

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN PERASAN KULIT SINGKONG
(*Manihot esculenta crantz*) PERORAL TERHADAP JUMLAH
SEL PIRAMID DAN PURKINJE YANG MENGALAMI
DEGENERASI INTI PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)



OLEH :

SRI SAEBANI

KLATEN - JAWA TENGAH

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8**

PENGARUH PEMBERIAN PERASAN KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*
crantz) PERORAL TERHADAP JUMLAH SEL PIRAMID DAN PURKINJE
YANG MENGALAMI DEGENERASI INTI
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjan Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Air Langga

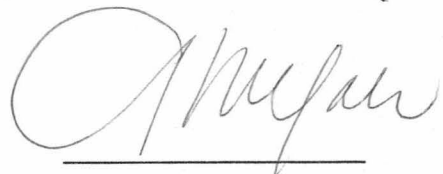
OLEH

SRI SAEBANI
069311972

Menyetujui
Komisi Pembimbing



(Dr. Bambang Poernomo, Ms. Drh.)
Pembimbing Pertama

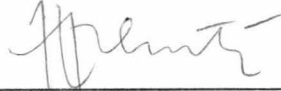


(Drh. Ajik Azmijah, Su.)
Pembimbing Kedua

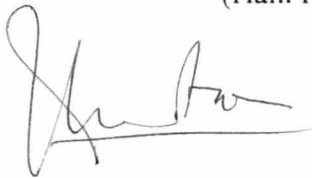
Setelah mempelajari dan menguji dengan seksama, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitas dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran hewan.

Menyetujui

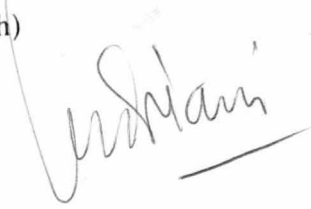
Panitia penguji



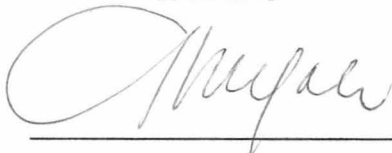
(Hani Plumeriastuti, M.kes, Drh)
Ketua



(Eka Pramytha H., M.Kes, Drh)
sekretaris



(Indriani Karjanto, M.Kes, Drh)
anggota



(Ajik Azmijah, Su, Drh)

Surabaya, 29 Desember 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Air Langga

Dekan



(Dr. Ismudiono, Ms, Drh)

PENGARUH PEMBERIAN PERASAN KULIT SINGKONG (*Manihotes culenta crantz*) PERORAL TERHADAP JUMLAH SEL PIRAMID DAN PURKINJE YANG MENGALAMI DEGENERASI INTI PADA TIKUS PUTIH(*Rattus norvegicus*)

SRI SAEBANI

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan berbagai tingkatan dosis terhadap jumlah sel piramid dan sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Sejumlah 24 ekor tikus putih jantan dengan berat badan rata-rata 200 gram sebagai hewan percobaan dalam penelitian ini dibagi dalam empat kelompok perlakuan yang masing masing terdiri dari enam ulangan. Pemberian perlakuan peroral dengan *stomach tube* sekali dalam sehari selama 25 hari, adapun pemberiannya sebagai berikut: kelompok perlakuan (P0) sebagai kontrol tikus putih diberi akuades peroral sebanyak 2 ml, kelompok perlakuan (P1),(P2) dan (P3) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 0,5 ml, 1 ml dan 2 ml (masing-masing mengandung 0,106 mg CN; 0,212 mg CN dan 0,424 mg CN). Diakhir percobaan semua tikus putih dikorbankan guna diambil organ otak dan dibuat preparat histopatologi.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis dengan uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan uji Z bila terdapat perbedaan yang bermakna.

Data hasil pemeriksaan histopatologi yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis dengan uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida memberikan hasil berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) untuk sel piramid dan berbeda nyata ($0,05 \leq p \leq 0,01$) untuk sel purkinje terhadap jumlah sel yang mengalami degenerasi inti dari keempat perlakuan yang diberikan. Sebagai uji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan dari masing-masing perlakuan tersebut dilakukan uji Z, dari perhitungan uji Z menunjukkan bahwa antara kelompok perlakuan kontrol (P0) dengan kelompok perlakuan (P3) terdapat perbedaan yang sangat nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan (P2).

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat hidayah dan kekuatan sehingga penulis berhasil menyelesaikan penyusunan makalah dengan judul " Pengaruh Pemberian Perasan Kulit singkong (*Manihot esculenta crantz*) peroral Terhadap Perubahan Jumlah Sel Piramid dan Sel Purkinje yang Mengalami Degenerasi Inti pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)".

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Bapak Dr. Bambang Poernomo, Ms.,Drh. Selaku pembimbing pertama dan Ibu Ajik Azmijah, Su.,Drh. Selaku pembimbing kedua atas segala bimbingan, nasehat dan petunjuk dalam penyusunan makalah ini.

Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Air Langga yang telah memberikan bantuan berupa moral maupun materi serta kesempatan kepada penulis.

Punulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Siti dan semua pihak yang telah membantu dalam pembuatan prepat histopatologi, kepada seluruh staf laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Surabaya yang telah membantu dalam pemeriksaan sianida dari perasan kulit singkong serta kepada seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan atas bekal ilmu yang telah diberikan.

Kepada Bapak, Ibu dan semua keluarga yang tercinta, keluarga di Karang Menjangan Buk Ni, Candra dan tak terlupa yang tersayang di Mojo, serta semua pihak yang telah tulus ikhlas dan penuh rasa kasih memberikan dorongan semangat,

doa dan segala pengorbanan, penulis mempersembahkan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan ini jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap semoga makalah ini mendapat ridho Allah SWT dan hasilnya dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan

Surabaya, oktober 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Landasan Teori	4
1.5 Hipotesis Penelitian	5
1.6 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Singkong (ketela pohon)	6
2.1.1 Morfologi dan Habitat.....	6
2.1.2 Kandungan Sianida Singkong	7
2.2 Sianogenik Glikosida dan Asam Sianida.	8
2.2.1 Sianogenik Glikosida	8
2.2.2 Mekanisme Kerja Asam Sianida.....	10
2.2.3 Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Detoksikasi Sianida.....	13
2.2.4 Gejala Klinis Keracuna Sianida.....	14
2.2.5 Pengobatan dan Antidot Keracunan Sianida.....	15
2.3 Tinjauan Otak	16
2.3.1 Hipoksia Otak dan <i>Cyanide Encephalopathy</i>	16
2.3.2 Tinjauan Sel Piramid dan Sel Purkinje.	18

BAB III MATERI DAN METODE	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Materi Penelitian.....	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat-alat Penelitian.....	20
3.2.3 Hewan Percobaan	21
3.3 Metode Penelitian.....	21
3.4 Peubah Yang Diamati.....	22
3.5 Rancangan penelitian dan Analisis Data	23
BAB IV HASIL PENELITIAN	25
BAB V PEMBAHASAN	27
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	32
6.1 Kesimpulan	32
6.2 Saran	32
RINGKASAN	33
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Nilai rank dan skor histopatologi jumlah sel piramid yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasaan kulit singkong...	26
2	Nilai rank dan skor histopatologi jumlah sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasaan kulit singkong...	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Penghitungan hasil pemeriksaan histopatologi sel piramid ...	38
2	Penghitungan hasil pemeriksaan histopatologi sel purkinje...	42
3	Pengetesan kandungan sianida kulit singkong	46
4	Pengitungan dosis perlakuan	47
5	Prosedur pembuatan preparat histopatologi	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 Gambar sel purkinje dalam serebelum tikus putih kontrol dengan pembesaran 400 kali	48
2 Gambar sel piramid dalam serebrum tikus putih kontrol dengan pembesaran 400 kali	48
3 Gambar sel purkinje dalam serebelum tikus putih yang diberi perasan kulit singkong dengan pembesaran 400 kali	49
4 Gambaran sel piramid dalam serebrum tikus putih yang diberi pererasan kulit singkong dengan pembesaran 400 kali	49

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sianida merupakan salah satu racun yang sering terkandung dalam tumbuhan. Sianida dalam tumbuhan dalam bentuk sianida bebas atau yang lebih banyak dalam bentuk sianida yang terikat dalam gula (sianogenik glikosida) (Clarke dan Clarke, 1970).

Banyaknya tanaman sianogenik glikosida sangat dimungkinkan terjadinya keracunan akibat mengkonsumsi tanaman tersebut. Frandson (1992) berpendapat bahwa keracunan sianida dapat terjadi apabila sapi memakan sorgum (*cantel*) yang *prosted* atau *sturted*. Keracunan sorgum juga dikemukakan oleh Howard (1986) keracunan sianogenik glikosida ini memiliki ciri yang unik pada kuda dengan adanya paralisa kandung kemih dan ataksia yang disebut sebagai *shorgum cystitis ataxia syndrom*. Kejadian ini berhubungan dengan lesi pada *spinal cord* yang disebabkan asam sianida (HCN) yang dibebaskan dari glikosida sianogenik bereaksi dengan cistein dan menghasilkan prekursor dipeptida yang menunjukkan hasil mirip neuropatologi.

Menurut Lubis (1983) daun singkong sangat digemari oleh ternak ruminansia terutama kambing dan biri-biri karena mengandung zat-zat makanan yang dibutuhkan oleh ternak, tetapi perlu diperhatikan jumlah yang diberikan dan cara menghilangkan sianidanya agar tidak mabuk atau menimbulkan kematian.

Sianogenik glikosida dalam tanaman diantaranya didapat dalam bentuk amigdalin yang merupakan glikosida yang berasal dari pala pahit, aprikot dan pear. Dhurin adalah glikosida dari shorgum millet dan linamarin merupakan glikosida dari biji line, kacang-kacangan dan singkong (Sediaoetama, 1976)

Singkong (*Manihot esculenta crantz*) termasuk salah satu tumbuhan sianogenik glikosida yang dekat dengan kehidupan masyarakat. Singkong dikeringkan jadi gaplek sebagai lumbung makanan di waktu paceklik, direbus untuk dimakan, dibiarkan tumbuh untuk diambil daunnya, dibuat tape atau diiris-iris digoreng menjadi kripik (Heyne, 1987). Tetapi perlu diperhatikan pemanfaatannya karena seluruh bagian tanaman ini mengandung suatu glikosida yang disebut linamarin dan suatu enzim linase yang saling berpengaruh menghasilkan asam biru (HCN). Bagian terbesar dari glikosida ini terdapat dibagian kulit dari umbi akarnya. Kandungan sianida dalam umbi akar berbeda-beda, hal ini tergantung dari kondisi penanaman dan varietas tanaman. Kasus -kasus keracunan singkong tidak jarang dilaporkan, karena lapisan kulit singkong mengandung 0,0145 HCN dari beratnya. Ini berarti kira-kira dua ons dari lapisan kulitnya mengandung suatu dosis yang mematikan anak domba (Sediaoetama, 1976).

Menurut Koeman (1987) keracunan yang berhubungan dengan alam dapat terjadi apabila hewan atau manusia makan tumbuhan beracun, hewan beracun atau mineral beracun dalam tanah. Tanaman pertanian dapat juga menyebabkan keracunan diantaranya singkong. Jika pembuatan makanan dari bahan ini kurang mendapat

perhatian produsen maka konsumen menghadapi resiko keracunan akut atau kronis oleh sianida yang terdapat didalamnya.

Kerusakan otak karena sianida yang disebut *cyanide encephalopathy* telah lama dikemukakan oleh Hirano *et al.* (1967) dari eksperimennya menunjukkan kerusakan pada akson yang berupa *axonal swelling*, *vacuolisis* dan lisisnya sel akson. Eksperimen lain yang dilakukan Levin (1967) menunjukkan garis kepekaan kerusakan pada *corpus callosum* yang berhubungan dengan anatomi pembuluh darah.

Mengingat singkong merupakan tanaman yang erat dengan kehidupan masyarakat namun memiliki kandungan sianida yang tinggi terutama kulitnya, untuk pemanfaatan kulit singkong sebagai pakan ternak perlu penelitian lebih lanjut. Pada kesempatan ini penulis ingin mengemukakan pengaruh pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan berbagai tingkatan dosis terhadap jumlah sel piramid serebrum dan sel purkinje serebelum yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Perumusan Masalah

Sehubungan dengan banyaknya tanaman yang mengandung sianida yang dekat dengan kehidupan masyarakat, hal ini menarik perhatian penulis untuk mengemukakan apakah pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida meningkatkan jumlah sel piramid maupun sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan berbagai tingkatan dosis terhadap jumlah sel piramid dan sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.4 Landasan teori

Sianogenik glikosida yang terkandung dalam tanaman setelah termakan sampai di intestinal akan terurai menjadi glukosa asam sianida dan senyawa keton atau benzaldehid (Osweiler *et al.*, 1985). Setelah terurai sianida dengan cepat diabsorpsi masuk ke dalam darah dan didistribusi ke seluruh tubuh. Di tingkat seluler sianida masuk ke dalam mitokondria menghambat enzim sitokrom oksidase dalam transport elektron dengan cara bereaksi dengan besi ferri (Fe^{3+}). Keadaan ini sangat efektif menghambat oksidasi intra seluler dengan cara menghambat pemindahan oksigen dari darah untuk digunakan oleh mitokondria dengan akibat terjadi seluler hipoksia (Howard, 1986).

Menurut Haschek dan Rousseaux (1991) adanya gangguan transport atau pembebasan oksigen secara akut atau kronis berakibat serius pada sistem saraf pusat. Akibat dari hipoksia karena gangguan transport oksigen terjadi metabolisme anaerob dan menghasilkan asam laktat yang diakumulasi di neuron. Dengan rendahnya pH sitosol dapat mengaktifkan asam fosfat di lisosom dengan akibat terjadi kerusakan karena autokatalisis. Sedangkan

Bernard dan Mancall (1971) berpendapat bahwa sel neuron purkinje dari kortek serebelum sangat sensitif terhadap kekurangan oksigen dan cenderung menunjukkan perubahan awal sebelum bagian lain tampak.

1.5 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan landasan teori tersebut diatas dapat dirumuskan suatu hipotesis sebagai berikut:

H0: tidak ada peningkatan yang nyata dari perlakuan terhadap jumlah sel piramid dan purkinje yang mengalami degenerasi inti.

H1: ada peningkatan yang nyata dari perlakuan terhadap jumlah sel piramid dan purkinje yang mengalami degenerasi inti.

1.6. Manfaat penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dalam pemanfaatan kulit singkong sebagai pakan ternak dalam batas-batas aman bagi kesehatan ternak, disamping itu juga memberikan gambaran pengaruh sianida dari kulit singkong terhadap degenerasi inti pada sel piramid dan sel purkinje dari serebelum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Singkong (Ketela Pohon)

Tanaman singkong yang telah dikenal baik dalam masyarakat termasuk dalam Ordo: *Euphorbiales*, Family: *Euphorbiaceae*, Genus: *Manihot*, Spesies: *Manihot esculenta crantz*. Di Jawa lebih terkenal dengan nama pohong, kaspe, ketela budin, di daerah Sunda dikenal dengan nama kasapen atau singkong, di daerah Madura dikenal dengan nama blandong atau menyok (Heyne, 1987; Van Steenis *et al.*, 1975).

2.1.1 Morfologi dan Habitat

Tinggi tanaman singkong dapat mencapai 1,5 sampai 3 meter, bagian batang kayu yang tumbuh tegak dan beruas-ruas dan warna batangnya agak hijau muda untuk tanaman muda sedang yang berumur tua warnanya putih kelabu atau hijau kelabu, bentuk daun menjari dan pertumbuhan hanya terjadi di daerah yang dekat dengan pucuk tanaman. Setiap tanaman singkong mampu menghasilkan umbi antara 5-10 buah yang memiliki rasa manis. Warna umbi putih atau kekuningan dan warna kulit endodermis putih keunguan (Van Steenis *et al.*, 1975).

Tanaman singkong dapat tumbuh pada dataran rendah sampai dataran dengan ketinggian 1500 m di atas permukaan air laut dan beriklim tropis. Tanaman ini lebih menyukai daerah terbuka yang terkena sinar matahari secara langsung seperti tanah tegalan atau ladang dengan pH tanah antara 5,6-7. Pada jenis tanah yang berair seperti sawah tanaman singkong tidak dapat tumbuh, tetapi pada awal pertumbuhan

relatif memerlukan air, untuk pemanenan dapat dilakukan pada umur antara 10-18 bulan tergantung daerah habitatnya. Kelebihan tanaman singkong dari tanaman pangan yang lain bahwa singkong dapat ditanam pada tanah yang kurang subur atau kering (Van steenis *et al.*, 1975).

2.1.2 Kandungan Sianida Singkong

Penghitungan kandungan sianida secara quatitatif memang bukan masalah yang mudah terutama setelah diketahui banyaknya teknik pengisolasian dan penentuan kandungan sianida. Menurut Cooke (1978) semua itu tergantung dari bagaimana cara menghidrolisis sianogenik glikosida, cara mengisolasi sianida dari mikstura dan cara penentuan sianida itu sendiri.

Kandungan sianida singkong tergantung dari jenisnya. Di Indonesia dikenal dua golongan yaitu jenis manis dan pahit. Pada singkong jenis pahit mempunyai kandungan sianida relatif lebih banyak karena penyebaran racun sianida terdapat diseluruh bagian umbi. Pada singkong jenis pahit bagian dalam maupun kulit akarnya mengandung 0,024 % HCN, sedangkan pada singkong jenis manis bagian kulit akarnya mengandung 0,014 % HCN, sedangkan bagian yang lainnya mengandung 0,004 % HCN (Heyne, 1987).

Menurut Sediaoetama (1976) analisis dari contoh-contoh singkong yang ditanam dipekarangan memperlihatkan bahwa rata-rata lapisan kulitnya mengandung kira-kira 0,1 % HCN dan bagian lainnya dari umbi akarnya mengandung 0,003 %.

2.2 Sianogenik Glikosida dan Asam Sianida

2.2.1 Sianogenik Glikosida

Senyawa sianida yang terdapat dalam tanaman bisa didapat dalam bentuk asam sianida bebas atau yang lebih banyak dalam bentuk senyawa glikosida (sianogenik glikosida). Senyawa ini (sianogenik glikosida) dalam tanaman dapat berbentuk amigdalin, linamarin dan lotaustralin (Redellef, 1970)

Biosintesis glikosida linamarin dalam jaringan tanaman singkong berasal dari hasil sintesis asam amino valin dalam bentuk aglikon yang selanjutnya bereaksi dengan glukosa membentuk linamarin. Jika glikosida linamarin dalam tanaman sianogenik glikosida mengalami hidrolisis karena aktifitas enzim linamarase yang terdiri dari hidrosinitril liase dan β -glukosidase akan dihasilkan glukosa, keton dan asam sianida (Con, 1977). Hal ini serupa pada hidrolisis sianogenik glikosida amigdalin dari pala pahit dengan suatu enzim emulsin yang terdiri dari tiga jenis enzim yaitu: amigdalase, β -glukase dan sianase akan dihasilkan juga glukosa, sianida dan bensaldehid (Sediaoetama, 1976).

Menurut Cooke (1978) pembebasan sianida dalam tanaman singkong dapat terjadi dari tiga komponen yaitu dua komponen sianonogenik glikosida (linamarin dan lotaustralin) setelah berhubungan dengan enzim linamarase yang menghasilkan sianohidrin yang sesuai dan komponen lain berupa sianida bebas (sianida non glikosida). Pemisahan sianida dari sianogenik glikosida mungkin seimbang dengan sianohidrin yang ada (aldehid atau keton). Pemisahan ini seperti pada shorgum

dengan enzim hidrosinitril liase yang mengkatalisis pemisahan aceton sianohidrin. Jika pemisahan ini berjalan lambat mungkin memerlukan kedua enzim tersebut (linamarase dan hidrosinitril liase).

Selama proses pelayuan dan pengolahan tanaman sianogenik glikosida, asam sianida (HCN) dapat dibebaskan sebagai hasil dari perusakan sel tanaman yang diikuti degradasi enzimatik dari glikosida. Hidrolisis dan pelepasan HCN yang cepat hanya terjadi bila struktur sel mengalami kerusakan hal ini karena enzim glukosidase merusak sianogenik glikosida (Osweiler *et al.*, 1985).

Keracunan sianogenik glikosida singkong pada hewan mamalia terjadi karena peranan enzim yang dihasilkan bakteri intestinal dalam membebaskan asam sianida dari glikosida linamarin (Clarke dan Clarke, 1970). Hal serupa dikemukakan Montgomery (1969) asam klorida (HCl) lambung tidak dapat menghidrolisis sianogenik glikosida menjadi bentuk asam sianida tetapi dapat mempengaruhi aktifitas bakteri intestinal dalam menghasilkan enzim hidrolisis.

Keracunan asam sianida pada ruminansia lebih peka dari pada kuda dan babi karena keasaman lambung atau rumen pada kuda dan babi dapat merusak enzim hidrolisa yang dihasilkan oleh bakteri intestinal (Clarke dan Clarke, 1970). Karena keberadaan bakteri intestinal dapat menghasilkan enzim pemecah sianogenik glikosida maka toksisitas tertinggi dari keracunan sianida asal tanaman adalah melalui oral sedangkan pada ingestasi dalam jumlah sedikit selama periode yang lama dari tanaman sianogenik glikosida akan menimbulkan manifestasi utama berupa degenerasi neuron dan kebutaan (Concon, 1988).

Minimum letal dosis sianida pada semua hewan berkisar antara 2 sampai 2,3 mg HCN per kg berat badan yang diberikan secara oral (Clarke dan Clarke 1970).

Menurut Clarke dan Clarke (1970) terjadinya keracunan asam sianida pada hewan tergantung dari faktor endogen dan eksogen. Adapun faktor endogen yang berlangsung dalam tubuh hewan meliputi: pH lambung atau rumen, absorpsi dan detoksikasi asam sianida, kecepatan pembebasan asam sianida dalam saluran pencernaan dan aktifitas bakteri intestinal. Sedangkan faktor eksogen yang berlangsung di dalam jaringan tanaman sianogenik glikosida antara lain: jumlah tanaman yang termakan, konsentrasi asam sianida yang dibebaskan dan jumlah sianida dalam tanaman.

2.2.2 Mekanisme Kerja Asam Sianida

Keracunan sianida bersifat akut menyebabkan histotoksik hipoksia dan secara keseluruhan jaringan mengalami asfiksia. Histotoksik hipoksia adalah keadaan dimana tekanan oksigen dalam pembuluh darah perifer normal atau diatas normal tetapi sel tidak mampu menggunakan oksigen tersebut (Cassaret dan Doull, 1980). Asam sianida yang dibebaskan dalam tubuh dapat bereaksi dengan sejumlah enzim yang mengandung logam (Loomis, 1979). Toksisitas sianida terutama terjadi pada sitokrom oksidase karena radikal CN^- mempunyai daya ikat yang kuat sekali terhadap besi ferri (Fe^{3+}) sitokrom oksidase akibatnya terbentuk ikatan kompleks yang

stabil ferri sianida sitokrom oksidase dan selanjutnya dapat menghambat aktifitas enzim sitokrom oksidase (oettingen, 1958).

Meyes *et al.* (1987) mengatakan bahwa enzim sitokrom oksidase terdapat didalam mitokondria dimana fungsinya berhubungan dengan transport elektron dalam rantai pernafasan yang bertanggungjawab dalam pembentukan ikatan oksigen. Sebagai hasil akhir reaksi terbentuk uap air dan energi dalam bentuk ATP (Adenosin Triphosphat). Enzim sitokrom oksidase mempunyai gugus heme-besi yang dalam keadaan tereduksi sebagai besi ferro (Fe^{2+}) atau teroksidasi sebagai besi ferri (Fe^{3+})

Kestabilan ferri sianida sitokrom oksidase dalam rantai pernafasan dapat menyebabkan oksigen tidak dapat dimanfaatkan lagi untuk proses oksidasi biologi karena katabolisme aerob tergantung pada sistem ini, akibatnya sel-sel dalam jaringan mengalami hipoksia (Meyes *et al.*, 1987; Loomis, 1978).

Tidak digunakannya oksigen oleh sel-sel jaringan akan menyebabkan penguraian oksihemoglobin (HbO_2) menurun akibatnya dalam beberapa waktu konsentrasi oksihemoglobin dalam darah cukup tinggi dan akan memberi warna merah pada mukosa serta kulit (Casarett dan Doull, 1980).

Secara ringkas mekanisme ini dikemukakan oleh Osweiler *et al.* (1985) sianida yang terdapat dalam tubuh dengan cepat bereaksi dengan besi ferri (Fe^{3+}) dalam sitokrom oksidase membentuk kompleks yang stabil dan dipertahankan sehingga transport elektron dalam rantai pernafasan terhenti yang berakibat seluler hipoksia atau sitotoksik anoksia. Hemoglobin tidak membebaskan oksigen pada

sistem transport elektron ini ditunjukkan terlihatnya tanda klinik merah terang pada darah. Enzim sitokrom oksidase terdapat di seluruh jaringan tubuh dengan konsentrasi tertinggi pada otot jantung dan sistem saraf pusat

Hipoksia dalam susunan syaraf pusat menyebabkan depresi pada sistem pusat pernafasan terutama pada bagian pusat medulla bila keadaan berlanjut dapat menyebabkan kematian (Redellef,1970). Sianida dalam darah akan merangsang khemoreseptor karotid bodies dan aortik bodies, rangsangan ini menyebabkan hiperpnoe dan takhikardi dan berlanjut menjadi irreguler, disamping itu kedua rangsangan tersebut dapat meningkatkan aktifitas kortek serebrum yang dapat terlihat sebagai gejala konvulsi (Casarett dan Doull, 1980).

Menurut Jubb *et al.* (1993) efek anoksia tidak hanya pada sistem saraf pusat tetapi di seluruh tubuh dengan tingkat kepekaan berbeda-beda diantara organ maupun sel-sel dalam organ. Sel-sel pada sistem saraf pusat merupakan bagian yang sensitif terhadap anoksia diantaranya terjadi pada sel neuron, oligodendroglia, astroglia dan mikroglia. Daerah kepekaan terhadap anoksia ini tidak sama, hal itu berhubungan dengan kepadatan populasi nueron. Pada kortek serebrum dan sel purkinje merupakan daerah yang paling sensitif. Pada kortek serebrum lapisan neuron lebih dalam lebih sensitif dari pada lapisan superfisial. Tingkatan garis kerusakan berturut-turut antara lain: *hyphothalamus, thalamus, paleocortek* dan *caudat nukleus*.

Menurut Haschek dan Rousseaux (1991) adanya ganggun transport atau pembebasan oksigen secara akut atau kronis dapat berakibat serius pada sistem saraf pusat. Dimana neuron lebih sensitif dari pada sel glia, neuron sedang seperti sel

purkinje lebih sensitif dari pada neuron kecil seperti sel granul. Akibat dari hipoksia terjadi metabolisme anaerob menghasilkan asam laktat yang diakumulasi di neuron. Dengan rendahnya pH sitosol dapat mengaktifkan asam fosfat di lisosom dengan akibat terjadi kerusakan karena autokatalisis.

2.2.3 Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Detoksikasi Sianida

Asam sianida diabsorpsi secara cepat melalui saluran pencernaan dan pernafasan (paru-paru) (Oettingen, 1958). Tanaman mengandung sianogenik glikosida setelah sampai di rumen oleh aktifitas bakteri intestinal akan terhidrolisis menjadi glukosa asam sianida dan senyawa keton atau bensaldehid (osweiler *et al.*, 1985). Lebih lanjut asam sianida diabsorpsi oleh usus dan bersama aliran darah akan menyebar keseluruh jaringan maupun sel. Asam sianida dimetabolisme di dalam sel hati menjadi bentuk thiosianat (SCN) oleh aktifitas enzim rhodanase (thiosulfat tranferase). Enzim rhodanase distribusinya diseluruh jaringan tubuh, tetapi aktifitas terbesar ada didalam hati (Barret *et al.*, 1979). Kecepatan detoksifikasi sianida oleh enzim rhodanase dalam tubuh menurut Mutschler (1991), setiap jam adalah 0,1 mg /kg berat badan. Thiosianat yang terbentuk efek toksiknya berkurang dan segera dikeluarkan melalui urin (Casarett dan Doull, 1980; Redellef, 1970). Dalam jumlah sedikit sianida dikeluarkan paru-paru melalui pernafasan, yang berbau khas menyerupai bitter almond (Redellef, 1970).

Menurut Casarett dan Doull (1980) thiosianat sebagai donor sulfur dapat bereaksi dengan sianmethemoglobin membentuk thiosianat dan ion SO_3^{2-} yang relatif tidak toksik kemudian dikeluarkan lewat urin.

2.2.4 Gejala Klinis Keracunan Sianida

Berdasarkan tingkat keracunan sianida maka gejala klinisnya dibedakan dalam 3 bentuk yaitu: a) perakut b) akut c) kronis

a. Bentuk perakut

Kematian mendadak dapat terjadi dalam 10 sampai 15 menit setelah memakan tanaman sianogenik glikodida tanpa menunjukkan gejala klinis (Clarke dan Clarke, 1970). Atau dapat juga terjadi kematian dalam waktu 2 sampai 3 menit setelah terlihat gejala-gejala mual, muntah-muntah, konvulsi, gelisah, hewan tiba-tiba roboh dan warna mukosa merah terang (Redellef, 1970). Autopsi pada hewan yang mati karena keracunan sianida akan menampilkan perubahan-perubahan antara lain: membran mukosa tampak merah muda karena terjadi peningkatan penguraian oksihemoglobin pada darah, konggesti dan hemorhagi pada paru-paru, ptekie pada bronkial, subepikardial, subendokardial dan hemorhagi pada abomasum maupun intestinal. Pada pembukaan rumen tercium bau-khas *bitter almond* (Clarke dan Clarke, 1970).

b) Bentuk akut

Keracunan akut berlangsung 1 sampai 2 jam, gejala-gejala yang terlihat : hewan mengalami depresi, respirasi dalam dan cepat, tremor pada seluruh otot,

hipertensi, dan takhikardi. Pada stadium akhir hewan roboh diikuti konvulsi, dispnoe, sianosis pada mukosa, pupil dilatasi, lakrimasi, denyut jantung irreguler, denyut nadi lemah dan kecil, sering terjadi urinasi, defekasi dan timpani (Redellef, 1970)

c) Bentuk kronis

Keracunan kronis dari sianida tidak atau jarang dilaporkan, tetapi konsumsi dalam waktu panjang sianogenik glikosida dapat terjadi ataksia pada sapi dan kuda, sistitis, inkontinensi urin, aborsi pada kehamilan, degenerasi dan demyelinasi akson (Jubb *et al.*, 1993).

2.2.5 Pengobatan dan Antidot Keracunan Sianida

Pengobatan keracunan sianida paling baik ditunjukkan untuk mencegah translokasi sianida dari aliran darah ke tempat reseptor. Sehingga penggunaan zat-zat antidot tersebut dapat menyebabkan perubahan sianida menjadi produk yang tidak aktif lagi dan bersifat stabil sebelum masuk tempat reseptornya (Redellef, 1970).

Sianida dapat bereaksi dengan sejumlah enzim yang mengandung logam, terutama dalam ferri sitokrom oksidase dan membentuk suatu senyawa kompleks yang stabil. Prinsip pengobatan keracunan sianida dengan cara mengembangkan pembentukan tambahan sumber-sumber besi dalam bentuk ferri yang dapat membelokkan sianida sebelum bereaksi dengan enzim sitokrom oksidase (Loomis, 1978).

Pemberian tiga gram natrium nitrit dan 15 g natrium thiosulfat dalam 20 ml air secara subkutan, memberikan pengobatan yang memuaskan pada sapi dapat juga digunakan preparat kobalt dalam bentuk kobalt sulfat sebanyak 10,6 mg/kg berat badan (Redellef,1970). Lebih lanjut oettingen (1958) mengatakan bahwa kobalt klorida, garam monosodium dikobalt dari EDTA (Etylen Diamine Tertra Acetic Acid) dan hidrokobalamin dapat digunakan terapi keracunan sianida.

2.3 Tinjauan Otak

2.3.1 Hipoksia otak dan *cyanide encephalopathy*

Otak merupakan organ yang pertama kali dipengarui pada keadaan hipoksia (Ganong, 1973) sedangkan Subronto (1985) berpendapat kekurangan oksigen menyebabkan kematian sel-sel saraf dalam waktu 15 detik. Kekurangan oksigen akan menekan pusat-pusat reflek hingga tanggapan terhadap rangsangan juga akan melambat.

Menurut Resang (1984) perubahan pada sel-sel neuron bila hipoksia kurang dari 10 menit sebelum hewan mati maka sel-sel memperlihatkan perubahan-perubahan regresi seperti *vakuolisis*, keriput dan kerusakan pada bangun periseluler sel. Sedangkan bila hipoksia berlangsung kira-kira 30 menit tetapi kurang dari 60 menit sel-sel mengisut dan menunjukkan *piknomorfi* sedangkan pada sel-sel neuroglia pada keadaan toksik dan anoksemia akan terjadi gliosis

Efek sianida dalam darah akan menginaktifkan enzim sitokrom oksidase dengan akibat sel-sel tidak dapat memanfaatkan oksigen sehingga terjadi sitotoksik

anoksia dengan akibat terjadi kerusakan *cortek gray matter* (neuron dan astrosit), hipokampus, *copora striata* dan *substansia nigra*. Sianida juga cenderung merusak *white metter* terutama *corpus collasum* (Cassaret dan Doull, 1980).

Menurut Jubb *et al.* (1993) gambaran dari sistem saraf pusat dari hewan yang teracuni sianida menunjukkan lesi degenerasi pada otak meliputi *gray matter* (substansia kelabu) maupun *white matter* (substansia putih). Pada *gray matter* terjadi nekrosis sel-sel kortek serebrum, nekrosis kepala dari kaudat nukleus, nekrosis paleokortek, *substansia nigra* dan thalamus. Sedangkan pada *white matter* terjadi oedema. Pada perlakuan tunggal dari tikus menimbulkan lesi utama pada bagian *corpus collasum white matter*. Degenerasi utama terjadi pada *posterior core* dari *collasum*. Hal ini menyangkut perbedaan daerah suplay darah yang diharapkan untuk mengembalikan tenaga pada histotoksik anoksia dari hambatan sitokrom oksidase sianida. Perubahan awal dari lesi *collasum* adalah *axonal swelling*.

Kerusakan myelin yang dihasilkan pada keracunan sianida dalam tikus pada kortek dan subkortek *white matter* yang dianalisis dengan mikrokimia telah dikemukakan oleh Bass (1968) pada tikus yang di injeksi dengan sodium sianida dosis subletal selama 25 hari terjadi kerusakan pada myelin di *white matter* dengan penentuan kimia menunjukkan penurunan 37% *dioxy nucleic acid* (DNA), penurunan 65% cerebrosid dan peningkatan 28% endapan protein. Dari hasil hepotesisnya disimpulkan bahwa keracunan sianida dari tikus menghasilkan hilangnya myelin dan terpecahnya sel-sel glia yang mengikuti hancurnya myelin dan adanya endapan protein sebagai indikasi rusaknya membran neuron.

2.3.2 Tinjauan sel piramid dan sel purkinje

Sel piramid merupakan neuron yang diberi nama berdasarkan bentuk badan selnya. Tiap sel mempunyai sejumlah dendrit. Dendrit yang keluar dari apeks piramid disebut dendrit apikal sedang dendrit yang keluar dari badan sel disebut dendrit basiler (Noback dan Demorest, 1995)

Sel piramid terdapat pada korteks serebrum, tepatnya pada lapisan granuler luar, lapisan piramidal dan lapisan granuler dalam. Pada lapisan granuler luar dendrit dari sel piramid mencapai lamina molecularis sedang akson memasuki *substansia alba*. Pada lapisan piramidalis sel-sel piramidnya berukuran sedang dan besar bercampur dengan sel granuler dan mortinotti. Dendrit apikal dari neuron besar naik sampai lapisan molekularis sedangkan dendrit dari neuron lebih kecil hanya naik sejauh lapisan granularis interna (Sukardi, 1984).

Fungsi dari serebelum secara umum adalah mengatur keseimbangan, mengatur tonus dari otot-otot tubuh dan mengatur aktivitas somatomotorik. Dengan mengetahui serat-serat dan jalurnya rangsangan dalam serebelum akan diketahui pula bagaimana fungsi dari sel purkinje. Jalur perjalanan rangsangan dalam serebelum secara garis besar adalah sebagai berikut: rangsangan dari luar serebelum masuk melalui *climbing fiber* dan *mossy fiber* yang berfungsi sebagai serat afferen. Rangsangan dari *climbing fiber* akan diteruskan sel purkinje kemudian dilanjutkan ke sel granuler, sel golgy, sel stelata, sel basket dan sebagian ada yang menuju nukleus serebellum bagian dalam. Rangsangan berasal dari *mossy fiber* diteruskan ke lapisan granularis dan glomeruli, dan kolateralnya akan meneruskan ke sel basket, sel stelata,

sel golgi dan sel purkinje yang lain. Pada glomeruli ransangan yang datang akan diteruskan ke sel granulaire dan dari sel ini akan dibawa menuju kelapisan molekuler melalui aksornya yang berbentuk T (serat paralel). Ransangan ini akan diterima sel purkinje, sel golgi, sel stelata dan sel basket. Akhirnya sebagai satu-satunya output neuron sel purkinje akan mengeluarkan ransangan yang diterimanya menuju sel-sel neuron di dalam nukleus serebelum bagian dalam yaitu nukleus fastigii, nukleus emboliformes, nukleus globosus dan nukleus dentatus. Sel purkinje secara histologi terletak dalam *substansia grisea* pada serebelum. Pada lapisan ini selain sel purkinje juga ditemukan sel lain yang erat hubungannya dengan fungsi dari sel purkinje diantaranya sel basket, sel stelatum dan sel granulaire. Sel purkinje merupakan sel yang terbesar yang ada di serebelum. Sel ini mempunyai sitoplasma yang jernih dan luas dengan inti yang besar didalamnya terdapat anak inti yang besar pula, dendrit sel purkinje menyebar kearah lapisan luar sedang aksornya berjalan diantara sel granulaire kemudian diliputi selaput myelin menuju daerah medula serebelum. Pada waktu melintasi lapisan granulaire akson ini berhubungan dengan sel-sel granulaire, dikutip dari (Tjatchrisanto,1983).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di rumah saudara kami dengan alamat Karang Menjangan III D/ 22B Surabaya diperkirakan berlangsung selama lima minggu dimulai tanggal 14 Agustus 1998 sampai dengan 17 September 1998. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan dilaboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR. Pemeriksaan kandungan sianida kulit singkong dillakukan di Balai Kesehatan Lingkungan Surabaya jalan Sidoluhur 12 (komplek Indrapura 17) Surabaya .

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : singkong segar berumur 6-7 bulan diperoleh dari desa Mulung kecamatan Driyorejo kabupaten Gresik, pakan ayam "Park G" produksi PT Comfeed, air minum PDAM, aquades steril sebagai pengencer, kloroform untuk anestesi tikus dan formalin 10% sebagai pengawet jaringan.

3.2.2 Alat-alat Penelitian.

Alat-alat yang digunakan meliputi: kandang tikus putih dari bak plastik sebanyak empat buah, bagian atas ditutup kawat anyaman dan bagian dasar diberi

alas sekam padi, blender, beker gelas, *stomach tube*, pot obat, pisau dapur, penyaring teh, mikroskop, timbangan, gunting dan skapel guna membuka kranium dan mengambil otak tikus.

3.2.3 Hewan Percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *wistar* umur empat bulan dengan berat sekitar 200 gram sebanyak 24 ekor

3.3 Metode penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vivo* yaitu dengan perlakuan pada hewan percobaan.

3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Sebelum diberi perlakuan tikus putih diadaptasi dalam kandang tikus selama satu minggu, penimbangan berat badan kemudian dilakukan pemeriksaan kesehatan. Setelah masa adaptasi 24 tikus putih dilakukan pembagian dalam empat kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari enam ekor tikus. Untuk perlakuan (P0) sebagai kontrol yaitu tikus diberi akuades sebanyak 2 ml/ekor/hari, perlakuan (P1) tikus diberi pemberian perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 0,5 ml/ekor/hari (mengandung 0,106 mg CN), perlakuan (P2) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 1ml/ekor/hari

(mengandung 0,212 mg CN), kelompok perlakuan (P3) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 2 ml/ekor/hari (mengandung 0,424 mg CN). Perlakuan diberikan sekali dalam sehari selama 25 hari.

Pemberian perlakuan peroral dilakukan dengan *stomach tube* dan selama penelitian berlangsung tikus diberikan makanan berupa pakan ayam "Park G" dan minuman *ad libitum*.

Pembuatan perasan kulit singkong dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Singkong segar dari kebun dibersihkan dengan cara dicuci
2. Pengambilan kulit singkong dengan cara dikupas dan dihilangkan bagian kulit dermisnya.
3. Kulit endodermis dipotong-potong dan dihancurkan dengan blender hingga diperoleh bentukan halus.
4. Kulit singkong yang telah dihaluskan diperas dan disaring dengan penyaring teh.
5. Diadakan pengenceran empat kali dengan penambahan aquades steril guna mempermudah pemberian perlakuan.

Pada akhir penelitian semua tikus dikorbankan dan diadakan pembukaan bagian kranium, organ otak diambil guna dibuat preparat histopatologi.

3.4 Peubah Yang Diamati

Pengamatan secara mikroskopis terhadap histopatologi organ otak ditunjukkan pada perubahan jumlah sel yang mengalami degenerasi intiberupa piknotis,

karioreksis maupun kariolisis dari sel piramid serebrum maupun sel purkinje dari serebelum dalam 50 sel yang teramati kemudian dimasukkan dalam skoring. Adapun penskoran histopatologi berdasarkan prosentase 50 sel yang teramati adalah sebagai berikut:

Skor 0 jumlah sel yang mengalami degenerasi inti 0%

Skor 1 jumlah sel yang mengalami degenerasi inti 1-15%

Skor 2 jumlah sel yang mengalami degenerasi inti 16-30%

Skor 3 jumlah sel yang mengalami degenerasi inti 31-45%

Skor 4 jumlah sel yang mengalami degenerasi inti 46-60%

3.5 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis dengan Uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan Uji Z bila terdapat perbedaan yang bermakna.

Batasan-batasan:

Sel purkinje yang dihitung adalah sel yang berada diantara lapisan molekular luar dan lapisan granular.

Sel purkinje yang mengalami degenerasi inti yang berupa piknotis, karioreksis maupun kariolisis yang di hitung dalam 50 sel yang teramati.

Sel piramid yang dihitung sel piramid yang mengalami degenerasi inti berupa piknotis, karioreksis dan kariolisis dalam 50 sel yang teramati dengan cara menggeser lapangan pandang dalam mikroskop secara horisontal dan vertikal

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Dari percobaan yang telah dilakukan selama penelitian, dari empat kelompok perlakuan yang terdiri dari perlakuan kontrol (P0) tikus diberi akuades peroral sebanyak 2 ml/ekor/hari, kelompok perlakuan (P1) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 0,5 ml/ekor/hari (mengandung 0,106 mg CN), kelompok perlakuan (P2) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 1 ml/ekor/hari (mengandung 0,212 mg CN) perlakuan (P3) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 2 ml/ekor/hari (mengandung 0,424 mg CN) diperoleh data prosentase perubahan jumlah sel yang mengalami degenerasi inti yang berupa piknotis, karioreksis dan kariolisis dari sel piramid maupun sel purkinje.

Hasil pemeriksaan mikroskopis histopatologi sel piramid dan sel purkinje dari tikus putih terlihat kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan degenerasi inti yang berupa piknotis, karioreksis dan kariolisis dari sel piramid maupun sel purkinje, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi perasan kulit singkong yang mengandung sianida 0,106 mg; 0,212 mg dan 0,424 mg secara mikroskopis menunjukkan perubahan terhadap jumlah sel yang mengalami degenerasi inti dari sel piramid maupun sel purkinje.

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan dinilai menurut skor histopatologi terdapat pada lampiran 1 dan 2. Ringkasan data tersebut terlihat seperti pada tabel berikut:

Tabel 1 Nilai rank dan skor histopatologi sel piramid yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasan kulit singkong

N	kontrol		p1		p2		p3	
	NS	R0	NS	R1	NS	R2	NS	R3
1	0	3,5	2	12	3	19,5	3	19,5
2	0	3,5	1	7,5	3	19,5	4	24
3	0	3,5	2	12	2	12	3	19,5
4	0	3,5	2	12	3	19,5	3	19,5
5	0	3,5	1	7,5	2	12	3	19,5
6	0	3,5	2	12	2	12	3	19,5
R		21		63		94,5		121,5
\bar{x}		3,5		10,5		15,75		20,25
R ²		441		3969		8930,25		14762,25

Tabel 2 Nilai rank dan skor histopatologi sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasan kulit singkong

N	kontrol		p1		p2		p3	
	NS	R0	NS	R1	NS	R2	NS	R3
1	0	3,5	2	12,5	2	12,5	3	20
2	0	3,5	1	7,5	2	12,5	4	24
3	0	3,5	2	12,5	2	12,5	3	20
4	0	3,5	1	7,5	2	12,5	3	20
5	0	3,5	2	12,5	3	20	3	20
6	0	3,5	2	12,5	3	20	3	20
R		21		65		90		124
\bar{x}		3,5		10,85		15		20,67
R ²		441		1225		8100		15375

Keterangan: N = Ulangan R=Rank

NS= Nilai Skor \bar{x} =Rata-rata

Data tabel diatas menunjukkan sampel dengan rank tertinggi adalah sampel yang mengalami kerusakan paling berat, begitu juga dengan nilai skornya. Setelah diadakan perhitungan statistik dengan uji Kruskal Wallis diperoleh hasil $H_{hitung} > H_{tabel}$ (0,01) ini berarti pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida memberikan hasil sangat berbeda nyata ($p < 0,01$) dari keempat perlakuan yang diberikan terhadap jumlah sel piramid yang mengalami degenerasi inti, sedangkan pada sel purkinje diperoleh hasil $H_{hitung} > H_{tabel}$ (0,05) tetapi $< H_{tabel}$ (0,01), ini berarti pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida memberikan hasil yang berbeda nyata ($0,05 \leq p \leq 0,01$) dari keempat perlakuan yang diberikan terhadap jumlah sel purkinje yang mengalami degenerasi inti.

Sebagai uji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan dari masing-masing perlakuan dilakukan uji Z. Dari perhitungan uji Z menunjukkan bahwa antara perlakuan kontrol (P0) dengan perlakuan (P3) terdapat perbedaan yang sangat nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan (P2).

BAB V

PEMBAHASAN

Menurut Hadinoto dan Amir (1987) salah satu ciri dari otak adalah konsumsinya yang tinggi terhadap oksigen dengan aktifitas metabolisme yang umumnya tinggi pula. Pernyataan ini dibuktikan adanya kebutuhan oksigen secara mutlak sebesar 25 % dari seluruh kebutuhan oksigen permenit atau sekitar 46 ml per menit yang sering disebut rasio metabolisme otak atau *cerebral metabolic rate* (CMR O₂). Bagian yang membutuhkan oksigen tertinggi adalah bagian yang paling sensitif terhadap kekurangan oksigen. Bagian tersebut adalah kortek serebrum, serebelum, ganglia basalis dan kolikulus superior. Lebih lanjut Robbins *et al.* (1984) menjelaskan sel-sel neuron rentan terhadap kekurangan oksigen terutama sel piramid dan sel purkinje.

Berdasarkan hasil penelitian, pada perlakuan kontrol yang diberi akuades tidak terjadi perubahan terhadap jumlah sel yang mengalami degenerasi inti sedangkan pada kelompok perlakuan pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida terjadi perubahan yang nyata terhadap jumlah sel yang mengalami degenerasi inti dari sel piramid maupun sel purkinje.

Pada perlakuan kontrol sel piramid dan sel purkinje tampak normal karena penggunaan oksigen dan metabolisme otak berjalan sempurna. Sedangkan pada perlakuan pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida, efek sianida dalam darah sangat poten dalam menghambat transport elektron dengan cara

berikatan dengan besi ferri (Fe^{3+}) dan cenderung membentuk kompleks yang stabil dalam sitokrom oksidase. Akibat yang ditimbulkan hemoglobin tidak mampu membebaskan oksigen dalam transport elektron. Ketidakmampuan oksigen digunakan oleh sel menyebabkan seluler hipoksia atau sitotoksik anoksia (Osweiller *et al.*, 1985).

Pada keadaan hipoksia akan terjadi metabolisme anaerob dimana tiap molekul glukosa akan dipecah menjadi dua molekul piruvat yang selanjutnya menghasilkan dua molekul ATP (Adenosin Triphospat) dan dua molekul asam laktat (Prihadi, 1987). Penumpukan asam laktat hasil metabolisme akan menyebabkan laktat asidosis. Hal ini dijelaskan Hadinoto dan Amir (1987) metabolisme anaerob dari glukosa oleh jaringan otak yang mengalami hipoksia menjurus kearah laktat asidosis serta meningkatnya kerusakan neuron. Sedangkan Haschek dan Roesseaux (1991) berpendapat laktat asidosis akan berakibat penurunan pH sitosol. Keadaan ini akan mengaktifkan asam phospat di lisosom dengan akibat terjadi kerusakan karena autokatalisis. Lebih lanjut Widjaya (1984) mengatakan asidosis jaringan erat hubungannya dengan transport kation dan eksitabilitas neuron disamping itu juga dapat merangsang enzim-enzim di lisosom yang dapat mengakibatkan otolisis jaringan, nekrosis astrosit dan kematian neuron. Laktat asidosis yang menyebabkan otolisisnya jaringan tergantung dari kadar glukosa darah, konsentrasi asam laktat dan umur hewan. Sebagai contoh pada konsentrasi laktat otak kira-kira 20-35 mmol/kg berat otak akan memberikan kerusakan berupa oedema seluler dan lisisnya sel neuron.

Ditinjau dari proses pembentukan energi, jalur metabolisme anaerob tidak begitu efisien dibanding metabolisme aerob, dimana ATP yang dihasilkan hanya 1:18. Meskipun dipacu penyediaan enzim pada jalur glikolisis umpamanya dengan peningkatan suplai glukosa dalam sirkulasi kemampuan maksimal hanya enam kali dan tidak akan sanggup memenuhi kebutuhan energi otak keseluruhan (Hadinoto dan Amir, 1987). Otak dalam keadaan normal membutuhkan oksigen dan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan membran potensial dan gradien elektrokimia neuron serta bertanggungjawab neurokimia atau transmisi sinab. Suplai energi yang kontinyu juga sangat diperlukan untuk mempertahankan integritas organel intra seluler dan membrannya. Bila suplai energi menurun beberapa detik secara menyeluruh akan mengakibatkan fungsi neuron terganggu dan setelah beberapa menit terjadi kerusakan struktural (Iskarno *et al.*, 1987)

Menurut Robbins *et al.* (1984) kerusakan sel purkinje dan sel piramid yang berhubungan dengan kekurangan oksigen disebabkan juga zat toksik berupa asam yang dikeluarkan dari neurotransmitter terutama glutamat dan aspartat. Suatu penelitian dari aksi keduanya menyebabkan kematian sel yang berhubungan dengan pembukaan saluran membran sel sehingga terjadi peningkatan Ca^{2+} di dalam sel. Pernyataan yang sama dikemukakan Hadinoto dan Amir (1987) bahwa transport ion aktif dan permeabilitas membran sel akan terganggu akibat kekurangan oksigen. Hal ini menyebabkan kelainan tekanan osmotik intra seluler serta berubahnya dinamika membran sel. Neuron akan membengkak karena mengalirnya cairan dari ekstra seluler kedalam intra seluler. Akibatnya terjadi kenaikan kadar Ca^{2+} dalam sel,

peningkatan K^+ ekstra sel serta penumpukan produk katabolik berupa asam laktat dan amoniak (NH_4) baik di dalam dan diluar sel. Kematian sel neuron juga erat hubungannya dengan oedema yang dihasilkan.

Hadinoto dan Amir (1987) berpendapat pembentukan bahan perusak seperti prostaglandin, FFA (*Free Fatty Acid*) termasuk asam arakhidonat dengan kadar yang meningkat akibat kekurangan energi mempercepat kematian sel neuron. Hal ini diperjelas oleh Widjaya (1984) bahwa kenaikan konsentrasi kalsium intra sel mengaktifkan membran phosfolipase dengan akibat terjadi kerusakan membran phosfolipid dan pelepasan asam lemak bebas termasuk asam arakhidonat. Kenaikan asam lemak bebas ini dapat menyebabkan pelepasan membran sel, perubahan membran phosfolipid sehingga banyak kalsium dan air masuk dalam sel yang menimbulkan oedema sel-sel otak dan menghambat pekerjaan *oxydatic phosphorylation*, dan mengganggu fungsi mitokondria. Pada hipoksia tak sempurna (dimana terdapat sedikit oksigen) asam arakhidonat yang tertimbun diubah menjadi metabolit prostaglandin yang memperberat kerusakan otak. Adapun metabolit prostaglandin tersebut diantaranya tromboksan dan leukotrin. Tromboksan bekerja sebagai vasokonstriksi dan memacu penggumpalan sehingga memperburuk kerusakan sel otak, sedangkan leukotrin menyebabkan kontraksi otot polos dan menambah permeabilitas membran sel sehingga kalsium dalam sel bertambah banyak dengan akibat terjadi kerusakan pada sel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan.

Berdasarkan hasil penelitian ini bisa ditarik kesimpulan sebagai berikut: pemberian perasan kulit singkong (*Manihot esculenta crantz*) yang telah diencerkan empat kali peroral menyebabkan peningkatan jumlah sel piramid maupun sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih dengan taraf signifikan 5%

Saran

1. Mengingat tingginya kandungan sianida dalam kulit singkong segar sebaiknya peternak tidak memberikan kulit singkong segar yang belum direbus sebagai campuran makanan ternak
2. Sebagai alternatif untuk menghilangkan kandungan sianida dalam kulit singkong harus dilakukan proses pengolahan terlebih dahulu meliputi pencucian dan perendaman kemudian direbus sampai mendidih dan airnya dibuang, atau setidaknya tidaknya diadakan pelayuan, pemanasan atau penjemuran dengan terik matahari terlebih dahulu sebelum diberikan.

Ringkasan

SRI SAEBANI, pengaruh pemberian perasan kulit singkong (*Manihot esculenta crantz*) peroral terhadap jumlah sel piramid dan purkinje yang mengalami degenerasi inti pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibawah bimbingan Dr. Bambang Poernomo, Ms, Drh. sebagai pembimbing pertama dan Drh Ajik Azmijah, Su. sebagai pembimbing kedua.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan berbagai tingkatan dosis terhadap jumlah sel piramid dan sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Sejumlah 24 ekor tikus putih jantan dengan berat badan rata-rata 200 gram sebagai hewan percobaan dalam penelitian ini dibagi dalam empat kelompok perlakuan yang masing masing terdiri dari enam ulangan. Pemberian perlakuan peroral dengan *stomach tube* sekali dalam sehari selama 25 hari, adapun pemberiannya sebagai berikut: kelompok perlakuan (P0) sebagai kontrol tikus putih diberi akuades peroral sebanyak 2 ml, kelompok perlakuan (P1), (P2) dan (P3) tikus diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali sebanyak 0,5 ml, 1ml dan 2ml (masing-masing mengandung 0,106 mg CN; 0,212 mg CN dan 0,424 mgCN). Diakhir percobaan semua tikus putih dikorbankan guna diambil organ otak dan dibuat preparat histopatologi.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis dengan uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan uji Z bila terdapat perbedaan yang bermakna.

Hasil pemeriksaan histopatologi organ otak tikus putih pada kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali secara mikroskopis menunjukkan perubahan yang bermakna terhadap jumlah sel piramid maupun sel purkinje yang mengalami degenerasi inti. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis dengan uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa pemberian perasan kulit singkong memberikan hasil berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) untuk sel piramid dan berbeda nyata ($0.05 \leq p \leq 0.01$) untuk sel purkinje terhadap jumlah sel yang mengalami degenerasi inti dari keempat perlakuan yang diberikan. Sebagai uji lanjut untuk mengetahui perberdaan pengaruh yang diberikan dari masing-masing perlakuan dilakukan uji Z, dari perhitungan uji Z menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok perlakuan (P3) terdapat perbedaan yang sangat nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan (P2).

DAFTAR PUSTAKA

- Barret, M.D., Alexander, J.C. and D.C. Hill. 1978. Effect of Dietary Cyanide on Growth and Thiocyanate Levels in Blood and Urine in Rats. *Nutr. Rep Int.* 18 p: 413-419.
- Bass, N.H. 1968. Pathogenesis of Myelin Lesion in Experimental Cyanide Encephalopathy a Microchemical Study. *Journal Neurology.* Vol 18 hal 167-176.
- Bernard, J.A. and E.L. Mancall. 1971. *Clinical Neurology.* 6th Edition. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Cassarett and Doull's. 1980. *Toxicology The Basic Science of Persons.* Third Edition. Macmillan Publishing Company. New York. Collier Macmillan Canada. Inc and London.
- Clarke, EGC and M.L. Clarke. 1970. *Veterinary Toxicology* 3rd Edition. Billiere Tindall and Cassel. London. Hal 175-177.
- Con, E.E. 1973. Cyanogenetic Glikosida in Toxicants Accuring Naturally in Food. 2nd. National Academic of Science. Washington D.C.
- Concon, J.M. 1988. *Food Toxicology Part Principles and Concept* Marcell Dekkar inc. New York and Basal
- Cook, R.D. 1978. An Enzymatic Assay for The Total Cyanide Content of Cassava (*Manihot esculenta crantz*). *J. sci. Fd. Agric.* Hal 345-352.
- Franson, R.D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak Bagian Ke-2.* Edisi 4. Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Ganong, W.F. 1973. *Review of Medical Physiology.* Terjemahan Aji Dharmo. Fisiologi Kedokteran. Edisi 10. EGC. Jakarta.
- Hadinoto, S. dan D. Amir. 1987. Patofisiologi Iskemik dan Infark Serebri Serta Dasar-dasar Pengelolaanya. Simposium Resusitas Otak. UPF Anestesiologi. Fakultas Kedokteran UNDIP. Semarang. Hal 1-17.
- Haschek, W.M. and C.G. Rousseaux. 1991. *Handbook Toxicologi Pathology.* Academic Press. INC. Harcourt Brace Javanovich.

- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia ke -V. Cetakan I Penerbit Yayasan Sarana Jaya.
- Hirano, A., S. Levine and H.M. Zimmerman. 1967. Experimental Cyanide Encephalopathy in White Matter. *Journal of Neuroathology and Experimental Neurology*. Vol 26. no1-7
- Howard, J.L. 1986. *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Hal 390-341
- Iskarno, R., Beny A.W. dan L. Djoko. 1987. Cidera Kepala Biomekanis dan Patologi Dinamis. Simposium Resusitas Otak. UPF Anestesiologi. Fakultas Kedokteran UNDIP. Semarang
- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and N. Palmer. 1993. *Pathology of Domestic Animal*. Fourth Edition. Academic Press. Sandiego. INC. Harcourt Brace Javonovich.
- Koeman, J.K. 1987. Pengantar Umum Toksikologi. Terjemahan R.H. Yedono. Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Levin, S. 1967. Experimental Cyanide Encephalopathy; Gradients of Susceptibility in Corpus Callosum. *Journal of Neuroathology and Experimental Neurology*. Vol 26. no1-7
- Loomis, T.A. 1978. Toksikologi Dasar Edisi Ketiga Alih Bahasa Drs, Imono Argo Donatus. Apt. Penerbit IKIP Semarang Press.
- Lubis, D.A. 1983. Ilmu Makanan Ternak. Cetakan Kedua. P.T. Pembangunan Jakarta. Hal: 66-76.
- Mayes, P.A., Granner. D.K, Rodwell. V.W., and D.W. Martin. 1987. Oksidasi Biologi Dalam Biokimia Harpers. Ed 20. Diterjemahkan Oleh Tyan Darmawan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Montgomery, R.D. 1969. Cyanogens in Toxik Konstituents of Plant Food Stuffs I.E Linner . Academic Press. New York.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Penerbit ITB Bandung.
- Noback, L.R. and R.J. Demarest. 1995. *The Human Nervous System. Basic Principles of Neurobiology*. 2nd. Terjemahan A. Munandar. Penerbit Buku EGC. Jakarta.

- Oettingen, V.W.F. 1958. Poisoning. 2nd Ed, Lea and Febringer, Philadelphia.
- Osweiler, G.D., T.L. Carson., B.B. William and G.A. Van Gelder. 1985. Klinikal and Diagnostic Veterinary Toxicology. 3rd Ed. Kendal/ Hunt Dubuge Iowa. Hal 455-458.
- Prihadi, R. 1987. Metabolisme Otak. Simposium Resusitas Otak. UPF Anestesiologi. Fakultas Kedokteran UNDIP. Semarang
- Redellef, R.D. 1970. Veterinary Toxicology. 2nd Ed. Lea and Febringer. Philadelphia. Hal 50-59.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi 2. Percetakan Bali
- Robbins, S.L., Vinay, K. and R. S. Cotron. 1984. Robbins Pathologic of Desiase. 4th Edition. W.B. Saunders Company Harcourt Bract Jovanovich. Hal 1402-1403
- Sediaoetama, A.D. 1976. Ilmu Gizi dan Ilmu Diet di Daerah Tropik. Balai Pustaka Jakarta. Hal 397, 551-555.
- Subronto. 1985. Ilmu Penyakit Ternak I. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sukardi, E. 1984. Neuroanatomia Medica. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Tjachrisanto, H. 1983. Pengamatan Radiasi Co 60 Sebesar 100 rad Terhadap Sel-sel Purkinje Pada Fetus Mencit.
- Van steenis, C.G.G.J., Bloembergen, S. Dan P.J. Eyme. 1978. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Cetakan Kedua. Penerbit PT. Pradnya Paramitha. Jakarta Pusat
- Widjaya, D. 1984. Patofisiologi Ischemik dan Infark Otak. Simposium Tatalaksana/ pengobatan Gangguan pembuluh Darah dan Metabolisme Sel Otak. Penyelenggara F.K. UNAIR / R. S. Dr. Sutomo. Surabaya. Hal 32-35.

Lampiran:1 Penghitungan hasil pemeriksaan histopatologi sel piramid

- * Data prosentase jumlah sel piramid yang mengalami degenerasi inti dari 50 sel yang teramati

Ulangan	Perlakuan			
	Kontrol	(P1)	(P2)	(P3)
1	0	20%	36%	44%
2	0	14%	24%	50%
3	0	22%	26%	38%
4	0	16%	34%	44%
5	0	12%	30%	38%
6	0	20%	32%	32%

- * Penentuan peringkat (rank) dan analisis data jumlah sel piramid yang mengalami degenerasi inti pada tikus putih yang diracuni sianida dari perasan singkong.

Perubahan peringkat (rank) diperoleh dari menjumlahkan nilai skor histopatologi dibagi dengan banyaknya derajat kerusakan histopatologi maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Nilai skor histopatologi 0 mempunyai rank:

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

Nilai skor histopatologi 1 mempunyai rank:

$$\frac{7+8}{2} = 7,5$$

Nilai skor histopatologi 2 mempunyai rank:

$$\frac{9+10+11+12+13+14+15}{7} = 12,5$$

Nilai skor histopatologi 3 mempunyai rank:

$$\frac{16+17+18+19+20+21+22+23}{8} = 19,5$$

Nilai skor histopatologi 4 mempunyai rank: $24/1 = 24$

- * Nilai rank dan skor histopatologi berdasarkan prosentase jumlah sel piramid yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasan kulit singkong

N	Kontrol		p1		p2		p3	
	NS	R0	NS	R1	NS	R2	NS	R3
1	0	3,5	2	12	3	19,5	3	19,5
2	0	3,5	1	7,5	3	19,5	4	24
3	0	3,5	2	12	2	12	3	19,5
4	0	3,5	2	12	3	19,5	3	19,5
5	0	3,5	1	7,5	2	12	3	19,5
6	0	3,5	2	12	2	12	3	19,5
$\frac{R}{N}$		21		63		94,5		121,5
$\frac{X}{R^2}$		3,5		10,5		15,75		20,25
R^2		441		3969		8930,25		14762,25

$$\begin{aligned}
 H \text{ hit} &= \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N-1) \\
 &= \frac{12}{24(24+1)} \frac{21^2 + 63^2 + 94,5^2 + 121,5^2}{6} - 3(24+1) \\
 &= 93,672 - 75 \\
 &= 18,672
 \end{aligned}$$

Karena dalam data terdapat angka kembar maka H hitung diatas dimasukan dalam H hitung terkoreksi:

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

$T = t^3 - t \longrightarrow t =$ banyaknya pengamatan nilai yang sama dalam kelompok skor yang berangka sama

Nilai Tdi peroleh dari:

$$T_0 = 6^3 - 6$$

$$T_1 = 2^3 - 2$$

$$T_2 = 7^3 - 7$$

$$T_4 = 8^3 - 8$$

$$\begin{array}{r}
 \text{-----} \\
 + \\
 1056
 \end{array}$$

$$\begin{aligned}
 H \text{ hitung terkoreksi} &= \frac{H \text{ hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}} \\
 &= \frac{18,672}{1 - \frac{1056}{24^3 - 24}} \\
 &= 18,672 / 0,923 \\
 &= 20,219
 \end{aligned}$$

untuk derajat bebas (db) = 3

H tabel (0,05) = 7,82

H tabel (0,01) = 11,34

H hitung > H tabel (0,01), maka terdapat perbedaan yang sangat nyata dari perlakuan yang diberikan.

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

$$|R_i - R_j| = Z \sqrt{\frac{k[24(N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6N(N-1)}}$$

$$Z(0,05) = \frac{\alpha}{K(k-1)} = \frac{0,05}{4(3)} = 0,0042 = 2,62$$

$$Z(0,01) = \frac{\alpha}{K(k-1)} = \frac{0,01}{4(3)} = 0,00082 = 3,16$$

Perhitungan uji Z (0,05)

$$= 2,62 \sqrt{\frac{4[24(24^2 - 1) - (1056)]}{6 \times 24(24 - 1)}}$$

$$= 2,62 \sqrt{15,42}$$

$$= 2,62 \times 3,927 = 10,367$$

Perhitungan uji Z (0,01)

$$= 3,16 \sqrt{\frac{4[24(24^2 - 1) - (1056)]}{6 \times 24(24 - 1)}}$$

$$= 3,16 \times 3,927$$

$$= 12,402$$

* Perbedaan rata-rata rank nilai skor histopatologi sel piramid tikus putih terhadap pengaruh pemberian perasan kulit singkong:

Rank	Rata-rata	Beda			Uji Z	
		X-R0	X-R1	X-R2	0,05	0,01
R3	20,25	16,75*	9,75	4,5	10,35	12,409
R2	15,75	12,25	5,25			
R1	10,5	7				
R0	3,5					

Dari rata-rata rank nilai skor histopatologi sel piramid dan uji Z diperoleh hasil bahwa antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok perlakuan (P3) terdapat perbedaan yang sangat nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan (P2) dan (P1).

Lampiran: 2 Penghitungan hasil pemeriksaan histopatologi sel purkinje

- * Data prosentase jumlah sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari 50 sel yang teramati

Ulangan	Perlakuan			
	Kontrol	(P1)	(P2)	(P3)
1	0	20%	32%	38%
2	0	14%	30%	46%
3	0	16%	28%	32%
4	0	14%	26%	32%
5	0	20%	34%	32%
6	0	20%	32%	40%

- * Penentuan peringkat (rank) dan analisis data sel purkinje yang mengalami degenerasi inti pada tikus putih yang diracuni sianida dari perasan singkong.

Perubahan peringkat (rank) diperoleh dari menjumlahkan nilai skor histopatologi dibagi dengan banyaknya derajat kerusakan histopatologi maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Nilai skor histopatologi 0 mempunyai rank:

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

Nilai skor histopatologi 1 mempunyai rank:

$$\frac{7+8}{2} = 7,5$$

Nilai skor histopatologi 2 mempunyai rank:

$$\frac{9+10+11+12+13+14+15+16}{8} = 12,5$$

Nilai skor histopatologi 3 mempunyai rank:

$$\frac{17+18+19+20+21+22+23}{7} = 20$$

Nilai skor histopatologi 4 mempunyai rank:

$$24/1 = 24$$

* Nilai rank dan skor histopatologi sel purkinje yang mengalami degenerasi inti dari tikus putih yang diberi perasan kulit singkong

N	Kontrol		p1		p2		p3	
	NS	R0	NS	R1	NS	R2	NS	R3
1	0	3,5	2	12,5	2	12,5	3	20
2	0	3,5	1	7,5	2	12,5	4	24
3	0	3,5	2	12,5	2	12,5	3	20
4	0	3,5	1	7,5	2	12,5	3	20
5	0	3,5	2	12,5	3	20	3	20
6	0	3,5	2	12,5	3	20	3	20
ΣR		21		65		90		124
ΣX		3,5		10,85		15		20,67
ΣR^2		441		1225		8100		15375

$$H_{\text{hit}} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N-1)$$

$$= \frac{12}{24(24+1)} \frac{21^2 + 65^2 + 90^2 + 124^2}{6} - 3(24+1)$$

$$= 83,807 - 75$$

$$= 8,807$$

Karena dalam data terdapat angka kembar maka H hitung diatas dimasukkan dalam H hitung terkoreksi:

$$H_{\text{hitung terkoreksi}} = \frac{H_{\text{hit}}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

$T = t^3 - t \longrightarrow t =$ banyaknya pengamatan nilai yang sama dalam kelompok skor yang berangka sama

Nilai Tdi peroleh dari:

$$T_0 = 6^3 - 6$$

$$T_1 = 2^3 - 2$$

$$T_2 = 8^3 - 8$$

$$T_4 = 7^3 - 7$$

-----+

1056

$$\begin{aligned}
 H \text{ hitung terkoreksi} &= \frac{H \text{ hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}} \\
 &= \frac{8,807}{1 - \frac{1056}{24^3 - 24}} \\
 &= 8,807 / 0,923 \\
 &= 9,534
 \end{aligned}$$

untuk derajat bebas (db) = 3

H tabel (0,05) = 7,82

H tabel (0,01) = 11,34

H hitung > H tabel (0,05) tetapi < H tabel (0,01), maka terdapat perbedaan yang nyata dari perlakuan yang diberikan terhadap degenerasi inti dari sel purkinje.

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

$$|R_i - R_j| = Z \sqrt{\frac{k[24(N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6N(N-1)}}$$

$$Z(0,05) = \frac{\alpha}{K(k-1)} = \frac{0,05}{4(3)} = 0,0042 = 2,62$$

$$Z(0,01) = \frac{\alpha}{K(k-1)} = \frac{0,01}{4(3)} = 0,00082 = 3,16$$

Perhitungan uji Z (0,05)

$$\begin{aligned}
 &= 2,62 \sqrt{\frac{4[24(24^2 - 1) - (1056)]}{6 \times 24(24 - 1)}} \\
 &= 2,62 \sqrt{15,42} \\
 &= 2,62 \times 3,927 = 10,367
 \end{aligned}$$

Perhitungan uji Z (0,01)

$$\begin{aligned}
 &= 3,16 \sqrt{\frac{4[24(24^2 - 1) - (1056)]}{6 \times 24(24 - 1)}} \\
 &= 3,16 \times 3,927 = 12,402
 \end{aligned}$$

* Perbedaan rata-rata rank nilai skor histopatologi sel purkinje tikus putih terhadap pengaruh pemberian perasan kulit singkong :

rank	Rata-rata	Beda			Uji Z	
		X-R0	X-R1	X-R2	0,05	0,01
R3	20,67	17,17*	9,84	5,67	10,37	12,409
R2	15	11,5	4,17			
R1	10,83	7,33				
R0	3,5					

Dari rata-rata rank nilai skor histopatologi sel purkinje dan uji Z diperoleh hasil bahwa antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok perlakuan (P3) terdapat perbedaan yang sangat nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan (P2) dan (P1).



DEPARTEMEN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PPM DAN PLP
BALAI TEKNIK KESEHATAN LINGKUNGAN SURABAYA

ASLI

JL. SIDOLUHUR 12 (INDRAPURA) TELP. (031) 340189 FAX. (031) 340191 SURABAYA, 60175

EMERIKSAAN FISIKA DAN KIMIA

Jenis Air : Air Persan Kulit Singkong
Berasal dari : Kotamadya Surabaya
Diambil Oleh : Sdri. Sri Saebani dari Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlang
Diambil /Diterima Tanggal : 19 Agustus 1998
No. Lab. Asal sampel : 2340. Air perasan kulit singkong.

asil Pengujian :

No	Parameter	Safuan	Nomor Lab. 2340
1.	Sianida (CN)	mg/l	848,03

Kesimpulan : -

Surabaya, 03 September 1998

Mengetahui;
Kepala Balai Tehnik Kesehatan Lingkungan
S u r a b a y a

Balai Tehnik Kesehatan Lingkungan
S u r a b a y a
Koordinator Laboratorium Kimia

Drs. Maryadi Broto S.,MS
NIP. 140093408

Ir. Edy Wahyu Pudjianto
NIP. 140146891

Lampiran 4. Penghitungan Dosis Perlakuan

Dari hasil pengetesan kandungan sianida perasan kulit singkong diperoleh hasil sebesar 848 mg/ L. sedangkan dari tinjauan pustaka diketahui minimal letal dosis sianida untuk semua hewan berkisar 2-2,3 mg/kg berat badan yang diberikan peroral, .sedangkan berat badan rata-rata tikus sebagai hewan coba adalah 200 g maka diperoleh minimal letal dosis untuk tikus perekor adalah sebagai berikut:

$$\frac{2 - 2,3}{1000} \times 200 = 0,4 - 0,46 \text{ mg/ekor}$$

Dari kandungan sianida tersebut untuk memudahkan pemberian perlakuan maka diadakan pengenceran empat kali adapun penghitungannya sebagai berikut:

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$M_1 = \text{kandungan sianida singkong} = 848 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \text{volume perasan singkong}$$

$$V_2 = \text{volume perasan singkong} + \text{pengencer} = 4 \text{ kali volume perasan singkong} = 4 V_1$$

$$\text{Maka } M_1 V_1 = M_2 V_2$$

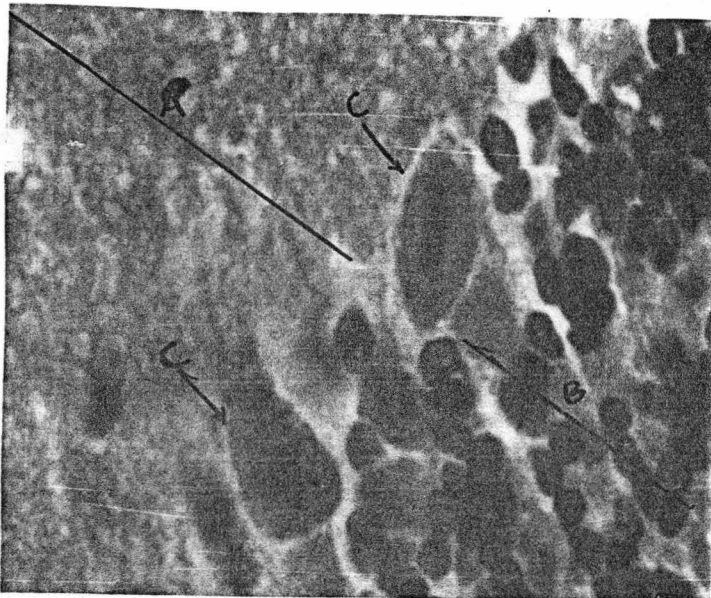
$$848 V_1 = 4 V_1 M_2$$

$$M_2 = \frac{848 V_1}{4 V_1} = 212 \text{ mg/L}$$

Ini berarti tiap 1ml perasan kulit singkong yang telah di encerkan empat kali mengandung 0,212 mg cianida.

Pada perlakuan P1, P2 dan P3 diberikan = 0,5 ml, 1ml dan 2 ml perasan kulit singkong yang telah diencerkan empat kali masing-masing mengandung sianida sebesar 0,106 mg ; 0,212 mg dan 0, 424 mg

Catatan: kulit singkong diperoleh dari singkong segar di desa Mulung, Driyorejo, Gresik dengan jenis Manihot esculenta crantz berumur 6-7 bulan. Perasan kulit singkong diperoleh dengan cara di blender dan disaring dengan penyaring teh. Dari 100 g kulit singkong segar diperoleh kira-kira 10-15 ml air perasan kulit singkong ini berarti dalam 100 gram kulit singkong mengandung 8,48-12,72 mg sianida. jika di konfersi dengan perlakuan terkecil berarti dapat untuk perlakuan pada hewan dengan berat berkisar 16-24 kg dan akan menimbulkan efek yang sama jika lama perlakuan yang diberikansama.



Keterangan:

A. lapisan molekuler

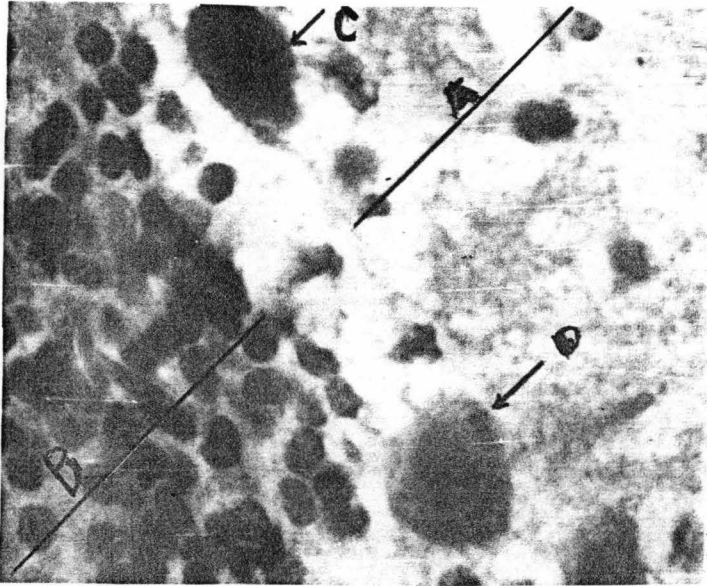
B. lapisan granuler

C. sel purkinje normal

Gambar 1. Gambar sel purkinje dalam serebelum tikus putih kontrol dengan pembesaran 400 kali.



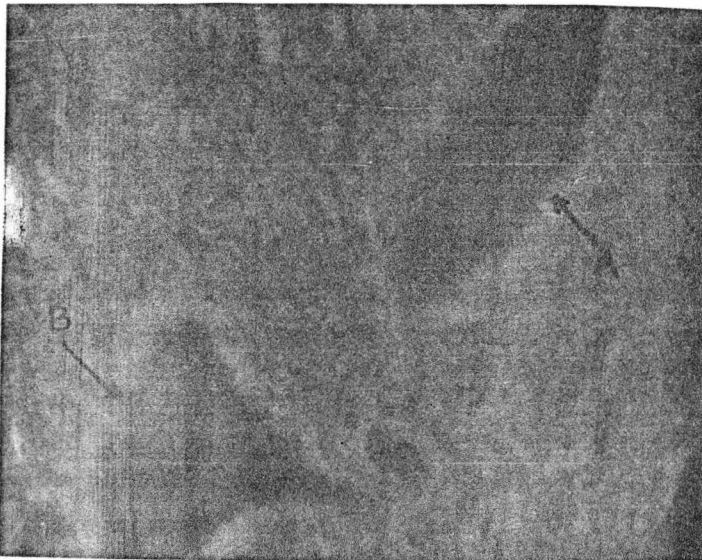
Gambar 2. Gambar sel piramid dalam kortek serebrum tikus putih kontrol dengan pembesaran 400 kali



Keterangan:

- A. lapisan molekuler
- B. Lapisan granuler
- C. sel purkinje normal
- D. sel purkinje degenerasi inti

Gambar 3. Gambar sel purkinje dalam serebelum tikus putih yang diberi perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan pembesaran 400 kali



Keterangan:

- A. sel piramid normal
- B. sel piramid degenerasi inti

Gambar4. Gambar sel piramid dalam kortek serebrum tikus putih yang diberi perasan kulit singkong yang mengandung sianida dengan pembesaran 400 kali

Lampiran 5 : Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dilaboratorium patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Air Langga Surabaya, dengan cara sebagai berikut:

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

a. Fiksasi dan pencucian :

Tujuan: mencegah terjadinya degenerasi post mortem, mematikan kuman atau bakteri, meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam macam zat warna dan menjadikan jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk yang sebenarnya dan mudah dipotong.

Reagen : Formalin 10 %

Cara kerja: segera setelah setelah hewan coba mati diadakan pembukaan kranium organ otak diambil dan dimasukkan kedalam formalin 10 %.

b. Dehidrasi dan clearing

Tujuan : untuk menarik air , membersihkan dan menjernihkan jaringan

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

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

c. Infiltrasi:

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

Reagen : parafin I dan II

Cara kerja : jaringan dimasukkan kedalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukkan kedalam oven selama 30 menit.

d. Pembuatan balok parafin

Tujuan : supaya jaringan mudah dipotong.

Reagen : parafin cair.

Cara kerja : disediakan beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan mencegah lekatnya parafin dan cetakan, kemudian otak yang telah dipotong –potong tadi dimasukkan kedalam dengan pingset dan ditunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan dengan mikrotom

Tujuan : untuk memotong jaringan setipis mungkin agar bisa dilihat dibawah mikroskop.

Cara kerja : pemotongan dilakukan dengan arah memanjang yang bisa menampakkan bagian serebrum dan serebelum dengan ketebalan berkisar empat sampai delapan mikron kemudian dicelupkan air hangat dengan suhu 400°C sampai jaringan mengembang dengan baik kemudian diletakkan pada obyek glass yang sebelumnya diolesi dengan egg albumin, lalu dikeringkan dengan hot plat.

f. Pewarnaan

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

Cara kerja : pewarnaan dilakukan dengan metode haris, yaitu dengan cara jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan dalam xylol I selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, lalu pada alkohol absolut I, II alkohol 96%, 87%, 70% dan air kran selama satu menit.

Selanjutnya dimasukkan dalam zat warna haris selama 5-10 menit, air kran selama 2- 5 menit, acid alkohol 3-10 celupan air kran 4-7 celupan,

amoniak 6 celupan, akuades secukupnya, zat warna eosin selama seperempat menit, lalu dimasukkan kedalam akuades secukupnya.

Kemudian dimasukkan dalam alkohol 70 %, 80%, masing-masing selama setengah menit, dan terakhir dimasukkan dalam xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit, dan selanjutnya dibersihkan dari sisa pewarnaan.

g. Mouting

Merupakan penutupan obyek glass dengan cover glass yang sebelumnya telah ditetesi dengan canada balsem (Samtoro, 1983) setelah pembuatan preparat selesai dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan miskroskop dengan pembesaran 400 kali