

SKRIPSI :

HERDY SOETOMO WAHYONO



**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG
DAUN LAMTORO GUNG (Leucaena leucocephala)
TERHADAP OVARIUM TIKUS PUTIH
(Rattus norvegicus)**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

1986

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG DAUN LAMTORO GUNG
(Leucaena leucocephala) TERHADAP OVARIUM
TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus)

SKRIPSI

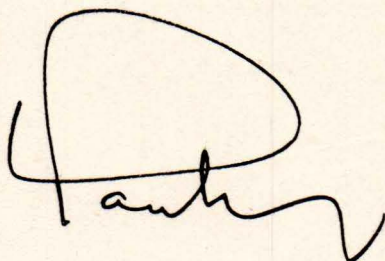
DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS
AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

Oleh

HERDY SOETOMO WAHYONO

Purwodadi - Pasuruan

Jawa Timur



Prof. Dr. SOEHARTOJO HARDJOPRANJOTO M.Sc.

Pembimbing pertama



Dr. SARMANU M.S.

Pembimbing kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

S U R A B A Y A

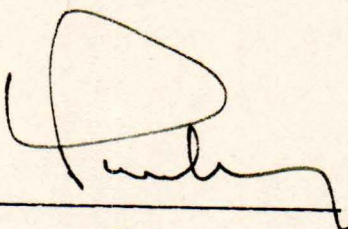
1 9 8 6

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik skope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

Ditetapkan di Surabaya tanggal:

8 Nopember 1986

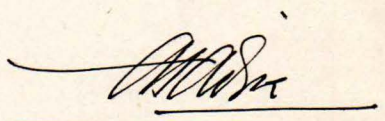
Panitia Penguji:



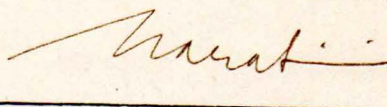
Ketua



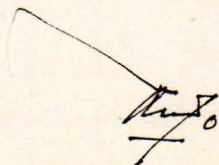
Sekretaris



Anggauta



Anggauta



Anggauta

P R A K A T A

Dengan rahmat Tuhan Yang Maha Esa setelah kami melakukan penelitian tentang "Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung (Leucaena leucocephala) terhadap ovarium tikus putih (Rattus norvegicus)", maka berhasil kami susun makalah seminar ini.

Tanpa bimbingan dan bantuan berbagai pihak, kami sadar bahwa makalah ini tidak akan berhasil kami susun. Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada bapak:

1. Prof.Dr. Soehartojo Hardjopranjoto M.Sc; Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Dr.drh. Sarmanu M.S; dosen Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
3. drh. Moch. Munief M.S; Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
4. Semua pihak yang turut membantu dan memberikan dorongan kepada kami sehingga dapat tersusun makalah ini.

Atas ketulusan hati bapak-bapak yang telah memberikan petunjuk serta bimbingan selama penyusunan makalah ini, semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.

Kami yakin bahwa masih banyak kekurangan dalam makalah ini, namun demikian kami harapkan semoga makalah ini dapat menambah informasi ilmiah.

Surabaya, Agustus 1986

Penyusun

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------|---------|
| Daftar isi | i |
| Daftar tabel | ii |
| Daftar gambar | iii |
| Daftar lampiran | iv |
| Bab I. Pendahuluan | 1 |
| II. Tinjauan pustaka | 3 |
| III. Materi dan metoda | 9 |
| IV. Hasil | 15 |
| V. Pembahasan | 25 |
| VI. Kesimpulan dan saran | 27 |
| Ringkasan | 28 |
| Daftar pustaka | 29 |

DAFTAR TABEL

Halaman

| | | |
|----------|---|----|
| Tabel 1. | Komposisi pakan tikus | 13 |
| 2. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap konsumsi pakan | 15 |
| 3. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap penambahan berat badan pada tiga kelompok tikus betina | 16 |
| 4. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro terhadap berat ovarium pada tiga kelom- pok tikus betina | 17 |
| 5. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro terhadap jumlah folikel tersier pada ti- ga kelompok tikus betina | 19 |
| 6. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro terhadap jumlah korpus luteum pada tiga kelompok tikus betina | 23 |
| 7. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro terhadap jumlah folikel sistik pada tiga kelompok tikus betina | 24 |

DAFTAR GAMBAR

Halaman

| | | |
|-----------|---|----|
| Gambar 1. | Struktur kimiawi Mimosin dan L-Tirosin | 5 |
| 2. | Perubahan pada dinding vagina dan jenis sel yang ditemukan dalam ulas vagina tikus selama siklus birahi | 7 |
| 3. | Model kandang dan tikus percobaan..... | 11 |
| 4. | Bentuk makanan setelah menjadi pellet. | 12 |
| 5. | Ovarium tikus kontrol dan perlakuan... | 18 |
| 6. | Gambaran mikroskopik ovarium tikus kontrol | 20 |
| 7. | Gambaran mikroskopik ovarium tikus perlakuan dengan kadar pemberian 10%..... | 21 |
| 8. | Gambaran mikroskopik ovarium tikus perlakuan dengan kadar pemberian 20%..... | 22 |

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap konsumsi pakan pada tiga kelompok tikus betina | 33 |
| 2. | Sidik ragam konsumsi pakan tikus | 34 |
| 3. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat badan pada tiga kelompok tikus betina | 35 |
| 4. | Sidik ragam pertambahan berat badan | 36 |
| 5. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat ovarium pada tiga kelompok tikus betina | 38 |
| 6. | Sidik ragam berat ovarium | 39 |
| 7. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel tersier pada tiga kelompok tikus betina | 40 |
| 8. | Sidik ragam jumlah folikel tersier | 41 |
| 9. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah korpus luteum pada tiga kelompok tikus betina | 42 |
| 10. | Sidik ragam jumlah korpus luteum | 43 |
| 11. | Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel sistik pada tiga kelompok tikus betina | 44 |
| 12. | Sidik ragam jumlah folikel sistik | 45 |
| 13. | Kandungan protein dan energi metabolis bahan pakan tikus | 46 |
| 14. | Cara pembuatan sediaan histologik | 47 |

BAB I

PENDAHULUAN

Program peningkatan produksi ternak di Indonesia semakin giat dilaksanakan, maka bertambah banyak pula kebutuhan hijauan sebagai pakan ternak yang bergizi. Di Indonesia terutama di tempat-tempat di mana musim kemarau yang panjang akan terjadi hambatan penyediaan hijauan pakan ternak yang berkadar protein tinggi. Untuk memenuhi tuntutan tersebut pemerintah berusaha menyediakan tanaman yang mampu menghasilkan bahan pakan ternak yang bergizi tinggi, meskipun pada saat musim kemarau atau pada tanah tandus masih dapat tumbuh, tanaman tersebut adalah lamtoro gung (Leucaena leucocephala).

Beberapa alasan tentang penggunaan lamtoro gung sebagai pakan ternak, karena mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi adalah selain berperan sebagai pakan ternak dan sumber pangan, tumbuhan lamtoro gung bermanfaat pula sebagai kayu bakar, pencegah erosi, dan sebagai penyubur tanah (Meulen et al, 1979; Blom, 1980; Semali et al, 1983; Sarmanu, 1986).

Meskipun lamtoro gung sangat baik untuk pakan ternak atau bahan pangan ditinjau dari nilai gizinya, akan tetapi kegunaannya dibatasi oleh adanya senyawa beracun yang dikenal dengan nama mimosin (Owen, 1958; El-Harith, 1979; Blom, 1980; Sarmanu, 1986). Pengaruh lamtoro gung yang merugikan bila diberikan tanpa batas pada hewan berbeda-beda (Owen, 1958), pada sapi dapat menyebabkan gon-

dok (Falvey, 1976; Jones, 1979; Holmes, 1980), turunny fertilitas dan penyusutan berat lahir (Hamilton et al, 1971). Demikian pula pada tikus putih, pemberian tepung daun lamtoro gung yang berlebihan dapat menghambat kemampuan reproduksi (Joshi, 1967; Bryant, 1980).

Terorong oleh keadaan seperti di atas, maka perlu diadakan penelitian tentang pengaruh tepung daun lamtoro gung terhadap ovarium tikus putih (Rattus norvegicus).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengevaluasi pengaruh tepung daun lamtoro gung pada ovarium tikus putih, dan berapa jumlah optimal yang perlu ditambahkan ke dalam ransum tikus untuk dapat meningkatkan berat badan dan mempunyai pengaruh pada ovarium yang minimal. Dengan demikian tepung daun lamtoro gung tetap dipergunakan untuk campuran pakan tikus, sehingga biaya pakan akan lebih murah. Selanjutnya hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung program pemerintah dalam pengembangan dan pemanfaatan lamtoro gung.

Hipotesis yang akan di uji, pemberian tepung daun lamtoro gung dengan persentase bertingkat selama 9 minggu akan berakibat:

1. Menurunnya berat ovarium.
2. Menghambat perkembangan folikel dan terjadinya perubahan struktur histologik ovarium.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Morfologi lamtoro gung (Leucaena leucocephala)

Di Indonesia tanaman ini sudah banyak ditanam baik sebagai tanaman pelindung maupun sebagai bahan pakan ternak. Pertama kali ditemukan di Mexico, tetapi sekarang terdapat hampir semua daerah tropis (Owen, 1958; Jones, 1979).

Leucaena leucocephala adalah suatu tanaman yang di golongkan pada Family Leguminosa (kacang-kacangan) yang tumbuh dalam bentuk pohon atau berzat kayu. Susunan daun teratur menurut pola tertentu, yang di kenal dengan susunan sirip ganda, helai daunnya kecil dan berwarna hijau lembut (Siregar dan Prawiradipura, 1978).

Seperti telah diketahui, di Indonesia lamtoro telah dikenal sebagai pakan ternak dan sebagai tanaman peneduh pada perkebunan. Selain hal-hal tersebut, juga dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Kayunya dapat digunakan sebagai kayu bakar, bahan pembuat kertas dan bahan bangunan. Daun lamtoro muda dan bijinya di konsumsi manusia sebagai lalap, tempe atau botok. Bijinya bila dikeringkan dapat dipakai sebagai bahan hiasan.

Daun, biji dan batang muda lamtoro gung banyak mengandung protein selain mengandung vitamin dan mineral (Meulen et al, 1979), juga mengandung mimosin yang diketahui sangat merugikan (Owen, 1958; El-Harith, 1979; Blom, 1980;

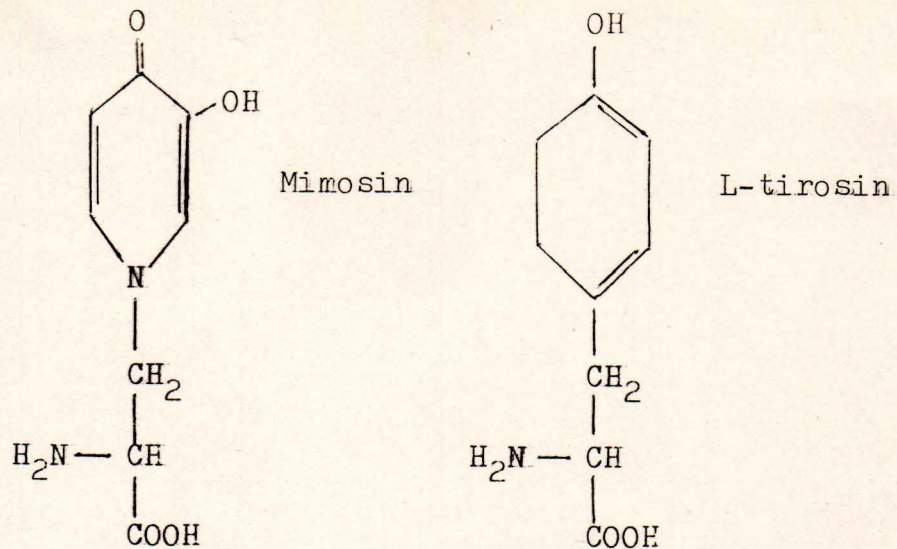
Sarmanu, 1986).

Menurut Smith et al (1972), ternak ruminansia lebih tahan terhadap pengaruh toksik mimosin bila dibandingkan dengan hewan yang mempunyai lambung tunggal. Peneliti ini mengatakan, disamping kehilangan bulu, pemberian lamtoro dalam jumlah tinggi dalam ransum memperlihatkan stomatitis, enteritis haemorrhagis, prostitis, edema pada kaki belakang dan genital, serta laminitis kronis.

Pada unggas, lamtoro dapat menyebabkan terlambatnya dewasa kelamin (Sarmanu et al, 1985) dan bila mimosin disuntikkan mempunyai toksisitas yang tinggi (Hathcock and Labada, 1974), sehingga pemakaiannya perlu dibatasi jangan sampai lebih dari 5% dari ransum (Abriam, 1980; Chen and Lai, 1980; Sarmanu et al, 1985).

Pada domba, pemberian lamtoro akan menyebabkan gangguan pada kelenjar gondok dan hipofisa sehingga dapat merendahkan angka kelahiran dan menekan pertumbuhan (Falvey, 1976).

Mekanisme toksisitas dari mimosin belum diketahui dengan jelas (Hegarty et al, 1964; Meulen et al, 1979). Karena struktur kimiawi mimosin mirip dengan L-tirosin (Gambar 1), diduga daya kerja mimosin antagonis dengan tirosin, sehingga terjadi gangguan sintesa protein dan akibatnya pertumbuhannya terhambat. Dugaan ini terbukti pada anak ayam, akibat diberi ransum mengandung 10%, 20% dan 40% lamtoro, pertumbuhannya terhambat dan mortalitas



Gambar 1. Struktur kimiawi mimosin dan L-tirosin (Meulen et al, 1979).

nya tinggi. Kemudian setelah ditambahkan zat kimia analog mimosin, ternyata terjadi perbaikan. Zat kimia tersebut adalah tirosin, piridoksin dan niacin, akibatnya pertumbuhan menjadi baik dan mortalitasnya turun (Meulen et al, 1979).

Disamping itu, mimosin diketahui mempunyai daya kerja bersifat neurotoksik. Ini dibuktikan oleh Meulen et al (1979) dengan memberikan ransum pada anak tikus mengandung 25% lamtoro (sebanding dengan 0,7 % mimosin), ternyata menyebabkan paralisa anggota gerakanya.

Meulen et al (1979) mengemukakan bahwa mimosin juga mempunyai daya kerja yang bersifat antimitosis pada sel epitel lensa mata, sehingga berakibat kataraks. Ini terbukti pada perbenihan sel epitel lensa mata secara *in vitro* ditambahkan mimosin terjadi penurunan indeks mitosisnya.

Fisiologi reproduksi

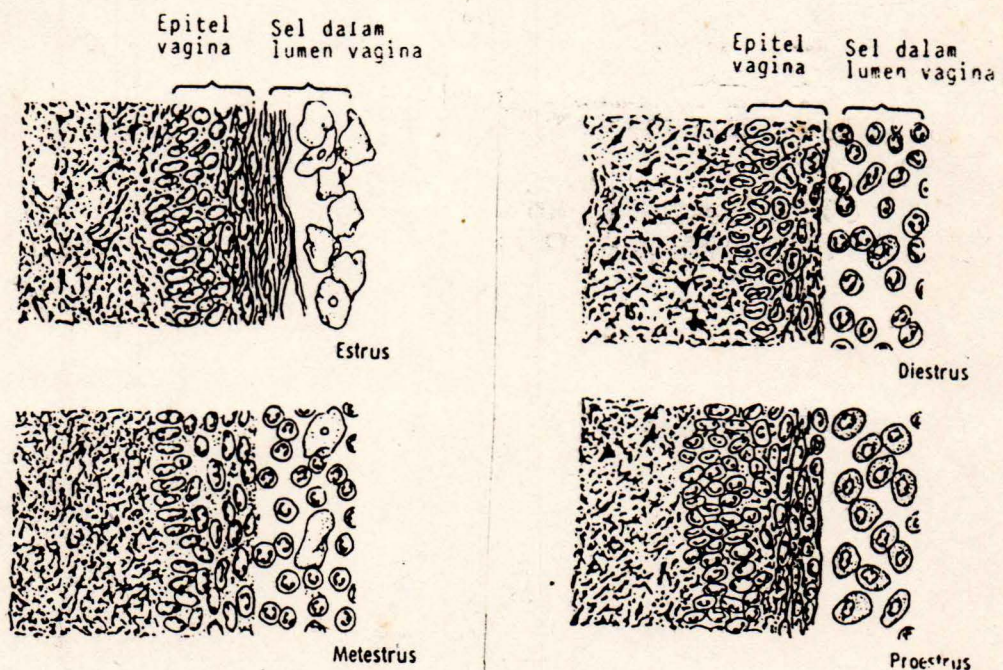
Penelitian tentang pengaruh reproduksi pada hewan percobaan tikus, akibat pemberian tepung daun lamtoro belum banyak dilakukan. Joshi (1967) melaporkan bahwa pemberian lamtoro dan mimosin ada pengaruhnya pada daya reproduksi tikus. Gray (1968) juga melaporkan ada pengaruh terhadap kerontokan bulu, pertumbuhan, infertilitas pada tikus dan kematian anak-anak mencit yang dilahirkan (dikutip dari Holmes, 1980). Demikian pula telah dilaporkan oleh Sarmanu et al (1985) bahwa pemberian tepung daun lamtoro pada ayam akan menyebabkan penurunan produksi telur dan terhambatnya perkembangan organ reproduksi.

Hafez (1970) mengatakan bahwa pada tikus putih betina, pubertas akan timbul apabila berat badan telah mencapai kurang lebih setengah dari berat badan dewasa, dan keadaan ini dicapai pada umur 50-72 hari. Pembukaan vagina terjadi pada umur 28-49 hari, dan birahi pertama timbul setelah 1-2 hari dari mulainya pembukaan vagina. Fertilitas maksimum dicapai setelah tikus berumur 100 - 300 hari. Siklus birahi tikus berlangsung 4-5 hari dan dikatakan bahwa tikus putih termasuk hewan poliestrus, berarti dalam satu tahun terjadi beberapa kali birahi. Pada tikus putih perubahan-perubahan sitologik vagina erat hubungannya dengan siklus ovulasi. Perubahan-perubahan pada vagina dapat diamati dengan membuat sedian u las vagina dan memeriksanya apakah terdapat sel-sel epi-

tel yang mengalami kornifikasi, leukosit dan sel-sel epitel biasa.

Siklus birahi tikus dibagi atas empat periode yaitu: estrus, metestrus, diestrus dan proestrus. Periode estrus berlangsung selama 9-15 jam, periode metestrus berlangsung selama 10-14 jam, periode diestrus berlangsung selama 60-70 jam dan periode proestrus berlangsung selama 12 jam (Briggs and Brotherton, 1970; Turner and Bagnara, 1976; yang dikutip dari Djukri, 1984).

Keadaan setiap periode selama siklus birahi terdapat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan pada dinding vagina dan jenis sel yang ditemukan dalam ulas vagina tikus selama siklus birahi (Ganong, 1980).

Periode estrus, sel-sel mukosa vagina mengalami mitosis menjadi sel-sel epitel bertanduk dan terlepas masuk ke dalam lumen vagina, pada ulas vagina dijumpai sel yang mengalami kornifikasi.

Periode metestrus, mulai terjadi migrasi leukosit ke dalam lapisan kornifikasi, sehingga pada preparat ulas vagina terlihat ada campuran sel-sel kornifikasi dengan leukosit.

Periode diestrus, lapisan mukosa vagina menjadi tipis, terjadi migrasi leukosit ke arah permukaan dan pada preparat ulas vagina banyak dijumpai leukosit.

Periode proestrus, terjadi penebalan lapisan epitel vagina dan pada preparat ulas vagina terdapat sel-sel epitel yang berinti.

Perubahan-perubahan pada mukosa vagina dipengaruhi oleh hormon estrogen sehingga epitel vagina menjadi bertanduk. Dibawah pengaruh progesteron, mukus yang kental disekresi dan epitel mengalami proliferasi serta diinfiltrasi oleh leukosit (Ganong, 1980).

BAB III

MATERI DAN METODA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Reproduksi Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dari tanggal 22 Maret 1986 sampai 28 Mei 1986.

1. Materi Percobaan

Materi percobaan yang dipergunakan adalah daun lamtoro gung (Leucaena leucocephala). Daun diambil dari Kebun Raya Cabang Purwodadi (Holtikultura Tanah Kering), kecamatan Purwodadi, kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Waktu pengambilan pada tanggal 20 Januari 1986, siang hari, saat musim penghujan.

2. Hewan Percobaan

Sebagai hewan percobaan dipakai Tikus Putih (Rattus norvegicus). Tikus diperoleh dari Wattimena, Kepala Laboratorium Hewan, Institut Teknologi Bandung, Bandung, sebanyak 30 ekor yang berumur 5-6 bulan, jenis kelamin betina dan belum pernah melahirkan, dipelihara pada suhu kamar (27°C). Dilakukan penyesuaian selama 15 hari dan sekaligus diamati kesehatannya serta siklus birahinya atau daya reproduksi tikus-tikus tersebut dengan dilakukan pembuatan preparat ulas vagina selama dua kali siklus birahi. Dengan diberi ransum yang mengandung: protein 17%, energi metabolis 3200 kkal/kg, sedang untuk mi

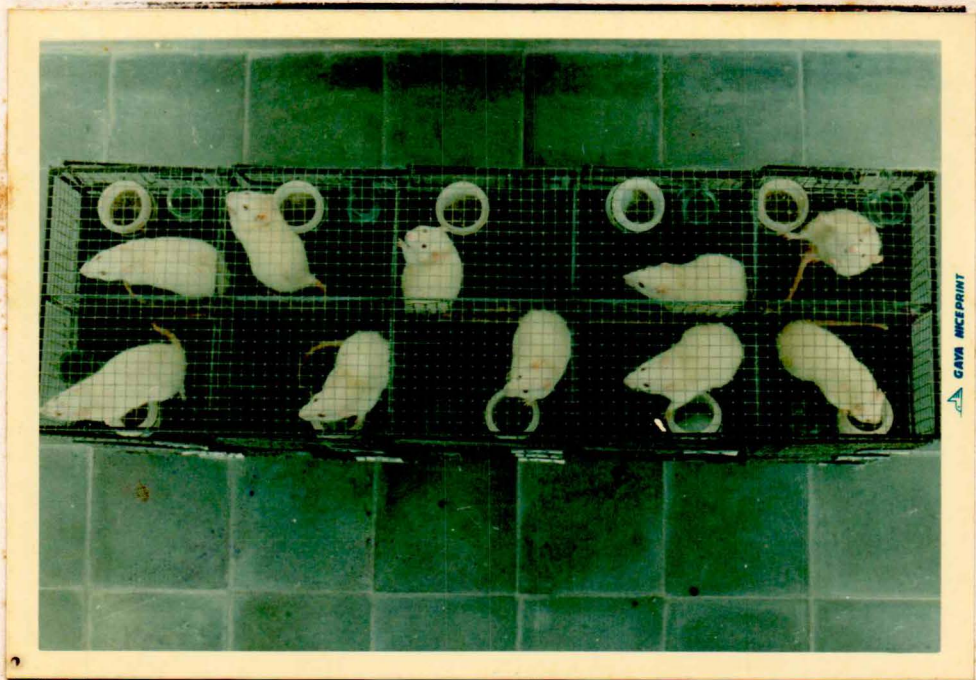
num diambil dari air minum Perusahaan Air Minum, tanpa dimasak. Rancangan percobaan yang di pergunakan adalah rancangan acak lengkap, sebanyak 30 ekor tikus dibagi secara acak menjadi 3 kelompok masing-masing 10 ekor, kelompok pertama sebagai kontrol, kelompok kedua sebagai perlakuan lamtoro 10%, kelompok ketiga sebagai perlakuan lamtoro 20%. Akan tetapi beberapa hari telah dimulai perlakuan, seekor tikus pada kelompok perlakuan lamtoro 20% terlepas, sehingga sisa 9 ekor.

3. Kandang Percobaan

Tiga kelompok tikus dipelihara didalam kandang ber tingkat, berukuran 100 x 30 x 36 cm yang terbuat dari bahan ram kawat, tiap ekor dipelihara sendiri-sendiri dengan luas ruangan 20 x 15 x 10 cm. Kelompok pertama diletakkan pada lantai tiga (atas), kelompok kedua pada lantai dua (tengah), kelompok ketiga pada lantai dasar. Antara lantai satu dengan lantai lainnya diletakkan alas untuk menampung kotoran dan makanan yang jatuh (Gambar 3).

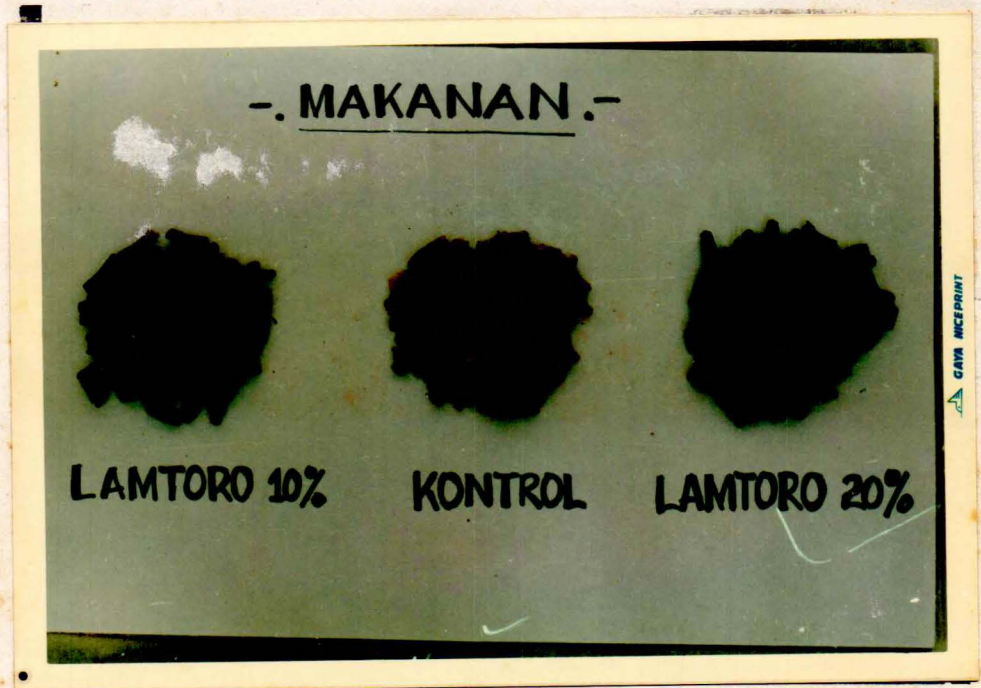
4. Metoda Percobaan

Daun yang diperoleh, dikeringkan dengan memakai panas sinar matahari. Setelah kering ditumbuk halus dan diayak sehingga didapatkan tepung daun. Tepung daun dicampur dengan bahan pakan lainnya, kemudian diproses menjadi bentuk pellet (Gambar 4) pada C.V. Biovet-Surabaya,



Gambar 3. Model kandang dan tikus percobaan.

dengan kadar protein 17% dan energi metabolis (EM) sebesar \pm 3200 kkal/kg (dihitung berdasarkan kandungan zat-zat makanan menurut Anggorodi, 1985). Pakan dan minuman diberikan secara ad libitum, sedang tepung daun lamtoro gung dicampurkan secara substitusi dengan kacang hijau (Tabel 1).



Gambar 4. Bentuk makanan setelah menjadi pellet.

Tabel 1. Komposisi pakan tikus (kg).

| No. | Bahan Makanan | Kontrol (K) | Perl.10% (L ₁₀) | Perl.20% (L ₂₀) |
|---------------------------|---------------------|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1. | Tepung daun lamtoro | 0 | 10 | 20 |
| 2. | Tepung ikan | 10 | 10 | 10 |
| 3. | Terigu | 36 | 36 | 36 |
| 4. | Kacang hijau | 19 | 6,378 | 3,876 |
| 5. | Beras jagung | 23 | 25,622 | 18,124 |
| 6. | Minyak babi | 7 | 7 | 7 |
| 7. | Premix B* | 4,98 | 4,98 | 4,98 |
| 8. | Santoquin | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Jumlah | | 100 | 100 | 100 |
| Protein | | 17% | 17% | 17% |
| Energi Metabolis(kkal/kg) | | 3236 | 3213,89 | 3103,89 |

*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; Pantothenic acid 1000 mg; Choline chloride 50.000 mg; vitamin B₁₂ 2000 ug; DL methionine 25.000 mg; anti oksidan Ethoxyquin 10.000 mg; Mg 50.000 mg; Cu 2000 mg; Mn 20.000 mg; Zn 10.000 ug; I 100 mg.

5. Pembuatan Sediaan Histologi

Sembilan minggu setelah waktu perlakuan berakhir, tikus percobaan ditimbang berat badannya kemudian dimatikan dengan menggunakan kapas yang dibasahi dengan kloroform sebagai pembius. Waktu mematikan tikus kontrol, dan tikus perlakuan dilakukan pada jangka waktu pemberian ransum yang sama. Setelah dimatikan, ovarium diambil dan dipisahkan dari lemak atau jaringan lain yang melekat, kemudian dimasukkan ke dalam NaCl fisiologis dan selanjutnya berat ovarium ditimbang dengan menggunakan timbangan "Sartorius".

Untuk memperoleh gambaran mikroskopik, ovarium dibuat sediaan histologik dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (Hemason, 1967), dapat diikuti pada Lampiran 15.

Selanjutnya preparat yang telah jadi dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop sinar. Untuk mikrofotografi dilakukan dengan menggunakan Nikon Labophot Photomicrographic buatan Jepang. Film yang digunakan jenis Fuji chrom dengan Asa 100/Din 21.

Penghitungan jumlah folikel tersier, korpus luteum dan folikel sistik dilakukan pada enam sayatan ovarium yang berasal dari sayatan seri dengan interval 8. Dari pandangan masing-masing sayatan, kemudian dihitung rata-ratanya. Hasil pemeriksaan dicatat, kemudian dilakukan analisis statistika dengan uji F (Sudjana, 1980) yang dilanjutkan dengan uji t (Steel and Torrie, 1960).

BAB IV
H A S I L

Konsumsi pakan

Seperti terlihat pada Tabel 2, pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap konsumsi pakan tikus menunjukkan angka rata-rata sebesar $0,637 \pm 0,076$ kg pada kelompok kontrol; $0,684 \pm 0,048$ kg pada kelompok tikus perlakuan 10% dan $0,720 \pm 0,028$ kg pada kelompok tikus perlakuan 20%. Analisis statistika menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Pada Lampiran 2, ransum makanan yang mengandung lamtoro gung 10% tampaknya tidak berpengaruh pada konsumsi pakan kelompok tikus ini, dibandingkan konsumsi pakan kelompok tikus kontrol, dengan peluang kesalahan $P > 0,05$.

Tabel 2. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap konsumsi pakan.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Konsumsi pakan (kg)* |
|---------------------|--------------|-------------------------|
| 0 | 10 | $0,637 \pm 0,076^{a**}$ |
| 10 | 10 | $0,684 \pm 0,048^a$ |
| 20 | 9 | $0,720 \pm 0,028^b$ |

* (rata-rata \pm standar deviasi)

** angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Berat badan

Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat badan tikus ada pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) (lihat Lampiran 4 dan 5). Rata-rata pertambahan berat badan tikus dapat diikuti pada Tabel 3. Seperti terlihat pada Tabel 3, pertambahan berat badan kelompok tikus kontrol menunjukkan angka $13,885 \pm 8,306$ mg. Dengan pemberian tepung daun lamtoro 10%, pertambahan berat badan tikus menunjukkan angka $24,737 \pm 10,275$ mg. Pada pemberian tepung daun lamtoro 20% menunjukkan angka $14,790 \pm 11,496$ mg. Setelah dilakukan analisis statistika dengan uji sidik ragam, pertambahan berat badan tikus perlakuan 10% (L_{10}) berbeda secara nyata dibandingkan dengan dua kelompok lainnya ($P < 0,05$).

Tabel 3. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap pertambahan berat badan pada tiga kelompok tikus betina.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Berat badan (gr)* |
|---------------------|--------------|--------------------------|
| 0 | 10 | $13,885 \pm 8,306^{a**}$ |
| 10 | 10 | $24,737 \pm 10,275^b$ |
| 20 | 9 | $14,790 \pm 11,496^a$ |

* (rata-rata \pm standar deviasi)

**angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda nyata ($P < 0,05$)

Ovarium

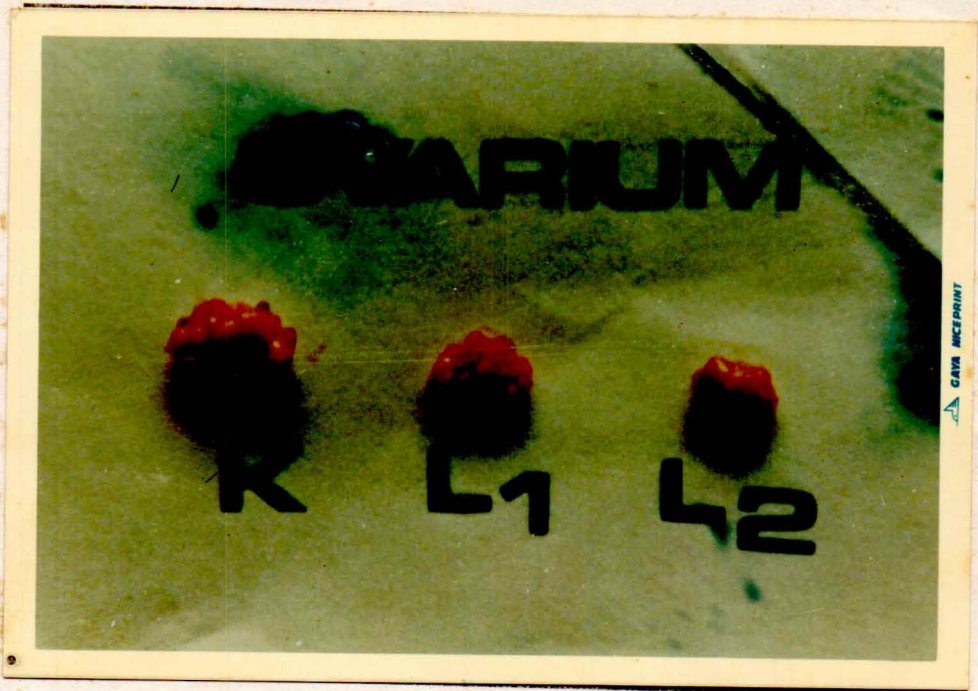
Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap ovarium tiga kelompok tikus betina dapat diikuti pada Tabel 4 di bawah ini dan gambarnya dapat dilihat pada Gambar 5. Seperti terlihat pada Tabel 4, berat ovarium kelompok tikus kontrol menunjukkan angka $49,850 \pm 4,441$ mg. Angka ini lebih berat dari ovarium kedua kelompok tikus yang memperoleh perlakuan. Ternyata dengan meningkatnya persentase pemberian tepung daun lamtoro gung, berat ovarium menurun terus, sehingga pada kadar pemberian 20%, berat ovarium menjadi $35,166 \pm 6,354$ mg. Setelah dilakukan analisis statistik, penurunan berat ovarium kelompok tikus ini adalah sangat nyata dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol, dengan peluang kesalahan sebesar $P < 0,01$ (Lampiran 6 dan 7)

Tabel 4. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat ovarium pada tiga kelompok tikus betina.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Berat ovarium (mg)* |
|---------------------|--------------|--------------------------|
| 0 | 10 | $49,850 \pm 4,441^{a**}$ |
| 10 | 10 | $46,350 \pm 6,908^a$ |
| 20 | 9 | $35,166 \pm 6,354^b$ |

* (rata-rata \pm standar deviasi)

** angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 5. Ovarium tikus kelompok kontrol (K), ovarium tikus kelompok perlakuan tepung daun lamtoro gung 10% (L_1) dan ovarium tikus kelompok perlakuan tepung daun lamtoro gung 20% (L_2).

Folikel tersier

Pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel tersier pada tikus ternyata mempunyai pengaruh yang sangat nyata dengan peluang kesalahan $P < 0,01$. Data pengaruh tepung daun lamtoro gung terhadap pertumbuhan folikel tersier dapat diikuti pada Lampiran 8 dan 9. Angka rata-rata jumlah folikel tersier terlihat pada Tabel 5. Pada tikus kelompok kontrol menunjukkan angka $2,680 \pm 0,467$. Dengan peningkatan kadar pemberian tepung daun lamtoro gung, jumlah folikel tersier menurun

Tabel 5. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel tersier pada tiga kelompok tikus betina.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Jumlah folikel tersier* |
|---------------------|--------------|------------------------------|
| 0 | 10 | 2,680 ± 0,467 ^{a**} |
| 10 | 10 | 2,467 ± 0,707 ^a |
| 20 | 9 | 1,439 ± 0,677 ^b |

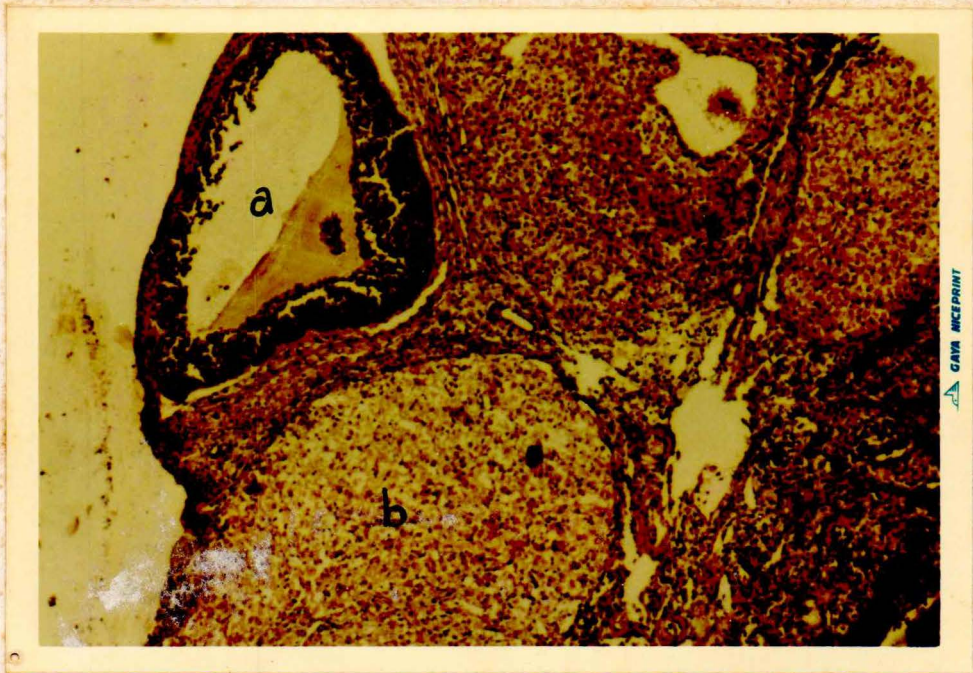
* (rata-rata ± standar deviasi)

**angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

terus, sehingga pada pemberian 20% jumlah folikel tersier menjadi $1,439 \pm 0,677$. Setelah dilakukan analisis statistik, penurunan jumlah folikel tersier sangat nyata dengan peluang kesalahan $P < 0,01$.

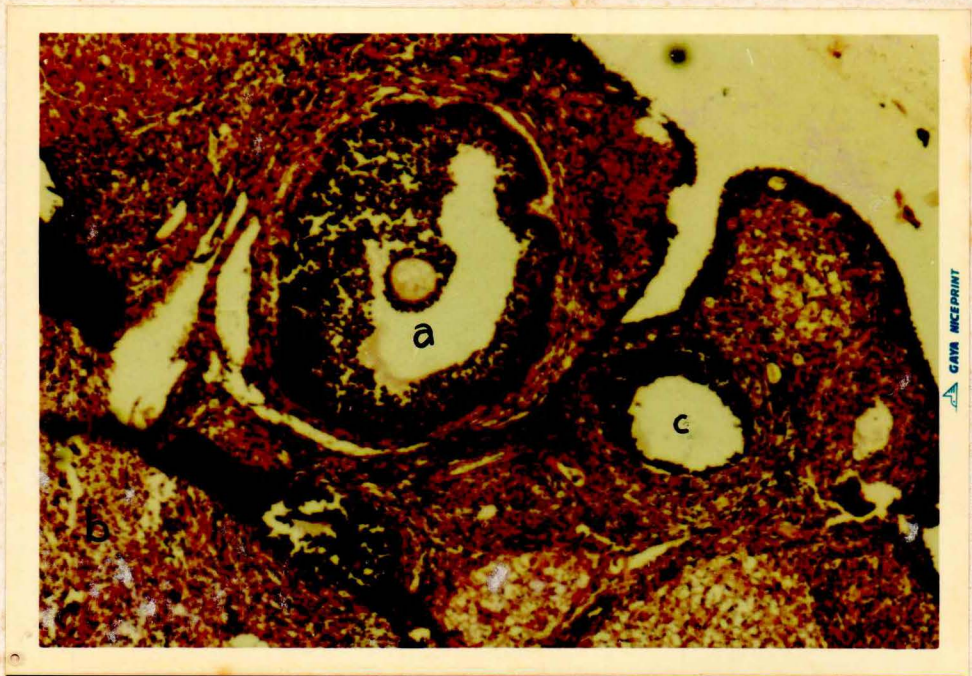
Korpus luteum

Pemberian tepung daun lamtoro gung menyebabkan berkurangnya jumlah korpus luteum. Seperti terlihat pada Tabel 6, jumlah korpus luteum pada tikus kelompok kontrol adalah sebesar $9,895 \pm 1,264$ dan menurun menjadi $6,305 \pm 0,789$ pada kelompok tikus yang diberi tepung daun lamtoro gung pada kadar pemberian 20%. Berkurangnya jumlah korpus luteum sangat nyata dengan peluang kesalahan $P < 0,01$. Analisis statistik dapat diikuti pada Lampiran 10 dan 11.



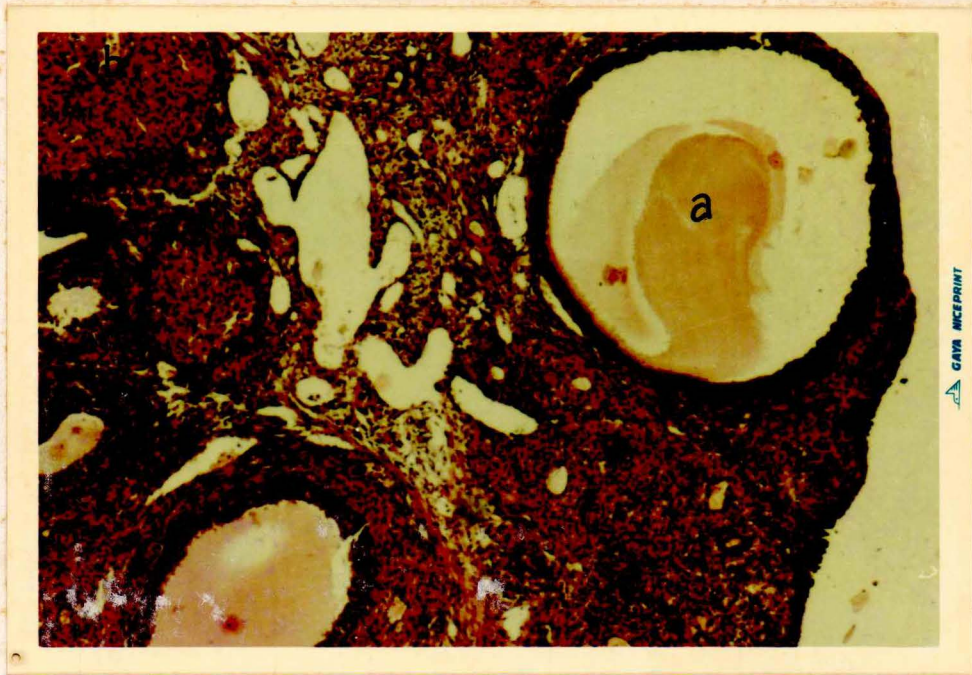
Gambar 6. Gambaran mikroskopik ovarium tikus kontrol.
Pembesaran 580 x.

- a. Folikel tersier yang belum berovulasi
- b. Korpus luteum



Gambar 7. Gambaran mikroskopik ovarium tikus perlakuan dengan kadar pemberian 10%. Pembesaran 580x.

- a. Folikel tersier
- b. Korpus luteum
- c. Folikel sistik



Gambar 8. Gambaran mikroskopik ovarium tikus perlakuan dengan kadar pemberian 20%. Pembesaran 580x.

- a. Folikel sistik
- b. Korpus luteum

Tabel 6. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah korpus luteum pada tiga kelompok tikus betina.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Jumlah korpus luteum* |
|---------------------|--------------|------------------------------|
| 0 | 10 | 9,895 ± 1,264 ^{a**} |
| 10 | 10 | 7,860 ± 1,188 ^b |
| 20 | 9 | 6,305 ± 0,789 ^c |

* (rata-rata ± standar deviasi)

**angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Folikel sistik

Banyaknya folikel sistik pada ovarium tikus kelompok perlakuan tampak lebih banyak dibandingkan dengan tikus kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol, tampak adanya folikel tersier (Gambar 6), sedangkan pada tikus kelompok perlakuan dengan kadar pemberian 10% ditemukan folikel sistik (Gambar 7). Gambar mikroskopik ovarium tikus yang diberi tepung daun lamtoro gung 20% dapat diikuti pada Gambar 8. Pada Gambar 8 ini tampak adanya folikel sistik yang lebih banyak dari pada kelompok kontrol. Folikel sistik jumlahnya bertambah setelah pemberian tepung daun lamtoro gung. Tabel 7 memperlihatkan angka $0,738 \pm 0,4007$ pada tikus kelompok kontrol, dan bertambah menjadi $2,153 \pm 0,883$ pada kadar pemberian 20 persen. Bertambahnya jumlah folikel sistik sangat nyata dengan peluang kesalahan sebesar $P < 0,01$. Uji sta-

tistik dapat diikuti pada Lampiran 12 dan 13.

Tabel 7. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel sistik pada tiga kelompok tikus betina.

| Kadar pemberian (%) | Jumlah tikus | Jumlah folikel sistik* |
|---------------------|--------------|-------------------------------|
| 0 | 10 | 0,738 ± 0,4007 ^{a**} |
| 10 | 10 | 1,265 ± 0,4911 ^a |
| 20 | 9 | 2,153 ± 0,8830 ^b |

* (rata-rata ± standar deviasi)

**angka rata-rata pada lajur sama diikuti huruf yang berbeda, adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

BAB V
PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung pada tikus kelompok perlakuan 10% masih dapat meningkatkan berat badan yang nyata, kemungkinan pada kadar pemberian 10% zat-zat toksik yang dikandung oleh lamtoro gung masih belum berpengaruh. Sedangkan pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap ovarium tikus putih adalah menurunkan berat ovarium, tetapi penurunan tersebut bukan disebabkan oleh adanya penurunan konsumsi pakan tikus. Hal ini mungkin disebabkan karena pemberian tepung daun lamtoro gung menyebabkan penurunan produksi FSH dan LH yang dihasilkan oleh hipofisa anterior seperti dilaporkan Meulen et al (1979), Joshi (1967). Sarmanu et al (1985) melaporkan bahwa terlambatnya produksi telur dan perkembangan organ reproduksi disebabkan oleh penurunan sekresi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa anterior. Ganong (1980) menyatakan bahwa fungsi ovarium dipengaruhi oleh hormon gonadotropin. Bila kadar progesteron dalam darah tinggi, sekresi Gn-RF dari hipotalamus terhambat dan sekresi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa anterior turun. Apabila hormon gonadotropin berkurang, maka fungsi ovarium berkurang dan ovarium mengecil (Hardjopranjoto, 1982).

Pemberian tepung daun lamtoro gung 10% ternyata dapat meningkatkan berat badan tikus yang cukup berarti,

tetapi berbeda dengan pendapat Bryant (1980) bahwa pemberian tepung biji lamtoro sebanyak 10% terjadi hambatan pertumbuhan tikus.

Telah diuraikan di atas bahwa pemberian tepung daun lamtoro gung menurunkan berat ovarium tikus. Penurunan berat ovarium tersebut antara lain disebabkan oleh menurunnya jumlah folikel tersier dan korpus luteum. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah folikel tersier menurun dari $2,68 \pm 0,467$ (pada tikus kelompok kontrol) menjadi $1,439 \pm 0,677$ pada tikus kelompok perlakuan dengan kadar pemberian 20%. Menurunnya jumlah folikel tersier ini diduga karena gagalnya folikel sekunder berkembang menjadi folikel tersier. Jumlah korpus luteum juga mengalami penyusutan dari $9,895 \pm 1,264$ (pada tikus kelompok kontrol) menjadi $6,305 \pm 0,789$ pada tikus kelompok yang memperoleh kadar pemberian tepung daun lamtoro gung 20%. Jumlah folikel sistik setelah pemberian tepung daun lamtoro gung adalah dari angka $0,738 \pm 0,4007$ pada tikus kelompok kontrol, bertambah menjadi $2,153 \pm 0,883$ pada tikus kelompok kadar pemberian 20%.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Tepung daun lamtoro gung pada penelitian ini ternyata mempunyai pengaruh pada ovarium tikus putih baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Secara makroskopik pengaruh tersebut adalah terjadi penurunan berat ovarium tikus putih, sedangkan secara mikroskopik pengaruh tersebut adalah :

- a. Berkurangnya jumlah folikel tersier.
- b. Berkurangnya jumlah korpus luteum.
- c. Bertambahnya jumlah folikel sistik yang ada pada ovarium.

Untuk memperoleh informasi lebih lanjut, maka disarankan agar penelitian ini perlu dikembangkan. Berdasarkan kesimpulan di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui:

- a. Pengaruhnya terhadap siklus birahi tikus serta zat penghambat apa yang mempengaruhi organ reproduksi.
- b. Pengaruhnya terhadap jumlah anak yang dilahirkan.

Setelah mengetahui zat penyebab tersebut, kemudian diusahakan untuk menghilangkannya sehingga tepung daun lamtoro gung diharapkan tetap dipergunakan untuk campuran pakan tikus kalau dimungkinkan dengan kadar yang lebih dari 10%, sehingga biaya pakan akan menjadi lebih murah.

RINGKASAN

- Judul : Pengaruh Pemberian Tepung Daun Lamtoro Gung (Leucaena leucocephala) Terhadap Ovarium Tikus Putih (Rattus norvegicus)
- Peneliti : Herdy Soetomo Wahyono
- Pembimbing : 1. Prof.Dr. Soehartojo Hardjopranjoto M.Sc.
2. Dr.drh. Sarmanu M.S.
-

Penelitian ini mempergunakan tikus putih (Rattus norvegicus) dengan perlakuan selama sembilan minggu. Kadar pemberian tepung daun lamtoro gung (Leucaena leucocephala) adalah 0%, 10% dan 20% yang dicampurkan ke dalam ransum.

Hasil penelitian ini menyebabkan penurunan berat ovarium tikus dari $49,85 \pm 4,441$ mg (tikus kelompok kontrol) menjadi $35,166 \pm 6,359$ mg pada kadar pemberian 20% ($P < 0,01$), jumlah folikel tersier menurun dari $2,680 \pm 0,467$ (tikus kelompok kontrol) menjadi $1,439 \pm 0,677$ pada kadar pemberian 20% ($P < 0,01$), juga jumlah korpus luteum menurun dari $9,895 \pm 1,264$ (tikus kelompok kontrol) menjadi $6,305 \pm 0,789$ pada kadar pemberian 20% ($P < 0,01$). Sebaliknya, jumlah folikel sistik meningkat dari $0,738 \pm 0,4007$ (tikus kelompok kontrol) menjadi $2,153 \pm 0,883$ pada kadar pemberian 20% ($P < 0,01$).

Penelitian ini menyimpulkan jumlah optimal tepung daun lamtoro gung di dalam ransum tikus adalah 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriam, R.M. 1980. Performance of broilers (Peterson strain) fed with starter mash and different amounts of ipil-ipil (*leucaena*) leaf meal. *Leucaena Newsletter*, 1:47.
- Anggorodi, R. 1985. Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Blom, P.S. 1980. *Leucaena*, a promising versatile leguminous tree for the tropics. *Abstracts on Tropical Agriculture*, 6: 9-17.
- Bryant, P.K.L. 1980. Feeding value of *Leucaena* seeds for swine, chickens and rats. *Leucaena Newsletter*, 1: 35-36.
- Chen, M.T. and Y.L. Lai. 1980. Effect of *Leucaena* diet on chick growth. *Leucaena Newsletter*, 1: 47.
- Djukri. 1984. Pengaruh pemberian ekstrak rimpang *Costus speciosus* (Koen) Sm terhadap bangun histologik ovarium dan uterus tikus putih (*Rattus norvegicus*). Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- El-Harith, E.A; Y. Schart and U. Meulen. 1979. Reaction of rats fed on *Leucaena leucocephala*. *Trop. Anim. Prod.*, 4: 162-167
- Falvey, L. 1976. The effects of *Leucaena leucocephala* on cattle in the Northern Territory. *Aust. Vet. J*; 52: 243.

- Ganong, W.F. 1980 . Fisiologi Kedokteran. 9th Ed. C.V. EGC Jakarta.
- Hafez, E.S.E. 1970. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hamilton, R.J; 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.
- Hardjopranjoto, S. 1982. Fisiologi Reproduksi. 2nd Ed. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Hathcock, J.N. and M.M. Labadan. 1974. Toxicity of mimosin and Leucaena leucocephala extracts to chicken embryos. Nutr. Rep. Int; 11: 63-69.
- Hegarty, M.P; P.G. Schinckel and R.D. Court. 1964. Reaction of sheep to the consumption of Leucaena glauca Benth. and to its toxic principle mimosine. Aust. J. Agric. Res; 15: 153-167.
- Holmes, J.H.G. 1980. Reduced fertility of heifers grazing Leucaena leucocephala. P. N. G. Agric. J; 31: 47-50.
- Humason, G.L. 1967. Animal tissue techniques. 2nd Ed. W.H. Freeman and Co. San Francisco.
- Jones, R.J. 1979. The value of Leucaena leucocephala as a feed for ruminants in the tropics. World Animal Review, 31: 13-23.

- Joshi, H.S. 1967. The effect of feeding on Leucaena leucocephala (LAM) De Wit on reproduction in rats. Aust. J. Agric; 19: 341-352.
- Meulen, U; S. Struck; E. Schulke and E.A. El-Harith. 1979. A review on the nutritive value and toxic aspects of Leucaena leucocephala. Trop. Anim. Prod; 4: 113-126.
- Owen, L.N. 1958. Hair loss and other toxic effects of Leucaena glauca ("Jumbey"). Vet. Rec; 70: 454-457.
- Sarmanu, S. Hardjopranjoto dan Kusriningrum. 1985. Studi pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung dan mimosin murni terhadap reproduksi dan produksi ayam petelur. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sarmanu. 1986. Berbahayakah lamtoro gung sebagai bahan pangan. Harian Surabaya Post, 29 April 1986, hal. 6.
- Semali, A; S. Djamal dan T. Manurung. 1983. Produksi hijauan lamtoro (Leucaena leucocephala) pada berbagai tinggi pemotongan. Ilmu dan Peternakan, 1: 85-87.
- Siregar, M.E. dan B.R. Prawiradipura. 1978. Lamtoro sebagai bahan makanan ternak. Lembaran LPP tahun VIII, 1: 1-4.
- Smith, H.A; T.C. Jones and R.D. Hunt. 1972. Veterinary Pathology. 4th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, p. 938.

Sudjana. 1980. Disain dan analisis eksperimen. Penerbit
Transito. Bandung.

Steel, R.G.D. and J.M. Torrie. 1960. Principles and pro
cedures of statistics. McGraw-Hill Book Company,
Inc. New York, Amerika.

Lampiran 1

Tabel 1. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap konsumsi pakan tiga kelompok tikus betina (kg).

| Kontrol (K) | ! | Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| 0,6076 | ! | 0,6572 | ! | 0,7315 |
| 0,6070 | ! | 0,6506 | ! | 0,7587 |
| 0,5862 | ! | 0,6549 | ! | 0,7099 |
| 0,8308 | ! | 0,6649 | ! | 0,7372 |
| 0,6150 | ! | 0,6423 | ! | 0,6993 |
| 0,5581 | ! | 0,7869 | ! | 0,7004 |
| 0,6328 | ! | 0,7086 | ! | 0,6736 |
| 0,6657 | ! | 0,7367 | ! | 0,7562 |
| 0,6625 | ! | 0,6399 | ! | 0,7150 |
| 0,6015 | ! | 0,6954 | ! | - |

| Perlakuan 0% | 10% | 20% | Total | |
|--------------|---------|--------|---------|------------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 0,6367 | 0,6837 | 0,7202 | |
| $\sum X$ | 6,3672 | 6,8374 | 6,4818 | $\sum X_T = 19,6864$ |
| $\sum X^2$ | 4,1054 | 4,6958 | 4,6744 | $\sum X_T^2 = 13,4756$ |
| $(\sum X)^2$ | 40,5412 | 46,750 | 42,0137 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 13,3639$ |
| SD | 0,076 | 0,048 | 0,028 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 13,3973$$

$$1. \text{ JKT} = \sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 13,4756 - 13,3639 = 0,1117$$

$$2. \text{ JKP} = \sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 13,3973 - 13,3639 = 0,0334$$

$$3. \text{ JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,1117 - 0,0334 = 0,0783$$

Lampiran 2

Tabel 1. Sidik ragam konsumsi pakan tikus.

| Sumber variasi | db | JK | KT | F hit | F tabel | |
|----------------|----|-------|-------|-------|---------|------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 |
| Perlakuan | 2 | 0,033 | 0,017 | 5,66* | 3,37 | 5,53 |
| S i s a | 26 | 0,078 | 0,003 | | | |
| T o t a l | 28 | 0,111 | | | | |

* berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Ho: Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

H₁: Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung > F tabel, maka Ho ditolak dan H₁ diterima.

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

n₁ = 10 ; n₂ = 10 dan n₃ = 9

$$K \text{ lawan } L_{10} = \frac{0,684 - 0,637}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,0057) + (9 \times 0,0023)}{18}}} (0,2)$$

$$= 1,662 \text{ tidak nyata } (P > 0,05)$$

$$K \text{ lawan } L_{20} = \frac{0,7202 - 0,6370}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,0057) + (8 \times 0,00078)}{17}}} (0,211)$$

$$= 3,122 \text{ sangat nyata } (P < 0,01)$$

$$L_{10} \text{ lawan } L_{20} = \frac{0,7202 - 0,684}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,0023) + (8 \times 0,00078)}{17}}} (0,211)$$

$$= 1,993 \text{ tidak nyata } (P > 0,05)$$

Lampiran 3

Tabel 3. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat badan tiga kelompok tikus betina (gr).

| Berat awal | | | | ! | Berat akhir | | | | | |
|------------|---|-----------------|---|-----------------|-------------|--------|---|-----------------|---|-----------------|
| K | ! | L ₁₀ | ! | L ₂₀ | ! | K | ! | L ₁₀ | ! | L ₂₀ |
| 190 | ! | 180 | ! | 210 | ! | 212,3 | ! | 204,7 | ! | 203,86 |
| 200 | ! | 180 | ! | 180 | ! | 217,1 | ! | 192,8 | ! | 195,62 |
| 170 | ! | 200 | ! | 180 | ! | 184,15 | ! | 223,45 | ! | 193 |
| 220 | ! | 200 | ! | 160 | ! | 242,62 | ! | 222,45 | ! | 183 |
| 170 | ! | 190 | ! | 200 | ! | 186,8 | ! | 201,2 | ! | 207,35 |
| 160 | ! | 200 | ! | 175 | ! | 171,95 | ! | 236,6 | ! | 200 |
| 190 | ! | 200 | ! | 170 | ! | 204,35 | ! | 230,67 | ! | 183,45 |
| 200 | ! | 190 | ! | 180 | ! | 191,95 | ! | 228,25 | ! | 213,4 |
| 190 | ! | 190 | ! | 210 | ! | 200,9 | ! | 202,3 | ! | 218,45 |
| 210 | ! | 200 | ! | - | ! | 225,7 | ! | 234,95 | ! | - |

Tabel 4. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap pertambahan berat badan tiga kelompok tikus betina, dari Tabel 3 di atas (gr).

| Kontrol (K) | ! | Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| 22,3 | ! | 24,7 | ! | -6,14 |
| 17,1 | ! | 12,8 | ! | 15,62 |
| 14,15 | ! | 23,45 | ! | 13 |
| 22,65 | ! | 22,45 | ! | 23 |
| 16,8 | ! | 11,2 | ! | 7,35 |
| 11,95 | ! | 36,6 | ! | 25 |
| 14,35 | ! | 30,67 | ! | 13,45 |
| -7,05 | ! | 38,25 | ! | 33,4 |
| 10,9 | ! | 12,3 | ! | 8,45 |
| 15,7 | ! | 34,95 | ! | - |

Lampiran 4

| Perlakuan | 0% | 10% | 20% | Total |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-------------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 13,885 | 24,737 | 14,79 | |
| $\sum X$ | 138,85 | 247,37 | 133,13 | $\sum X_T = 519,35$ |
| $\sum X^2$ | 2548,9 | 7069,33 | 3026,55 | $\sum X_T^2 = 12644,78$ |
| $(\sum X)^2$ | 19279,323 | 61191,916 | 17723,596 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 9300,842$ |
| SD | 8,306 | 10,275 | 11,496 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 10016,412$$

$$1. \text{ JKT} = \sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 12644,78 - 9300,842 = 3343,938$$

$$2. \text{ JKP} = \sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 10016,412 - 9300,842 = 715,57$$

$$3. \text{ JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 3343,938 - 715,57 = 2628,368$$

Tabel 5. Sidik ragam pertambahan berat badan.

| Sumber variasi | db | JK | KT | F hit | F tabel |
|----------------|----|----------|---------|-------|---------|
| | | | | 0,05 | 0,01 |
| Perlakuan | 2 | 715,57 | 357,785 | 3,54* | 3,37 |
| Sisa | 26 | 2628,368 | 101,091 | | |
| Total | 28 | 3343,938 | | | |

* berbeda nyata ($P < 0,05$)

H_0 : Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

H_1 : Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung \gg F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Lampiran 5

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

$n_1 = 10$; $n_2 = 10$ dan $n_3 = 9$

$$\begin{aligned} \text{K lawan } L_{10} &= \frac{24,737 - 13,885}{\sqrt{\frac{(9 \times 68,989) + (9 \times 105,576)}{18}}} \quad (0,2) \\ &= 2,597 \quad \text{berbeda nyata } (P < 0,05) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{K lawan } L_{20} &= \frac{14,79 - 13,885}{\sqrt{\frac{(9 \times 68,989) + (8 \times 132,158)}{17}}} \quad (0,2111) \\ &= 0,198 \quad \text{tidak berbeda nyata } (P > 0,05) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} L_{10} \text{ lawan } L_{20} &= \frac{24,737 - 14,79}{\sqrt{\frac{(9 \times 105,576) + (8 \times 132,158)}{17}}} \quad (0,211) \\ &= 1,993 \quad \text{tidak berbeda nyata } (P > 0,05) \end{aligned}$$

Lampiran 6

Tabel 6. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap berat ovarium tiga kelompok tikus betina (mg).

| Kontrol (K) | ! | Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| 56 | ! | 44 | ! | 38 |
| 58,5 | ! | 44 | ! | 37,5 |
| 47 | ! | 59 | ! | 40 |
| 51 | ! | 58 | ! | 25 |
| 46 | ! | 39,5 | ! | 44,5 |
| 44,5 | ! | 40 | ! | 39,5 |
| 50,5 | ! | 41,5 | ! | 27,5 |
| 47 | ! | 44 | ! | 33 |
| 48 | ! | 48,5 | ! | 31,5 |
| 50 | ! | 45 | ! | - |

| Perlakuan | 0% | 10% | 20% | Total |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-------------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 49,85 | 46,35 | 35,166 | |
| $\sum X$ | 498,5 | 463,5 | 316,5 | $\sum X_T = 1278,5$ |
| $\sum X^2$ | 25027,75 | 21912,75 | 11453,25 | $\sum X_T^2 = 58393,75$ |
| $(\sum X)^2$ | 248502,25 | 214832,25 | 100172,25 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 56364,22$ |
| SD | 4,441 | 6,908 | 6,354 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 57463,7$$

$$1. \text{ JKT} = \sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 58393,75 - 56364,22 = 2029,53$$

$$2. \text{ JKP} = \sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 57463,7 - 56364,22 = 1099,48$$

$$3. \text{ JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 2029,53 - 1099,48 = 930,05$$

Lampiran 7

Tabel 7. Sidik ragam berat ovarium.

| Sumber variasi | !db! | JK | ! | KT | !F hit | ! | $\frac{F \text{ tabel}}{0,05}$ | $0,01$ | |
|----------------|------|----------|--------|----|--------|---|--------------------------------|--------|------|
| Perlakuan | ! 2! | 1099,48! | 549,74 | ! | 15,37* | ! | 3,37 | ! | 5,53 |
| S i s a | !26! | 930,05! | 35,77 | ! | | ! | | ! | |
| T o t a l | !28! | 2029,53! | | | | | | | |

*berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

H_0 : Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung

H_1 : Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung \geq F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

$n_1 = 10$; $n_2 = 10$ dan $n_3 = 9$

$$K \text{ lawan } L_{10} = \frac{49,85 - 46,35}{\sqrt{\frac{(9 \times 19,7225) + (9 \times 47,7205)}{18}}} (0,2)$$

$$= 0,519 \text{ tidak berbeda nyata } (P > 0,05)$$

$$K \text{ lawan } L_{20} = \frac{49,85 - 35,166}{\sqrt{\frac{(9 \times 19,7225) + (8 \times 40,3733)}{17}}} (0,211)$$

$$= 5,89 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01)$$

$$L_{10} \text{ lawan } L_{20} = \frac{46,35 - 35,166}{\sqrt{\frac{(9 \times 47,7205) + (8 \times 40,3733)}{17}}} (0,211)$$

$$= 3,659 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01)$$

Lampiran 8

Tabel 8. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel tersier pada ovarium tiga kelompok tikus betina.

| Kontrol (K) | ! | Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| 3 | ! | 3 | ! | 1 |
| 2,5 | ! | 3 | ! | 2 |
| 2 | ! | 2,2 | ! | 2,6 |
| 2,3 | ! | 3 | ! | 0,75 |
| 2,75 | ! | 1 | ! | 1,3 |
| 3 | ! | 3 | ! | 2,3 |
| 2,75 | ! | 2,6 | ! | 1 |
| 2 | ! | 3 | ! | 1 |
| 3,25 | ! | 1,57 | ! | 1 |
| 3,25 | ! | 2,3 | ! | - |

| Perlakuan | 0% | 10% | 20% | Total |
|--------------|--------|---------|---------|------------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 2,68 | 2,467 | 1,439 | |
| $\sum X$ | 26,8 | 24,67 | 12,95 | $\sum X_T = 64,42$ |
| $\sum X^2$ | 73,79 | 65,355 | 22,303 | $\sum X_T^2 = 161,448$ |
| $(\sum X)^2$ | 718,24 | 608,609 | 167,703 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 143,101$ |
| SD | 0,467 | 0,707 | 0,677 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 151,319$$

$$1. \text{ JKT} = \sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 161,448 - 143,101 = 18,347$$

$$2. \text{ JKP} = \sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 151,319 - 143,101 = 8,218$$

$$3. \text{ JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 18,347 - 8,218 = 10,129$$

Lampiran 9

Tabel 9. Sidik ragam jumlah folikel tersier.

| Sumber variasi | !db! | JK | ! | KT | ! | F hit | ! | $\frac{F \text{ tabel}}{0,05}$ | $0,01$ |
|----------------|------|--------|---|-------|---|--------|---|--------------------------------|--------|
| Perlakuan | ! 2! | 8,218 | ! | 4,109 | ! | 10,56* | ! | 3,37 | 5,53 |
| S i s a | !26! | 10,129 | ! | 0,389 | ! | | ! | | |
| T o t a l | !28! | 18,347 | ! | | ! | | | | |

* berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

H_0 : Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

H_1 : Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung \geq F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

$n_1 = 10$; $n_2 = 10$ dan $n_3 = 9$

$$K \text{ lawan } L_{10} = \frac{2,68 - 2,467}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,218) + (9 \times 0,4998)}{18}}} (0,2)$$

$$= 0,795 \text{ tidak berbeda nyata } (P > 0,05)$$

$$K \text{ lawan } L_{20} = \frac{2,68 - 1,439}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,218) + (8 \times 0,4583)}{17}}} (0,211)$$

$$= 4,694 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01)$$

$$L_{10} \text{ lawan } L_{20} = \frac{2,467 - 1,439}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,4998) + (8 \times 0,4583)}{17}}} (0,211)$$

$$= 3,229 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01)$$

Lampiran 10

Tabel 10. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah korpus luteum pada ovarium tiga kelompok tikus betina.

| Kontrol (K) | ! | Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| 10,67 | ! | 7,2 | ! | 7 |
| 11,2 | ! | 6,4 | ! | 5 |
| 8,67 | ! | 6,8 | ! | 6 |
| 8,4 | ! | 8,5 | ! | 7,1 |
| 11,25 | ! | 6,8 | ! | 6,8 |
| 11,83 | ! | 8,8 | ! | 5,5 |
| 8,9 | ! | 9,8 | ! | 5,6 |
| 9,6 | ! | 7,2 | ! | 6,75 |
| 9,83 | ! | 7,7 | ! | 7 |
| 8,6 | ! | 9,4 | ! | - |

| Perlakuan | 0% | 10% | 20% | Total |
|--------------|----------|---------|----------|--------------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 9,895 | 7,86 | 6,305 | |
| $\sum X$ | 98,95 | 78,6 | 56,75 | $\sum X_T = 234,3$ |
| $\sum X^2$ | 993,488 | 630,5 | 362,823 | $\sum X_T^2 = 1986,8106$ |
| $(\sum X)^2$ | 9791,103 | 6177,96 | 3220,563 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 1892,9824$ |
| SD | 1,264 | 1,188 | 0,789 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 1954,7466$$

$$1. \text{ JKT} = \sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 1986,8106 - 1892,9824 = 93,828$$

$$2. \text{ JKP} = \sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 1954,7466 - 1892,9824 = 61,764$$

$$3. \text{ JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 93,828 - 61,764 = 32,064$$

Lampiran 11

Tabel 11. Sidik ragam jumlah korpus luteum.

| Sumber variasi | !db! | JK | ! | KT | !F hit | ! | $\frac{F \text{ tabel}}{0,05!0,01}$ |
|----------------|------|--------|---|--------|---------|---|-------------------------------------|
| Perlakuan | ! 2! | 61,764 | ! | 30,882 | !25,05* | ! | 3,37!5,53 |
| S i s a | !26! | 32,064 | ! | 1,233 | ! | ! | ! |
| T o t a l | !28! | 93,828 | ! | | | | |

*berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

H_0 : Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

H_1 : Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung $>$ F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

$n_1 = 10$; $n_2 = 10$ dan $n_3 = 9$

$$\begin{aligned} K \text{ lawan } L_{10} &= \frac{9,895 - 7,86}{\sqrt{\frac{(9 \times 1,598) + (9 \times 1,411)}{18}}} (0,2) \\ &= 3,709 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K \text{ lawan } L_{20} &= \frac{9,895 - 6,305}{\sqrt{\frac{(9 \times 1,598) + (8 \times 0,623)}{17}}} (0,211) \\ &= 7,322 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} L_{10} \text{ lawan } L_{20} &= \frac{7,86 - 6,305}{\sqrt{\frac{(9 \times 1,411) + (8 \times 0,623)}{17}}} (0,211) \\ &= 3,319 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01) \end{aligned}$$

Lampiran 12

Tabel 12. Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro gung terhadap jumlah folikel sistik pada ovarium tiga kelompok tikus betina.

| Kontrol (K) | ! | !Perlakuan 10% (L ₁₀) | ! | !Perlakuan 20% (L ₂₀) |
|-------------|---|-----------------------------------|---|-----------------------------------|
| 0,83 | ! | 0,75 | ! | 3,6 |
| 0 | ! | 1 | ! | 1,5 |
| 0 | ! | 1 | ! | 3,3 |
| 1 | ! | 1,9 | ! | 1,5 |
| 0,75 | ! | 1 | ! | 1,83 |
| 1 | ! | 1 | ! | 3 |
| 1 | ! | 1 | ! | 1,4 |
| 1 | ! | 2 | ! | 1,75 |
| 0,8 | ! | 1 | ! | 1,5 |
| 1 | ! | 2 | ! | - |

| Perlakuan | 0% | 10% | 20% | Total |
|--------------|--------|---------|---------|-----------------------------------|
| n | 10 | 10 | 9 | N = 29 |
| \bar{X} | 0,738 | 1,265 | 2,153 | |
| $\sum X$ | 7,38 | 12,65 | 19,38 | $\sum X_T = 39,41$ |
| $\sum X^2$ | 5,8914 | 18,1725 | 47,9714 | $\sum X_T^2 = 72,035$ |
| $(\sum X)^2$ | 54,464 | 160,023 | 375,584 | $\frac{(\sum X_T)^2}{N} = 53,557$ |
| SD | 0,4007 | 0,4911 | 0,8832 | |

$$\sum \frac{(\sum X)^2}{n} = 63,1803$$

- JKT = $\sum X_T^2 - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 72,035 - 53,557 = 18,478$
- JKP = $\sum \frac{(\sum X)^2}{n} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} = 63,1803 - 53,557 = 9,623$
- JKS = JKT - JKP = 18,478 - 9,623 = 8,855

Lampiran 13

Tabel 13. Sidik ragam jumlah folikel sistik.

| Sumber variasi | !db! | JK | ! | KT | !F hit | ! | F tabel |
|----------------|------|--------|---|---------|----------|---|-----------|
| | | | | | | | 0,05!0,01 |
| Perlakuan | ! 2! | 9,623 | ! | 4,812 | !14,128* | ! | 3,37!5,53 |
| S i s a | !26! | 8,855 | ! | 0,3406! | | ! | ! |
| T o t a l | !28! | 18,478 | ! | | | | |

*berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

H_0 : Tidak ada perbedaan antara kontrol dengan perlakuan 10% dan 20% dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

H_1 : Ada perbedaan sekurang-kurangnya sepasang perlakuan dari pemberian tepung daun lamtoro gung.

F hitung \gg F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Untuk membedakan antara sepasang perlakuan dilakukan dengan uji t:

t tabel 0,05 (18) = 2,101 dan t tabel 0,01 (18) = 2,878

t tabel 0,05 (17) = 2,110 dan t tabel 0,01 (17) = 2,898

$n_1 = 10$; $n_2 = 10$ dan $n_3 = 9$

$$K \text{ lawan } L_{10} = \frac{1,265 - 0,738}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,16056) + (9 \times 0,24118)}{18}}} (0,2)$$

$$= 2,629 \text{ berbeda nyata } (P < 0,05)$$

$$K \text{ lawan } L_{20} = \frac{2,153 - 0,738}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,16056) + (8 \times 0,78004)}{17}}} (0,211)$$

$$= 4,581 \text{ berbeda sangat nyata } (P < 0,01)$$

$$L_{10} \text{ lawan } L_{20} = \frac{2,153 - 1,265}{\sqrt{\frac{(9 \times 0,24118) + (8 \times 0,78004)}{17}}} (0,211)$$

$$= 2,748 \text{ berbeda nyata } (P < 0,05)$$

Lampiran 14

Tabel 1. Kandungan protein dan energi metabolis (EM) bahan pakan tikus menurut Anggorodi (1985).

| No. ! | Bahan pakan ! | Protein ! (%) | EM ! (kkal/kg) |
|-------|---------------------------|------------------|-------------------|
| 1. ! | Tepung daun lamtoro gung! | 27 ! | 1818,6 ! |
| 2. ! | Tepung ikan ! | 60 ! | 2970 ! |
| 3. ! | Terigu ! | 12,7 ! | 3071 ! |
| 4. ! | Kacang hijau ! | 23,5 ! | 2330 ! |
| 5. ! | Beras Jagung ! | 8,7 ! | 3430 ! |
| 6. ! | Minyak babi ! | - ! | 8600 ! |
| 7. ! | Premix B ! | - ! | - ! |
| 8. ! | Santoquin ! | - ! | - ! |

Lampiran 15

Cara pembuatan sediaan histologik (Humason, 1967).

Ovarium setelah dicuci dengan larutan NaCl fisiologis berturut-turut dilakukan:

- Fiksasi : - formalin 10%
- Dehidrasi : - alkohol 70% diganti beberapa kali
- alkohol 85%, dua jam
- alkohol 95%, dua jam, dua kali
- alkohol absolut I, dua jam
- alkohol absolut II, satu jam, dua kali
- Penjernihan : - alkohol absolut-xylol (1:1), 30 menit
- xylol, 30 menit, tiga kali
- Infiltrasi : - xylol-parafin cair (1:1) 65° C, 30 menit
- parafin cair 65° C, 30 menit, tiga kali
- Pembungkusan : - dicetak, didinginkan 24 jam
- Pemotongan : - dikepris menjadi cetakan yang rapi
- Penyayatan : - penyayatan dengan mikrotom, tebal sayatan delapan mikron
- Perlekatan : - perlekatan sayatan pada kaca sediaan dengan perekat campuran asam cuka:albumin:aquadestilata=1:1:5
- Deparafinasi : - xylol, satu menit, dua kali
- alkohol absolut, satu menit, dua kali
- alkohol 95%, satu menit, dua kali
- alkohol 85%, satu menit
- alkohol 70%, satu menit
- alkohol 50%, satu menit
- Hidrasi : - aquadestilata, 10 menit
- Pewarnaan : - hematoksilin, lima menit
- air leding, 5-10 menit
- eosin 1%, satu menit
- air leding, beberapa detik

Lampiran 16

- Dehidrasi : - alkohol 70%, beberapa detik
- alkohol 85%, beberapa detik
- alkohol 95%, satu menit, dua kali
- alkohol absolut, satu menit, dua kali
- Penjernihan : - xylol, satu menit, dua kali
- Penutupan : - diberi satu tetes balsam kanada, tutup dengan kaca penutup, biarkan kering pada suhu kamar dan setelah kering siap diperiksa dengan mikroskop



21 OCT 1988

25 NOV 1988

26 AUG 1991

2 - OCT 1991

5 OCT 1992

10 FEB 1993

23 SEP 1993

27 MAR 1996

6 JUN 1997

25 JUN 1997

9 JUL 1997

14 SEP 2000

08 DEC 2000

07 FEB 2001

30 JUL 2001