

PERBEDAAN LAMANYA HIDUP *Trypanosoma evansi* PADA BERBAGAI MEDIA***Differences in The Lifespan of Trypanosoma evansi in Various Media*****Lulu Lusita^{1*}, M. Kanedi¹, Enny Saswiyanti², Endah Setyaningrum¹, Sisca Valinata²**¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung²Balai Veteriner Lampung, Lampung

*Email: lululusita29@gmail.com

Abstract

The diagnosis of Surra disease has limitations that make it impossible to test *Trypanosoma evansi* samples directly on all samples. This is due to limitations in time and medical and paramedical personnel in field diagnosis, thus requiring research on *T. evansi* live media solutions. The purpose of this study was to determine the lifespan of *T. evansi* in various media solutions and which media solution was most effective. This study was experimental in nature, using a *Completely Randomized Design (CRD)* and three replicates. Data analysis was performed using the LDS test, followed by an Analysis of Variance (ANOVA) test to find significant differences in the lifespan of *T. evansi* in various media solutions; *Phosphate Buffer Saline Glucose (PBSG)*, Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM) 1X + GlutaMAXTM, NaCl infusion (sodium chloride 0.9%), coconut water. The results of the statistical test at room temperature showed significant differences, with the *Phosphate Buffer Saline Glucose (PBSG)* solution sample being the best media solution for the survival of *T. evansi* parasites.

Keywords: *Blood Parasites; Parasitology; Surra; Trypanosoma evansi; Trypanosomiasis***Abstrak**

Diagnosis penyakit Surra memiliki keterbatasan yang membuat pengujian sampel *Trypanosoma evansi* tidak dapat dilakukan secara langsung pada semua sampelnya. Hal ini dikarenakan adanya keterbatasan waktu, tenaga medis dan paramedis dalam diagnosis di lapangan, sehingga dibutuhkan penelitian tentang larutan media hidup *T. evansi*. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui lamanya hidup *T. evansi* pada berbagai larutan media dan larutan mana yang paling efektif. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan *Completely Randomized Design (CRD)* dan tiga ulangan. Analisis data dilakukan menggunakan uji LDS, diikuti dengan uji Analysis of Variance (ANOVA) untuk menemukan perbedaan signifikan dalam lama hidup *T. evansi* dalam berbagai larutan media *Phosphate Buffer Saline Glucose (PBSG)*, Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM) 1X + GlutaMAXTM, infus NaCl (sodium klorida 0,9%), air kelapa. Hasil uji statistik pada suhu ruang menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan sampel larutan *Phosphate Buffer Saline Glucose (PBSG)* menjadi larutan media terbaik untuk kelangsungan hidup parasit *T. evansi*.

Kata Kunci: *Blood Parasites; Parasitology; Surra; Trypanosoma evansi; Trypanosomiasis*

PENDAHULUAN

Parasit darah di Penyakit Surra, atau yang dikenal sebagai Trypanosomiasis, adalah infeksi parasit pada hewan yang disebabkan oleh protozoa *Trypanosoma evansi*. Parasit ini hidup di dalam plasma darah inang dan dapat menular ke hewan lain melalui gigitan serangga penghisap darah. Menurut Dewa (2015), penularan *T. evansi* umumnya terjadi secara mekanis diperantarai oleh berbagai jenis lalat penghisap darah, seperti *Tabanus*, *Haematobia*, *Stomoxys*, *Haematopota*, *Hippobosca*, dan *Chrysops*. Penyebaran penyakit Surra dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti lalu lintas ternak, perpindahan hewan dari satu tempat ke tempat lain berpotensi menyebarkan penyakit, keberadaan vektor. Populasi serangga penghisap darah yang tinggi dapat mempercepat penularan, Yadav *et al.*, (2016). Cara pemeliharaan hewan, seperti praktik pemeliharaan ternak yang kurang baik atau tidak higienis bisa meningkatkan risiko infeksi. Usia ternak, yaitu hewan ternak yang berusia lebih dari lima tahun cenderung lebih rentan terhadap penyakit ini. Informasi ini diperkuat oleh studi yang dilakukan oleh Praing *et al.*, (2023).

Interaksi antara satwa liar dan ternak (*wildlife-livestock interfaces*) telah menjadi perhatian utama para peneliti karena potensi penularan patogen infeksius, yang dapat mengancam kelangsungan hidup ternak, satwa liar, dan bahkan manusia (Wiethoelter *et al.*, 2015). Penularan ini juga menyebabkan kerugian ekonomi. Salah satu patogen penting yang dapat menyerang hewan domestik adalah parasit darah. Infeksi ini bisa bersifat akut maupun kronis, dan keduanya berbahaya bagi ternak. Meskipun infeksi kronis tidak langsung menyebabkan kematian, dampaknya tetap merugikan secara ekonomi karena dapat menurunkan berat badan ternak, melemahkan daya tahan tubuh terhadap penyakit lain, dan mengurangi kemampuan reproduksi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi *T. evansi* dapat menyebabkan perubahan signifikan pada tubuh hewan. Hal ini termasuk penurunan kadar glukosa darah, peningkatan kadar protein, serta peningkatan kadar SGOT dan SGPT, yang mengindikasikan adanya kerusakan hati. Pemeriksaan histopatologi pada otak juga menunjukkan adanya oedema atau kongesti pembuluh darah pada selaput otak. Aspek penting lainnya yang perlu diwaspadai adalah potensi transmisi parasit darah yang dapat menular ke hewan ternak atau satwa liar (Kholik *et al.*, 2023). Hal ini menekankan pentingnya pengawasan terhadap kesehatan hewan untuk melindungi kesehatan masyarakat.

T. evansi penyebab penyakit Surra, hidup di plasma darah dan cairan jaringan inang. Parasit ini memiliki karakteristik unik, yaitu ia dapat mengubah antigen permukaan tubuhnya (variasi antigenik) untuk menghindari deteksi oleh sistem kekebalan tubuh inang, dan hanya terdeteksi dalam sirkulasi darah saat tingkat parasitemia (jumlah parasit dalam darah) sedang tinggi. Oleh karena itu, pengembangan teknologi deteksi yang canggih sangat penting untuk mendukung diagnosis penyakit ini (Haryadi *et al.*, 2022). Gejala awal penyakit Surra pada hewan yang terinfeksi dapat diamati melalui perubahan perilaku.

Dari berbagai dampak yang diakibatkan oleh parasit *T. evansi* ini, memunculkan berbagai permasalahan yang tidak hanya pada hewan yang terinfeksi, seperti hewan menunjukkan tanda-tanda lesu, diikuti dengan kenaikan suhu tubuh yang menyebabkan demam, dan penurunan nafsu makan. Jika tidak ditangani, kondisi ini dapat berujung pada kematian hewan (Sulaeman *et al.*, 2019). Sementara itu, tantangan utama yang dihadapi paramedis di lapangan adalah keterbatasan waktu diagnosis, khususnya saat harus menangani sampel dalam jumlah besar. Berdasarkan urgensi tersebut, penelitian ini penting dilakukan. Selain untuk memperkaya literatur ilmiah, penelitian ini bertujuan menyediakan solusi efisiensi waktu melalui pencarian media alternatif untuk penyimpanan sampel yang belum diperiksa. Sehingga ketika dihadapkan dengan situasi dan waktu yang terbatas sampel-sampel pemeriksaan bisa disimpan dan dilanjutkan dengan melakukan diagnosis di laboratorium.

Hal ini juga menjadi alasan peneliti untuk melakukan penelitian ini agar memudahkan proses penelitian yang dilakukan oleh medik dan paramedis veteriner dalam proses pengambilan sampel di lapangan. Sebagai parasit obligat, *T. evansi* mutlak membutuhkan inang hidup untuk bertahan hidup (Hasanuddin, 2019), sehingga menjadikan salah satu hambatan paramedis saat proses pengecekan sampel di lapangan saat situasi yang tidak memungkinkan untuk melakukan pengecekan secara langsung.

METODE

Metode Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi hewan uji dilakukan selama 7 hari dengan melakukan pemeliharaan mencit di dalam kandang. Perlu dilakukan pemeriksaan terhadap pakan, air dan kondisi kandang mencit.

Metode Isolasi Hewan Uji

Dilakukan penyuntikan isolat parasit *T. evansi* dengan jarum 1 cc sebanyak 1 ml pada bagian intraperitoneal ke masing-masing mencit yang usianya 2–3 bulan, kemudian langkah selanjutnya adalah melakukan pemeliharaan terhadap 1 ekor mencit tersebut selama 5 hari dengan pemberian pakan dan air mineral yang normal. Tujuan pemeliharaan ini hanya untuk menghidupkan kembali isolat parasit yang sebelumnya telah disimpan di dalam lemari pendingin atau lemari tempat penyimpanan isolat. Selama jalannya proses pemeliharaan, mencit dipastikan tetap dalam keadaan aman di dalam kandang dengan selalu melakukan pengontrolan rutin setiap harinya. Setelah proses pemeliharaan selama 5 hari dilakukan pemanenan dan proses penelitian selanjutnya.

Metode Pemanenan Darah

Setelah proses pemeliharaan selama 5 hari sebelumnya, dilanjutkan dengan proses pemanenan darah mencit dengan menggunakan jarum suntik 1 cc lalu disuntikan pada bagian (vena atau jantung) mencit. Darah hasil pemanenan pertama ini kemudian disuntikan kembali ke mencit baru sebanyak 1 ml seperti perlakuan sebelumnya namun proses pemeliharaan hanya berlangsung selama 2 hari. Pada hari selanjutnya, yaitu hari ketiga dilakukan pemanenan kembali, darah yang diambil dari mencit dimasukkan ke dalam tabung EDTA lalu dihomogenkan agar tercampur dengan larutan EDTA yang ada di dalam tabung tersebut, tabung EDTA digunakan dengan tujuan agar darah tidak cepat membeku. Darah yang didapatkan dipergunakan untuk proses penelitian dan untuk disuntikkan ke mencit yang baru lagi. Proses ini dinamakan pasase, di mana proses pasase ini dilakukan selama 3 kali untuk 3 kali pengulangan dalam penelitian.

Langkah selanjutnya siapkan 5 tabung tube 1 ml, masing-masing tabung diberi label agar tidak tertukar. Kemudian diambil sebanyak 100 µl darah isolat murni dalam tabung EDTA tadi dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke satu tabung tube dengan label kontrol. Untuk keempat tabung lainnya diambil sebanyak 90 µl darah isolat dan 10 µl media yang berbeda (BPSG, DMEM (1X) + GlutaMAX™, NaCl infus (sodium klorida 0,9%) Air kelapa) dalam masing-masing tabung tubenya. Pengambilan darah menggunakan mikropipet dengan akurasi yang sudah ditetapkan. Kemudian dihomogenkan dengan membolak-balik tabung tube secara manual atau dengan menggunakan ujung tip steril lalu diaduk agar darah isolat dapat bercampur secara merata dengan media yang telah ditambahkan sebelumnya. Pengelompokan perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Penelitian

No.	Perlakuan (P)	Uraian	Keterangan
1.	K ₀	Sampel darah diberi perlakuan dalam keadaan normal	Kontrol
2.	P1	Sampel darah diberi media PBSG	Perlakuan 1
3.	P2	Sampel darah diberi media DMEM (1X)+ GlutaMAX™	Perlakuan 2
4.	P3	Sampel darah diberi larutan NaCl infus (sodium klorida 0,9%)	Perlakuan 3
5.	P4	Sampel darah diberi larutan alami Air kelapa	Perlakuan 4

Keterangan:

K₀ = Mencit diperlakukan dalam keadaan

P1 = Sampel darah diberi media PBSG

P2 = Sampel darah diberi media DMEM (1X)+ GlutaMAX™

P3 = Sampel darah diberi larutan NaCl infus (sodium klorida 0,9%)

P4 = Sampel darah diberi larutan air kelapa

Metode Pengamatan Mikroskopis

Dalam metode ini menggunakan sedikit modifikasi antara metode natif dan pengamatan mikroskopis untuk memudahkan penelitian (WOAH, 2021). Langkah pertama disiapkan objek gelas dan cover gelas,

kemudian diambil sebanyak 3 µl masing-masing sampel dengan menggunakan mikropipet yang sudah dipasangkan tip sesuai ukuran yang sesuai dan ditetaskan di atas objek gelas, tutup menggunakan cover gelas lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x dengan pencahayaan yang sesuai. Pertama-tama diamati keberadaan dari *T. evansi* kemudian lihat pergerakan dari parasit tersebut ada atau tidak (pergerakan parasit menandakan bahwa parasit tersebut hidup). Hal ini dilakukan pada masing-masing sampel dengan rentang waktu 30 menit setiap pengamatan. Dalam setiap pengamatan diambil pada tube sampel stok yang ditaruh di dalam suhu ruang yang berkisar antara 26°C–29°C. Dan pengamatan pada suhu dingin di mana sampel stok di dalam tube ditaruh di lemari pendingin (freezer laboratorium dengan suhu 2°C–8°C) Pengamatan dilakukan selama 6 jam sesuai dengan kesepakatan peneliti dan laboran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Pengamatan pada Suhu Ruang

No.	Larutan	Lama waktu hidup <i>T. evansi</i>		
		P1	P2	P3
1.	Murni (kontrol)	2 jam 30 menit	3 jam 30 menit	3 jam
2.	DMEM (1X) + GlutaMAX™	3 jam 30 menit	3 jam 30 menit	4 jam 30 menit
3.	PBSG	6 jam	6 jam	6 jam
4.	NaCl infus (sodium klorida 0,9%)	6 jam	3 jam	4 jam
5.	Air kelapa	6 jam	5 jam	6 jam

Tabel 3. Pengamatan pada Suhu Dingin

No.	Larutan	Lama waktu hidup <i>T. evansi</i>		
		P1	P2	P3
1.	Murni (kontrol)	6 jam	6 jam	6 jam
2.	DMEM (1X) + GlutaMAX™	6 jam	6 jam	6 jam
3.	PBSG	24 jam	24 jam	24 jam
4.	NaCl infus (sodium klorida 0,9%)	6 jam	6 jam	6 jam
5.	Air kelapa	6 jam	6 jam	6 jam

Pengamatan yang dilakukan pada suhu ruang, didapatkan hasil yang sangat berbeda pada masing-masing sampel pengujian. Parasit *T. evansi* mampu bertahan hidup paling lama pada perlakuan tiga dengan penambahan larutan media *Phosphate Buffer Saline Glucose* (PBSG), yaitu selama 6 jam. Pada sampel murni sebagai kontrol atau sampel tanpa penambahan larutan media didapatkan bahwa *T. evansi* ini hanya mampu bertahan hidup selama 3 jam 30 menit. Pada perlakuan suhu ruang dilakukan pengamatan kembali pada kurun waktu 18 jam dan 24 jam namun tidak ada satupun parasit yang masih bertahan hidup pada masing-masing sampel perlakuan. Pengamatan juga dilakukan pada suhu dingin (2°C–8°C) dan hasil dari pengamatan terhadap lama waktu hidup parasit *T. evansi*.

Pada suhu dingin (2°C–8°C) parasit *Trypanosoma evansi* mampu bertahan sampai 6 jam sesuai dengan batas waktu pengamatan yang sudah ditentukan. Pada suhu dingin dilakukan pengecekan kembali pada rentang waktu 18 jam dan 24 jam untuk melihat efektivitas dari sampel larutan media yang digunakan. Pada pengecekan kembali didapatkan bahwa parasit *T. evansi* pada kontrol dan perlakuan satu, perlakuan dua, perlakuan empat, perlakuan lima sudah dinyatakan mati karena tidak ada pergerakan. Hanya perlakuan tiga yang menggunakan larutan media PBSG, yang masih bertahan hingga 24 jam. Dalam pengamatan ini juga menentukan hasil sebagai tolak ukur bahwa parasit *T. evansi* tersebut tidak mampu bertahan hidup lama jika di luar tubuh inang.

Dari kedua tabel hasil di atas dengan dua faktor suhu yang berbeda, terlihat adanya perbandingan yang jelas pada semua sampel perlakuan. Berdasarkan hasil pengamatan, didapatkan bahwa sampel darah dengan penambahan larutan media PBSG, merupakan satu-satunya sampel yang masih dapat bertahan hidup dengan sangat baik. Pada sampel dengan perlakuan DMEM, *T. evansi* hanya mampu bertahan selama 4 jam 30 menit pada suhu ruang (26°C–29°C) dan mampu bertahan 6 jam suhu dingin (2°C–8°C) sesuai penetapan waktu pengamatan. Meskipun DMEM sendiri merupakan media pengkulturan sel, namun karena komposisi dari larutan ini bisa menjadi sumber nutrisi bagi parasit untuk

mempertahankan hidupnya. DMEM pada awalnya diformulasikan dengan glukosa rendah (1 g/L) dan natrium piruvat, tetapi sering digunakan dengan kadar glukosa yang lebih tinggi, dengan atau tanpa natrium piruvat. DMEM dengan suplemen GlutaMAX™ yang meminimalkan penumpukan amonia beracun dan meningkatkan viabilitas dan pertumbuhan sel dalam format yang mudah digunakan (Chan et al., 2024).

Sampel NaCl hanya mampu bertahan hingga waktu 4 jam pada suhu ruang (26°C–29°C) dan 6 jam suhu dingin (2°C–8°C), kemudian dilakukan pengamatan pada kurun waktu 18 jam dan 24 jam parasit sudah mati. Sedangkan yang menggunakan sampel dengan penambahan media berupa air kelapa hampir sama seperti sampel yang menggunakan penambahan larutan PBSG namun dalam pengulangan yang kedua hanya mampu bertahan selama 5 jam dan pengulangan satu dan tiga bertahan 6 jam pada suhu ruang (26°C–29°C) dan suhu dingin (2°C–8°C) mampu bertahan selama 6 jam, ketika dilakukan pengecekan pada kurun waktu 18 jam 24 jam parasit *T. evansi* sudah mati. Namun kekurangan dari penggunaan air kelapa ini adalah di mana memiliki masa waktu penggunaan yang terbatas. Menurut penelitian dari (Barlina, 2004), meskipun air kelapa mengandung banyak nutrisi namun karena merupakan larutan organik atau alami sehingga memiliki kelemahan di mana memiliki batas waktu penggunaan dan penyimpanan yang lebih singkat dibandingkan ketiga larutan kimia lainnya yang digunakan.

Berdasarkan penelitian Yanuar & Sutrisno (2015), air kelapa akan memecah glukosa dari air kelapa menjadi asam laktat maupun gula-gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, maltosa, dan sukrosa. Gula dari air kelapa dapat dimanfaatkan dengan baik oleh bakteri asam laktat sebagai sumber karbon dan bisa menjadikan air kelapa sebagai pengawet alami. Air kelapa diperoleh dari buah kelapa, baik kelapa tua atau muda. Air kelapa muda memiliki kandungan gizi makro dan mikro yang relatif lengkap terdiri dari karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral. Meskipun air kelapa hanya mengandung 0,1% protein, namun mengandung beberapa asam amino yang lebih tinggi dari yang terdapat pada susu sapi (Barlina, 2007). Pada hasil penggunaan air kelapa menghasilkan data yang baik di mana air kelapa mampu membuat parasit hidup lebih lama dibandingkan larutan lainnya. Namun masih tidak sebagus larutan PBSG karena ketika uji 24 jam, air kelapa tidak mampu membuat parasit tetap hidup.

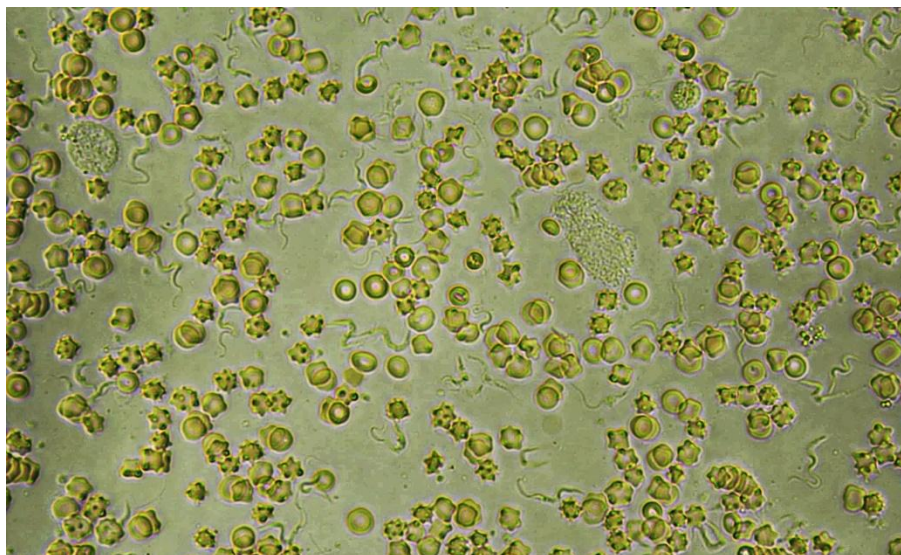
Dalam perlakuan pada suhu dingin, yang di mana sampel diletakkan di lemari pendingin dengan suhu antara (2°C–8°C) memiliki tujuan sebagai perbandingan dalam pengujian dan untuk melihat perlakuan yang efektif untuk dipergunakan dalam proses pengujian di lapangan. Pada perlakuan suhu dingin ini semua sampel pengujian dapat bertahan selama 6 jam pengamatan sesuai waktu yang ditentukan, kemudian dilakukan pengamatan kembali pada waktu 18 jam dan 24 jam setelah penyimpanan sampel. Hal ini bertujuan untuk melihat kembali larutan yang paling baik digunakan dalam pengujian-pengujian selanjutnya. Hasil pengamatan yang didapatkan adalah hanya larutan PBSG yang mampu bertahan hingga waktu 24 jam pada suhu dingin, sedangkan larutan pada sampel lainnya tidak dapat bertahan, atau parasit *T. evansi* mengalami kematian total.

Larutan PBSG sendiri dinilai sebagai larutan yang paling baik digunakan dalam pengujian meskipun larutan ini sendiri sebenarnya merupakan larutan penyangga yang mengandung berbagai macam komposisi kimia dan organik yang baik. Larutan PBSG sendiri merupakan larutan PBS yang kemudian ditambah dengan larutan glukosa sebagai larutan campuran yang diharapkan dapat berguna bagi pengujian-pengujian dalam sebuah penelitian eksperimental. Larutan ini sering digunakan dalam uji biologi sel dan molekuler sebagai medium pencuci atau pelarut yang menjaga kestabilan pH dan osmolaritas (Budi et al., 2023).

Dari penggunaan media yang telah digunakan dalam penelitian ini, tentu diperlukan pengembangan penggunaan media lainnya yang lebih efektif. Dalam penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti, banyak juga ditemukan media berbahan kimia yang sering digunakan salah satunya yaitu, media *Polyvinyl Alcohol* (PVA) merupakan bahan pengawet atau media yang sering digunakan di dalam laboratorium. Namun kekurangan dari larutan ini adalah sulitnya proses pembuatannya, sehingga peneliti lebih sering menggunakan media berupa larutan PBS atau NaCl sebagai alternatif penggantinya (Ompusunggu, 2017).

Dari masing-masing media yang telah digunakan di dalam pengujian ini, larutan tersebut memiliki berbagai macam nutrisi untuk menunjang kehidupan dari parasit *T. evansi* ketika tidak di dalam tubuh inang. Komponen utama nutrisi yang diperlukan parasit *T. evansi* untuk hidup meliputi asam amino, glukosa, zat besi, vitamin, dan mineral. Adrianto (2020) pada penelitiannya yang menggunakan spesies parasit *T. brucie*, yang hampir sama dengan spesies *T. evansi*, karena keduanya menyebabkan infeksi bagi inang yang ditempatinya. Untuk melangsungkan kehidupannya di dalam tubuh inang tentu saja membutuhkan nutrisi agar metabolisme berjalan dengan baik, di antaranya seperti asam amino dan glukosa.

Di dalam penelitian lain juga menyebutkan bahwa genus *Trypanosoma* merupakan parasit darah yang membutuhkan nutrisi yang kompleks untuk melangsungkan siklus kehidupannya. Membutuhkan banyak nutrisi untuk tetap hidup dan metabolismenya berjalan dengan baik, sehingga proses perbanyakan diri juga bisa berlangsung dengan cepat. Nutrisi digunakan sebagai bahan bakar dalam proses metabolisme sehingga kehidupan parasit tetap berlangsung meskipun di dalam sel darah inang. Contoh nutrisi yang diperlukan seperti asam amino, protein, glukosa, mineral, vitamin, dan zat besi sebagai sumber energi (Pouldyal & Paul, 2022). Pengamatan secara mikroskopis juga dilakukan untuk mengetahui morfologi parasit *T. evansi* dalam kondisi hidup (Gambar 1).



Gambar 1. Parasit *T. evansi* dalam Kondisi Hidup pada Saat Pengamatan Mikroskopis

Karakteristik mikroskopis *T. evansi* dalam kondisi hidup disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan pengamatan visual, parasit ini tidak berwarna (transparan), soliter, serta menunjukkan motilitas yang aktif dan konstan secara acak di dalam medium. Pergerakan yang cepat ini difasilitasi oleh kepemilikan flagela sebagai organel gerak utama. Selain aktivitas pergerakan, fenomena pembelahan biner secara asexual juga teramati pada fase hidup ini, yang berfungsi sebagai mekanisme utama reproduksi untuk multiplikasi populasi sel.

KESIMPULAN

Lamanya hidup *T. evansi* pada larutan media dengan suhu ruang kontrol atau murni selama 3 jam 30 menit, pada DMEM 4 jam 30 menit, pada PBSG selama 6 jam, pada NaCl 6 jam dan pada air kelapa 6 jam. Sedangkan pada suhu dingin semua bertahan selama 6 jam tetapi pada kurung waktu 24 jam hanya larutan media PBSG yang bertahan. Media yang paling baik dan efektif digunakan untuk membuat parasit *T. evansi* bertahan hidup adalah larutan *Phosphate Buffer Saline Glucose* (PBSG).

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, H. (2020). *Buku ajar parasitologi: buku pegangan kuliah untuk mahasiswa biologi pendidikan biologi*. Penerbit Andi.
- Barlina, R. (2004). Potensi buah kelapa muda untuk kesehatan dan pengolahannya. *Perspektif: Review Penelitian Tanaman Industri*, 3(2), 46-60.

- Barlina, R., Karouw, S., Hutapea, R. O. N. A. L. D., & Towaha, J. U. N. I. A. T. I. (2007). Pengaruh perbandingan air kelapa dan penambahan daging kelapa Muda serta lama penyimpanan terhadap serbuk minuman kelapa. *Jurnal Littri*, 13(12), 73-80.
- Budi, H. S., Setyawati, M. C., Anitasari, S., Shen, Y. K., Pebriani, I., & Ramadan, D. E. (2023). Cell detachment rates and confluence of fibroblast and osteoblast cell culture using different washing solutions. *Brazilian Journal of Biology*, 84, e265825.
- Chan, L. K. D., Lim, P. Y., Sanny, A., Georgiadaou, D., Lee, A. P., & Tan, A. (2024). Technical, commercial, and regulatory challenges of cellular agriculture for seafood production. *Journal Science and Technology*, 144(2), 432–440.
- Dewa, W. J. (2015). *Karakterisasi Profil Protein Dan Identifikasi Protein Immunogenik Isolat Trypanosoma Evansi Asal Pulau Jawa* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Haryadi, R. F., Nurcahyo, W. R., Purwono, E., Yuliarso, D. B., & Fuady, A. A. (2022). *Trypanosoma evansi pada ternak*. Gadjah Mada University Press.
- Hasanuddin, I. (2019). *Biomedik: Parasitologi kesehatan*. Masagena Press.
- Kholik, K., Qadriyah, D. R., Atma, C. D., Riwu, K. H. P., & Rahmawati, S. E. (2023). Deteksi Parasit Darah pada Sapi Bali di Balai Pembibitan Ternak dan Hijauan Makanan Ternak di Pulau Sumbawa. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia (JITPI) Indonesian Journal of Animal Science and Technology*, 9(2), 89-99.
- Ompusunggu, S. M. (2017). *Pedoman Pemeriksaan Parasit: Feses, Darah, Cairan Tubuh, dan Jaringan*. Jakarta: EGC.
- Poudyal, N. R., & Paul, K. S. (2022). Fatty acid uptake in *Trypanosoma brucei*: Host resources and possible mechanisms. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 949409.
- Praing, U. Y. A., Apsari, I. A. P., & Dharmawan, N. S. (2023). Prevalensi dan faktor risiko Trypanosomiasis pada kuda di Kabupaten Sumba Timur. *Buletin Veteriner Udayana*, 15(5), 737–746.
- Sulaeman, S. N., Sunarso, A., Agustono, B., Hastutiek, P., Saputro, A. L., & Yudhana, A. (2019). Prevalensi penyakit Surra pada sapi potong di Kecamatan Cluring Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 42–48.
- Wiethoelter, A. K., Beltrán-Alcrudo, D., Kock, R., & Mor, S. M. (2015). Global trends in infectious diseases at the wildlife–livestock interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(31), 9662–9667.
- World Organisation for Animal Health (WOAH). (2021). Surra in all species (*Trypanosoma evansi* infection). Dalam WOAHO Terrestrial Manual (hlm. 1–6).
- Yadav, S. C., Kumar, J., Gupta, A. K., Jerome, A., Kumar, P., Kumar, R., Tehri, K., & Kumar, R. (2016). Parasitological, biochemical, and clinical observations in ponies experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4(Spl-4-EHIDZ), 144–150.
- Yanuar, S. E., & Sutrisno, A. (2015). Minuman probiotik dari air kelapa muda dengan starter *Lactobacillus casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3), 909–917.