

# Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Malaka (*Phyllanthus emblica*) Terhadap Jumlah dan Diferensial Leukosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi*

(The effect of malacca leaves (*Phyllanthus emblica*) ethanol extract to leukocytes and differential leukocytes counts white rat (*Rattus norvegicus*) infected *Trypanosoma evansi*)

Citra Ayudystira Ramadhani<sup>1</sup>, Nuzul Asmiliana<sup>2\*</sup>, Yudha Fahrimal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Study Program of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia,

<sup>2</sup>Laboratory of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia,

<sup>3</sup>Laboratory of Parasitology, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

\*Penulis untuk korespondensi: nuzulasmilia@unsyiah.ac.id

Diterima 14 April 2022, Disetujui 30 Maret 2023

## ABSTRAK

Tripanosomiasis merupakan penyakit menular akut atau kronis pada hewan yang disebabkan oleh protozoa darah *Trypanosoma sp.* Tripanosomiasis tersebar di hampir seluruh wilayah Indonesia dan menyerang hewan seperti kuda, sapi, kerbau, dan anjing. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dalam menurunkan jumlah leukosit dan diferensial leukosit tikus putih yang diinfeksi *Trypanosoma evansi*. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih yang dibagi kedalam 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif (K0) tanpa infeksi *T.evansi* dan tanpa ekstrak etanol daun malaka, kelompok kontrol positif (K1) diinfeksi *T.evansi* tanpa diberikan ekstrak etanol daun malaka, kelompok perlakuan K2, K3, dan K4 diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600, dan 900 mg/kg berat badan. Infeksi *T. evansi* dilakukan secara intraperitoneal sedangkan ekstrak diberikan secara oral selama 3 hari berturut-turut. Pengambilan darah dilakukan pada hari keempat setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata  $\pm$  SD nilai leukosit dan diferensial leukosit (granulosit, monosit, dan limfosit) dari K1, K2, K3, dan K4 lebih tinggi dari K0. Jumlah masing-masing sel leukosit menurun setelah pemberian ekstrak etanol daun malaka. Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa infeksi *T. evansi* meningkatkan jumlah leukosit dan diferensial leukosit dan pemberian ekstrak etanol daun malaka dosis 600 mg/kg bb mampu mengembalikan jumlah leukosit dan diferensial leukosit dalam nilai normal.

**Kata kunci:** daun malaka, diferensial leukosit, leukosit, *Trypanosoma evansi*

## ABSTRACT

Tripanosomiasis is an acute or chronic infectious disease in animals caused by the blood protozoa *Trypanosoma evansi*. This study aims to determine the effect of ethanol extract of malacca leaves (*Phyllanthus emblica*) in reducing the number of leukocytes and differential leukocytes in white rats infected with *Trypanosoma evansi*. This study used 20 white rats which were divided into 5 groups and each group consisted of 4 rats. The negative control group (K0) without *T.evansi* infection and without malacca leaf ethanol extract, the positive control group (K1) infected with *T.evansi* without being given the malacca leaf ethanol extract, treatment groups K2, K3, and K4 infected with *T.evansi* and given the extract Malacca leaf ethanol with doses of 300, 600, and 900 mg/kg body weight. *T. evansi* infection was performed intraperitoneally while the extract was administered orally for 3 consecutive days. Blood sampling was carried out on the fourth day after treatment. The results showed that the mean  $\pm$  SD of leukocyte and differential leukocyte values (granulocytes, monocytes, and lymphocytes) of K1, K2, K3, and K4 were higher than K0. The number of each leukocyte cell decreased after administration of ethanol extract of malacca leaves. From the research, it can be concluded that *T. evansi* infection increases the number of leukocytes and differential leukocytes and administration of ethanol extract of Malacca leaves at a dose of 600 mg/kg bw is able to restore the number of leukocytes and differential leukocytes in normal values.

**Keywords:** differential leucocytes, malacca leaves, leucocytes, *Trypanosoma evansi*

## PENDAHULUAN

*Trypanosoma evansi* merupakan suatu parasit darah berflagella yang menyebabkan penyakit tripanosomiasis atau surra pada hewan (OIE, 2009). Evans menemukan penyakit parasit darah ini pada tahun 1880 yang menginfeksi kuda di India. Hewan yang paling rentan terhadap penyakit ini adalah kuda, unta, dan anjing (Partoutomo, 1995), sedangkan hewan liar yang rentan diantaranya adalah rusa (Adrian et al., 2010), wallaby (Reid et al., 2001), badak (Vellayan et al., 2004), dan hewan domestik dapat berpotensi sebagai sumber infeksi (Dargantes et al., 2005). Tikus dan mencit yang merupakan hewan coba juga sangat rentan terhadap infeksi *Trypanosoma evansi* (OIE, 2009). Tripanosomiasis tersebar di hampir seluruh wilayah Indonesia dan menyerang hewan seperti kuda, sapi, kerbau, dan anjing (Partoutomo, 1995). Penularan parasit ini terjadi secara mekanis yang dibawa oleh vektor penghisap darah antara lain *Tabanus sp* dan *Stomoxys sp* (Payne et al., 1991).

Turunnya bobot badan, anemia, infertilitas, abortus, turunnya produksi, dan kemampuan kerja serta kematian merupakan kerugian ekonomi yang disebabkan oleh penyakit tripanosomiasis (Partoutomo, 1996). Anemia yang hebat umumnya dapat menyebabkan kematian pada hewan penderita (Hilali et al., 2006). Menurut Cheah et al. (1996), Tripanosomiasis pada sapi dapat menyebabkan kerugian besar dalam produksi susu dan berat badan.

Meningkatnya jumlah sel darah putih juga merupakan infeksi dari *T.evansi* (Wayan et al., 1981). Sel darah putih berfungsi sebagai pertahanan tubuh yang kuat dan cepat terhadap agen-agen infeksius. Jumlah leukosit dalam sirkulasi akan meningkat akibat rangsangan aktivitas jaringan myeloid untuk memproduksi sel-sel leukosit ke sirkulasi apabila ada antigen asing yang masuk ke dalam tubuh (Cahyaningsih et al., 2008).

Pengobatan penyakit *T.evansi* sangat bergantung dengan obat-obatan kimia seperti suramin, diminazene azeturat, isometamedium, quinapyramine, dan cymelarsan. Tetapi di berbagai negara Asia (Zhou et al., 2004), dan Afrika (Delespoux et al., 2008) sudah terjadi resistensi *Trypanosoma* terhadap tripanosida. Oleh karena itu, diperlukan penemuan obat baru untuk tripanosida yang berasal dari tumbuhan.

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat oleh warga Indonesia salah satunya adalah malaka. Berdasarkan pendapat Dhale (2012), buah, daun, dan akar pohon malaka mengandung senyawa polifenol (tanin) dan flavonoid. Menurut Rukayah (2008) Flavonoid dapat melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, anti inflamasi, anti bakteri, antivirus dan antibiotik alami. Kemampuan

flavonoid ini dapat menurunkan jumlah leukosit akibat benda asing yang masuk kedalam tubuh yang bersifat pathogen dan merusak.

Ekstrak daun malaka juga efektif digunakan untuk pengobatan kemoterapi (Singh et al., 2011), antivirus, antimutagenik, antialergi (Khopde et al., 2001) dan antimalaria (Asmilia et al., 2018) antitumor (Sumalatha, 2013), antimikroba, antibakteri, antijamur (Singh et al., 2015). Hingga saat ini belum ada penelitian daun malaka sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit tripanosomiasis. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian ini pada tikus putih jantan yang diinfeksi *Trypanosoma evansi* yang kemudian diberikan ekstrak etanol daun malaka untuk melihat penurunan jumlah leukosit dan diferensial leukosit. Tujuan Penelitian adalah Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun malaka terhadap jumlah leukosit dan diferensial leukosit yang diinfeksi *Trypanosoma evansi*.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

### Prosedur Penelitian

#### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Malaka

Daun malaka yang telah tumbuh sempurna diambil sebanyak 3 kg dan dikeringkan dengan suhu ruangan tanpa terkena matahari. Lalu daun malaka yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan penggiling/blender sehingga menjadi serbuk dan dimasukkan ke wadah yang tertutup dan dimaserasi dengan menggunakan etanol, pelarut yang digunakan diganti setiap 24 jam sekali. Proses maserasi digunakan berulang-ulang sampai diperoleh larutan jernih. Larutan hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan pompa vakum yang diberikan kertas saring. Ekstrak cair yang didapat tersebut kemudian diuapkan (dikentalkan) menggunakan alat rotary evaporator yang dilengkapi penagas air dan pompa vakum pada suhu 30-40°C. Sampai diperoleh ekstrak kasar/kental.

### Hewan Coba

Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Komisi Etik Penggunaan Hewan Percobaan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala dengan nomor 219/KEPH/III/2022

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan dengan kisaran umur 3 bulan dengan bobot badan 80-100 gram. *Trypanosoma evansi* diperoleh dari laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

### Propagasi *Trypanosoma evansi*

*Trypanosoma evansi* yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Straw yang berisi kultur *Trypanosoma evansi* dikeluarkan dari tabung nitrogen cair lalu dibiarkan dalam air untuk mencairkannya. Kultur *Trypanosoma evansi* dihisap dengan spuid 1 ml lalu disuntikkan ke mencit. Darah mencit diperiksa setiap hari untuk melihat perkembangan *Trypanosoma evansi*. Setelah mencapai jumlah  $10^7 - 10^8$ /ml darah, darah mencit yang berisi *Trypanosoma evansi* diambil dan diencerkan menjadi konsentrasi akhir  $10^3/300\mu\text{l}$  untuk diinokulasikan ke masing-masing tikus yang dipakai dalam perlakuan.

### Infeksi *Trypanosoma evansi* pada mencit

16 ekor tikus diinfeksi  $10^3$  *Trypanosoma evansi* secara intra peritorial dan 4 ekor tikus dijadikan sebagai kontrol (K0). 16 ekor tikus yang telah diinfeksi dibagi secara acak dalam kelompok K1, K2, K3, dan K4 (tiap-tiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus). K0 tanpa infeksi *Trypanosoma evansi* dan tanpa ekstrak daun malaka, K1 diinfeksi *Trypanosoma evansi* tanpa ekstrak daun malaka, K2 diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan ekstrak daun malaka dengan dosis 300 mg/kg bb, K3 diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan ekstrak daun malaka dengan dosis 600 mg/kg bb, dan K4 diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan ekstrak daun malaka dengan dosis 900 mg/kg bb. Ekstrak etanol daun malaka diberikan secara oral dengan menggunakan spuid 1 ml dan diberikan selama 3 hari berturut-turut.

### Pengambilan Sampel Darah

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

### Perhitungan Jumlah Leukosit dan Diferensial Leukosit

Darah tikus diambil pada hari ke-4 pada pagi hari, darah diambil sebanyak  $\pm 1$  ml/ekor dan dimasukkan masing-masing ke tabung vacutainer yang sudah berisi

antikoagulan. Kemudian darah tersebut dihitung menggunakan alat hematology analyzer. Sampel darah yang telah diberi antikoagulan dihomogenkan terlebih dahulu. Lalu alat hematology analyzer dinyalakan. Setelah alat dinyalakan, masukkan data tikus. Kemudian darah yang telah diberi antikoagulan ditempatkan dibawah probe. Secara otomatis darah pada tabung diambil sebanyak  $0,2 \text{ mm}^3$  oleh sampling needle. Hasil pemeriksaan jumlah leukosit dan diferensial leukosit muncul secara otomatis setelah menunggu  $\pm 2$  menit dalam bentuk print out.

### Analisis data

Data kuantitatif dari parameter yang diukur dianalisis berdasarkan ANAVA (Analysis of Varians) dan selanjutnya diuji dengan Beda Nyata Terkecil/BNT (Garpersz, 1989).

## HASIL

### Nilai Leukosit

Rata-rata  $\pm$ SD jumlah leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dapat dilihat pada Tabel.1

Tabel 1 Rata-rata  $\pm$ SD jumlah leukosit pada tikus putih jantan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis yang berbeda.

Parameter	Leukosit ( $10^3/\mu\text{L}$ )
K0	$17,68 \pm 1,55^a$
K1	$49,43 \pm 8,74^c$
K2	$40,50 \pm 2,12^b$
K3	$20,00 \pm 1,42^a$
K4	$32,91 \pm 2,03^b$

Keterangan: K0: tidak diinfeksi *T.evansi* dan tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka, K1: diinfeksi *T.evansi* tanpa diberikan ekstrak etanol daun malaka, K2, K3, K4: diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600 dan 900 mg/kg bb. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Menurut Aboderin dan Oyetayu (2006) kisaran jumlah leukosit normal pada tikus adalah  $5,10^3$ -

25,10<sup>3</sup> sel/ $\mu$ L. Tabel. 1 menunjukkan bahwa jumlah leukosit pada kelompok kontrol (Ko) yang tidak diinfeksi *T.evansi* dan tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka berada dalam kisaran normal yaitu 17,68x10<sup>3</sup> $\mu$ L. Sedangkan K1 adalah kelompok tikus yang diinfeksi *T.evansi* tetapi tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka sehingga jumlah leukosit mengalami peningkatan dari kelompok kontrol (Ko) yaitu 49,43x10<sup>3</sup> $\mu$ L. Hal ini dikarenakan tikus merupakan hewan yang sangat peka terhadap infeksi *T.evansi* sehingga dapat menyebabkan beberapa perubahan hematologi dan biokimia darah (Paim et al., 2011).

### Nilai Diferensial Leukosit

Rata-rata  $\pm$ SD jumlah sel granulosit, monosit, dan limfosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap jumlah sel limfosit dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap granulosit, dan monosit diantara 5 kelompok perlakuan.

Tabel 2 Rata-rata  $\pm$ SD jumlah sel granulosit, monosit, dan limfosit pada tikus putih jantan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis yang berbeda.

Parameter	Granulosit (10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	Monosit (10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	Limfosit (10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)
Ko	11,92 $\pm$ 2,38 <sup>a</sup>	4,97 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>	74,82 $\pm$ 7,17 <sup>a</sup>
K1	24,45 $\pm$ 2,14 <sup>b</sup>	8,22 $\pm$ 1,93 <sup>b</sup>	84,02 $\pm$ 1,88 <sup>a</sup>
K2	20,80 $\pm$ 3,11 <sup>b</sup>	5,85 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	79,80 $\pm$ 8,48 <sup>a</sup>
K3	11,75 $\pm$ 2,04 <sup>a</sup>	4,65 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	75,22 $\pm$ 6,09 <sup>a</sup>
K4	15,30 $\pm$ 1,31 <sup>a</sup>	6,00 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	80,33 $\pm$ 3,30 <sup>a</sup>

Keterangan: Ko: tidak diinfeksi *T.evansi* dan tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka, K1: diinfeksi *T.evansi* tanpa diberikan ekstrak etanol daun malaka, K2, K3, K4: diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600 dan 900 mg/kg bb. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil uji statistik nilai diferensial leukosit menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap jumlah sel granulosit tikus putih yang diinfeksi *T.evansi*.

Jumlah sel granulosit tikus tanpa diinfeksi *T.evansi* dan tanpa ekstrak etanol daun malaka (Ko) adalah 11,92 $\pm$ 2,38%. Pada K1 jumlah sel granulosit tikus putih yang diinfeksi *T.evansi* tanpa diberikan daun malaka mengalami peningkatan yaitu 24,45 $\pm$ 2,14%. Dan pada kelompok yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600, dan 900 mg/kg bb (K2, K3, dan K4) mengalami penurunan dari jumlah kelompok kontrol (Ko) yaitu 20,80  $\pm$  3,11; 11,75  $\pm$  2,04 dan 15,30  $\pm$  1,31. Kelompok perlakuan K2 yaitu dosis 300 mg/kg bb belum mampu mengembalikan jumlah granulosit mencapai jumlah normal kelompok kontrol. Sedangkan kelompok perlakuan K3 dan K4 yaitu dosis 600 dan 900 mg/kg bb hampir mencapai nilai normal kelompok kontrol.

## PEMBAHASAN

Jumlah leukosit pada tikus dari masing-masing kelompok perlakuan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600, 900 mg/mg bb menunjukkan penurunan dengan kelompok perlakuan K1. Dari semua dosis perlakuan, dosis ekstrak etanol daun malaka yang dapat mencapai nilai normal yaitu pada dosis 600 mg/kg bb dengan nilai leukosit 20,00x10<sup>3</sup> $\mu$ L. Hasil uji statistik menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh secara nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap peningkatan jumlah leukosit tikus putih (Tabel 1).

Menurut Cahyaningsih et al. (2008) leukosit berfungsi sebagai pertahanan tubuh yang cepat dan kuat terhadap agen-agen infeksius. Apabila ada antigen asing, maka jumlah leukosit dalam sirkulasi meningkat akibat rangsangan aktivitas jaringan mieloid untuk memproduksi sel-sel leukosit ke sirkulasi (Furman et al., 2014). Jumlah leukosit yang menurun dapat menyebabkan antibodi yang dibentuk sedikit yang menyebabkan daya tahan tubuh menurun sebaliknya jumlah leukosit yang meningkat dapat menyebabkan antibodi meningkat sehingga daya tahan tubuh kuat (Wardiny et al., 2012).

Antigen permukaan yang dibawa oleh *T. evansi* bersifat imunogen sehingga menyebabkan respon imun oleh tubuh hospes. Antigen yang masuk dikenali oleh Antigen Presenting Cell (APC) yang berupa sel dendritik dan makrofag. Oleh sel dendritik dan makrofag antigen yang masuk diperkenalkan kepada sel Th (helper). Sel Th ini kemudian mengaktifkan limfosit untuk melakukan respon imun (Tizard, 2000).

Sel granulosit terdiri dari eosinofil, basofil, dan neutrofil. Dari ketiga sel granulosit tersebut yang paling berperan penting terhadap penanggulangan infeksi parasit adalah eosinofil. Hal ini sejalan dengan temuan Paim et al. (2011) bahwa tikus yang terinfeksi

*T.evansi* memiliki jumlah eosinofil lebih tinggi. Menurut Jain (1993) bahwa meningkatnya eosinofil menandakan banyaknya infeksi parasit.

Eosinofilia dapat terjadi akibat infeksi cacing, peradangan, atau alergi (Samuelson 2007). Eosinofil berperan dalam memakan kompleks antigen-antibodi, tetapi tidak memakan dan menghancurkan mikroorganisme. Kondisi penurunan eosinofil dapat ditemui pada keadaan stres dan level kortikosteroid di dalam darah yang meningkat (Weiss dan Wardrop, 2010).

Fungsi basofil yang telah diketahui adalah membangkitkan proses peradangan akut pada tempat deposisi antigen. Fagositosis oleh basofil sangat terbatas. Basofil muncul utamanya pada aktivitas peradangan langsung dengan mekanisme yang hampir sama seperti yang dilakukan oleh sel mast (Guyton dan Hall, 2006). Kondisi penurunan jumlah neutrofil atau neutropenia umum terjadi setelah terapi pemberian kortikosteroid dalam jumlah besar. Kondisi neutropenia disebabkan rusaknya sel-sel prekursor neutrofil di sumsum tulang dan terjadinya hipersensitivitas obat yang mengenai sirkulasi neutrofil serta terbentuknya antibodi terhadap kompleks obat-protein yang bekerja sebagai antigen. Neutrofil yang dilapisi komplemen akan cepat dikeluarkan dari sirkulasi oleh sel retikulum endoplasma (Hoffbrand 2006).

Jumlah monosit tikus putih pada kelompok kontrol (K0) adalah  $4,97 \pm 1,09\%$  dan masih berada dalam kisaran normal jumlah monosit tikus menurut Douglas dan Wardrop (2010) yaitu 1-6%. Kemudian mengalami peningkatan pada kelompok tikus yang diinfeksi *T.evansi* tanpa ekstrak daun malaka (K1) yaitu  $8,22 \pm 1,93\%$ . Pada kelompok perlakuan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak daun malaka dengan dosis 300, 600, dan 900 mg/kg bb (K2, K3, dan K4) dapat mengembalikan jumlah monosit ke dalam kisaran jumlah normal monosit tikus putih jantan.

Tizard (2000) mengatakan bahwa, peran monosit adalah memfagositosis, kemudian akan berubah menjadi makrofag setelah meninggalkan peredaran darah dan masuk di jaringan. Makrofag mengolah antigen meregulasi imun dan memperbaiki jaringan rusak dengan membuang jaringan yang mati.

Rata-rata jumlah limfosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi *T.evansi* dan diberi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) ditunjukkan pada Tabel 2. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai limfosit tikus putih yang diinfeksi *T.evansi*.

Jumlah limfosit normal pada tikus putih yaitu 60-75% (Douglas dan Wardrop, 2010). Jumlah limfosit pada kelompok kontrol (K0) adalah 74,82% dan

masih berada dalam kisaran jumlah limfosit normal. Kemudian pada kelompok tikus yang diinfeksi *T.evansi* tanpa diberikan ekstrak etanol daun malaka mengalami peningkatan dari kelompok kontrol yaitu 84,02%. Jumlah limfosit pada kelompok yang diinfeksi *T.evansi* dan diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 300, 600, dan 900 mg/kg bb (K2, K3, dan K4) juga mengalami penurunan dari kelompok kontrol (K0), yaitu 79,80%; 75,22% dan 80,33% (Tabel 2). Pemberian ekstrak etanol daun malaka dosis 600 mg/kg berat badan pada kelompok tikus yang diinfeksi *T.evansi* dapat menurunkan jumlah limfosit mendekati jumlah limfosit normal pada kelompok kontrol (K0). Sedangkan ekstrak etanol daun malaka dosis 300 dan 900 mg/kg bb belum mampu menekan perkembangan *T.evansi*.

Tanaman malaka memiliki kandungan senyawa seperti polifenol (tannin) serta flavonoid (Catherine et al., 2015). Asmilia et al. (2020) mendapatkan didalam ekstrak etanol daun malaka mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid dan saponin. Berdasarkan kandungan ini, kemungkinan aktifitasnya sebagai antitripanosoma karena ekstrak ini mengandung fenolik dan flavonoid. Menurut Karira et al. (2004) sejumlah senyawa yang memiliki struktur kimia seperti alkaloid, kuinolid, flavonoid, terpenoid, dan fenolik mengandung zat aktif antiprotozoa. Kemampuan flavonoid ini dapat menurunkan jumlah leukosit akibat benda asing yang masuk kedalam tubuh yang bersifat pathogen dan merusak. Kemampuan inilah yang menyebabkan keberadaan pathogen tidak dapat meningkat dan jumlah leukosit meningkat dalam darah, begitu juga dengan kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol daun malaka.

Hal ini sejalan dengan pernyataan dari Lehane dan Saliba (2008) bahwa beberapa senyawa flavonoid dapat mempengaruhi integritas membran parasit dengan mengganggu permeabilitasnya. Hal ini dapat mengganggu proses vital parasit seperti transportasi nutrisi dan pengeluaran produk limbah, yang akhirnya menghambat pertumbuhan dan kelangsungan hidup parasit.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dosis 600 mg/kg bb pada tikus putih yang telah diinfeksi *Trypanosoma evansi* mampu menurunkan jumlah leukosit, granulosit, monosit, dan limfosit mencapai jumlah kisaran normal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala yang telah memfasilitasi penelitian ini.

"Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak terkait dalam penelitian ini".

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboderin, F. I dan V. O, Oyetayo. (2006). Haematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, isolated from fermenting corn slurry. *Pakistan Journal Nutrition*. 5:102-105.
- Adrian, S.M., A.S. Rehana., L. Hassan., and M.T. Wong. (2010). Outbreaks of trypanosomiasis and the seroprevalence of *Trypanosoma evansi* in a deer breeding centre in Perak, Malaysia. *Tropical Animal Health and Production*. 42(2): 145-150.
- Asmilia, N., Armansyah, T., Aliza, D., Melia, J. and Daulay, L.S.M. (2018). The effect of malacca leaves (*Phyllanthus emblica*) ethanolic extract on *Plasmodium falciparum* growth in vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan* 12(4): 93-96.
- Asmilia, N., Abrar, M., Fahrimal, Y., Sutriana, A. dan Husna, Y. (2020). Potential of malacca leaf (*Phyllanthus emblica*) against *Salmonella* sp. In *E3S Web of Conferences*, 151(01029): 1-5.
- Catherine, P.B., Kevin, D.C., Natalie, W., Michael, J. C., Jonathan, M. H. (2015). Dietary flavonoids and nitrate effects on nitric oxide and vascular function. *Nutrition Review*. 74:216-235.
- Cahyaningsih, U., H. Malichatin, dan Y.E. Hedianto. (2007). Differensial Leukosit Ayam setelah Diinfeksi *Eimeria tenella* dan Pemberian Serbuk Kunyit (*Curcuma domestica*) dosis bertingkat. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Cheah, T. S., Sani R.A., Chandrawathani P., Sansul B. & Dahlan, I. (1997). Natural Infection of *T. evansi* in crossbred calves in a farm in Peninsular Malaysia. In Proc: 9th Veterinary Association Malaysia Scientific Congress, 3-5 October 1997, Penang p. 38-40 (OP)
- Delespau, V., D. Geysen., P. Van den Bossche. and S, Geerts. (2008). Molecular tools for the rapid detection of drug resistance in animal Trypanosomes. *Trends in Parasitol*. 24:236-242. Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Delespau V, Koning H. Drugs and drug resistance in African trypanosomiasis. *Drug Resist Updat*. 2007;10:30-5
- Dhale, D.A. 2012. Pharmacognostic evaluation of *Phyllanthus emblica* Linn (Euphorbiaceae). *International Journal Pharmacy Biology Science*. 3(3):210-217
- Douglass, J.W., and Wardrop, K.J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*. 6<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell. P852-887.
- Furman, E., E. Leidinger., E.H. Hooijberg., N. Bauer., G.Beddie, and A.Moritz. (2014). A Retrospective Study of 1098 Blood Samples With Anemia From Adult Cats: Frequency, Classification, and Association With Serum Creatinine Content Ration. *Journal Veteriner International Medical*. 28:1391-1397.
- Gasperz, V. (1991). *Metode Perancangan Percobaan*. CV Armico, Bandung.
- Guyton, A.C. dan Hall, E.J. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. Elsevier Inc. Philadelphia.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. (2008). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. EGC, Jakarta.
- Hoffbrand, V. (2006). *At a Glance Hematology*. EMS, Jakarta. *Chemopreventive Activity of Amla (Phyllanthus emblica)*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science Medicinal and Plant*, 12(1), 388 – 389.
- Jain, N.C. 1993. *Essential of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger. Karira, P.G., G.M. Rukunga., A.W. Wannonyvi., F.M. Muregi., J.W. Gathirwa, and S.A. Omar. (2004). Anti-plasmodial activity and toxicity of extract of plants used in traditional malaria therapy in Mern and Kifili Districts of Kenya. *Journal Ethnopharmacol*. 34:160-168.
- Khopde, S.M., K.I. Priyadarsini, and H. Mohan. (2001). Characterizing the antioxidant activity of amla (*Phyllanthus emblica*) extract. *Current Science*. 81:185-190.
- Lehane, A. M., & Saliba, K. J. (2008). Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. *BMC research notes*, 1(1), 1-5.
- OIE. (2009). *African Animal Trypanosomiasis*. Institute for International Cooperation in Animal Biologis. College of Veterinary Science. Iowa State University, Iowa.
- 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. Franca., C.M.A. Mazzanti., S.G. Monteiro., A. Krause. dan S.T.A. Lopes. (2011). Cytokines in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Experimental Parasitology*. 128:365-370.
- Partoutomo, S. 1995. Studies on the Epidemiology of *Trypanosoma evansi* in Java. Thesis. Department of Biomedical and Tropical Veterinary Science. James Cook University. NQ. Australia.
- 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.
- Payne, R.C., Sukanto, I.P., D, Djauhari. and T.W. Jones.

- (1991). *Trypanosoma evansi* infection in bovine and buffalo calves in Indonesia. *Veterinary Parasitol.* 38(2-3):253-256.
- Reid, S.A., Husein, A., Partoutomo. and S, Copeman. (2001). The susceptibility of two species of wallaby to infection with *Trypanosoma evansi*. *Australia Veterinary Journal.* 79(4):285-288.
- Rukayah, S. (2008). Gambaran Sel Darah Putih Pada Kelinci yang Divaksin Dengan Ekstrak Caplak (*Rhipicephalus sanguineus*). *Skripsi.* Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor.
- Samuelson, D.A. (2007). *Textbook of Veterinary Histology.* Saunders, China.
- Singh, N., C. Mathur, N.A. Sase, S. Rai, and J. Abraham. (2015). Pharmaceutical properties of emblica officinalis and Phyllanthus emblica extracts. *Res. Journal Pharmacy Biology Chemical Science.* 6(1):10071016.
- Singh, E., S, Sharma., A, Pareek., J, Dwivedi., S, Yadav. and S, Sharma. (2011). Phytochemistry, traditional uses and cancer chemopreventive activity of amla (*Phyllanthus emblica*): The sustainer. *Journal of Applied Pharmaceutical.* 2(1):176-183.
- Sumalatha, D. 2013. Antioxidant and antitumor activity of Phyllanthus emblica in colon cancer cell lines. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science.* 2(5):189-195.
- Tizard, I. R. (2017). *Veterinary Immunology-E-Book.* Elsevier Health Sciences.
- Vellayan, S., Mohamad, Aidi., Radcliffe, R.W., Lowenstine, L.J., Epstein, J., Reid, S.A., Paglia, D.E., Radcliffe, R.M., Roth, T.L., Foose, T.J., Khan, M., Jayam, V., Reza S. and Abraham, M. (2004). Trypanosomiasis (Surra) in The Captive Sumatran Rhinoceros (*Dicerorhinus Sumatrensis*) in Peninsular Malaysia. *Proceedings of the International Conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine.* 11:187-189.
- Verdilo, J.C.M., J, V. Lazaro., N,S. and C, N. Mingala. (2012). Comporative virulence of three *Trypanosoma evansi* isolates from water buffaloes in the Philippines. *Exp Parasitology.* 130: 130-134.
- Wardiny, T.M., Retnani, dan Taryati. (2012). Pengaruh Ekstrak Daun Mengkudu terhadap Profil Darah Puyuh Starter. *JITP,* 2(2): 110-120.
- Weiss, D.J. and Wardrop, J.K. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology.* 6th Ed Blackwell Publishing, Iowa (US).
- Zhou, J., J, Shen., D, Liao., Y, Zhou. and J, Lin. (2004). Resistance to drug by different isolates *Trypanosoma evansi* in China. *Acta Trop,* 90:271.