

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan  
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi  
Universitas Airlangga

**PENGARUH BIJI KECIPIR DIDALAM PAKAN  
TERHADAP GAMBARAN PROTEIN DARAH TIKUS DEWASA**

SELESAI

Ketua Peneliti :

Drh. Setyawati Sigit, MS.

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1993/1994

SK. Rektor Nomor : 3533/PT.03.H/N/1993

Nomor Urut : 80



Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan  
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi  
Universitas Airlangga

**PENGARUH BIJI KECIPIR DIDALAM PAKAN  
TERHADAP GAMBARAN PROTEIN DARAH TIKUS DEWASA**

Ketua Peneliti :

Drh. Setyawati Sigit, MS.

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

0024619943141



SELESAI

M I L I K  
PERPUSTAKAAN  
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"  
SURABAYA

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1993/1994  
SK. Rektor Nomor : 3533/PT.03.H/N/1993

Nomor Urut : 80



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

# LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : "Pengaruh Biji Kecapir Didalam Pakan Terhadap Gambaran Protein Darah Tikus Dewasa"
- b. Macam Penelitian :  Fundamental  Terapan  Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian
  - a. Nama Lengkap dengan Gelar : drh. Setyawati Sigit, M.S.
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. Pangkat/Golongan/NIP. : Penata Tk.I/IIID/130 808 955
  - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
  - e. Fakultas / Jurusan : Kedokteran Hewan
  - f. Universitas : Airlangga
  - g. Bidang Ilmu yang Diteliti : Biokimia
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 Orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Biokimia FKH - Univ. Airlangga
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
  - a. Nama Instansi : -
  - b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 Bulan
7. Biaya yang Diperlukan : Rp 1.500.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
  - a. Dilaksanakan Tanggal : 16 Desember 1993
  - b. Hasil Penilaian :  Baik Sekali  Baik  Sedang  Kurang

Mengetahui / Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,



Prof. Dr. dr. Soedijono  
NIP. 130261581

DEPARTMENT OF RESEARCH AND RECOVERY  
UNIVERSITY AIRLANGGA



# LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Dharmasraya - Darmasraya - Surabaya 60132

## LEMBAGA PENELITIAN JAWABAN SURVEI PENELITIAN

Penelitian ini berjudul "Pengaruh Biji Kecap Terhadap..."

1. Nama Penelitian

2. Tujuan Penelitian

3. Jenis Penelitian

4. Lokasi Penelitian

5. Waktu Penelitian

6. Metode Penelitian

7. Instrumen Penelitian

8. Teknik Pengumpulan Data

9. Teknik Analisis Data

10. Kesimpulan

11. Saran

12. Daftar Pustaka

13. Lampiran

14. Kesimpulan Akhir

15. Penutup

16. Penutup

17. Penutup

18. Penutup

19. Penutup

20. Penutup

21. Penutup

22. Penutup

23. Penutup

24. Penutup

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENGARUH BIJI KECIPIR DIDALAM  
PAKAN TERHADAP GAMBARAN  
PROTEIN DARAH TIKUS DEWASA

00246 19943141

Peneliti

Drh. Setyawati Sigit, MS



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai : DIP Operasi dan Perawatan Fasilitas UNAIR

S.K. Rektor Nomor : 3533/PT03.H/N/1993

Tanggal : 7 Mei 1993

PENGARUH BIJI KECIPIR DIDALAM PAKAN  
TERHADAP GAMBARAN PROTEIN DARAH TIKUS DEWASA

Peneliti :

SETYAWATI SIGIT,MS.DRH  
CHAIRUL ANWAR NIDOM,MS.DRH  
RETNO HANDAYANI,MS.dr  
TITI HARTATI,SU.DRH  
SOETJIPTO,MS.dr

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai : DIP Operasi dan Perawatan Fasilitas tahun 1993/1994  
S.K. Rektor Nomor : 3533/PT03.H/N/1993  
T a n g g a l : 7 Mei 1993  
Nomor urut : 80

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Pengaruh Biji Kecipir didalam Pakan terhadap Gambaran Protein Darah Tikus Dewasa.

Ketua Peneliti : Setyawati Sigit

Anggota Peneliti : Chairul A. Nidom  
Retno Handajani H.  
Titi Hartati  
Soetjipto

Fakultas/Puslit : Kedokteran Hewan

Sumber Biaya : DIP Operasi dan Perawatan Fasilitas Universitas Airlangga tahun 1993/1994  
S.K. Rektor Nomor: 3533/PT03.H/N/1993  
Tanggal 7 Mei 1993

---

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental di bidang ilmu Biokimia, khususnya untuk mengetahui pengaruh biji kecipir didalam pakan terhadap gambaran protein darah tikus dewasa.

Pakan yang berkualitas merupakan faktor yang sangat menentukan tingkat produksi ternak dan protein adalah salah satu komponen yang penting didalam penyusunan suatu ransum. Didalam memenuhi kebutuhan protein, protein hewani adalah sumber yang paling ideal karena mengandung asam amino yang lengkap dan komposisinya seimbang serta lebih mudah dicernakan daripada protein nabati, tetapi harganya masih dirasakan terlalu tinggi. Sedangkan sumber protein nabati yang utama di Indonesia adalah kedele yang didalam penggunaannya masih bersaing dengan manusia.

Kecipir adalah tanaman serbaguna karena semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan dan yang menarik adalah karena kecipir ini mempunyai kualitas dan komposisi protein yang hampir sama dengan kedele.

Dari permasalahan tersebut diatas peneliti ingin mengetahui sampai sejauh mana pengaruh substitusi protein hewani dalam hal ini teri dengan protein nabati yaitu biji kecipir dalam pakan terhadap parameter gambaran darah tikus dewasa.

Adapun tujuan penelitian ini untuk mengetahui lebih lanjut tentang pengaruh substitusi protein hewani dengan protein nabati dalam pakan terhadap gambaran protein darah tikus dewasa, sehingga dikemudian hari protein nabati



dalam hal ini kecipir dapat dipakai sebagai sumber protein alternatif pengganti kedele.

Pada penelitian ini digunakan hewan percobaan tikus putih jantan dewasa strain Wistar sebanyak 24 ekor dengan berat badan awal sekitar  $190 \pm 25$  gram. Adapun hewan percobaan tersebut dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol yang diberi pakan dengan sumber protein hewani yang berasal dari tepung ikan dan kelompok perlakuan yang diberi pakan dengan sumber protein nabati yang berasal dari tepung biji kecipir. Pemberian pakan dan minuman secara ad libitum selama 14 minggu. Pada akhir minggu ke empat belas dilakukan penimbangan berat badan akhir dan dilakukan pengambilan sampel darah secara intra kardial dengan dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam. Terhadap sampel darah dilakukan pemeriksaan hemoglobin dan hematokrit dan terhadap serum darahnya dilakukan pemeriksaan terhadap protein total, albumin dan globulin fraksi  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  dan  $\tau$ .

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada berat badan akhir, juga tidak terjadi perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada kadar hemoglobin dan hematokrit pada kelompok perlakuan.

Hasil penelitian terhadap kadar protein total darah menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan telah terjadi penurunan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Sedangkan untuk kadar albumin darah tidak terjadi perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Hasil penelitian untuk fraksi globulin, penggantian protein hewani dalam hal ini tepung ikan dengan protein nabati yaitu tepung biji kecipir ternyata tidak menunjukkan perubahan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) baik untuk fraksi  $\alpha_1$ -globulin,  $\alpha_2$ -globulin,  $\beta$ -globulin maupun  $\tau$ -globulin.

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa substitusi protein hewani dengan protein nabati dalam pakan tikus dewasa dapat mempengaruhi gambaran protein darah tikus.

Sebagai saran dapat dianjurkan untuk menggunakan kombinasi penggunaan protein nabati dengan protein hewani didalam pakan, selain itu juga perlu ditambahkan asam amino tertentu didalam diet yang menggunakan biji kecipir sebagai sumber protein.

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur peneliti panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya yang telah dilimpahkan sehingga peneliti dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul "Pengaruh Biji Kecipir didalam Pakan terhadap Gambaran Protein Darah Tikus Dewasa ", dengan harapan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penelitian-penelitian yang akan datang, baik untuk kemajuan Ilmu Biokimia khususnya, maupun penggunaan dalam masyarakat secara luas pada umumnya.

Pada kesempatan ini, peneliti ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
4. Kepala Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk melakukan penelitian ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua kebaikan -  
kebaikan ini.

Surabaya, Desember 1993

Peneliti

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	i
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
BAB I : PENDAHULUAN .....	1
Latar Belakang Masalah .....	1
Perumusan Masalah .....	3
Tujuan Penelitian .....	3
Hipotesis .....	3
Manfaat Hasil Penelitian .....	4
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA .....	5
Kecipir ( <i>Psophocarpus tetragonolobus</i> ) .....	5
Protein Makanan .....	7
Pencernaan dan Penyerapan Protein ..	8
Protein Plasma .....	9
BAB III : METODA PENELITIAN .....	11
Waktu dan Tempat .....	11
Materi Penelitian .....	11
Prosedur Penelitian .....	11
Analisis Data .....	13
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN .....	14
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN .....	17
DAFTAR PUSTAKA .....	18

DAFTAR TABEL

Tabel :	Halaman
1. Komposisi Biji Kecipir dan Kedele dalam 100 gram .....	6
2. Penggolongan Asam Amino .....	7
3. Komposisi Pakan Hewan Percobaan (g) .....	12
4. Hasil Pengamatan pada Akhir Penelitian ...	14

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran :	Halaman
1. Hasil Penentuan Berat Badan Akhir Hewan Percobaan (gram) pada Akhir Penelitian .....	20
2. Hasil Penentuan Kadar Hemoglobin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	21
3. Hasil Penentuan Kadar Hematokrit Darah Hewan Percobaan (g) pada Akhir Penelitian .....	22
4. Hasil Penentuan Kadar Protein Total Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	23
5. Hasil Penentuan Kadar Albumin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Percobaan .....	24
6. Hasil Penentuan Kadar $\alpha$ -1 Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	25
7. Hasil Penentuan Kadar $\alpha$ -2 Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	26
8. Hasil Penentuan Kadar $\beta$ - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	27
9. Hasil Penentuan Kadar $\tau$ - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian .....	28
10. Cara Penentuan Kadar Hemoglobin Darah .....	29
11. Cara Penentuan Hematokrit .....	30
12. Cara Penentuan Kadar Protein Total dalam Serum .....	31
13. Cara Penentuan Kadar Fraksi-Fraksi Protein Serum .....	32

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang Masalah

Pakan merupakan salah satu faktor yang menentukan tingkat produksi ternak, sehingga tanpa diimbangi dengan kualitas maupun kuantitas pakan yang baik akan menurunkan produksi ternak. Usaha-usaha untuk mencari pakan ternak yang berkualitas dan berproduksi tinggi terus dilakukan dengan pertimbangan pakan ternak tersebut mudah didapat, tidak bersaing dengan manusia, disukai ternak serta murah harganya.

Salah satu bahan dasar yang harus ada didalam pakan dan memegang peranan penting didalam hal pertumbuhan, pemeliharaan jaringan dan fungsi-fungsi metabolisme adalah protein (Williams, 1977). Protein dapat berasal dari hewan (protein hewani) dan dari tumbuh-tumbuhan (protein nabati) Didalam memenuhi kebutuhan protein, sumber protein dari tumbuh-tumbuhan masih memegang peranan penting, karena sumber protein hewani masih dirasakan mahal (Sastrapradja, 1976).

Sumber protein nabati utama di Indonesia adalah kedele yang didalam penggunaannya masih bersaing dengan manusia. Untuk itu maka perlu dicari bahan-bahan lain yang nantinya dapat dipakai sebagai pengganti kedele dalam hal tidak berbeda jauh kandungan proteinnya serta mempunyai harga yang murah.



Jenis kacang-kacangan lain banyak dijumpai di Indonesia dan salah satu diantaranya adalah kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*) yang sangat menarik perhatian para peneliti karena mempunyai potensi yang sangat besar untuk dikembangkan sebagai sumber protein nabati disamping kedele (Citroreksoko, 1977). Kecipir atau *Psophocarpus tetragonolobus* atau dinamakan juga Winged Bean, kacang botor, ja'at adalah termasuk genus *Psophocarpus* (Soedarsono, 1979). Tanaman ini berasal dari Arab (Hymowitz, 1977) dan mudah tumbuh di segala jenis tanah (Claydon, 1978). Kecipir merupakan tanaman serba guna, dimana semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan sehinggga dibandingkan dengan tumbuh-tumbuhan sejenisnya maka kegunaan tanaman kecipir ini sangat besar (Cerny, 1978). Biji kecipir mempunyai kadar protein yang tinggi serta komposisi yang mirip dengan kedele.

Untuk mencapai pertumbuhan yang normal, kebutuhan protein tidak hanya berdasarkan atas jumlah protein yang diperlukan saja, tetapi juga berdasarkan atas asam amino spesifik yang diperlukan (Williams, 1977).

Dibandingkan dengan protein nabati, protein hewani mempunyai susunan asam amino terutama asam amino esensial yang lebih lengkap. Asam-asam amino esensial ini sangat diperlukan untuk pertumbuhan yang optimal.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian pengaruh penggunaan bahan nabati didalam hal ini biji kecipir didalam pakan terhadap gamba-

ran protein darah dibandingkan dengan penggunaan bahan hewani yaitu teri.

#### Perumusan Masalah

Permasalahan yang sering timbul dalam penggunaan protein hewani didalam pakan adalah harganya yang terlalu mahal, akan tetapi protein hewani tersebut merupakan sumber asam amino yang lengkap dan seimbang. Untuk itu perlu dianalisis lebih jauh tentang kemungkinan protein nabati dalam hal ini biji kecipir sebagai sumber protein satu-satunya, menggantikan protein hewani yang berasal dari ikan dengan melihat parameter gambaran protein darah tikus dewasa.

#### Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa jauh biji kecipir sebagai protein nabati dapat diberikan pada tikus sebagai hewan percobaan.

#### Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah tersebut diatas, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Tidak terdapat perbedaan gambaran protein darah antara pemberian protein nabati yang berasal dari biji kecipir dibandingkan dengan protein hewani yang berasal dari teri pada tikus dewasa.



### Manfaat Hasil Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan gambaran dari pengaruh biji kecipir didalam pakan terhadap gambaran protein darah tikus putih dewasa, sehingga biji kecipir dapat lebih dikembangkan sebagai sumber protein nabati bagi peternakan di Indonesia.

## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*)

Kecipir berasal dari Arab dan di Indonesia diketemukan oleh Rhumpius (1653) di Ambon dan dikatakan berasal dari Jawa atau Bali, disebut juga winged bean, kacang botor, ja'at dan masih banyak nama lainnya (Hymowitz, 1977 ; Claydon, 1978).

Tanaman kecipir ini mudah tumbuh di segala jenis tanah sampai ketinggian 2000 m diatas permukaan laut, diantara 20 ° L.U. dan 10 ° L.S. Tanaman mulai berbunga setelah berumur sekitar 2 bulan dan panen buah yang muda atau polong untuk sayuran dilakukan pada saat buah berumur kira - kira 2 minggu atau umur tanaman sekitar 2½ - 3 bulan yaitu sebelum buah / polong mencapai panjang maksimum dan terbentuk banyak serat. Polong kecipir ini dapat mencapai panjang 6 - 36 cm dan tiap polong berisi 5 - 20 biji kecipir. Panenan buah / biji yang tua dilakukan setelah tanaman berumur sekitar 4 - 5 bulan. Umbi kecipir dapat dipanen pada saat tanaman berumur sekitar 4 - 8 bulan. Apabila diusahakan, per hektar tanaman kecipir ini dapat menghasilkan biji tua 1,3 - 2,5 ton dan umbi 2450 - 4980 kg (Soedarsono, 1979).

Kecipir merupakan tanaman serba guna, dimana semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan, sehingga apabila dibandingkan tumbuh - tumbuhan sejenisnya maka kegunaan tanaman kecipir ini sangat besar. Ditinjau dari kandungan

proteinnya biji kecipir tidak jauh berbeda dengan biji kedele (Cerny, 1978 ; Claydon, 1978).

Tabel 1. Komposisi biji kecipir dan kedele dalam 100 gram :

	Biji kecipir	Kedele
Air	9,7 g	7,5 g
Protein	32,8 g	34,9 g
Lemak	17 g	18,1 g
Karbohidrat	36,5 g	34,8 g
Kalori	405 kal	231 kal
Kalsium	80 mg	227 mg
Fosfor	200 mg	585 mg
Besi	2 mg	8 mg
Vitamin A	0	110 S.I
Vitamin B1	0,03mg	1,07mg
Vitamin C	0	0

Sumber : Direktorat Gizi DEPKES RI (1979).

Sebagaimana halnya jenis kacang - kacang yang lain, maka kecipir mengandung senyawa - senyawa yang relatif toksik yaitu inhibitor tripsin, hemaglutinin dan senyawa - senyawa lainnya yang dapat dirusak dengan pemanasan dalam waktu tertentu (Cerny, 1978). Menurut Laskowski (1980), inhibitor tripsin yang terdapat pada kedele kurang lebih sama dengan inhibitor tripsin yang terdapat pada biji kecipir.

## Protein Makanan

Salah satu bahan dasar yang harus ada didalam makanan dan mempunyai banyak fungsi penting diantaranya untuk pertumbuhan, pemeliharaan jaringan dan fungsi-fungsi metabolisme adalah protein (Williams, 1977).

Protein merupakan senyawa kompleks dengan berat molekul yang sangat besar, yang terdiri dari unsur-unsur karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan beberapa protein mengandung sulfur dan fosfor. Ada kurang lebih 22 macam asam-asam amino yang menyusun suatu protein (Maynard dkk., 1984).

Asam amino dapat digolongkan menjadi asam amino non esensial yang dapat disintesis oleh tubuh dan asam amino esensial yang tidak dapat disintesis oleh tubuh dan perlu disediakan didalam makanan (Linder, 1992).

Tabel 2. Penggolongan asam amino (Williams, 1977)

Asam amino esensial	Asam amino non esensial	
- treonin	- glisin	- serin
- leusin	- alanin	- arginin
- isoleusin	- asam aspartat	- histidin
- valin	- asam glutamat	- sistein
- lisin	- prolin	- sitrulin
- metionin	- hidroksoprolin	- sistin
- fenilalanin	- hidroksoilisn	
- triptofan	- tirosin	

Pada tikus ada 8 asam amino esensial dan 14 asam amino non esensial.

### Pencernaan dan Penyerapan Protein

Protein makanan sebelum digunakan oleh tubuh, harus dipecah dahulu menjadi bagian yang dapat diserap. Mula-mula makanan mengalami proses pengunyahan baru kemudian masuk kedalam lambung (Martin, 1986).

Lambung merupakan suatu tempat, dimana protein mula-mula dicerna. Pencernaan protein terjadi bila makanan berhubungan dengan enzim pepsin dari getah lambung. Pepsin akan memecah protein menjadi gugusan yang lebih sederhana yaitu proteosa dan pepton. Enzim-enzim yang dihasilkan oleh getah pankreas akan dialirkan ke duodenum dan meneruskan pencernaan protein dengan memecah menjadi peptida yang kemudian akhirnya menjadi asam amino. Bentuk-bentuk asam amino inilah terutama yang akan diserap masuk kedalam peredaran darah dan sedikit peptida-peptida rantai pendek (Bleich et al., 1979).

Kenaikan kadar protein didalam makanan dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri usus yang akan menyebabkan proses hidrolisa protein didalam usus menjadi lebih baik sehingga jumlah asam-asam amino yang dihasilkan meningkat (Allison, 1955).

Proses hidrolisis protein oleh enzim pencernaan akan lebih sempurna apabila makanan mengalami pengolahan misalnya dengan pemanasan atau pemasakan (Orten, 1975).

## Protein Plasma

Protein darah mengandung bermacam-macam protein yaitu campuran yang kompleks dari protein-protein sederhana, lipoprotein-lipoprotein, glikoprotein-glikoprotein dan lain-lain yang terkonyugasi dengan bahan-bahan bukan protein atau protein yang lain. Ada beberapa fraksi protein plasma yang dapat dipisahkan secara elektroforesis berdasarkan berat molekul dan pergerakannya di medan listrik (Martin, 1986).

Fraksi albumin merupakan penyusun protein plasma dengan berat molekul terkecil yaitu sekitar 67.000, larut didalam air dan bergerak paling cepat pada medan listrik. Albumin berfungsi untuk mengatur tekanan osmotik darah, transport senyawa-senyawa dan pada metabolisme protein jaringan (Hoffman, 1955).

Fraksi globulin merupakan campuran yang sangat heterogen dengan berat molekul sekitar 140.000-190.000 bahkan kadang-kadang sampai 1.300.000. Dengan elektroforesis dapat dipisahkan menjadi 3 fraksi yaitu fraksi  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  dan  $\tau$ . Fraksi  $\beta$  dan  $\tau$  globulin mengandung bermacam-macam protein misalnya lipoprotein dan senyawa-senyawa lainnya. Sedangkan antibodi terutama terdapat pada fraksi  $\tau$  dan sedikit pada  $\beta$  globulin (Tietz, 1976).

Fibrinogen yang merupakan globulin dengan berat molekul sekitar 400.000 terdapat terutama pada  $\beta_2$  dan  $\tau$  globulin (Hoffman, 1955).

Kadar protein serum atau rasio albumin terhadap globulin merupakan indeks untuk status gizi protein. Pakan yang rendah protein pada tikus akan menyebabkan penurunan kadar protein total dalam serum dan kadar albumin serum (Allison, 1955).

### BAB III

#### METODA PENELITIAN

##### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Lama penelitian 6 bulan sejak bulan Juni 1993 sampai Nopember 1993.

##### Materi Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan 24 ekor tikus putih dewasa strain Wistar dengan berat badan  $190 \pm 25$  gram dan dibagi menjadi 2 kelompok secara acak masing - masing kelompok terdiri dari 12 ekor tikus.

Kedua kelompok tersebut yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, diberikan pakan dengan komposisi seperti pada tabel 2.

##### Prosedur Penelitian

Biji kecipir yang dipergunakan pada penelitian ini adalah yang sudah tua dan sebelum dipakai, dimasukkan kedalam autoklaf pada suhu  $130^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit untuk menghilangkan pengaruh inhibitor tripsin yang terdapat didalam biji kecipir. Sesudah itu biji kecipir dibuat tepung untuk kemudian dicampur dengan bahan pakan yang lain dan dibuat menjadi bentuk pellet. Minuman yang dibe-



rikan berasal dari air PDAM. Pemberian makanan dan minuman secara ad libitum selama 14 minggu.

Tabel 3. Komposisi Pakan Hewan Percobaan (gram)

Bahan	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
Tepung jagung	2500	2500
Tepung terigu	3900	3400
Kacang hijau	1400	1400
Tepung ikan	1600	-
Tepung biji kecipir	-	1500
Lemak babi	900	700
Selulose	-	800
Vitamin "Roche"	40	40
Vitamin B1	0,48	0,48
Vitamin B2	1,2	1,2
Nikotinamid	12	12
Ca-pantotenat	2,4	2,4
Vitamin B6	0,4	0,4
Kholin bitartrat	45,6	45,6

Keterangan :

1 gram vitamin "Roche" mengandung :

- 100.000 UI vitamin A
- 10.000 UI vitamin D
- 50 mg vitamin B2
- 80 UI vitamin E



Pada akhir masa percobaan dilakukan penimbangan berat badan kemudian dilakukan pengambilan sampel darah secara intrakardial setelah hewan percobaan dipuaskan selama 12 jam.

Dari darah yang didapatkan dilakukan penentuan kadar hemoglobin, hematokrit, sedangkan serumnya dianalisis kadar protein total dan fraksi - fraksi protein yang meliputi albumin,  $\alpha$ -1 globulin,  $\alpha$ -2 globulin,  $\beta$ - globulin dan  $\tau$ - globulin.

Penentuan kadar Hemoglobin dilakukan dengan metode Cyan methemoglobin, sedangkan penentuan hematokrit dengan metode Mikro Hematokrit.

Penentuan kadar protein total dilakukan dengan metode Biuret yang dimodifikasi oleh Weichselbaun dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Sedangkan untuk fraksi-fraksi protein serum dengan metode elektroforesis selulose asetat (Henry , 1983).

#### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji "t" atau "t" test (Steel et al. 1981).

## BAB IV

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian biji kecipir sebagai sumber protein didalam pakan tikus dewasa dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengamatan pada Akhir Penelitian

Hasil pengamatan	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan	Uji kemaknaan	
Berat badan akhir (gram)	208,25±13,68	218,42±15,84	t=1,68	p>0,05
Kadar hemo-globin (g %)	14,54± 1,07	14,49± 0,91	t=0,14	p>0,05
Kadar hema-tokrit (%)	37,54± 3,18	38,08± 2,19	t=0,49	p>0,05
Kadar protein total (g %)	7,15± 0,32	6,83± 0,24	t=2,79	p<0,05
Kadar albu-min (g %)	3,25± 0,37	3,21± 0,19	t=0,26	p>0,05
Kadar α1-globulin (g %)	1,09± 0,11	0,99± 0,12	t=1,93	p>0,05
Kadar α2-globulin (g %)	0,66± 0,10	0,69± 0,09	t=0,41	p>0,05
Kadar β-globulin (g %)	1,48± 0,18	1,34± 0,17	t=1,98	p>0,05
Kadar τ-globulin (g %)	0,66± 0,15	0,62± 0,13	t=0,80	p>0,05

Dari hasil penelitian ini didapatkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada berat badan akhir hewan percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada pemberian biji kecipir sebagai sumber protein nabati pada pakan tikus dewasa selama 14 minggu ternyata belum menimbulkan penurunan berat badan. Efektifitas protein makanan untuk pertumbuhan, tergantung pada kualitas dan kuantitas asam amino (Said, 1969). Oleh karena itu pada tikus muda yang sedang mengalami pertumbuhan sangat peka terhadap perubahan protein makanan dibandingkan dengan tikus yang sudah dewasa.

Dari hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dan hematokrit didapatkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini dapat diartikan tidak adanya anemia pada kedua kelompok hewan percobaan dan bila ada hanya ringan. Pada defisiensi protein didalam diet, anemia baru akan terjadi apabila terjadi defisiensi protein yang berat dan anemia yang terjadi umumnya tidak parah (Pearson, 1961).

Kadar protein total darah tikus menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) yaitu kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol. Status protein pada hewan dapat dilihat dari meningkat atau menurunnya kadar protein didalam plasma. Gangguan pada penyerapan protein dapat mempengaruhi komposisi dan kadar protein plasma pada tikus (Thomas, 1967). Walaupun kandungan protein didalam pakan kelompok perlakuan sudah disesuaikan

dengan kelompok kontrol, disamping itu juga sudah diusahakan untuk menghilangkan pengaruh inhibitor tripsin pada biji kecipir dengan pemanasan tetapi ternyata protein yang dapat diserap oleh hewan percobaan kelompok perlakuan masih terbatas. Hal ini sesuai dengan Claydon (1978) bahwa dengan cara pemanasan tersebut masih diragukan dapat menghilangkan semua pengaruh inhibitor tripsin dan senyawa-senyawa beracun lainnya yang terdapat didalam biji kecipir. Protein nabati dibandingkan dengan protein hewani, tidak saja karena asam amino protein nabati kurang lengkap dan kurang seimbang komposisinya tetapi juga penyerapan protein nabati kurang sempurna (Linder, 1992).

Kadar albumin darah tikus pada kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol, meskipun secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ( $p > 0,05$ ). Pengaruh kadar protein pakan pada tikus terutama akan mengakibatkan perubahan kadar protein total dalam serum dan kadar albumin serum. Perubahan ini berhubungan dengan persediaan protein yang labil (Leveille, 1961).

Kadar fraksi protein plasma yaitu  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$  globulin tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan Leveille (1961) bahwa kadar protein diet pada tikus hanya sedikit, bahkan kadang-kadang tidak mempengaruhi kadar fraksi globulin serum.

## BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

## Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, pemberian protein yang berasal dari biji kecipir sebagai sumber protein nabati pada diet standar tikus dewasa diperoleh hasil gambaran protein darah yang tidak diharapkan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa protein nabati yang berasal dari biji kecipir pada kadar diet percobaan ini tidak dapat dipakai sebagai pengganti protein hewani yaitu tepung ikan, walaupun hasil penelitian ini belum sampai menimbulkan keadaan yang parah sehingga terjadi penurunan berat badan.

Kemungkinan yang dapat menimbulkan hal tersebut diatas adalah karena tidak sempurnanya perusakan inhibitor tripsin dengan pemanasan, kurangnya asam-asam amino tertentu didalam biji kecipir, pencernaan protein nabati yang kurang sempurna atau pengaruh-pengaruh lain dari biji kecipir yang belum diketahui.

## Saran

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, disarankan untuk menggunakan kombinasi penggunaan sumber protein nabati dengan protein hewani atau menambahkan asam-asam amino tertentu didalam diet yang menggunakan biji kecipir sebagai sumber protein sehingga tidak akan mempengaruhi gambaran protein darah dari ternak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allison J.B. 1955. Biological Evaluation of Protein Physiological Review. Vol. 35. p:664-700.
- Bleich H.L. Boro E.S. 1979. Protein Digestion and Absorption. New England Journal of Medicine. Vol. 300.No.12 : 659-663.
- Cerny K. 1978. Comparative Nutritional and Clinical Aspects of the Winged Bean Rations. Winged Bean Flyer 2 (1).L. 14.
- Citroreksoko P.S. 1977. Kandungan Protein Jenis-Jenis Psophocarpus dari Jawa, Madura dan Bali. Ber.Biol. 2 (1) :23-24.
- Claydon A. 1978. The Role of the Winged Bean in Human Nutrition. Winged Bean Flyer 2 (1) :16.
- Hoffman W.S. 1955. The Biochemistry of Clinical Medicine. The Year of Book Publisher. p: 10-41.
- Laskowski J.M. Kato J. 1980. Protein Inhibitor of Proteinases. Ann.Rev.Biochem. 49: 593-626
- Leveille G.A Sauberlich H.E. 1961. Influence of Dietary Level on Serum Protein Components and Cholesterol in the Growing Chick. J.Nutr. 74: 500-504.
- Linder M.C. 1992. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme. Penerbit Universitas Indonesia. hal.89-117.
- Martin D.W.J.R.M.D. Mayer P.A.PhD.D.S.C Rodwell V.W.PhD. 1986. Harper's Review of Biochemistry. 20<sup>th</sup> Ed. Lange Medical Publications Maruzen Asian (Ptc).Ltd. p. 527-539.
- Maynard L.A. Loosli J.K. Hintz H.F Warner R.G. 1984. Animal Nutrition. 7<sup>th</sup> Ed. Tata Mc.Graw-Hill.New Delhi India : 136-185.
- Orten J.M. Nehaus O.W. 1975. Human Biochemistry.9<sup>th</sup>Ed The C.V.Mosby Company,Saint Louis. p. 507-528.
- Pearson W.N. Darby W.J. 1961. Protein Nutrition. Annual Review of Biochemistry. Vol. 30:335-346.
- Said A.A. Hegsted D.M. 1969. Evaluation of Dietary Protein Quality in Adult Rat. J.Nutr. 99: 474-480.

- Sastrapradja S. Lubis S.H.A. 1976. Sumber Hayati. Potensi dan Pengembangannya. Seminar Pendayagunaan Sumber Daya Hayati untuk Menunjang Pembangunan. Bogor.
- Soedarsono J. 1979. Kecipir tanaman "baru" Penghasil Protein dan Minyak. Ceramah di Universitas Negeri Jember.
- Tietz N.W. 1976. Fundamental of Clinical Chemistry. W.B.Saunders Company .Philadelphia, London, Toronto. p. 298-338.
- Thomas O.P. Combs G.F. 1967. Relationship between Serum Protein Level and Body Composition in the Chick. J.Nutr. 91; 468-472.
- Williams S.R. 1977. Nutrition and Diet Therapy. 3<sup>rd</sup> Ed. The C.V.Mosby Company. p. 47-67.



Lampiran 1. Hasil Penentuan Berat Badan Akhir Hewan Percobaan (gram) pada Akhir Penelitian

No	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	199	217
2	188	213
3	199	243
4	223	218
5	220	213
6	216	220
7	220	189
8	227	210
9	219	243
10	195	216
11	198	203
12	195	236
Rata - rata	: 208,25	: 218,42
S.D.	13,68	15,84

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 1,68$

Analisis berat badan akhir hewan percobaan dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 2. Hasil Penentuan Kadar Hemoglobin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	13,85	15,40
2	12,80	15,00
3	14,65	13,70
4	13,28	15,40
5	13,85	12,35
6	14,75	14,65
7	16,20	15,70
8	15,20	14,05
9	15,20	14,17
10	15,85	14,20
11	15,35	14,50
12	13,55	14,75
Rata - rata	14,54	14,49
S.D.	1,07	0,91

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 0,14$

Analisis kadar hemoglobin darah tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 3. Hasil Penentuan Kadar Hematokrit Darah Hewan Percobaan ( % ) pada Akhir Penelitian

No	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	32	40
2	39	38
3	40	36
4	38	39
5	40	37
6	39	37,5
7	42,5	41,5
8	37	37,5
9	32,5	38,5
10	34	39
11	38,5	33
12	38	40
Rata - rata	37,54	38,08
S.D.	3,18	2,19

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 0,49$

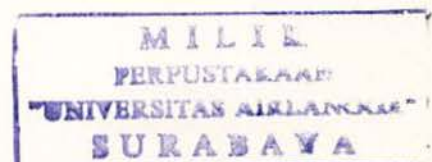
Analisis kadar hematokrit darah tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 4. Hasil Penentuan Kadar Protein Total Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No.	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	7,12	6,66
2	7,12	6,81
3	6,57	6,81
4	7,34	6,89
5	7,65	6,85
6	7,19	6,94
7	7,11	7,09
8	6,74	6,45
9	6,77	6,53
10	7,43	6,60
11	7,45	7,08
12	7,28	7,22
Rata - rata	7,15	6,83
S.D.	0,32	0,24

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 2,79$

Analisis kadar protein total serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ).



Lampiran 5. Hasil Penentuan Kadar Albumin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No.	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	2,89	3,17
2	3,24	3,30
3	2,80	2,99
4	2,88	3,04
5	3,81	2,97
6	3,11	3,23
7	2,89	3,56
8	3,42	3,06
9	2,98	3,32
10	3,65	3,17
11	3,52	3,50
12	3,75	3,26
Rata - rata	3,25	3,21
S.D.	0,37	0,19

Uji kemaknan antara kedua kelompok :  $t = 0,26$

Analisis kadar albumin dalam serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 6. Hasil Penentuan Kadar  $\alpha_1$  - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No.	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	1,11	0,87
2	1,27	1,02
3	1,08	0,98
4	1,15	0,88
5	1,00	0,92
6	1,05	0,98
7	1,09	0,82
8	0,90	0,92
9	1,15	1,07
10	1,24	1,19
11	1,04	1,17
12	0,95	1,12
Rata - rata	1,09	0,99
S.D.	0,11	0,12

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 1.93$

Analisis kadar  $\alpha_1$  - Globulin serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 7. Hasil Penentuan Kadar  $\alpha_2$  - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	0,57	0,73
2	0,53	0,74
3	0,56	0,75
4	0,82	0,76
5	0,73	0,57
6	0,72	0,69
7	0,72	0,60
8	0,58	0,80
9	0,61	0,67
10	0,80	0,61
11	0,58	0,72
12	0,76	0,53
Rata - rata	0,66	0,69
S.D.	0,10	0,09

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 0,41$

Analisis kadar  $\alpha_2$ - globulin serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 8. Hasil Penentuan Kadar  $\beta$  - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Penelitian

No.	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	1,84	1,35
2	1,36	1,11
3	1,31	1,48
4	1,78	1,54
5	1,34	1,72
6	1,54	1,28
7	1,51	1,29
8	1,38	1,34
9	1,31	1,23
10	1,49	1,13
11	1,54	1,29
12	1,35	1,30
Rata - rata	1,48	1,34
S.D.	0,18	0,17

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 1,98$

Analisis kadar  $\beta$  - globulin serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).



Lampiran 9. Hasil Penentuan Kadar  $\gamma$  - Globulin Darah Hewan Percobaan (g %) pada Akhir Percobaan

No.	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	0,70	0,54
2	0,73	0,63
3	0,82	0,61
4	0,69	0,67
5	0,48	0,69
6	0,77	0,75
7	0,87	0,82
8	0,45	0,33
9	0,72	0,64
10	0,45	0,49
11	0,77	0,71
12	0,52	0,54
Rata - rata	0,66	0,62
S.D.	0,15	0,13

Uji kemaknaan antara kedua kelompok :  $t = 0,80$

Analisis kadar  $\gamma$  - globulin serum tikus sesudah percobaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

## Lampiran 10

## CARA PENENTUAN KADAR HEMOGLOBIN DARAH

Sebanyak 5 ml larutan Drabkins dipipet secara tepat kedalam masing - masing tabung U dan B. (U = Unknown ; B = Blanko). Kedalam tabung B ditambahkan 0,02 ml darah memakai pipet Sahli. Pipet Sahli tersebut dicuci 3 - 5 kali dengan larutan Drabkins sampai semua darah bersih dari pipet.

Larutan dicampur baik - baik dan didiamkan 10 menit pada suhu kamar.

Campuran tersebut kemudian dipindahkan kedalam cuvet spektrofotometer dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 540 nm dengan isi tabung B sebagai titik nol.

Kadar hemoglobin yang diperiksa dinyatakan dalam gram persen dan dicari dalam curve standard sianmethemoglobin yang absorbansinya telah dibaca sebelumnya. Dalam penelitian ini digunakan standard sianmethemoglobin dari Boehringer Mannheim dengan 4 macam kadar hemoglobin : 5 gram persen, 10 gram persen, 15 gram persen dan 20 gram persen.

## Lampiran 11

## CARA PENENTUAN HEMATOKRIT

Darah diambil dengan tabung kapiler hematokrit yang mempunyai panjang  $\pm 7,5$  cm dan lubang  $\pm 1$  mm sebanyak  $\frac{2}{3}$  panjang tabung. Salah satu ujung kapiler hematokrit ditutup dengan lilin penyumbat. Kedua tabung kapiler hematokrit diletakkan pada parit - parit alat pemusing hematokrit secara berseberangan dan bagian tabung kapiler yang disumbat melekat pada tepi pemusing mikrohematokrit. Pemusingan dilakukan pada 11.500 - 15.000 putaran selama 5 menit.

Setelah lima menit tabung kapiler hematokrit diambil dan dibaca sampai pada batas atas lapisan sel darah merah dengan menggunakan alat pembaca mikro hematokrit. Apabila hasil dua bacaan dari satu sampel darah berbeda lebih dari 2 persen, maka pemeriksaan diulang.

## Lampiran 12

## CARA PENENTUAN KADAR PROTEIN TOTAL DALAM SERUM

Kedalam 3 tabung reaksi masing - masing U, B dan S dimasukkan :

U : 2 ml serum encer (pengenceran 16 x dengan aquadest).

S : 2 ml protein standard (pengenceran 16 x dengan aquadest).

B : 2 ml aquadest.

Kemudian kedalam masing - masing tabung reaksi ditambahkan 4 ml larutan Biuret, dikocok dan didiamkan selama 30 menit supaya terbentuk warna yang maksimal dan stabil dalam beberapa jam, kemudian dipindahkan ke cuvet dan absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Perhitungan kadar protein yang dicari =

$$R_u - R_b$$

$$\text{-----} \times 5,28 \text{ g / dl}$$

$$R_s - R_b$$

## Lampiran 13

## CARA PENENTUAN KADAR FRAKSI-FRAKSI PROTEIN SERUM

Serum sebanyak 0,001 ml dipindahkan ke kertas selulose asetat dengan pipet, kemudian selulose asetat tersebut dipasang pada alat elektroforesis dan dijalankan pada voltase 120 V. selama 45 menit. Pengecatan dilakukan dengan dimasukkan kedalam larutan cat dari Ponceau S selama satu menit. Warna yang tertinggal di kertas selulose asetat dicuci 3 kali dengan larutan asam asetat 2 persen masing - masing selama 2 menit. Setelah kering, kertas selulose asetat dibuat transparan dengan pemberian parafin dan selanjutnya dibaca dengan alat Densitometer "Quick" dari ATAGO.

