan tubuh akan kekurangan oksigen. Hal ini menyebabkan terjadinya anemia (Meliana, 2004)

Nilai Hematokrit

Rata-rata ($\pm$ SD) nilai hematokrit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *T. evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) ditunjukkan pada Tabel 1. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap nilai hematokrit tikus putih yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Aceh Besar.

Kisaran nilai hematokrit normal tikus adalah 37,6%-51% (Douglas dan Wardrop, 2010). Rata-rata nilai hematokrit darah K0 pada penelitian ini adalah 40,97%, nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran batas nilai normal hematokrit. Sedangkan pada kelompok perlakuan K1 mengalami penurunan yang sangat drastis yaitu mencapai 28,27%. Hal tersebut dikarenakan K1 merupakan kelompok kontrol positif yaitu dengan menginfeksi *T. evansi* dan tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka.

Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa pada kelompok K2 menunjukkan jumlah hematokrit yang masih dibawah normal akan tetapi lebih tinggi dari hemtokrit tikus dalam kelompok K1 rendah, hal itu diduga akibat masih rendahnya dosis ekstrak etanol daun malaka yang diberikan sehingga belum mampu mempertahankan jumlah hematokrit tikus tersebut. Sedangkan pada kelompok K4 nilai hematokrit juga masih belum mencapai normal diduga karena tingkat parasitemia yang tinggi pada tubuh tikus atau mungkin dosis ekstrak daun malaka belum optimal. Madison (2006) mengatakan bahwa parasitemia adalah kondisi dimana terdapat parasit pada darah hewan ataupun manusia. Angka parasitemia juga menunjukkan status infeksi dari hewan yang terserang penyakit. Paim *et al.* (2011) menyatakan bahwa pada saat parasitemia tinggi terjadi penurunan nilai hematokrit, jumlah eritrosit, dan kadar hemoglobin.

Sebaliknya, tikus pada kelompok K3 memperlihatkan nilai hematokrit yang lebih tinggi dibandingkan dengan K2 dan K4. Nilai hematokrit pada kelompok K3 mencapai 37,70%. Dengan hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun malaka dengan dosis 600mg/kgBB mampu mempertahankan nilai hematokrit tikus pada kadar normal dari pengaruh infeksi *T. evansi*. Hal tersebut dapat dikatakan karena dosis dari ekstrak etanol daun malaka pada dosis 600mg/kgBB sudah mampu mempertahankan nilai hematokrit tikus yang terinfeksi *T. evansi*. Sedangkan pada kelompok K4 nilai hematokrit lebih rendah dari K3 dengan nilai $34,06 \pm 0,17$. Dari semua kelompok nilai hematokrit masih belum mencapai nilai normal karena dosis dari ekstrak etanol daun malaka belum mampu menekan reproduksi *T. evansi*. Tanaman malaka (*Phyllanthus emblica*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan seperti polifenol (tanin) dan flavanoid. Dimana flavanoid berperan penting dalam pengaturan kesehatan pembuluh darah, yaitu memelihara fungsi kinerja jantung tetap maksimum (Catherine *et al.*, 2015). Selain itu, respon kerja flavanoid juga dapat mempertahankan imun, yaitu melalui senyawa flavonoid sebagai antioksidan (Djamil dan Anelia, 2009).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun malaka dosis 600mg/kgBB terhadap tikus putih yang telah diinfeksi *Trypanosoma evansi* mampu mempertahankan kadar normal eritrosit, hemaglobin, dan hematokrit darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, H. 2017. Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi*. Skripsi. Banda Aceh.
- Agusty, A. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun

- Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Isolat Krueng Raya. *Skripsi*. Banda Aceh.
- Asmilia, N., T. Armansyah, D. Aliza, J. Melia, and L. S. M. Daulay. 2018. The effect of malacca leaves (*Phyllanthus emblica*) ethanolic extract on *Plasmodium falciparum* growth in vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 12(4) : 93-94.
- Catherine, P. B., D. C Kevin, W. Natalie, J.C. Michael, M.H Jonathan. 2015. Dietary flavonoids and nitrate effects on nitric oxide and vascular function. *Nutrition Review*. 74:216-235.
- Departemen Pertanian. 2013. *Peraturan Menteri Pertanian tentang Penetapan Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis*, PHMS. Jakarta.
- Dhale, D.A. 2012. Pharmacognostic evaluation of *Phyllanthus emblica* Linn (Euphorbiaceae). *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 3(3):210-217.
- Djamil, R., dan T. Anelia. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7(2):65-71.
- Douglas, J. W., and K.J. Wardrop. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell. P852-887.
- Gasperz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. CV Armico, Bandung
- Guyton, A. C., and J. E. Hall. 1997. *Textbook of Medical Physiology*. Elsevier Inc. Philadelphia.
- Jatkar, P. R, dan M, Singh. 1974. Pathogenesis of Anemia in *Trypanosoma* Infection. 4 Blood Glucose Studies. *Indian Veteriner J*.51: 710-714.
- Khopde, S.M., K.I. Priyadarsini and H. Mohan. 2001. Characterizing the antioxidant activity of amla (*Phyllanthus emblica*) extract. *Current Science*. 81: 185-190.
- Kumar, V., H.P.S Makkar, and K. Becker. 2011. Detoxified *Jatropha curcas* kernel meal as a dietary protein source: Growth performance, nutrient utilization, and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquacult. Nutr.*, 17 (3): 313-326
- Luckins, A.G. 1996. Problems Associated with Infections Caused by *T. evansi* in Asia. *Proceedings of a Seminar on Diagnostic Techniques for T. evansi in Indonesia*. 10 January 1996, Balitvet, Bogor: 10-17.
- Luckins, A.G. 1996. *Trypanosoma evansi* in Asia. *Parasitology Today*. 4(5) : 137-142.
- Mackenzie, A.R., P.R. Sibley, and B.P. White. 1979. Further evidence for immunosuppression in trypanosomiasis. *Trans. Roy. Soc. Tropmed. Hyg.* 73(1): 98
- Madison, N. 2016. What is Parasitemia. www.wisegEEK.com. 26 September 2016.
- Martindah, E dan A. Husein. 2006. Trypanomiasis pada ternak kerbau. *Prosiding Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau Mendukung Program Kecukupan Daging Sapi*. Bogor.
- Meliana, D. 2004. Studi Banding Beberapa Metode Pengukuran Kadar Hemoglobin. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran-UNS Surakarta.
- Mulyani, H. 2016. Tumbuhan Herbal Sebagai Jamu Pengobatan Tradisional Terhadap Penyakit Dalam Serat Primbon Jampi Jawi Jilid I. *Jurnal Penelitian Humaniora*. 21(2): 73-91.
- Ngure, P.K., W.K. Tonui, J. Ingonga, C.H. Mutai, E. Kigundu, Z. Ng'ang'a, G. Rukunga, and A. Kimutai, 2009. In vitro antileishmanial activity of extracts of Warburgia ugandensis (Canellaceae), a Kenyan medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research* 3, 61-66.
- Olsen, O.W. 1986. *Animal Parasites: Their Life Cycles and Ecology*. Dover, New York.
- Paim, C.F., M.M.M.F. Duarte, M.M. Costa, A.S. Da Silva, P. Wolkmer, C.B. Silva, C.B.V. Paim, R.T. França, C.M.A. Mazzanti, S.G. Monteiro, A. Krause, and S.T.A. Lopes. 2011. Cytokines in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Exp. Parasitol.* 128:365-370.
- Partoutomo, S. 1996. Trypanosomiasis Caused by *Trypanosoma evansi* ("Surra") in Indonesia. *Proceeding of A Seminar on Diagnostic Techniques for Trypanosoma evansi in Indonesia*. Balitvet, Bogor: 1-9.
- Ressang, A.A.. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi 2. Percetakan Bali. Denpasar
- Singh, E., S. Sharma., A. Pareek., J. Dwivedi., and S Yadav. 2011. Phytochemistry, Traditional uses and cancer Chemopreventive Activity of Amla (*Phyllanthus emblica*): The Sustainer. *Journal of Applied Pharmaceutical*. 02(01):176-183.
- Sukanto, I. P. 1994. Petunjuk Diagnosa Parasit Darah *Trypanosoma*, *Babesia*, dan *Anaplasma*. *Prosiding Seminar Penelitian Parasit Besar di Indonesia*. Bogor.
- Stevenson, P., G. Okech, C. Mwendia, K.R. Sones. 2000. *Comparison of the Isometamedium-based Trypanocidal Drugs Samorin and Veridium in Cattle Under Field Conditions at Ngurumam, Kenya*, *Acta Tropica* 77, pp.195-201.
- Tripathi, K.P. 2003. *Essentials of Meditotional Pharmacology*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD, New Delhi.
- Wayan, T.A., B. Narianodan, dan S. Mangkuwijidojo. 1981. Perubahan hematologi kelinci yang diinfeksi dengan *Trypanosoma evansi*. *Procceding Seminar Nasional II*. Jakarta