

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG BIJI LAMTORO GUNG (*Leucaena leucocephala*) TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI GINJAL, KADAR NITROGEN UREA DARAH DAN KREATININ SERUM MENCIT (*Mus musculus*)



Oleh :

SOFYAN IRAWAN
MALANG - JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG BIJI LAMTORO GUNG (*Leucaena leucocephala*) TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI GINJAL, KADAR NITROGEN UREA DARAH DAN KREATININ SERUM MENCIT (*Mus musculus*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Airlangga

Oleh :

SOFYAN IRAWAN
MALANG - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000**

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG BIJI LAMTORO GUNG (*Leucaena leucocephala*) TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI GINJAL, KADAR NITROGEN UREA DARAH DAN KREATININ SERUM MENCIT (*Mus musculus*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh :

SOFYAN IRAWAN

NIM. 069311939

Menyetujui,
Komisi Pembimbing,



(Soepartono Partosoewignjo, MS., Drh.)

Pembimbing Pertama

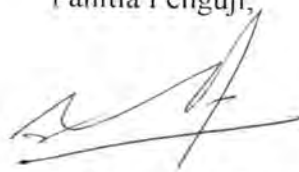


(Setyawati Sigit, MS., Drh.)

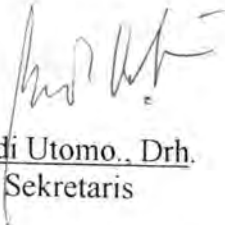
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **Sarjana Kedokteran Hewan**.

Menyetujui,
Panitia Penguji,



H. Moh. Moenif., MS., Drh
Ketua



Budi Utomo., Drh.
Sekretaris



E. Bimo A.H.P., M.Kes., Drh.
Anggota



Soepartono Partosoewigno., MS., Drh.
Anggota



Setyawati Sigit., MS., Drh.
Anggota

Surabaya, 2 Agustus 2000

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. Ismudiono., MS., Drh.
NIP. 130 687 297

“ Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya siang dan malam, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan itu Dia hidupkan bumi sesudah mati (Kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi. Sungguh (terdapat) tanda-tanda (keEsaan dan keBesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan.”

(QS. Al-Baqarah 164)

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG BIJI LAMTORO GUNG
(*Leucaena leucocephala*) TERHADAP PERUBAHAN
HISTOPATOLOGI GINJAL, KADAR NITROGEN
UREA DARAH DAN KREATININ SERUM
MENCIT (*Mus musculus*)**

SOFYAN IRAWAN

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung dalam pakan terhadap gambaran histopatologis ginjal, kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum mencit.

Hewan percobaan yang digunakan sebanyak 24 ekor mencit betina berumur lebih kurang tiga bulan dengan berat badan antara 20 – 22 gram strain Balb- C yang dibagi secara acak menjadi tiga perlakuan dengan delapan ulangan. Perlakuan 0 (kontrol) diberi pakan bentuk pellet tanpa kandungan biji lamtoro gung, kelompok perlakuan 1 diberi pakan bentuk pellet dengan kandungan 20% biji lamtoro gung dan perlakuan 2 diberi pakan dengan kandungan 40% biji lamtoro gung. Mencit yang telah diberi perlakuan dipelihara selama enam minggu, kemudian diambil darah dan ginjalnya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum serta pembuatan preparat histopatologi ginjal dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

Hasil pemeriksaan histopatologi ginjal yang dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Z, menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap ginjal mencit. Perlakuan 2 menunjukkan derajat kerusakan tertinggi diantara perlakuan 1 dan kontrol. Hasil penghitungan statistik terhadap kadar BUN yang diuji dengan analisis varian, menunjukkan bahwa perlakuan 2 dengan kandungan pakan 40% biji lamtoro gung berpengaruh nyata diantara perlakuan 1 dan kontrol ($p < 0,05$), sedangkan perlakuan 1 dengan kandungan pakan 20% biji lamtoro gung tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap kontrol. Pemberian pakan dengan kandungan 20% dan 40% biji lamtoro gung tidak berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin serum mencit ($p > 0,05$) yang diuji dengan analisis varian.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah ini.

Penggunaan pakan untuk ternak yang bergizi tinggi namun murah dan mudah didapat telah lama diupayakan oleh peternak, salah satunya adalah lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*). Di samping mengandung gizi yang tinggi lamtoro gung juga mempunyai efek negatif bila pemberiannya tidak dibatasi karena zat yang dikandungnya yaitu mimosin.

Serangkaian percobaan telah dilakukan untuk mengetahui efek pemberian tepung biji lamtoro gung dalam pakan terhadap gambaran histopatologi ginjal, kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum mencit (*Mus musculus*), yang hasilnya dituangkan dalam makalah ini.

Dengan rasa hormat penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dekan serta para dosen di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dan Bapak Soepartono Partosoewignjo, MS., Drh selaku pembimbing pertama dan Ibu Setyawati Sigit, MS., Drh selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya. Demikian pula bantuan dari staf Laboratorium Patologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya sangat dihargai.

Makalah ini penulis persembahkan sebagai ungkapan terima kasih kepada kedua orang tua, Mas Bayu serta Dik Rhiska yang senantiasa memberikan dorongan.

semangat dan doa. Begitu juga untuk rekan-rekanku Fajri, Pipit, Agus, Arik, Cipta, Hermin dan Mas Pardi serta teman-teman angkatan '93.

Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah ini masih belum sempurna. Meskipun demikian, semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam makalah ini dapat bermanfaat bagi masyarakat.

Surabaya, Mei 2000

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Landasan Teori.....	3
1.5. Hipotesis Penelitian.....	4
1.6. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Lamtoro	6
2.1.1. Mimosin	8
2.1.2. Mekanisme Toksisitas.....	10
2.2. Ginjal dan Fungsinya	12
2.2.1. Struktur Mikroskopis Ginjal.....	13
2.3. Nitrogen Urea Darah (BUN = Blood Urea Nitrogen).....	14
2.4. Kreatinin Serum.....	15

BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	17
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2. Materi Penelitian.....	17
3.3. Metode Penelitian	18
3.4. Peubah yang Diamati	19
3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	20
BAB IV HASIL PENELITIAN	21
4.1. Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit.....	21
4.2. Kadar Nitrogen Urea Darah Mencit.....	22
4.3. Kadar Kreatinin Serum Mencit.....	23
BAB V PEMBAHASAN.....	24
5.1. Pengaruh Terhadap Organ Ginjal	24
5.2. Pengaruh Terhadap Kadar Nitrogen Urea Darah.....	26
5.3. Pengaruh Terhadap Kadar Kreatinin Serum.....	27
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	29
6.1. Kesimpulan	29
6.2.. Saran	29
RINGKASAN.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Lamtoro Gung	7
2. Nilai Rank dan Skor Histopatologi Organ Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diberi Tepung Biji Lamtoro Gung (<i>Leucaena leucocephala</i>) pada Berbagai Perlakuan.....	21
3. Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Nitrogen Urea Darah Mencit.....	22
4. Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Kreatinin Serum Mencit	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus Bangun Mimosin.....	9
2. Lamtoro gung (<i>Leucaena leucocephala</i>)	37
3. Gambaran Ginjal Mencit pada Kelompok Kontrol.....	37
4. Gambaran Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan I.....	38
5. Gambaran Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan II.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pemeriksaan Kadar BUN dengan Metode Barthelot.....	40
2. Pemeriksaan Kadar Kreatinin Serum dengan Metode Jaffe	41
3. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi.....	42
4. Tingkat Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Kontrol (P0).....	46
5. Tingkat Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan I (P1).....	47
6. Tingkat Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan II (P2).....	48
7. Penentuan Peringkat (Rank) dan Analisis Data Ginjal	49
8. Kadar Nitrogen Urea Darah Mencit pada Akhir Percobaan	54
9. Kadar Kreatinin Serum Mencit pada Akhir Percobaan.....	57
10. Susunan Ransum Pakan Mencit Penelitian.....	59
11. Cara Pembuatan Pakan Buatan Bentuk Pellet	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Laju pertumbuhan penduduk menuntut tersedianya kebutuhan bahan pangan yang meningkat pula. Salah satunya adalah kebutuhan di sektor peternakan. Berbagai upaya telah dilakukan dalam rangka meningkatkan mutu hasil ternak. Peranan pakan dalam ransum ternak merupakan salah satu faktor pendukung yang penting demi peningkatan mutu hasil ternak.

Untuk menekan biaya produksi, semakin banyak diusahakan penggunaan bahan pakan yang murah dan tidak berkompetisi dengan manusia maupun hewan lain. Bahan-bahan tersebut misalnya beberapa sisa hasil pertanian (jerami), kertas, kayu, dan sebagainya (Aminudin, 1995).

Sarmanu dkk (1985), mengatakan bahwa untuk meningkatkan pendapatan peternak perlu diusahakan penggunaan bahan pakan yang murah tetapi masih dapat mempertahankan produksi ternak. Lebih baik lagi jika bahan pakan tersebut tidak bersaing dengan kebutuhan manusia.

Salah satu bahan pakan yang memenuhi kriteria tersebut adalah lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), dahulu dikenal dengan nama *Leucaena glauca* (Wisadirana, 1982). Alasan penggunaan lamtoro gung untuk pakan ternak adalah seperti halnya biji-bijian dari leguminosa, karena lamtoro gung mempunyai kandungan protein yang tinggi. Usaha pembudidayaan lamtoro gung sebagai pakan ternak, karena di dalam biji maupun daunnya terkandung sumber protein

yang tinggi dan mudah dicerna oleh ternak serta pohonnya cepat tumbuh kembali setelah diadakan pemotongan. Selain kegunaan tersebut daun lamtoro gung dapat digunakan sebagai pupuk hijau serta kayunya dapat dipakai sebagai kayu bakar. Di sisi lain, kebiasaan masyarakat kita memakan biji lamtoro sudah sejak dahulu dilakukan dalam bentuk lalapan (segar), untuk sayur dan juga dapat digunakan sebagai bahan tempe (Tangendjaja dkk, 1985).

Walaupun tanaman lamtoro gung mempunyai nilai gizi yang tinggi, tetapi penggunaannya yang lebih luas dalam pakan ternak terbatas oleh adanya zat yang beracun yaitu mimosin (Bahri, 1982 ; Tangendjaja dkk, 1982).

Menurut Sarmanu (1986), pemberian tepung daun lamtoro gung 10% dan 20% pada ayam dapat menghambat perkembangan alat reproduksi yang akhirnya akan menyebabkan penurunan produksi dan berat telur.

1.2. Perumusan Masalah

Lamtoro gung sebagai salah satu alternatif bahan pakan ternak, karena mudah didapat dan mempunyai kandungan protein yang tinggi, namun penggunaannya perlu dibatasi.

Ginjal sebagai organ yang berfungsi ekskretoris dalam mengeluarkan produk sisa metabolisme yang terlarut dalam air termasuk zat yang tidak dapat dimetabolisme tubuh juga dapat mengalami kerusakan akibat dari zat yang diabsorbsinya. Berdasarkan hal-hal tersebut dapat dirumuskan permasalahan, bagaimana efek pemberian tepung biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*)

sebagai pakan mencit (*Mus musculus*) terhadap gambaran histopatologi ginjal, kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum dari mencit.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) terhadap gambaran histopatologi ginjal, kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum pada mencit (*Mus musculus*).

1.4. Landasan Teori

Untuk mendapatkan hasil yang maksimal dengan biaya serendah mungkin, peternak berusaha mencari suatu bahan yang lebih ekonomis untuk campuran pakan ternak. Salah satu bahan pakan yang dipergunakan untuk campuran pakan ternak adalah tepung biji lamtoro gung. Lamtoro gung mempunyai kandungan protein dan daya cerna yang tinggi. Tetapi penggunaannya secara bebas perlu diawasi, karena mimosin yang dikandungnya dapat menyebabkan keracunan (El-Harith et al. 1979).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya gangguan atau kegagalan reproduksi pada hewan yang diberi lamtoro. Pemberian yang optimal tepung daun lamtoro dalam ransum adalah 5%, pemberian 10% dan 20% tepung daun lamtoro gung menyebabkan terhambatnya perkembangan ovarium, uterus dan ultrastruktur ovarium mengalami perubahan (Sarmanu dkk, 1985).

Ginjal merupakan organ tubuh yang mendapat aliran darah 20 sampai 25 persen dari *cardiac output* (Ganong, 1983). Darah yang masuk ke ginjal akan difiltrasi oleh glomerulus. Bila ada zat toksik yang ikut dalam aliran darah masuk ke ginjal, maka sel-sel ini akan berkontak dengan zat toksik tersebut, akibatnya sel-sel ini akan mengalami perubahan dari degenerasi sampai nekrose. Hasil infiltrasi glomerulus diantaranya bahan kimia toksik yang direabsorpsi oleh sel-sel tubulus, akibatnya tubulus tersebut akan mengalami degenerasi, bila hal ini berlangsung dalam jangka waktu lama atau dosis yang lebih tinggi dapat terjadi nekrose tubulus (Thureau *et al*, 1979).

Glomerulus ginjal berfungsi sebagai tempat filtrasi plasma untuk menghasilkan filtrat glomerulus yang kemudian diubah menjadi urin didalam tubulus. Urea dan kreatinin merupakan hasil metabolisme protein yang pembuangannya diatur oleh ginjal, yang nantinya juga difiltrasi oleh glomerulus. Adanya kerusakan pada glomerulus akan menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun, sehingga urea dan kreatinin menumpuk di dalam plasma (Brenner dan Hosteter, 1982). Menurut Kaneko dan Cornelius (1971), ekskresi urea merupakan fungsi ginjal yang sangat penting, sehingga kenaikan konsentrasi urea dalam darah dikaitkan dengan adanya gangguan fungsi ginjal.

1.5. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan landasan teori tersebut diatas maka dapat disusun suatu hipotesis sebagai berikut :

1. Pemberian tepung biji lamtoro gung 20% dan 40% dalam pakan dapat menyebabkan perubahan terhadap histopatologi dari ginjal mencit.
2. Pemberian tepung biji lamtoro gung 20% dan 40% dalam pakan dapat meningkatkan kadar nitrogen urea darah mencit.
3. Pemberian tepung biji lamtoro gung 20% dan 40% dalam pakan dapat meningkatkan kadar kreatinin serum mencit.

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam penggunaan tepung biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) sebagai bahan pakan ternak serta efek yang ditimbulkannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Lamtoro gung

Lamtoro gung adalah tanaman semak golongan polong-polongan yang banyak terdapat di daerah tropis maupun sub tropis. Menurut sejarahnya, lamtoro gung berasal dari Amerika Tengah yang kemudian menyebar ke segala penjuru dunia, khususnya daerah tropis seperti Indonesia, Philipina, Papua New Guinea, Australia, Hawaii, India, Afrika dan Kepulauan Caribia. Lamtoro gung mempunyai nama menurut negara tempat berkembangnya, antara lain adalah Lamtoro (Indonesia), Ipil-Ipil/Santa Elena (Philipina), Kao Babool (India), Guaye dan Mauxim (Amerika Latin) serta Kao Haole (Hawaii) (Suprayitno, 1981 ; Lowry *et al*, 1983).

Pendayagunaan lamtoro gung sebagai pakan ternak sudah sejak lama dilakukan baik daun maupun bijinya sebagai pakan sapi, unggas dan kelinci (Bahri, 1984). Pemanfaatan daun dan biji lamtoro gung sebagai pakan ternak didasarkan atas tingginya kandungan protein , disamping mengandung vitamin dan mineral yang cukup lengkap , karena itu sangat baik sebagai pakan ternak (Purnomo, 1984 ; Lowry *et al* 1985).

Sarmanu (1982) dan Wisadirana (1982) mengemukakan bahwa daun dan biji lamtoro gung yang digunakan sebagai pakan ternak dapat digunakan sebagai

pakan tunggal atau sebagai hijauan pelengkap. Daun lamtoro muda dan bijinya selain sebagai pakan ternak juga merupakan sumber pangan bagi manusia dan tanaman lamtoro juga digunakan sebagai tanaman penghijau di daerah gundul, sumber kayu bakar, pencegah erosi dan penyubur tanaman. Pernyataan serupa juga dikemukakan oleh Ruskin (1984), bahwa daun lamtoro secara umum dapat digunakan untuk pupuk hijau dan pakan ternak, sedangkan bijinya untuk pakan ternak, bahkan di Indonesia dimakan manusia. Kayunya dapat dimanfaatkan untuk kayu bakar dan perabot rumah.

Pemanfaatan daun dan biji lamtoro gung sebagai pakan ternak didasarkan atas tingginya kandungan protein disamping mengandung vitamin dan mineral yang cukup lengkap (Purnomo, 1984). Kandungan gizi lamtoro gung dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Lamtoro Gung per 100 gram

Kandungan	Daun (gram)	Biji (gram)
Air	10,12	12,76
Abu	8,08	3,61
Lemak	10,31	8,83
Protein	23,64	32,05
Serat kasar	11,57	13,97

Sumber : Labadan, (1969).

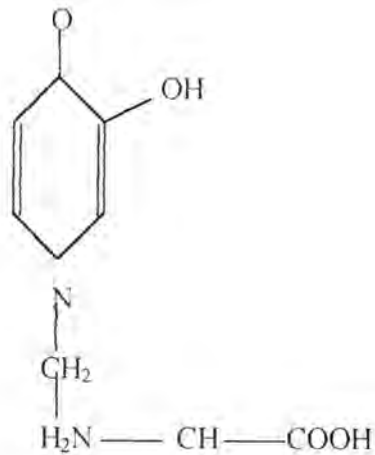
Walaupun lamtoro mempunyai nilai yang menguntungkan, tetapi penggunaannya perlu diawasi, sebab di dalam lamtoro baik daun maupun biji serta batang mudanya mengandung zat yang bersifat racun yaitu mimosin (Lowry

et al , 1985 ; Tangendjaja dkk, 1985). Hasil penelitian Sarmanu dkk (1985) menyebutkan bahwa pemberian tepung daun lamtoro gung 10% dan 20% pada ayam petelur menyebabkan terhambatnya produksi telur dan penyusutan efisiensi pakan, tetapi dapat meningkatkan kualitas telur.

Sehubungan adanya mimosin ini, maka penggunaan lamtoro sebagai pakan ternak dibatasi jumlahnya, terutama sebagai ransum tunggal. Pemberian lamtoro gung dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan kerontokan rambut, hambatan pertumbuhan dan pembesaran kelenjar tiroid (Bahri, 1982). Menurut Meulen *et al* (1979) mimosin dapat pula menyebabkan katarak, penurunan kesuburan dan kematian. Pada anak- anak ayam, pemberian lamtoro menyebabkan terjadinya atropi organ-organ tubuh. Ginjal merupakan organ tubuh yang paling nyata terjadinya atropi akibat pemberian lamtoro (Tangendjaja dkk, 1985).

II.1.1. Mimosin

Mimosin adalah senyawa yang mempunyai susunan kimia Beta - N- (3 - Hidroksi - 4 - Piridone) - alfa amino propionic acid (Lowry *et al* ,1985). Rumus bangun mimosin seperti tampak pada gambar 1.



Gambar 1. Rumus Bangun Mimosin (Lowry *et al* , 1985).

Daun, biji dan batang lamtoro gung mengandung mimosin yang mempunyai gugus keton dan hidroksil pada inti piridinnya. Rumus molekul mimosin adalah $C_8H_{10}O_4N_2$ (Makfoeld, 1983). Lamtoro mempunyai kandungan mimosin yang berbeda kadarnya pada daun, biji dan batangnya. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Tangendjaja dkk (1982), bahwa kandungan mimosin terbanyak terdapat dalam biji , yaitu 4-5% pada daun 2-3% dan pada batang 1-2%.

Dilaporkan oleh Sarmanu dkk (1985) bahwa mimosin murni tidak mempunyai efek racun terhadap reproduksi ayam, dengan demikian timbul dugaan bahwa selain mimosin didalam tumbuhan lamtoro masih terdapat zat beracun lain yaitu tanin, yang bila diberikan secara bersama-sama dengan mimosin dapat menimbulkan keracunan (Lowry *et al*, 1983). Mimosin bukan satu-satunya penyebab terhambatnya perkembangan alat reproduksi ayam, karena didalam tumbuhan lamtoro terkandung pula zat anti gizi yang berpengaruh buruk

secara tidak langsung terhadap alat reproduksi. Zat yang dimaksud adalah tanin, serat kasar, HCN, dan DHP (3 – hidroksi – 4 (IH) – pyridin) serta zat-zat lain yang belum diketahui (Sarmanu, 1986).

II.1.2. Mekanisme Toksisitas

Mekanisme toksisitas dari mimosin belum diketahui dengan jelas. Diduga daya kerja mimosin antagonis dengan tirosin, sehingga terjadi gangguan sintesis protein dan akibatnya pertumbuhan jadi terhambat. Dugaan ini terbukti pada anak ayam yang diberi ransum mengandung 10%, 20% dan 40% lamtoro gung pertumbuhannya terhambat dan mortalitasnya tinggi. Kemudian setelah diberi zat kimia antagonis mimosin, ternyata terjadi perbaikan. Zat kimia tersebut adalah tirosin, piridoksin dan niacin, akibatnya pertumbuhannya menjadi baik dan mortalitasnya menurun (Meulen *et al*, 1979). Tirosin adalah asam amino yang mempunyai cincin aromatik dan berperan pada proses metabolisme protein, karena daya kerja mimosin berlawanan dengan tirosin, maka mimosin dapat menghambat sintesis protein sehingga pertumbuhan badan terhambat (Harper *et al*, 1987).

Beberapa peneliti menyatakan bahwa mimosin mempunyai daya kerja sebagai anti mitosis. Pada sel-sel bulbus folikel bulu, daya kerja ini menyebabkan kerontokan bulu (Makfoeld, 1983). Pernyataan yang sama juga dikemukakan Meulen *et al* (1979) bahwa mimosin juga mempunyai daya kerja yang bersifat anti mitosis pada sel epitel lensa mata, sehingga dapat berakibat katarak. Ini terbukti pada perbenihan sel epitel lensa mata secara *in vitro* yang ditambahkan

mimosin ternyata terjadi penurunan indeks mitosisnya. Selain itu mimosin diketahui mempunyai daya kerja yang bersifat neuro toksik. Hal ini dibuktikan oleh Meulen *et al* (1979) dengan memberikan ransum pada anak tikus yang mengandung 25% lamtoro, ternyata menyebabkan paralisa anggota gerakanya.

Menurut Bahri (1982) dan Ford (1984) mimosin dapat dimetabolisme menjadi senyawa 3 - hidroxy - 4 (IH) - piridine (DHP) di dalam rumen ruminansia.

Pengamatan Tsai dan Ling yang dikutip Meulen *et al* (1979), sejumlah besar mimosin diserap lewat pencernaan makanan. Akibatnya akan terjadi akumulasi pada serum, kulit dan mata yang kemudian secara cepat akan disekresi lewat urin.

Untuk mengurangi pengaruh toksik mimosin tersebut, telah dilakukan beberapa penelitian. Cara untuk mengurangi toksisitas mimosin dapat dilakukan dengan jalan penambahan garam besi, asam klorida, pemanasan, pencucian dan fermentasi (Meulen *et al*, 1979 ; Tangendjaja dkk, 1982 ; Megarity *et al*, 1984). Kandungan mimosin akan berkurang apabila daun atau biji lamtoro gung dimasak atau dikeringkan dibawah sinar matahari. Kehilangan mimosin dapat mencapai 50%, selain itu daya kerjanya dapat dihambat dengan pemberian ferro sulfat (FeSO_4) pada tepung biji atau daun lamtoro yang akan digunakan untuk pakan ternak (El-Harith *et al*, 1979).

Mengingat efek negatif dari mimosin yang terkandung dalam lamtoro gung, maka perlu diberi batasan seberapa banyak lamtoro masih bisa diberikan pada pakan ayam pedaging tanpa menimbulkan efek negatif. Menurut Anonimus,, (1985) dan Sarmanu, (1986) mengatakan bahwa jumlah dari lamtoro dalam pakan

adalah sebesar 5% dan jumlah ini belum berakibat jelek. Penambahan lamtoro dalam pakan sebanyak 10% dan 20% akan berakibat jelek yaitu akan terjadi hambatan pertumbuhan (Bryant *et al* , 1980).

II.2. Ginjal dan Fungsinya

Menurut Wardener (1975) dan Ganong (1983), ginjal merupakan organ utama yang berfungsi sekretoris dalam mengeluarkan produk sisa metabolisme yang terlarut dalam air dan semua substansi yang diserap dari saluran pencernaan yang tidak dapat dimetabolisme dan tidak dibutuhkan oleh tubuh. Bentuk dan ukuran ginjal bervariasi tergantung pada umur dan spesies hewan. Pada umumnya ginjal merupakan organ yang berpasangan, terletak dibagian belakang peritonium di sebelah kanan dan kiri kolumna vertebralis, bertempat pada sisi tengah atau sisi cekung dari ginjal, terdapat suatu hilus yang dilalui oleh arteri dan vena ginjal (Ganong, 1983 ; Bevelander dan Ramelay, 1988).

Ginjal terdiri atas dua bagian, yaitu bagian kortek dan medula. Kortek merupakan daerah bagian luar yang berwarna coklat gelap, sedangkan bagian dalamnya yang berwarna agak cerah disebut medula, berbentuk piramid terbalik (Dellman dan Brown, 1992).

Ginjal dalam menjalankan fungsinya melalui tiga proses yaitu filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi dan sekresi oleh tubulus (Wardener, 1975). Ganong (1983) dan Guyton (1983) menyebutkan bahwa ginjal memiliki fungsi mengatur tekanan osmotik ekstraseluler dengan mengatur ekskresi air dan NaCl, mengatur cairan elektrolit ekstraseluler dengan jalan filtrasi oleh glomerulus dan reabsorpsi oleh

reabsorpsi oleh tubulus, mengekskresikan hasil metabolisme yang tidak berguna bagi tubuh terutama sisa metabolisme protein seperti urea, kreatinin, asam urat dan amonia serta mengatur keseimbangan asam basa melalui sekresi hidrogen dan elektrolit.

Adanya kerusakan ginjal, menyebabkan ginjal tidak dapat mengekskresikan hasil metabolisme yang tidak berguna bagi tubuh terutama urea dan kreatinin. Urea dan kreatinin merupakan hasil metabolisme protein yang pembuangannya diatur oleh ginjal yaitu melalui filtrasi glomerulus. Adanya kerusakan pada sel glomerulus menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun sehingga urea dan kreatinin akan menumpuk didalam darah (Brenner dan Hostetter, 1982).

II.2.1. Struktur Mikroskopis Ginjal

Unit fungsional dari ginjal adalah nefron. Tiap-tiap nefron dapat membentuk urin tersendiri, oleh karena itu untuk menjelaskan fungsi ginjal dapat menggunakan satu nefron saja untuk mewakilinya. Nefron pada dasarnya terdiri atas glomerulus dan tubulus yang cukup panjang, terdiri atas tubulus proksimalis dan tubulus distalis serta lengkung Henle (Guyton, 1983).

Glomerulus merupakan invaginasi jalinan kapiler ke bagian dalam ujung buntu ginjal yang melebar dan langsung dibungkus oleh kapsula Bowman. Pada kapsula Bowman terdapat sel endotel, membran basalis dan epitel dasar. Ketiga lapisan tersebut membentuk membran filtrasi glomerulus yang memungkinkan ultrafiltrasi darah. Pada glomerulus terdapat tiga zat yang mengalami filtrasi yaitu

elektrolit (natrium, kalium, magnesium bikarbonat, klor dan fosfat), non elektrolit (glukosa, urea dan kreatinin) dan air (Price dan Wilson, 1985).

Tubulus, sel-sel tubuli mempunyai sifat-sifat epitel. Fungsi sel tubuli ini terutama sebagai absorpsi. Tubulus yang berhubungan dengan kapsula Bowman dinamakan tubulus kontortus proksimalis dan bertempat didaerah kortek, dilapisi oleh sel kuboid dengan inti bulat terletak basal dan permukaan bebasnya memiliki mikrofili panjang, disebut brush border (Ressang, 1984).

Tiap-tiap tubulus kontortus proksimalis memasuki medula berubah menjadi lengkung Henle yang terdiri atas Henle tebal desendens, Henle tipis dan Henle tebal asendens. Tubulus memasuki kortek berubah lagi menjadi tubulus kontortus distalis, sel epitel tidak memiliki brush border dan sitoplasmanya tampak lebih pucat serta kurang asidofil. Pada akhir tubulus kontortus distalis merupakan suatu tabung lurus, berakhir pada medula yang disebut duktus koligentes. Duktus koligentes merupakan muara dari tubulus tapi bukan merupakan bagian dari nefron (Dellman dan Brown, 1992).

II.3. Nitrogen Urea Darah (BUN = Blood Urea Nitrogen)

Amonia merupakan hasil katabolisme protein yang dihasilkan dari protein makanan, selain itu juga dihasilkan dari protein jaringan. Amonia yang terbentuk diangkut menuju ke hati dan dibentuk menjadi urea (Wood . *et . al.*, 1987) .

Hati sebagai organ yang mempunyai fungsi detoksifikasi, selanjutnya mengubah amonia menjadi bentuk yang tidak toksik yaitu urea, yang selanjutnya dilepas dalam aliran darah menuju ginjal untuk diekskresi bersama urine (Kaneko *et al* , 1971 ; Coles, 1986). Pada glomerulus, urea dalam darah difiltrasi, selanjutnya filtrat yang terbentuk masuk kedalam kapsula Bowman dan akhirnya

mengalir kedalam tubulus untuk diekskresikan. Didalam tubulus inilah urea dalam filtrat glomerulus direabsorpsi dan diekskresikan oleh sel-sel tubulus (Doxey, 1971 ; Pitts, 1972). Ekskresi urea merupakan fungsi ginjal yang penting, sehingga kenaikan konsentrasi urea dalam darah dikaitkan dengan adanya gangguan fungsi ginjal (Blood, 1974 ; Harper, 1987). Hasil metabolisme protein dan asam amino termasuk ekskresinya sebagian besar tergantung pada ginjal (Baron, 1990).

Harga normal kadar nitrogen urea darah mencit adalah $20,4 \pm 5,00$ mg/ d l (Coles, 1986). Peningkatan kadar yang melebihi harga normal tersebut merupakan suatu tanda adanya gangguan pada ginjal. Urea yang tinggi dalam darah disebabkan oleh karena ginjal gagal dalam mengekskresikan urea tersebut, sehingga urea akan kembali kedalam sirkulasi darah dan akan menumpuk dalam plasma darah yang akan menyebabkan intoksikasi yang disebut dengan uremia (Stone, 1984).

Tingginya kadar urea darah tidak selalu menjadi tanda kerusakan ginjal dari penderita, sebagai contoh dehidrasi atau shock yang berakibat jumlah urea yang dikeluarkan akan menurun tetapi kadar urea dalam sirkulasi meningkat (Coles, 1986).

II.4. Kreatinin Serum

Kreatinin terdapat didalam otot, otak dan darah baik dalam bentuk kreatinfosfat maupun bentuk bebas (Harper, 1983). Kadar kreatinin lebih stabil daripada BUN, sebab kadar kreatinin tidak mudah berubah oleh pengaruh

penyakit, zat toksik, infeksi dan obat bila dibandingkan dengan kadar urea darah (Coles, 1986). Hasil metabolisme protein yang diekskresikan bersama urin meliputi urea 70% - 90%, amonia 1% - 10% dan kreatinin 1% - 10% (Kaneko *et al* , 1971). Sintesis kreatinin melibatkan tiga asam amino yaitu glisin, arginin dan metionin, ketiganya merupakan bahan dasar sintesis kreatin, suatu senyawa penting di otot yang dapat menyimpan energi dalam bentuk kreatinfosfat. Kreatinfosfat sebagian dapat diubah menjadi kreatinin dan diekskresikan bersama urin (Anonimus, 1993).

Kadar kreatinin serum normal pada mencit adalah $0,82 \pm 0,18$ mg/dl (Coles, 1986). Peningkatan kadar kreatinin serum yang tinggi dalam darah bisa menyebabkan terjadinya intoksikasi karena penumpukan kreatinin dalam plasma darah yang ditandai dengan adanya azotemia (Stone, 1984). Kadar kreatinin serum dapat juga dipengaruhi oleh beberapa faktor non renal misalnya penyakit otot, gagal jantung, shock dan penyumbatan ureter (Kaplan *et al* , 1979 ; Duncan *et al* , 1986).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kandang Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi, sedangkan pemeriksaan kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian mulai tanggal 20 April 1999 sampai dengan tanggal 7 Juni 1999.

III.2. Materi Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) betina strain Balb C berumur kurang lebih tiga bulan dengan berat badan antara 20-22 gram yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farna Surabaya.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian adalah, tepung biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), pakan ayam berupa pellet (G 2), pakan buatan bentuk pellet yang mengandung 20% dan 40% tepung biji lamtoro gung, serum serta ginjal mencit, kloroform, formalin 10%, NaCl fisiologis, akuades, Hematoxylin Eosin (HE) untuk pembuatan preparat histopatologi, parafin, xylol, standart kerja kreatinin 2 mg/100 ml, Sodium Tungstat 10%, larutan asam pikrat serta

standart kerja, kreatinin 2 mg/100 ml, Sodium Tungstat 10%, larutan asam pikrat, larutan NaOH 1,4 mol, asam trikoasetat, standartkerja urea 40 mg/100ml, reagen BUN yang terdiri atas larutan urease, larutan phenol dan larutan hipoklorit.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit berupa ember plastik berbentuk persegi beserta tutupnya dari anyaman kawat dengan perlengkapannya (tempat pakan dan minum), tabung reaksi dengan raknya, kapas, alkohol, spuit 1 cc beserta jarumnya, timbangan O'Hauss untuk menimbang mencit, alat untuk membedah yang terdiri atas gunting, scalpel dan pinset, pot plastik, gelas obyek dan penutupnya, mikroskop, pemusing, beserta tabungnya, spektrophotometer Bausch&Lomb, alat dokumentasi beserta filmnya, alat pembuat pakan mencit yang terdiri atas gilingan untuk menghaluskan biji lamtoro gung, bak tempat mengaduk bahan pakan, pengukus dan cetakan untuk membuat pellet.

III.3. Metode Penelitian

Hewan penelitian berupa 24 ekor mencit betina berumur tiga bulan dengan tiga perlakuan dan delapan ulangan. Mencit masing-masing diberi nomor, kemudian diambil secara acak sesuai dengan perlakuan sehingga semua mencit menempati setiap kelompok perlakuan. Mencit-mencit sebelum perlakuan diadaptasikan selama tujuh hari dengan diberi pakan berbentuk pellet yang merupakan pakan buatan pabrik dan air minum diberikan secara *ad libitum* untuk penyesuaian lingkungan.

Perincian ketiga kelompok perlakuan tersebut adalah :

1. Kelompok kontrol (PO)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet tanpa kandungan tepung biji lamtoro gung.

2. Kelompok perlakuan I (P1)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet yang mengandung 20% tepung biji lamtoro gung.

3. Kelompok perlakuan II (P2)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet yang mengandung 40% tepung biji lamtoro gung.

Perlakuan dilakukan selama 40 hari. Pada hari ke - 41 setelah perlakuan selesai, semua mencit diambil darahnya dan dipisahkan dengan serumnya yang selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum kemudian mencit tersebut dibunuh. Ginjal mencit diambil dengan cara membedah abdomennya, selanjutnya ginjal tersebut digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi. Pemeriksaan preparat histopatologi tersebut menggunakan pembesaran 100X dan 400X dibawah mikroskop.

III. 4. Peubah Yang Diamati

Dilakukan pengamatan secara mikroskopis terhadap gambaran histopatologi ginjal, serta pengukuran kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum mencit pada masing-masing perlakuan yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

III.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Hasil pemeriksaan histopatologi ginjal mencit pada penelitian dan data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal Wallis (Sudrajat, 1985 ; Sarmanu, 1993). Bila dari analisis tersebut terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji pasangan berganda atau uji Z (Siegel, 1986 ; Daniel, 1989). Pemeriksaan histopatologi ini dilakukan berdasarkan derajat kerusakan atau tingkat perubahan dari ginjal, kemudian masing-masing perubahan diberi nilai sebagai berikut :

Evaluasi Terhadap Organ Ginjal

Nilai	Tingkatan perubahan histopatologi
0	Tidak terjadi perubahan
1	A = Degenerasi tubulus kontortus proksimal
2	B = Nekrose tubulus kontortus proksimal
3	C = Nekrose glomerulus
4	D= Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar daerah interstitialis
5	E = Nekrose tubulus kontortus distalis
6	F = Perdarahan pada glomerulus
7	G= Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar glomerulus

(Purnomo, 1984 ; Ressang, 1984).

Data kadar BUN dan kreatinin serum dianalisis menggunakan analisis varian dengan tiga perlakuan dan delapan ulangan. Bila terdapat pengaruh yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk mengetahui perlakuan yang paling berpengaruh (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

IV.1. Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit

Secara mikroskopis pada kelompok kontrol (P0) tidak menunjukkan kerusakan seluler yang nyata. Pada kelompok perlakuan I dan II terdapat gambaran histopatologi berupa degenerasi dan nekrose tubulus kontortus proksimalis, nekrose tubulus kontortus distalis dan nekrose glomerulus serta infiltrasi sel-sel leukosit polimorf disekitar daerah interstitialis.

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan dinilai menurut skor, terdapat pada lampiran 4 – 7. Ringkasan data tersebut terlihat seperti pada tabel berikut.

Tabel 2. Nilai Rank dan Skor Histopatologi Organ Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Tepung Biji Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*)

n	Kontrol		Perlakuan 1		Perlakuan 2	
	Ns	R 1	Ns	R 2	Ns	R 3
1	0	4,5	1	9	7	16
2	0	4,5	8	18	10	19
3	0	4,5	6	13,5	12	22,5
4	0	4,5	7	16	12	22,5
5	0	4,5	7	16	4	11,5
6	0	4,5	6	13,5	11	20
7	0	4,5	3	10	12	22,5
8	0	4,5	4	11,5	12	22,5
R		36		107,5		156,5
X		4,5 ^b		13,44 ^a		19,56 ^a
R ²		1296		11556,25		24492,25

Keterangan : n = Ulangan
 R = Rank
 NS = Nilai Skor Histopatologi

Setelah dilakukan penghitungan secara statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dengan taraf signifikan 5% diperoleh hasil 18,03 yang lebih besar dari H tabel 5,99. Berarti terdapat perbedaan yang nyata dari tiga perlakuan yang diberikan ($p < 0,05$). Untuk menentukan perlakuan mana yang berbeda nyata dilakukan uji lebih lanjut dengan uji Z (0,05). Hasil yang didapat dari uji Z menunjukkan bahwa perlakuan I dan II berbeda nyata dengan perlakuan kontrol, sedangkan diantara keduanya (P1 dan P2) tidak berbeda nyata.

IV.2. Kadar Nitrogen Urea Darah Mencit

Data kadar nitrogen urea darah mencit (BUN) yang diperoleh dari ketiga perlakuan (P0, P1, P2) tercantum pada tabel 3 berikut ini :

Tabel 3 : Rata-rata dan simpangan baku kadar nitrogen urea darah mencit

Perlakuan	Kadar BUN dalam mg/dl
P0	18,66 ± 1,47 ^b
P1	18,99 ± 1,85 ^b
P2	23,42 ± 4,47 ^a

Tabel 3 diperoleh dari F hitung sebesar 6,6 yang lebih besar dari tabel 3,47 dan 5,78 dengan taraf signifikan 1% dan 5% yang berarti bahwa pemberian ketiga perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar BUN mencit.

Untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda sangat nyata tersebut dilakukan uji BNT dengan taraf signifikan 5%. Hasil penghitungan uji BNT menunjukkan bahwa kandungan nitrogen urea darah tertinggi didapat pada perlakuan II (P2) yang berbeda nyata dengan perlakuan I (P1) dan kontrol (P0).

IV. 3. Kadar Kreatinin Serum Mencit

Data kadar kreatinin serum mencit yang diperoleh dari ketiga perlakuan (P0, P1, P2) tercantum pada tabel 4 berikut ini :

Tabel 4 : Rata-rata dan simpangan baku kadar kreatinin serum mencit

Perlakuan	Kadar kreatinin dalam mg/dl
P0	1,29 ± 0,28
P1	1,37 ± 0,28
P2	1,54 ± 0,30

Tabel 4 diperoleh dari hasil F hitung sebesar 1,63 lebih kecil daripada F tabel 3,47 dengan taraf signifikan 5% yang berarti bahwa pemberian ketiga perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin serum mencit.

BAB V

PEMBAHASAN

V.1. Pengaruh Terhadap Organ Ginjal

Sistem urinari bertanggung jawab terhadap berlangsungnya ekskresi bermacam-macam produk buangan dari dalam tubuh. Pengendalian itu dilaksanakan dengan penyaringan sejumlah besar plasma dan molekul-molekul kecil melalui glomerulus (Frandsen, 1992). Lubang renik (pore) glomerulus yang berfungsi normal tidak ditembus oleh molekul-molekul protein. Sel-sel tubuli menyerap kembali sebagian besar air dan garam-garam, selain itu juga sel-sel tubuli mempunyai daya resorpsi dan daya sekresi (Ressang, 1984).

Berdasarkan hasil penelitian, pada kelompok kontrol yang diberi pakan tanpa kandungan biji lamtoro gung tidak terjadi perubahan yang nyata.

Dalam keadaan disfungsi glomerulus, terjadi penembusan renik-renik glomerulus oleh molekul-molekul protein melalui ruangan Bowman, akhirnya masuk ke lumen tubuli. Disfungsi glomerulus menyebabkan gangguan metabolisme air dan protein dalam sel-sel, sehingga pada epitel tubuli terjadi degenerasi, bahkan kematian atau nekrose bila terlalu banyak bahan-bahan yang harus diresorpsi kembali oleh sel-sel epitel ini. Selain gangguan penyerapan kembali, fungsi sekresi tubuli juga berkurang atau berhenti. Jadi disfungsi glomerulus dapat menyebabkan kerusakan-kerusakan tubuli karena infiltrasi bahan-bahan dan degenerasi (Ressang, 1984).

Apabila zat toksik yang masuk ke lumen tubuli dalam jumlah besar, nekrose yang terjadi pada tubulus kontortus proksimalis bisa berlanjut pada tubulus kontortus distalis. Keadaan seperti diatas terlihat pada sediaan histopatologi ginjal mencit yang diberi perlakuan pakan dengan kandungan 20% dan 40% biji lamtoro gung.

Pada perlakuan pemberian pakan yang mengandung 40% biji lamtoro gung terjadi perubahan seluler yang sangat nyata. Zat beracun yang terkandung didalam biji lamtoro gung yaitu mimosin ikut aliran darah dan kemudian masuk kedalam ginjal yang kemudian difiltrasi oleh glomerulus. Sel-sel glomerulus ini akan kontak dengan mimosin tersebut, akibatnya sel-sel ini akan mengalami perubahan dari degenerasi sampai nekrose.

Masuknya molekul-molekul protein kedalam lumen tubuli akibat disfungsi glomerulus menyebabkan terakumulasinya protein di dalam lumen tersebut, sebagai akibat infiltrasi sel-sel tubuli oleh badan-badan protein. Jadi sel-sel tubuli tersebut mengandung butir-butir hyalin karena terjadi penyerapan kembali protein melalui jaringan glomeruler (Ressang, 1984).

Fungsi glomerulus adalah membentuk ultrafiltrat plasma dan membebaskannya ke segmen tubulus. Perubahan yang terjadi pada glomerulus yaitu bertambahnya permeabilitas glomerulus, akibatnya akan terjadi penyerapan kembali zat-zat ke dalam epitel tubuli, hal ini mengakibatkan degenerasi sel-sel epitel (Ressang, 1984).

Degenerasi adalah perubahan struktur sel akibat adanya jejas pada sel. Perubahan tersebut dapat pulih kembali (reversibel). Degenerasi terjadi karena

gangguan dalam metabolisme karbohidrat, protein dan air pada sel (Wilson, 1985). Degenerasi yang terjadi pada penelitian ini adalah degenerasi tubulus kontortus proksimalis. Sel yang berdegenerasi tampak bengkak keruh yang ditandai dengan adanya sel-sel yang membengkak dan sitoplasmanya bergranula dan degenerasi hidropilik dengan vakuola-vakuola jernih yang tersebar dalam sitoplasma (Robbins dan Angell, 1971 ; Himawan, 1994).

Menurut Ressay (1984), perubahan-perubahan pada glomerulus, tubuli dan pembuluh darah sering mengakibatkan radang dalam interstitium. Hal ini terlihat pada sediaan ginjal mencit yang diberi pakan dengan kandungan 40 % biji lamtoro gung, menunjukkan perubahan berupa infiltrasi sel-sel leukosit polimorf disekitar interstitial.

V.2. Pengaruh Terhadap Kadar Nitrogen Urea Darah (BUN)

Kadar BUN tertinggi dalam penelitian ini didapatkan pada perlakuan II, yang diberi pakan dengan kandungan 40% biji lamtoro gung, yang berbeda nyata dengan perlakuan I (kandungan 20% biji lamtoro gung) dan kontrol. Antara perlakuan I dan kontrol tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan karena kerusakan dan perubahan yang terjadi pada perlakuan II terhadap jaringan ginjal paling parah bila dibandingkan dengan kedua perlakuan lainnya, sehingga urea yang seharusnya dikeluarkan akan menumpuk dalam darah. Kegagalan pengeluaran urea ini disebabkan oleh kerusakan pada sel glomerulus yang berfungsi sebagai penyaring hasil metabolisme protein. Hal ini sesuai dengan pendapat Brenner dan Hosteter (1982) bahwa glomerulus berfungsi sebagai filtrasi plasma untuk menghasilkan filtrat glomerulus yang kemudian diubah menjadi urin didalam

tubulus. Urea dan kreatinin merupakan hasil katabolisme protein yang pembuangannya diatur oleh ginjal, yang nantinya juga difiltrasikan oleh glomerulus. Adanya kerusakan pada sel glomerulus akan menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun, sehingga urea dan kreatinin gagal diekskresikan. Hal senada juga dikemukakan oleh Coles (1986) yang menyatakan bahwa urea dan kreatinin yang gagal dikeluarkan akan kembali ke dalam sirkulasi darah dan akan menumpuk di dalam plasma darah yang bisa menyebabkan intoksikasi. Disfungsi ginjal dapat terjadi apabila konsentrasi obat atau zat toksik yang harus melalui glomerulus untuk difiltrasi terlalu tinggi, sehingga menimbulkan penumpukan sisa-sisa akhir metabolisme di dalam darah seperti nitrogen non protein yaitu urea, kreatinin, asam amino dan asam urat.

Kadar BUN juga dapat dipengaruhi oleh protein pakan. Kecepatan pembentukan urea dan amonia dirangsang oleh asam amino ornitin, sitrulin dan arginin. Arginin merupakan salah satu asam amino yang terdapat didalam protein pakan, sehingga semakin tinggi protein pakan semakin tinggi pula kadar BUN (Lehninger, 1990).

V.3. Pengaruh Terhadap Kadar Kreatinin Serum

Berdasarkan hasil pengamatan dan penghitungan statistik menunjukkan bahwa pemberian pakan yang mengandung 20% dan 40% biji lamtoro gung ternyata tidak berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin serum mencit. Berbeda dengan pengaruh terhadap kadar BUN, diduga kadar kreatinin serum relatif lebih sukar mengalami perubahan dibandingkan dengan kadar BUN. Hal ini sesuai dengan pendapat Coles (1986) bahwa kadar kreatinin serum lebih stabil daripada

kadar BUN, sebab kadar kreatinin serum tidak mudah berubah oleh pengaruh penyakit, zat toksik, infeksi dan obat bila dibandingkan dengan kadar BUN, kecuali apabila sudah terjadi gangguan fungsi ginjal sebelumnya.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan, bahwa tingginya kadar BUN tidak selalu menjadi tanda kerusakan ginjal. Sebagai contoh dehidrasi atau shock, jumlah urea yang dikeluarkan akan menurun tetapi kadar urea pada sirkulasi darah akan tinggi. Demikian juga kadar kreatinin serum dipengaruhi oleh faktor-faktor diluar ginjal, misalnya ada penyakit pada otot, penyumbatan pada ureter, shock dan lain-lainnya (Doxey, 1971; Duncan and Prasse, 1986).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh beserta pembahasannya dari ketiga perlakuan terhadap pengaruh histopatologi ginjal, kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum mencit (*Mus musculus*) dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian 20% dan 40% tepung biji lamtoro gung dalam pakan menyebabkan perubahan gambaran histopatologi berupa degenerasi tubulus kontortus proksimalis, nekrose tubulus kontortus proksimalis dan distalis, nekrose glomerulus serta infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar daerah intertitialis pada ginjal mencit
2. Pemberian 20% dan 40% tepung biji lamtoro gung dalam pakan dapat meningkatkan kadar nitrogen urea darah mencit.
3. Pemberian 20% dan 40% tepung biji lamtoro gung dalam pakan tidak meningkatkan kadar kreatinin serum mencit.

VI.2. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh bagian lain dari tumbuhan lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) baik daun maupun batangnya terhadap organ lain.
2. Pemberian biji lamtoro gung sebagai pakan ternak perlu dibatasi.

RINGKASAN

SOFYAN IRAWAN. Pengaruh Pemberian Tepung Biji Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Perubahan Histopatologi Ginjal, Kadar Nitrogen Urea Darah dan Kreatinin Serum Mencit (*Mus musculus*), dibawah bimbingan Bapak Soepartono Partosoewignjo., M.S., Drh sebagai pembimbing pertama dan Ibu Setyawati Sigit., M.S., Drh sebagai pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran histopatologi ginjal, kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum mencit yang diberi tepung biji lamtoro gung.

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit (*Mus musculus*) betina berumur lebih kurang tiga bulan strain Balb-C. Mencit tersebut dibagi secara acak menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu , P0 sebagai kontrol yang diberi pakan tanpa kandungan biji lamtoro gung , P1 diberi pakan yang mengandung 20% biji lamtoro gung dan P2 yang diberi pakan yang mengandung 40 % biji lamtoro gung. Perlakuan diberikan melalui pakan berbentuk pellet, setelah semua mencit mengalami adaptasi. Setelah enam minggu semua mencit diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum, kemudian ginjalnya dibuat preparat histopatologis yang diamati dibawah mikroskop serta dilakukan penilaian.

Hasil pemeriksaan histopatologis ginjal yang dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dan uji Z, menunjukkan bahwa pada perlakuan II memberikan tingkat kerusakan tertinggi pada ginjal yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata

($p < 0,05$) dengan perlakuan kontrol tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap perlakuan I.

Gambaran histopatologis ginjal berupa degenerasi tubulus kontortus proksimalis, nekrose kontortus proksimalis serta distalis dan glomerulus serta infiltrasi sel-sel leukosit polimorf di sekitar interstitialis.

Hasil analisis statistik terhadap kadar BUN menunjukkan bahwa perlakuan II memberikan peningkatan tertinggi yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan perlakuan I ($p < 0,05$), sedangkan perlakuan I tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol ($p > 0,05$).

Pemberian biji lamtoro gung sebanyak 20% dan 40% dalam pakan tidak berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin serum ($p > 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1985. *Leucaena : Promising Forage and Free Corp for the Tropic*. NAS Washington.
- Anonimus. 1993. Buku Diktat Biokimia., Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Aminudin, P. 1995. Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminan., UI Press. Jakarta. 2-25.
- Bahri, S. 1982. Pengaruh Pemberian Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Kelenjar Tiroid Kelinci : Suatu Pengamatan Histopatologi., Penyakit Hewan. 14 : 14-16.
- Bahri, S. 1984. Evaluasi Efek Goitrogenik dari Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) pada Marmut. Penyakit Hewan. 16 : 145-147.
- Baron, D.N. 1990. Kapita Selekta Patologi Klinis. Edisi 4. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. 108-113.
- Bevelander, G. and J.A. Ramelay. 1988. Dasar-dasar Histologi. Edisi 8. Penerbit Erlangga Jakarta. 316-337.
- Blood., D. C. 1974. Veterinary Pathologi. 4 th Ed. The Williams Willkins Co. Baltimore and Baillire Tindal. 834.
- Brenner, B.M. and T.H. Hosteter. 1982. Gangguan Fungsi Ginjal. Dikutip oleh Thorn, Adams, Braunwald, Isselbacher dan Petersdorf. Principles of Internal Medicine. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. 6-8.
- Bryant, P.K. and Lee. 1980. Feeding value of *Leucaena* seeds for swine, chickens and rats. Leuc. New. 1 : 35-36.
- Coles, E.H. 1986. Veterinary Clinical Pathology. 4th Ed. W.B. Saunders Company Philadelphia. 191-193.
- Daniel, W.N. 1989. Statistik Nonparametrik Terapan. Alih Bahasa oleh Alex Tri Kamcoro W. 1989. Penerbit PT. Gramedia Jakarta. 272 - 275.
- Dellman, H.D. and E.M. Brown. 1992. Histologi Veteriner. Diterjemahkan oleh Hartono. R. Edisi kedua. Penerbit Universitas Indonesia. 413-428.

- Doxey, D.L. 1971. *Veterinary Clinical Pathology*. Baillier, Tindal. London. 158-159.
- Duncan, J.R. and K.W. Prasse. 1986. *Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology*. 2nd Ed. Iowa State University Press. Iowa. 167-169.
- El-Harith, Y. Schart and U. Meullen. 1979. Reaction of rats feed on leucaena leucocephala. *Tropical Animal Production*. 4 : 162-162.
- Ford, C.W. 1984. The effects of leucaena leucocephala on cattle in the northern territory. *Aust. Vet. J.* 52 : 243-245.
- Franson, R.D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Diterjemahkan oleh B. Srigandono, Koen Praseno. Gadjah Mada University Press. 648 - 679.
- Ganong, W.F. 1983. *Fisiologi kedokteran*. Edisi 10. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 251-254.
- Guyton, A.C. 1983. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 5. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta 437-451.
- Harper, H.A., V.W. Rodwell and P.A. Mayes. 1987. *Review of physiological chemistry*. Lange Medical Publication California.
- Harper, H.A. 1983. *Review of Biochemistry*. Edisi 1979. Diterjemahkan oleh Adji Dharma dan Andreas Sanusi Kurniawan. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 312-313.
- Himawan, S. 1994. *Patologi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kaneko, J.J. and C.E. Cornelius. 1971. *Clinical Biochemistry of Domestic Animal*. 2nd Edition, Vol 2. Academic Press. New York. London. 71-80.
- Kaplan, A. and La Verne, L.S. 1979. *Clinical Chemistry ; Lea and Febiger*, Philadelphia. 109-112.
- Kusriningrum. 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 20-80.
- Labadan, N. N. 1969. The effect of various treatment and additive on the feeding value of Ipil-Ipil leaf meal in poultry. *Phil. Agric.* 53. 392-401.

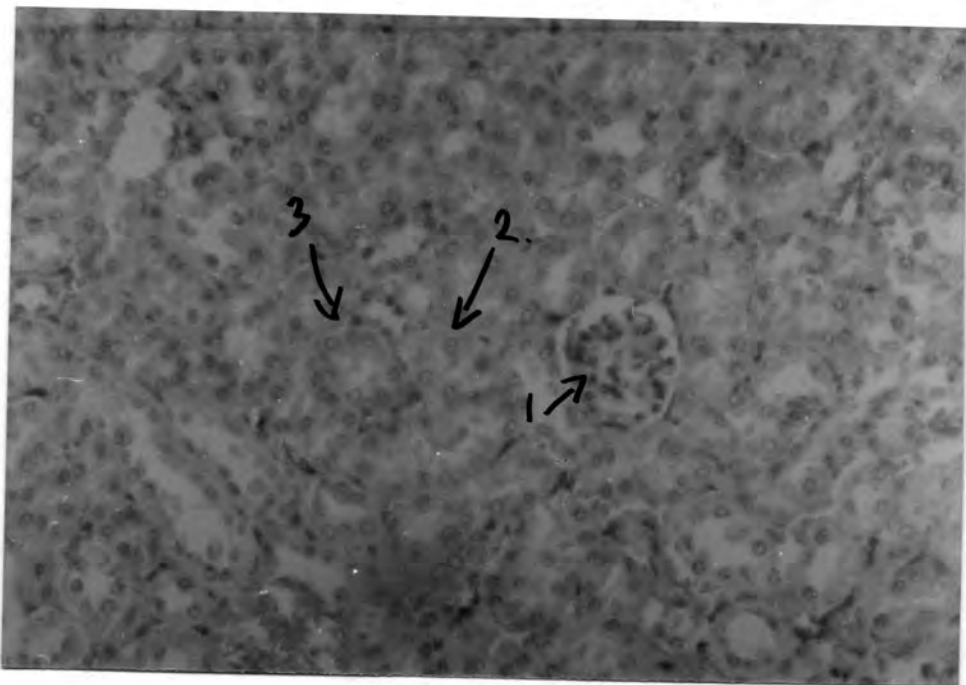
- Lehninger, A.L. 1990. Dasar-dasar Biokimia Jilid 2. Alih bahasa oleh Maggy Thenawidjaja. Penerbit Airlangga. Jakarta. 239-240.
- Lowry, J.B., B. Tangendjaja and Meryanto. 1983. Autolysis of mimosin to 3-hydroxy-4-l (H) pyridone in green tissue of *leucocephala*. *J.Sci.Fd.Agric* 34: 529-533.
- Lowry, J.B., and N.W.Cook. 1985. Measurement of mimosin and its metabolisme in biological materials. *J.Sci.Fd.Agric*. 36:799-807.
- Makfoeld, D. 1983. Toksikan Nabati Dalam Bahan Makanan. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 18-19.
- Megarrity, R.G., C.W. Ford and G.V. Meehen. 1984. 2,3 DHP, Anovel mimosin metabolisme. *Leuc. Res.Rep.* 5:2.
- Meulen, U.S. Struck, E.Schulke and E.A. El-Harith. 1979. A Review on nutritive value and toxic aspects of *leucaena leucocephala*. *Tropical Animal*. 4 : 113-126.
- Pitts, R.F. 1972. Physiology of the Kidney And Body Fluids. 2nd Edition, Year book Medical Publishes. Inc. Chicago. 241-242.
- Price, S.A. and L.M. Wilson. 1985. Patofisiologi. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 5-18.
- Purnomo, B.H. 1984. Peranan Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Untuk Pakan Ternak Ruminansia. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ressang, A. A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Team Leader IFAD Project : Bali Cattle Disease Investigation Unit. Denpasar, Bali.
- Robbins, S.L. and M. Angell. 1971. Basics Pathology. W.B. Saunders Company Philadelphia. 17-18.
- Ruskin, F.R. 1984. *Leucaena* : Promosing Forage and the Tree Crop for the Tropics. 2nd Ed. National Academy Press. Washington D.C.
- Sarmanu. 1982. Pengaruh Toksik Mimosin. Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

- Sarmanu., S. Hardjopranjoto., Kusrieningrum. 1985. Study Pengaruh Pemberian Tepung Daun Lamtoro Gung dan Mimosin Murni Terhadap Reproduksi dan Produksi Ayam Petelur. Lembaga Penelitian. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sarmanu. 1986. Pengaruh Tepung Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dan Mimosin Murni Terhadap Alat Reproduksi dan Produksi Ayam Petelur. Seminar Fakultas Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sarmanu. 1993. Diktat Uji Komparasi pada Statistik Non Parametrik. Program Pasca Sarjana, Universitas Airlangga Surabaya.
- Siegel, S. 1986. Statistik Nonparametrik Ilmu Sosial. Penerbit PT. Gramedia Jakarta
- Stone, A.E. 1984. The Veterinary Clinical Pathology of North American. Volume 14. Simposium on Urogenital Surgery. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Sudrajat, M. 1985. Statistik Non Parametrik. Penerbit Armico. Bandung. 76-78.
- Suprayitno. 1981. Lamtoro Gung dan Manfaatnya. Bhratakarya Aksara. Jakarta. 1-2.
- Tangendjaja, B., Maryanto dan J.B. Lowry. 1982. Pemecahan Kimia dan Enzimatik dari Mimosin didalam Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Proceedings Seminar Penelitian Peternakan di Cisarua. Bogor.
- Tangendjaja, B. J.B. Lowry dan T.A. Budiman. 1985. Nilai gizi biji lamtoro dan Sifat racunnya pada ayam pedaging ; Pengaruh penambahan besi sulfat dan natrium karbonat. Ilmu dan Peternakan 2(1) : 45-50.
- Thurau, K., J.W. Beylanand., J.Masin. 1979. Pathophysiology of acute renal failure. 64-88. Dikutip oleh ; D. Black and Jones. Ed. Renale Disease. Blackwell Scientific Publication. London.
- Wardener, H.E. 1975. The Kidney and Outline of Normal and Abnormal Structure and Function. 4th Edition. The English Language Book Society and Churchill Livingstone. 100-101.
- Wisadirana, D. 1982. Mengenal Tanaman Petai Cina. Ranch. 5:36.
- Wood, E.J. and W.R. Pickering. 1987. Introduction Biochemistry. John Murray Ltd. London. 136-139.

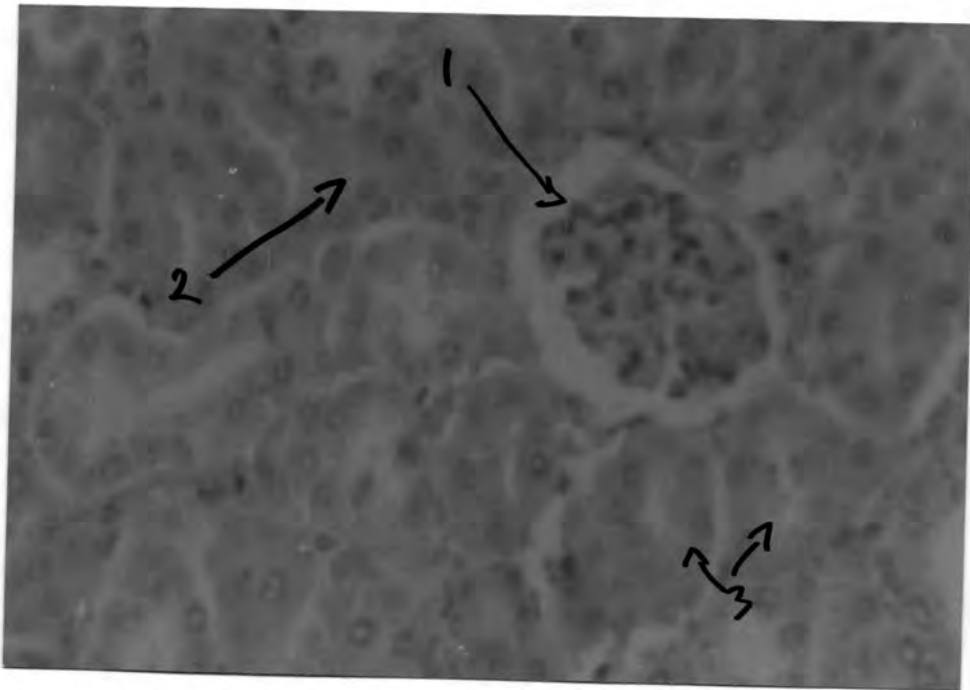
GAMBAR



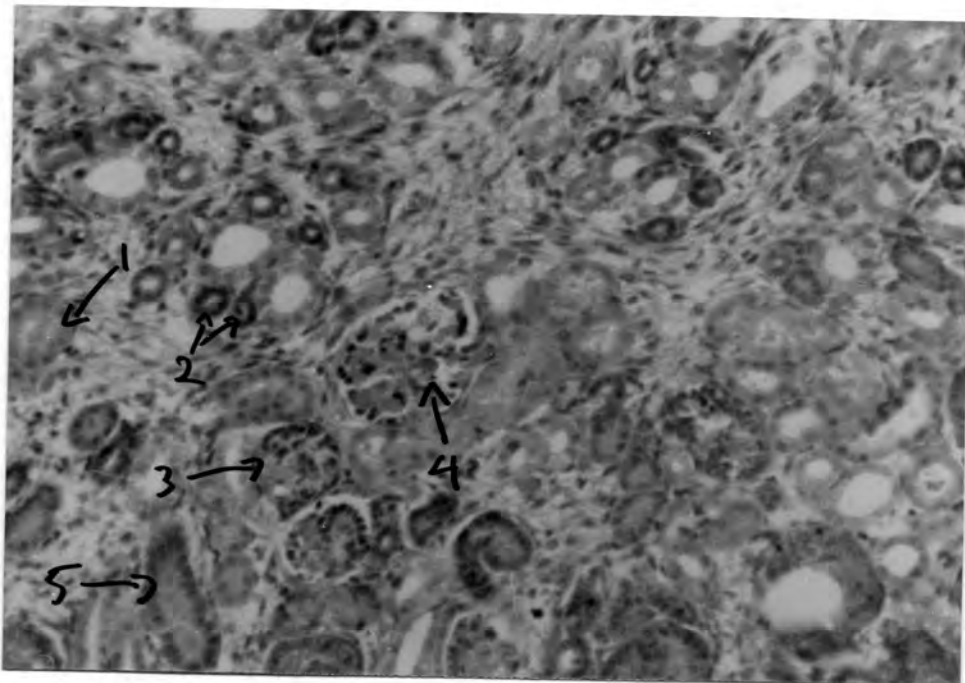
Gambar 2. Lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*).



Gambar 3. Histologi Ginjal Mencit pada P0 (Kontrol), dengan pembesaran 100X. Glomerulus (1), tubulus kontortus proksimal (2) dan tubulus kontortus distalis (3) tampak normal.



Gambar 4. Histopatologi Ginjal Mencit pada P1, dengan pembesaran 400X. Tampak adanya nekrosis glomerulus (1), nekrosis tubulus kontortus proksimalis (2) dan degenerasi tubulus kontortus proksimalis (3).



Gambar 5. Histopatologi Ginjal Mencit pada P2, dengan pembesaran 100X. Tampak adanya degenerasi tubulus kontortus proksimalis (1), nekrose tubulus kontortus proksimal (2), nekrose glomerulus (3), infiltrasi sel-sel leukosit polimorf pada daerah interstitialis (4) dan nekrose tubulus kontortus distalis (5).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pemeriksaan kadar BUN dengan metode Barthelet

Prinsip : Urease menghidrolisa urea menjadi amonia dan karbon dioksida.

Cara kerja :

Dilakukan pembuatan tiga macam larutan. Larutan pertama berisi campuran urease dan buffer, larutan kedua berisi larutan fenol 120 ml/liter dan larutan ketiga berisi larutan hipoklorit 0,14 N. Kemudian disiapkan tiga tabung reaksi, masing-masing sebagai test, standart dan blanko. Pada tabung untuk test dimasukkan 0,02 ml serum dan 0,2 ml larutan I, untuk tabung standart dimasukkan 0,02 ml urea standart 40 mg/dl larutan I, sedangkan tabung untuk blanko dimasukkan larutan I. Masing-masing isi tabung dicampur dengan baik, kemudian dimasukkan inkubator pada suhu 37⁰ Celcius selama 10 menit. Sesudah itu pada ketiga tabung ditambahkan 5ml larutan II dan 5ml larutan III, kemudian dicampur dan ketiga tabung tersebut dimasukkan inkubator lagi pada suhu 37⁰ Celcius selama 15 menit. Hasilnya dibaca dengan spektrophotometer Busch & Lomb pada panjang gelombang 546 nm. Hasil perhitungan digunakan satuan miligram perdesiliter.

$$\text{Kadar urea (mg/dl)} = \frac{\text{absorben test}}{\text{absorben standart}} \times 40 \text{ mg\%}$$

Lampiran 2. Pemeriksaan kadar kreatinin serum dengan metode Jaffe

Prinsip : Kreatinin bereaksi dengan asam pikrat dalam larutan alkalis menjadi suatu kompleks warna.

Cara kerja :

Dilakukan pembuatan larutan dengan jalan menyiapkan tabung sentrifuse, dimasukkan 1 ml asam trikoasetat 20% dan 0,1 ml serum sampel, kemudian dikocok dengan baik, lalu disentrifuse selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dituang dengan hati-hati kedalam tabung reaksi, lalu disiapkan tiga tabung reaksi masing-masing sebagai test, standart dan blanko. Pada tabung test dimasukkan 1 ml supernatan dan 1 ml campuran NaOH dan asam pikrat, untuk tabung standart dimasukkan 0,5 ml standart kreatinin 2mg/100ml, 0,5 ml asam trikoasetat dan 1 ml campuran NaOH dan asam pikrat. Sedangkan untuk blanko campuran NaOH dan asam pikrat. Kemudian dicampur dan didiamkan selama 20 menit pada suhu 25^o Celcius, setelah itu dibaca dengan menggunakan spektrophotometer Bausch & Lomb pada panjang gelombang 546 nm. Hasil perhitungan digunakan satuan miligram perdesiliter.

$$\text{Kreatinin (mg/dl)} = \frac{\text{absorben test}}{\text{absorben standart}} \times 2 \text{ mg\%}$$

Lampiran 3. Pembuatan preparat histopatologi

Prosedur pembuatan preparat histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan cara sebagai berikut :

- a. Fiksasi dan pencucian.
- b. Dehidrasi dan clearing.
- c. Infiltrasi.
- d. Pembuatan blok parafin.
- e. Pengirisan dengan mikrotom.
- f. Pewarnaan.
- g. Penutupan dengan cover glass.

a. Fiksasi dan pencucian :

Tujuan :

- mencegah terjadinya degenerasi post mortem,
- mematikan kuman atau bakteri,
- meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna,
- menjadikan jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk yang sebenarnya dan memudahkan pemotongan serta meningkatkan indeks refleksi sebagai komponen jaringan.

Reagen : Formalin 10%

Cara kerja :

- setelah hewan percobaan mati dilakukan seksi,
- kemudian masing-masing ginjalnya diambil dan dimasukkan formalin 10% sekurang-kurangnya 24 jam.
- selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan air kran.

b. Dehidrasi dan clearing :

Tujuan :

- untuk menarik air dan jaringan,
- membersihkan dan menjernihkan jaringan

Reagen : alkohol 70%, 80%, 95%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II.

Cara kerja :

- Ginjal yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit dimasukkan ke reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 95% alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II masing-masing selama 30 menit.

c. Infiltrasi :

Tujuan : untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin. Parafin ini akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : Parafin I dan II

Cara kerja :

- Jaringan dimasukkan kedalam parafin pertama yang mencair, kemudian dimasukkan kedalam oven selama 30 menit.

d. Pembuatan blok parafin :

Tujuan : supaya jaringan mudah dipotong

Reagen : parafin cair

Cara kerja :

- Disediakan beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lekatnya parafin dan cetakan, kemudian ginjal yang telah dipotong-potong tadi dimasukkan kedalam cetakan dengan pinset dan ditunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan tipis :

Tujuan : untuk memotong jaringan setipis mungkin agar mudah dilihat di bawah mikroskop.

Alat : Mikrotom

Cara kerja :

- Pemotongan dilakukan secara random yaitu tiap 15 kali pemotongan yang dilakukan seri, diambil satu dengan ketebalan empat sampai tujuh mikron, kemudian dicelupkan kedalam air hangat dengan suhu 40^o celcius sampai jaringan mengembang dengan baik, kemudian diletakkan pada obyek glass yang sebelumnya diolesi dengan egg albumin, lalu dikeringkan dengan hot plate.

f. Pewarnaan :

Tujuan : untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan, disini digunakan pewarnaan hematoxylin-eosin.

Cara kerja :

- Pewarnaan hematoxylin –eosin dilakukan dengan metode Haris, yaitu dengan cara jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan dalam xylol I selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, lalu pada alkohol absolut I, II, alkohol 95%, 80%, 70% dan air kran selama satu menit.
- Selanjutnya zat warna dimasukkan kedalam zat warna Haris selama 5-10 menit, air kran selama 2-5 menit, acid alkohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amonia 6 celupan , aquades secukupnya, zat warna eosin selama seperempat menit. Lalu dimasukkan lagi dalam aquades secukupnya.
- Kemudian dalam alkohol 70%, 80% masing-masing selama setengah menit dan terakhir dimasukkan kedalam xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting :

Penutupan obyek glass dengan cover glass. Setelah pembuatan preparat selesai dilakukan pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100 kali dan 400 kali.

Lampiran 4. Tingkat Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Kontrol (P0)

n	Tingkatan Perubahan							Jumlah Skor
	A	B	C	D	E	F	G	
1	-	-	-	-	-	-	-	0
2	-	-	-	-	-	-	-	0
3	-	-	-	-	-	-	-	0
4	-	-	-	-	-	-	-	0
5	-	-	-	-	-	-	-	0
6	-	-	-	-	-	-	-	0
7	-	-	-	-	-	-	-	0
8	-	-	-	-	-	-	-	0
Total Skor								0

Keterangan : n = Ulangan

A = Degenerasi tubulus kontortus proksimalis

B = Nekrose tubulus kontortus proksimalis

C = Nekrose glomerulus

D = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf di sekitar daerah intertitialis

E = Nekrose tubulus kontortus distalis

F = Perdarahan pada glomerulus

G = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar glomerulus

+ = Terdapat perubahan

- = Tidak terdapat perubahan

Lampiran 5. Tingkatan Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan I (P1)

n	Tingkatan Perubahan							Jumlah Skor
	A	B	C	D	E	F	G	
1	+	-	-	-	-	-	-	1
2	+	-	+	+	-	-	-	8
3	-	+	-	+	-	-	-	6
4	+	+	-	+	-	-	-	7
5	-	-	+	+	-	-	-	7
6	-	+	-	+	-	-	-	6
7	+	+	-	-	-	-	-	3
8	+	-	+	-	-	-	-	4
Total Skor								42

Keterangan : n = Ulangan

A = Degenerasi tubulus kontortus proksimalis

B = Nekrose tubulus kontortus proksimalis

C = Nekrose glomerulus

D = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf di sekitar daerah intertitialis

E = Nekrose tubulus kontortus distalis

F = Perdarahan pada glomerulus

G = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar glomerulus

+ = Terdapat perubahan

- = Tidak terdapat perubahan

Lampiran 6. Tingkatan Perubahan dan Jumlah Skor Histopatologi Ginjal Mencit pada Kelompok Perlakuan II (P2)

n	Tingkatan Perubahan							Jumlah Skor
	A	B	C	D	E	F	G	
1	+	+	-	+	-	-	-	7
2	-	+	+	-	+	-	-	10
3	+	+	-	+	+	-	-	12
4	+	+	-	+	+	-	-	12
5	+	-	+	-	-	-	-	4
6	+	+	+	-	+	-	-	11
7	-	-	+	+	+	-	-	12
8	+	+	-	+	+	-	-	12
Total Skor								80

Keterangan : n = Ulangan

A = Degenerasi tubulus kontortus proksimalis

B = Nekrose tubulus kontortus proksimalis

C = Nekrose glomerulus

D = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf di sekitar daerah intertitialis

E = Nekrose tubulus kontortus distalis

F = Perdarahan pada glomerulus

G = Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar glomerulus

+ = Terdapat perubahan

- = Tidak terdapat perubahan

Lampiran 7. Penentuan Peringkat (Rank) dan Analisis Data Ginjal

Penentuan peringkat (rank) diperoleh dari menjumlahkan nilai skor histopatologi terkecil, kemudian dibagi dengan banyaknya nilai derajat kerusakan histopatologi tersebut, maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Nilai skor histopatologi ginjal 0, mempunyai peringkat :

$$\frac{1 + 2 + 3 + 4 + 5 + 6 + 7 + 8}{8} = 4,5$$

Nilai skor histopatologi ginjal 1, mempunyai peringkat:

$$\frac{9}{1} = 9$$

Nilai skor histopatologi ginjal 3, mempunyai peringkat:

$$\frac{10}{1} = 10$$

Nilai skor histopatologi ginjal 4, mempunyai peringkat:

$$\frac{11 + 12}{2} = 11,5$$

Nilai skor histopatologi ginjal 6, mempunyai peringkat :

$$\frac{13 + 14}{2} = 13,5$$

Nilai skor histopatologi ginjal 7, mempunyai peringkat :

$$\frac{15 + 16 + 17}{3} = 16$$

Nilai skor histopatologi ginjal 8, mempunyai peringkat :

$$\frac{18}{1} = 18$$

Nilai skor histopatologi ginjal 10, mempunyai peringkat :

$$\frac{19}{1} = 19$$

Nilai skor histopatologi ginjal 11, mempunyai peringkat :

$$\frac{20}{1} = 20$$

Nilai skor histopatologi ginjal 12, mempunyai peringkat :

$$\frac{21 + 22 + 23 + 24}{4} = 22,5$$

Dilanjutkan dengan mencari nilai H hitung :

$$\text{Rumus : H hitung} = \frac{12}{N(N+1)} \cdot K \frac{R_j^2}{\sum_{j=1}^K n_j} - 3(N+1)$$

Keterangan : N = Jumlah sampel histopatologi

n = Jumlah ulangan

$$\begin{aligned} \text{H hitung} &= \frac{12}{24(24+1)} \cdot \frac{36^2 + 107,5^2 + 156,5^2}{8} - 3(24+1) \\ &= 93,36 - 75 \\ &= 18,36 \end{aligned}$$

Karena dalam data tersebut terdapat angka kembar, maka H hitung di atas dimasukkan dalam H hitung terkoreksi :

$$\text{Rumus : H hitung terkoreksi} = \frac{\text{H hitung}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

Keterangan :

$$T = t^3 - t$$

t = banyaknya nilai pengamatan yang sama dalam kelompok skor yang berangka sama

Nilai T diperoleh dari :

$$T = t^3 - t$$

$$T0 = 8^3 - 8 = 504$$

$$T1 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T3 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T4 = 2^3 - 2 = 6$$

$$T6 = 2^3 - 2 = 6$$

$$T7 = 3^3 - 3 = 24$$

$$T8 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T10 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T11 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T12 = 4^3 - 4 = 252$$

792

$$\begin{aligned} H \text{ hitung terkoreksi} &= \frac{18,36}{1 - \frac{792}{24^3 - 24}} \\ &= 19,53 \end{aligned}$$

Untuk derajat bebas (db) = 2, maka :

$$H \text{ tabel } (0,05) = 5,99$$

$$H \text{ tabel } (0,01) = 9,20$$

Dari perhitungan diatas ternyata $H_{hitung} > H_{tabel}$ (0,05) dan (0,01) yang berarti bahwa pemberian biji lamtoro gung berpengaruh sangat nyata terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit.

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan dari masing-masing perlakuan, dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda atau uji Z.

$$| R_i - R_j | = Z \sqrt{\frac{K [N (N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6N (N - 1)}}$$

Keterangan :

R = Nilai rata-rata peringkat dalam satu kelompok perlakuan

K = Banyaknya perlakuan

N = Banyaknya sampel

T = Banyaknya angka kembar dalam satu nilai skor

$$Z(0,05) = \frac{\alpha}{K(K-1)} = \frac{0,05}{3(3-1)} = 0,0083 \rightarrow 2,39$$

$$Z(0,01) = \frac{\alpha}{K(K-1)} = \frac{0,01}{3(3-1)} = 0,0017 \rightarrow 2,94$$

Perhitungan uji Z (0,05)

$$= 2,39 \sqrt{\frac{3 \{ 24 (24^2 - 1) - (792) \}}{6 \cdot 24 (24 - 1)}}$$

$$= 8,20$$

Perhitungan uji Z (0,01)

$$= 2,94 \sqrt{\frac{3 \{24 (24^2 - 1) - (792) \}}{6 \cdot 24 (24-1)}}$$

$$= 10,09$$

Perbedaan rata-rata rank nilai skor histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) terhadap pengaruh pemberian biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) dengan uji Z.

Rank	Rata-rata	Beda		Uji Z	
		X - P0	X - P1	0,05	0,01
P2	19,56 ^a	15,06 *	6,12	8,20	10,09
P1	13,44 ^{ab}	8,94			
P0	4,5 ^b				

a dan b = superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (p<0,01)

Lampiran 8. Kadar Nitrogen Urea Darah Mencit pada Akhir Percobaan

Ulangan	Perlakuan			Total
	P0	P1	P2	
1	18,66	22,66	24,66	488,59
2	16,66	18,66	30,00	
3	20,00	17,33	20,00	
4	18,00	16,66	18,66	
5	19,33	19,33	26,00	
6	16,66	18,00	17,33	
7	20,66	20,00	25,33	
8	19,33	19,33	26,00	
Total	149,3	151,97	187,32	
Rata-rata	18,66	18,99	23,42	

$$FK = \frac{(488,59)^2}{8 \times 3} \Rightarrow 9946,67$$

Jumlah kuadrat :

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (18,66)^2 + (22,66)^2 + \dots + (26,00)^2 - FK \\ &= 10.238,35 - 9946,67 \\ &= 291,68 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(149,3)^2 + (151,97)^2 + (187,32)^2}{8} - FK \\ &= 10.059,27 - 9946,67 \Rightarrow 112,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Sisa} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 291,68 - 112,6 \\
 &= 179,08
 \end{aligned}$$

Kuadrat Tengah :

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{112,6}{3-1} = 56,3$$

$$\text{KT Sisa} = \frac{179,08}{3(8-1)} = 8,53$$

$$\text{F hitung} = \frac{56,3}{8,53} = 6,6$$

Sidik ragam pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung terhadap kadar nitrogen urea darah mencit

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	112,6	56,3	6,6	3,47	5,78
Sisa	21	179,08	8,53			
Total	23	291,68				

Ketiga macam perlakuan yang diberikan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap kadar nitrogen urea darah mencit karena F hitung lebih besar dari F tabel. Untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda sangat nyata tersebut dilakukan uji lebih lanjut dengan uji BNT dengan taraf signifikan 5%.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t(5\%). (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTS}}{n}} \\
 &= t(5\%). 21 \times \sqrt{\frac{2 \times 8,53}{8}} \\
 &= 2,080 \times 1,46 \\
 &= 3,0368 \Rightarrow 3,04
 \end{aligned}$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda (selisih)		BNT 5%
		X - A	X - B	
P2	23,42 ^a	4,76*	4,42*	3,04
P1	18,99 ^b	0,34		
P0	18,66 ^b			

a dan b = superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata dengan uji BNT 5%

Kesimpulan :

Kandungan nitrogen urea darah tertinggi didapatkan pada P 2 yang berbeda nyata dengan perlakuan 1 dan kontrol. Sedangkan kadar nitrogen urea darah pada P 1 dan kontrol tidak berbeda nyata.

Lampiran 9. Kadar Kreatinin Serum Mencit pada Akhir Percobaan

Ulangan	Perlakuan			Total
	P0	P1	P2	
1	1,33	1,66	1,66	33,58
2	1,00	1,33	2,00	
3	1,33	1,00	1,66	
4	1,33	1,00	1,33	
5	1,66	1,33	1,66	
6	1,00	1,33	1,00	
7	1,66	1,66	1,33	
8	1,00	1,66	1,66	
Total	10,31	10,97	12,30	
Rata-rata	1,29	1,37	1,54	

$$FK = \frac{(33,58)^2}{8 \times 3} = 46,98$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (1,33)^2 + (1,66)^2 + \dots + (1,66)^2 - FK \\ &= 48,95 - 46,98 \\ &= 1,97 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(10,31)^2 + (10,97)^2 + (12,30)^2}{8} - FK \\ &= 47,24 - 46,98 \\ &= 0,26 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Sisa} &= 1,97 - 0,26 \\ &= 1,71 \end{aligned}$$

Kuadrat Tengah

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{0,26}{3-1} = 0,13$$

$$\text{KT Sisa} = \frac{1,71}{3(8-1)} = 0,08$$

$$\text{F hitung} = \frac{0,13}{0,08} = 1,625 \Rightarrow 1,63$$

Sidik ragam pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung terhadap kadar kreatinin serum mencit

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,26	0,13	1,63	3,47	5,78
Sisa	21	1,71	0,08			
Total	23	1,97				

Kesimpulan :

Ketiga macam perlakuan yang diberikan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kadar kreatinin serum mencit karena F hitung lebih kecil dari F tabel.

Lampiran 10. Susunan Ransum Pakan Mencit Penelitian (dalam kg)

Bahan Makanan	P0 (0%)	P1 (20%)	P2 (40%)
Biji lamtoro gung	0	20	40
Tepung ikan	7	6,50	6,00
Tepung terigu	20,87	18,00	11,70
Kacang hijau	26,98	23,68	15,20
Jagung	27,63	26,00	20,00
Bekatul	14,00	1,30	1,08
Minyak goreng	1,50	2,00	2,50
Gula	1,00	1,50	2,50
Garam	0,50	0,50	0,50
Premix B	0,50	0,50	0,50
Santaq	0,02	0,02	0,02
Jumlah	100	100	100

Lampiran II. Cara Pembuatan Pakan Buatan Bentuk Pellet

1. Penggilingan

Setelah semua bahan yang diperlukan tersedia, kemudian digiling sampai halus.

2. Pengayakan

Bahan yang sudah digiling kemudian diayak untuk mendapatkan ukuran partikel yang homogen.

3. Penimbangan

Setelah bahan diayak, kemudian ditimbang sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan.

4. Pencampuran

Bahan yang telah ditentukan perbandingannya, kemudian dicampur sampai merata sambil ditambah dengan air sebanyak 20% - 30%.

5. Pencetakan

Setelah semua bahan tercampur merata, kemudian dikukus selama 15 menit. Bahan yang telah dikukus, kemudian dicetak hingga berbentuk pellet.

6. Pengeringan

Bahan yang telah terbentuk menjadi pellet kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama 2 - 3 hari. Setelah kering bahan pakan tersebut dapat diberikan pada hewan percobaan.