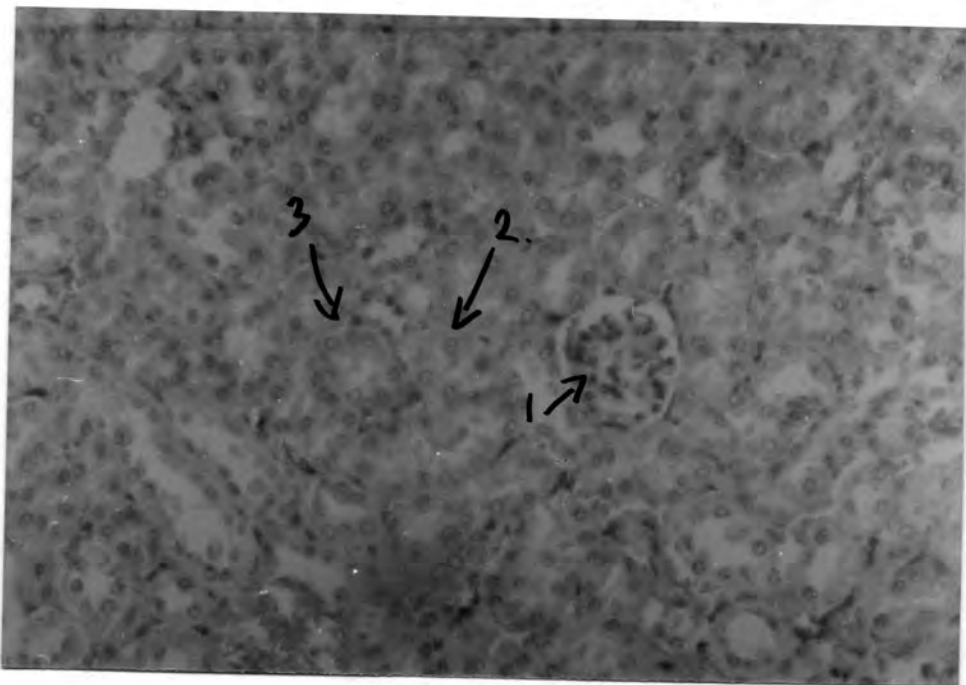


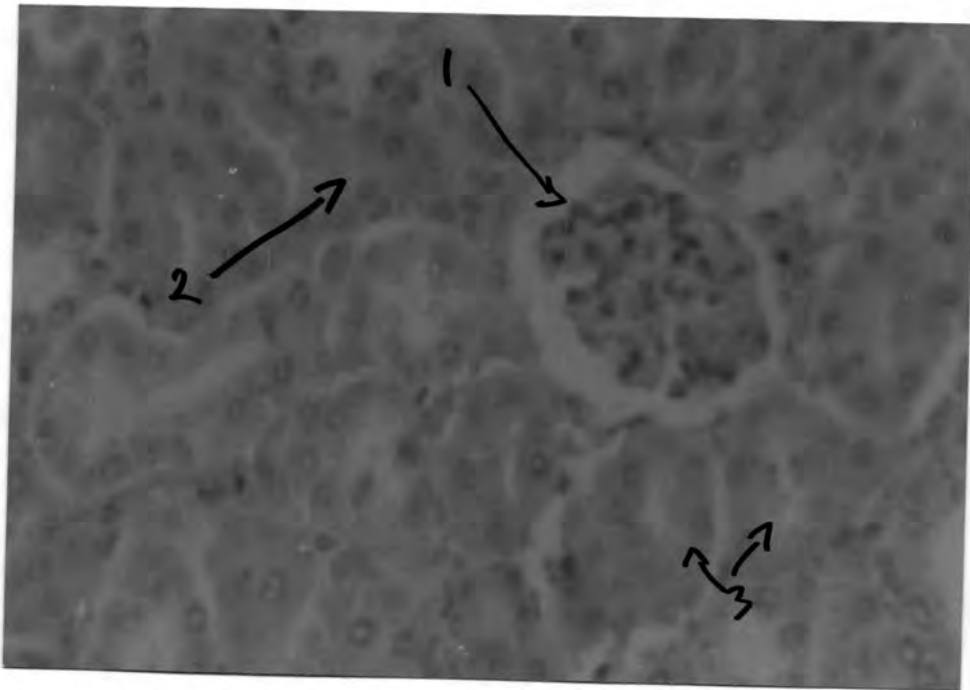
GAMBAR



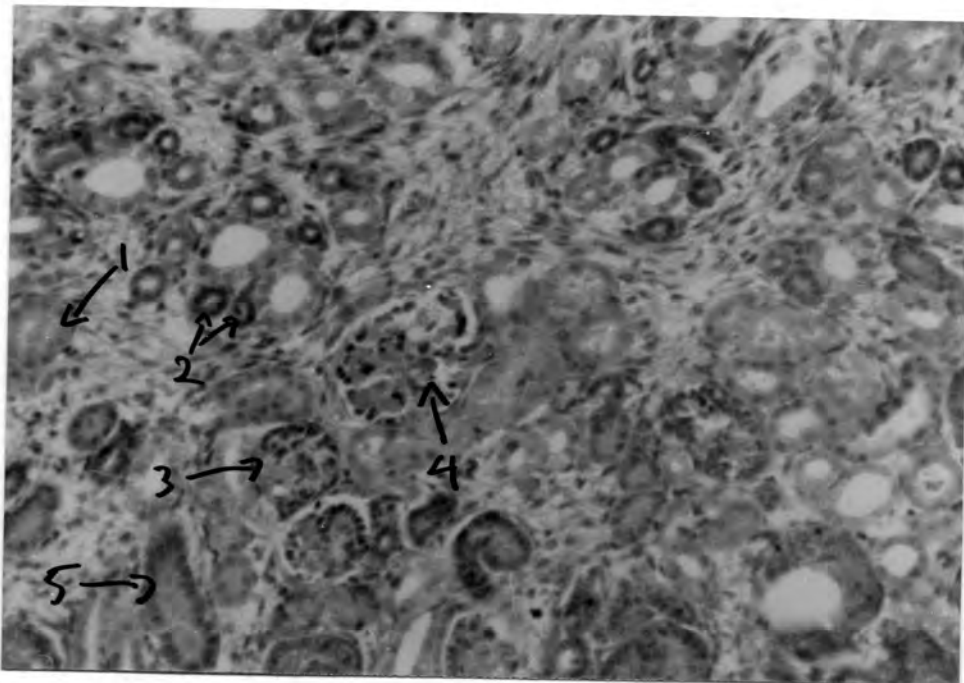
Gambar 2. Lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*).



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 Barthelot

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 interstitialis

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 :

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

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 :

$$\begin{array}{r}
 T = t^3 - t \\
 T0 = 8^3 - 8 = 504 \\
 T1 = 1^3 - 1 = 0 \\
 T3 = 1^3 - 1 = 0 \\
 T4 = 2^3 - 2 = 6 \\
 T6 = 2^3 - 2 = 6 \\
 T7 = 3^3 - 3 = 24 \\
 T8 = 1^3 - 1 = 0 \\
 T10 = 1^3 - 1 = 0 \\
 T11 = 1^3 - 1 = 0 \\
 T12 = 4^3 - 4 = 252 \\
 \hline
 792
 \end{array}$$

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

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	
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	33,58
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.