

GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS (*Rattus rattus*) PADA PEMBERIAN LAMTORO MERAH (*Acacia villosa*) ADAPTASI DAN TANPA ADAPTASI

Erda Eni Rame Hau

Program Studi Kesehatan Hewan Politeknik Pertanian Negeri Kupang
Jalan Prof. Herman Yohanes Penfui-Kupang P.O.Box 1152 Kupang 85011
Telepon :(0380)881600,881601;Fax :(0380)881601;E-mail:politanikoe@plasa.com

ABSTRACT

*Incubation of red acacia (*Acacia villosa*) leaf in preadapted rumen fluid of goat: Its effects on histopathological changes of kidney of rat (*Rattus-rattus*). This study was conducted to examine the detoxification potential of rumen microbes upon secondary compounds of *Acacia villosa*. Leaf powder of *A. villosa* incubated in rumen fluid of goat pre-adapted with *A. villosa* was fed on rats used as experimental animals. Eighteen rats were divided into 3 groups, consisting of control, group of rats fed with *A. villosa* incubated in pre-adapted rumen fluid (adaptation group) and group of rats fed with *A. villosa* incubated in non adapted rumen fluid (non-adaptation group). That results of histopathological examination showed a significant higher glomerular and tubular changes in the kidneys of the non-adaptation group compared to those in the adaptation and control groups. The changes in glomerulus were edema characterized by deposition of protein in the mesangial and Bowman space, and enlargement of the Bowman space. The changes in tubules were consisting of hydropic degeneration, deposition of protein in the tubules lumen and necrosis.*

Key words: *Acacia villosa, histopathological changes, adapted rumen fluid.*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Peningkatan produksi peternakan harus didukung dengan pengadaan pakan ternak yang merupakan kebutuhan utama untuk hidup pokok, pertumbuhan, dan reproduksi. Di Indonesia penyediaan pakan pada umumnya dihadapkan pada beberapa kendala seperti kualitas pakan yang rendah, keterbatasan sumber pakan, serta jarak antar sumber pakan dan lokasi peternakan

yang menyulitkan transportasi (Trisyulianti *et al.*, 2001). Leguminosa pohon adalah salah satu pilihan yang tepat sebagai bahan pakan karena mudah didapat dan keberadaannya tersedia sepanjang musim.

Penggunaan leguminosa pohon sebagai sumber protein ransum mempunyai beberapa keuntungan yaitu mengandung protein yang cukup tinggi, murah dan mudah didapat, mengandung tanin yang dapat mencegah kembung dan melindungi degradasi protein yang berlebihan oleh mikroba rumen, dan

beradaptasi baik pada berbagai lahan (Manurung, 1996). Contoh leguminosa pohon yang biasa digunakan sebagai pakan ternak antara lain *Caliandra tetragona* (kaliandra bunga putih), *Sesbania grandiflora* (turi), *Leucaena leucocephalla* (lamtoro) dan *Acacia villosa*.

A. villosa merupakan jenis leguminosa yang sangat potensial digunakan sebagai sumber protein pakan dengan kandungan protein yang tinggi yaitu 22-28% (Lowry *et al.*, 1992). Namun penggunaan *A. villosa* tidak terlepas dari berbagai kendala, antara lain kandungan senyawa antinutrisi yang menjadi faktor pembatas dalam pemanfaatannya sebagai pakan ternak ruminansia. Kandungan senyawa sekunder *A. villosa* meliputi total phenol sebesar 15,24%, asam amino non-protein sebesar 5,64% dan kandungan tanin terkondensasi sebesar 12,52% (Bansi, 2001). Tanin sebagai salah satu zat antinutrisi dapat menghambat degradasi protein pakan dalam rumen sehingga menurunkan nilai kecernaan pakan. Asam amino non-protein yang terkandung dalam *A. villosa* adalah ADAB (2-amino-4acetylaminobutyric acid), DABA (2,4-diamino butyric acid) dan Oxalylabizzine yang diduga dapat bersifat toksik terhadap ternak (Evans, 1993).

Penelitian pakan yang mengandung *A. villosa* yang pernah dilakukan pada ayam menunjukkan dampak negatif berupa penurunan palatibilitas, penurunan konversi pakan dan berat badan serta kerusakan pada organ ginjal dan hati (Raharjo, 2001; Santoso, 2001). Penelitian yang lain menunjukkan bahwa pemberian *A. villosa* dengan masa adaptasi pada domba garut dengan dosis 70% dari total pakan menunjukkan adanya kelemahan umum, akan tetapi pada dosis 100% menimbulkan efek toksik bahkan kematian (Bariata, 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Triyani (2002) menunjukkan bahwa keadaan keracunan seperti kasus di atas tidak terjadi pada ternak yang telah beradaptasi mengkonsumsi *A. villosa* secara alami, seperti pada ternak di daerah Kupang - NTT. Hal tersebut dikarenakan mikroba di dalam rumen ternak tersebut sudah beradaptasi sehingga dapat mendegradasi zat antinutrisi dan racun *A. villosa*. Pada penelitian ini dilakukan inkubasi *in vitro* *A. villosa* dalam cairan rumen, dengan harapan terjadi perubahan senyawa toksik *A. villosa* menjadi tidak toksik.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan mempelajari potensi toksitas *A. villosa* hasil inkubasi dalam cairan rumen kambing yang telah beradaptasi maupun belum

beradaptasi dengan *A. villosa* melalui pengukuran gambaran histopatologi organ ginjal tikus putih (*Rattus-rattus*). Tikus sebagai hewan coba diberi pakan *A. villosa* yang telah diinkubasikan dalam cairan rumen kambing yang telah diadaptasikan dengan *A. villosa*. Pemilihan tikus sebagai hewan model dengan tujuan tikus berlambung tunggal, sehingga dapat menghilangkan pengaruh mikroba rumen yang diduga dapat berperan dalam proses pencernaan *A. villosa*.

Hipotesa

H₀ : Pemberian tepung daun *A. villosa* yang telah diinkubasikan dalam cairan rumen kambing yang telah diadaptasikan dengan *A. villosa* tidak mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal tikus.

H₁ : Pemberian tepung daun *A. villosa* yang telah diinkubasikan dalam cairan rumen kambing yang telah diadaptasikan dengan *A. villosa* mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal tikus.

Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peran mikroba dalam mengurangi toksisitas senyawa sekunder *A. villosa* sehingga dapat diaplikasikan dalam penggunaan *A. villosa* di lapangan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Bagian Patologi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dan Balai Penelitian Ternak (BPT) Ciawi, Bogor. Hewan coba yang digunakan adalah delapan belas ekor tikus putih (*Rattus-rattus*) dan empat ekor kambing sebagai donor cairan rumen. Bahan yang digunakan adalah daun *A. villosa* yang diperoleh dari koleksi pertanaman *A. villosa* di kebun percobaan BPT Ciawi, bahan-bahan pakan dan ether. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah bahan untuk pembuatan sediaan histopatologi, seperti *Buffer Normal Formalin* 10%, alkohol bertingkat mulai dari 70% hingga 95%, alkohol absolut, *xylol*, paraffin (I-listoplast®, Shandon®), zat perekat untuk mounting (Entellan®), zat warna *Mayer Hematoxylin* dan *Eosin* (Merck®), *Reagen Schiff; basic fuchsin, potassium metabisulfite, Lithium carbonat* dan air.

Peralatan yang digunakan adalah kandang pemeliharaan individu dari kotak plastik, timbangan, blender, alat-alat nekropsi, pencetak paraffin, *rotary*, *microtom*, gelas objek, gelas penutup dan mikroskop.

Metode Penelitian

1. Donor Cairan Rumen

Empat ekor kambing sebagai donor cairan rumen dipelihara selama 1 bulan. Dua ekor diberi pakan rumput gajah dan *A. villosa* secara bertahap (adaptasi) sebanyak 10% sampai 60% dari total pakan. Dua ekor kambing lainnya sebagai kelompok tanpa adaptasi diberi pakan rumput gajah dan kaliandra secara bertahap 10 sampai 60%.

2. Tepung Daun

Daun *A. villosa* dijemur hingga kering, kemudian diblender hingga halus membentuk tepung daun. Tepung daun sebanyak 21% (hasil penelitian pendahuluan). Dari keseluruhan komposisi pakan tikus dicampurkan ke dalam masing-masing cairan rumen kemudian diinkubasikan selama 72 jam pada suhu 39°C. Masing-masing tepung daun *A. villosa* hasil fermentasi dicampurkan ke dalam pakan tikus percobaan.

3. Desain Penelitian

Delapan belas ekor tikus betina yang baru lepas sapih berumur empat minggu dengan bobot badan rata-rata 50-60 gram dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok adaptasi dan kelompok tanpa adaptasi. Kelompok kontrol diberi pakan kontrol tanpa mengandung *A. villosa* maupun cairan rumen. Kelompok adaptasi adalah kelompok yang diberi pakan berisi 21% *A. villosa* yang telah dinkubasikan dalam cairan rumen yang berasal dari kambing adaptasi. Kelompok tanpa adaptasi adalah kelompok yang diberi pakan berisi 21% *A. villosa* yang telah diinkubasikan dalam cairan rumen yang berasal dari kambing tanpa adaptasi. Sebelum perlakuan, hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu terhadap pakan kontrol dan kandang selama 1 minggu, pakan dan minum diberikan *ad libitum*. Setelah perlakuan selama 1 bulan, hewan coba ditidurkan permanen dengan anestesi diethyl ether. Selanjutnya hewan coba dinekropsi dan dilakukan sampling organ untuk dibuat sediaan histopatologi yang diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

Evaluasi Histopatologi

Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan pada 20 lapang pandang dengan fokus glomerulus dan tubulus proximal di sekitarnya dengan pembesaran objektif 40x pada luasan $176 \mu\text{m}^2$. Penilaian kerusakan glomerulus berdasarkan jumlah glomerulus yang memiliki endapan protein pada mesangium, endapan protein pada ruang Bowman, dan perluasan ruang Bowman. Penilaian kerusakan tubulus berdasarkan persentasi tubuli yang mengalami degenerasi hidropis, adanya endapan protein pada lumen tubulus serta nekrosa epitel.

Analisis Statistik

Evaluasi pengaruh perlakuan terhadap perubahan histopatologi ginjal dilakukan dengan analisis sidik ragam dengan rancangan percobaan acak lengkap (ANOVA). Jika perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengamatan histopatologi ginjal tikus sesudah pemberian *Acacia villosa* pasca inkubasi dalam cairan rumen adaptasi dan tanpa adaptasi ditemukan adanya perubahan glomerulus dan tubulus, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Selain itu, secara umum ditemukan adanya pembendungan (kongesti) baik pada kelompok kontrol maupun pada kelompok perlakuan. Menurut Ganiswara (1995), kongesti merupakan respon umum pembuluh darah akibat penggunaan ether pada waktu anestesi untuk pengambilan darah maupun pada waktu euthanasia, karena ether merupakan anasthetik kuat yang dapat menyebabkan vasodilatasi.

Glomerulus umumnya mengalami edema yang dicirikan oleh adanya endapan protein pada jalinan mesangium hingga ke ruang Bowman dan adanya perluasan ruang Bowman (Gambar 2). Perubahan tubulus yang ditemui adalah berupa degenerasi dan nekrosa pada epitel dan adanya endapan protein pada lumen. Epitel tubulus yang mengalami nekrosa ditandai oleh inti piknotis dan sitoplasma yang menyerap eosin lebih intensif. Perubahan histopatologi ginjal disebabkan oleh senyawa asam amino non-protein *A. villosa* yang bersifat

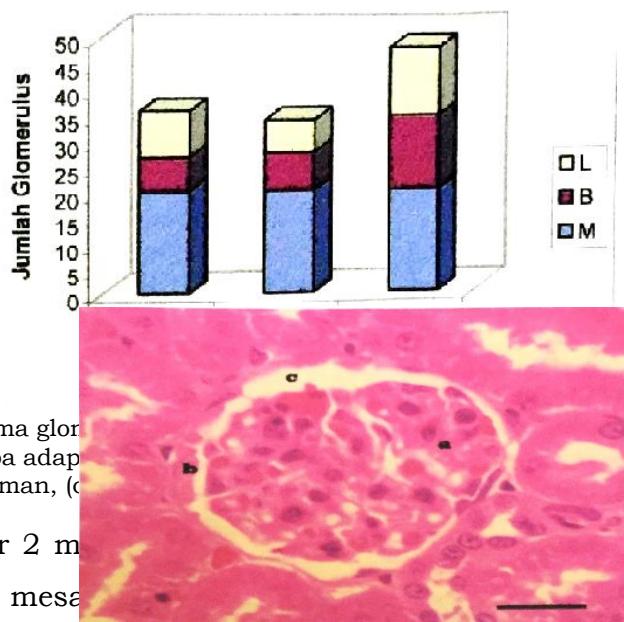
nefrotoksik. Gambaran histopatologi kerusakan ginjal disajikan pada Gambar 2, 4, 5 dan 6, dan perubahan histopatologi ginjal akibat pemberian *A.villosa* yang

diinkubasi dalam cairan rumen adaptasi dan tanpa adaptasi disajikan dalam Gambar 1 dan 3.

Gambar 1. Perubahan glomerulus ginjal tikus pada pemberian A.villosa pasca inkubasi dalam cairan rumen adaptasi dan tanpa adaptasi. M: endapan protein di mesangium, B: endapan protein di ruang Bowman, dan L: ruang Bowman meluas.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, diperoleh hasil bahwa kerusakan pada glomerulus kelompok tanpa adaptasi lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok adaptasi ($p<0,05$). Endapan protein pada mesangium ditemukan pada seluruh glomerulus yang diamati sehingga tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan maupun antar perlakuan ($p>0,05$). Endapan protein di ruang Bowman pada kelompok adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan adaptasi ($p<0.05$), tetapi tidak berbeda nyata antara kelompok kontrol dan adaptasi ($p>0.05$). Ruang Bowman yang meluas pada kelompok tanpa adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol dan adaptasi ($p<0.05$), tetapi tidak berbeda nyata antara kelompok kontrol dan adaptasi ($p>0.05$) (Gambar 1). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa fermentasi in vitro

A. villosa dalam cairan rumen adaptasi mampu mengurangi tingkat toksitas senyawa sekunder *A. villosa*. Kerusakan ginjal pada kelompok perlakuan tanpa adaptasi disebabkan oleh senyawa sekunder yang bersifat nephrotoksik.



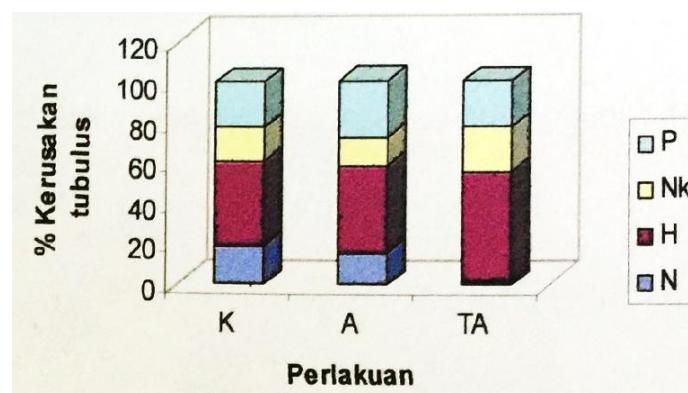
Gambar 2. Edema glomerulus pada kerusakan ginjal tanpa adaptasi (*A. villosa*) pada kambing. (c)

masi dalam cairan rumen dan protein di ruang Bowman, (c).

Gambar 2 menunjukkan adanya edema glomerulus pada kerusakan ginjal tanpa adaptasi (*A. villosa*). Edema ini dicirikan oleh endapan protein pada mesangium sehingga menyebabkan ruang Bowman meluas. Edema ini disebabkan oleh adanya senyawa yang bersifat nephrotoksik pada *A.villosa*. Edema glomerulus merupakan perubahan pertama yang terjadi pada *toxic glomerular nephritis*. Glomerulonephritis sangat dipengaruhi oleh zat-zat toksik dan derajat perubahan tergantung pada sifat dan jumlah senyawa yang masuk ke dalam aliran darah (Hock et al., 2005).

Glomerulonephritis akut adalah peradangan pada glomerulus akibat bahan-bahan toksik dan kompleks antigen antibody yang mengganggu kapiler glomerulus. Keberadaan bahan-bahan tersebut menyebabkan permeabilitas kapiler rusak sehingga membran kapiler bocor. Pada filtrasi glomerulus, sekitar 20% plasma masuk ke kapiler, menembus kapiler yang akhirnya masuk ke ruang Bowman. Hanya protein tertentu dengan ukuran molekul yang dapat difiltrasi. Pada keadaan peradangan, protein besar mudah lolos melalui membran kapiler glomerulus yang bocor sehingga menempati ruang Bowman bahkan sampai ke tubulus (Corwin, 2001).

Edema glomerulus yang berlanjut akan membentuk jaringan parut, sehingga glomeruli diganti dengan tenunan pengikat yang kompak. Kerusakan glomerulus tidak hanya menimbulkan gangguan pada pembentukan urin yang ada hubungannya dengan pengaliran darah, tetapi juga menghambat sirkulasi darah pada glomeruli dan tubuli. Hal tersebut dapat mengakibatkan degenerasi tubuli akibat kekurangan makanan dan akibat toksin (Seely, 1999).

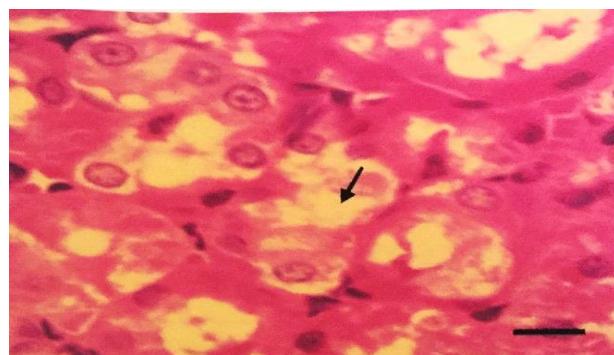


Gambar 3. Persentase perubahan tubulus ginjal tikus pada pemberian *A. villosa* pasca inkubasi pada cairan rumen adaptasi dan tanpa adaptasi. N: tubulus normal, H: tubulus degenerasi hidropis, NK: tubulus nekrosa, dan P: endapan protein di lumen tubulus.

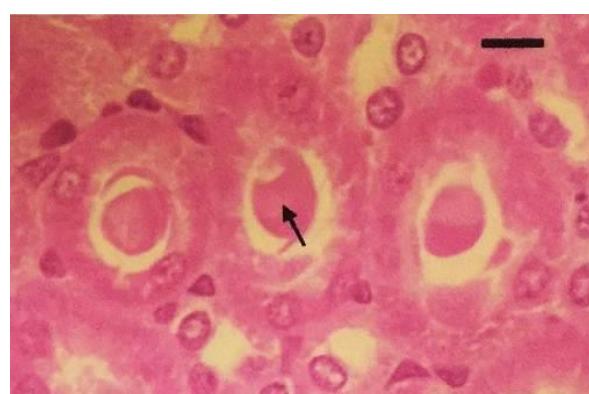
Berdasarkan hasil analisis sidik ragam didapat hasil bahwa tubulus normal yang ditemukan pada kelompok kontrol lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok adaptasi dan tanpa adaptasi ($p<0.05$), dan tubulus normal kelompok adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok tanpa adaptasi ($p<0.05$). Degenerasi hidropis pada tubulus kelompok tanpa adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok adaptasi ($p<0.05$), tetapi tidak berbeda nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok adaptasi ($p>0.05$). Nekrosa tubulus kelompok tanpa adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol dan adaptasi ($p<0.05$), dan nekrosa tubulus kelompok kontrol lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok adaptasi ($p<0.05$). Endapan protein pada lumen tubulus kelompok adaptasi lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol dan tanpa adaptasi ($p<0.05$), tetapi tidak berbeda nyata antara kelompok kontrol dan tanpa adaptasi ($p>0.05$) (Gambar 3). Hal tersebut mengindikasikan bahwa fermentasi *in vitro* *A.villosa* dalam cairan rumen adaptasi mampu mengurangi tingkat toksitas

senyawa sekunder *A. villosa*. Kerusakan ginjal pada kelompok perlakuan tanpa adaptasi disebabkan senyawa sekunder *A. villosa* yang bersifat nephrotoksik.

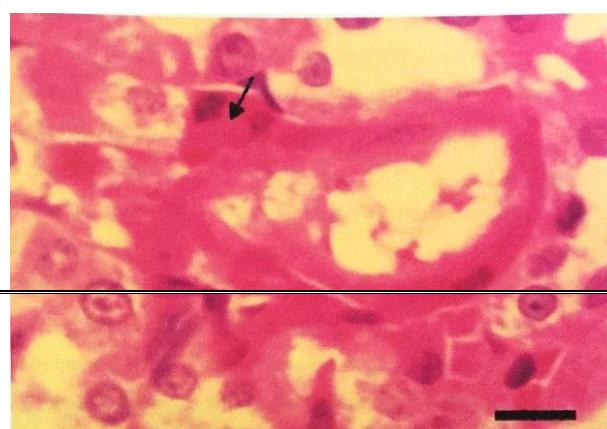
Perubahan ginjal berupa degenerasi hidropsis terjadi pada seluruh kelompok hewan coba. Degenerasi pada kelompok kontrol disebabkan oleh gangguan lain yang bersifat tidak spesifik karena tikus yang digunakan bukan dari kelompok *spesifik pathogen free* (SPF).



Gambar 4. Tubulus ginjal tikus yang mengalami degenerasi hidropsis pada pemberian *A.villosa* pasca inkubasi dalam cairan rumen tanpa adaptasi. Pewarnaan HE, bar: 10 µm.



Gambar 5. Endapan protein pada lumen tubulus ginjal tikus pada pemberian *A.villosa* pasca inkubasi dalam cairan rumen tanpa adaptasi. Pewarnaan HE, bar: 10 µm.



Gambar 6. Tubulus ginjal tikus yang mengalami nekrosa pada pemberian *A.villosa* pasca inkubasi dalam cairan rumen tanpa adaptasi. Pewarnaan HE, bar: 10 μ m.

Degenerasi terjadi sebagai respon mitokondria terhadap iskemia dan keracunan. Mitokondria membutuhkan oksigen untuk fosforilasi oksidatif dan pembentukan adenosine trifosfat (ATP). Sel membutuhkan ATP-ase untuk mengaktifkan pompa natrium-kalium dalam pengaturan keluar masuknya ion. Pada saat sel-sel kekurangan ATP maka sel tidak dapat mempertahankan fungsinya, misalnya fungsi pemindahan natrium keluar dari kalium ke dalam sel melalui pompa natrium-kalium (Corwin, 2001). Iskemia dan keracunan mengakibatkan pompa ion natrium-kalium rusak sehingga kadar natrium dan tekanan osmotic di dalam sel meningkat dan terjadi penarikan air ke dalam sel. Pompa akan memindahkan ion dan air cepat keluar dari sitosol masuk ke dalam reticulum endoplasma. Pada keadaan ini sitoplasma membengkak akibat akumulasi cairan di antara matriks sel dan reticulum endoplasma kasar. Secara mikroskopis sel-sel terlihat mengandung ruangan-ruangan jernih yang mengelilingi inti tetapi tidak sejernih glikogen atau lemak (Cheville, 1999).

Degenerasi hidropsik adalah kerusakan yang bersifat *reversible* jika penyebab dihilangkan, sehingga tubulus dapat kembali ke keadaan normal. Apabila kerusakan berlanjut, maka akan mencapai suatu titik yang bersifat permanen yaitu menyebabkan kematian sel (nekrosa). Pembengkakan sel menyebabkan pecahnya vesikel-vesikel lisosom sehingga terjadi pelepasan enzim-enzim yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Corwin, 2001). Nekrosa dicirikan dengan inti yang piknotis atau inti mengecil dan berwarna biru akibat penggumpalan kromatin inti serta sitoplasma mengambil warna yang lebih intensif sehingga tampak seperti limfosit (Selly, 1999).

Nekrosa dapat disebabkan oleh bahan-bahan yang bersifat toksik, defisiensi pakan, dan gangguan metabolisme termasuk hipoksia. Perubahan utama pada toksik tubula nephritis adalah degenerasi dan nekrosa tubuli. Nekrosa tubuli terutama tubulus proksimal sering diakibatkan oleh iskemia atau zat toksik yang masuk ke epitel. Tubuli proksimal mudah mengalami nekrosa karena merupakan lokasi absorpsi terbesar karena memiliki microvilli penyerap (Lu, 1995).

Perubahan lain yang ditemukan pada tubulus adalah adanya endapan protein di lumen. Keberadaan protein dalam lumen dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah peningkatan permeabilitas kapiler glomerulus yang menyebabkan lebih banyak protein lolos. Tertimbunnya protein dalam jumlah banyak yang melebihi daya serap epitel tubulus, menyebabkan protein mengendap di lumen dan menyebabkan rusaknya epitel tubulus (MacLachlan & Cullen, 1995).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Perlakuan inkubasi *A. villosa* dalam cairan rumen adaptasi dapat mengurangi toksitas senyawa toksik sehingga mengurangi derajat kerusakan ginjal tikus.
2. Perlakuan inkubasi *A. villosa* dalam cairan rumen adaptasi maupun tanpa adaptasi menyebabkan perubahan histopatologi pada glomerulus berupa endapan protein di mesangium dan di ruang Bowman serta perluasan ruang Bowman dan pada tubulus berupa degenerasi hidropis, nekrosa serta endapan protein pada lumen tubulus.
3. Cairan rumen kambing memiliki potensi untuk beradaptasi terhadap bahan toksik *A. villosa* dengan menurunkan efek nephrotoksiknya.
4. Cairan rumen kambing yang telah adaptif terhadap *A. villosa* masih memiliki potensi adaptasi tersebut secara *in vitro* terhadap *A. villosa*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui populasi mikroba rumen yang dapat mendegradasi senyawa-senyawa toksik pada *A. villosa*. Perlakuan inkubasi *A. villosa* dalam cairan rumen adaptasi dapat mengurangi toksitas senyawa sekunder *A. villosa* sehingga dapat diaplikasikan dalam penggunaan *A. villosa* di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bansi, H. 2001. Potensi Lamtoro Merah (*Acacia villosa*) dan Kaliandra Putih (*Calliandra tetragona*) sebagai Pakan Sumber Protein Baru Bagi Ternak Ruminansia. Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

- Bariata, N.C. 2000. Gambaran Histopatologi Toksisitas Hijauan Mlanding Sabrang (*Acacia villosa*) Dosis Tinggi pada Domba Garut. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Cheville, N.F. 1999. Introduction to Veterinary Pathology. 2th ed. United States of America: Iowa State University Press.
- Corwin, E.J. 2001. Handbook of Pathophysiology. Albuquerque New Mexico: University of New Mexico.
- Evans, C. S. 1993. Non Protein Amino Acids in Seeds of Neotropical Species of Acacia. Phytochemistry 32: 123-126.
- Fajar, R. 2004. Pengaruh Pemberian Lamtoro Merah (*Acacia villosa*) terhadap Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus rattus*). Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ganiswara, S.G. 1995. Farmakologi dan Terapi Edisi ke-4. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Ganong, W.F. 1995. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed ke-4. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Girindra, A. 1998. Biokimia Patologi. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Guyton, A.G. 1994. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed ke-7. Penerbit Buku Kedokteran. EGC, Jakarta.
- Hegarty, M.P. 1978. Toxic Amino Acids of Plant Origin. In: Keeler RF, KR Van Kampen., James LF. Effects of Poisonous Plants on Livestock. Proceeding of a Joint United States-Australian Symposium on Poisonous Plants at Utah State Univ. Academic Press.
- Hobson, P.N. 1988. The Rumen Microbial Ecosystem. Elvieser Applied Science. London and New York.
- Hock, B and Elstner, E.F. 2005. Plant Toxicology. 4th ed. New York: Marcel Dekker.
- Jukema, J, dan Danimihardja, S. 1997. Acacia. In: Hainan, I. F and Van der Maesen. Auxiliary Plants. Plant Resources of South Fast Asia. Prosea. Bogor. Indonesia. Pp: 58-60.
- Lemmens, R.H.M.J dan Wulijarni N,S. 1992. Dye and Tannin Producing Plants. Plants Resources of South East Asia. No. 3. Prosea. Bogor. Indonesia. Pp. 22-25.
- Lowry, J.B. 1992. Plants Fed to Village Ruminants in Indonesia. MAAR. Technical Report No. 22. Canberra.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar. Ed ke-2. UI Press. Jakarta.
- MacLachlan, N.J and Cullen, J.M. In: Carlton, WM and McGavin, MD. 1995. Thomson Special Veterinary Pathology. 2nd. Mosby. A Times Mirror Co.
- Manurung, T. 1995. Penggunaan Leguminosa Pohon sebagai Sumber Protein Ransum Sapi Potong. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 1(3): 143-147.
- Malole, M.B.M dan Pramono, C,S,R. 1989. Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Nabib, R. 1983. Patologi Khusus Veteriner. Cetakan Ke-3. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Preston, T.R dan Leng, R.A. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Resources In The Tropic. Penambul Books. Armidale.
- Raharjo, S. 2001. Pengaruh Pemberian Pakan Mengandung Berbagai Fraksi dan Konsentrasi *Acacia villosa* Serta Imbuhan PEG Terhadap Penampilan dan Histopatologi Organ Ayam. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rosenthal, G.A. 1982. Plant Non Protein Amino and Ammino Acid. Biological, Biochemical and Toxicological Properties. Academic Press. London.
- Santoso, G. 2001. Pengaruh Pemberian Dua Varietas *Acacia villosa* (Lamtoro Merah) Terhadap Pertumbuhan dan Histopatologi Organ Ayam. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wyaut, W. 1992. Chemically Mediated Interaction Between Woody Plant and Browsing Mammal. Journal Range Manage. Volume ke-45: 18-24.