

SKRIPSI :

ARIF MOESTOFA

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG BIJI
LAMTORO GUNG (*Leucaena leucocephala*)
TERHADAP SIKLUS BERAHI MENCIT**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1987**

KATA PENGANTAR

Atas rahmat Tuhan Yang Maha Esa, dengan segala daya dan upaya tersusunlah penulisan makalah skripsi yang disajikan berdasarkan hasil penelitian dengan hewan percobaan di laboratorium. Penyusunan tulisan ini selain bertujuan memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Dokter Hewan, dimaksudkan juga sebagai bahan masukan untuk memperoleh gambaran pengaruh lamtoro gung (Leucaena leucocephala) terhadap siklus berahi mencit.

Dalam kesempatan ini penulis ucapkan rasa terima kasih kepada DR. Sarmanu, MS (dosen di bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga) sebagai pembimbing utama dan Drh. Ismudiono, MS (Kepala laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga) sebagai pembimbing kedua yang telah banyak memberi bimbingan dan arahan dalam penulisan makalah ini.

Semoga segala bimbingan, arahan serta bantuan yang diberikan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta dapat dirasakan kegunaannya oleh segenap masyarakat.

A m i n !

Surabaya, Juli 1987

penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
 B A B :	
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
Siklus berahi	4
Mekanisme siklus berahi	4
Siklus berahi mencit	6
Lamtoro	7
Mekanisme keracunan mimosin pada tikus	12
III. MATERI DAN METODA PENELITIAN	14
Materi penelitian	14
Bahan	14
Alat	14
Metoda penelitian	15
Persiapan	15
Perlakuan	16
Parameter yang diamati	17
Analisa data	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
V. KESIMPULAN DAN SARAN	23
RINGKASAN	24
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

Nomer	Judul	Halaman
1.	Jumlah gejala berahi PO (lam 0), P1 (lam 10) dan P2 (lam 20) yang diamati	19
2.	Hasil uji Kai-kwadrat mulai terpengaruhnya siklus berahi dari kelompok I - IV	21

DAFTAR GAMBAR

Nomer	Judul	Halaman
1.	Sel dan tingkah laku tikus fase berahi	7
2.	Mimosin dan L tyrosin	12
3.	Biji lamtoro gung	18
4.	Pengambilan cairan mukosa vagina mencit	18

-oOo-

DAFTAR LAMPIRAN

Nomer	Judul	Halaman
1.	Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi PO, P1 dan P2	31
2.	Jumlah gejala berahi PO (lam 0), P1 (lam 10), P2 (lam 20) yang diamati	32
3.	Jumlah gejala berahi PO (lam 0), P1 (lam 10) dan P2 (lam 20) yang dihitung tiap kelompok	33
4.	Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 1 - 5 (kel I)	34
5.	Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 6 - 10 (kel II)	35
6.	Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 11 - 15 (kel III)	36
7.	Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 16 - 20 (kel IV)	37
8.	Daftar komposisi bahan pakan mencit, (kg dalam 100 kg pakan jadi).	38
9.	Kandungan gizi biji lamtoro gung (<u>Leucaena leucocephala</u>)	39
10.	Daftar kandungan zat dalam bahan pakan	39
11.	Tabel Statistik χ^2	40

B A B I

P E N D A H U L U A N

Dewasa ini pemerintah kita sedang giat meningkatkan usaha pembangunan baik pembangunan di bidang sosial, budaya, politik, ekonomi, pertanian maupun peternakan. Pembangunan di sektor peternakan dimaksudkan untuk meningkatkan hasil dari ternak khususnya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani penduduk Indonesia. Untuk mencapai maksud tersebut, sampai saat ini pemerintah sedang giat berusaha menunjang pembangunan sektor peternakan dengan memenuhi kebutuhan pakan ternak melalui berbagai sarana, yang satu diantaranya ialah penanaman lamtoro gung (Leucaena-leucocephala).

Usaha pembudidayaan lamtoro gung sebagai pakan ternak ini karena di dalam biji maupun daunnya terkandung sumber protein yang tinggi, mudah dicerna oleh ternak serta pohonnnya cepat tumbuh kembali setelah diadakan pemangkasan (Jones, 1979; Suprayitno, 1981; Tangendjaja dkk, 1985). Selain kegunaan tersebut, kegunaan lain ialah daunnya dapat digunakan sebagai pupuk hijau dan juga kayunya dipakai sebagai kayu bakar. Terlepas dari usaha budidaya lamtoro sebagai pakan ternak, kebiasaan bangsa kita memakan biji lamtoro sudah sejak dahulu dilakukan dalam bentuk lalapan (segar), untuk sayur, dan juga dapat digunakan sebagai bahan tempe (Gandjar dkk, 1975 ; Tangendjaja dkk, 1985).

Di tengah gencarnya budidaya lamtoro sebagai pakan ternak di Indonesia ini, tidak kalah gencarnya ilmuwan dalam maupun luar negeri mengadakan penelitian tentang pengaruh lamtoro pada ternak.

Salah satu hasil penelitian tersebut ialah, bahwa di dalam biji lamtoro bila diekstraksi (diambil sarinya) akan didapat senyawa kimia mimosin (Hegarty and Court, 1964 ; Meulen dkk, 1979). Bahkan selain biji, daunnya-pun juga mengandung mimosin walaupun kandungannya tidak setinggi di dalam biji (Meulen dkk, 1979).

Dari penelitian yang lain diketahui pula bahwa mimosin merupakan zat yang berbahaya bagi ternak, baik unggas ruminansia besar (sapi, kerbau) dan ruminansia kecil (kambing, domba) (Hegarty dkk, 1964; Hathcock and Labadan , 1975; Jones dkk, 1976; Holmes, 1980). Joshi (1968) meneliti akibat pemberian pakan yang mengandung tepung daun lamtoro 15 % pada tikus, hasilnya tikus betina mengalami gangguan reproduksi, sedangkan pada tikus jantan mengalami penurunan kesuburan. Pengamatan Holmes (1980) dan Jones dkk (1976) menunjukkan bahwa sapi yang memakan lamtoro terlihat gejala gondok.

Sepengetahuan penulis penelitian akibat pemberian tepung biji lamtoro dalam pakan mencit yang dihubungkan dengan perubahan siklus berahi mencit betina belum pernah dilakukan

Memperhatikan dan menganalisa laporan ilmiah yang mengutarakan akibat yang merugikan dan masih jarangya penelitian pengaruh biji lamtoro pada hewan dan ternak, maka penulis berkeinginan sekali mengadakan penelitian tentang pengaruh pemberian tepung biji lamtoro dalam pakan mencit (Mus norwegicus albinus) terhadap perubahan siklus berahi, khususnya pengamatan terhadap gambaran ulas vagina. Pengamatan siklus berahi dengan mengamati gambaran ulas vagina dirasakan sebagai cara yang mudah dan cepat untuk memperoleh hasilnya.

Hipotesis penelitian

Hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini ialah : Pemberian tepung biji lamtoro dengan persentase bertingkat selama 20 hari akan berakibat berubahnya siklus berahi mencit.

B A B II

TINJAUAN PUSTAKA

Siklus berahi

Mekanisme siklus berahi

Berahi terjadi pada hewan betina tidak bunting menurut suatu siklus ritmik yang khas setelah hewan betina mencapai pubertas. Siklus berahi terjadi pada awal suatu masa berahi dan berakhir pada awal berahi berikutnya (Toelihere, 1981).

Kelenjar hipofisa mengatur mekanisme siklus berahi dengan mengeluarkan hormon gonadotropin FSH dan LH. Pengeluaran hormon gonadotropin dipengaruhi oleh mekanisme umpan balik kadar estrogen dan progesteron dalam darah (Mc Donald, 1975). Kadar estrogen yang rendah pada keadaan folikel belum berkembang ataupun folikel yang atretis, akan menggertak kelenjar hipofisa untuk mengeluarkan FSH yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan folikel (Mc Donald, 1975 ; Toelihere, 1981).

Epitel bakal folikel di dalam ovarium setelah dirangsang oleh FSH akan berkembang terus, membesar, yang akhirnya membentuk folikel de Graaf yang masak. Sel-sel teka eksterna dan teka interna di luar folikel secara bertahap menghasilkan hormon estrogen yang sedikit demi sedikit meningkat dan mencapai maksimum pada saat folikel de Graaf terbentuk. Tingginya kadar hormon estrogen dalam darah merangsang hipofisa anterior untuk mengeluarkan LH,

yang kemudian LH yang tinggi kadarnya dalam darah merangsang sel-sel granulosa untuk tumbuh dan mensekresikan progesteron. Selain itu, LH juga merangsang folikel de Graaf memproduksi cairan di dalam antrum folikuli lebih banyak. Tingginya LH ini juga menyebabkan pelepasan enzim kolagenase yang dapat menyebabkan melemahnya dinding folikel dan dengan ditambah oleh adanya tekanan hidrostatik di dalam folikel menyebabkan pecahnya folikel dan terlepasnya ovum sehingga terjadi ovulasi (Arthur, 1974 ; Toelihere, 1981).

Folikel de Graaf yang telah berovulasi membentuk corpus luteum yang menghasilkan hormon progesteron dari sel-sel granulosa. Hormon progesteron yang tinggi kadarnya dalam darah menghambat hipofisa anterior mengeluarkan FSH dan LH yang kemudian dapat menghentikan pembentukan folikel beberapa saat.

Meningkatnya kadar progesteron dalam darah juga diikuti menurunnya kadar estrogen dalam darah. Selain itu juga menghentikan rangsangan terhadap hipofisa anterior untuk mengeluarkan LH.

Terhentinya pengeluaran LH menyebabkan produksi progesteron oleh corpus luteum terhenti, sehingga kadar progesteron dalam darah menjadi rendah.

Rendahnya kadar progesteron dalam darah merupakan mekanisme umpan balik yang positif hipofisa anterior untuk mengeluarkan FSH. Kadar FSH yang tinggi ini akan merangsang terbentuknya folikel baru (Partodihardjo, 1982).

Siklus berahi mencit

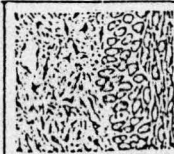

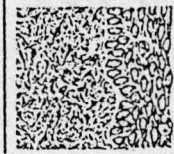

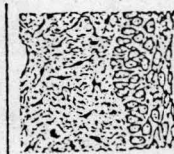

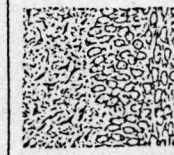

Siklus berahi mencit juga merupakan siklus yang teratur yang terjadi pada mencit betina tidak bunting setelah mencapai dewasa kelamin. Hal ini berjalan teratur dan berulang pada periode waktu tertentu dari berahi pertama sampai menjelang berahi berikutnya (Fox and Laird, 1970).

Dewasa kelamin dicapai setelah 50 - 70 hari kelahiran, yang dapat berjalan 1 - 1,5 tahun dan mencapai maksimum pada umur 100 - 300 hari. Pembukaan vagina pertama kali terjadi umur 28 - 49 hari dan berahi terlihat 1 - 2 hari setelah terbuka (Bennett and Vickery, 1970).

Mencit termasuk hewan yang poliestrus, artinya mengalami beberapa kali berahi selama masa satu tahun, mulai dari munculnya berahi pertama sampai umur tua. Menurut pengamatan para ahli, siklus berahi berlangsung 4 sampai 5 hari, yang secara normal terdiri dari 4 fase yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Sifat khas dari masing-masing fase berahi dapat diperiksa dengan preparat ulas vagina (Bennett and Vickery, 1970; Arthur, 1974).

Pada fase proestrus yang tampak pada preparat ulas vagina hanya sel-sel epitel vagina. Pada fase estrus tampak kornifikasi sel epitel vagina, sedang pada akhir fase estrus mulai tampak sel leukosit disamping sel epitel kornifikasi. Pada fase metestrus tampak sel epitel kornifikasi dan leukosit. Pada fase diestrus dijumpai banyak

sel lekosit dan sedikit sel epitel. Pada akhir fase diestrus disusul dengan fase proestrus (Fox and Laird, 1970).

Fase siklus	dinding vagina	ulas vagina	lama siklus	tingkah laku
Estrus			12 jam	menerima jantan
Metestrus			21 jam	tidak menerima jantan
Diestrus			57 jam	tidak menerima jantan
Proestrus			12 jam	tandatanda menerima jantan pada akhir fase ini

Gambar 1. Sel dan tingkah laku tikus pada fase berahi
 Sumber : Fox and Laird (1970).

L a m t o r o

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 : Mexico , Guatemala , El Salvador , Honduras yang kemudian menyebar ke segala penjuru dunia, khususnya daerah tropis : Indonesia , Philipina , Papua New-Guenea , Australia , Hawaii , India , Afrika dan kepulauan di laut Caribia. Dengan penyebaran ke berbagai negara itulah maka dikenal nama-nama menurut negara tempat lamtoro berkembang : Lamtoro atau kemlandingan (Indonesia) , Ipil-ibil atau Santa Elena (Philipina) , Guaye dan Mauxim (Amerika Latin) , Kao Haole (Hawaii) , Kao Babool (India) (Suprayitno dkk, 1981 ; Lowry dkk, 1983).

Lamtoro mudah tumbuh di mana saja di daerah yang curah hujannya tinggi ataupun daerah kering. Pohon lamtoro dapat mencapai ketinggian 4 - 20 meter, daun menyirip simetris kecil-kecil berpasangan, buahnya berbentuk polong 20 sampai 30 polong tiap tandan (Suprayitno dkk, 1981).

Lamtoro secara umum dapat digunakan : kayunya untuk kayu bakar, perabot rumah, daunnya untuk pupuk hijau, pakan ternak, biji untuk pakan ternak dan di negara Indonesia dimakan manusia (Gandjar dkk, 1975 ; Suprayitno dkk, 1981 ; Ruskin, 1984).

Pendayagunaan lamtoro sebagai pakan ternak sudah sejak lama dilakukan, baik daun maupun bijinya sebagai pakan sapi, unggas dan juga kelinci (Hamilton dkk, 1971 ; Jones, 1979 ; Bahri, 1984). Hal ini disebabkan lamtoro mempunyai kandungan protein yang tinggi 24 - 30 persen (Gandjar dkk, 1975 ; Tangendjaja dkk, 1982). Selain itu

lamtoro juga merupakan bahan yang mudah dicerna oleh ternak (Jones, 1979).

Walaupun lamtoro mempunyai nilai yang menguntungkan tetapi penggunaannya perlu diawasi, sebab di dalam lamtoro baik daun, biji maupun batang mudanya mengandung zat yang bersifat racun yaitu mimosin (Hegarty and Court, 1964 ; Joshi, 1968 ; Clarke and Clarke, 1970 ; Tangendjaja and Wills, 1980 ; Lowry dkk, 1985 ; Tangendjaja dkk, 1985).

Mimosin adalah asam amino bebas yang mempunyai susunan kimia β -N-(3-Hydroxy-4pyrydone)- α aminopropionic acid (Meulen dkk, 1979 ; Tangendjaja and Wills, 1980 ; Lowry dkk, 1985). Pertama kali ditemukan oleh Renz tahun 1936 dari tumbuhan Mimosa pudica. Penemu mimosin di dalam lamtoro pertama kali adalah Wibaut dan Klippol (1950) (Meulen dkk, 1979).

Telah banyak laporan baik yang berdasar pada penelitian maupun kejadian di lapangan, bahwa mimosin bersifat racun terhadap manusia, ternak ruminansia maupun non ruminansia (Clarke and Clarke, 1975 ; Hegarty dkk, 1979 ; Meulen dkk, 1979 ; Lowry dkk, 1983). Tetapi dilaporkan pula bahwa mimosin murni tidak mempunyai efek racun terhadap alat reproduksi ayam (Sarmanu dkk, 1984). Sehingga menimbulkan dugaan bahwa selain mimosin di dalam tumbuhan lamtoro, masih terdapat zat beracun lain, antara lain tanin yang bila secara bersama-sama menimbulkan

kan pengaruh keracunan (Hamilton dkk, 1971 ; Jones dkk, 1976 ; Lowry dkk, 1983 ; Tangendjaja dkk, 1985).

Pada sapi dilaporkan bahwa mimosin dapat menyebabkan gondok, penurunan kesuburan dan penurunan berat lahir (Jones dkk, 1976 ; Holmes, 1980). Pernah dilakukan penelitian dengan menyuntikkan mimosin murni pada domba. Penyuntikan mimosin murni secara intra ruminal ternyata tidak memberikan gejala keracunan, tetapi pemberian mimosin murni secara intravena menyebabkan kerontokan bulu yang akhirnya mengalami kematian (Hegarty dkk, 1964). Selain itu dilaporkan juga bahwa lamtoro menyebabkan gondok pada kambing (Megarrity and Jones, 1983).

Pada ayam pengaruh biji lamtoro belum banyak diketahui, tetapi penelitian pengaruh tepung daun lamtoro menunjukkan hasil yang kurang menguntungkan. D'mello dan Thomas (1978) mengatakan bahwa penambahan tepung daun lamtoro 5 % kedalam ransum anak ayam telah dapat menghambat pertumbuhannya.

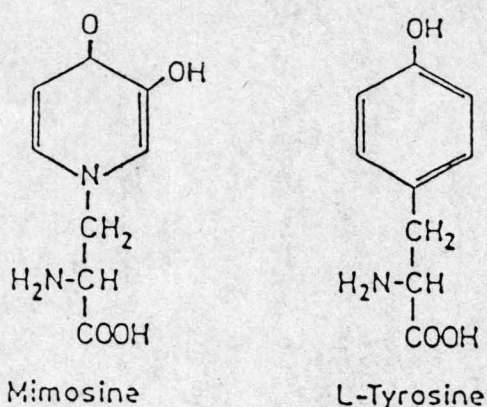
Pada tikus putih mimosin dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan, kerontokan bulu dan terbentuknya kataraks pada mata (Lin, 1982). Percobaan Lee (1980) dengan 10 persen tepung biji lamtoro di dalam pakan tikus putih dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan. Demikian juga melalui beberapa penelitian diketahui bahwa mimosin dapat

menyebabkan gondok pada tikus (El Harith dkk, 1979 ; Hegarty dkk, 1979 ; Meulen dkk 1979).

Pendapat Leathem (1963) yang dikutip Joshi (1968) mengutarakan bahwa kegagalan fungsi reproduksi pada tikus betina mungkin disebabkan oleh berkurangnya sekresi atau pun tidak terdapatnya pelepasan hormon-hormon gonadotropin dalam jangka waktu yang lama. Kekosongan hormon-hormon gonadotropin mengakibatkan tidak terbentuknya folikel, yang akhirnya keadaan ini menyebabkan gangguan siklus reproduksi.

Pendapat Luna (1963) yang dikutip Joshi (1968) menerangkan bahwa gangguan reproduksi tikus yang diberi lamtoro mungkin disebabkan oleh tidak cukupnya pengambilan energi.

Bila dilihat susunan kimianya mimosin mirip dengan L tyrosin, sehingga timbul hypotesa dari Lin dkk (1964) bahwa mimosin bekerja antagonis tyrosin ataupun analog tyrosin yang menghambat biosynthesa protein pada tubuh mahluk hidup dan menyebabkan gejala keracunan, termasuk hambatan pertumbuhan (Hegarty dkk, 1964; Meulen dkk, 1979). Hal ini juga telah diamati oleh Lin dkk (1964) yang dikutip oleh Meulen dkk (1979), bahwa tikus yang diberi 1 persen phenylalanine dalam ransum dapat melawan 37 persen hambatan pertumbuhan yang disebabkan oleh pemberian 0,5 persen mimosin dalam pakannya.



Gambar 2. Mimosin dan L Tyrosin.
 Sumber : Meulen dkk (1979).

Mekanisme keracunan mimosin pada tikus

Metabolisme mimosin di dalam biji lamtoro belum diketahui. Tetapi mimosin di dalam daun bila berada di dalam tubuh akan dimetabolisme menjadi senyawa 3,4 dihydroxy pyridine (3,4-DHP) (Tangendjaja dkk, 1982),

Tikus yang memakan lamtoro akan didapatkan mimosin di dalam lambungnya. Sebagaimana mimosin di dalam lambung diubah menjadi 3,4-DHP dan sebagian lagi akan tetap berbentuk mimosin (Tangendjaja dkk, 1982). Menurut pengamatan Tsai dan Ling (1974) yang dikutip Meulen dkk (1979), sejumlah besar mimosin diserap lewat pencernaan makanan. Akibatnya akan terjadi akumulasi pada serum, kulit dan mata, kemudian secara cepat akan diekskresi lewat urine (Meulen dkk, 1979).

Menurut Hegarty dkk (1976) yang dikutip Meulen dkk (1979), mimosin yang berada di seluruh tubuh terutama yang berada di kelenjar tiroid mampu menekan pengambilan

yodium oleh kelenjar tiroid. Sedang 3,4-DHP akan mengganggu lebih besar lagi mekanisme penangkapan yodium oleh kelenjar tiroid. Akibat berkurangnya yodium di dalam kelenjar tiroid, maka pembentukan hormon tiroid (tiroxin) dan triyodotironin akan terganggu (Mc Donald, 1975).

Untuk kelangsungan satu siklus berahi perlu sekali tersedia hormon gonadotropin FSH dan LH, yang diproduksi oleh sel-sel basofil kelenjar hipofisa anterior (Beames dkk, 1971 ; Ganong, 1979). Menurut laporan dari hasil penelitian Goldberg dan Chaikoff (1950), dijelaskan bahwa gangguan fungsi kelenjar hipofisa anterior tikus dapat diakibatkan oleh adanya defisiensi hormon tiroxin atau rendahnya pengambilan jodium plasma. Akibat dari gangguan fungsi kelenjar hipofisa anterior dapat menyebabkan sekresi hormon FSH dan LH menjadi rendah ataupun kosong sama sekali. Akibat dari rendahnya sekresi hormon FSH dan LH dari kelenjar hipofisa anterior ini maka akan mengakibatkan terjadinya gangguan siklus berahi pada tikus.

B A B III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Dilakukan penelitian pengaruh pemberian tepung biji lamtoro (Leucaena leucocephala) terhadap siklus berahi mencit di Surabaya dari tanggal 28 September sampai dengan 22 Oktober 1986.

Materi penelitian

Bahan

Dalam penelitian ini digunakan 30 ekor mencit betina dengan kondisi badan yang baik dan berat yang seragam antara 19 - 23 gram, umur 60 - 100 hari dan belum pernah bunting.

Pakan tikus yang digunakan untuk perlakuan dibuat sendiri dengan susunan ransum seperti pada lampiran 8 yang menggunakan biji lamtoro gung dari satu toko benih di Surabaya.

NaCl fisiologis digunakan untuk pengambilan cairan mukosa vagina, alkohol 96 % untuk fixasi preparat ulasvagina, zat warna Giemsa untuk pewarnaan dan air kran untuk membersihkan zat warna yang berlebihan.

Alat

Kandang terbuat dari kayu berdinding kawat, terdiri dari tiga kandang yang digunakan secara bersamaan untuk kelompok kontrol, kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

Pipet Pasteur, gelas obyek, gelas tempat pewarnaan dan mikroskop semua untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat ulas vagina.

Alat - alat tambahan antara lain kertas, spidol dan alat tulis lain dan juga kotak penyimpanan preparat ulas vagina.

Alat - alat pembuat pakan tikus yaitu bak tempat mengaduk bahan pakan, penumbuk dan gilingan yang digunakan untuk membuat pelet.

Metoda penelitian

Persiapan

Mencit betina 30 ekor diadaptasikan selama tujuh hari dalam kandang dengan memberi jenis pakan ayam pete - lur dan air minum ad libitum . Kemudian diadakan pembagian menjadi kelompok kontrol, kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II yang masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit betina. Pembagian kelompok dilakukan secara acak untuk mendapatkan kerataan sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam kandang masing - masing secara acak. Kelompok kontrol diberi pakan yang mengandung 0 %, kelompok perlakuan II 10 % dan kelompok perlakuan II 20 % tepung biji lamtoro.

Sebelum diberi perlakuan, mencit diamati siklus berahi normalnya selama enam hari. Pemeriksaan dilakukan se tiap 12 jam yaitu jam 6.00 pagi dan jam 18.00 sore.

Perlakuan

Setelah pengamatan siklus berahi normal yang terakhir jam 18.00, mencit diberi perlakuan dengan memberi pakan yang mengandung tepung biji lamtoro 0 % untuk kelompok kontrol, 10 % untuk kelompok perlakuan I dan 20 % untuk kelompok perlakuan II. Pengamatan pertama setelah diberi perlakuan dilakukan 12 jam setelah pengamatan siklus berahi yang terakhir, yaitu jam 6.00 pagi hari berikutnya. Pengamatan siklus berahi yang berurutan berikutnya dilakukan setelah 12 jam dari pengamatan pertama. Pemeriksaan ini dilakukan selama 20 hari terus menerus.

Mencit dipegang dengan tangan kiri, ekor dijepit di antara jari kelingking dan jari manis. Kulit di bagian tengkuk dipegang dengan jari telunjuk dan ibu jari, dengan demikian alat kelamin luar akan terlihat dengan mudah. Kemudian ujung pipet Pasteur berisi NaCl fisiologis sedikit dimasukkan ke dalam vagina sambil menyemprotkan isinya lalu dihisap lagi. Cairan yang didapat diteteskan pada obyek glass, diratakan dan dibiarkan kering di udara. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan zat warna Giemsa.

Preparat ulas vagina yang telah kering difiksasi dengan alkohol 96 % selama 2 menit, lalu direndam dalam zat warna Giemsa selama 15 menit, kemudian dicuci dengan air kran dan dibiarkan kering di udara.

Kemudian preparat ulas vagina yang telah diwarnai diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 X dan 450 X.

Parameter yang diamati

Untuk menentukan hasil pengamatan gambaran ulas vagina termasuk fase mana dari siklus berahi maka dibuat pedoman dari masing masing fase.

<u>Fase</u>	<u>' Bila gambar ulas vagina ditemukan</u>
Proestrus (P)	' Sel epitel vagina berinti. ' : Bentuk bulat hingga bulat lonjong di- ' tengah terdapat inti berbentuk bulat.
Estrus (E)	' Sel epitel vagina berkornifikasi. ' : Bentuk persegi yang tak teratur, ' ukurannya lebar dan bertumpuk.
Metestrus (M)	' Sel epitel vagina berkornifikasi dan ' sel lekosit. ' : Bentuk persegi tak teratur dan bertum- ' puk (sel epitel vagina) dan bentukan ' bulat dengan inti berlobi lobi.
Diestrus (D)	' Sel sel lekosit yang cukup banyak dan ' kadang kadang terdapat sel epitel vagi- ' na berinti (sedikit). ' : Bentuk bulat dengan inti gelap berlo- ' bi lobi (sel lekosit) dan bentukan ' bulat hingga bulat lonjong dengan in- ' ti bulat (sel epitel vagina).

Analisa data

Hasil pemeriksaan dicatat, ditabulasikan dan kemudi-
 an dilakukan analisa statistik dengan metoda kai-kwadrat
 menurut Sudjana (1980).

Gambar 3. Biji lamtoro gung.

Gambar 4. Pengambilan cairan
mukosa vagina mencil.

B A B IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan penelitian dengan perlakuan F O (memakai tepung biji lam 0 %), P 1 (tepung biji lam 10 %) dan P 2 (tepung biji lam 20 %) didapat jumlah gejala proestrus, estrus, metestrus dan diestrus seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah gejala berahi PO(lam 0), P1 (lam 10) dan P2 (lam 20) yang diamati.

PERLAKUAN	Gejala			
	Proestrus	Estrus	Metestrus	Diestrus
P 0	47	59	55	239
P 1	44	35	56	265
P 2	31	20	47	303

Perubahan gejala terutama terjadi pada estrus. Bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (P 0), gejala estrus pada kelompok P 1 dan kelompok P 2 berturut turut 35 dan 20, mengalami penurunan jumlah yang menyolok sekali.

Dengan menggunakan metoda uji Kai-kwadrat diperoleh hasil bahwa terdapat perubahan siklus berahi akibat pemberian tepung biji lamtoro kedalam pakan dengan taraf nyata 1 % (lampiran 1).

Perubahan siklus berahi akibat pemberian tepung biji lamtoro tersebut tampak setelah hari ke 6 - 10 pemberian pakan mengandung tepung biji lamtoro. Perubahan tersebut juga merupakan akibat dari menurunnya gejala estrus dari tiap tiap perlakuan P1 (lam 10) dan P2 (lam 20) seperti tampak pada lampiran 3.

Pada hari ke 6 - 10 perlakuan tersebut gejala estrus pada P1 (lam 10) dan P2 (lam 20) berturut turut 9 dan 5 adalah lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol P0 yaitu 15. Pada hari ke 11 - 15 perlakuan, gejala estrus pada P1 dan P2 berturut turut 7 dan 4 juga mengalami penurunan jumlah bila dibanding dengan kelompok P0 = 16. Demikian pula keadaan pada hari ke 16 - 20, gejala estrus pada P1 dan P2 berturut turut 7 dan 2 juga mengalami penurunan jumlah bila dibandingkan dengan P0 = 14. Tetapi keadaan pada hari ke 1 - 5 perlakuan belum tampak adanya perubahan penurunan gejala estrus secara tajam. Pada hari ke 1 - 5 perlakuan P1 dan P2 berturut turut 12 dan 9. Bila dibandingkan dengan P0 = 14 perubahan tersebut belum tampak.

Dengan menggunakan metoda uji Kai-kwadrat diperoleh hasil bahwa perubahan siklus berahi tersebut mulai terlihat setelah hari ke 6 - 10 perlakuan pemberian tepung biji lamtoro. Hal ini terbukti dengan taraf nyata 5 %, seperti pada tabel 2, yang uraiannya terdapat pada lampiran 4, 5, 6 dan 7.

Kelompok I (hari ke 1 - 5) belum terpengaruh, sedangkan kelompok II (hari ke 6 - 10), kelompok III (hari ke 11 - 15) dan kelompok IV (hari ke 16 - 20) terpengaruh pemberian tepung biji lamtoro.

Tabel 2. Hasil uji Kai-kwadrat mulai terpengaruhnya siklus berahi dari kelompok I - IV.

Kel ke	Hari ke	X^2 hit	X^2 5 %	Signifikan	Keterangan
I	(1 - 5)	2,079	12,59	tidak sign. ($P > 5\%$)	belum terpengaruh
II	(6 -10)	13,454	12,59	signifikan ($P < 5\%$)	terpengaruh
III	(11-15)	13,298	12,59	signifikan ($P < 5\%$)	terpengaruh
IV	(16-20)	15,580	12,59	signifikan ($P < 5\%$)	terpengaruh

Rendahnya gejala estrus pada mencit yang mendapat pakan mengandung tepung biji lamtoro 10 % dan 20 % (pada tabel 1) diduga ada pengaruh dari rendahnya hormon estrogen dalam darah. Rendahnya kadar estrogen dalam darah diduga diakibatkan oleh rendahnya kadar FSH dan LH hasil sekresi hipofisa anterior. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan Joshi (1968) pada percobaan dengan menggunakan 15 % tepung daun lamtoro dalam pakan tikus, yang menunjukkan bahwa tikus betina mengalami anestrus.

Menurut pendapat Leathem (1961) yang dikutip Joshi (1968), bahwa kegagalan reproduksi dapat terjadi akibat berkurangnya sekresi atau pelepasan hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa yang disebabkan oleh adanya kekosongan secara kronis.

Diduga pemberian tepung biji lamtoro dalam pakan pada percobaan ini menyebabkan gangguan pada kelenjar tiroid yang kemudian juga dapat menyebabkan gangguan fungsi pada kelenjar hipofisa .

Belum terpengaruhnya siklus berahi pada kelompok I (hari ke 1 - 5 perlakuan) diduga pada masa awal pemberian tepung biji lamtoro ini hormon estrogen masih tersedia dalam jumlah yang mencukupi dan masih mampu merangsang terjadinya gejala estrus. Tetapi setelah hari ke 5 perlakuan (kelompok ke II) cadangan estrogen menurun jumlahnya sehingga makin lama makin berkurang kemampuannya dalam merangsang terjadinya gejala estrus.

Rendahnya gejala estrus pada kelompok II (hari ke 6 - 10 perlakuan) diduga akibat pengaruh dari gangguan fungsi kelenjar hipofisa. Pemberian tepung biji lamtoro pada kelompok I (hari ke 1 - 5 perlakuan) pada P 1 dan P 2 diduga belum begitu besar pengaruhnya terhadap gangguan fungsi kelenjar hipofisa, sehingga kelenjar ini masih mampu mensekresi hormon FSH dan LH yang masih cukup mampu merangsang pembentukan estrogen. Tetapi setelah hari ke 5 (kelompok II) diduga sekresi hormon FSH dan LH menurun, akibatnya menurun pula pengaruhnya dalam merangsang sekresi estrogen.

B A B V

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasar hasil pengamatan dan pengujian yang telah dilakukan, pemberian tepung biji lamtoro gung pada penelitian ini mempunyai pengaruh terhadap siklus berahi mencit dengan taraf nyata 1 %. Dan pengaruh tersebut sangat nyata pada mencit mencit perlakuan P 2 (mencit yang mendapat pakan mengandung tepung biji lamtoro 20 %), ditandai dengan menurunnya gejala estrus.

Selain hal di atas, berdasar pengamatan tiap kelompok interval waktu (hari ke 1 - 5, ke 6 - 10, 11 - 15, 16 - 20) pada masing masing perlakuan PO, P1 dan P2, pengaruh berkurangnya gejala estrus tersebut mulai tampak setelah hari ke 6 - 10 pemberian tepung biji lamtoro dengan taraf nyata 5 %.

Berdasar kesimpulan diatas dan juga berpedoman pada pembahasan , maka gangguan siklus berahi ini diduga berhubungan erat dengan kerja kelenjar tiroid dan kelenjar hipofisa anterior. Untuk itu disarankan untuk mengadakan penelitian lebih lanjut akibat pemberian tepung biji lamtoro terhadap pengaruh perubahan gambaran histologi kelenjar tiroid dan kelenjar hipofisa khususnya hipofisa anterior mencit atau tikus. Juga disarankan untuk mengamati gambaran histologi ovarium. Penentuan persentase kadar tepung biji lamtoro dalam pakan yang tidak mempengaruhi siklus berahi perlu dilakukan untuk menyelamatkan ternak dan hewan dari pemberian yang berlebihan.

R I N G K A S A N

ARIF MOESTOFA, "Pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung (Leucaena leucocephala) terhadap siklus berahi mencit", dibimbing oleh DR.SARMANU,MS dan Drh.ISMUDIONO,MS.

Dalam upaya meningkatkan produksi ternak di tanah air kita ini, kita terbentur oleh masalah terbatasnya persediaan bahan pakan ternak yang murah. Salah satu bahan pakan yang murah dan bermutu tinggi ialah lamtoro gung. Lamtoro gung yang dinilai sebagai bahan pakan ternak bermutu tinggi ini ternyata untuk penggunaan yang berlebihan akan mengakibatkan dampak yang negatif.

Penelitian " Pengaruh pemberian tepung biji lamtoro gung (Leucaena leucocephala) terhadap siklus berahi mencit" bertujuan menelaah perubahan siklus berahi khususnya pada mencit. Dalam penelitian ini dipakai 30 ekor mencit betina yang berumur antara 60 - 100 hari dan belum pernah bunting. Dari sejumlah mencit tersebut dibagi menjadi tiga kelompok masing masing 10 ekor , satu kelompok untuk kontrol, satu kelompok untuk perlakuan 1 dan satu kelompok untuk perlakuan 2. Mencit diberi pakan olahan yang mengandung campuran tepung biji lamtoro 10 % untuk kelompok perlakuan 1, dan 20 % untuk kelompok perlakuan 2. Sebagai kontrol adalah pakan olahan yang tidak diberi campuran tepung biji lamtoro, diberikan pada mencit kelompok kontrol.

Dari penelitian tersebut dinyatakan bahwa pemberian tepung biji lamtoro dengan persentase 10 dan 20 persen pada mencit menyebabkan perubahan siklus berahi yang sangat bermakna ($P < 0,01$). Perubahan siklus berahi tersebut mulai tampak pada hari ke 6 - 10 setelah diberi perlakuan dengan hasil yang bermakna ($P < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Abriam, R. M. 1981. Performance of broilers (Peterson-Strain) fed with starter mash and different amounts of ipil-ipil (Leucaena) leaf meal. *Leuc. Res. Rep.*, 2 : 41.
- Arthur, G. H. 1974. *Veterinary Endocrinology and Obstetrics*. 4th Ed. Baliere and Tindall, London.
- Bahri, S. 1984. Evaluasi efek goitrogenik dari lamtoro (Leucaena leucocephala) pada marmut. *Penyakit Hewan*, 16 : 145 - 147.
- Beames, C. G., P. T. Cardielhac, and W. S. Newcomer. 1971. *Textbook of Veterinary Physiology*. J. E. Breazile, ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Bennet, J. P. and B. H. Vickery. 1970. Rats and mice. In E. S. E. Hafez, ed. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia. P : 299 - 307.
- Clarke, E. G. C. and M. L. Clarke, 1975. *Veterinary Toxicology*. 1st ed. The English Language Book Society and Baliere Tindall. P. 332 - 333.
- D'Mello, J. P. F. and D. Thomas, 1978. The nutritive value of dried leucaena leaf meal from Malawi. Studies with young chicks. *Tropic. Agric.*, 55 : 45 - 50.

- El Harith, E. A., Y. Scharf, and U ter Meulen, 1979. Reaction of rats fed on Leucaena leucocephala. Tropic. Anim. Product., 4 : 162 - 167.
- Fox, R. R. and C. W. Laird, 1970. Sexual cycles. In E. S. E. Hafez, ed. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger, Philadelphia. P. 107 - 122.
- Gandjar, I., S. Dewi Sabita, D. Suliswati, S. Lanita, S. Yeyeh, 1975. Fermentasi biji Leucaena leucocephala. Laporan Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Dept. Kesehatan Bogor.
- Ganong, W. F. 1980. Fisiology Kedokteran. 9th ed. CV EGC, Jakarta.
- Goldberg, R. C. and I. L. Chaikoff, 1950. The cytological changes that occur in the anterior pituitary glands of rats injected with various doses of I^{131} and their significance in the estimation of thyroid function. Endocr., 46 : 91 - 104.
- Hamilton, R. I., L. E. Donaldson, and L. J. Lambourne, 1971. Leucaena leucocephala as a feed for dairy cows: direct effect on reproduction and residual effect on the calf and lactation. Aust. J. Agric. Res., 22 : 681 - 692.
- Hathcock, J. N. and M. M. Labadan, 1975. Toxicity of mimosine and Leucaena leucocephala extract to chicken embryos. Nutr. Rep. Int., 11: 63 - 69.

- Hegarty, M. P. and R. D. Court, 1964. A simple method for the isolation of mimosine from the seed of Leucaena glauca Benth. Aust. J. Agric. Res., 15 : 153 - 167.
-
- _____ and P. G. Schinkle, 1964. Reaction of sheep to consumption of Leucaena glauca Benth and its toxic principle mimosine. Aust. J. Agric. Res., 15 : 153 - 167.
-
- _____, C. P. Lee, G. S. Christy, and K. P. Haydock, 1979. The goitrogen 3-Hydroxy - 4(1H)-Pyridone, a ruminal metabolite from Leucaena-leucocephala : effect in mice and rats. Aust. J. Biol. Sci., 32 : 27 - 40.
- Holmes, J. H. G. 1980. The toxicity of Leucaena leucocephala. II. Reduced fertility of heifers grazing Leucaena leucocephala. Papua New Guen. Agric. J., 31 : 47 - 50.
- Jones, R. J., J. G. Blunt, and J. H. G. Holmes, 1976. Enlarged thyroid glands in the cattle grazing leucaena pastures. Tropic. Gras., 10 : 113 - 116.
-
- _____ 1979. The values of Leucaena leucocephala as a feed for ruminants in the tropics. Wld. Anim. Rev., 31 : 13 - 23.
- Joshi, H. S. 1968. The effect of feeding on Leucaena-leucocephala (Lam) De Wit on reproduction in rats. Aust. J. Agric. Res., 19 : 341 - 352.
- Lee, B. P. K. 1980. Feeding value of Leucaena seeds for swine, chickens and rats. Leucaena News Letter, 1 : 35 - 36.

- Iin, J. Y. 1982. Toxic nature of non protein amino acids. *Leuc. Res. Rep.*, 3 : 67.
- Lowry, J. B., B. Tangendjaja, and Maryanto 1983. Autolysis of mimosine to 3-Hydroxy-4-1(H)Pyrone in green tissues of Leucaena leucocephala. *J. Sci. Fd. Agric.*, 34 : 529 - 533.
-
- _____ and N. W. Cook, 1985. Measurement of mimosine and its metabolites in biological materials. *J. Sci. Fd. Agric.*, 36: 799 - 807.
- Mc Donald, L. E. 1975. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 2nd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Megarrity, R. G. and R. J. Jones, 1983. Toxicity of Leucaena leucocephala in ruminants : the effect of supplemental thyroxine on goats fed a sole diet of Leucaena. *Aust. J. Agric. Res.*, 34 : 791 - 798.
- Meulen, U ter, S. Struck, E. Schulke, and El Harith, B. 1979. A review on the nutritive value and toxic aspects of Leucaena leucocephala. *Tropic. Anim. Produc.*, 4 : 113 - 126.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara, Jakarta.
- Ruskin, F. R. 1984. *Leucaena : Promising Forage and The tree Crop for The Tropics*. 2nd ed. Nat. Acad. Press, Washington, D. C.
- Sarmanu, S. Hardjopranjoto, Kusrieningrum 1985. Studi pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung dan mimosine murni terhadap reproduksi dan produksi ayam petelur. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.

- Sudjana, 1980. *Disain dan Analisis Eksperimen*. Tarsito, Bandung.
- Suprajitno, dkk 1981. *Lamtoro gung dan manfaatnya*. Bhratarakarya Aksara, Jakarta.
- Tangendjaja, B. and R. B. H. Wills, 1980. Analysis of mimosine and 3-Hydroxy-4(1H)-Pyrydone by high performance liquid chromatography. *J. of Chromatography*, 202 : 317 - 318.
- _____, J. B. Lowry, dan Maryanto 1982. Pemecahan kimia dan enzimatis dari mimosin di dalam daun lamtoro (Leucaena leucocephala). Seminar Penelitian Peternakan di Cisarua, 8 - 11 Feb. 1982.
- _____ 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.
- Toelihere, M. R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Wahju, J. 1985. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gadjah Mada University Press.

Lampiran 1. Uji Kai-Kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi P0, P1 dan P2.

Gejala	P E R L A K U A N			
	P0 (lam 0)	P1 (lam 10)	P2 (lam 20)	
* P	O	47	44	31
	E	40,666	40,666	40,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,986	0,273	2,297
E	O	59	35	20
	E	38	38	38
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	11,605	0,236	8,526
M	O	55	56	47
	E	52,333	52,333	52,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,135	0,256	0,766
D	O	239	265	303
	E	269	269	269
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	3,345	0,059	4,297

* P=Proestrus, E=Estrus, M=Metestrus, D=Diestrus.

$$\begin{aligned} X^2 &= 0,986 + 11,605 + 0,135 + 3,345 + 0,273 + 0,236 \\ &+ 0,256 + 0,059 + 2,297 + 8,526 + 0,766 + 4,297 \\ &= 32,781* \end{aligned}$$

$$X^2_{0,01} (6) = 16,8$$

* X^2 hit \geq X^2 tabel 0,01 -----> Signifikan

Kesimpulan terdapat perbedaan siklus berahi.

Lampiran 2. Jumlah gejala berahi PO(lam 0), P1 (lam 10), P2 (lam 20) yang diamati.

HARI KE	JUMLAH GEJALA											
	PO(biji lam 0%)				P1 (biji lam10%)				P2(biji lam20%)			
	P	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D
1	1	4	1	14	0	1	4	15	2	4	3	11
2	5	2	2	11	0	1	1	18	1	0	2	17
3	2	4	4	10	8	7	0	5	4	4	1	11
4	2	3	2	13	2	3	7	8	1	0	3	16
5	2	1	2	15	0	0	0	20	1	1	2	16
6	3	4	3	10	0	2	2	16	0	0	3	17
7	0	2	6	12	0	5	4	11	1	1	3	15
8	2	1	0	17	4	1	5	10	3	3	1	13
9	6	5	0	9	2	1	8	9	1	0	5	14
10	2	3	5	10	1	0	2	17	0	1	3	16
11	2	6	4	8	0	0	0	20	3	3	0	14
12	1	3	4	12	1	1	0	18	1	1	10	18
13	2	3	1	14	3	3	6	8	0	0	1	19
14	2	2	4	12	4	1	3	12	0	0	0	20
15	3	2	2	13	4	2	5	9	3	0	0	17
16	2	4	4	10	1	1	2	16	3	1	4	12
17	3	4	3	10	1	0	0	19	3	0	1	16
18	0	1	4	15	2	1	3	14	3	1	2	14
19	4	1	0	15	5	1	1	13	1	0	2	17
20	3	4	4	9	6	4	3	7	0	0	0	20
JML	47	59	55	239	44	35	56	265	31	20	46	303

Lampiran 3. Jumlah gejala berahi PO(lam 0), P1(lam 10) dan P2 (lam 20) yang dihitung tiap kelompok.

KE LOM'HARI POK' KE	JUMLAH GEJALA													
	PO (Lam 0 %)				P1 (Lam 10)				P2 (Lam 20)				*	
	P	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D		
I	1	1	4	1	14	0	1	4	15	2	4	3	11	
	2	5	2	2	11	0	1	1	18	1	0	2	17	
	3	2	4	4	10	8	7	0	5	4	4	1	11	
	4	2	3	2	13	2	3	7	8	1	0	3	16	
	5	2	1	2	15	0	0	0	20	1	1	2	16	
JUMLAH		:12	14	11	63	10	12	12	66	9	9	11	71	
II	6	3	4	3	10	0	2	2	16	0	0	3	17	
	7	0	2	6	12	0	5	4	11	1	1	3	15	
	8	2	1	0	17	4	1	5	10	3	3	1	13	
	9	6	5	0	9	2	1	8	9	1	0	5	14	
	10	2	3	5	10	1	0	2	17	0	1	3	16	
JUMLAH		:13	15	14	58	7	9	21	63	5	5	15	75	
III	11	2	6	4	8	0	0	0	20	3	3	0	14	
	12	1	3	4	12	1	1	0	18	1	1	10	8	
	13	2	3	1	14	3	3	6	8	0	0	1	19	
	14	2	2	4	12	4	1	3	12	0	0	0	20	
	15	3	2	2	13	4	2	5	9	3	0	0	17	
JUMLAH		:10	16	15	59	12	7	14	67	7	4	11	78	
IV	16	2	4	4	10	1	1	2	16	3	1	4	12	
	17	3	4	3	10	1	0	0	19	3	0	1	16	
	18	0	1	4	15	2	1	3	14	3	1	2	14	
	19	4	1	0	15	5	1	1	13	1	0	2	17	
	20	3	4	4	9	6	4	3	7	0	0	0	20	
JUMLAH		:12	14	15	59	15	7	9	69	10	2	9	79	

* Keterangan : P: Proestrus M: Metestrus
E: Estrus D: Diestrus

Lampiran 4. Uji Kai-kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 1 - 5 (kel I).

Gejala	P E R L A K U A N			
	PO (lam 0)	P1 (lam 10)	P2 (lam 20)	
* P	O	12	10	9
	E	10,333	10,333	10,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,269	0,010	0,171
E	O	14	12	9
	E	11,666	11,666	11,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,466	0,009	0,609
M	O	11	12	11
	E	11,333	11,333	11,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,009	0,039	0,009
D	O	63	66	71
	E	66,666	66,666	66,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,201	0,006	0,281

* P=Proestrus, E=Estrus, M=Metestrus, D=Diestrus.

$$\begin{aligned} X^2 &= 0,269 + 0,010 + 0,171 + 0,466 + 0,009 + 0,609 \\ &+ 0,009 + 0,039 + 0,009 + 0,201 + 0,006 + 0,281 \\ &= 2,079^* \end{aligned}$$

$$X^2_{0,05 (6)} = 12,59$$

* $X^2_{\text{hit}} \leq X^2_{\text{tabel } 0,05} \rightarrow$ tidak signifikan

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan siklus berahi

Lampiran 5. Uji Kai-kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 6 - 10 (kel II).

Gejala	P E R L A K U A N			
	PO (lam 0)	P1 (lam 10)	P2 (lam 20)	
* P	O	13	7	5
	E	8,333	8,333	8,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	2,613	0,213	1,333
E	O	15	9	5
	E	9,666	9,666	9,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	2,943	0,045	2,252
M	O	14	21	15
	E	16,666	16,666	16,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,426	1,127	0,166
D	O	58	63	75
	E	65,333	65,333	65,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,823	0,083	1,430

* P=Proestrus, E=Estrus, M=Metestrus, D=Diestrus.

$$\begin{aligned} X^2 &= 2,613 + 0,213 + 1,333 + 2,943 + 0,045 + 2,252 \\ &+ 0,426 + 1,127 + 0,166 + 0,823 + 0,083 + 1,430 \\ &= 13,454* \end{aligned}$$

$$X^2_{0,05 (6)} = 12,59.$$

* $X^2_{hit} \geq X^2_{tabel 0,05} \rightarrow$ signifikan

Kesimpulan terdapat perbedaan siklus berahi pada hari ke 6 - 10 (kel II).

Lampiran 6. Uji Kai-kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 11 - 15 (kel III).

Gejala	P E R L A K U A N			
	PO (lam 0)	P1 (lam 10)	P2 (lam 20)	
* P	O	10	12	7
	E	9,666	9,666	9,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,011	0,563	0,735
E	O	16	7	4
	E	9	9	9
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	5,444	0,444	2,777
M	O	15	14	11
	E	13,333	13,333	13,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,208	0,033	0,408
D	O	59	67	78
	E	68	68	68
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	1,191	0,014	1,470

* P=Proestrus, E=Estrus, M=Metestrus, D=Diestrus.

$$\begin{aligned} X^2 &= 0,011 + 0,563 + 0,735 + 5,444 + 0,444 + 2,777 \\ &+ 0,208 + 0,033 + 0,408 + 1,191 + 0,014 + 1,470 \\ &= 13,298* \end{aligned}$$

$$X^2_{0,05 (6)} = 12,59.$$

* X^2 hit \geq X^2 tabel 0,05 -----> signifikan

Kesimpulan terdapat perbedaan siklus berahi pada hari ke 11 - 15 (kel III).

Lampiran 7. Kai-kwadrat untuk mengetahui adanya perbedaan gejala berahi hari ke 16 - 20 (kel IV).

Gejala	P E R L A K U A N			
	PO (lam 0)	P1 (lam 10)	P2 (lam 20)	
* P	O	12	15	10
	E	12,333	12,333	12,333
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	0,008	0,576	0,441
E	O	14	7	2
	E	7,666	7,666	7,666
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	5,233	0,057	4,187
M	O	15	9	9
	E	11	11	11
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	1,454	0,363	0,363
D	O	59	69	79
	E	69	69	69
	$\frac{(O-E)^2}{E}$	1,449	0	1,449

* P=Proestrus, E=Estrus, M=Metestrus, D=Diestrus.

$$\begin{aligned} X^2 &= 0,008 + 0,576 + 0,441 + 5,233 + 0,057 + 4,187 \\ &+ 1,454 + 0,363 + 0,363 + 1,449 + 0 + 1,449 \\ &= 15,580^* \end{aligned}$$

$$X^2_{0,05} (6) = 12,59.$$

* $X^2_{\text{hit}} > X^2_{\text{tabel } 0,05} \text{ -----} \rightarrow \text{signifikan}$

Kesimpulan terdapat perbedaan siklus berahi pada hari ke 16 - 20 (kel IV).

Lampiran 8 : Daftar komposisi bahan pakan mencit,
(kg dalam 100 kg pakan jadi).

No	Jenis bahan	PERLAKUAN		
		P0	P1	P2
1.	Jagung	25,32	31,1	34,30
2.	Tepung terigu	25	25	32
3.	Tepung ikan	10	10	10
4.	Kacang hijau	26,15	10,3	0,069
5.	Katul	10	10	0,1
6.	Tepung biji lamtoro	0	10	20
7.	Minyak goreng	2	2	2
8.	Gula	0,5	0,5	0,5
9.	Garam	0,5	0,5	0,5
10.	Premix B *	0,5	0,5	0,5
11.	Santoquin	0,02	0,02	0,02
Komposisi kimia pakan				
1.	Lemak. (%)	6	6	6
2.	Protein.(%)	16	16	16
3.	Energi Metabolisme Kcal/kg	3200	3200	3200

* Komposisi premix B, tiap 5 kg mengandung :

Vitamin A 6 juta IU; Vitamin D₃ 1 juta IU; Vitamin E 1000 mg; Vitamin B₂ 5000 mg; Niacin 500 mg; Panthothenic acid 1000 mg; Choline chloride 50.000 mg; Vitamin B₁₅ 2000 Ug; DL methionine 25.000 mg; Antioxidant Ethoxiquin 10.000 mg; Mg 50.000 mg; Cu 2000 mg; Mn 20.000 mg; Zn 10.000 Ug; I 100 mg.

Lampiran 9. Kandungan gizi biji lamtoro gung
(Leucaena leucocephala)*

No	Jenis zat	Jumlah dalam 100 gram sampel
1.	Air (g)	12,76
2.	Abu (g)	3,61
3.	Lemak (g)	8,83
4.	Protein (g)	32,05
5.	Serat kasar (g)	13,97
6.	Energi metabolisme Kcal/kg	1700 **

* Diperiksa di Laboratorium Makanan Ternak
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya.

**Dikutip dari Tangendjja dkk (1985).

Lampiran 10. Daftar kandungan zat dalam bahan pakan*

No	Jenis bahan	Prot	Lemak	Energi Metabolisme
1.	Jagung	8,6	3,9	3370
2.	Tepung terigu	1,8	1,3	3720
3.	Tepung ikan	60	10	3080
4.	Kacang hijau	23,5	1,4	2330
5.	Katul	12	12	2860
6.	Minyak goreng	0	100	8600
7.	Gula	0	0	3720

* Dikutip dari Wahju (1985).

Lampiran 11. Tabel statistik χ^2 .

derajat bebas (d.f.)	$\alpha = \text{level of significance}$										
	0,995	0,990	0,975	0,950	0,900	0,500	0,100	0,050	0,025	0,010	0,005
1	0,00004	0,00016	0,00098	0,00393	0,0158	0,455	2,71	3,84	5,02	6,63	7,88
2	0,0100	0,0201	0,0506	0,103	0,211	1,386	4,61	5,99	7,38	9,21	10,60
3	0,072	0,115	0,216	0,352	0,584	2,366	6,25	7,81	9,35	11,34	12,84
4	0,207	0,297	0,484	0,711	1,064	3,357	7,78	9,49	11,14	13,28	14,86
5	0,412	0,554	0,831	1,145	1,61	4,251	9,24	11,07	12,83	15,09	16,75
6	0,676	0,872	1,24	1,64	2,20	5,35	10,64	12,59	14,45	16,81	18,55
7	0,989	1,24	1,69	2,17	2,83	6,35	12,02	14,07	16,01	18,48	20,28
8	1,34	1,65	2,18	2,73	3,49	7,34	13,36	15,51	17,53	20,09	21,96
9	1,73	2,09	2,70	3,33	4,17	8,34	14,68	16,92	19,02	21,67	23,59
10	2,16	2,56	3,25	3,94	4,87	9,34	15,99	18,31	20,48	23,21	25,19
11	2,60	3,05	3,82	4,57	5,58	10,34	17,28	19,68	21,92	24,73	26,76
12	3,07	3,57	4,40	5,23	6,30	11,34	18,55	21,03	23,34	26,22	28,30
13	3,57	4,11	5,01	5,89	7,04	12,34	19,81	22,36	24,74	27,69	29,82
14	4,07	4,66	5,63	6,57	7,79	13,34	21,06	23,68	26,12	29,14	31,32
15	4,60	5,23	6,26	7,26	8,55	14,34	22,31	25,00	27,49	30,58	32,80
16	5,14	5,81	6,91	7,96	9,31	15,34	23,54	26,30	28,85	32,00	34,27
17	5,70	6,41	7,56	8,67	10,09	16,34	24,77	27,59	30,19	33,41	35,72
18	6,26	7,01	8,23	9,39	10,86	17,34	25,99	28,87	31,53	34,81	37,16
19	6,84	7,63	8,91	10,12	11,65	18,34	27,20	30,14	32,85	36,19	38,58
20	7,43	8,26	9,59	10,85	12,44	19,34	28,41	31,41	34,17	37,57	40,00
21	8,03	8,90	10,28	11,59	13,24	20,34	29,62	32,67	35,48	38,93	41,40
22	8,64	9,54	10,98	12,34	14,04	21,34	30,81	33,92	36,78	40,29	42,80
23	9,26	10,20	11,69	13,09	14,85	22,34	32,01	35,17	38,08	41,64	44,18
24	9,89	10,86	12,40	13,85	15,66	23,34	33,20	36,42	39,36	42,98	45,56
25	10,52	11,52	13,12	14,61	16,47	24,34	34,38	37,65	40,65	44,31	46,93
26	11,16	12,20	13,84	15,38	17,29	25,34	35,56	38,89	41,92	45,64	48,29
27	11,81	12,83	14,57	16,15	18,11	26,34	36,74	40,11	43,19	46,96	49,64
28	12,46	13,56	15,31	16,93	18,94	27,34	37,92	41,34	44,46	48,28	50,99
29	13,12	14,26	16,05	17,71	19,77	28,34	39,09	42,56	45,72	49,59	52,34

Sumber : Sudjana, 1980.