

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**HISTOLOGI TESTIS TIKUS (*Rattus norvegicus*) JANTAN YANG DIBERI TEPUNG DAUN
LAMTORO (*Leucaena leucocephala* Lamk. de Wit) HASIL PERENDAMAN**

**TESTIS HISTOLOGY OF ALBINO RATS (*Rattus norvegicus*) FED SOAKED LAMTORO
(*Leucaena leucocephala* Lamk. de Wit) LEAVES MEAL**

A.A. Istri Mas Padmiswari*, Ngurah Intan Wiratmini, I Wayan Kasa

Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali

**Email: maspadmiswari@yahoo.com*

INTISARI

Lamtoro merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 25-35%. Namun, pemanfaatan lamtoro menjadi terbatas karena mengandung zat *antinutrisi* seperti mimosin. Kandungan mimosin dapat diturunkan melalui beberapa metode salah satunya adalah melalui perendaman dalam air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian tepung daun lamoro hasil perendaman (TDLP) terhadap histologi testis tikus jantan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari empat kelompok dengan masing-masing delapan ulangan. Perlakuan berupa pemberian tepung daun lamoro hasil perendaman yang dicampur dengan pelet komersial dengan aras 100% pakan komersial (tanpa TDLP) sebagai kontrol (P0), 92,5% pakan komersial + 7,5% TDLP sebagai perlakuan 1 (P1), 85% pakan komersial + 15% TDLP sebagai perlakuan 2 (P2) dan 77,5% pakan komersial + 22,5% TDLP sebagai perlakuan 3 (P3). Perlakuan diberikan pada tikus jantan selama 30 hari. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah sel spermatogenik. Data hasil penelitian diolah menggunakan program statistik komputer (SPSS 16.0 for Windows) dengan menggunakan uji *One Way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan TDLP dalam ransum tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah sel spermatogenik. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan TDLP hingga aras 22,5% tidak menurunkan jumlah sel spermatogenik.

Kata kunci: tepung daun lamtoro, perendaman, reproduksi jantan, tikus putih

ABSTRACT

Lamtoro is one of the plants that have high protein contents ranging from 25 to 35%. However, it used is restricted due to its anti nutrition factors such as mimosine. The mimosine can be reduced by several methods, one of them is by soaking. This research aims to determine the effect of soaked lamtoro leaf meal (SLLM) on the testis histology of albino rats. The experimental design used within study was a Completely Randomised Design (CRD) with four groups and each group consisted of eight albino rats. The treatments was fed by pellets made from water soaked lamtoro leaf meal (SLLM) combined with commercial feed. The control treatment (P0) was feeding group with commercial feed, the first treatment (P1) was 92,5% commercial feed + 7,5% SLLM, the second treatment (P2) was 85% commercial feed + 15% SLLM and the third treatment (P3) was 77,5% commercial feed + 22,5% SLLM. Treatments was given to albino rats everyday for 30 days. Variables observed measured were amount of spermatogenic cells. Data were analysed with statistic program (SPSS 16.0 for Windows)

with One Way Anova. The result showed that additional of SLLM into commercial feed diet did not significantly difference ($P>0,05$) in amount of spermatogenic cells. It was concluded that the additional amount of SLLM up to 22,5% did not decrease amount of spermatogenic cells.

Keywords: lamtoro leaf meal, soaked, male reproduction, albino rats

PENDAHULUAN

Kendala utama dalam penyediaan hijauan pakan ternak adalah produksinya tidak dapat tetap sepanjang tahun. Pada saat musim penghujan, produksi hijauan makanan ternak akan melimpah, sebaliknya pada saat musim kemarau tingkat produksinya akan rendah, atau bahkan dapat berkurang sama sekali (Hare and Horne., 2004).

Tanaman lamtoro digunakan sebagai salah satu alternatif untuk menutupi kekurangan jumlah maupun mutu hijauan pada musim kemarau. Daun lamtoro memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu mencapai 25-35% berdasarkan bahan kering dibandingkan dengan hijauan lainnya (Gosha and Bandyopadhyay, 2007). Kandungan asam amino pada daun lamtoro hampir sama dengan kandungan asam amino yang terkandung pada tepung ikan (Siswati dkk., 2010).

Pemanfaatan daun lamtoro sebagai pakan ternak perlu dibatasi karena lamtoro mengandung zat anti nutrisi yaitu asam amino non protein yang disebut mimosin. Mimosin dapat menimbulkan keracunan atau gangguan kesehatan apabila dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan terus menerus dalam jangka waktu yang cukup lama (Kurniawan *et al.*, 2014).

Pemberian tepung daun lamtoro pada beberapa jenis ternak juga menimbulkan pengaruh yang merugikan seperti pada babi dapat menimbulkan keterlambatan seksual (Mutayoba *et al.*, 2003), pada kelinci dapat menyebabkan kerontokan rambut serta mortalitas yang tinggi pada kelinci prasapah (Yurmiaty and Suradi., 2007), pada sapi menyebabkan penurunan berat badan, gondok, serta penurunan fertilitas (Radostits *et al.*, 2000), pada kambing dapat menyebabkan abortus, penurunan konsepsi, pembesaran

kelenjar tiroid pada induk dan fetus (Sastry *et al.*, 2008). Selain hewan betina, pemberian tepung daun lamtoro pada kelinci jantan juga menyebabkan penurunan produksi dan kualitas semen (Herbert *et al.*, 2005) serta menyebabkan nekrosis pada tubulus seminiferus kambing dan domba jantan yang diberikan daun lamtoro sebanyak 400 g (Woldemeskel *et al.*, 2001).

Ternak monogastrik tidak memiliki mikroba di dalam lambungnya seperti ternak ruminansia sehingga tidak mampu menurunkan pengaruh negatif mimosin pada lamtoro. Oleh karena itu pemanfaatan daun lamtoro pada pakan ternak monogastrik dibatasi secara kuantitatif yaitu tidak lebih dari 10 % (Chanchay dan Poosaran, 2009).

Upaya penurunan kadar mimosin daun lamtoro dapat dilakukan dengan beberapa pendekatan, salah satunya adalah perendaman dengan air. Perendaman daun lamtoro dengan air selama 12 jam pada suhu 18-19°C dapat mereduksi mimosin sebesar 52,24% (Laconi dan Widiyastuti, 2010). Cara ini dianggap paling efektif untuk mereduksi mimosin pada daun lamtoro. Pemanfaatan daun lamtoro yang direndam selama 12 jam juga tidak menghambat pertumbuhan fetus tikus prenatal (Wiratmini *et al.*, 2014). Namun, sampai saat ini pengaruh pemberian daun lamtoro hasil perendaman terhadap histologi testis belum ada yang melaporkannya. Oleh karena itu, penelitian mengenai histologi testis pada hewan jantan yang diberi tepung daun lamtoro hasil perendaman perlu dilakukan. Dalam penelitian ini digunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan sebagai hewan coba.

BAHAN DAN METODE

Daun lamtoro yang diperoleh dari daerah Bena, Denpasar, Bali direndam dalam air PAM selama 12 jam (untuk 1 kg daun direndam

dengan 15 liter air). Daun lamtoro kemudian disaring dan dikering anginkan sampai mencapai berat kering yang konstan. Daun lamtoro yang sudah kering digiling dengan menggunakan *hammer meal* sehingga diperoleh tepung daun lamtoro (Wiratmini, 2014).

Pembuatan pakan dilakukan dengan cara pakan komersial (pakan babi CP 551) digiling sampai halus kemudian ditambahkan tepung daun lamtoro sesuai aras perlakuan (P1, P2, P3). Pencampuran pakan komersial dan tepung dan lamtoro dilakukan dengan menggunakan *mixer* sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam mesin pelet. Pelet yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60⁰ C (Wiratmini, 2014).

Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus jantan, tiap perlakuan terdiri dari 8 ekor. Tikus jantan yang digunakan adalah tikus jantan dewasa, umur 8-12 minggu, berat badan 250-300 gram. Aras yang digunakan pada penelitian ini adalah 100% pakan komersial (tanpa TDLP) sebagai kontrol (P0), 92,5% pakan komersial + 7,5% TDLP sebagai perlakuan 1 (P1), 85% pakan komersial + 15% TDLP sebagai perlakuan 2 (P2) dan 77,5% pakan komersial + 22,5% TDLP sebagai perlakuan 3 (P3). Ransum diberikan pada tikus jantan pada pagi hari sebanyak 15 gram/hari selama 30 hari.

Tikus dibedah dan diambil organ testisnya pada hari ke-31. Pembuatan sayatan histologi testis dilakukan dengan menggunakan metode parafin. Larutan fiksatif yang digunakan adalah formalin buffer 10% dan bouin. Pewarnaan dengan menggunakan Hematoxylin Ehrlich-Eosin. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel spermatogonium, spermatosit dan spermatid.

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan program statistik komputer (SPSS 22.0 for Windows). Untuk melihat adanya pengaruh akibat perlakuan dilakukan dengan uji *One Way Anova*. Apabila terdapat hasil yang bermakna dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* dengan derajat kepercayaan yang dipakai adalah 5% (P < 0,05).

HASIL

Analisis Stastistik Jumlah Sel Spermatogenik

Pengaruh pemberian tepung daun lamtoro hasil perendaman (TDLP) terhadap histologi testis tikus jantan dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis statistik jumlah sel spermatogenik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata (P>0,05) antara kontrol dan perlakuan.

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Sel Spermatogenik Tikus Jantan Yang Diberi Perlakuan Tepung Daun Lamtoro Hasil Perendaman

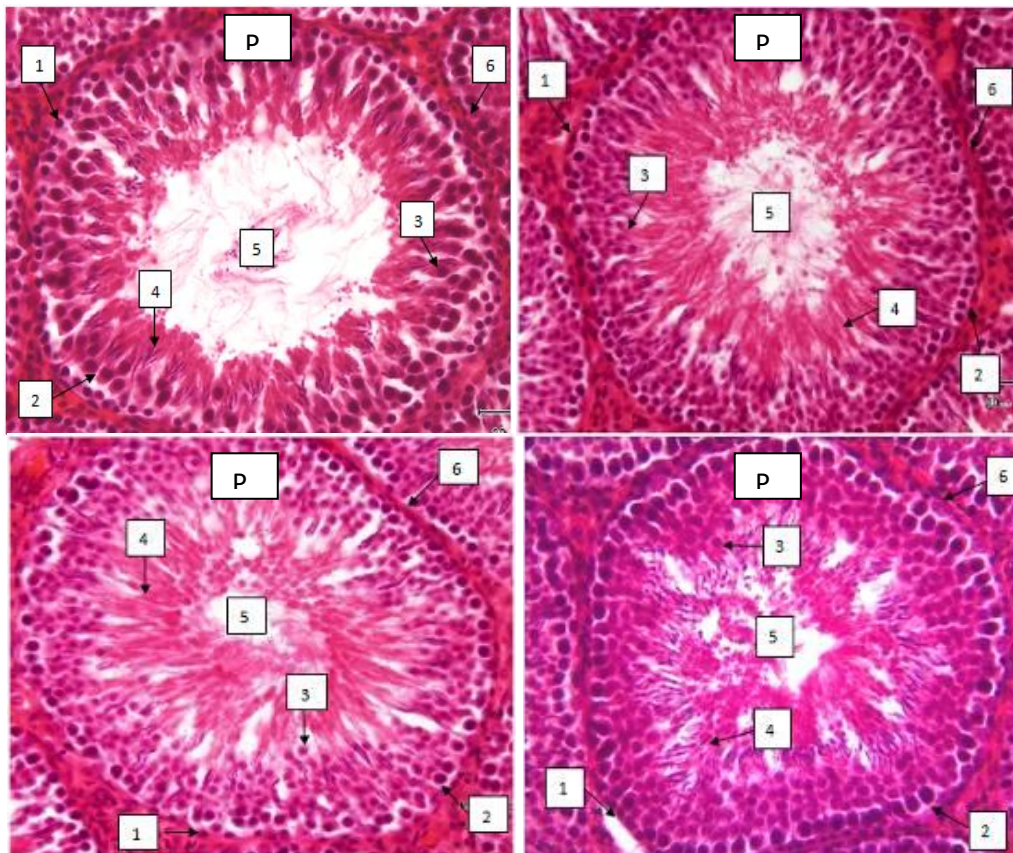
Parameter	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Spermatogonium	75,75 ± 7,55a	76,37 ± 5,78a	77,37 ± 5,70a	71,50 ± 8,07a
Spermatosit	43,12 ± 4,39a	44,75 ± 4,27a	45,00 ± 5,37a	42,50 ± 4,75a
Spermatid	90,25 ± 5,15a	90,62 ± 5,07a	91,62 ± 4,24a	88,75 ± 7,77a

Keterangan: huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan hasil berbeda nyata pada taraf uji 5% P0 = kontrol 100% pakan komersial (tanpa TDLP), P1 = 92,5% pakan komersial + 7,5% TDLP, P2 = 85% pakan komersial + 15% TDLP, P3 = 77,5% pakan komersial + 22,5% TDLP

Perbedaan tidak nyata terhadap jumlah sel spermatogonium, spermatosit dan spermatid pada perlakuan P1, P2 dan P3 menunjukkan bahwa pemberian tepung daun lamtoro hasil perendaman hingga aras 22,5% tidak mengganggu spermatogenesis sehingga tidak menurunkan jumlah sel spermatogenik. Dari hasil sayatan histologi dengan pewarnaan HE

pada Gambar 1. terlihat perkembangan dan susunan sel spermatogenik ke arah lumen tubulus seminiferus tampak jelas dan padat. Gambaran histologi tubulus seminiferus yang normal akan menunjukkan sel spermatogenik tersusun berlapis sesuai dengan tingkat perkembangannya.

Gambaran Mikroanatomi Tubulus Seminiferus



Gambar 1. Gambaran Histologi Sel Spermatogenik (400x)

Keterangan: 1 = Spermatogonium, 2 = Spermatosit, 3 = Spermatid, 4 = Spermatozoa, 5 = Lumen, 6 = Membran basalis

PEMBAHASAN

Pemberian tepung daun lamtoro hasil perendaman pada penelitian ini tidak menurunkan jumlah sel spermatogenik. Hal ini disebabkan karena kandungan mimosin dalam ransum tepung daun lamtoro hasil perendaman dengan aras 7,5%, 15% dan 22,5% masih dibawah 1%, yaitu 0,21%, 0,43% dan 0,64% (Wiratmini *et al.*, 2014). Menurut Chanchay dan Poosaran (2009), pemberian tepung daun lamtoro tanpa perlakuan pada pakan ternak monogastrik dibatasi secara kuantitatif yaitu tidak lebih dari 10%. Menurut Wiratmini *et al.* (2014), kandungan mimosin pada tepung daun lamtoro yang tidak direndam adalah 10,64% sehingga kandungan mimosin pada pakan yang mengandung 10% daun lamtoro yang tidak

direndam adalah 1,064%. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan mimosin pada pakan ternak monogastrik dibatasi tidak lebih dari 1,064%. Sejalan dengan penelitian Fameyi (2011) yang melaporkan bahwa kelinci tidak toleran terhadap ransum yang mengandung mimosin lebih dari 1%.

Berbeda dengan penelitian Wondemeskel *et al.* (2001) yang melaporkan bahwa domba dan kambing jantan yang diberikan daun lamtoro hasil pengeringan sinar matahari sebanyak 400 gram menyebabkan nekrosis pada tubulus seminiferus dan penurunan jumlah sel spermatogenik. Penelitian lain melaporkan pemberian tepung daun lamtoro hasil pengeringan sinar matahari dengan aras 15% pada kelinci jantan dapat menyebabkan

diameter sel tubulus seminiferus semakin sempit (Ogbuewu *et al.*, 2009).

Kelinci jantan yang diberikan tepung daun lamtoro segar dengan aras 20% dapat menyebabkan penurunan produksi dan kualitas semen serta menyebabkan diameter sel tubulus seminiferus semakin sempit (Herbert *et al.*, 2005). Terganggunya spermatogenesis akibat pemberian daun lamtoro segar maupun melalui pengeringan matahari seperti yang dilaporkan diatas, kemungkinan disebabkan oleh kandungan mimosin pada daun lamtoro masih di atas 1%.

Mekanisme mimosin dalam menghambat spermatogenesis yaitu melalui pengikatan iodin sehingga dapat mengurangi sekresi hormon tiroid dan *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) pada kelenjar hipofisis anterior. Sementara tiroksin berfungsi untuk membantu dalam proses pematangan sperma (Cooke *et al.*, 1993).

Mimosin juga dapat mengurangi ion logam pada daun lamtoro (Poonam and Pushpa, 1995), dimana kekurangan ion logam seperti Zn dan Se dapat mengakibatkan terjadinya gangguan pada proses spermatogenesis. Kekurangan ion logam Zn dan Se dapat menyebabkan penurunan produksi hormon LH yang akan mensekresikan hormon testosteron serta menyebabkan penurunan produksi spermatozoa (Cheeke *et al.*, 1999).

Mimosin juga dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga dapat menghentikan pembelahan sel dan menghambat perkembangan sel termasuk embrio dan spermatogenesis (Ouhibi *et al.*, 1994).

KESIMPULAN

Penambahan tepung daun lamtoro hasil perendaman pada ransum sampai aras 22,5% tidak menurunkan jumlah sel spermatogenik pada histologi testis tikus jantan.

DAFTAR PUSTAKA

Chanchay, N. and N. Poosaran. 2009. The reduction of mimosine and tannin contents in leaves of *Leucaena*

leucocephala. Asian Journal of Food and Agro-Industry. Spesial Issue. 137-144.

Cheeke, P. R., 1999. Applied Animal Nutrition: Feeds and Feeding 2nd Edn. Prentice Hall. New York.

Cooke, P.S., J.D. Kirby, and J. Porcelli. 1993. Increased Testis Growth and Sperm Production in Adult Rats Following Transient Neonatal Goitrogen Treatment: Optimization of The Propylthiouracil Dose and Effects of Methimazole. Journal Repro. Fertil. 97: 439-499.

Fameyi, P.O., Onwuka, F.F.I., Isah, O.A., Jegede, A.V., Arigbede, O.M. dan Muchenje, V. 2011. Effects of mimosine and tannin toxicity on rabbits fed processed *Leucaena Leucocephala* (Lam) De Witt. Leaves. African Journal Of Agri. Research. 6(17): 4081-4085.

Ghos, M.K. and S. Bandyopadhyay. 2007. Mimosine toxicity a problem of leucaena feeding in ruminants. Asian Journal of Anim. And Vet. Advences. 2(2): 63-73.

Hare, M.D and P.M. Horne. 2004. Forage seeds for promoting animal production in Asia. The Asia and Pasific Seed Asociation, Bangkok, Thailand. APSA Technical Report No. 41.

Haryanto, B. 1993. Pemenuhan kebutuhan zat-zat makanan ternak ruminansia kecil. Sebelas Maret University Press. 192-194.

Herbert, U., M.O. Ozoje, and D.O. Adejumo. 2005. Effect of leucaena and gliricidia leaf meals on the seminal characteristics, testis weights and seminiferous tubule diameters of rabbits. Anim. Res. 54: 173-178.

Kurniawan, I.W.A.Y., N.I. Wiratmini., dan N.W. Sudatri. 2014. Histologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diberi Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Jurnal Simbiosis II (2): 226- 235.

Laconi, E.B. and T. Widiyastuti. 2010. Kandungan Xantofil daun lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) hasil detoksifikasi mimosin secara fisik dan kimia. MEDIA Peternakan. 33(1): 50-53.

- Mutayoba, S.K., B.M. Mutayoba., and P. Okot. 2003. The performance of growing pullets fed diets with varying energy and leucaena leaf meal levels. *Livestock Research for Rural Development* 15(8).
- Ogbuewu, I.P., I.C. Okoli, and M.U. Iloeje. 2009. Semen Quality Characteristics, Reaction Time, Testis Weight and Seminiferous Tubule Diameter of Buck Rabbits Feed Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Leaf Meal Based Diet. *Iranian Journal of Reproductive*. 7(1): 23-28.
- Ouhibi, N., J. Fulka, J. Kanka, and R.M. Moor. 1994. A Reversible block at the G1/S border during cell cycle progression of mouse embryos. *The International Journal of Developmental Biology*. 38(4): 731-736.
- Poonam, S. and R.K.P. Pushpa. 1995. Leucaena leucocephala A Nutrition Profile. *Food and Nutrition Bulletin*. 16: 224.
- Radostits, O.M., D.C. Blood, and C.C. Gay. 2000. *Veterinary Medicine*. 8th ed. London: Bailliere Tindal.
- Sastry, M.S., Singh. and Rajendra. 2008. Toxic effects of subabul Leucaena leucocephala on the thyroid and reproduction of female goats. *Indian Journal of Animal science*. 78(3): 251-253.
- Siswati, N.D., A. Zain, and Mohammad. 2010. Animal Feed Making From Tuna Fish Waste with Fermentation Process. *Jurnal Teknik Kimia*. 4: 309-313.
- Sumarno, B. 1998. *Penuntun Hijauan Makanan Ternak*. Inspektorat Dinas Peternakan Jawa Tengah. Jawa Tengah.
- Wiratmini, N.I. 2014. "Penampilan Reproduksi, Proliferasi dan Aktivitas Sel Sekretori Kelenjar Mammae Tikus Putih yang Diberi Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Hasil Perendaman" (*disertasi*). Denpasar: Universitas Udayana.
- Wiratmini, N.I., I.G.L. Oka, S. Putra, dan I.G. Mahardika. 2014. The Effect of Detoxified Leucaena leucocephala Leaf Meal to Prenatal Development of Wistar Rat Fetus. *Int. Journal Pure App. Biosci*. 2 (6): 223-227.
- Woldemeskel, M., A. Tegegne, N.N. Umunna, R.J. Kaitho, and S. Tamminga. 2001. Effects of Leucaena pallida and Sesbania sesban supplementation on testicular histogi of tropical sheep and goats. *Anim Reprod Sci*. 15: 253-65.
- Yurmiaty, H. dan K. Suradi. 2007. Penggunaan Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dalam Ransum terhadap Produksi Pelt dan Kerontokan Bulu Kelinci. *Jurnal Ilmu Ternak*. Vol. 7 No. 1. 73 – 77.