

Studi Kadar Glukosa Darah Mencit yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* dengan Daya Virulensi yang Berbeda

(Study of Blood Glucose Level of Mice Infected with Different Virulency of
Trypanosoma evansi)

Dyah Haryuningtyas Sawitri, Wardhana AH

Balai Besar Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114
dyah_damanjaya@yahoo.com

ABSTRACT

Trypanosoma evansi is a haemoflagellated protozoa infecting livestock and known as Surra. The parasite grows and develops in a host depending on supply of blood glucose of the host. The blood glucose is required for both metabolism and motility of the parasite. A preliminary study revealed that livestock fed with high grade ration containing high blood glucose level tended to have higher and persistently longer parasitaemia compared to livestock with low grade ration, containing low glucose level. So far, there is no study focusing on comparison of blood glucose level on livestock infested with different virulency of *T. evansi* (high and low virulency). The aim of the study is to investigate pattern of parasitaemia and blood glucose levels in mice infected with different virulency of *T. evansi*. A total of 30 mice strain DDY was divided into three groups (ten mice for each group). Group I was a control, group II was mice infected with Bangkalan isolate (B87/high virulency) and group III was mice infected with Pernalang isolate (P287/low virulency). Clinical symptom and mortality of mice were daily observed and parasitaemia and blood glucose level were observed every two and four days, respectively. Blood glucose level was measured using Stiptest[®] glucose. Result demonstrated that blood glucose level of group II (high virulency) rapidly decreased on day four after infestation. Conversely, parasitaemia level reached a peak on that day. Different pattern occurred on group III (low virulency) showing that blood glucose level of mice was fluctuating for 12 days and dramatically declined on day 16. Interestingly, blood glucose level of group III was influenced by the parasitaemia level.

Key Words: *Trypanosoma evansi*, Blood Glucose Level, Parasitemia, Mice

ABSTRAK

Trypanosoma evansi merupakan protozoa haemoflagella yang menginfestasi hewan ternak sebagai penyebab Surra. Untuk memelihara kelangsungan hidupnya, *Trypanosoma* tergantung pada suplai glukosa yang cukup dari darah inangnya. Glukosa digunakan oleh *Trypanosoma* dalam proses metabolisme dan pergerakan. Sejauh ini, studi tentang perbedaan kadar glukosa darah dari ternak yang diinfestasi *Trypanosoma* dengan daya virulensi yang berbeda (virulensi tinggi dan rendah) belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infestasi *T. evansi* yang berbeda virulensinya pada hewan model (mencit) terhadap tingkat parasitemia dan kadar glukosa darahnya. Sebanyak 36 ekor mencit DDY jantan digunakan pada penelitian ini, yaitu enam ekor untuk memperbanyak *T. evansi* dan 30 ekor untuk perlakuan yang dibagi menjadi tiga kelompok dengan ulangan 10 ekor mencit/perlakuan, yaitu perlakuan 0 (P 0) adalah kelompok kontrol; perlakuan I (PI) adalah kelompok mencit yang diinfeksi *T. evansi* berdaya virulensi tinggi (isolat Bangkalan = B 87) dan perlakuan II adalah kelompok mencit yang diinfeksi *T. evansi* berdaya virulensi rendah (isolat Pernalang = P 287). Pengamatan kematian hewan coba dilakukan setiap hari, sedangkan tingkat parasitemia diamati setiap dua hari dan kadar glukosa diamati setiap empat hari. Kadar glukosa diukur menggunakan *strip test* glukosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit kelompok PI menunjukkan penurunan kadar glukosa darah pada hari keempat pascainfeksi pada saat tingkat parasitemia mencapai puncak di dalam darah. Kematian serentak (100%) terjadi pada hari kelima pascainfeksi. Sebaliknya, meskipun tingkat parasitemia mencapai puncak pada hari keenam pascainfeksi, tetapi kadar glukosa darah pada mencit kelompok PII masih dalam kategori normal. Penurunan kadar glukosa darah terjadi pada hari ke-16. Kematian mencit terjadi secara berhatap, dimulai pada hari kesepuluh (10%), hari ke-12 (30%) dan hari ke-18 (100%). Hasil studi ini mendukung data uji patogenitas kedua isolat tersebut yang telah dilaporkan sebelumnya.

Kata Kunci: *Trypanosoma evansi*, Kadar Glukosa Darah, Parasitemia, Mencit

PENDAHULUAN

Trypanosoma evansi merupakan protozoa haemoflagella yang menginfeksi hewan ternak sebagai penyebab Surra. Parasit ini ditransmisikan secara mekanik oleh lalat haematophagus seperti *Tabanus spp* dan *Stomoxys spp*. Kejadian Surra dalam bentuk akut dapat menyebabkan kematian yang tinggi, terutama pada spesies hewan peka seperti kuda, anjing, unta dan wallabies (Reid et al. 1999). Adapun bentuk kronik sebagian besar terjadi pada spesies hewan yang lain, termasuk sapi, kerbau, kambing dan domba (Luckins 1998). Bentuk akut dari penyakit ini ditandai dengan anemia progresif, demam tinggi, anoreksia, depresi, bulu kusam, hilang keseimbangan dan kematian, sedangkan bentuk kronik lebih umum ditandai terjadinya relaps parasitemia dengan atau tanpa demam, kekurusan, odem abdomen dan kaki, abortus dan kematian pada beberapa kasus (Raisinghani & Lodha et al. 1980; Haroun et al. 2000). Wabah Surra telah dilaporkan menyerang unta di Afrika (Diall et al. 1994) dan kerbau, kuda, sapi, babi dan rusa di Asia (Njiru et al. 2004; Omanwar et al. 1999). Di Indonesia, wabah Surra terjadi pada tahun 2010-2012 di Pulau Sumba yang menyebabkan kematian lebih dari 2.000 ekor kuda dan kerbau (Anonymous 2013). Pada tahun 2013-2014 wabah Surra telah terjadi di Pandeglang, Provinsi Banten (Anonymous 2014).

Untuk menjaga kelangsungan hidupnya, *Trypanosoma* tergantung pada suplai glukosa darah inangnya (Yorke et al. 1929; Geiger et al. 1930; Von Brand & Vergi 1948). Glukosa digunakan pada proses metabolisme dan pergerakan *Trypanosoma*.

Beberapa perubahan kimia darah pada kuda poni dan kuda juga pernah dilaporkan oleh Soodan et al. (1996) dan Marques et al. (2000), yaitu terjadinya penurunan albumin darah dan peningkatan tingkat globulin, hipoglikemia dan peningkatan indeks ikterus.

Menurut Partoutomo et al. (1996) bahwa ternak yang diinfeksi dengan *T. evansi* dan diberi ransum bermutu tinggi menunjukkan tingkat parasitemia yang lebih tinggi dibandingkan dengan ternak yang diinfeksi *T. evansi* dan diberi ransum bermutu rendah. Hasil ini berbeda dengan Hornby (1949) yang menyatakan bahwa hewan yang mendapat

ransum bermutu rendah akan lebih memicu perkembangan parasit di dalam tubuh inang dibandingkan dengan hewan yang mendapat ransum bermutu tinggi. Perbedaan tersebut diduga karena ransum yang bermutu tinggi memiliki kadar glukosa yang lebih stabil dibandingkan dengan ransum bermutu rendah. Pernyataan ini didukung oleh Jatkar & Singh (1974) yang menyimpulkan bahwa jumlah parasit dalam darah berbanding terbalik dengan kadar glukosa darah. Kendati demikian, kedua penelitian di atas juga tidak menyebutkan daya virulensi *T. evansi* yang digunakan.

Akhir-akhir ini, penelitian *Trypanosoma* menggunakan hewan model mencit banyak menimbulkan pemikiran baru dalam kaitannya kasus Trypanosomiasis pada hewan dan manusia. Kendala etik dan praktis pada penelitian *Trypanosoma* dapat diatasi dengan penggunaan mencit sebagai hewan model, termasuk untuk studi tentang kadar glukosa darah inang pascainfeksi *T. evansi*. Sejauh ini, belum ada laporan apakah ada perbedaan kadar glukosa darah pada hewan yang diinfeksi isolat *T. evansi* dengan daya virulensi tinggi dan rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infeksi *T. evansi* dengan virulensi yang berbeda pada mencit terhadap kadar glukosa darahnya.

MATERI DAN METODE

Hewan coba

Sebanyak 36 ekor mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) galur DDY digunakan pada penelitian ini, yaitu enam ekor untuk perbanyakan *T. evansi* dan tiga puluh ekor untuk pengamatan kadar glukosa darah. Mencit berumur 3-4 bulan dengan bobot badan antara 25-30 gram. Sebelum digunakan, semua mencit diaklimatisasi terlebih dahulu kurang lebih dua minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badannya. Mencit diberi pakan pellet dan air minum secara *ad libitum*.

Perbanyakan isolat *Trypanosoma evansi*

Dua isolat *T. evansi* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *Balivvet Culture Collection* (BCC) Balai Besar Penelitian

Veteriner (BB Litvet) yang disimpan dalam nitrogen cair, yaitu isolat Bangkalan 87 (B87) yang memiliki daya virulensi tinggi dan isolat Pernalang 287 (P287) yang memiliki daya virulensi rendah. Masing-masing isolat diperbanyak sebagai sumber infeksi dengan cara disuntikkan pada mencit secara intraperitoneal (i.p.) dan diamati tingkat parasitemianya setiap dua hari sekali dengan cara potong ekor. Apabila parasitemia telah mencapai 10^4 - 10^5 *Trypanosoma*/mL darah, maka isolat *T. evansi* tersebut dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Infeksi *Trypanosoma evansi* pada Mencit

Mencit dengan tingkat parasitemia tinggi digunakan sebagai sumber infeksi *T. evansi*. Darah mencit dikoleksi dari vena ujung ekor menggunakan spuit yang mengandung antikoagulan heparin dan *phosphate buffer saline glucose* (PBS-Glukosa). Selanjutnya, 1-10 μ l darah yang mengandung *T. evansi* diencerkan 100-1000 kali (tergantung tingkat parasitemianya) dengan PBSG. Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan dosis 10^4 *Trypanosoma*/ekor mencit dan disuntikkan secara intraperitoneal (i.p.).

Perlakuan

Sebelum diinfeksi *T. evansi*, tiga puluh ekor mencit ditimbang dan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan (sepuluh mencit per perlakuan) secara acak. Perlakuan 0 (P0): Mencit tidak diinfeksi dengan *T. evansi* dan digunakan sebagai kontrol (mencit normal); Perlakuan I (PI): Mencit diinfeksi dengan 10^4 *T. evansi* isolat Bangkalan 87 (B87/ virulensi tinggi); Perlakuan II (PII): Mencit diinfeksi dengan 10^4 *T. evansi* isolat Pernalang 287 (P287/virulensi rendah).

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah mortalitas mencit, tingkat parasitemia dalam pembuluh darah *perifer* dan tingkat glukosa darah. Mortalitas mencit diamati setiap

hari. Tingkat parasitemia dihitung setiap dua hari sekali, sedangkan kadar glukosa darah diukur setiap empat hari sekali.

Penghitungan parasitemia dalam pembuluh darah *perifer*

Tingkat parasitemia dihitung menurut metode yang dilakukan oleh Subekti et al. (2013). Ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung (± 10 μ l) selanjutnya dicampur dengan sodium disulphate (SDS) 1% (1:1). Segera setelah homogen, darah diencerkan dalam PBSG dengan perbandingan (1:100 atau 1:1.000) sesuai derajat parasitemia. Campuran darah, SDS 1% dan PBSG dihomogenisasi, kemudian diperiksa dengan menggunakan *haemocytometer (neubauer improved)*. Jumlah parasit dihitung dalam kamar hitung leukosit dan ditetapkan jumlahnya dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah parasit/ml} = A \times B \times 10^4$$

A = Jumlah *Trypanosoma* yang terhitung di ruang leukosit

B = Pengenceran suspensi saat akan dilakukan penghitungan

Pengukuran kadar glukosa darah mencit

Pengukuran kadar glukosa darah mencit dilakukan setiap empat hari sekali dengan menggunakan *strip* glukosameter (Accucheck™). Mencit yang akan dites kadar glukosanya dipuaskan terlebih dahulu selama 16 jam. Mencit diberi makan terakhir jam 16.00 kemudian diambil darahnya pada jam 08.00 hari berikutnya. Pengambilan darah dilakukan melalui vena ekor dengan cara potong ekor. Tetesan darah pertama dibuang, tetesan darah berikutnya diperiksa menggunakan strip glukosameter. Reagen *strip* yang telah ditetesi darah vena dimasukkan ke dalam alat pemeriksa, kemudian hasilnya dibaca pada layar dalam waktu kurang dari 30 detik. Nilai yang tertera pada layar adalah konsentrasi gula darah dalam mg/dl. Kadar glukosa darah mencit normal strain DDY adalah 110-185 mg/dl.

Analisis data

Seluruh data pengamatan ditabulasikan ke dalam *microsoft excel* dan dilakukan analisis deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan kadar glukosa darah

Selama masa penelitian (dua puluh hari pengamatan) diperoleh hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit pada kelompok P0 (kontrol) berkisar 116-120 mg/dl mulai (Gambar 1) sehingga seluruh mencit dalam kelompok P0 masuk dalam kategori normal. Penurunan kadar glukosa darah pada kelompok PI yang diinfeksi dengan isolat *T. evansi* berdaya virulensi tinggi terjadi sekitar 40%, yaitu dari 119,8±1,74 menjadi 71,9±7,45 mg/dl pada hari keempat pascainfeksi. Penurunan kadar glukosa darah yang cukup tajam diikuti

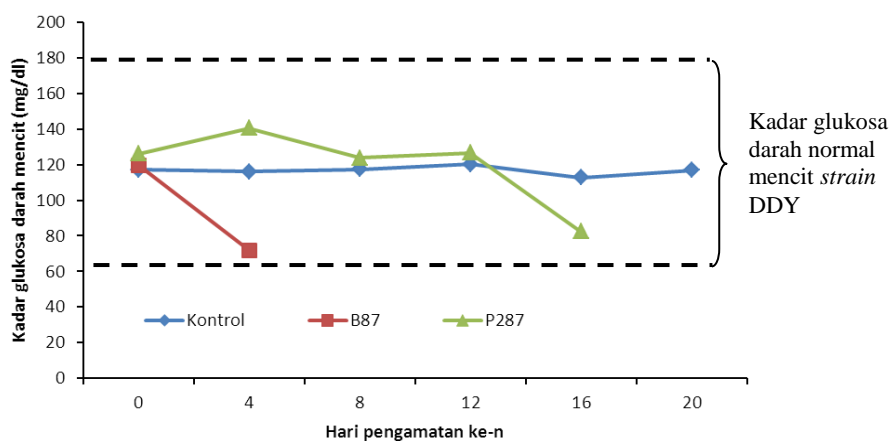
dengan kematian secara serentak (100%) pada hari kelima pascainfeksi (Tabel 1). Hasil tersebut berbeda dengan kelompok PII yang diinfeksi dengan isolat *T. evansi* berdaya virulensi rendah. Meskipun selama masa pengamatan kadar glukosa darah mencit terlihat fluktuatif, tetapi masih masuk dalam kategori normal (Gambar 1), kecuali pada hari ke-16, sebelum mengalami kematian pada hari ke-20. Tujuh dari sepuluh ekor mencit (70%) tetap menunjukkan kadar gula darah yang normal sampai dengan hari ke-12 pascainfeksi. Tiga ekor yang lainnya (30%) mengalami kematian (Gambar 2).

Hingga pengamatan hari ke-16, hanya empat ekor (40%) mencit yang bertahan hidup pada kelompok PII karena tiga ekor lainnya mengalami kematian pada hari ke-14 (Gambar 2). Hasil rata-rata kadar glukosa darah mencit pada pengamatan hari ke-16 mengalami penurunan sebesar 32% dari 126,57±6,85 menjadi 82,50±17,60 g/dl (Tabel 1).

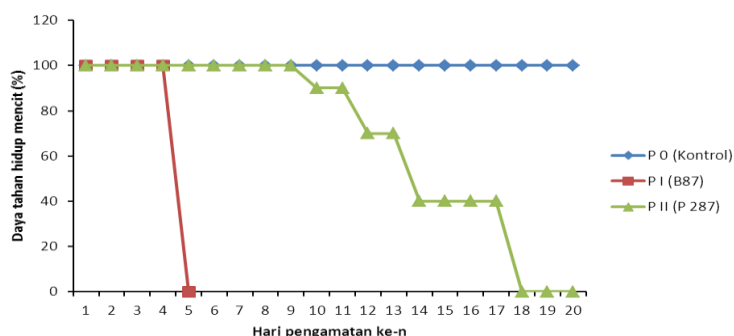
Tabel 1. Hasil rata-rata pengukuran kadar glukosa darah mencit strain DDY ± simpangan kesalahan (SE) pasca perlakuan berdasarkan hari pengamatan ke-n

Perlakuan	Kadar glukosa darah (g/dl) ± SE pada hari pengamatan ke-n					
	0	4	8	12	16	20
P0 (kontrol)	117,00±2,44	116,00±2,99	117,25±3,52	120,25±0,98	112,75±3,07	116,75±2,09
PI (B87)	119,80±1,74	71,90±7,45	Mati	Mati	Mati	Mati
PII (P287)	126,10±3,32	140,60±4,26	123,80 ± 2,90	126,57±6,85*	82,50±17,60**	Mati

*: Total tiga ekor mencit mati pada hari ke-12; **: Total tiga ekor mencit mati pada hari ke-14; Mati: 100% mencit mati



Gambar 1. Fluktuasi rata-rata kadar glukosa darah mencit strain DDY pada berbagai macam perlakuan berdasarkan hari pengamatan ke-n selama dua puluh hari



Gambar 2. Persentase daya tahan hidup mencit strain DDY pada berbagai macam perlakuan berdasarkan hari pengamatan ke-n selama 20 hari

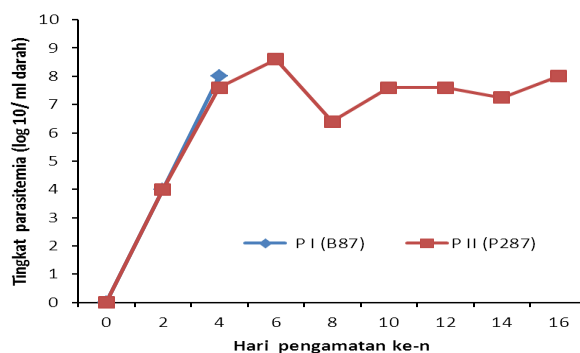
Selanjutnya, seluruh mencit mengalami kematian pada hari ke-18 pascainfeksi. Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat *T. evansi* dengan daya virulensi rendah akan menyebabkan terjadinya hipoglikemia dalam waktu lebih dari dua minggu atau dalam keadaan kronis. Meskipun mencit mati dalam waktu kurang dari dua minggu, tetapi kadar glukosa darahnya tidak mengalami penurunan. Kondisi ini berbeda dengan mencit-mencit yang diinfeksi dengan isolat *T. evansi* yang memiliki daya virulensi tinggi.

Tingkat parasitemia

Pola tingkat parasitemia mencit yang diinfeksi *T. evansi* dengan daya virulensi tinggi dan rendah menunjukkan perbedaan (Gambar 3). Puncak parasitemia kelompok PI terjadi pada keempat pascainfeksi (10^8 parasit/ml darah) sedangkan pada kelompok PII puncak parasitemia dicapai pada hari keenam

pascainfeksi (10^8 - 10^9 parasit/ml darah) (Tabel 2). Berdasarkan tingkat parasitemianya, kedua *T. evansi* yang diinfeksi juga menunjukkan pola daya tahan hidup mencit yang berbeda (Gambar 1). Walaupun tingkat parasitemia kedua isolat meningkat secara tajam sampai hari keempat pascainfeksi, tetapi seluruh mencit yang diinfeksi dengan *T. evansi* berdaya virulensi tinggi mengalami kematian secara serentak (100%) pada hari kelima (Gambar 3). Keadaan ini tidak terjadi pada isolat *T. evansi* yang berdaya virulensi rendah. Kenaikan tingkat parasitemia yang tajam berlangsung sampai hari keempat dan mencapai puncaknya pada hari keenam tanpa diikuti dengan kematian mencit. Kematian mencit baru terjadi pada hari kesepuluh (10%), berlanjut pada hari ke-12 (20%) dan seluruh mencit mati pada hari ke-18 (100%).

Menurut Subekti et al. (2013) bahwa kematian mencit yang terjadi secara serempak merupakan isolat *T. evansi* yang termasuk



Gambar 3. Rata-rata tingkat parasitemia mencit yang diinfeksi *T. evansi* dengan daya virulensi yang berbeda berdasarkan hari pengamatan ke-n

Table 2. Distribusi tingkat parasitemia dan kematian mencit yang diinfeksi *T. evansi* dengan daya virulensi yang berbeda berdasarkan pengamatan hari ke-n

Perlakuan	Tingkat parasitemia (jumlah hewan) pada hari pengamatan ke-n								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
PI (M 87)	10 ⁴ (10)	10 ⁸ (10)*	Mati (10)						
PII (P 287)	10 ⁴ (10)	10 ⁷ (4); 10 ⁸ (6)	10 ⁸ (4); 10 ⁹ (6)*	10 ⁸ (4); 10 ⁷ (2); 10 ⁴ (3); TD (1)	10 ⁸ (6); 10 ⁷ (3); Mati (1)	10 ⁸ (5); 10 ⁷ (1); 10 ⁶ (1); Mati (2)	10 ⁸ (3); 10 ⁵ (1); Mati (3)	10 ⁸ (4)	Mati (4)

*: Puncak parasitemia; TD: Parasit tidak ditemukan dalam darah *perifer*; Mati: Hewan coba mengalami kematian

dalam biotipe-1. Ciri khas biotipe-1 adalah peningkatan parasitemia secara tajam pada waktu singkat dengan konsentrasi parasit yang tinggi (10⁷-10⁸/ml darah) dan umumnya hanya bertahan dalam waktu 2-4 hari, karena langsung diikuti dengan kematian secara serentak (60-100%). Akibat daya tahan hidup mencit yang relatif singkat sejak pertama kali parasitemia terdeteksi, maka kelompok biotipe-1 tersebut mempunyai virulensi yang tinggi.

Adapun kematian mencit yang terjadi secara bertahap mulai hari ke-10-20 merupakan *T. evansi* yang termasuk biotipe-2. Ciri khas biotipe-2 adalah pola parasitemia bergelombang (-tinggi-rendah-tinggi-) dapat terjadi sekali atau berulang kali dalam siklus biologi *T. evansi*. Pola tersebut dikenal sebagai *undulating parasitaemia* (parasitemia undulan) dan isolat dalam kelompok ini mempunyai virulensi yang rendah.

Hubungan tingkat parasitemia dan kadar glukosa darah

Puncak parasitemia mencit kelompok PI yang dicapai pada hari keempat memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit sehingga terjadi penurunan hingga 40% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Jatkar & Singh (1974) bahwa jumlah parasit dalam darah berbanding terbalik dengan kadar glukosa darah. Berbeda dengan kelompok PII, meskipun puncak parasitemia dicapai pada hari keenam, tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kontrol. Kadar glukosa

darah kelompok PII mengalami kenaikan pada hari keempat dan selanjutnya berfluktuasi tidak tinggi sampai hari ke-12.

Pola di atas diduga karena isolat PI (B87) yang merupakan isolat dengan virulensi tinggi yang mengambil glukosa dalam jumlah yang banyak sehingga menurunkan kadar glukosa darah inangnya. Menurut Katunguka-Rwakishava et al. (1992) dan Silva et al. (1997) bahwa pada hewan yang terinfeksi *Trypanosoma* akan mengalami hipoglikemia dan kejadian ini disebabkan oleh peningkatan rata-rata metabolisme karena demam (Stephen 1986), degenerasi hepatosit (Von Brand 1973) atau konsumsi glukosa oleh *Trypanosoma* (Opperdoes et al. 1987). Pola ini tidak terjadi pada isolat PII (P 287). Meskipun tingkat parasitemianya tinggi, tetapi kadar glukosa darah masih masuk dalam kategori normal. Penurunan yang cukup tajam terjadi pada hari ke-12 menuju hari ke-16 dan diikuti dengan kematian hewan coba pada hari ke-18. Hasil-hasil di atas mendukung hasil uji patogenitas *T. evansi* pada mencit sebelumnya dan uji molekular lainnya yang membuktikan bahwa isolat *T. evansi* B 87 dari Bangkalan dan P 287 dari Pemalang memiliki karakteristik yang berbeda apabila diinfeksi ke mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan dengan dana APBN TA 2013. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Eko Setyo Purwanto, Farlin Nefo dan Edi Satria atas bantuan teknis di laboratorium.

KESIMPULAN

Perbedaan daya virulensi isolat *T. evansi* berhubungan dengan kadar glukosa darah mencit. Infeksi *T. evansi* isolat Bangkalan 87 (B87/virulensi tinggi) menyebabkan penurunan kadar glukosa darah mencit secara drastis pada saat puncak parasitemia (hari keempat pascainfeksi) dan kematian mencit terjadi secara akut dan serempak pada hari kelima pascainfeksi. Sebaliknya, mencit yang diinfeksi *T. evansi* isolat Pemalang 287 (P287/virulensi rendah) tidak menunjukkan penurunan kadar glukosa darah walaupun berada pada kondisi puncak parasitemia. Sebagian besar mencit masih bertahan hidup hingga hari kesepuluh, kemudian mengalami kematian secara bertahap. Penurunan kadar glukosa darah hari ke-16 pascainfeksi (mengalami infeksi kronis) dan terjadi kematian pada hari ke-18.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2013. Dinas Peternakan Sumba Timur.
- Anonimus. 2014. Balai Veteriner Subang.
- Diall O, Bayjana Songa E, Magnus E, Kouyate B, Diallo B, Van Meirvenne N, Hamer SR. 1994. Evaluation of a direct serologic card agglutination test for the diagnosis of camel trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi*. Res Sci Tech.13:793-800.
- Geiger A, Kligler I J, and Comaroff R. 1930. Ann Trop Med. 24, 319. In: Marshall PB. 1948. The glucose metabolism of *Trypanosoma evansi* and the action of trypanocides. Brit J Pharmacol. 3:8.
- Haroun EM, Magzoub M, Mahmoud OM, Al-Qarawi AA, Al-Hawas AM, Omer OH. 2000. Some clinico-pathological aspects of experimental *Trypanosoma evansi* infection in Najdi camels (*Camelus dromedarius*). J Camel Practice Research.7:101-106.
- Hornby HE. 1949. Animal trypanosomiasis in Eastern Africa. 52:39.
- Jatkar PR, Singh M. 1974. Pathogenesis of anaemia in *Trypanosoma evansi* infection. IV. Blood glucose studies. Indian Vet J. 51:710-714.
- Katunguka-Rwakishava, Murray EM, Holmes PH. 1992. The pathophysiology of ovine trypanosomiasis: Haematological and blood biochemical changes. Vet Parasitol. 68:231-225.
- Luckins A G. 1998. Studies on the control and economic impact of trypanosomiasis in livestock in Indonesia. [http://www.dfid-hp.org.uk/index.php?section=4 & subsection=107](http://www.dfid-hp.org.uk/index.php?section=4&subsection=107)
- Marques LC, Machado RZ, Alessi AC. 2000. Experimental infection with *Trypanosoma evansi* in horses: Clinical and haematological observations. Rev Bras Parasitol Vet. 9:11-15.
- Njiru ZK, Constantine CC, Ndung'u JM, Robertson I, Okaye S, Thomson RCA, Reid SA. 2004. Detection of *Trypanosoma evansi* in camels using PCR and CATT/*T. evansi* test in Kenya. Vet Parasitol. 124: 187-199.
- Omanwar S, Rao JR, Basagoudanavar SH, Singh RK and Butchaiah G. 1999. Direct and sensitive detection of *Trypanosoma evansi* by polymerase chain reaction. Acta Vet Hung. 47:351-359.
- Opperdoes F R, Coppens I, Baudhuin P. 1987. Digestive enzymes, receptor-mediated endocytosis and their role in the nutrition of the bloodstream-form trypanosome. In: Chang KP, Snary D, editors. Host-parasite cellular and molecular interactions in protozoal infections. Berlin (Germany): Springer-Verlag. p. 51-56
- Partoutomo S. 1996. Patogenesis *Trypanosoma evansi* kerbau yang diberi ransum bermutu tinggi dan rendah. JITV. 2:137-144
- Raisinghani PM and Lodha KR. 1980. Prognostic values of some haematological and biochemical parameters of camels affected with surra following the treatment with Antrycide methyl sulphate, Naganol and Berenil. Indian Vet J. 50:479-484.
- Reid SA, Husein A, Hutchinson GW, Copeman DB. 1999. A possible role for rusa deer (*Cervus timorensis russa*) and wild pigs in spread of *Trypanosoma evansi* from Indonesia to Papua New Guinea. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro. 94 (2):195-197
- Silva Rams, Victorio A M, Ramirez L. 1997. Effects of *Trypanosoma evansi* on the blood chemistry and hematology of coatis (*Nasua nasua*) naturally infected in the Pantanal, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 92:110.
- Soodan JS, Sood NK, Khahra SS. 1996. Clinic-pathological studies in donkeys experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. Indian J Anim Sci. 66:443-448.
- Subekti DS, Sawitri DH, Suhardono, Wardhana AH. 2013. Pola parasitemia dan kematian mencit

- yang diinfeksi *T. evansi* isolat Indonesia. JITV. 18:274-290.
- Stephen LE. 1986. *Trypanosomiasis: A veterinary perspective*. Oxford (UK): Oxford Pergamon. p. 511.
- Von Brand T. *Biochemistry of parasites*. 1973. 2nd ed. New York (US): New York Academic. p. 409.
- Von Brand T, Vergi ZP. 1948. In: Marshall PB, editor. The glucose metabolism of *Trypanosoma evansi* and the action of trypanocides. Brit J Pharmacol.3-8.
- Yorke W, Adams ARD, Murgatroyd F. 1929. Ann Trop Med. 23:501. In: Marshall PB. 1948. The glucose metabolism of *Trypanosoma evansi* and the action of trypanocides. Brit J Pharmacol. 3:8.