

## The Effect Of Neem Leaves (*Azadirachta Indica*) Extract To The Blood Profile Of Male Rat (*Rattus Norvegicus*) Infected With *Trypanosoma Evansi* Of Krueng Raya Isolat

Atika Agusty<sup>1</sup>, Yudha Fahrimal<sup>2</sup>, Triva Murtina Lubis<sup>3</sup>, Muhammad Hambal<sup>2</sup>, Zuhrawati NA<sup>4</sup>, Arman Sayuti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>3</sup>Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>4</sup>Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: atikaaagusty@gmail.com

### ABSTRACT

This study aimed to determine the ability of neem leaf extract to maintain the normal blood profile of white male rat (*Rattus norvegicus*) infected with *Trypanosoma evansi*. A total of 24 male white rats were divided into 6 groups. The K0 group as the negative control received no *T. evansi* infection and no neem leaf extract. Furthermore, K1 group (positive control) only infected with *T. evansi*, K2 and K3 were given neem leaf extract 50mg/kg BW and 100mg/kgBW, while K4 and K5 were given neem leaf extract 400mg/KgBW and K5 800mg/kgBW. The neem leaf extract was administered for 3 consecutive days after infection established. The blood of the rats was collected to determine the amount of erythrocyte and leukocyte, hemoglobin level and hematocrit value. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) through SPSS for Windows 16.0. The averages (+SD) of erythrocyte of K0, K1, K2, K3, K4, and K5 were 5,64±0,57; 2,31±1; 1,93±0; 0; 2,55±0,33; and 2,56±0,48. The amount of leukocyte were 4,46±1,09; 4,45±1,91; 5,25±0; 0; 8,42±1,66; and 8,14± 5,17. The value of hemoglobin were 12,00±0,47; 10,50±0,57; 4,30±0; 0; 5,60±0,20; and 9,03±0,66. The level of hematocrit 38,00±1,83; 25,00±9,90; 15±0; 0; 18,00±2,65, and 20,75±1,71. The result showed that the administration of neem leaf extract with doses 400mg/kgBW and 800mg/kgBW were difference significantly ( $P<0.05$ ) compare to the positive control of rats, but could not equalize blood profile of uninfected white male rats.

Key word : neem leaves, haematology, *Trypanosoma evansi*, rat.

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi besar di sektor peternakan, hal ini dibuktikan dengan tingginya angka produksi ternak dengan hasil kualitas yang beranekaragam. Untuk meningkatkan angka produksi ternak, salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan memperhatikan status kesehatan dari hewan ternak. Ternak harus terbebas dari berbagai macam penyakit seperti virus, bakteri, jamur, ataupun parasit.

Salah satu parasit yang sering menginfeksi hewan ternak adalah *Trypanosoma evansi*. *T. evansi* merupakan

protozoa darah yang dapat menyebabkan penyakit tripanosomiasis atau dikenal dengan penyakit Surra. Penyebaran penyakit ini diperantarai oleh gigitan vektor serangga penghisap darah, terutama *Tabanus* sp., *Chrysop* sp., dan *Haematopota* spp. (Hoare, 1972) dan sangat tergantung dari banyaknya populasi caplak di daerah tersebut yang menjadi vektor dari penyebaran parasit (Soulsby, 1982).

Penyakit ini sering menyerang hewan seperti unta, kuda, kerbau, dan babi. *T. evansi* memiliki sarana transmisi yang bervariasi tergantung dari induk semang dan wilayah geografis. Transmisi dapat terjadi secara vertikal, horizontal, dan oral dengan

berbagai signifikansi epidemiologi tergantung musim, lokasi, dan spesies inang (Desquesnes dkk., 2013). Menurut Hoare (1972), gejala klinis dapat disertai dengan demam yang tidak teratur, penurunan berat badan yang progresif, penurunan nafsu makan, keratokonjungtivitis berulang, plak urtikaria pada leher dan pinggang, edema pada bagian thorax, perut, alat kelamin, kaki serta anemia. Anemia merupakan salah satu gejala yang paling banyak ditemukan pada infeksi *T. evansi*.

Upaya pengendalian tripanosomiasis telah banyak dilakukan seperti menggunakan antitripanosoma untuk mengobati penyakit Surra di berbagai negara, seperti suramin, diminazene, isomedium, quinapyramine dan cymelarsan. Sampai saat ini suramin terbukti efektif untuk pengendalian Surra karena tidak menimbulkan resistensi tetapi mempunyai efek residual selama tiga bulan sehingga produksi obat ini sudah dihentikan sejak beberapa tahun yang lalu. Untuk itu penemuan obat pengganti sangat dinantikan untuk mengobati penyakit Surra (Muharsini dkk., 2006).

Salah satu sumber obat untuk penyakit tripanosomiasis adalah dengan pemanfaatan tanaman herbal yang tersedia di alam. Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) merupakan salah satu tanaman yang dapat tumbuh subur di wilayah Indonesia. Atawodi dan Atawodi (2009) menyatakan bahwa tanaman mimba (*Azadirachta indica*) telah banyak digunakan antara lain: sebagai antiplasmodium, antitripanosomal, antioksidan, antikanker, antibakterial, antifungal, antiviral, nematisidal, antiulser, spermisidal, antelmentik, antidiabetes, dan antiimplantasi.

Penelitian lain yang merupakan satu kesatuan dengan penelitian ini telah membuktikan bahwa ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) mempunyai potensi sebagai antitripanosoma. Penelitian ini

melihat kemampuan ekstrak daun mimba dalam mempertahankan status hematologi yang meliputi jumlah eritrosit dan leukosit, kadar Hb, dan nilai hematokrit tikus.

## MATERI DAN METODE

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hemositometer (Assistent Western Germany) yang terdiri dari pipet (eritrosit dan leukosit), selang karet, kamar hitung Neubauer, *cover glass*; hemometer Sahli (Hellige, Western Germany) yang terdiri dari tabung hemometer Sahli, batang pengaduk, pipet tetes, pipet Sahli, selang penghisap); mikroskop (Olympus, Japan), kertas saring, mikro kapiler, *creastoseal*, *micro haematocrit centrifuge* (KHT-410E, Taiwan), *micro-haematocrit reader* (Hawksley & Son Ltd., England); mixer; *rotary evaporator* (Hahn vapor HS-2005 S<sup>®</sup> Korea); dan sonde lambung

Bahan-bahan yang digunakan adalah *T. evansi* isolat Krueng Raya yang merupakan koleksi Laboratorium Parasitologi FKH Universitas Syiah Kuala, ekstrak daun mimba, darah tikus putih (*Rattus norvegicus*), *carboxyl methyl cellulosa* (CMC) 1%, ethanol 96%, aquades, larutan hayem, larutan turk, dan HCl 0,1 N.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan, setiap perlakuan terdiri atas 4 ulangan. Seluruh tikus diadaptasikan selama satu minggu dan diberikan makan pelet dan minum secara *ad libitum*.

Kelompok perlakuan pertama adalah kelompok kontrol negatif (K0) hanya diberikan aquades. Kelompok perlakuan kedua merupakan kontrol positif (K1) hanya diinfeksi  $5 \times 10^4$  *T. evansi* secara intraperitoneal, sedangkan kelompok perlakuan ketiga (K2), keempat (K3),

kelima (K4) dan keenam (K5) diinfeksi dengan  $5 \times 10^4$  *T. evansi* secara intraperitoneal dan diberi ekstrak daun mimba yang masing-masing dosisnya 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Ekstrak daun mimba diberikan secara oral selama tiga hari berturut-turut. Pada hari keempat semua tikus dikoleksi darahnya melalui *sinus orbitalis cantus medialis* sebanyak 3 ml dan diperiksa jumlah eritrosit, leukosit, kadar Hb, dan nilai hematokrit.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Pembuatan ekstrak daun mimba**

Daun mimba yang telah dipetik kemudian dicuci bersih dan dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya daun mimba diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 2x24 jam dengan pelarut ethanol 96%. Setelah itu daun mimba yang telah dimaserasi disaring kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak yang kental. Kemudian ekstrak tersebut diencerkan dengan 1% CMC dan dimixer agar homogen. Selanjutnya ekstrak tersebut diberikan pada tikus sesuai dengan kelompok perlakuan dengan menggunakan sonde lambung.

#### **Inokulasi *Trypanosoma evansi* pada tikus**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan diinfeksi dengan *T. evansi* isolat Krueng Raya secara intraperitoneal (IP) dengan konsentrasi  $5 \times 10^4$ . Inokulasi dilakukan pada tikus kelompok kontrol positif (K1), kelompok perlakuan ketiga (K2), keempat (K3), kelima (K4) dan keenam (K5).

#### **Pengkoleksian sampel darah**

Pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan pipet mikro hematokrit dan EDTA sebagai antikoagulan, melalui *sinus orbitalis cantus medialis*. Sinus tersebut ditusuk dengan mikro hematokrit sampai mengenai *vena retro orbitalis*. Selanjutnya

darah yang keluar ditampung dengan tabung sentrifus sebanyak 3 ml.

#### **Penghitungan jumlah eritrosit**

Jumlah eritrosit diperoleh dengan metode manual (Hemositometer).

#### **Penghitungan jumlah leukosit**

Jumlah leukosit diperoleh dengan metode manual (Hemositometer).

#### **Penentuan kadar hemoglobin**

Kadar Hb ditentukan dengan menggunakan metode Sahli. Kadar Hb yang telah dihitung dinyatakan dalam g/ dl.

#### **Penentuan nilai hematokrit**

Penentuan nilai hematokrit bertujuan untuk menghitung persentase volume eritrosit terhadap volume darah total. Nilai hematokrit ditentukan dengan metode mikro hematokrit. Nilai hematokrit dinyatakan dalam satuan %.

#### **Analisis Data**

Jumlah eritrosit, leukosit, kadar Hb, dan nilai hematokrit dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah dan apabila terdapat pengaruh pada perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan (Gaspersz, 1991).

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan jumlah eritrosit, leukosit, kadar Hb dan nilai hematokrit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang telah diinfeksi dengan *T. evansi* isolat Krueng Raya mengalami perubahan pada kelompok perlakuan K2, K4, dan K5, namun pada kelompok perlakuan K3 jumlah eritrosit, leukosit, kadar Hb dan nilai hematokrit tidak dapat dihitung karena tikus mengalami kematian. Hal ini diduga terjadi akibat rendahnya imunitas dari tikus tersebut.

Carmona dkk. (2006) menambahkan bahwa manifestasi klinis dari infeksi *T. evansi* dapat berbeda pada setiap individu tergantung kepada virulensi dari parasit, kondisi psikologis, dan faktor tidak spesifik seperti stres.

### Jumlah Eritrosit

Rata-rata ( $\pm$ SD) jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) dan diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya ditampilkan pada Gambar 2. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba sangat berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap jumlah eritrosit tikus putih jantan yang diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya.

Jumlah eritrosit tikus putih jantan terendah terdapat pada kelompok K2 dan jumlah eritrosit tertinggi terdapat pada kelompok K0. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan jumlah eritrosit yang terdapat pada kelompok K1, K2, K4, dan K5 berada di bawah kisaran normal sedangkan kelompok K0 berada dalam kisaran normal. Kusumawati (2004) menyatakan bahwa jumlah eritrosit normal tikus berkisar antara  $5-12 \times 10^6/\text{mm}^3$ .

Pada Gambar 2, jumlah eritrosit tikus pada K0 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan K1, K2, K4, dan K5. K0 merupakan kontrol negatif yang tidak diinfeksi *T. evansi* dan juga tidak diberikan ekstrak daun mimba sehingga jumlah eritrositnya berada dalam kisaran normal.

Jumlah eritrosit tikus putih yang diinfeksi  $5 \times 10^4$  *T. evansi* yang merupakan kelompok tikus kontrol positif (K1) memperlihatkan jumlah eritrosit dibawah normal yaitu  $2,30 \times 10^6/\text{mm}^3$ . Wolkmer dkk. (2009) menyatakan bahwa tikus merupakan hewan yang sangat peka terhadap *T. evansi* sehingga menunjukkan berbagai perubahan hematologi dan

biokimia darah. *T. evansi* menyebabkan rusaknya membran sel eritrosit sehingga memicu terjadinya oksidasi dan hemolisis yang mengakibatkan berkurangnya jumlah eritrosit (Ngure dkk., 2009).

Jumlah eritrosit tikus putih pada kelompok perlakuan K2, K4, K5 yang diberi ekstrak daun mimba berada di bawah jumlah normal. Tikus kelompok K2 menunjukkan jumlah eritrosit yang rendah, hal ini diduga akibat rendahnya dosis ekstrak daun mimba yang diberikan sehingga tidak mampu mempertahankan jumlah eritrosit tikus tersebut. Sebaliknya, tikus pada kelompok K4 dan K5 memperlihatkan jumlah eritrosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan K1 dan K2.

Jumlah eritrosit tikus pada kelompok perlakuan K4 dan K5 menunjukkan jumlah eritrosit yang lebih tinggi dari K1. Hal ini diduga karena dosis dari ekstrak daun mimba pada dosis  $400\text{mg/kgBB}$  dan  $800\text{mg/kgBB}$  sudah mampu mempertahankan jumlah eritrosit tikus yang terinfeksi *T. evansi*. Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan antitripanosoma karena memiliki kandungan senyawa seperti *azadirachtin*, *tanin*, *gallic acid*, *polyphenol* dan senyawa lainnya. *Polyphenol* merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk merusak membran sel dari parasit sehingga mampu menekan jumlah dari *T. evansi* di dalam darah sehingga jumlah eritrosit mampu dipertahankan (Ngure dkk., 2009). Azambuja dan Garcia (1992) menambahkan bahwa fitokimia terbanyak dari tanaman mimba adalah *azadirachtin* yang dalam dosis sedikit dan dalam bentuk tertentu dapat menghambat pertumbuhan dari *T. cruzi*.

### Jumlah Leukosit

Rata-rata ( $\pm$ SD) jumlah leukosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi

ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) dan diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya ditampilkan pada Gambar 3. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap jumlah leukosit tikus putih jantan yang diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya.

Jumlah leukosit tikus putih jantan terendah terdapat pada kelompok K1 dan jumlah leukosit tertinggi ditemukan pada kelompok K4. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, jumlah leukosit yang terdapat pada kelompok K0, K1, K2, K4, dan K5 berada dalam kisaran normal. Kusumawati (2004) menyatakan bahwa jumlah leukosit normal tikus berkisar antara  $3-15 \times 10^3/\text{mm}^3$ .

Rukmana (1981) menyatakan bahwa hewan yang terinfeksi *T. evansi* akan memperlihatkan kenaikan jumlah sel darah putih yang dipengaruhi oleh kondisi tubuh. Jika kondisi tubuh berada dalam kondisi yang baik, sel darah putih akan meningkat dan sebaliknya apabila tubuh berada dalam kondisi yang lemah, perubahan sel darah putih tidak akan terlihat jelas. Rue dkk. (2000) menyatakan bahwa jumlah leukosit pada individu yang terinfeksi *T. evansi* dapat memperlihatkan jumlah yang berbeda-beda. Hal ini didukung dengan penelitian Silva dkk. (1995) dan Sandoval dkk. (1994) yang menunjukkan *leucopenia* pada hewan yang terinfeksi *T. evansi*, sedangkan hasil penelitian dari Monzon dkk., (1991) menunjukkan gejala leukositosis pada hewan yang terinfeksi.

Happi dkk. (2012) menyatakan bahwa *T. evansi* mampu mempengaruhi jumlah leukosit dengan cara memanipulasi apoptosis dari sel leukosit, sehingga jumlah dari leukosit mampu dipertahankan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan normalnya jumlah dari leukosit yang seharusnya mengalami peningkatan sebagai respon dari infiltrasi *T.*

*evansi*. Pemberian ekstrak daun mimba pada kelompok K4 dengan dosis 400 mg/kgBB dan kelompok K5 yang diberi dosis 800 mg/kgBB, mampu menekan kemampuan manipulasi apoptosis dari *T. evansi* sehingga jumlah leukosit pada kelompok perlakuan K4 dan K5 mengalami peningkatan walaupun masih dalam jumlah yang normal dibandingkan dengan kelompok K2 yang diberi ekstrak daun mimba dengan dosis 50mg/kgBB.

### Kadar Hemoglobin

Rata-rata ( $\pm$ SD) kadar hemoglobin tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) dan diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya ditampilkan pada Gambar 4. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba sangat berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar hemoglobin tikus putih jantan yang diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya.

Kadar hemoglobin tikus putih jantan terendah ditemukan pada kelompok K2 dan kadar hemoglobin tertinggi terdapat pada kelompok K0. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kadar hemoglobin yang terdapat pada kelompok K1, K2, K4, dan K5 berada di bawah kisaran normal sedangkan pada kelompok K0 berada dalam kisaran normal. Kusumawati (2004) menyatakan bahwa kadar hemoglobin normal tikus berkisar antara 11,1 – 18,00 g/dl.

Kadar hemoglobin tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* dengan konsentrasi  $5 \times 10^4$  memperlihatkan kadar hemoglobin dibawah normal. Setelah terinfeksi oleh *T. evansi* maka tikus akan memperlihatkan penurunan jumlah eritrosit akibat terjadinya *hemolisis intravascular* (Widener dkk., 2007) dan *erythrophagocytosis* oleh *mononuclear phagocytic system* (MPS) yang berukuran besar dan sangat aktif serta diikuti dengan penurunan kadar hemoglobin (Yusuf

dkk., 2013). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin mengalami penurunan yang selaras.

Pemberian daun mimba pada dosis 400mg/kgBB dan 800mg/kgBB mampu menekan pengaruh dari *T. evansi* terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang dibuktikan dengan meningkatnya grafik jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diperlihatkan oleh K4 dan K5 dibandingkan dengan K1 sebagai kontrol positif. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya aktifitas antioksidan dari senyawa *polyphenol* yang terkandung pada daun mimba. Aktifitas antioksidan ini akan memperkuat membran sel eritrosit dan mencegah terjadinya hemolisis oleh *T. evansi* sehingga kadar hemoglobin dapat dipertahankan (Ngure dkk., 2009).

### Nilai hematokrit

Rata-rata ( $\pm$ SD) nilai hematokrit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) dan diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya ditampilkan pada Gambar 5. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba sangat berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap nilai hematokrit tikus putih jantan yang diinfeksi *T. evansi* isolat Krueng Raya.

Nilai hematokrit tikus putih tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K0 dan terendah terdapat pada kelompok perlakuan K2. Nilai hematokrit K0 (38%) berada pada kisaran normal sesuai dengan pendapat Kusumawati (2004), bahwa nilai hematokrit normal tikus berkisar antara 36,00 – 52,00%. Sedangkan nilai hematokrit tikus putih pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan berada di bawah normal.

Tikus pada kelompok K1 memperlihatkan nilai hematokrit yang berada dibawah kisaran normal. Hal ini

disebabkan akibat tikus pada kelompok ini telah diinfeksi dengan *T. evansi* dengan konsentrasi  $5 \times 10^4$ . *T. evansi* menyebabkan terjadinya parasitemia, penurunan nilai hematokrit dan berat badan, serta kematian (Ngure dkk., 2009). Anemia dari suatu individu diukur dari nilai hematokrit yang diperlihatkan (Mamoudou dkk., 2015). *T. evansi* menyebabkan berkurangnya jumlah eritrosit dengan cara melisis membran eritrosit dengan menginduksi terjadinya oksidasi di dalam sel darah merah (Ngure dkk., 2009) dan memicu terjadinya *eritrophagocytosis* oleh *mononuclear phagocyte system* (MPS) yang berukuran besar dan sangat aktif (Yusuf dkk., 2013). Berkurangnya jumlah eritrosit akan terlihat pada penurunan nilai hematokrit yang diperparah oleh infeksi parasit oportunistik (Mamoudou dkk., 2015).

Pemberian daun mimba pada kelompok perlakuan K2, K4, dan K5 dengan dosis : 50mg/kg BB, 400mg/kg BB dan 800mg/kg BB memperlihatkan sedikit peningkatan nilai hematokrit seiring dengan bertambahnya jumlah dosis yang diberikan. Daun mimba mampu mencegah terjadinya *hemolisis intravaskular* pada eritrosit. Hal ini terjadi karena aktifitas antioksidan dari senyawa *polyphenol* yang terkandung pada daun mimba. Aktifitas antioksidan ini akan memperkuat membran sel eritrosit guna mencegah terjadinya hemolisis oleh *T. evansi* sehingga nilai hematokrit dapat dipertahankan. *Polyphenol* juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein yang mampu merusak membran sel dari *T. evansi* (Ngure dkk., 2009).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian daun mimba dengan dosis 400mg/kgBB dan 800mg/kgBB memperlihatkan hasil yang kurang efektif dalam mempertahankan

jumlah eritrosit dan leukosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit dari tikus yang terinfeksi *T. evansi*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atawodi, S.E. and J.C. Atawodi. 2009. *Azadirachta indica* (neem): a plant of multiple biological and pharmacological activities. **Phytochem.** 8:601-620.
- Azambuja, P.D and E.S. Garcia. 1992. Effects of azadirachtin on *Rhodnius prolixus*: immunity and *Trypanosoma* interaction. **Mem.Inst.Oswaldo. Cruz.** 87(5):69-72.
- Carmona, T.M.P., J. Garrizzo, A.R. Gonzalez, F. Tejero, A. Escalante, and P.M. Aso. 2006. Susceptibility of different mouse strains to experimental infection with a Venezuelan isolate of *Trypanosoma evansi*. **The Journal of Protozoology Research.** 16:1-8
- Desquesnes, M., A. Dargantes, D.H. Lai, Z.R. Lun, P. Holzmuller, and S. Jittapalpong. 2013. *Trypanosoma evansi* and Surra: a review and perspectives on transmission, epidemiology and control, impact, and zoonotic aspects. **Bio Med Research International.** 2013:1-20.
- Gaspersz. 1991. **Metode Perancangan Percobaan.** CV. Armico, Bandung.
- Happi, A.N., D.A. Milner, and R.E. Anti. 2012. Blood and tissue leucocyte apoptosis in *Trypanosoma brucei* infected rats. **Journal of Neuroparasitology.** 3:1-10.
- Hoare, C.A. 1972. **The Trypanosomes of Mammals.** A Zoological Monograph. Backwell Scientific Publications, Oxford.
- Kusumawati, D. 2004. **Bersahabat dengan Hewan Coba.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Mamoudou, A., V.K. Payne, and S.L. Sevidzem. 2015. Hematocrit alterations and its effects in naturally infected indigenous cattle breeds due to *Trypanosoma spp.* on the Adamawa Plateau-Cameroon. **Veterinary World.** 8(6): 813-818.
- Monzon, C.M., I.I. Villavicencil, J.P. Roux, J.P, and O.A. Mancebo. 1991. Estudios hematologicos and cobayos y equinos infectados com el *Trypanosoma evansi*. **Vet Arg VII.** 80:668-676.
- Muharsini, S., L. Natalia, Suhardono, dan Darminto. 2006. Inovasi Teknologi Dalam Pengendalian Penyakit Ternak Kerbau. **Makalah Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau di Indonesia.** Bogor.
- Ngure, R.M., B. Onger, S.M. Karori, W. Wachira, R.G. Maathai, J.K. Kibugi, and F.N. Wachira. 2009. Anti-trypanosomal effects of *Azadirachta indica* (neem) extract on *Trypanosoma brucei rhodesiense*-infected mice. **Eastern Journal of Medicine.** 14. 2-9.
- Rue, M.L.D.L., R.A.M.S. Silva, J.H.S.D. Silva, and G.A.D. Carli. 2000. Leucocytes and reticulocytes counts in acute infection of dogs with *Trypanosoma evansi*. **Revista Latinoamericana de Microbiologia.** 42:163-166.
- Rukmana, M.P., T. Djati, E. Gunawan, dan G. Ashadi. 1981. Perbandingan Keganasan *T. evansi* Antara Asal Daerah di Jawa Barat Terhadap Kecepatan Kematian Tikus. **Risalah Pertemuan Ilmiah.** Jakarta.
- Sandoval, G.L., N.B. Coppo, M.S. Negrette, and M.J.A. Coppo. 1994. Alteracoes bioquimicas e histopatologicas de um cao e ratos infectados com *Trypanosoma evansi*. **Hora Vet.** 14:53-55.
- Silva, R.A.M.S., N.A.E. Arosemena, H.M. Herrera, C.A. Sahib, and M.S.J. Ferreira. 1995. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* in horses of the Pantanal Mato-Grossense, Brazil. **Vet Parasitol.** 60:167-171.
- Soulsby, E.J.L. 1982. **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.** Bailliere Tindall, London.
- Widener, J., M.J. Nielsen, A. Shiflett, S.K. Moestrup, and S. Hajduk. 2007. Hemoglobin is a co-factor of human *Trypanosoma* lytic factor. **PLoS Pathogens.** 3(9): 1250-1261.
- Wolkmer, P., A.S.D. Silva, C.K. Traesel, F.C. Paim, J.F. Cargnelluti, M. Pagnoncelli, M.E. Picada, S.G. Monteiro, and S.T.A. Lopes. 2009. Lipid peroxidation associated with anemia in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology.** 165: 41-46.
- Yusuf, O.S., B.S. Oseni, A.O. Olayanju, M.A. Hassan, A.A. Ademosun, and R.Y. Akele. 2013. Acute and chronic effects of *Trypanosoma Brucei* experimental infection on bone marrow and peripheral blood cells in wistar rats. **Scholars Journal of Applied Medical Sciences.** 1(6):1036-1040.