

THE EFFECT OF MIMOSINE FROM SIMPLICIA OF THE LAMTORO LEAF ON THE HISTOPATOLOGICAL OF WHITE RATS' TESTIS

Pengaruh mimosin dari simplisia daun lamtoro terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih

Sarli Jessica Oktavia Simanjuntak^{1*}, I Ketut Berata², Ida Bagus Oka Winaya², Ni Luh Eka Setiasih³, Luh Made Sudimartini⁴, Ni Nyoman Werdi Susari⁵

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus UNUD, Bukit Jimbaran, Badung, Bali, Indonesia

²Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

³Laboratorium Histologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

⁴Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana; Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

⁵Laboratorium Anatomi dan Embriologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana; Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia.

*Corresponding author email: oktavia.simanjuntak@student.unud.ac.id

How to cite: Simanjuntak SJO, Berata IK, Winaya IBO, Setiasih NLE, Sudimartini LM, Susari NNW. 2024. The effect of mimosine from simplicia of the lamtoro leaf on the histopathological of white rats' testis. *Bul. Vet. Udayana*. 16(3): 851-860. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i3.p22>

Abstract

Leucaena leaves (*Leucaena leucocephala*) are often used as cattle feed. *Leucaena* leaf feeding causes decrease in sperm concentration, in diameter of the seminiferous tubules, impaired spermatogenesis, cell degeneration and atrophy. This research aims to determine the histopathology of the testes of white rat given mimosine at different doses. This research used male wistar rat aged 2 months with a body weight of 300-350g. This research there are 4 treatment groups, which is P0 (negative control), P1 (positive control) is given mimosine standard 5 mg/day/head, P2 is given *leucaena* leaf simplicia 50 mg/day/head and P3 is given leaf simplicia *leucaena* 150 mg/day/head. Treatment was given for 14 days orally and on the 15th day a necropsy of testicular organ. Histopathological examination was carried out based on the presence of congestion and necrosis in the testis tissue. Testicular organs were processed and stained with Hematoxylin Eosin (HE) staining. The results of the research showed that congestion and necrosis were found due to the administration of mimosine and *leucaena* leaf simplicia. Administration of mimosine dose 5 mg/day/head (P1) causes congestion and necrosis while administration of mimosine from *leucaena* leaf simplicia dose 50 mg/head/day (P2) does not cause lesions and dose 150 mg/day/head (P3) causes congestion in the testicles.

Keywords: white rat, *leucaena* leaf, mimosine, histopathology, testis

Abstrak

Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) sering dimanfaatkan sebagai pakan ternak sapi. Pemberian daun lamtoro dapat menyebabkan penurunan konsentrasi sperma, diameter tubulus seminiferus, gangguan spermatogenesis, degenerasi dan atropi sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui histopatologi testis tikus putih yang diberikan mimosin dengan dosis yang berbeda. Penelitian ini menggunakan tikus putih wistar jantan berumur 2 bulan dengan berat badan 300-350g. Penelitian ini terdapat 4 kelompok perlakuan yaitu P0 (kontrol negatif), P1 (kontrol positif) diberikan mimosin standar 5 mg/hari/ekor, P2 diberikan simplisia daun lamtoro 50 mg/hari/ekor dan P3 diberikan simplisia daun lamtoro 150 mg/hari/ekor. Perlakuan diberikan selama 14 hari secara oral dan pada hari ke-15 dilakukan nekropsi pengambilan organ testis. Pemeriksaan histopatologi dilakukan berdasarkan adanya lesi kongesti dan nekrosis pada jaringan testis. Organ testis diproses dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Hasil penelitian menunjukkan ditemukan lesi kongesti dan nekrosis akibat pemberian mimosin dan simplisia daun lamtoro. Pemberian mimosin dosis 5 mg/hari/ekor (P1) menyebabkan kongesti dan nekrosis sedangkan pemberian mimosin dari simplisia daun lamtoro dosis 50 mg/ekor/hari (P2) tidak menimbulkan kedua lesi dan dosis 150 mg/hari/ekor (P3) menimbulkan kongesti pada testis.

Kata kunci: tikus putih, daun lamtoro, mimosin, histopatologi, testis

PENDAHULUAN

Meningkatnya kebutuhan produk hewani dan mahalanya harga konsentrat protein telah meningkatkan kebutuhan peternakan akan sumber pakan alternatif berprotein tinggi pada saat ini. Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh peternak sebagai pakan ternak. Salah satu keunggulan daun lamtoro sebagai pakan ternak adalah kandungan protein kasarnya yang tinggi sekitar 25-35% *crude protein*. Penggunaan daun lamtoro sebagai pakan ternak kini harus dibatasi karena diketahui bahwa tanaman ini mengandung bahan toksik yang berasal dari asam amino non-protein yaitu mimosin. Kebiasaan beberapa peternak yang tetap memberikan daun lamtoro pada ternaknya tidak terlepas dari murah dan mudahnya daun ini ditemukan terutama pada musim kemarau serta peternak tidak menyadari adanya zat toksik mimosin yang terkandung di daun lamtoro.

Efek toksik dari mimosin berpengaruh pada sapi, domba, kambing, babi, kuda, unggas, kelinci, dan tikus (Fayemi *et al.*, 2011; Porto *et al.*, 2017; Vijayakumar dan Srinivasan, 2018; Loh *et al.*, 2020; Gotardo *et al.*, 2021). Ternak ruminansia seperti sapi, kambing dan domba meskipun diketahui dapat mengubah mimosin menjadi 3,4 dihidroksipiridin (DHP) sehingga lebih tahan terhadap toksik mimosin, keracunan akibat mimosin juga terjadi seperti mengalami rendahnya kenaikan berat badan, alopecia, gondok, kesuburan reproduksi rendah, mengalami aborsi hingga kematian. Efek toksik mimosin pada hewan bergantung pada konsentrasi mimosin yang terkandung pada pakan serta lamanya pemberian pakan tinggi mimosin yang dikonsumsi hewan tersebut (Suharti *et al.*, 2020). Pemberian daun lamtoro terhadap kualitas reproduksi pada hewan jantan dapat menyebabkan terganggunya fertilitas seperti penurunan konsentrasi sperma, perubahan diameter tubulus seminiferus, degenerasi, atropi dan gangguan spermatogenesis (Burawat *et al.*, 2016; Burawat *et al.*, 2018; Kanla *et al.*, 2018).

Oleh karena itu, dampak toksisitas daun lamtoro pada testis dengan berbagai dosis masih perlu dilakukan. Penggunaan hewan coba berupa tikus putih dipilih karena jika menggunakan hewan ternak sebagai hewan coba akan memerlukan biaya yang besar. Sehingga penelitian dilakukan pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*).

METODE PENELITIAN

Kelayakan Etik Hewan Coba

Sertifikat persetujuan etik hewan oleh Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana nomor: B/81/un14.2.9/PT.01.04/2023.

Objek Penelitian

Objek penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan umur 2 bulan dengan bobot badan 300-350 g. Sampel penelitian adalah testis dari tikus yang diambil dengan nekropsi.

Rancangan Penelitian

Perlakuan dilakukan pada 20 ekor tikus putih dengan 4 perlakuan, yaitu P0 sebagai kontrol negatif yang hanya diberikan aquades, P1 sebagai kontrol positif yang diberikan mimosin standar (produksi Sigma No. M0253) dengan dosis 5 mg/ekor/hari, P2 diberikan simplisia daun lamtoro dengan dosis 50 mg/ekor/hari dan P3 diberikan simplisia daun lamtoro dengan dosis 150 mg/ekor/hari. Pemberian perlakuan dilakukan selama 14 hari secara oral menggunakan sonde untuk memastikan bahan perlakuan masuk ke dalam lambung. Semua hewan coba dipelihara dikandang pada lokasi yang sama dan diberikan pakan serta minum secara *ad libitum*. Pada hari ke 15 setiap hewan coba dilakukan nekropsi pengambilan organ testis kemudian dimasukkan ke dalam *Buffer Neutral Formalin* 10% (NBF) selama 2 x 24 jam. Selanjutnya, organ testis diproses untuk pembuatan preparat histopatologi.

Pembuatan Simplisia Daun Lamtoro

Daun lamtoro yang dipilih adalah daun berwarna hijau, utuh, dan segar. Daun lamtoro dikumpulkan dan dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari. Setelah kering, daun lamtoro dihancurkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh seperti serbuk hingga terbentuk simplisia. Serbuk simplisia daun lamtoro kemudian dilarutkan dalam aquades masing-masing 50 mg/ml dan 150 mg/ml untuk setiap hewan coba. Larutan mimosin bentuk serbuk sebanyak 5 mg/ml pelarut dibuat untuk diberikan pada hewan coba P1 (kontrol positif) sebagai standar pembandingan digunakan mimosin murni produksi Sigma No. M0253.

Pembuatan Preparat Histologi

Preparat histopatologi dibuat dengan metode yang diuraikan oleh Kiernan (2015). Organ testis difiksasi dengan merendam organ ke dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* 10% selama 24-48 jam pada suhu kamar. Organ diiris kemudian dimasukkan dalam *cassette tissue*. Proses selanjutnya dilakukan dehidrasi dalam alkohol konsentrasi bertingkat yaitu 70%, 80%, 90% dan alkohol absolut. Selanjutnya, proses penjernihan dengan menggunakan xylol dan pencetakan menggunakan parafin. Tahapan selanjutnya adalah blok jaringan dipotong dengan ketebalan 3-5 μ m menggunakan *microtome rotary*. Sediaan jaringan diletakkan di atas gelas objek, kemudian diwarnai dengan metode pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Pada pewarnaan HE, sediaan jaringan dideparafinisasi menggunakan xylol dan di dehidrasi menggunakan alkohol absolut, 96%, 90% dan 80% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir selama 5 menit. Sediaan jaringan diwarnai dengan Hematoxylin selama 5 menit dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya, sediaan jaringan diwarnai dengan pewarna Eosin selama lima menit dan didehidrasi dengan alkohol bertingkat. Penjernihan dilakukan dengan xylol dan penutupan jaringan menggunakan Entellan®. Jaringan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x serta dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan di lima tikus.

Variabel Penelitian

Variabel yang diperiksa meliputi adanya lesi kongesti dan lesi nekrosis pada jaringan testis. Kedua lesi dikategorikan berdasarkan keparahannya dengan skoring yaitu skor 0 berarti normal/tidak ada lesi, skor 1 bersifat ringan/fokal, skor 2 bersifat sedang/multifokal, skor 3 bersifat berat/difusa.

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan histopatologi berupa data skoring lesi kongesti dan lesi nekrosis dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* dan uji lanjut *Mann Whitney* apabila ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Proses analisis dilakukan dengan program IBM SPSS 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengamatan perubahan gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diberi simplisia daun lamtoro berdasarkan adanya lesi kongesti dan nekrosis pada tubulus seminiferus menunjukkan hasil yang bervariasi. Data hasil pemeriksaan berdasarkan hasil skoring lesi kongesti dan nekrosis selengkapnya tersaji pada Tabel 1.

Hasil analisis Kruskal-Wallis untuk lesi kongesti dan nekrosis menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan baik untuk lesi kongesti maupun nekrosis. Hasil analisis Mann-Whitney untuk lesi kongesti antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu P0 dan P1 serta P0 dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) sedangkan P0 dan P2 menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hasil analisis Mann-Whitney untuk lesi kongesti antar kelompok perlakuan yaitu P1 dan P2 serta P2 dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) sedangkan P1 dan P3 menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Hasil analisis Mann-Whitney untuk lesi nekrosis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu P0 dan P1 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) sedangkan P0 dan P2 serta P0 dan P3 menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hasil analisis Mann-Whitney untuk lesi nekrosis antar kelompok perlakuan yaitu P1 dan P2 serta P1 dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) sedangkan P2 dan P3 menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Rangkuman hasil analisis Mann Whitney dari lesi kongesti dan nekrosis pada testis tikus putih disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan gambaran histopatologi tubulus seminiferus testis tikus putih pada kelompok kontrol negatif (P0) menunjukkan tubulus seminiferus normal, kelompok kontrol positif (P1) ditemukan adanya kongesti dan nekrosis, kelompok P2 tidak ditemukan adanya kongesti maupun nekrosis dan kelompok P3 hanya ditemukan kongesti. Gambaran histopatologi testis tikus putih akibat perlakuan sesuai kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Pembahasan

Berdasarkan pengamatan histopatologi dan analisis uji statistik Kruskal-Wallis yang telah dilakukan, hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian mimosin dari simplisia daun lamtoro memengaruhi gambaran histopatologi testis tikus putih. Hasil pengamatan didasari dengan adanya kongesti dan nekrosis pada tubulus seminiferus organ testis. Pada variabel kongesti dan nekrosis di tubulus seminiferus menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,000$) antara kontrol dan perlakuan, khususnya lesi kongesti pada pemberian mimosin dari simplisia daun lamtoro dosis 150 mg/hari/ekor. Hasil tersebut menunjukkan bahwa mimosin yang masih bercampur dengan komponen yang terkandung dalam daun lamtoro dapat

menimbulkan gangguan sirkulasi darah berupa kongesti. Kongesti adalah proses pasif penimbunan darah di aliran darah dalam vena akibat aliran darah yang melambat atau berhenti sehingga secara makroskopis terlihat adanya akumulasi darah dalam pembuluh darah (Berata *et al.*, 2022). Lesi kongesti yang tampak pada gambar 1 menunjukkan pengaruh signifikan antara mimosin standar dan pemberian mimosin dari simplisia daun lamtoro dibandingkan kontrol negatif. Pada gambaran histopatologi kelompok kontrol positif (P1) yang diberikan mimosin standar 5 mg/hari/ekor ditemukan adanya lesi kongesti dengan skor sedang yang berada di daerah tunika albugenia testis. Kelompok perlakuan P3 yang diberikan simplisia daun lamtoro 150 mg/hari/ekor juga menunjukkan adanya lesi kongesti dengan skor ringan di ruang interstisial. Hal ini menunjukkan bahwa mimosin menyebabkan gangguan sirkulasi darah dalam testis tikus. Burawat *et al.* (2016) dalam penelitiannya juga mengungkapkan bahwa tikus yang diberikan L-mimosin menyebabkan terganggunya sirkulasi darah pada testis berupa pelebaran pembuluh darah. Menurut Oo *et al.* (2016), terganggunya aliran darah di pembuluh darah merupakan efek toksik langsung dari mimosin. Terganggunya sirkulasi darah pada testis dapat mengganggu suplai nutrisi ke jaringan-jaringan pembentuk spermatozoa sehingga tahapan spermatogenesis dalam testis berjalan tidak sempurna (Adelati *et al.*, 2016). Berbeda pada gambaran histopatologi kelompok P2 yang diberikan simplisia daun lamtoro sebanyak 50 mg/hari/ekor dimana tidak ditemukan kongesti pada tubulus seminiferus tikus.

Perubahan histopatologis selanjutnya adalah lesi nekrosis skor sedang yang ditemukan pada tubulus seminiferus kelompok kontrol positif (P1). Nekrosis didefinisikan sebagai proses kematian sel atau jaringan yang bersifat irreversibel. Mimosin yang menyebabkan terganggunya aliran darah di dalam pembuluh darah testis tikus dimungkinkan menjadi penyebab terjadinya nekrosis pada tubulus seminiferus tikus karena kurangnya suplai darah. Pada gambar 1, P1 menunjukkan adanya pengaruh mimosin berupa lesi nekrosis di dinding tubulus seminiferus. Woldemeskel *et al.* (2001) dalam penelitiannya melaporkan bahwa domba dan kambing jantan yang diberikan daun lamtoro hasil pengeringan sinar matahari sebanyak 200 gram dan 400 gram menyebabkan nekrosis sedang hingga parah pada tubulus seminiferus dan terjadinya penurunan jumlah sel spermatogenik yang ditunjukkan dengan terhentinya spermatogenesis dan tidak atau sedikitnya sel sperma yang dapat ditemukan di tubulus seminiferus. Hal ini menunjukkan bahwa mimosin menyebabkan kematian sebagian spermatozoa dalam testis. Kematian spermatozoa mengakibatkan penurunan fungsi reproduksi hingga infertilitas pada hewan jantan (Reisinta *et al.*, 2018). Berbeda dengan gambaran histopatologi kelompok P2 dan P3 tidak ditemukan adanya nekrosis pada tubulus seminiferus tikus.

Toksisitas mimosin berupa gangguan fertilitas pada hewan jantan dapat terjadi karena penggabungan mimosin dalam sekresi tirosin menjadi protein biologis yang dibutuhkan dalam proses pembentukan hormon tiroid (Gotardo *et al.*, 2021). Adanya mimosin mengakibatkan terhambatnya pengikatan iodine yang dibutuhkan dalam sekresi hormon tiroid (Archibong dan Abdelgadir, 2016). Kelenjar tiroid menghasilkan dua bentuk hormon yaitu tetraiodotironin (T4) dan triiodotironin (T3). Menurut Kulak dan Pallav (2013), terganggunya sekresi pada hormon T4 akan mengakibatkan perubahan konsumsi oksigen minimal di testis. Terganggunya sekresi hormon T3 juga mempengaruhi pematangan testis yaitu pada proliferasi sel Sertoli. Hormon tiroid sendiri berperan penting dalam mengatur fungsi testis seperti proses pematangan sperma, sehingga terganggunya sekresi tirosin akan berdampak buruk pada perkembangan spermatogenesis di dalam testis (Gao *et al.*, 2014). Negi *et al.* (2014) menyebutkan, mimosin juga menonaktifkan berbagai enzim penting bagi tubuh dan membatasi ketersediaan enzim-enzim tersebut sehingga menyebabkan gangguan fisiologis.

Perbedaan hasil pada kedua kelompok khususnya kelompok kontrol positif dengan kelompok

perlakuan dapat disebabkan oleh adanya kandungan lain dari daun lamtoro seperti flavonoid. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang telah dikaitkan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antivirus, antikanker, antiulkus, analgesik dan agen penangkal radikal bebas (Dias *et al.*, 2021; Noushahi *et al.*, 2022). Menurut Nna *et al.* (2017), kandungan flavonoid dapat secara efektif memperbaiki histopatologi testis terhadap toksisitas di testis. Selain itu, perbedaan dosis yang diberikan juga berperan penting dalam tingkatan toksisitas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Ada perbedaan signifikan perubahan histopatologi tubulus seminiferus testis berupa adanya lesi kongesti dan lesi nekrosis antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Ada perbedaan histopatologi tubulus seminiferus testis yang diberi simplisia daun lamtoro antara dosis 50 mg/hari/ekor dengan dosis 150 mg/hari/ekor, terutama lesi kongesti.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai antidot akibat paparan mimosin dari konsumsi daun lamtoro pada hewan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Gde Wirantha pemilik Pemeliharaan dan Pembiakan Hewan Coba Bio Mice dan Rat, Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar, Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, yang memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelati, S., Achmad Z. J., & Ika P. M. (2016). Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), 1760-1769. <https://doi.org/10.14710/dmj.v5i4.15962>
- Archibong, A. E. & Abdelgadir S. E. (2016). Pharmacotoxicologic Factors and Reproduction Chapter 22. *Reproduction in Farm Animals*, 331-340. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch22>
- Berata, I. K., Adi A. A. A. M., Winaya I. B.O., Adnyana I. B.W., & Kardenia I. M. (2022). Patologi Veteriner Umum. Denpasar: PT.Suwasta Nulus.
- Burawat, J., Nongnut U., Bungorn S., Somsak N., & Sitthichai I. (2016). Antioxidant Capacity and Acute Testicular Toxicity of *Leucaena leucocephala* Aqueous Shoot Tips Plus Young Leaves Extracts. *International Journal of Morphology*, 34(2), 514-521. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022016000200018>
- Burawat, J., Nongnut U., Supatcharee A., Somsak N., & Sitthichai I. (2018). Effects of *Leucaena leucocephala* (Lamk.) Shoot Tips Plus Young Leaf Extract Containing Mimosine on Reproductive System of Male Rats. *International Journal of Morphology*, 36(3), 1062-1069. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022018000301062>
- Dias, M. C., Diana C. G. A. P., & Artur M. S. S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(5377), 1-16. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Fayemi, P. O., C. F. I. Onwuka, O. A. Isah, A. V. Jegede, O. M. Arigbede. V. & Muchenje. (2011). Effects of mimosine and tannin toxicity on rabbits fed processed *Leucaena*

leucocephala (Lam) De Wit. leaves. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17): 4081-4085. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR11.327>

Gao, Y., Will M. L., & Cheng C. Y. (2014). Thyroid Hormone Function in the Rat Testis. *Frontiers in Endocrinology*, 5(188): 1-7. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00188>

Gotardo, A. T., V. V. Dipe, E. R. M. Almeida, I. M. Hueza, J. A. Pfister, S. L. & Gorniak. (2021). Potential toxic effects produced by L-mimosine in the thyroid and reproductive systems. Evaluation in male rats. *Toxicon*, 203: 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.10.003>

Kanla, P., Jaturon B., Supatcharee A., Tarinee S., Amnart C., & Sittichai I. (2018). Acute Effects of Mimosine Purified from *Leucaena leucocephala* on Male Reproductive System of Adult Mice. *International Journal of Morphology*, 36(2), 507-512. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022018000200507>

Kiernan, J.A. (2015). Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice (Fifth Edition). Bioxham: Scion.

Kulak, E.K., & Pallav S. (2013). Thyroid function in male infertility. *Frontiers in Endocrinology*, 4(174): 1-2. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00174>

Loh, Z. H., D. Ouwerkerk, A. V. Klieve, N. L. Hungerford, M. T. & Fletcher. (2020). Toxin Degradation by Rumen Microorganisms: A Review. *MDPI Toxins*, 12(10): 1-37. <https://doi.org/10.3390/toxins12100664>

Negi, V. S., Bingham J. P., Qing X. L., & Dulal B. (2014). A Carbon-Nitrogen Lyase from *Leucaena leucocephala* Catalyzes the First Step of Mimosine Degradation. *Plant Physiology*, 164: 922-934. <https://doi.org/10.1104/pp.113.230870>

Noushahi, H. A., Aamir H. K., Usama F. N., Mubashar H., Talha J., Maimoona Z., Maria B., Umair A., Ke L., Matthew T.H., Shah S., Shah F., & Shaoshua S. (2022). Biosynthetic pathways of triterpenoids and strategies to improve their Biosynthetic Efficiency. *Plant Growth Regulation*, 97, 439–454. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00818-9>

Nna, V.U., Godwin A.U., Mahaneem M., Kingsley B.E., Benedict O.I., Ele R.A., & Eme E.O. 2017. Cadmium Chloride–induced Testicular Toxicity in Male Wistar Rats; Prophylactic Effect of Quercetin, and Assessment of Testicular Recovery Following Cadmium Chloride Withdrawal. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94: 109-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.087>

Oo, N. N., Saw P. P., Si T. H., Moe T. H., Nyo N. T., Khin T. K., Mar M. W., & Hnin Y. S. (2016). Histopathological Changes in Kidneys and Liver of Sheep Fed with Different Levels of *Leucaena Leucocephala*. *International Journal of Novel Research in Life Sciences*, 3(5): 6-17.

Porto, M. R., A. R. C. Moscardini, E. P. F. Novais, S. L. S. C. Filho, E. M. M. Lima, M.B. & Castro. (2017). Intoxicação natural e experimental por *Leucaena leucocephala* em equinos. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37(8): 829-834. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2017000800008>

Reisinta, D., Widya P. L., Tatik H., Dewa K. M., Sri P. M., & Tri W. S. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit bagian dalam Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Keutuhan Membran Plasma dan Abnormalitas Morfologi Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) setelah dipapar Suhu Panas. *Ovozoa*, 7(2), 137-142. <https://doi.org/10.20473/ovz.v7i2.2018.137-142>

Suharti, S., Alwi W., & Wiryawan K. G. (2020). Isolasi Bakteri Pendegradasi Mimosin Asal Rumen Sapi dan Domba yang Diberi Daun Lamtoro dan Pengaruhnya pada Karakteristik Fermentasi In Vitro. *Sains Peternakan*, 18(1): 23-30. <https://doi.org/10.20961/sainspet.v18i1.33228>

Vijayakumar, S., P. & Srinivasan. (2018). Clinical Management of Spontaneous *Leucaena leucocephala* (Subabul) Poisoning in Non Descriptive Goat. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10): 1148-1151. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.127>

Woldemeskel, M., A. Tegegne, N.N. Umunna, R.J. Kaitho, S. & Tamminga. (2001). Effects of *Leucaena pallida* and *Sesbania sesban* supplementation on testicular histology of tropical sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 67, 253-265. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(01\)00131-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(01)00131-2)

Tabel

Tabel 1. Tingkat keparahan lesi histopatologi testis hewan coba berdasarkan skoring

| Perlakuan | Ulangan | Perubahan histopatologi testis dengan skoring | |
|-----------|---------|---|----------|
| | | Kongesti | Nekrosis |
| P0 | 1 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 |
| | 5 | 0 | 0 |
| | Rerata | 0 | 0 |
| P1 | 1 | 2 | 1 |
| | 2 | 2 | 1 |
| | 3 | 2 | 1 |
| | 4 | 1 | 1 |
| | 5 | 2 | 1 |
| | Rerata | 1,8 | 1 |
| P2 | 1 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 |
| | 5 | 0 | 0 |
| | Rerata | 0 | 0 |
| P3 | 1 | 1 | 0 |
| | 2 | 1 | 0 |
| | 3 | 1 | 0 |
| | 4 | 1 | 0 |
| | 5 | 1 | 0 |
| | Rerata | 1 | 0 |

Keterangan: Skoring: 0 =normal; 1=ringan (fokal); 2=sedang, (multifokal); 3=parah, lesi (difusa)

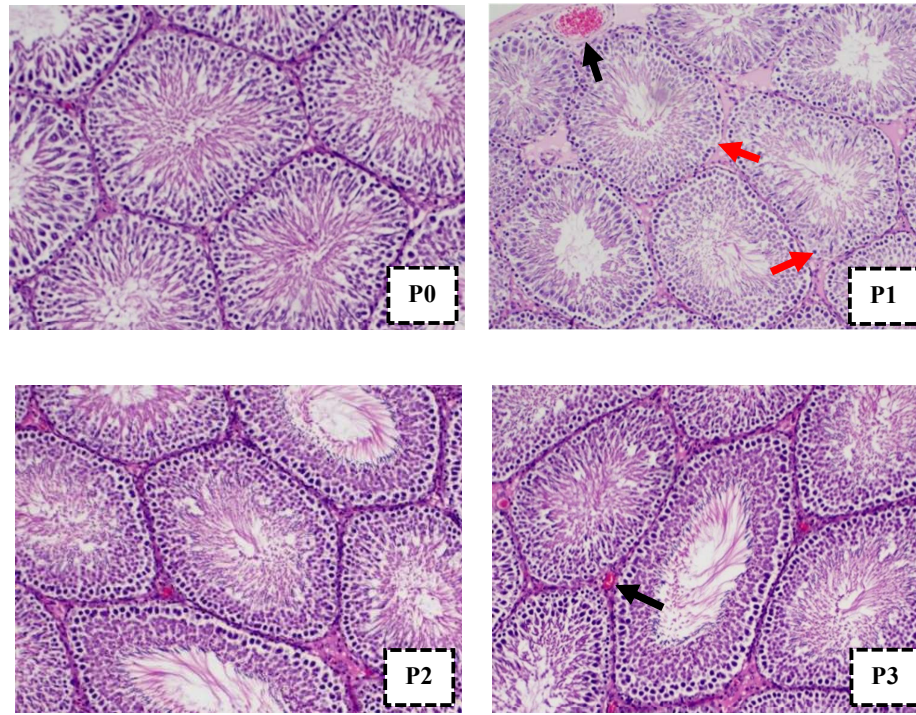
Tabel 2. Hasil Rekapitulasi Analisis Mann-Whitney dari kedua lesi

| Perlakuan | Signifikansi Rerata Skor Lesi | |
|-----------|-------------------------------|------------------|
| | Kongesti | Nekrosis |
| P0 | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| P1 | 1.8 ^b | 1,0 ^b |
| P2 | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| P3 | 1,0 ^c | 0,0 ^a |

Keterangan : Huruf abc superscript dengan huruf yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) sedangkan nilai huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p > 0,05$).

Gambar

Gambar 1 Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih Wistar yang diberikan dua Konsentrasi Simplisia Daun Lamtoro.



Keterangan : P0 = Kontrol negatif (aquades 1 ml/hari/ekor); P1 = Kontrol positif (mimosin standar produk Sigma No M0253 5 mg/hari/ekor); P2 = Perlakuan 2 (simplisia daun lamtoro 50 mg/hari/ekor); P3 = Perlakuan 3 (simplisia daun lamtoro 150 mg/hari/ekor). Ditemukan lesi kongesti (panah hitam) dan nekrosis (panah merah) (HE, 400x).