

F/110
2003
1370

Office of the Rector
IPB University

SKRIPSI

KETERSEDIAAN HAYATI KAROTENOID BUBUK DAUN CINCAU
HIJAU (*Cyclea barbata* L.Miers) PADA HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Oleh :
WYLMA
F02499109



2003
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR

IPB University
Logo



SKRIPSI

**KETERSEDIAAN HAYATI KAROTENOID BUBUK DAUN CINCAU
HIJAU (*Cyclea barbata* L.Miers) PADA HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

by Hilda Cipta Muthi, IPB University

**Oleh :
WYLMA
F02499109**



**2003
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR**

Wylma. F02499109. Ketersediaan Hayati Karotenoid Bubuk Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) pada Hati Tikus (*Rattus norvegicus*). Dibawah bimbingan: Fransiska R. Zakaria dan Endang Prangdimurti. 2003

RINGKASAN

Cincau hijau (*Cyclea barbata* L.Miers) merupakan tanaman obat yang secara tradisional digunakan sebagai obat penurun panas, radang perut, rasa mual, dan penurun tekanan darah tinggi. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian yang telah ada, cincau hijau aman untuk dikonsumsi karena tidak bersifat toksik dan terbukti berkhasiat, diantaranya sebagai antialergi, antiinflamasi, menghambat proliferasi sel kanker, dan sebagai antioksidan.

Di dalam daun cincau hijau terdapat karotenoid, flavonoid, dan klorofil, dimana ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan status kesehatan seseorang yang secara umum dikenal sebagai komponen bioaktif. Oleh karena itu, perlu dikaji ketersediaan hayati dari komponen-komponen tersebut. Pada penelitian ini akan dikaji secara khusus bioavailabilitas karotenoid dari bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L Miers) pada hati tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley*.

Tahapan yang dilakukan pada penelitian ini adalah pembuatan bubuk daun cincau hijau dengan *drum dryer*, analisa proksimat, serat kasar, dan karotenoid bubuk daun cincau hijau, pembuatan ransum bubuk daun cincau hijau, pemberian ransum selama kurang lebih sembilan minggu dan penimbangan berat badan tikus setiap dua hari sekali, serta analisa retinol pada hati tikus percobaan. Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih strain *Sprague Dawley* yang berjenis kelamin jantan dan berumur tiga minggu.

Dalam penelitian ini, perlakuan terhadap tikus percobaan dibedakan berdasarkan perbedaan pemberian ransum pada masa deplesi dan replisi. Pada penelitian ini, masa adaptasi berlangsung kurang lebih selama satu minggu, masa deplesi selama enam minggu, dan masa replisi selama dua minggu. Kelompok standar (KS) dan kelompok perlakuan 1 dimana sumber vitamin A berasal dari retinol dan bubuk cincau hijau (SC) tidak mengalami deplesi, dimana kedua kelompok ini tetap mendapat ransum standar dengan kadar vitamin A sebesar 6 ppm pada masa deplesi. Kelompok kontrol negatif (KN), kelompok perlakuan 2 dimana bubuk cincau hijau merupakan satu-satunya sumber vitamin A pada ransum (KC), dan kelompok kontrol positif (KP) mengalami masa deplesi kurang lebih selama enam minggu, dimana pada masa ini, ransum yang diberikan adalah ransum tanpa vitamin A. Selain kelima kelompok diatas, terdapat satu kelompok tambahan yang berfungsi untuk melihat penurunan kadar retinol dalam hati. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari lima ekor tikus kecuali pada kelompok tambahan jumlah tikus sebanyak delapan ekor. Pada masa replisi, kelima kelompok diatas diberi ransum yang sesuai dengan perlakuan masing-masing kelompok.

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah: total karotenoid dari bubuk cincau hijau dan ransum dengan menggunakan spektrofotometer, kadar β -karoten dari bubuk daun cincau hijau dan ransum dengan menggunakan HPLC,

dan kadar retinol pada ransum dan hati tikus dengan menggunakan spektrofotometer dan HPLC.

Berdasarkan hasil analisa proksimat didapatkan bahwa bubuk daun cincau hijau *Cyclea barbata* L. Miers mempunyai kadar abu 8,71% (bb), kadar air 6,87% (bb), kadar protein 15,85% (bb), kadar lemak 0,86% (bb), serta kadar karbohidrat (by difference) 67,71% (bb). Kadar serat kasarnya sebanyak 15,68% (bb).

Berdasarkan hasil analisa, di dalam bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terdapat komponen bioaktif karotenoid, dengan total karotenoid sebesar 240.85 ppm dan kadar β -karoten sebesar 25.38 ppm. Kadar retinol ransum dengan vitamin A adalah sebesar 6.99 ppm (spektrofotometer) dan 6.19 ppm (HPLC), sedangkan, ransum tanpa vitamin A, kadar retinolnya adalah sebesar 0.75 ppm (spektrofotometer) dan 0.84 ppm (HPLC).

Kelompok tambahan bertujuan untuk mengetahui sejauh mana proses deplesi telah terjadi. Tikus pada kelompok ini dibagi menjadi 2 bagian kelompok pembedahan, yaitu pada awal masa deplesi (minggu ke-2) dan pada akhir masa deplesi (minggu ke-8). Pada minggu ke-8, retinol hati tikus telah mencapai tingkat deplesi, yaitu sebesar 6.27 ppm (HPLC) dan 4.94 ppm (spektrofotometer).

Jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi oleh kelompok tikus KS dan SC adalah sebanyak 13.40 g/hari, kelompok tikus KN sebanyak 13.10 g/hari, kelompok tikus KC sebanyak 13.70 g/hari, kelompok tikus KP sebanyak 14.10 g/hari, dan kelompok tambahan sebanyak 14.40 g/hari. Dengan jumlah rata-rata minimum ransum yang dikonsumsi oleh tikus menunjukkan pertumbuhan berat badan yang meningkat secara linier.

Hasil analisa rata-rata retinol dari 2 gabungan hati tikus dengan menggunakan spektrofotometer adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS sebesar 22.19 ppm, kelompok tikus SC sebesar 23.85 ppm, kelompok tikus KN sebesar 4.72 ppm, kelompok tikus KC sebesar 13.37 ppm, dan kelompok tikus KP sebesar 19.30 ppm. Sedangkan dari hasil analisa HPLC adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS sebesar 22.44 ppm, kelompok tikus SC sebesar 23.98 ppm, kelompok tikus KN sebesar 4.70 ppm, kelompok tikus KC sebesar 13.12 ppm, dan kelompok tikus KP sebesar 21.14 ppm.

Berdasarkan total β -karoten dan vitamin A sintetis yang dikonsumsi dapat dihitung faktor akumulasinya. Pada kelompok KS dan KP, sumber vitamin A didapatkan dari vitamin A sintetis, tetapi dengan perbedaan kadar penambahan vitamin A sintetis. Vitamin A sintetis yang ditambahkan pada kelompok KS lebih besar dibandingkan dengan kelompok KP, yaitu sebesar 6 ppm. Penambahan vitamin A sintetis pada kelompok KP adalah sebesar 4.24 ppm. Faktor akumulasi kelompok KS adalah sebesar 1/5.62, yang artinya adalah dari 5.62 μ g vitamin A sintetis yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak 1 μ g retinol dalam hati. Sedangkan, pada kelompok KP yang berfungsi sebagai kelompok kontrol positif, faktor akumulasi yang didapatkan adalah sebesar 1/4.81, yang artinya dari 4.81 μ g vitamin A sintetis yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak 1 μ g retinol dalam hati.

Pada kelompok tikus percobaan SC, sumber vitamin A berasal dari vitamin A sintetis dan karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor akumulasi yang didapatkan dari kelompok SC adalah sebesar 1/(6.32+4.96), yang artinya dari 6.32 μ g vitamin A sintetis dan 4.96 μ g β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak 1 μ g retinol di dalam hati. Sedangkan pada kelompok

KC, sumber vitamin A utama berasal dari karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor akumulasi kelompok KC adalah sebesar 1/13.21, yang artinya dari 13.21 μg β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol di dalam hati.

Faktor akumulasi yang didapatkan pada kelompok KC lebih rendah bila dibandingkan dengan faktor akumulasi kelompok KP. Lebih rendahnya faktor akumulasi pada kelompok KC, dapat disebabkan oleh adanya serat, baik pada ransum maupun pada bubuk cincau hijau itu sendiri, banyaknya penggunaan retinol dalam tubuh, serta kondisi tubuh yang berbeda-beda.

**KETERSEDIAAN HAYATI KAROTENOID BUBUK DAUN CINCAU
HIJAU (*Cyclea barbata* L.Miers) PADA HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh :
WYLMA
F02499109

2003
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR

Halaman ini adalah bagian dari dokumen yang telah diproses oleh sistem IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
1. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
2. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
3. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
4. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
5. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
6. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
7. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
8. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
9. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.
10. Dokumen ini adalah dokumen resmi IPB University dan tidak dapat dimodifikasi.

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

**KETERSEDIAAN HAYATI KAROTENOID BUBUK DAUN CINCAU
HIJAU (*Cyclea barbata* L.Miers) PADA HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh :
WYLMA
F02499109

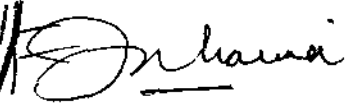
Dilahirkan di Jakarta pada tanggal 5 September 1981

Tanggal lulus: 15 Desember 2003




Ir. Endang Prangdimurti, MSc.

Dosen Pembimbing II


Dr. Ir. Fransiska R. Zakaria, MSc.

Dosen Pembimbing I



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yesus atas segala anugerah dan kasihNya yang melimpah selama hidup penulis sehingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana.

Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Dr. Ir. Fransiska R. Zakaria, MSc. dan Ir. Endang Prangdimurti, Msi. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, nasihat, motivasi, dan perhatian selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Dr. Ir. Harsi D. Kusumaningrum selaku dosen penguji.
3. Balai pasca panen yang telah menyediakan fasilitas untuk analisa spektrofotometer dan HPLC.
4. Papi dan Mami serta adik-adik (Wynne dan Wylke) atas doa, kasih sayang, perhatian, dorongan, dan motivasi kepada penulis.
5. Pak Wachid, Pak Adi, Pak Ganda, Teh Ida, Pak Koko, serta staf laboran di jurusan TPG dan PAU yang telah banyak membantu selama penelitian.
6. Tante Siska yang telah meluangkan waktu untuk mendengarkan keluh kesah penulis dan telah banyak mendoakan penulis sehingga dapat menyelesaikan ujian skripsi dengan baik. Terima kasih pula pada Cek In serta anak-anaknya (Vickie, Angie, Vincie, dan Yudith) yang telah membantu penulis dengan doa.
7. Teman seperjuangan dalam keluarga cincau (Desi H. dan Pracoyo), Anin, serta kakak-kakakku (Arvan, Gede, Dian, dan Ocha), terima kasih atas segala kerja sama dan bantuannya.
8. Teman-teman TPG'36, esp. "GOL-D+" (QQ, Ika, Onie, Sherly, Roni, Poanx, Dian A., Dwi, Anin, Ajg, DW, Desty, BQ, Miaw, Ate, Itinx, Evit, Angka, D-6, Echa, Rid-1, Rna, Tiwi, Tita, Nani, Amir, n Gembir), thanks for everything n I love U all.



9. Keluargaku di P100 (Wira, Shienny, Irma, Fadia) yang sudah memberi support dan banyak bantuan serta Desy yang baru bergabung di P100. Thanks a lot friends ☺. For Shien n Wira, thanx atas persahabatan n kepercayaannya....
 10. Irma Gintings dan Bram, terima kasih atas persahabatannya yang indah. I hope our friendship never dies.
 11. Tim Pendamping IPB, esp. Evy (my dearest sister).... Thanks atas doa, dukungan, dan kebersamaannya.
 12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis.
- Akhir kata, semoga karya ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya. Terima kasih.

Bogor, Desember 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. CINCAU HIJAU (<i>Cyclea barbata</i> L. Miers).....	3
1. Botani dan Klasifikasi <i>Cyclea barbata</i> L. Miers.....	3
2. Manfaat dan Khasiat Biologis <i>Cyclea barbata</i> L. Miers.....	5
3. Produk Olahan Cincau Hijau.....	6
B. HEWAN PERCOBAAN.....	7
C. DRUM DRYER.....	8
D. HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>).....	8
E. KAROTENOID.....	9
F. VITAMIN A.....	11
G. PENYERAPAN DAN PENYIMPANAN KAROTENOID DAN VITAMIN A.....	13
H. KETERSEDIAAN HAYATI (BIOAVAILABILITAS) KAROTENOID.....	15

III. METODOLOGI PENELITIAN	17
A. BAHAN DAN ALAT	17
B. METODE PENELITIAN	17
1. Pembuatan Bubuk Daun Cincau Hijau	17
2. Persiapan Ransum	18
3. Penanganan Tikus Percobaan	18
C. PROSEDUR ANALISA	20
1. Analisa Proksimat Bubuk Daun Cincau Hijau	20
a. Analisa Kadar Air (Apriyantono <i>et al.</i> , 1989)	20
b. Analisa Kadar Protein (Apriyantono <i>et al.</i> , 1989)	20
c. Analisa Kadar Lemak (Apriyantono <i>et al.</i> , 1989)	21
d. Analisa Kadar Abu (Apriyantono <i>et al.</i> , 1989)	21
2. Analisa Kadar Serat Kasar (Apriyantono <i>et al.</i> , 1989)	22
3. Analisis Total Karotenoid dengan Menggunakan Spektrofotometer (Zakaria <i>et al.</i> , 2000)	22
4. Analisis β -karoten dengan Menggunakan HPLC (Zakaria <i>et al.</i> , 2000)	23
5. Analisa Retinol (Zakaria <i>et al.</i> , 2000)	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. BUBUK DAUN CINCAU HIJAU (<i>Cyclea barbata</i> L.Miers)	25
B. PERSIAPAN BERBAGAI JENIS RANSUM	29
C. ANALISA RETINOL DAN KAROTENOID RANSUM	31
D. PERLAKUAN TIKUS PERCOBAAN	32
E. ANALISA RETINOL PADA HATI TIKUS	36



F. FAKTOR AKUMULASI.....	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
A. KESIMPULAN.....	42
B. SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	47

1. Mengingat pentingnya peranan ilmu-ilmu pertanian, khususnya ilmu-ilmu pertanian yang berkaitan dengan produksi pangan, maka IPB University memiliki komitmen untuk meningkatkan kualitas pendidikan dan penelitian di bidang pertanian, khususnya di bidang pertanian yang berkaitan dengan produksi pangan.

2. Mengingat pentingnya peranan ilmu-ilmu pertanian, khususnya ilmu-ilmu pertanian yang berkaitan dengan produksi pangan, maka IPB University memiliki komitmen untuk meningkatkan kualitas pendidikan dan penelitian di bidang pertanian, khususnya di bidang pertanian yang berkaitan dengan produksi pangan.

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi kimia daun cincau hijau (<i>Cyclea barbata</i> L. Miers).....	5
Tabel 2. Komposisi kimia bubuk daun cincau hijau (<i>Cyclea barbata</i> L. Miers) 5	
Tabel 3. Kandungan β -karoten pada beberapa bahan pangan per 100 g berat basah (Zakaria et al., 2000).....	10
Tabel 4. Formulasi ransum (AIN, 1976).....	18
Tabel 5. Pengelompokkan tikus berdasarkan perbedaan pemberian ransum.....	19
Tabel 6. Hasil analisa bubuk daun cincau hijau	26
Tabel 7. Hasil analisa total karotenoid dan β -karoten bubuk daun cincau hijau.....	28
Tabel 8. Hasil analisa retinol dan karotenoid pada ransum.....	31
Tabel 9. Jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi dan asupan retinol serta β -karoten oleh tiap kelompok tikus.....	34
Tabel 10. Hasil analisa rata-rata retinol pada hati tikus.....	36
Tabel 11. Pertambahan jumlah retinol pada hati tikus sesudah masa repleksi	38
Tabel 12. Hasil perhitungan faktor akumulasi.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun <i>Cyclea barbata</i> L. Miers.....	4
Gambar 2. Struktur dasar karotenoid.....	9
Gambar 3. Struktur β -karoten.....	11
Gambar 4. Retinol (Vitamin A).....	12
Gambar 5. Bubuk daun cincau hijau (<i>Cyclea barbata</i> L. Miers).....	25
Gambar 6. Lima jenis ransum tikus.....	29
Gambar 7. <i>Rattus norvegicus</i> strain Sprague Dawley.....	32
Gambar 8. Grafik deplesi retinol hati.....	34
Gambar 9. Grafik pertumbuhan keenam kelompok tikus.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi vitamin mix dan mineral mix	47
Lampiran 2. Analisa kimiawi kasein	48
Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi total karotenoid bubuk daun cincau hijau hasil analisa spektrofotometer.....	48
Lampiran 4. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi β -karoten bubuk daun cincau hijau.....	49
Lampiran 5. Perhitungan konversi karotenoid menjadi retinol	50
Lampiran 6. Perhitungan pembuatan ransum.....	51
Lampiran 7. Perhitungan konsentrasi retinol ransum hasil analisa spektrofotometer.....	53
Lampiran 8. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi retinol ransum	54
Lampiran 9. Perhitungan konsentrasi total karotenoid ransum hasil analisa spektrofotometer.....	56
Lampiran 10. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi β -karoten ransum.....	57
Lampiran 11. Rekapitulasi data berat badan tikus selama masa pemeliharaan	58
Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan.....	62
Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa Spektrofotometer	70
Lampiran 14. Analisa lanjutan retinol hati hasil spektrofotometer	75
Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati...78	
Lampiran 16. Analisa lanjutan konsentrasi retinol hati hasil analisa HPLC...85	
Lampiran 17. Perhitungan faktor akumulasi.....	88

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi menyebabkan meningkatnya kebutuhan masyarakat dalam segala hal, terutama dalam hal kesehatan. Minat masyarakat dalam menggunakan bahan alamiah untuk pengobatan semakin meningkat, terlihat dari makin bertambahnya industri obat asli/alamiah baik skala kecil maupun besar serta makin populernya istilah *Back to Nature* maupun *Functional Food / Healthy Food*. Hal ini mendorong intensifnya penelitian-penelitian yang ditujukan untuk mengeksplorasi dan memanfaatkan tanaman-tanaman yang diyakini memiliki khasiat penyembuhan dan mengolahnya menjadi produk-produk kesehatan yang tergolong “healthy snack” dan “healthy dessert” yang sangat digemari masyarakat dimana produk-produk ini memiliki kelebihan dibandingkan obat sintetis.

Kelebihan-kelebihan tersebut antara lain: banyak ragamnya, harga relatif murah, efek samping yang tidak diinginkan sedikit, serta dapat dikonsumsi dengan lebih nikmat. Penelitian terhadap beberapa jenis pangan fungsional memberikan hasil yang positif dalam meningkatkan kesehatan, dimana dalam bahan pangan tersebut mengandung senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan status kesehatan seseorang, seperti: flavonoid, karotenoid dan klorofil.

Karotenoid adalah sumber utama vitamin A yang banyak terdapat pada makanan. β -karoten merupakan karotenoid provitamin A yang umum terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran (IVACG, 1999). Berdasarkan hasil percobaan yang direview oleh Langseth (2000) dengan menggunakan hewan percobaan dan secara *in vitro*, β -karoten mempunyai aktivitas biologis yang dapat mencegah terjadinya kanker dan melalui penelitian epidemiologis didapatkan bahwa adanya korelasi negatif antara resiko terjadinya kanker paru-paru dengan konsumsi sayur-sayuran dan buah-buahan yang merupakan makanan sumber β -karoten.

Cincau hijau merupakan salah satu contoh pangan fungsional, dimana *Cyclea barbata* L.Miers merupakan suatu tanaman yang termasuk dalam daftar plasma nuftah dan merupakan tanaman obat yang secara tradisional digunakan sebagai obat penurun panas, radang perut, rasa mual, dan penurun tekanan darah tinggi. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian yang telah ada, cincau hijau aman untuk dikonsumsi karena tidak bersifat toksik (Arisudana, 2003) dan terbukti berkhasiat, diantaranya sebagai antialergi (Rachmini, 2000), antiinflamasi (Handayani, 2000), menghambat proliferasi sel kanker (Ananta, 2000), sebagai antioksidan (Koessitoresmi, 2002), dan dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase (Chalid, 2003).

Di dalam daun cincau hijau terdapat karotenoid, dimana karotenoid mungkin dapat berperan sebagai antikanker pada daun cincau. Dalam penelitian ini, dilakukan pengujian bioavailabilitas terhadap karotenoid dengan mengukur akumulasi retinol yang terdapat pada hati. Karotenoid yang terdapat di dalam bahan pangan setelah masuk ke dalam tubuh maka akan diubah menjadi retinol dan diakumulasikan pada hati.

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari bioavailabilitas karotenoid yang terdapat di dalam bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) pada hati tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. CINCAU HIJAU (*Cyclea barbata* L. Miers)

1. Botani dan Klasifikasi *Cyclea barbata* L. Miers

Menurut Sunanto (1995), *Cyclea barbata* L. Miers merupakan salah satu jenis cincau memanjat. *Cyclea barbata* di Indonesia mempunyai beberapa nama daerah, diantaranya adalah tarawulu (Sunda), Camcao (Jawa), dan Kelemayuh telur (Melayu). Klasifikasi tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Ranales
Famili	: Menispermaceae
Genus	: <i>Cyclea</i>
Spesies	: <i>Cyclea barbata</i> L. Miers

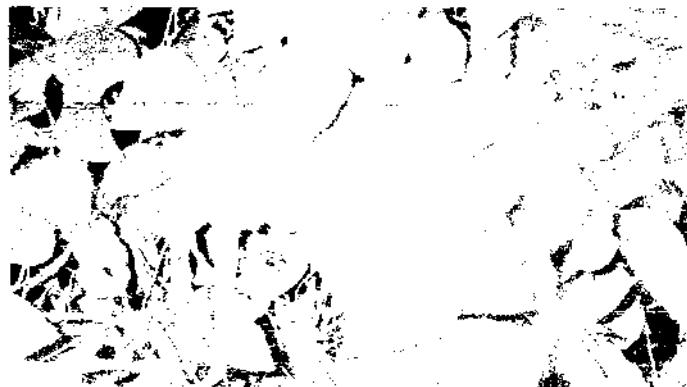
Tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara dan tersebar dari dataran rendah sampai pada ketinggian 800 m dari atas permukaan laut dan dapat dipanen setiap waktu. Tanaman ini disebut cincau hijau karena gelatinnya yang bewarna hijau agak cerah (Sunanto, 1995).

Batang tanaman *Cyclea barbata* L. Miers tumbuh secara menjalar atau memanjat pohon inang atau pagar dengan tinggi atau panjang batang dapat mencapai 6-15 meter. Batangnya berbulu dan berpenampang bulat, berdiameter sekitar 1 cm. Tanaman ini lebih cocok ditanam di tempat yang teduh, lembab, dan dekat dengan sumber air (Sunanto, 1995).

Daun tanaman ini berbentuk perisai dimana bagian tengah daun akan melebar berbentuk bulat telur, bagian pangkalnya berlekuk dan

bagian ujungnya meruncing sehingga keseluruhan bentuknya menyerupai jantung. Permukaan bawah daun berbulu halus dan permukaan atasnya berbulu kasar serta jarang. Panjang daun bervariasi antara 60-150 mm dan mempunyai tulang daun menjari (Sunanto, 1995).

Bunga tanaman *Cyclea barbata* L. Miers tersusun dalam malai yang tumbuhnya terkulai dari ketiak daun atau kadang-kadang dari batangnya. Bentuk bunga kecil-kecil dan berkelompok. Bunga jantan berwarna hijau muda yang panjangnya 30-40 mm dan mempunyai kelopak bunga dengan jumlah bunga daun kelopak 4-5 buah. Sedangkan, bunga betinanya lebih kecil dengan panjang 0.7-1.0 mm dan mempunyai daun kelopak 1-2 buah, daun mahkota bunga 1-2 buah dan putik hanya 1 buah seperti bulu. Benang sari mempunyai satu tangkai sari dengan kepala sari bergerombol diujungnya. Setiap kepala sari mempunyai empat sel yang akan pecah dengan sendirinya jika sudah masak. Buah tanaman *Cyclea barbata* L. Miers kecil-kecil, berbentuk bulat dan agak berbulu. Setiap buah mengandung 1-2 biji yang keras berbentuk bulat telur (Sunanto, 1995).



Gambar 1. Daun *Cyclea barbata* L. Miers

Akar tanaman ini dapat tumbuh membesar seperti umbi, di sana-sini terdapat bengkok-bengkok yang bersudut atau mempunyai tonjolan-tonjolan sehingga bentuknya tidak teratur. Dalam keadaan segar akar ini berdaging dan mengandung cairan, bagian luar berwarna kuning kecoklatan sedangkan bagian dalam berwarna putih kekuningan. Akar

dari tanaman ini rasanya pahit karena mengandung sejenis alkaloid yaitu *cycleine* ($H_{26}-H_{27}-N_2O_2-OH-OCH_3$) (Sunanto, 1995).

2. Manfaat dan Khasiat Biologis *Cyclea barbata* L. Miers

Komposisi kimia dari *Cyclea barbata* L. Miers menurut Sunanto (1995) dapat dilihat pada Tabel 1., sedangkan, komposisi kimia dari bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) menurut Arisudana (2003) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Komposisi kimia daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers)

Komponen	Persentase (% b.b.)	Persentase (% b.k.)
Kadar air	66.33-74.54	197.00-292.77
Protein	2.39-2.70	7.10-10.60
Karbohidrat total yang dapat terhidrolisa	8.41-8.96	24.98-35.19
Serat kasar	6.23-6.70	18.50-26.32
Lemak	0.45-0.51	1.34-2.00

Tabel 2. Komposisi kimia bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers)

Komponen	Persentase (% b.k.)
Kadar air	11.00
Kadar protein	19.31
Kadar serat kasar	40.34
Kadar lemak	1.65
Kadar abu	5.59

Secara tradisional, tanaman *Cyclea barbata* L. Miers telah digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit diantaranya yaitu radang lambung dan tekanan darah tinggi. Sedangkan, akar cincau hijau yang mengandung pati, lemak, dan alkaloid *cycleine* yang rasanya pahit dapat dimanfaatkan untuk mengobati penyakit demam dan sakit perut. Pandoyo (2000) menyatakan bahwa tanaman cincau hijau sudah digunakan sebagai obat penurun panas (*antipyretic*), obat radang lambung, penghilang rasa mual, dan penurun tekanan darah tinggi.



Berdasarkan penelitian Anania (2000), cincau hijau merupakan salah satu tanaman pangan yang mengandung komponen fenol, dimana total fenol pada daun cincau hijau adalah sebesar 0.17% berat kering (bk), pada batang 1.15% bk, dan pada akar 1.64% bk. Penelitian Ananta (2000) melaporkan bahwa ekstrak tanaman cincau hijau mampu menghambat proliferasi sel kanker. Sedangkan, berdasarkan penelitian Handayani (2000), cincau hijau yang diekstrak dengan pelarut non polar dan pada konsentrasi tertentu mempunyai kemampuan untuk menstimulir aktivitas makrofag dalam memproduksi radikal bebas dan ekstrak tersebut tidak bersifat toksik terhadap sel makrofag. Selain itu, ekstrak daun cincau hijau dapat berfungsi sebagai antialergi pada mencit (Rachmini, 2000) dan menurut Koessitoresmi (2002), ekstrak daun cincau hijau dapat meningkatkan kapasitas antioksidan limfosit.

Berdasarkan penelitian Arisudana (2003), pemberian bubuk gel daun cincau hijau pada tikus percobaan tidak menginduksi sitokrom P-420 dan P-450 tetapi dapat meningkatkan aktivitas GST. Pranoto (2003) mengatakan bahwa pemberian cincau hijau pada mencit percobaan memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat tumor yang nekrosis. Selain itu, pemberian cincau hijau pada mencit percobaan juga dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase.

3. Produk Olahan Cincau Hijau

Produk olahan yang umum ditemui dari daun cincau hijau adalah gel cincau hijau. Gel cincau hijau merupakan hasil peremasan daun cincau hijau segar yang dicampur dengan sejumlah air dan cairan yang didapatkan akan mengental dengan sendirinya. Gel cincau hijau dapat terbentuk pada suhu kamar yaitu antara 25-30°C dan berwarna hijau karena mengandung klorofil dan bersifat tidak tembus cahaya atau *opaque* (Sunanto, 1995).

Selain gel cincau hijau, daun cincau hijau dapat diolah menjadi teh cincau, dimana daun cincau hijau dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 45-60 menit (Nugrahenny, 2003) dan sebagai

minuman instan dimana ekstrak daun cincau hijau dikeringkan dengan menggunakan *drum dryer* (Kusumaningsih, 2003). Kedua produk olahan cincau hijau ini dapat dijadikan minuman fungsional yang bermanfaat bagi tubuh. Menurut Nugrahenny (2003), teh cincau terbukti aman untuk dikonsumsi karena tidak menimbulkan efek samping dan efek karsinogen.

B. HEWAN PERCOBAAN

Menurut Malole dan Pramono (1989), hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari berbagai bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Menurut pengertian secara umum, pemanfaatan hewan percobaan adalah untuk penelitian yang berdasarkan pengamatan aktivitas biologis yang bergantung pada bidang ilmu yang dibina, sehingga pemanfaatan hewan percobaan akan mengarah ke suatu tujuan khusus.

Tikus putih yang telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, merupakan hewan yang cocok digunakan untuk berbagai penelitian. Galur tikus putih yang biasa digunakan untuk hewan percobaan di laboratorium adalah Long Evans, Osborne- Mendel, Sherman, Sprague Dawley, dan Wistar. Karakteristik tikus percobaan menurut Muchtadi (1989) yaitu nocturnal (aktif pada malam hari), tidak mempunyai kantung empedu, tidak dapat mengeluarkan isi perutnya (muntah), dan tidak pernah berhenti tumbuh walaupun kecepatannya akan menurun setelah berumur 100 hari.

Tikus merupakan hewan percobaan yang relatif cocok untuk penelitian mengenai bioavailabilitas suatu zat gizi karena memiliki metabolisme yang mirip dengan manusia, dimana tikus termasuk ke dalam hewan mamalia berdarah panas dengan temperatur tubuh antara 35.9°C – 37.5°C . Penelitian mengenai bioavailabilitas karotenoid dengan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan pernah dilakukan sebelumnya, diantaranya adalah penelitian terhadap beta-karoten yang terdapat pada ubi jalar (Rumondang, 1993)



C. DRUM DRYER

Alat pengering untuk bahan-bahan yang berwujud bubur atau pasta adalah *drum dryer*. Prinsip dari pengeringan dengan menggunakan *drum dryer* adalah mengeringkan bahan dengan penggunaan uap panas yang disalurkan ke dalam drum yang berputar sehingga pada saat bahan diletakkan di atas permukaan drum tersebut maka air pada bahan tersebut akan diuapkan. Empat peubah kunci yang mempengaruhi tampilan pengering drum menurut Devahastin (2001) adalah: 1) tekanan uap panas atau suhu media pemanasan, 2) kecepatan putaran drum, 3) ketebalan film, dan 4) sifat umpan, seperti konsentrasi padatan, reologi, dan suhu.

Pengeringan dengan menggunakan *drum dryer* memiliki keunggulan, seperti permukaan kontak bahan yang luas serta waktu kontak bahan yang singkat. Hal ini menyebabkan bahan dapat dikeringkan dengan waktu yang relatif singkat sehingga kerusakan pada bahan pangan akibat pemanasan (suhu tinggi) dapat dikurangi (Brennan *et al.*, 1990). Pengeringan dengan menggunakan *drum dryer* sudah pernah digunakan untuk pengeringan produk olehan cincau hijau yaitu dalam pembuatan minuman instan dari ekstrak cincau hijau (Kusumaningsih, 2003).

D. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Analisis kimia dengan metode kromatografi didasarkan pada pemisahan komponen yang terpartisi diantara dua fase dalam suatu kesetimbangan dinamis dan mengalir. Proses ini dilakukan dengan menggerakkan satu fase secara mekanis (fase gerak), relatif terhadap fase lainnya (fase diam).

Menurut Gritter *et al.* (1991), secara teori pemisahan kromatografi yang paling baik akan diperoleh jika fase diam mempunyai luas permukaan sebesar-besarnya, sehingga memastikan kesetimbangan yang baik antara fase. Persyaratan kedua agar pemisahan baik adalah fase gerak harus bergerak dengan cepat sehingga difusi sekecil-kecilnya. Untuk memperoleh permukaan fase diam yang luas, pada sebagian besar sistem kromatografi digunakan penjerap atau penyanggah berupa serbuk halus. Untuk memaksa fase gerak

9

Karotenoid merupakan lipida. Oleh karena itu, karotenoid larut dalam lipida lainnya dan larut dalam pelarut lemak, seperti aseton, alkohol, dietil eter, dan klorofom. Karoten larut dalam pelarut non polar seperti petroleum eter dan heksan, sedangkan, xantofil larut dengan baik dalam pelarut polar seperti alkohol.

Karotenoid adalah sumber vitamin A yang banyak terdapat pada makanan. β -karoten merupakan karotenoid provitamin A yang umum terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran (IVACG, 1999). Berdasarkan hasil percobaan yang direview oleh Langseth (2000) dengan menggunakan hewan percobaan dan secara in vitro, β -karoten mempunyai aktivitas biologis yang dapat mencegah terjadinya kanker dan melalui penelitian epidemiologis didapatkan bahwa adanya korelasi negatif antara resiko terjadinya kanker paru-paru dengan konsumsi sayur-sayuran dan buah-buahan yang merupakan makanan sumber β -karoten.

Kandungan β -karoten yang terdapat pada beberapa bahan pangan segar dapat dilihat pada tabel 3.

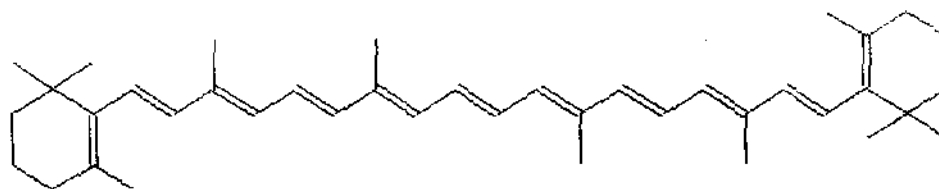
Tabel 3. Kandungan β -karoten pada beberapa bahan pangan per 100 g berat basah (Zakaria et al., 2000)

Bahan pangan	β -karoten (mg)
Daun singkong segar	4.20
Wortel segar	4.82
Ubi jalar segar	0.86

Menurut DeVries dan Silvera (2000), karotenoid memiliki aktivitas antioksidan biologis yang penting. Beberapa karotenoid dapat diubah menjadi vitamin A dalam tubuh. Semua karotenoid penting bagi kesehatan karena sifatnya sebagai antioksidan, baik yang bersifat sebagai provitamin A maupun tidak. β -karoten tidak bersifat toksik, begitu pula dngan karotenoid lainnya. Lin (1994) mengatakan bahwa β -karoten dan karotenoid lainnya tersebar luas pada tanaman-tanaman, dimana mereka berfungsi sebagai antioksidan dengan mengikat singlet oksigen.

Menurut Papas (1999), karotenoid dapat melindungi tubuh dari penyakit kardiovaskuler, mengurangi resiko terjadinya kanker, meningkatkna

sistem kekebalan tubuh, dan merangsang pembuatan enzim detoksifikasi. Selain itu, likopen (salah satu jenis karotenoid) telah terbukti secara epidemiologi menurunkan resiko kanker prostat.



Gambar 3. Struktur β -karoten

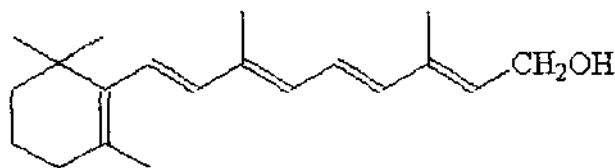
β -karoten merupakan molekul asimetris, yaitu separuh bagian kiri merupakan bayangan cermin dari bagian kanannya. β -karoten mempunyai 40 atom karbon, yang terdiri dari 8 unit isoprene dan 11 ikatan rangkap, serta mempunyai 2 cincin β -ionon yang terletak masing-masing satu cincin pada ujung molekulnya (Goodwin, 1976). Gross (1991) mengatakan bahwa β -karoten dengan dua cincin β merupakan provitamin A dengan aktivitas yang paling tinggi. Sedangkan, karotenoid provitamin A lainnya yang mempunyai satu cincin β (seperti α -karoten dan γ -karoten) memiliki aktivitas yang lebih rendah.

F. VITAMIN A

Vitamin A atau retinol, merupakan senyawa polisakarida yang mengandung cincin sikloheksenil, seperti yang terlihat pada Gambar 4. Vitamin A adalah nama umum yang menunjukkan semua senyawa selain karotenoid, yang memperlihatkan aktivitas biologis sebagai retinol. Pada hewan, vitamin A terdapat secara berlimpah dalam hati, dan pada umumnya disimpan dalam bentuk alkohol bebas, atau teresterifikasi. Sedangkan, pada tanaman, aktivitas vitamin A terdapat di dalam sejumlah karotenoid yang selama metabolisme dikonversi menjadi vitamin A setelah penyerapan (Muchtadi *et al.*, 1993).

Vitamin A pada umumnya stabil terhadap panas, asam, dan alkali, tetapi sangat mudah teroksidasi oleh udara dan akan rusak bila dipanaskan pada suhu tinggi bersama udara, sinar, dan lemak yang sudah tengik.

Keaktifan biologis karoten jauh lebih rendah dibandingkan dengan vitamin A, karena karoten merupakan sumber utama vitamin A bagi masyarakat di negara yang sedang berkembang, maka absorpsi dan ketersediaan karoten perlu diketahui (Muchtadi *et al.*, 1993).



Gambar 4. Retinol (Vitamin A)

Fungsi vitamin A yang paling dikenal adalah dalam proses penglihatan dan untuk pertumbuhan yang normal. Di dalam tubuh ada senyawa lain yang dapat diubah menjadi retinol, yaitu prekursor vitamin A. Prekursor vitamin A yang paling penting adalah karoten, pigmen tanaman berwarna kuning oranye. Karoten larut dalam air dan juga lemak. Vitamin A diukur dalam retinol ekivalen, dimana $1 \mu\text{g RE} = 6 \mu\text{g } \beta\text{-karoten} = 12 \mu\text{g}$ karotenoid lain.

Defisiensi vitamin A dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tubuh dan karena tubuh tidak sanggup mensintesis rodopsin tanpa retinol, maka kemampuan melihat dalam sinar yang kurang akan terganggu yang akhirnya menyebabkan buta senja (*night blindness*). Kekurangan vitamin A juga dapat mempengaruhi kesehatan kulit and menurunkan daya tahan terhadap infeksi sehubungan dengan kondisi yang jelek dari selaput lendir saluran pernafasan. Vitamin A kadang-kadang disebut sebagai “vitamin anti infeksi”. Dalam kasus yang ekstrim kelenjar air mata diblok and membran pada mata bagian depan menjadi kering dan meradang yang dikenal dengan xerophthalmia. Defisiensi yang hebat dan lama berakibat terjadinya pemborokan pada kornea mata yang menyebabkan kebutaan (Wulandari, 2000).

Tarwotjo (1990) mengatakan bahwa pada tikus yang dibuat kekurangan vitamin A akan ditemukan gejala kelainan tubuh. Retardasi pertumbuhan berat badan dan berkurangnya nafsu makan merupakan gejala yang timbul pertama kali, yaitu dalam 2 hari permulaan. Kekurangan vitamin

A tidak hanya menjalankan peran tidak langsung, tetapi juga peran langsung dalam pertumbuhan berat badan

G. PENYERAPAN DAN PENYIMPANAN KAROTENOID DAN VITAMIN A

Setelah dikonsumsi, vitamin A maupun karotenoid lainnya yang terdapat pada bahan pangan akan dilepaskan oleh kerja enzim pepsin di dalam lambung dan oleh enzim-enzim proteolitik yang terdapat di dalam usus bagian atas. Selanjutnya, karotenoid dan turunan-turunan vitamin A akan terkumpul di dalam globula-globula lemak yang terdispersi di dalam usus bagian atas. Vitamin A dalam bentuk emulsi lemak tersebut selanjutnya dihidrolisis oleh berbagai enzim esterase dalam pankreas, akan membebaskan karotenoid dan vitamin A. Di samping itu, trigliserida, fosfolipida, dan ester-ester kolesterol juga mengalami hidrolisis. Partikel-partikel teremulsi yang terbentuk, mula-mula berdifusi ke dalam lapisan glikoprotein di sekitar mikrofili sel-sel epitel usus, dan kemudian diserap (Muchtadi *et al.*, 1993).

Menurut Greenberg (1968), kemampuan menyerap karotenoid dari bahan pangan berbeda-beda antara satu spesies dengan spesies lainnya. Contohnya, manusia, burung, dan ruminansia dapat menyerap vitamin A dan karotenoid, sedangkan, babi dan tikus hanya dapat menyerap vitamin A. Babi dan tikus dapat mengubah karoten menjadi vitamin A di dalam mukosa usus.

Sebagian besar retinol yang diserap, diesterifikasikan dengan asam palmitat di dalam sel-sel mukosa dengan bantuan ATP dan koenzim A. Di samping itu, sebagian retinol juga dioksidasi menjadi retinaldehid, dan sedikit aldehid yang selanjutnya akan dioksidasi menjadi asam retinoat (Muchtadi *et al.*, 1993).

β -karoten dan karotenoid lainnya yang merupakan provitamin A, sebagian besar membelah pada ikatan rangkap 15,15' menghasilkan dua molekul all-trans retinaldehida. Enzim yang mengkatalisis reaksi tersebut adalah 15,15'' karotenoid deoksigenase, adalah suatu enzim yang larut dengan aktivitas rendah apabila kekurangan konsumsi protein. Beberapa karotenoid yang terhidroksilasi tunggal, kemungkinan juga diubah menjadi satu molekul retinaldehida oleh pembelahan rantai karotenoid, yang diikuti oleh

pemendekan rantai. Sebagian besar retinaldehida yang terbentuk direduksi oleh enzim retinaldehida reduktase menjadi retinol yang kemudian diesterifikasi. Ester retinal bersama-sama dengan trigliserida, fosfolipida, dan ester kolesterol kemudian bersatu di dalam kilomikron (Muchtadi *et al.*, 1993).

β -karoten dan karotenoid provitamin A yang lain diubah menjadi retinal dalam sel mukosa usus, dan reaksi yang sama terjadi dalam hati dan kemungkinan juga dalam organ lainnya. Retinal dan retinol bersifat reversible dengan adanya enzim-enzim yang membutuhkan NAD atau NADP. Sebagian enzim-enzim dehidrogenase tersebut tidak begitu spesifik seperti enzim pada hati, sedangkan enzim lainnya, seperti yang terdapat pada retina bersifat sangat spesifik. Esterifikasi dan de-esterifikasi vitamin A yang terjadi secara luas dalam hati, usus, dan juga dalam jaringan lainnya, dikatalisis oleh dua kelompok enzim yang berbeda, yaitu retinil ester sintetase dan hidrolase (Muchtadi *et al.*, 1993).

Apabila vitamin A terdapat sebagai lapisan tipis, dengan adanya oksigen atau cahaya akan segera teroksidasi membentuk epoksida, hidroperoksida, dan produk-produk hasil siklisasi yang tidak diinginkan. Dengan adanya nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) dan flavin adenin dinukleotida (FAD), secara biologis retinaldehid diubah menjadi asam retinoat yang selanjutnya akan dioksidasi oleh enzim hidrolase yang bergantung pada NADPH, menjadi asam-4-hidroksiretinoat. Asam retinoat atau metabolitnya, kemungkinan akan mengalami pemendekan rantai secara bertahap dengan kehilangan karbondioksida, dan fragmen 3-karbon atau 2-karbon. Akhirnya, suatu enzim epoksidase dapat mengubah asam retinoat menjadi asam 5,6-epoksi-retinoat (Muchtadi *et al.*, 1993).

Pada umumnya produk-produk berantai pendek dari vitamin A yang mempunyai aktivitas biologis kecil, atau tidak memiliki aktivitas biologis sama sekali, akan dipisahkan dalam urin, sedangkan, produk-produk yang mengandung rantai utuh sebagian besar dipisahkan dalam empedu. Pemisahan dalam empedu, produk-produk utamanya adalah komponen-komponen yang sangat polar termasuk beta-glukuronida dari retinol dan asam retinoat. Senyawa beta-glukuronida dan beberapa turunannya yang terdapat di

dalam empedu, akan diserap kembali ke dalam usus dan kemudian diangkut menuju hati. Sirkulasi yang demikian dikenal dengan sirkulasi vitamin A enterohepatik. Selain itu, beberapa retinol yang diangkut ke jaringan oleh suatu protein akan diesterifikasi dan akan diangkut kembali menuju organ hati (Muchtadi *et al.*, 1993).

Di dalam tubuh, sebagian besar vitamin A disimpan di dalam hati, dan sisanya ditemukan di dalam jaringan-jaringan. Vitamin A tersebut sebagian besar merupakan suatu kompleks lipoprotein atau glikoprotein, yang 90 persen berbentuk ester retinil, dan sisanya berbentuk retinil yang tidak teresterifikasikan (Muchtadi *et al.*, 1993).

H. KETERSEDIAAN HAYATI (BIOAVAILABILITAS) KAROTENOID

Menurut Schmidl dan Labuza (2000), bioavailabilitas adalah sejumlah senyawa atau komponen dari bahan pangan yang dapat diukur setelah penyerapan di dalam suatu jaringan. Menurut Zakaria *et al.* (2000), bioavailabilitas adalah pengukuran kuantitatif terhadap kegunaan zat gizi pada kondisi spesifik dalam membantu proses pertumbuhan struktur dan fisiologis organisme normal. Pengukuran bioavailabilitas dari suatu bahan pangan merupakan cara untuk mengetahui nilai biologi dan evaluasi nilai gizinya serta untuk menunjukkan daya cernanya sehingga dapat dimanfaatkan oleh organisme yang mengkonsumsinya. Umumnya untuk menentukan nilai biologis dan evaluasi nilai gizi digunakan cara biologis dengan menggunakan hewan percobaan.

Bioavailabilitas karotenoid dari bahan pangan, ekstrak, atau produk sintetik sangat beragam. Beberapa faktor yang mempengaruhi penyerapan dan bioavailabilitas karotenoid adalah: 1) proses pengolahan bahan pangan, 2) penyimpanan, dan 3) pemasakan (Papas, 1999). Pemasakan bahan pangan dengan menggunakan uap panas dapat meningkatkan jumlah karotenoid yang dapat diserap oleh tubuh, karena terjadinya denaturasi protein yang akan melepaskan karotenoid dari matriks makanan.

Bioavailabilitas karotenoid sudah banyak diteliti, diantaranya adalah penelitian yang telah dilakukan oleh Rumondang (1993) dan Meridian (2000).



Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Rumondang (1993) terhadap ketersediaan hayati β -karoten dari tanaman ubi jalar didapatkan faktor konversi rata-rata dari ubi jalar goreng sebesar 1/6.62 yang berarti dari 6.62 μg β -karoten yang dikonsumsi akan dihasilkan 1 μg retinol dan faktor konversi yang didapatkan dari ubi jalar rebus adalah sebesar 1/7.39. Dari penelitian Meridian (2000) terhadap minuman emulsi karoten minyak sawit didapatkan factor akumulasi sebesar 1/9.09. Pada penelitian bioavailabilitas karotenoid, tikus percobaan harus melewati masa deplesi, yaitu masa untuk menurunkan kadar retinol yang telah terakumulasi di dalam hati, yang berfungsi untuk mempermudah melihat adanya perbedaan jumlah retinol sebelum dan sesudah masa replasi.

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L.Miers) yang diperoleh dari Sumedang. Bahan yang digunakan untuk ransum tikus adalah minyak kedelai OZ Oil, kasein teknis, selulosa teknis, mineral mix, vitamin mix, maizena merk HONIG dan air. Bahan lain yang digunakan adalah kristal β -karoten, dan kristal retinil asetat (Sigma). Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley* yang berjenis kelamin jantan yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat-Obatan dan Makanan, Jakarta.

Bahan kimia yang digunakan untuk analisa adalah HCl, H₂O, K₂SO₄, HgO, H₂SO₄, NaOH, Na₂S₂O₃, H₃BO₃, heksan, KCl, EDTA, aseton, alkohol, KOH, kloroform, 2-propanol, larutan PBS, TCA, etanol, petroleum eter, asetonitril, dan metanol (Merck).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting bedah, pinset, *chopper*, *drum dryer*, gelas ukur, baskom, neraca analitik, tabung sentrifuse, tabung reaksi, sentrifuse, pipet, blender, inkubator, spektrofotometer, freezer, tanur, alat destilasi, labu Kjeldahl, labu Soxhlet, vortex, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), dan kertas saringan.

B. METODE PENELITIAN

1. Pembuatan Bubuk Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L.Miers).

Daun cincau segar disortasi, dicuci, dan ditimbang. Setelah itu daun dihancurkan dengan menggunakan *chopper*, lalu ditambahkan air pada suhu kamar dengan perbandingan 1:3. Hancuran yang terbentuk dikeringkan dengan menggunakan *drum dryer*. Agar lebih halus, hasil pengeringan diblender lalu disimpan dalam wadah tertutup serta gelap dan jauh dari sinar matahari.

2. Persiapan Ransum

Ransum yang diberikan sesuai dengan kebutuhan gizi tikus (American Institute of Nutrition, 1976) seperti yang dapat dilihat Tabel 4.

Tabel 4. Formulasi ransum (AIN, 1976)

Komposisi	Jumlah (%)
Lemak	5
Protein	20
Serat	5
Mineral	3,5
Campuran vitamin	1
Alpha-corn starch (maizena)	Untuk membuat 100%
Air	10

Pembuatan ransum dengan cara mencampurkan bahan-bahan, seperti kasein teknis, minyak kedelai, selulosa teknis, mineral mix, vitamin mix, maizena, dan air dengan menggunakan varimixer. Ransum yang dibuat adalah ransum standar dengan kadar vitamin A sebesar 6 ppm, ransum tanpa vitamin A, ransum dengan kadar vitamin A standar serta penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), ransum tanpa vitamin A dengan penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), dan ransum dengan kadar vitamin A yang setara dengan kadar vitamin A yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau yang ditambahkan pada ransum perlakuan yaitu sebesar 4.24 ppm (setara dengan yang terdapat di dalam 191.3 g bubuk daun cincau hijau).

3. Penanganan Tikus Percobaan

Tikus percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih strain *Sprague Dawley*, yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat-obatan dan Makanan, Jakarta. Tikus yang digunakan pada penelitian ini berumur 21 hari dan berjenis kelamin jantan.

Tikus percobaan dibagi menjadi lima kelompok utama dan satu kelompok tambahan. Lima kelompok utama dalam penelitian ini adalah:

kelompok standar (KS), kelompok perlakuan 1 dimana sumber vitamin A berasal dari retinol dan bubuk cincau hijau (SC), kelompok kontrol negatif (KN), kelompok perlakuan 2 dimana bubuk cincau hijau merupakan satu-satunya sumber vitamin A pada ransum (KC), dan kelompok kontrol positif (KP). Tiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus jantan yang dikandangkan secara individual. Pengelompokkan tikus dibedakan atas perbedaan pemberian ransum pada masa deplesi vitamin A dan pada masa replasi. Pengelompokkan tikus dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengelompokkan tikus berdasarkan perbedaan pemberian ransum.

Kel. Tikus	Masa Adaptasi (1 minggu)	Masa Deplesi (6 minggu)	Masa Repleksi (2 minggu)
KS	Ransum standar	Ransum standar	Ransum standar
SC			Ransum standar + bubuk cincau
KN		Ransum tanpa Vitamin A	Ransum tanpa Vitamin A
KC			Ransum tanpa Vitamin A + bubuk cincau
KP			Ransum dengan kadar Vitamin A sesuai dengan bubuk cincau
Kel. Tamb.			-

Pemberian ransum dibagi menjadi tiga tahap, yaitu masa adaptasi, masa deplesi, dan masa replasi. Pemberian ransum dilakukan secara *ad libitum* minimum sepersepuluh dari berat tikus kurang lebih selama sembilan minggu. Demikian pula, sama halnya dengan pemberian air minum, dimana air minum diberikan secara *ad libitum*. Berat badan tikus ditimbang setiap 2 hari sekali.

Pembedahan tikus kelompok tambahan pada penelitian ini dibagi menjadi dua bagian, yaitu sebelum masa deplesi berlangsung dan sesudah masa deplesi berlangsung. Masing-masing bagian terdiri dari 4 ekor tikus percobaan.

Setelah 2 minggu masa replasi, semua tikus dibedah untuk diambil hatinya. Sebelum disimpan, sampel hati ditimbang dan setelah

itu, hati disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C . Kemudian dilakukan analisa retinol pada hati tikus dengan menggunakan HPLC dan spektrofotometer.

C. PROSEDUR ANALISA

1. Analisa Proksimat

a. Analisa Kadar Air (Apriyantono *et al.*, 1989)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode oven. Oven yang digunakan mempunyai kisaran suhu $100-102^{\circ}\text{C}$. Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator selama 10 menit, kemudian ditimbang (W_1). Sampel (bubuk daun cincau hijau) ditimbang dengan tepat ± 5 gram bersama dengan cawan (W_2). Cawan diletakkan dalam oven selama 4-6 jam (sampai beratnya konstan). Setelah itu cawan dipindahkan ke dalam desikator, dibiarkan dingin, kemudian ditimbang (W_3). Kadar air ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar air (bb)} = [(W_2 - W_3) / (W_2 - W_1)] \times 100\%$$

b. Analisa Kadar Protein (Apriyantono *et al.*, 1989)

Metode yang digunakan untuk menganalisa kadar protein sampel adalah metode Kjeldahl. Sebanyak $\pm 0,1$ g sampel, $1,9$ g K_2SO_4 , 4 mg H_2O , 2 ml H_2SO_4 dan beberapa butir batu didih dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, lalu didestruksi sampai cairan menjadi jernih. Selanjutnya ditambahkan sejumlah air dan didinginkan. Isi labu dipindahkan ke alat destilasi Kjeldahl dan hasilnya (NH_3) ditangkap dengan H_3BO_3 .

Destilasi dilakukan setelah penambahan $8-10$ ml $\text{NaOH}-\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ke dalam alat destilasi. Erlenmeyer yang berisi larutan asam borat jenuh dengan $2-4$ tetes indikator (campuran 2 bagian metil merah $0,2\%$ dalam alkohol dengan 1 bagian metil biru $0,2\%$ dalam alkohol) diletakkan

dibawah kondensor dengan ujung kondensor terendam dalam larutan H_3BO_3 . Setelah warna dalam erlenmyer berubah menjadi hijau dan tertampung kira-kira 5 ml destilat, tabung kondensor dibilas dan destilasi dihentikan.

Destilat diencerkan dengan akuades sampai mencapai volume 50 ml dan dititrasi dengan HCl 0.01 N sampai terjadi perubahan warna menjadi abu-abu. Kadar protein ditentukan dengan perhitungan:

$$\text{Kadar protein (bb)} = \frac{(a-b) \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 100 \times 6.25 \times 100\%}{c}$$

Keterangan:

- a = Volume HCl 0.01 N sebagai peniter blanko (ml)
- b = Volume HCl 0.01 N sebagai peniter contoh (ml)
- c = Berat sampel (mg)

c. Analisa Kadar Lemak (Apriyantono *et al.*, 1989)

Untuk analisa kadar lemak sampel digunakan metode soxhlet. Sampel sebanyak 1.5 sampai 2 gram (W_{sampel}) diekstraksi dengan pelarut heksan dalam alat soxhlet selama ± 6 jam. Hasilnya diuapkan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C sehingga diperoleh berat yang konstan (W_{lemak}). Perhitungan:

$$\text{Kadar lemak (bb)} = \frac{(W_{\text{lemak}})}{(W_{\text{sampel}})} \times 100\%$$

d. Analisa Kadar Abu (Apriyantono *et al.*, 1989)

Cawan porselin kosong dikeringkan dalam tanur yang bersuhu $\pm 400^\circ\text{C}$ selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 20 menit, kemudian ditimbang (W_1). Sampel (bubuk daun cincau hijau) ditimbang dengan tepat ± 1.5 gram bersama dengan cawan (W_2). Cawan beserta sampel diletakkan dalam tanur selama 4 jam. Setelah itu cawan dipindahkan ke dalam desikator, dibiarkan dingin, kemudian ditimbang (W_3). Kadar abu ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = [(W_3 - W_1) / (W_2 - W_1)] \times 100\%$$

2. Analisa Kadar Serat Kasar (Apriyantono *et al.*, 1989)

Serat kasar merupakan residu dari bahan atau sampel setelah diperlakukan dengan asam dan alkali mendidih. Sampel ditimbang sebanyak ± 1 gram (W_{sampel}), dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian berturut-turut direfluks dengan H_2SO_4 mendidih 1.25% sebanyak 100 ml dan NaOH mendidih berlebih masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya sampel yang telah direfluks tadi disaring dengan menggunakan kertas saring ($W_{\text{kertas-sampel-refluks}}$) yang telah ditimbang terlebih dahulu (W_{kertas}) sambil dicuci (berturut-turut) menggunakan K_2SO_4 100%, air mendidih dan alkohol 95% ± 15 ml. Setelah pencucian tersebut, kertas saring berisi sampel tadi dikeringkan dalam oven $102^\circ C$ lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang.

Perhitungan:

$$\% \text{ kadar serat (bb)} = \frac{(W_{\text{kertas-sampel-refluks}}) - (W_{\text{kertas}})}{(W_{\text{sampel}})} \times 100$$

3. Analisis Total Karotenoid dengan Menggunakan Spektrofotometer (Zakaria *et al.*, 2000)

Sebanyak 0.25 g sampel diekstraksi dengan menambahkan 5 ml heksan-aseton (1:1) dua kali atau tiga kali, kemudian dikeringkan dengan menggunakan nitrogen. Saponifikasi dilakukan dengan menggunakan 4 ml 5% KOH dalam metanol. Sonikasi dan pemanasan dilakukan dalam water bath dengan suhu $70^\circ C$ selama 30 menit, kemudian ekstrak didinginkan lalu ditambahkan 4 ml air tanpa ion dan 8 ml heksan. Setelah sentrifugasi, lapisan atas diambil dan dikeringkan dengan nitrogen. Saponifikasi dilakukan dua kali, kemudian hasilnya digabungkan dengan ekstrak yang pertama.

Ekstrak dari heksan ditepatkan 10 ml kemudian ditambahkan 3 ml 5% asam asetat, kemudian divorteks dan disentrifugasi selama 5 menit. Lapisan atas diambil dan dikeringkan dengan nitrogen kemudian dilarutkan dalam 4 ml heksan. Absorbansi diukur dengan menggunakan

spektrofotometer yang panjang gelombangnya 450 nm, dengan menggunakan heksan sebagai blanko untuk menentukan total karotenoid.

4. Analisis β -karoten dengan Menggunakan HPLC (Zakaria et al., 2000)

Persiapan sampel awal sama seperti persiapan sampel untuk analisa karoten dengan menggunakan spektrofotometer. Ekstrak yang dihasilkan dari persiapan sampel awal kemudian dikeringkan dengan menggunakan nitrogen dan kemudian dilarutkan dalam 5% kloroform dalam metanol, kemudian disimpan dalam suhu -20°C selama semalam. Larutan kemudian disaring dengan $0.22\ \mu\text{m}$ membran dan keringkan dengan nitrogen yang kemudian dilarutkan dalam fase bergerak dari HPLC (metanol:asetonitril:kloroform = 48.5:48.5:3.0).

Duapuluh mikroliter dari ekstrak disuntikkan kedalam kolom HPLC (Vydac c18) dengan rata-rata laju aliran 0.8 ml/menit dan panjang gelombang 450 nm. Standar menggunakan β -karoten (Sigma).

5. Analisa Retinol (Zakaria et al., 2000)

0.5 g sampel dihancurkan dengan mortar, kemudian dihomogenasi dengan 1.15% KCl lalu kemudian dicampur dengan menggunakan 9 ml heksan-2 propanol (2:3). Setelah dimasukkan kedalam tabung reaksi, campuran disimpan dengan nitrogen, divorteks, sonifikasi kemudian ditambahkan dengan 4.5 ml 0,9% Na_2SO_4 anhidrous, vorteks dan kemudian sentrifugasi selama 15 menit. Kemudian lapisan atas diambil dan kemudian dikeringkan dengan nitrogen.

Residu kemudian ditambahkan 4 ml 5% KOH dalam metanol, kemudian dipanaskan pada suhu 65°C selama 30 menit. Setelah didinginkan, campuran ditambahkan 2 ml air bebas ion. Kemudian, ditambahkan 6 ml heksan, kemudian disentrifuse. Filtrat yang pertama dipisahkan, pemisahan dilakukan 2 kali. Kedalam filtrat ditambahkan 3 ml 5% asam asetat, kemudian distirer selama 30 menit. Lalu lapisan atas diambil dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 325 nm. Setelah itu, dikeringkan dengan

nitrogen. Residu dilarutkan dalam fase bergerak HPLC (metanol:asetonitril = 1:1), tetap dengan nitrogen, lalu injeksikan ke kolom HPLC (20 µl, Ultremex C18) pada 325 nm. Standar menggunakan retinil asetat (Sigma) disiapkan dengan metode yang sama.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. BUBUK DAUN CINCAU HIJAU (*Cyclea barbata* L. Miers)

Dalam penelitian ini digunakan bubuk daun cincau hijau, dimana produk ini merupakan salah satu alternatif dari produk gel cincau hijau. Bubuk daun cincau hijau dibuat dengan mengeringkan gel daun cincau hijau dengan menggunakan *drum dryer*.



Gambar 5. Bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers)

Pengeringan dengan menggunakan *drum dryer* memiliki keunggulan, seperti permukaan kontak bahan yang luas serta waktu kontak bahan yang singkat. Hal ini menyebabkan bahan dapat dikeringkan dengan waktu yang relatif singkat sehingga kerusakan pada bahan pangan akibat pemanasan (suhu tinggi) dapat dikurangi (Brennan *et al.*, 1990). Selain itu, maksud dari pengeringan gel daun cincau hijau adalah untuk mendapatkan umur simpan yang lebih panjang.

Meskipun pengeringan dengan menggunakan *drum dryer* memiliki keunggulan, produk bubuk daun cincau hijau masih memiliki kelemahan yaitu tekstur gel yang terbentuk setelah bubuk daun cincau hijau direhidrasi kembali tidak sebaik tekstur gel dari daun cincau segar. Hal ini disebabkan oleh proses pengeringan. Menurut Muchtadi (1997), proses pengeringan bahan pangan memiliki beberapa kerugian yaitu sifat asal bahan yang

dikeringkan berubah, misalnya bentuk serta penampakannya, sifat fisik dan kimia, dan penurunan mutu.

Bubuk daun cincau hijau yang dihasilkan kemudian dianalisa kadar protein, lemak, air, abu, dan serat kasar. Hasil analisa dapat dilihat pada Tabel 6. dibawah ini.

Tabel 6. Hasil analisa bubuk daun cincau hijau

Parameter	Hasil Analisa (% b.b.)	Hasil Analisa (% b.k.)
Kadar air	6.87	7.38
Kadar protein	15.85	17.02
Kadar lemak	0.86	0.92
Kadar abu	8.71	9.35
Kadar serat kasar	15.68	16.84

Air merupakan komponen penting dalam bahan pangan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, serta cita rasa makanan kita (Winarno, 1997). Karena pentingnya air sebagai komponen bahan pangan maka perlu diketahui kadar air yang terkandung dalam suatu bahan pangan. Kadar air dalam penelitian ini diukur dengan menggunakan metode oven. Dari hasil pengukuran didapatkan kadar air bubuk daun cincau hijau sebesar 6.87% b.b. Kadar air bubuk daun cincau hijau sangat aman untuk disimpan dalam waktu yang lama karena tidak dapat ditumbuhi oleh mikroorganisme. Kadar air pada tepung dan beberapa buah-buahan yang dikeringkan sebesar 14-15% sudah cukup untuk mencegah pertumbuhan kapang (Muchtadi, 1997).

Kadar protein dari bubuk daun cincau hijau ditentukan dengan menggunakan metode Kjeldahl. Pengukuran kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl didasarkan pada prinsip oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi ammonia (Apriyantono *et al.*, 1989). Kadar protein dari bubuk daun cincau hijau sebesar 15.85% b.b.



Pengukuran kadar lemak pada penelitian ini menggunakan metode Soxhlet, dimana menurut Apriyantono *et al.* (1989), dalam metode ini, lemak diekstrak dengan menggunakan dietil

eter dan setelah perlarut diuapkan, lemak ditimbang. Dari hasil pengukuran, didapatkan kadar lemak bubuk daun cincau hijau adalah sebesar 0.86% b.b.

Pada penelitian ini, kadar abu ditentukan dengan menggunakan metode pengabuan kering dengan menggunakan tanur. Hasil pengukuran kadar abu menunjukkan bahwa kadar abu bubuk daun cincau hijau adalah 8.71% b.b. Hasil ini menunjukkan banyaknya mineral yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau.

Pada penelitian ini, kadar serat yang diukur adalah kadar serat kasar. Pengukuran kadar serat kasar menggunakan residu dari bahan atau sampel yang telah diperlakukan dengan menggunakan asam dan alkali mendidih (Apriyantono *et al.*, 1989). Kadar serat kasar dari bubuk daun cincau hijau adalah sebesar 15.68% b.b.

Dari hasil analisa yang didapat (kadar air, kadar protein, kadar lemak, dan kadar abu), dapat dihitung kadar karbohidrat yang terdapat di dalam bubuk daun cincau hijau yaitu dengan menggunakan metode by difference, dimana kadar karbohidrat didapatkan dengan cara mengurangkan kadar protein, kadar lemak, kadar air dan kadar abu dari persentase total, yaitu 100%. Dari hasil perhitungan, didapatkan kadar karbohidrat bubuk daun cincau hijau adalah 67.71% b.b. Dalam perhitungan kadar karbohidrat, kadar serat kasar tidak dimasukkan karena serat kasar juga merupakan bagian dari karbohidrat. 52.03% b.b. karbohidrat yang terkandung pada bubuk daun cincau hijau merupakan karbohidrat yang dapat membentuk gel.

Dari hasil analisa proksimat dan serat kasar bubuk daun cincau hijau berdasarkan basis kering secara keseluruhan tidak terlalu berbeda dengan hasil penelitian-penelitian sebelumnya (Sunanto, 1995 dan Arisudana, 2003). Kadar protein dari bubuk daun cincau hijau yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 17.02% b.k., dimana kadar tersebut tidak terlalu berbeda dengan hasil penelitian Arisudana (2003), yaitu sebesar 19.31% b.k., dan

Sunanto (1995), yaitu sebesar 7.10-10.60% b.k. Begitu pula dengan kadar lemak dan kadar abu, dimana pada penelitian ini, kadar lemak yang didapatkan adalah sebesar 0.92% b.k. serta kadar abu sebesar 9.35% b.k. Sedangkan, dari hasil penelitian Arisudana (2003) adalah sebagai berikut: kadar lemak sebesar 1.65% b.k. dan kadar abu sebesar 5.59% b.k., serta menurut Sunanto (1995), kadar lemak dari daun cincau hijau berkisar antara 1.31-2.00% b.k.

Perbedaan paling nyata hanya dari hasil analisa proksimat pada penelitian ini terdapat pada kadar serat kasar, dimana dari penelitian ini didapatkan sebesar 16.84% b.k. sedangkan menurut Arisudana (2003) adalah sebesar 40.34% b.k. Tetapi hasil analisa kadar serat kasar dari penelitian ini tidak jauh berbeda dengan Sunanto (1995), dimana kadar serat kasar menurut Sunanto (1995) adalah sekitar 18.50-26.32% b.k.

Selain dilakukannya analisa kadar protein, lemak, abu, air, serat kasar, dan karbohidrat, pada bubuk daun cincau hijau juga dilakukan analisa total karotenoid dan β -karoten. Analisa total karotenoid dengan menggunakan spektrofotometer, sedangkan, analisa kadar β -karoten dengan menggunakan HPLC. Hasil analisa total karotenoid dan β -karoten dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil analisa total karotenoid dan β -karoten bubuk daun cincau hijau

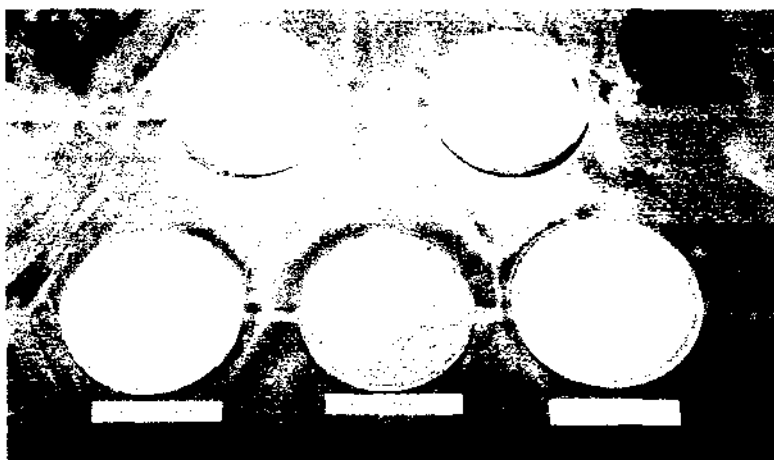
Parameter	Hasil analisa (ppm)
Total karotenoid	240.85
β -karoten	25.38

Dari hasil analisa diatas, dapat dilihat bahwa kadar β -karoten bila dibandingkan dengan total karotenoid cukup kecil, dimana β -karoten bubuk daun cincau hijau kurang lebih hanya sepersepuluh dari total karotenoid. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3 dan 4. Prinsip dari penentuan kadar β -karoten dalam penelitian ini adalah dengan cara membandingkan luas area dari peak sampel β -karoten dengan luas peak standar lalu dikalikan dengan konsentrasi standar.

B. PERSIAPAN BERBAGAI JENIS RANSUM

Pada penelitian ini, ransum yang diberikan untuk tikus percobaan sesuai dengan kebutuhan gizi tikus. Menurut Muchtadi (1989), zat-zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus hampir sama dengan manusia, yaitu: (1) karbohidrat terdiri dari pati, gula dan selulosa; (2) minyak/lemak, asam lemak esensial (terutama linoleat dan linolenat); (3) protein; (4) mineral atau elemen anorganik; dan (5) vitamin-vitamin, baik larut lemak maupun larut air.

Ransum yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 6. Pada penelitian ini, terdapat lima jenis ransum tikus yang digunakan, yaitu ransum standar dengan kadar vitamin A sebesar 6 ppm, ransum tanpa vitamin A, ransum dengan kadar vitamin A standar serta penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), ransum tanpa vitamin A dengan penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), dan ransum dengan kadar vitamin A yang setara dengan kadar vitamin A yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau yang ditambahkan pada ransum perlakuan yaitu sebesar 4.24 ppm. Penambahan vitamin A yang setara dengan yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau bertujuan untuk mengetahui perbedaan penyerapan β -karoten dengan vitamin A sintetik dengan pemberian dalam jumlah yang sama. Pembuatan ransum pada penelitian ini mengikuti standar AIN (1976). Perhitungan komposisi ransum dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 6. Lima jenis ransum tikus



Menurut Muchtadi (1989), sumber protein yang digunakan untuk pembuatan ransum harus mengandung asam amino esensial bagi tikus, yaitu lisin, triptofan, histidin, fenilalanin, leusin, isoleusin, teronin, metionin, valin, dan arginin; arginin sebetulnya dapat disintesis dari tubuh tikus, tetapi hanya cukup untuk pemeliharaan dan tidak cukup untuk pertumbuhan maksimum. Pada penelitian ini, sumber protein diambil dari kasein (protein susu), dimana pada kasein terdapat asam-asam amino esensial yang dibutuhkan oleh manusia dan juga diperlukan oleh tikus untuk pertumbuhannya.

Menurut Koswara (1995), kedelai mengandung 85% asam lemak tak jenuh yang sebagian besar terdiri dari asam lemak linoleat dan asam lemak oleat. Kedelai yang kaya akan asam lemak esensial dapat digunakan sebagai sumber lemak dalam pembuatan ransum. Sumber lemak yang digunakan pada pembuatan ransum adalah minyak kedelai. Selain itu, minyak kedelai yang mengandung sedikit karotenoid provitamin A dapat digunakan dalam pembuatan ransum karena tidak begitu mempengaruhi kadar karotenoid provitamin A dari bubuk daun cincau hijau. Kadar karotenoid provitamin A kacang kedelai yaitu antara 0.18–2.43 ppm (Koswara, 1995).

Campuran vitamin dan mineral yang digunakan sesuai dengan metode AOAC (1984). Campuran vitamin dan mineral yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1. Pada penelitian ini, campuran vitamin yang digunakan sebanyak tiga macam, yaitu campuran vitamin standar dengan menggunakan vitamin A, campuran vitamin tanpa vitamin A, dan campuran vitamin dengan penambahan vitamin A setara dengan kadar karotenoid provitamin A dari bubuk daun cincau hijau. Jumlah vitamin A yang ditambahkan pada ransum dengan kadar vitamin A setara dengan kadar karotenoid provitamin A dari bubuk cincau hijau adalah sebanyak 14147.17 IU dalam satu kg ransum. Pada campuran vitamin yang digunakan untuk penelitian dengan tikus percobaan tidak mengandung vitamin C karena vitamin C dapat disintesa oleh tubuh tikus sendiri.



C. ANALISA RETINOL DAN KAROTENOID RANSUM

Ransum yang telah siap untuk dikonsumsi dianalisa kadar retinol dan karotenoidnya, baik dengan menggunakan HPLC maupun spektrofotometer. Kadar retinol ransum dapat dilihat pada Tabel 8.

Pada Tabel 8. dapat dilihat kadar retinol ransum dengan vitamin A adalah sebesar 6.19 ppm (HPLC) dan 6.99 ppm (spektrofotometer). Sedangkan untuk ransum tanpa vitamin A didapatkan hasil yang mendekati nol, yaitu 0.84 ppm (HPLC) dan 0.75 ppm (spektrofotometer). Hasil ini tidak sesuai dengan banyaknya vitamin A yang ditambahkan, dimana pada ransum dengan vitamin A, kandungan vitamin A yang ditambahkan adalah sebesar 6 ppm, dan pada ransum tanpa vitamin A tidak ada penambahan vitamin A. Kandungan vitamin A yang melebihi kandungan yang ditambahkan dapat berasal dari bahan-bahan pembuat ransum lainnya. Bahan pembuat ransum yang memungkinkan adanya retinol di dalam bahan tersebut adalah kasein teknis dan minyak kedelai. Kasein teknis yang digunakan masih terdapat lemak yang dapat membawa retinol.

Tabel 8. Hasil analisa retinol dan karotenoid pada ransum

Analisa	Sampel	Hasil analisa HPLC	Hasil analisa Spektrofotometer
Retinol	Ransum dengan vitamin A	6.19 ppm	6.99 ppm
	Ransum tanpa vitamin A	0.84 ppm	0.75 ppm
β -karoten	Ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau	23.92 ppm	-
Karotenoid	Ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau	-	43.40 ppm

Hasil analisa terhadap karotenoid ransum dapat dilihat pada Tabel 8., dimana total karotenoid dari ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau adalah sebesar 43.40 ppm (spektrofotometer) dan kadar β -karoten sebesar 23.92 ppm (HPLC). Untuk perhitungan yang lebih lengkap dapat

dilihat pada Lampiran 7-8 (untuk analisa retinol pada ransum) dan pada Lampiran 9-10 (untuk analisa karotenoid pada ransum).

D. PERLAKUAN TIKUS PERCOBAAN

Pada penelitian ini, hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Sprague Dawley berjenis kelamin jantan yang dibeli dari Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta. Umur tikus percobaan yang dibeli kurang lebih berumur 21 hari. Tikus percobaan dikandangkan secara individual dan diberi makanan serta minuman secara ad libitum. Setiap hari dilakukan penimbangan sisa ransum perlakuan. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap dua hari sekali dan penggantian kandang dilakukan setiap tiga hari sekali.



Gambar 7. *Rattus norvegicus* strain Sprague Dawley

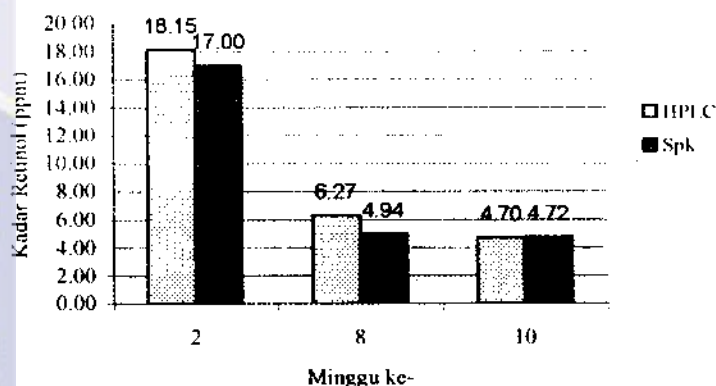
Dalam penelitian ini, perlakuan terhadap tikus percobaan dibedakan menjadi enam kelompok, yaitu: kelompok standar (KS), kelompok perlakuan 1 dimana sumber vitamin A berasal dari retinol dan bubuk cincau hijau (SC), kelompok kontrol negatif (KN), kelompok perlakuan 2 dimana bubuk cincau hijau merupakan satu-satunya sumber vitamin A pada ransum (KC), kelompok kontrol positif (KP), dan satu kelompok tambahan.



Pemberian ransum dibagi menjadi tiga tahap, yaitu masa adaptasi yang berlangsung kurang lebih selama satu minggu, masa deplesi yang berlangsung selama enam minggu, dan masa replasi yang berlangsung selama dua minggu. Pada masa adaptasi, semua tikus percobaan diberi ransum standar, dimana ransum tersebut memiliki kadar vitamin A yang sesuai dengan kebutuhan tikus percobaan. Dimana, kadar vitamin A pada campuran vitamin yang ditambahkan dalam 1 kg ransum standar adalah sebanyak 20000 IU.

Pada masa deplesi, ransum yang digunakan ada dua jenis, yaitu ransum standar seperti pada masa adaptasi dan ransum tanpa vitamin A. Pemberian ransum tanpa vitamin A berfungsi untuk menurunkan kadar retinol yang telah terakumulasi dalam hati tikus sehingga tikus dapat menyerap dengan baik karotenoid provitamin A yang diberikan yang terdapat dalam bubuk daun cincau hijau. Menurut Rumondang (1993), deplesi hati tercapai jika kandungan vitamin A di hati hanya 6-10 $\mu\text{g/g}$ hati. Berdasarkan penelitian Rumondang (1993), deplesi hati telah tercapai setelah lima minggu pemberian ransum tanpa vitamin A. Pada penelitian ini, masa deplesi berlangsung selama enam minggu. Masa deplesi selama enam minggu dianggap telah dapat menurunkan kadar retinol yang terdapat di dalam hati.

Kelompok tambahan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana proses deplesi telah terjadi. Tikus pada kelompok ini dibagi menjadi 2 bagian kelompok pembedahan, yaitu pada awal masa deplesi (minggu ke-2) dan pada akhir masa deplesi (minggu ke-8). Sampel yang digunakan pada pengukuran kadar retinol hati adalah hasil pooling (penggabungan dari 2 sampai 3 hati tikus). Dari Gambar 8, dapat dilihat adanya penurunan kadar retinol pada hati tikus antara minggu ke-2 dan minggu ke-8. Begitu pula antara minggu ke-8 dan minggu ke-10. Data minggu ke-10 didapatkan dari kelompok tikus KN pada masa replasi. Dari Gambar 8, dapat dilihat bahwa pada minggu ke-8 retinol hati tikus telah mencapai masa deplesi, yaitu sebesar 6.27 ppm (HPLC) dan 4.94 ppm (spektrofotometer). Begitu pula, jika dilihat dari minggu ke-10, retinol hati juga mengalami penurunan walaupun tidak terlalu berbeda.



Gambar 8. Grafik deplesi retinol hati

Pada masa replasi, ransum yang digunakan sebanyak lima jenis, yaitu ransum standar dengan kadar vitamin A sebesar 6 ppm, ransum tanpa vitamin A, ransum dengan kadar vitamin A standar serta penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), ransum tanpa vitamin A dengan penambahan bubuk daun cincau hijau sebesar 19.13% (merupakan substitusi 3% serat), dan ransum dengan kadar vitamin A yang setara dengan kadar vitamin A yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau yang ditambahkan pada ransum perlakuan yaitu sebesar 4.24 ppm atau sebanyak 14147.17 IU dalam 1 kg ransum.

Tabel 9. Jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi dan asupan retinol serta β -karoten oleh tiap kelompok tikus.

Kelompok Tikus	Jumlah Rata-Rata Ransum yang Dikonsumsi (g/hari)	Asupan retinol per hari (μ g)	Asupan β -karoten per hari (μ g)
KS	13.40	82.95	-
SC	13.40	82.95	65.06
KN	13.10	11.00	-
KC	13.70	11.51	66.52
KP	14.10	59.78	-
Kelompok Tambahan	14.40	12.10	-

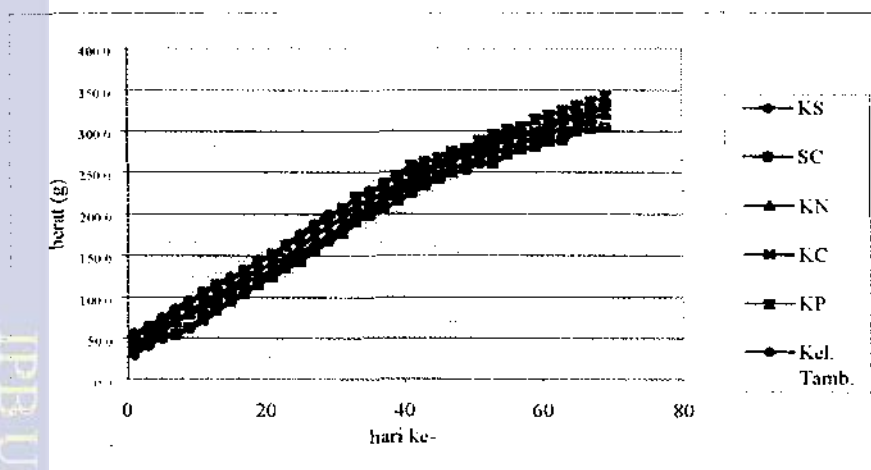
* Asupan retinol dan β -karoten dihitung berdasarkan hasil analisa HPLC.

Pada Tabel 9. dapat dilihat jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi serta asupan retinol dan β -karoten per hari pada masing-masing kelompok

tikus. Jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi oleh kelompok tikus KS dan SC adalah sebanyak 13.40 g/hari, kelompok tikus KN sebanyak 13.10 g/hari, kelompok tikus KC sebanyak 13.70 g/hari, kelompok tikus KP sebanyak 14.10 g/hari, dan kelompok tikus tambahan sebanyak 14.40 g/hari. Untuk jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tiap tikus perlakuan setiap hari dapat dilihat pada Lampiran 12.

Asupan retinol tiap hari didapatkan dari hasil kali antara jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi tiap harinya dengan kadar retinol yang didapatkan dari hasil analisa retinol yang terdapat pada ransum. Sedangkan, asupan β -karoten tiap hari didapatkan dari hasil kali antara jumlah rata-rata ransum yang dikonsumsi tiap hari dengan persentase bubuk daun cincau hijau yang ditambahkan dalam ransum dan kadar β -karoten yang didapatkan dari hasil analisa β -karoten pada bubuk daun cincau hijau.

Dari Tabel 9. di atas, dapat dilihat bahwa tiap kelompok tikus mengkonsumsi ransum setiap harinya, minimum 65.50% dari jumlah ransum yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pertumbuhan berat badan tikus yang dapat dilihat pada Gambar 9, dimana dengan jumlah rata-rata minimum ransum yang dikonsumsi oleh tikus menunjukkan pertumbuhan berat badan tikus yang meningkat secara linier. Pertumbuhan berat badan tikus yang meningkat secara linier diukur dengan menimbang berat badan tikus setiap dua hari sekali. Pertumbuhan tikus yang baik dan sehat selama masa perlakuan menunjukkan bahwa tikus layak untuk dianalisa lebih lanjut.



Gambar 9. Grafik pertumbuhan keenam kelompok tikus

E. ANALISA RETINOL PADA HATI TIKUS

Analisa retinol pada hati tikus dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dan HPLC. Sampel yang digunakan pada analisa retinol hati adalah merupakan hasil pooling dari 2 sampai 3 hati tikus. Hasil analisa retinol pada hati tikus dapat dilihat pada Tabel 10.

Dari Tabel 10, dapat dilihat hasil analisa rata-rata retinol dengan menggunakan spektrofotometer adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS sebesar 22.19 ppm, kelompok tikus SC sebesar 23.85 ppm, kelompok tikus KN sebesar 4.72 ppm, kelompok tikus KC sebesar 13.37 ppm, dan kelompok tikus KP sebesar 19.30 ppm. Sedangkan dari hasil analisa HPLC adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS sebesar 22.44 ppm, kelompok tikus SC sebesar 23.98 ppm, kelompok tikus KN sebesar 4.70 ppm, kelompok tikus KC sebesar 13.12 ppm, dan kelompok tikus KP sebesar 21.14 ppm. Hasil perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 13 dan 15.

Tabel 10. Hasil analisa rata-rata retinol pada hati tikus

Kelompok Tikus	Hasil Analisa Spektrofotometer	Hasil Analisa HPLC
KS	22.19 ppm	22.44 ppm
SC	23.85 ppm	23.98 ppm
KN	4.72 ppm	4.70 ppm
KC	13.37 ppm	13.12 ppm
KP	19.30 ppm	21.14 ppm

Hal ini sesuai dengan asupan retinol dan karotenoid yang dikonsumsi oleh tiap-tiap kelompok tikus. Asupan retinol dan karotenoid rata-rata per hari dapat dilihat pada Tabel 9. Kadar retinol rata-rata kelompok tikus SC lebih besar bila dibandingkan dengan kadar retinol rata-rata kelompok KC dan KP. Hal ini dikarenakan asupan retinol dan karotenoid kelompok tikus SC lebih besar dari kelompok tikus KC dan KP, dimana kelompok tikus SC mendapat ransum dengan vitamin A dan dengan penambahan bubuk daun cincau hijau, sedangkan kelompok KC, ransum yang diberikan tanpa vitamin A hanya ditambahkan bubuk daun cincau hijau, dan untuk kelompok KP, vitamin A

yang ditambahkan setara dengan retinol pada bubuk daun cincau hijau yang ditambahkan. Untuk perhitungan kadar retinol yang setara dengan bubuk daun cincau hijau dapat dilihat pada Lampiran 5.

Kadar retinol rata-rata kelompok tikus SC dan kelompok tikus KS tidak terlalu berbeda jauh walaupun kadar retinol rata-rata kelompok tikus SC lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok tikus KS. Perbedaan yang tidak terlalu jauh ini dapat disebabkan jumlah asupan retinol yang berbeda pada ransum kelompok SC didapatkan dari karotenoid bubuk daun cincau hijau, dimana pada bubuk daun cincau hijau terdapat serat sehingga penyerapannya tidak maksimal seperti vitamin A dalam bentuk retinol.

Asupan retinol kelompok tikus KP yang jumlahnya setara dengan asupan karotenoid kelompok tikus KC ternyata memberikan hasil yang berbeda. Kadar retinol rata-rata hati kelompok KC adalah sebesar 13.37 ppm (spektrofotometer) dan 13.12 (HPLC), sedangkan, kelompok KP adalah sebesar 19.30 ppm (spektrofotometer) dan 21.14 ppm (HPLC). Perbedaan asupan ransum untuk tikus kelompok KC dan KP adalah pada kelompok KC, asupan vitamin A berasal dari karotenoid bubuk daun cincau hijau, sedangkan, pada kelompok KP, asupan vitamin A berasal dari retinol. Dari hasil ini, dapat kita ketahui bahwa adanya serat dalam bahan pangan dapat mempengaruhi penyerapan suatu zat gizi. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Van Het Hof *et al.* (2000) yaitu bioavailabilitas karotenoid dipengaruhi oleh matriks makanan, dimana konsentrasi retinol plasma pada kelompok yang mengonsumsi hancuran wortel lebih rendah daripada kelompok yang mengonsumsi jus wortel.

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada tingkat kepercayaan 95% untuk hasil analisa kadar retinol pada hati tikus dengan menggunakan spektrofotometer memberikan hasil yang berbeda terhadap lima kelompok tikus. Uji lebih lanjut dengan menggunakan Tukey Test (Lampiran 14), memperlihatkan bahwa kelompok KS dan SC tidak berbeda nyata, tetapi berbeda nyata terhadap kelompok KN dan KC, sedangkan, kelompok KP juga tidak berbeda nyata terhadap kelompok KS tetapi berbeda nyata terhadap kelompok SC.

Uji ANOVA untuk hasil analisa kadar retinol pada hati tikus dengan menggunakan HPLC dengan tingkat kepercayaan 95% memberikan hasil yang berbeda, dimana uji Tukey sebagai uji lanjut memberikan hasil yang tidak terlalu berbeda dengan uji pada analisa kadar retinol dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil uji lebih lanjut dapat dilihat pada Lampiran 16. Pada hasil Uji Tukey, dapat dilihat bahwa kelompok KP, KS, dan SC tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan kelompok KN dan KC.

Tabel 11. Pertambahan jumlah retinol pada hati tikus sesudah masa replasi

Kelompok Tikus	Jumlah Retinol Rata-rata pada Hati Tikus (μg)		
	Sebelum Repleksi	Sesudah Repleksi	Pertambahan
KS	67.40	273.99	206.59
SC		251.07	183.67
KN		55.98	- 11.42
KC		137.89	70.49
KP		241.42	174.02

Dari Tabel 11. dapat dilihat adanya perubahan jumlah retinol pada masing-masing kelompok tikus percobaan. Kelompok tikus KN mengalami penurunan jumlah retinol karena pada kelompok ini tidak diberikan vitamin A pada ransum selama masa replasi. Sedangkan, keempat kelompok tikus percobaan lainnya mengalami peningkatan jumlah retinol pada hati. Perbedaan peningkatan jumlah retinol pada keempat kelompok tersebut mungkin disebabkan oleh perbedaan jenis asupan sumber vitamin A. Peningkatan jumlah retinol paling tinggi ditemui pada kelompok KS, dimana kelompok ini diberikan vitamin A sintetik sebanyak 6 ppm. Kelompok tikus KP juga mendapatkan vitamin A sintetik tetapi jumlah peningkatan retinol lebih rendah daripada kelompok KS. Hal ini dikarenakan jumlah vitamin A sintetik yang diberikan pada kelompok KP lebih rendah yaitu sebesar 4.24 ppm. Sedangkan, jumlah peningkatan terendah dialami oleh kelompok KC, dimana sumber vitamin A kelompok ini berasal dari karotenoid yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau.

Pertambahan jumlah retinol pada hati tikus sesudah masa replasi sesuai dengan hasil penelitian Meridian (2000), dimana pada kelompok standar memiliki pertambahan jumlah retinol yang paling besar yaitu sebesar 399.50

μg dan kelompok kontrol negatif mengalami penurunan jumlah retinol pada hati. Sedangkan, untuk tikus perlakuan dimana tikus diberi minuman emulsi karoten minyak sawit, jumlah retinol pada hati tikus juga mengalami pertambahan yaitu sebesar $222.29 \mu\text{g}$.

F. FAKTOR AKUMULASI

Faktor akumulasi dari β -karoten dapat dihitung dengan membandingkan total akumulasi retinol hati dengan total β -karoten yang dikonsumsi selama masa replisi (Zakaria et al., 2000). Faktor akumulasi vitamin A sintetik diperoleh dari akumulasi retinol hati total tikus yang mengkonsumsi 4.24 ppm vitamin A sintetik dibagi dengan total vitamin A sintetik yang dikonsumsi selama 14 hari replisi. Sedangkan, faktor akumulasi β -karoten menjadi retinol dari bubuk daun cincau hijau diperoleh dari akumulasi retinol hati total yang dibagi dengan total β -karoten yang dikonsumsi. Total retinol hati diperoleh dari selisih kandungan retinol hati setelah masa replisi dengan kandungan retinol hati sebelum masa replisi.

Tabel 12. Hasil perhitungan faktor akumulasi

Kelompok Tikus	Faktor akumulasi
KS	$1/5.62$
SC	$1/(6.32+4.96)$
KC	$1/13.21$
KP	$1/4.81$

Kadar β -karoten yang digunakan dalam perhitungan faktor akumulasi adalah kadar β -karoten dari bubuk daun cincau hijau. Pada kelompok tikus percobaan SC, sumber vitamin A berasal dari vitamin A sintetik dan karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor akumulasi yang didapatkan dari kelompok SC adalah sebesar $1/(6.32+4.96)$, yang artinya dari $6.32 \mu\text{g}$ vitamin A sintetik dan $4.96 \mu\text{g}$ β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak $1 \mu\text{g}$ retinol di dalam hati. Sedangkan pada kelompok KC, sumber vitamin A utama berasal dari karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor

akumulasi kelompok KC adalah sebesar 1/13.21, yang artinya dari 13.21 μg β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol di dalam hati.

Pada kelompok KS dan KP, sumber vitamin A didapatkan dari vitamin A sintetik, tetapi dengan perbedaan kadar penambahan vitamin A sintetik. Vitamin A sintetik yang ditambahkan pada kelompok KS lebih besar dibandingkan dengan kelompok KP, yaitu sebesar 6 ppm. Penambahan vitamin A sintetik pada kelompok KP adalah sebesar 4.24 ppm. Faktor akumulasi kelompok KS adalah sebesar 1/5.62, yang artinya adalah dari 5.62 μg vitamin A sintetik yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol dalam hati. Sedangkan, pada kelompok KP yang berfungsi sebagai kelompok kontrol positif, faktor akumulasi yang didapatkan adalah sebesar 1/4.81, yang artinya dari 4.81 μg vitamin A sintetik yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak 1 μg retinol dalam hati. Untuk perhitungan faktor akumulasi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 17.

Faktor akumulasi β -karoten yang didapatkan dari penelitian ini (kelompok KC) lebih rendah bila dibandingkan dengan faktor akumulasi β -karoten minuman emulsi karoten minyak sawit, dimana faktor akumulasi β -karoten minuman tersebut adalah 1/9.09. Begitu pula dengan faktor akumulasi vitamin A sintetik, faktor akumulasi vitamin A sintetik yang didapatkan pada penelitian yang sama adalah 1/3.03 (Meridian, 2000).

Rendahnya faktor akumulasi β -karoten dari bubuk daun cincau hijau menjadi retinol dan faktor akumulasi dari vitamin A sintetik dapat dipengaruhi oleh adanya serat pada ransum, baik yang berasal dari bubuk daun cincau hijau maupun selulosa teknis yang ditambahkan pada pembuatan ransum. Van Het Hof *et al.* (2000) mengatakan bahwa bioavailabilitas karotenoid dipengaruhi oleh matriks makanan, dimana konsentrasi retinol plasma pada kelompok yang mengonsumsi hancuran wortel lebih rendah daripada kelompok yang mengonsumsi jus wortel.

Selain itu, akumulasi retinol yang rendah pada hati dapat disebabkan oleh banyaknya penggunaan retinol dalam tubuh dan kondisi tubuh seseorang. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Mc Evoy (1995), dimana dosis

yang dibutuhkan oleh tiap-tiap orang berbeda. Pada orang dewasa dalam masa perawatan, diberikan vitamin A sebanyak 150000 RE (3 hari) dan dilanjutkan dengan pengurangan dosis secara bertahap, sedangkan, pada orang dewasa sehat, vitamin A tambahan merupakan suplemen saja, dimana vitamin A yang direkomendasikan untuk dikonsumsi adalah sebesar 1200-1500 RE.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa spektrofotometer dan HPLC, di dalam bubuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terdapat komponen bioaktif karotenoid, dengan total karotenoid sebesar 240.8 ppm dan kadar β -karoten sebesar 25.38 ppm. Kadar retinol ransum dengan vitamin A adalah sebesar 6.99 ppm (spektrofotometer) dan 6.19 ppm (HPLC), sedangkan, ransum tanpa vitamin A, kadar retinolnya adalah sebesar 0.75 ppm (spektrofotometer) dan 0.84 ppm (HPLC).

Pada penelitian ini, kelompok tikus percobaan terdiri dari 2 bagian yaitu kelompok utama dan kelompok tambahan. Kelompok tambahan bertujuan untuk mengetahui sejauh mana proses deplesi telah terjadi. Tikus pada kelompok ini dibagi menjadi 2 bagian kelompok pembedahan, yaitu pada awal masa deplesi (minggu ke-2) dan pada akhir masa deplesi (minggu ke-8). Pada minggu ke-8, retinol hati tikus telah mencapai tingkat deplesi, yaitu sebesar 6.27 ppm (HPLC) dan 4.94 ppm (spektrofotometer).

Setelah 2 minggu masa replesi, kadar retinol dalam tubuh tikus yang dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS (kelompok standar) sebesar 22.19 ppm, kelompok tikus SC (kelompok perlakuan 1 dimana sumber vitamin A berasal dari retinol dan bubuk daun cincau hijau) sebesar 23.85 ppm, kelompok tikus KN (kelompok kontrol negatif) sebesar 4.72 ppm, kelompok tikus KC (kelompok perlakuan 2 dimana bubuk daun cincau hijau merupakan satu-satunya sumber vitamin A) sebesar 13.37 ppm, dan kelompok tikus KP (kelompok kontrol positif) sebesar 19.30 ppm. Sedangkan dari hasil analisa HPLC adalah sebagai berikut: kelompok tikus KS sebesar 22.44 ppm, kelompok tikus SC sebesar 23.98 ppm, kelompok tikus KN sebesar 4.70 ppm, kelompok tikus KC sebesar 13.12 ppm, dan kelompok tikus KP sebesar 21.14 ppm.

Berdasarkan total β -karoten dan vitamin A sintetik yang dikonsumsi dapat dihitung faktor akumulasinya. Pada kelompok tikus percobaan SC,

sumber vitamin A berasal dari vitamin A sintetis dan karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor akumulasi yang didapatkan dari kelompok SC adalah sebesar $1/(6.32+4.96)$, yang artinya dari 6.32 μg vitamin A sintetis dan 4.96 μg β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol di dalam hati. Sedangkan pada kelompok KC, sumber vitamin A utama berasal dari karotenoid bubuk daun cincau hijau. Faktor akumulasi kelompok KC adalah sebesar $1/13.21$, yang artinya dari 13.21 μg β -karoten yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol di dalam hati.

Pada kelompok KS dan KP, sumber vitamin A didapatkan dari vitamin A sintetis, tetapi dengan perbedaan kadar penambahan vitamin A sintetis. Vitamin A sintetis yang ditambahkan pada kelompok KS lebih besar dibandingkan dengan kelompok KP, yaitu sebesar 6 ppm. Penambahan vitamin A sintetis pada kelompok KP adalah sebesar 4.24 ppm. Faktor akumulasi kelompok KS adalah sebesar $1/5.62$, yang artinya adalah dari 5.62 μg vitamin A sintetis yang dikonsumsi akan diakumulasikan sebanyak 1 μg retinol dalam hati. Sedangkan, pada kelompok KP yang berfungsi sebagai kelompok kontrol positif, faktor akumulasi yang didapatkan adalah sebesar $1/4.81$, yang artinya dari 4.81 μg vitamin A sintetis yang dikonsumsi akan diakumulasi sebanyak 1 μg retinol dalam hati.

Faktor akumulasi yang didapatkan pada kelompok KC lebih rendah bila dibandingkan dengan faktor akumulasi kelompok KP. Lebih rendahnya faktor akumulasi pada kelompok KC, dapat disebabkan oleh adanya serat, baik pada ransum maupun pada bubuk cincau hijau itu sendiri, banyaknya penggunaan retinol dalam tubuh, serta kondisi tubuh yang berbeda-beda.

B. SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen-komponen karotenoid lainnya yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau dan aktivitas prebiotik dalam tubuh yang disebabkan oleh adanya serat yang terdapat pada bubuk daun cincau hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananta, E. 2000. Pengaruh Ekstrak Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap Proliferasi Alur Sel Kanker K-562 dan Hella. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis The Association Analytical Chemist 14th ed. AOAC, Inc. Arlington.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, S. Yasni dan S. Budiyanto. 1989. Analisis Pangan (Petunjuk Laboratorium). PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Arisudana, I. G. 2003. Mempelajari Toksisitas Subkronis Bubuk Gel Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr) terhadap Tikus Percobaan secara In Vivo. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Brennan, J.G., J.R. Butters, N.D. Cowell, dan A.E.V. Lilley. 1990. Food Engineering Operations. Elsevier Applied Science. London.
- Chalid, S. Y. 2003. Pengaruh Ekstrak Daun Cincau Hijau *Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr Terhadap Aktivitas Enzim Antioksidan dan Pertumbuhan Tumor Kelenjar Susu Mencit C3H. Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- De Vries, J.W. dan K.R. Silvera. 2000. Measurements of Nutrients and Chemical Components and Their Bioavailability. Di dalam: Schmidl, M.K. dan T.P. Labuza. Essentials of Functional Foods. An Aspen Publication. USA.
- Devahastin, S. 2001. Panduan Praktis Mujumdar Untuk Pengeringan Industrial. IPB Press. Bogor.
- Goodwin, T.W. 1976. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment II. 2nd ed. Academic Press. London.
- Greenberg, D.M. 1968. Metabolic Pathways 3rd ed. Vol II Lipids, Steroids, and Carotenoids. Academic Press. London
- Gritter, R.J., James M.B., dan Arthur E.S. 1991. Pengantar Kromatografi Edisi 2. ITB. Bandung
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetable, Chlorophylls and Carotenoids. Van Nostrand Reinhold. New York.

Handayani, D.M. 2000. Pengaruh Ekstrak Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap Produksi Radikal Bebas Makrofag Mencit secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

IVACG (International Vitamin A Consultative Group). 1999. The Bioavailability of Dietary Carotenoids: Current Concepts. IVACG Secretariat. USA. (<http://www.ilsa.org/ivacg.html>)

Koessitoresmi, A. 2002. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Batang dan Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) pada Sel Limfosit Manusia secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Koswara, S. 1995. Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu. Pustaka Harapan. Jakarta.

Kusumaningsih, D.R. 2003. Mempelajari Pembuatan Minuman Instan dari Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers dan *Premia oblongifolia* Merr). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Langseth, L. 2000. Antioxidants and Their Effect on Health. *Di dalam*: Schmidl, M.K. dan T.P. Labuza. Essentials of Functional Foods. An Aspen Publication. USA.

Lin, R.I. 1994. Phytochemicals and Antioxidant. *Di dalam*: Goldberg, I. 1994. Functional Foods, Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals. Chapman and Hall. London.

Macrae, R. 1988. HPLC in Food Analysis 2nd ed. Academic Press. London

Malole, M.B.M. dan C.S.U. Pramono. 1989. Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.

Mc Evoy, G.K. 1995. Drug Information. American Hospital Formula Service. USA.

Meridian, Y. A. 2000. Kajian Ketersediaan Hayati β -karoten Minuman Emulsi Karoten Minyak Sawit dalam Hati dan Plasma Tikus (*Rattus norvigicus*). Skripsi. Fakultas Teknologi pertanian. IPB. Bogor.

Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan (Petunjuk Laboratorium). PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.

Muchtadi, D., N.S. Palupi, M. Astawan. 1993. Metabolisme Zat Gizi: Sumber, Fungsi, dan Kebutuhan bagi Tubuh Manusia. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.

Muchtadi, T.R. 1997. Teknologi Proses Pengolahan Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.

Nugrahenny, D. 2003. Pengaruh Seduhan The Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr) Terhadap Kadar Sitokrom P-420 dan Aktivitas Glutation S-Transferase dari Hati Tikus. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Pandoyo, A.S. 2000. Uji Aktivitas Biologis Ekstrak Tanaman Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Darah Tepi Manusia Secara *IN Vitro*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Papas, A.M. 1999. Antioxidant: Status, Diet, Nutrition, and Health. CRC Press. New York

Pranoto, B.A. 2003. Aktivitas Antitumor dan Immunomodulator dari Produk Cincau Hijau *Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr Terhadap Pertumbuhan Tumor Kelenjar Susu Mencit C3H. Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Rachmini, M. 2001. Mempelajari Efek Penghambatan Ekstrak Tanaman Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap Reaksi Alergi pada Mencit (Balb/c). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Rumondang, E. 1993. Mempelajari Efek Pemanasan Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) terhadap Bioavailability Beta- Karoten Provitamin A pada Plasma dan Hati Tikus. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Sunanto, H. 1995. Budidaya Cincau. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Syamsuhidayat, S.S. dan J. R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.

Tarwotjo, I. 1990. Hubungan Kurang Vitamin A dengan Status Gizi Khususnya Pertumbuhan Sebagai Suatu Dasar Upaya Peningkatan Kesehatan Anak. Disertasi Fakultas Kedokteran UNDIP. Semarang.

Wulandari, O.V. 2000. Pemanfaatan Minyak Sawit untuk Produksi Emulsi Kaya Beta-Karoten Sebagai Suplemen Vitamin A. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Van Het Hof, K.H., Clive E.W., Jan A.W., dan Joseph G.A.J.H. 2000. Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoid. J. Nutr. 130: 503-506.

Zakaria, F. R., M. Djaelani, Setyana, E. Rumondang, dan Nurrochmah. 2000. Carotenoid Bioavailability of Vegetables and Carbohydrate-containing Foods Measured by Retinol Accumulation in Rat Livers. Journal Of Food Composition and Analysis, 13 :297-310.

Lampiran 1. Komposisi vitamin mix dan mineral mix

Komposisi vitamin mix menurut AOAC (1990)

Jenis vitamin	Jumlah
Vitamin A	2000 IU
Vitamin D	200 IU
Vitamin E	10 IU
Menadion	0.5 mg
Koline	200 mg
Asam p-aminobenzoat	10 mg
Inositol	10 mg
Asam nikotinamid	4 mg
Ca-pantotenat	4 mg
Riboflavin	0.8 mg
Thiamine, HCl	0.5 mg
Piridoksin, HCl	0.5 mg
Asam folat	0.2 mg
Biotin	0.04 mg
Vitamin B-12	0.003 mg
Glukosa	Untuk membuat 1 gram

Komposisi mineral mix menurut AOAC (1990)

Jenis mineral	Jumlah (g)
NaCl	139.300
KI	0.790
KH ₂ PO ₄	389.000
MgSO ₄ anhidrid	57.300
CaCO ₃	381.400
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.000
MnSO ₄ .4H ₂ O	4.010
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.548
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.477
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.023



Lampiran 2. Analisa kimiawi kasein

Komposisi	% bb
Kadar protein	92.49
Kadar lemak	1.96
Kadar abu	4.50
Moisture	1.05

Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi total karotenoid bubuk daun cincau hijau hasil analisa spektrofotometer

Data pembuatan kurva standar karotenoid:

Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
0	0
5	0.178
10	0.354
15	0.532
20	0.710
25	0.889

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar karotenoid, yaitu:

$$y = 0.0355 x - 3.8095 \cdot 10^{-4}$$

Absorbansi sampel = 0.0855

Berat sampel = 0.25 g

Konsentrasi total karotenoid bubuk daun cincau hijau

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{slope}} \times \frac{\text{volume akhir}}{\text{g sampel}} \times \text{fp} \\
 &= \frac{0.0855}{0.0355} \times \frac{5}{0.25} \times 5 \\
 &= 240.85 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi β -karoten bubuk daun cincau hijau

Standar β - karoten 100 ppm

CH1: 1 0.5 5.00 ATT: 5 DEFS: 0 00/00/00 00:26

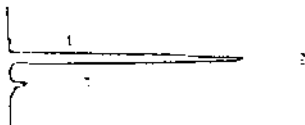


D-2500 00/00/00 00:26
METHOD: TAG: 1 CH: 1
FILE: 0 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	1.70	3171	0.766	00
2	2.24	307006	99.234	00
TOTAL		304207	100.000	
PERK PEJ :		2000		

Bubuk Daun Cincau Hijau

CH1: 1 0.5 5.00 ATT: 5 DEFS: 0 00/00/00 03:33



D-2500 00/00/00 03:33
METHOD: TAG: 0 CH: 1
FILE: 0 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	1.70	229952	94.932	00
2	2.24	10277	5.068	00
TOTAL		240229	100.000	
PERK PEJ :		2000		

Konsentrasi β -karoten bubuk daun cincau hijau

$$= \frac{229952}{302006} \times 100 \text{ ppm} \times 1/3$$

$$= 25.38 \text{ ppm}$$



Lampiran 5. Perhitungan konversi karotenoid menjadi retinol

Dalam 191.3 gram bubuk cincau hijau terdapat:

- β -karoten = $25.38 \mu\text{g} / \text{g bubuk} \times 191.3 \text{ g bubuk}$
= $4855.19 \mu\text{g}$
- Karotenoid lain = $(240.85 - 25.38) \mu\text{g} / \text{g bubuk} \times 191.3 \text{ g bubuk}$
= $41219.41 \mu\text{g}$

$$\begin{aligned}\text{RE dalam 191.3 gram bubuk cincau hijau} &= 4855.19 / 6 + 41219.41 / 12 \\ &= 809.20 + 3434.95 \\ &= 4244.15 \text{ RE}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Retinol yang terdapat pada 191.3 gram bubuk daun cincau hijau} \\ &= 4244.15 / 0.3 = 14147.17 \text{ IU}\end{aligned}$$

Jadi, 14147.17 IU vitamin A terdapat dalam 1 kg ransum

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi retinol pada ransum E} &= \frac{14147.17 \times 0.3}{1000} \\ &= 4.24 \mu\text{g} / \text{g ransum} \\ &= 4.24 \text{ ppm}\end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan pembuatan ransum

Untuk membuat 1000 g ransum:

1. Ransum tanpa bubuk daun cincau hijau

$$\bullet \text{ Kasein} = 20 \% \times 1000 \text{ g} \times \frac{100}{92.49} = 216.2 \text{ g}$$

Dalam 216.2 g kasein terdapat: lemak = $1.96 \% \times 216.2 \text{ g} = 4.2 \text{ g}$

$$\text{abu} = 4.50 \% \times 216.2 \text{ g} = 9.7 \text{ g}$$

- Minyak kedelai = $(5 \% \times 1000 \text{ g}) - 4.2 \text{ g} = 45.8 \text{ g}$
- Selulosa teknis = $5 \% \times 1000 \text{ g} = 50 \text{ g}$
- Mineral mix = $(3.5 \% \times 1000 \text{ g}) - 9.7 \text{ g} = 25.3 \text{ g}$
- Vitamin mix = $1 \% \times 1000 \text{ g} = 10 \text{ g}$
- Air = $10 \% \times 1000 \text{ g} = 100 \text{ g}$
- Maizena = $(1000 - 216.2 - 45.8 - 50 - 25.3 - 10 - 100) \text{ g} = 552.7 \text{ g}$

2. Ransum dengan bubuk daun cincau hijau

$$\bullet \text{ Bubuk daun cincau hijau} = 3 \% \times 1000 \text{ g} \times \frac{100}{15.68} = 191.3 \text{ g}$$

Dalam 191.3 g bubuk daun cincau hijau terdapat:

$$\text{Air} = 6.87 \% \times 191.3 \text{ g} = 13.1 \text{ g}$$

$$\text{Protein} = 15.85 \% \times 191.3 \text{ g} = 30.3 \text{ g}$$

$$\text{Lemak} = 0.86 \% \times 191.3 \text{ g} = 1.6 \text{ g}$$

$$\text{Abu} = 8.71 \% \times 191.3 \text{ g} = 16.7 \text{ g}$$

$$\bullet \text{ Kasein} = (200 - 30.3) \text{ g} \times \frac{100}{92.49} = 183.5 \text{ g}$$

Dalam 183.5 g kasein terdapat : lemak = $1.96 \% \times 183.5 \text{ g} = 3.6 \text{ g}$

$$\text{abu} = 4.50 \% \times 183.5 \text{ g} = 8.3 \text{ g}$$

$$\bullet \text{ Minyak kedelai} = (50 - 1.6 - 3.6) \text{ g} = 44.8 \text{ g}$$

Lampiran 6. Perhitungan pembuatan ransum (lanjutan)

- Selulosa teknis = $(5-3) \% \times 1000 \text{ g} = 20 \text{ g}$
- Mineral mix = $(3.5 \% \times 1000 \text{ g}) - 16.7 \text{ g} - 8.3 \text{ g} = 10 \text{ g}$
- Vitamin mix = $1 \% \times 1000 \text{ g} = 10 \text{ g}$
- Air = $(100- 13.1) \text{ g} = 86.9 \text{ g}$
- Maizena = $(1000 - 191.3 - 183.5 - 44.8 - 20 - 10 - 10 - 86.9) \text{ g} = 453.5 \text{ g}$

Waktu Kerja: 10 menit (10 menit untuk persiapan alat dan bahan, 10 menit untuk pembuatan ransum, 10 menit untuk pengamatan hasil, 10 menit untuk diskusi kelompok, 10 menit untuk penyimpulan, 10 menit untuk penutupian).

1. Tujuan: Mengetahui cara membuat ransum untuk ternak.

2. Materi: Ransum ternak.

3. Metode: Pengamatan langsung, diskusi kelompok, penyimpulan.

4. Hasil: Ransum ternak.

5. Kesimpulan: Ransum ternak adalah campuran bahan-bahan yang digunakan untuk memberi makan ternak.

6. Saran: Perlu diperhatikan komposisi ransum ternak agar ternak dapat tumbuh dengan baik.



Lampiran 7. Perhitungan konsentrasi retinol ransum hasil analisa spektrofotometer

Data pembuatan kurva standar retinol

Konsentrasi standar retinol (ppm)	Absorbansi
0	0
0.5	0.0799
1.0	0.1597
1.5	0.2396

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar retinol, yaitu:

$$y = 0.1597 x + 1 \cdot 10^{-5}$$

Data pengukuran konsentrasi retinol ransum:

Jenis ransum	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
Ransum dengan vitamin A	0.0564	0.5048	6.99
Ransum tanpa vitamin A	0.0060	0.5033	0.75

Contoh perhitungan:

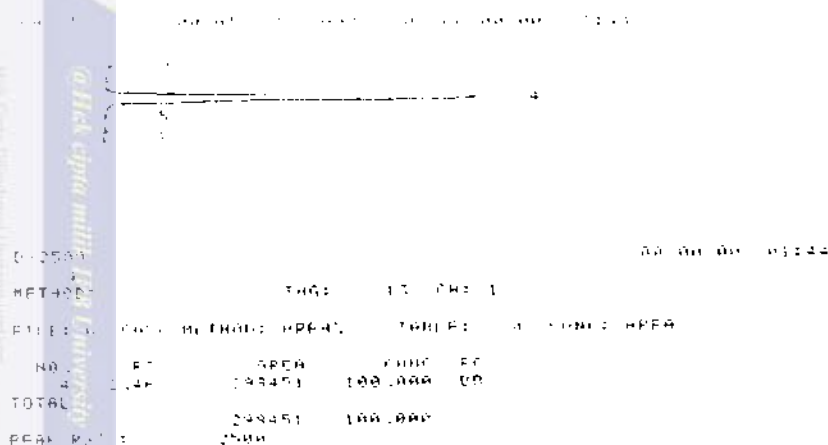
Konsentrasi retinol ransum dengan vitamin A

$$= \frac{0.0564 \times 10}{0.1597 - 0.5048}$$

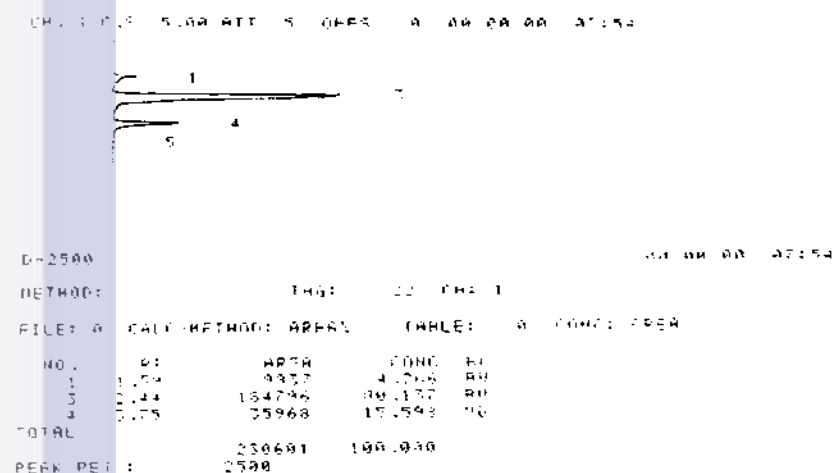
$$= 6.99 \text{ ppm}$$

Lampiran 8. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi retinol ransum

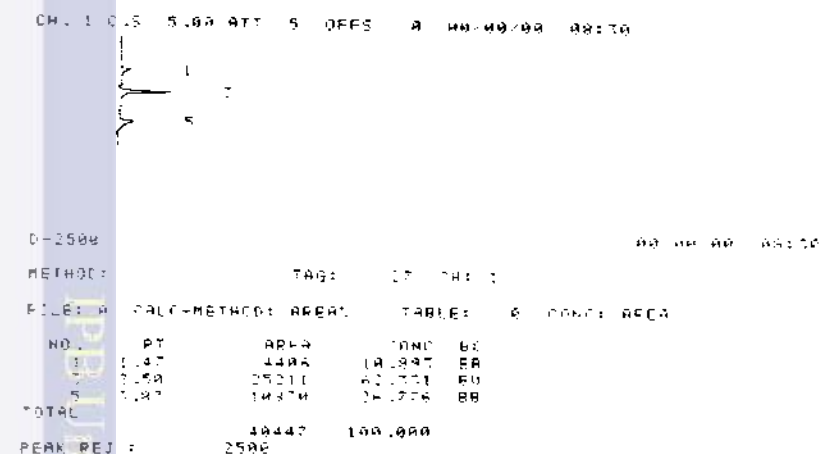
Standar retinol 10 ppm



Ransum dengan vitamin A



Ransum tanpa vitamin A





Lampiran 8. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi retinol ransum (lanjutan)

- Konsentrasi retinol ransum dengan vitamin A

$$\begin{aligned} &= \frac{184796}{298451} \times 10 \text{ ppm} \\ &= 6.19 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Konsentrasi retinol ransum tanpa vitamin A

$$\begin{aligned} &= \frac{25211}{298451} \times 10 \text{ ppm} \\ &= 0.84 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 9. Perhitungan konsentrasi total karotenoid ransum hasil analisa spektrofotometer

Data pembuatan kurva standar karotenoid:

Konsentrasi standar karotenoid (ppm)	Absorbansi
0	0
5	0.163
10	0.328
15	0.491
20	0.650
25	0.818

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi karotenoid, yaitu:

$$y = 0.0327 x + 1.9048 \cdot 10^{-4}$$

Absorbansi sampel = 0.0738

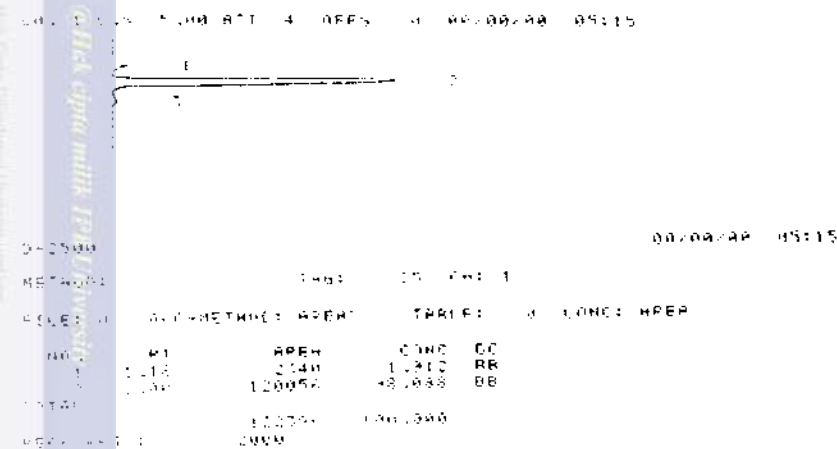
Berat sampel = 0.26 g

Konsentrasi total karotenoid ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau

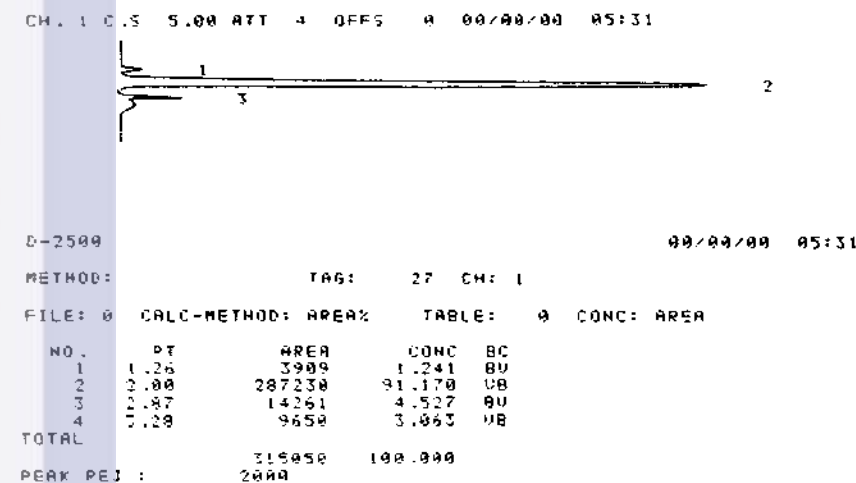
$$\begin{aligned}
 &= \frac{0.0738 \times 5}{0.0327 \times 0.26} \\
 &= 43.40 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Hasil analisa HPLC beserta perhitungan konsentrasi β -karoten ransum

Standar β -karoten 10 ppm



Ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau



Konsentrasi β -karoten ransum dengan penambahan bubuk daun cincau hijau

$$= \frac{287230}{120056} \times 10 \text{ ppm}$$

$$= 23,92 \text{ ppm}$$



Lampiran 11. Rekapitulasi data berat badan tikus selama masa pemeliharaan

Tikus	8-Apr	10-Apr	12-Apr	14-Apr	16-Apr	18-Apr	20-Apr	22-Apr	24-Apr	26-Apr
A1	26.0	29.0	33.0	41.0	46.0	56.0	65.0	74.0	84.0	96.0
A2	29.0	48.0	58.0	68.0	78.0	89.0	98.0	107.0	119.0	129.0
A3	29.0	49.0	60.0	70.0	74.0	94.0	106.0	116.0	130.0	143.0
A4	30.0	39.0	47.0	50.0	59.0	72.0	83.0	96.0	103.0	114.0
A5	31.0	38.0	46.0	51.0	51.0	65.0	73.0	84.0	97.0	105.0
Rata2	29.0	40.6	48.8	56.0	61.6	75.2	85.0	95.4	106.6	117.4
B1	34.0	41.0	50.0	58.0	68.0	76.0	87.0	96.0	106.0	115.0
B2	35.0	43.0	53.0	62.0	69.0	70.0	88.0	99.0	108.0	120.0
B3	35.0	40.0	51.0	55.0	70.0	86.0	98.0	109.0	121.0	126.0
B4	36.0	46.0	46.0	45.0	48.0	58.0	66.0	72.0	84.0	99.0
B5	36.0	41.0	51.0	48.0	53.0	66.0	76.0	88.0	100.0	113.0
Rata2	35.2	42.2	50.2	53.6	61.6	71.2	83.0	92.8	103.8	114.6
C1	40.0	52.0	62.0	75.0	86.0	101.0	111.0	121.0	133.0	137.0
C2	40.0	47.0	56.0	67.0	75.0	72.0	89.0	94.0	105.0	113.0
C3	40.0	45.0	54.0	65.0	74.0	70.0	88.0	95.0	107.0	108.0
C4	40.0	41.0	54.0	61.0	71.0	81.0	89.0	95.0	107.0	115.0
C5	41.0	54.0	65.0	78.0	89.0	102.0	113.0	121.0	136.0	142.0
Rata2	40.2	47.8	58.2	69.2	79.0	85.2	98.0	105.2	117.6	123.0
D1	43.0	49.0	58.0	68.0	71.0	87.0	98.0	103.0	113.0	122.0
D2	44.0	51.0	60.0	69.0	77.0	87.0	98.0	102.0	114.0	120.0
D3	45.0	49.0	67.0	80.0	88.0	104.0	114.0	126.0	141.0	150.0
D4	45.0	51.0	63.0	74.0	84.0	97.0	104.0	114.0	129.0	139.0
D5	46.0	54.0	64.0	65.0	80.0	92.0	101.0	111.0	124.0	129.0
Rata2	44.6	50.8	62.4	71.2	80.0	93.4	103.0	111.2	124.2	132.0
E1	50.0	56.0	66.0	79.0	91.0	107.0	117.0	126.0	129.0	138.0
E2	51.0	60.0	70.0	81.0	92.0	108.0	120.0	130.0	143.0	156.0
E3	51.0	60.0	71.0	82.0	89.0	102.0	109.0	103.0	122.0	127.0
E4	52.0	57.0	67.0	78.0	88.0	101.0	110.0	118.0	129.0	136.0
E5	52.0	59.0	69.0	80.0	94.0	107.0	118.0	125.0	139.0	149.0
Rata2	51.2	58.4	68.6	80.0	90.8	105.0	114.8	120.4	132.4	141.2
F1	53.0	62.0	73.0	85.0	94.0	96.0				
F2	53.0	69.0	80.0	92.0	103.0	108.0				
F3	54.0	59.0	68.0	81.0	91.0	97.0				
F4	54.0	60.0	70.0	82.0	93.0	98.0				
F5	54.0	62.0	72.0	85.0	94.0	103.0	113.0	121.0	134.0	143.0
F6	55.0	65.0	76.0	86.0	93.0	104.0	104.0	118.0	131.0	144.0
F7	56.0	63.0	72.0	82.0	93.0	105.0	113.0	119.0	112.0	130.0
F8	58.0	70.0	79.0	92.0	102.0	118.0	128.0	137.0	150.0	160.0
Rata2	54.6	63.8	73.8	85.6	95.4	103.6	114.5	123.8	131.8	144.3



Lampiran 11. Rekapitulasi data berat badan tikus selama masa pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	28-Apr	30-Apr	2-May	4-May	6-May	8-May	10-May	12-May	14-May	16-May
A1	104.0	115.0	125.0	139.0	141.0	156.0	172.0	183.0	197.0	207.0
A2	137.0	147.0	159.0	174.0	182.0	194.0	208.0	216.0	221.0	232.0
A3	153.0	169.0	179.0	188.0	205.0	209.0	232.0	241.0	255.0	265.0
A4	126.0	138.0	148.0	160.0	170.0	185.0	198.0	210.0	221.0	233.0
A5	113.0	123.0	135.0	146.0	155.0	167.0	179.0	186.0	196.0	206.0
Rata2	126.6	138.4	149.2	161.4	170.6	182.2	197.8	207.2	218.0	228.6
B1	120.0	130.0	139.0	150.0	161.0	171.0	184.0	192.0	201.0	212.0
B2	130.0	140.0	151.0	165.0	176.0	188.0	204.0	216.0	223.0	234.0
B3	136.0	149.0	159.0	172.0	186.0	196.0	209.0	219.0	228.0	238.0
B4	110.0	120.0	125.0	137.0	144.0	152.0	166.0	172.0	181.0	189.0
B5	122.0	131.0	142.0	157.0	165.0	174.0	188.0	195.0	191.0	200.0
Rata2	123.6	134.0	143.2	156.2	166.4	176.2	190.2	198.8	204.8	214.6
C1	144.0	154.0	167.0	177.0	187.0	202.0	219.0	223.0	234.0	241.0
C2	119.0	126.0	132.0	139.0	136.0	152.0	162.0	165.0	169.0	178.0
C3	119.0	128.0	138.0	149.0	157.0	168.0	181.0	192.0	200.0	210.0
C4	128.0	130.0	143.0	156.0	169.0	179.0	194.0	203.0	211.0	222.0
C5	152.0	167.0	182.0	195.0	210.0	223.0	237.0	242.0	256.0	267.0
Rata2	132.4	141.0	152.4	163.2	171.8	184.8	198.6	205.0	214.0	223.6
D1	129.0	142.0	151.0	163.0	174.0	184.0	201.0	205.0	213.0	220.0
D2	126.0	111.0	132.0	141.0	147.0	155.0	165.0	168.0	175.0	178.0
D3	159.0	174.0	180.0	201.0	212.0	227.0	240.0	251.0	261.0	270.0
D4	146.0	157.0	170.0	184.0	190.0	204.0	219.0	227.0	235.0	247.0
D5	142.0	155.0	169.0	183.0	196.0	211.0	224.0	235.0	244.0	257.0
Rata2	140.4	147.8	160.4	174.4	183.8	196.2	209.8	217.2	225.6	234.4
E1	150.0	159.0	170.0	184.0	190.0	202.0	218.0	226.0	236.0	247.0
E2	165.0	181.0	190.0	207.0	219.0	233.0	249.0	258.0	268.0	279.0
E3	140.0	149.0	157.0	168.0	176.0	186.0	198.0	200.0	208.0	215.0
E4	145.0	152.0	162.0	177.0	182.0	196.0	205.0	209.0	218.0	224.0
E5	156.0	169.0	182.0	193.0	204.0	218.0	229.0	240.0	250.0	262.0
Rata2	151.2	162.0	172.2	185.8	194.2	207.0	219.8	226.6	236.0	245.4
F1										
F2										
F3										
F4										
F5	135.0	156.0	170.0	184.0	199.0	211.0	223.0	235.0	244.0	249.0
F6	152.0	161.0	172.0	183.0	192.0	202.0	213.0	219.0	226.0	235.0
F7	142.0	157.0	169.0	179.0	195.0	188.0	212.0	215.0	227.0	237.0
F8	170.0	180.0	190.0	204.0	211.0	223.0	235.0	241.0	248.0	257.0
Rata2	149.8	163.5	175.3	187.5	199.3	206.0	220.8	227.5	236.3	244.5



Lampiran 11. Rekapitulasi data berat badan tikus selama masa pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	18-May	20-May	22-May	24-May	26-May	28-May	30-May	1-Jun	3-Jun	5-Jun
A1	218.0	226.0	234.0	244.0	252.0	237.0	262.0	263.0	276.0	283.0
A2	242.0	250.0	256.0	265.0	271.0	277.0	284.0	289.0	294.0	300.0
A3	275.0	283.0	292.0	304.0	311.0	317.0	324.0	331.0	340.0	325.0
A4	242.0	251.0	257.0	269.0	274.0	281.0	288.0	302.0	309.0	314.0
A5	215.0	224.0	232.0	238.0	242.0	249.0	255.0	263.0	270.0	259.0
Rata2	238.4	246.8	254.2	264.0	270.0	272.2	282.6	289.6	297.8	296.2
B1	220.0	227.0	234.0	239.0	249.0	253.0	257.0	264.0	269.0	259.0
B2	242.0	250.0	258.0	262.0	271.0	273.0	280.0	287.0	292.0	300.0
B3	247.0	255.0	259.0	268.0	274.0	283.0	271.0	294.0	295.0	296.0
B4	199.0	208.0	219.0	224.0	215.0	239.0	230.0	241.0	258.0	271.0
B5	214.0	228.0	239.0	247.0	254.0	256.0	263.0	271.0	275.0	276.0
Rata2	224.4	233.6	241.8	248.0	252.6	260.8	260.2	271.4	277.8	280.4
C1	250.0	258.0	262.0	269.0	276.0	282.0	290.0	294.0	301.0	307.0
C2	182.0	186.0	194.0	201.0	205.0	211.0	215.0	225.0	227.0	231.0
C3	218.0	225.0	231.0	239.0	246.0	253.0	257.0	269.0	277.0	282.0
C4	232.0	242.0	249.0	256.0	265.0	271.0	280.0	276.0	287.0	294.0
C5	274.0	280.0	293.0	304.0	311.0	318.0	326.0	334.0	334.0	348.0
Rata2	231.2	238.2	245.8	253.8	260.6	267.0	273.6	279.6	285.2	292.4
D1	228.0	235.0	242.0	251.0	258.0	266.0	269.0	281.0	289.0	292.0
D2	186.0	194.0	201.0	203.0	210.0	216.0	220.0	229.0	234.0	237.0
D3	281.0	292.0	301.0	295.0	310.0	319.0	328.0	336.0	344.0	343.0
D4	252.0	256.0	268.0	269.0	279.0	284.0	292.0	286.0	298.0	298.0
D5	268.0	278.0	281.0	294.0	301.0	306.0	315.0	322.0	323.0	328.0
Rata2	243.0	251.0	258.6	262.4	271.6	278.2	284.8	290.8	297.6	299.6
E1	274.0	261.0	267.0	274.0	279.0	286.0	292.0	298.0	297.0	304.0
E2	288.0	297.0	307.0	315.0	321.0	326.0	336.0	343.0	353.0	359.0
E3	222.0	228.0	231.0	237.0	245.0	253.0	261.0	268.0	274.0	281.0
E4	235.0	245.0	249.0	255.0	261.0	268.0	276.0	280.0	286.0	293.0
E5	271.0	279.0	283.0	295.0	290.0	307.0	315.0	320.0	313.0	333.0
Rata2	258.0	262.0	267.4	275.2	279.2	288.0	296.0	301.8	304.6	314.0
F1										
F2										
F3										
F4										
F5	256.0	263.0	264.0	278.0	285.0	292.0	300.0	307.0		
F6	241.0	247.0	239.0	257.0	257.0	267.0	275.0	274.0		
F7	243.0	249.0	253.0	264.0	269.0	281.0	286.0	296.0		
F8	264.0	271.0	276.0	286.0	289.0	292.0	303.0	309.0		
Rata2	251.0	257.5	258.0	271.3	275.0	283.0	291.0	296.5		

Lampiran 11. Rekapitulasi data berat badan tikus selama masa pemeliharaan
(lanjutan)

Tikus	7-Jun	9-Jun	11-Jun	13-Jun	15-Jun
A1	293.0	299.0	273.0	304.0	313.0
A2	304.0	307.0	314.0	320.0	324.0
A3	345.0	352.0	357.0	352.0	368.0
A4	321.0	329.0	336.0	342.0	349.0
A5	279.0	285.0	292.0	300.0	302.0
Rata2	308.4	314.4	314.4	323.6	331.2
B1	276.0	267.0	286.0	289.0	269.0
B2	303.0	304.0	310.0	314.0	320.0
B3	306.0	311.0	319.0	325.0	330.0
B4	271.0	277.0	289.0	288.0	298.0
B5	279.0	286.0	291.0	298.0	304.0
Rata2	287.0	289.0	299.0	302.8	304.2
C1	310.0	317.0	322.0	325.0	331.0
C2	235.0	239.0	227.0	247.0	252.0
C3	288.0	297.0	301.0	309.0	313.0
C4	294.0	305.0	312.0	320.0	328.0
C5	351.0	361.0	362.0	374.0	380.0
Rata2	295.6	303.8	304.8	315.0	320.8
D1	295.0	303.0	320.0	309.0	315.0
D2	243.0	252.0	363.0	234.0	258.0
D3	334.0	359.0	257.0	378.0	382.0
D4	308.0	312.0	306.0	327.0	333.0
D5	334.0	343.0	350.0	362.0	366.0
Rata2	302.8	313.8	319.2	322.0	330.8
E1	307.0	313.0	322.0	318.0	333.0
E2	361.0	367.0	375.0	384.0	384.0
E3	289.0	294.0	303.0	303.0	309.0
E4	300.0	304.0	301.0	317.0	324.0
E5	340.0	346.0	352.0	357.0	361.0
Rata2	319.4	324.8	330.6	335.8	342.2

Keterangan:

A: Kelompok KS

B: Kelompok SC

C: Kelompok KN

D: Kelompok KC

E: Kelompok KP

F: Kelompok tambahan

Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan.

Tikus	8-Apr	9-Apr	10-Apr	11-Apr	12-Apr	13-Apr	14-Apr	15-Apr	16-Apr
A1	7.9	5.0	7.5	9.8	8.1	7.0	9.6	8.5	7.2
A2	9.4	5.3	9.8	8.5	9.1	8.4	10.9	10.5	9.4
A3	11.5	6.3	8.4	7.6	9.5	9.4	11.1	8.0	10.1
A4	9.9	3.8	6.5	6.8	3.5	7.4	8.7	9.6	8.6
A5	8.6	8.0	9.5	8.1	7.6	8.0	9.5	6.0	7.6
Rata2	9.5	5.7	8.3	8.2	7.6	8.0	10.0	8.5	8.6
B1	7.2	6.6	9.3	9.2	8.4	11.5	9.6	10.6	9.3
B2	8.9	4.8	7.5	8.9	6.7	7.5	10.3	9.1	7.3
B3	8.5	6.1	9.3	6.7	2.2	3.0	10.7	12.1	11.1
B4	11.2	6.1	4.2	7.8	11.7	5.6	6.2	4.9	5.9
B5	5.4	4.7	7.3	7.5	4.4	3.0	4.9	7.6	7.7
Rata2	8.2	5.7	7.5	8.0	6.7	6.1	8.3	8.9	8.3
C1	10.6	6.5	7.7	9.6	10.0	10.1	11.1	12.3	10.7
C2	11.2	7.6	9.7	8.7	9.9	8.9	10.3	11.4	7.8
C3	9.3	5.4	8.5	8.2	7.6	8.2	10.2	10.7	6.3
C4	9.2	4.0	8.7	8.9	8.1	8.8	9.6	10.1	8.3
C5	10.7	6.0	10.6	14.7	8.8	9.7	11.3	12.2	11.5
Rata2	10.2	5.9	9.0	10.0	8.9	9.1	10.5	11.3	8.9
D1	8.1	5.9	8.4	8.7	8.4	7.4	10.7	10.2	8.0
D2	9.6	6.3	8.0	8.2	8.5	8.4	10.7	10.5	9.4
D3	10.4	4.5	9.7	11.7	10.2	10.2	11.0	10.8	10.3
D4	12.4	4.2	8.0	9.3	8.2	8.3	9.3	11.5	8.9
D5	10.0	6.6	8.5	9.1	8.1	7.1	12.2	10.1	9.7
Rata2	10.1	5.5	8.5	9.4	8.7	8.3	10.8	10.6	9.3
E1	10.1	7.8	9.3	9.9	10.2	10.0	10.4	10.2	10.2
E2	11.2	6.6	9.6	10.7	9.9	10.8	11.6	10.8	10.8
E3	9.3	7.5	9.6	10.0	10.4	12.1	11.0	12.0	9.8
E4	9.9	6.7	8.6	9.4	9.1	9.0	12.9	11.7	10.9
E5	10.7	6.3	9.1	9.0	10.7	9.7	11.6	12.1	9.6
Rata2	10.2	7.0	9.2	9.8	10.1	10.3	11.5	11.4	10.3
F1	13.0	7.8	8.4	9.7	9.7	10.2	10.8	12.4	8.8
F2	13.2	7.5	11.3	11.7	11.1	11.4	13.1	13.5	10.3
F3	8.9	6.9	8.8	9.6	9.0	9.6	10.7	11.6	8.9
F4	11.4	6.9	9.3	10.3	9.7	11.0	10.8	12.2	10.3
F5	10.3	7.6	9.8	9.6	10.1	10.1	11.9	11.9	7.0
F6	11.9	6.2	10.0	10.5	10.9	11.4	12.8	11.6	10.9
F7	11.7	7.3	8.7	11.5	10.7	10.6	12.4	12.3	11.7
F8	13.8	8.3	10.4	11.8	10.7	11.4	13.4	12.9	11.7
Rata2	11.8	7.3	9.6	10.6	10.2	10.7	12.0	12.3	10.0



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	17-Apr	18-Apr	19-Apr	20-Apr	21-Apr	22-Apr	23-Apr	24-Apr	25-Apr
A1	8.0	8.1	7.9	9.1	10.7	10.2	10.8	12.3	11.4
A2	11.0	11.3	10.2	4.1	12.5	11.9	12.1	13.8	11.7
A3	12.2	11.3	12.3	10.7	13.5	20.0	14.1	13.6	13.5
A4	10.1	8.3	10.3	11.8	12.2	11.1	11.8	20.0	20.0
A5	7.9	8.3	8.6	9.7	10.3	9.3	13.5	12.6	10.9
Rata2	9.8	9.5	9.9	9.1	11.8	12.5	12.5	14.5	13.5
B1	9.5	9.2	11.1	12.3	13.2	11.1	13.2	13.3	10.2
B2	7.4	9.3	11.6	12.0	12.2	11.6	13.6	15.7	12.7
B3	11.5	12.0	12.8	20.0	14.8	14.1	13.1	20.0	14.0
B4	10.5	7.7	9.2	6.0	11.4	8.9	20.0	13.6	11.8
B5	8.1	7.6	8.5	10.0	11.0	10.6	10.4	12.3	11.8
Rata2	9.4	9.2	10.6	12.1	12.5	11.3	14.1	15.0	12.1
C1	12.1	11.0	13.1	12.9	13.9	12.7	15.3	6.3	13.1
C2	7.5	9.7	10.6	13.0	12.0	11.9	12.3	11.9	11.4
C3	8.6	9.8	10.0	11.4	11.4	11.1	14.1	6.2	10.4
C4	8.9	10.5	8.6	10.5	10.2	11.0	11.9	10.6	12.2
C5	11.5	11.4	11.5	13.7	13.0	12.8	13.3	9.0	20.0
Rata2	9.7	10.5	10.8	12.3	12.1	11.9	13.4	8.8	13.4
D1	10.6	10.7	10.3	11.2	20.0	11.6	9.9	10.6	12.6
D2	10.5	10.4	11.1	11.1	20.0	10.2	12.1	10.2	11.7
D3	12.3	12.0	12.2	14.2	13.6	13.6	14.6	20.0	20.0
D4	8.1	9.8	10.1	12.7	12.4	12.2	14.2	12.9	13.8
D5	9.3	10.4	10.7	11.8	12.7	10.8	14.0	20.0	20.0
Rata2	10.2	10.7	10.9	12.2	15.7	11.7	13.0	14.7	15.6
E1	11.8	11.6	11.5	14.2	13.1	4.2	20.0	20.0	12.3
E2	12.6	20.0	13.6	15.0	14.6	12.5	20.0	13.9	14.8
E3	10.7	10.4	12.4	12.7	8.7	11.9	13.3	13.5	10.8
E4	13.6	12.7	11.7	13.3	13.6	11.9	14.1	20.0	12.8
E5	12.4	10.8	12.3	13.0	12.7	11.1	20.0	14.4	12.0
Rata2	12.2	13.1	12.3	13.6	12.5	10.3	17.5	16.4	12.5
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	13.3	12.1	13.4	12.2	12.0	11.0	14.6	12.8	12.6
F6	11.7	12.1	8.8	12.0	12.4	12.5	12.8	13.4	13.2
F7	11.7	11.4	12.0	8.1	14.0	9.0	7.6	6.0	12.1
F8	12.4	12.2	13.0	14.2	13.9	14.2	14.3	14.6	11.2
Rata2	12.3	12.0	11.8	11.6	13.1	11.7	12.3	11.7	12.3



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	26-Apr	27-Apr	28-Apr	29-Apr	30-Apr	1-May	2-May	3-May	4-May
A1	11.3	12.7	12.3	14.8	13.1	14.0	13.1	13.0	6.3
A2	13.7	13.8	12.5	14.3	13.7	14.1	14.6	14.9	14.9
A3	14.6	20.0	14.4	16.6	16.5	14.6	14.8	11.1	16.4
A4	20.0	20.0	12.4	13.2	13.8	12.6	14.0	11.6	14.0
A5	12.0	11.3	10.7	14.1	11.4	13.6	15.3	12.1	13.0
Rata2	14.3	15.6	12.5	14.6	13.7	13.8	14.4	12.5	12.9
B1	12.5	11.7	11.5	13.3	13.2	12.6	13.4	12.6	14.9
B2	13.9	14.6	12.6	13.1	13.0	13.6	14.4	14.7	13.5
B3	10.1	20.0	14.0	16.9	15.7	14.3	14.7	16.5	17.3
B4	13.9	13.0	13.9	13.4	8.7	13.1	13.7	13.1	15.2
B5	11.9	13.6	13.1	13.3	20.0	12.8	14.3	14.1	13.0
Rata2	12.5	14.6	13.0	14.0	14.1	13.3	14.1	14.2	14.8
C1	12.1	11.4	14.4	20.0	15.2	13.4	13.7	13.4	14.2
C2	12.9	12.9	10.1	13.0	12.5	11.3	13.0	12.1	12.1
C3	12.3	12.5	10.7	12.1	12.3	11.2	14.7	10.2	12.1
C4	12.0	14.3	8.3	12.1	12.6	14.0	14.2	12.0	13.1
C5	11.3	20.0	14.8	17.1	15.3	13.9	14.9	15.2	16.6
Rata2	12.1	14.2	11.7	14.9	13.6	12.8	14.1	12.6	13.6
D1	12.0	11.8	13.4	14.1	9.8	10.7	13.3	12.1	11.1
D2	11.9	10.4	6.2	9.4	10.6	10.9	11.2	11.9	12.8
D3	14.3	20.0	14.8	16.9	15.1	15.1	17.8	16.4	17.7
D4	13.1	12.2	12.5	14.1	14.2	12.4	15.4	14.6	15.2
D5	20.0	13.6	14.8	15.2	15.4	13.7	15.4	15.8	16.4
Rata2	14.3	13.6	12.3	13.9	13.0	12.6	14.6	14.2	14.6
E1	11.9	20.0	12.6	14.1	14.6	11.2	14.5	13.8	8.6
E2	20.0	20.0	14.8	18.1	14.7	13.7	15.8	16.1	16.5
E3	12.9	14.6	13.8	13.6	11.8	12.7	13.8	13.6	15.4
E4	13.5	13.0	12.6	14.6	12.3	14.0	12.6	14.4	15.7
E5	13.6	12.9	14.8	16.7	11.8	11.8	14.8	13.0	13.9
Rata2	14.4	16.1	13.7	15.4	13.0	12.7	14.3	14.2	14.0
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	20.0	20.0	12.7	14.3	12.8	14.4	15.9	14.4	16.1
F6	13.2	13.2	11.7	14.2	12.9	13.9	13.5	14.6	13.9
F7	20.0	20.0	20.0	14.9	13.3	13.8	14.3	13.5	14.9
F8	13.3	20.0	11.7	15.1	14.3	15.4	15.2	13.2	15.2
Rata2	16.6	18.3	14.0	14.6	13.3	14.4	14.7	13.9	15.0



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	5-May	6-May	7-May	8-May	9-May	10-May	11-May	12-May	13-May
A1	13.5	14.3	14.1	16.7	14.6	17.8	17.5	16.0	17.0
A2	14.9	14.5	16.6	17.9	15.6	19.2	17.6	16.0	17.7
A3	16.3	14.6	19.8	19.0	17.6	17.5	17.1	14.2	20.0
A4	10.5	13.4	15.9	16.7	13.7	17.0	15.8	16.5	16.3
A5	12.2	12.4	14.8	13.5	16.3	15.5	16.3	14.8	16.0
Rata2	13.5	13.8	16.2	16.8	15.6	17.4	16.9	15.5	17.4
B1	12.0	14.4	14.8	18.3	15.4	17.6	17.0	13.9	16.6
B2	13.1	15.6	14.4	16.6	17.0	17.1	14.1	15.0	17.2
B3	14.9	17.0	15.3	18.5	17.5	20.0	20.0	16.5	18.6
B4	12.9	13.2	13.1	14.7	13.8	14.3	14.0	13.6	13.8
B5	13.1	12.0	14.1	14.5	14.6	14.6	16.0	13.5	11.1
Rata2	13.2	14.4	14.3	16.5	15.7	16.7	16.2	14.5	15.5
C1	15.1	16.2	16.7	17.2	17.5	17.2	17.7	15.6	16.5
C2	8.1	14.2	13.7	14.1	12.5	14.4	12.5	11.9	11.6
C3	11.8	11.4	13.7	14.1	12.3	15.2	14.6	17.0	14.7
C4	13.4	11.9	15.4	20.0	20.0	15.4	16.9	12.4	15.6
C5	15.7	14.5	18.5	18.8	15.5	18.2	17.1	11.6	19.3
Rata2	12.8	13.6	15.6	16.8	15.6	16.1	15.8	13.7	15.5
D1	12.3	12.7	15.6	14.4	14.8	14.5	14.9	13.6	16.0
D2	10.3	8.6	13.5	12.3	10.3	11.3	14.1	10.4	11.9
D3	17.0	17.5	19.7	19.3	18.0	20.0	20.0	18.8	20.0
D4	12.0	15.5	15.9	16.7	15.9	20.0	19.3	15.0	16.3
D5	16.7	16.0	18.0	19.1	19.4	16.7	19.8	16.3	19.1
Rata2	13.7	14.1	16.5	16.4	15.7	16.5	17.6	14.8	16.7
E1	16.7	14.6	17.6	20.0	14.6	20.0	18.3	15.8	18.8
E2	15.4	16.7	19.7	20.0	18.1	20.0	19.5	18.9	19.5
E3	12.5	14.1	15.5	16.2	14.1	11.5	14.0	14.7	14.8
E4	13.9	12.6	16.3	16.3	15.4	15.4	12.3	14.9	15.1
E5	16.1	11.9	16.9	16.6	15.0	19.1	16.5	12.7	17.8
Rata2	14.9	14.0	17.2	17.8	15.4	17.2	16.1	15.4	17.2
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	14.6	15.5	18.4	20.0	16.2	19.5	18.3	17.2	17.6
F6	13.1	15.4	15.8	14.9	15.4	16.8	16.1	15.1	15.9
F7	14.4	6.9	6.8	11.0	16.2	3.0	20.0	18.5	16.7
F8	15.0	15.0	17.5	18.6	14.5	18.5	17.0	15.4	15.6
Rata2	14.3	13.2	14.6	16.1	15.6	14.5	17.9	16.6	16.5

Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	14-May	15-May	16-May	17-May	18-May	19-May	20-May	21-May	22-May
A1	16.2	16.9	16.7	15.6	17.2	15.3	18.1	18.0	16.4
A2	16.7	17.6	17.2	15.1	17.3	19.4	16.8	16.1	16.5
A3	19.8	17.5	16.9	15.9	17.0	16.6	17.3	15.4	15.5
A4	17.5	17.1	16.7	15.9	16.0	16.5	15.7	16.0	14.4
A5	14.9	14.3	13.8	15.1	16.8	15.3	15.9	17.1	15.5
Rata2	17.0	16.7	16.3	15.5	16.9	16.6	16.8	16.5	15.7
B1	15.8	16.5	15.2	16.1	15.9	15.4	16.3	16.2	15.3
B2	17.1	19.6	13.4	16.8	16.9	15.2	18.3	18.0	12.2
B3	18.5	18.1	18.9	18.5	18.5	17.6	17.4	17.2	17.5
B4	14.8	14.6	15.1	15.2	14.6	13.4	14.7	16.7	14.0
B5	16.2	12.4	16.4	16.4	15.3	15.7	17.4	17.1	14.5
Rata2	16.5	16.2	15.8	16.6	16.2	15.5	16.8	17.0	14.7
C1	16.0	16.0	16.4	17.6	16.9	16.5	17.0	16.4	16.9
C2	12.6	13.2	13.1	13.5	12.5	20.0	12.7	12.6	12.2
C3	13.1	14.9	12.1	15.0	13.9	14.2	14.2	14.3	14.5
C4	13.8	16.2	20.0	20.0	18.6	15.5	15.5	14.0	16.2
C5	20.0	20.0	19.8	18.1	18.8	14.5	14.5	17.7	18.7
Rata2	15.1	16.1	16.3	16.8	16.1	16.1	14.8	15.0	15.7
D1	14.9	15.5	14.5	16.0	13.1	13.8	15.1	15.3	16.0
D2	9.1	11.9	16.4	12.7	11.3	20.0	11.9	20.0	10.8
D3	20.0	17.6	19.4	19.9	20.0	20.0	20.0	19.8	19.9
D4	17.6	19.2	14.0	15.4	14.6	14.7	18.0	15.7	17.5
D5	18.2	20.0	19.4	19.4	18.7	17.4	19.4	17.2	18.6
Rata2	16.0	16.8	16.7	16.7	15.5	17.2	16.9	17.6	16.6
E1	17.3	17.9	14.5	19.7	17.2	16.6	17.6	17.0	18.6
E2	18.8	18.5	20.0	20.0	20.0	18.5	20.0	19.8	18.4
E3	14.6	14.2	15.1	16.5	15.7	15.3	14.6	14.2	14.6
E4	14.8	15.0	14.1	19.5	16.2	16.9	12.1	15.8	15.0
E5	16.5	17.1	15.8	17.0	16.7	16.4	19.3	15.4	18.0
Rata2	16.4	16.5	15.9	18.5	17.2	16.7	16.7	16.4	16.9
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	18.3	13.6	14.8	14.8	17.8	16.6	19.2	15.0	16.8
F6	15.1	15.8	13.9	14.9	15.8	15.9	17.0	12.6	16.0
F7	16.5	18.8	17.6	9.8	20.0	17.7	14.9	16.5	17.0
F8	16.9	16.9	20.0	19.2	18.1	15.3	15.8	14.4	15.5
Rata2	16.7	16.3	16.6	14.7	17.9	16.4	16.7	14.6	16.3



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	23-May	24-May	25-May	26-May	27-May	28-May	29-May	30-May	31-May
A1	16.3	18.3	17.2	16.3	8.5	19.8	19.5	10.7	19.7
A2	16.7	16.4	17.0	17.6	14.9	18.2	15.8	16.5	18.1
A3	17.5	16.3	19.0	19.0	17.1	20.0	15.7	20.0	20.0
A4	15.3	15.1	18.6	15.9	16.0	18.0	16.1	16.8	20.0
A5	11.0	15.6	15.1	17.0	15.0	17.2	16.0	17.0	16.2
Rata2	15.4	16.3	17.4	17.2	14.3	18.6	16.6	16.2	18.8
B1	14.8	16.6	17.3	14.9	15.6	17.0	16.0	18.2	17.0
B2	17.6	17.4	17.6	10.9	19.9	19.7	18.2	17.8	18.5
B3	15.4	14.9	19.5	15.9	17.6	19.5	20.0	20.0	13.1
B4	20.0	20.0	8.8	15.8	16.1	14.2	11.5	17.8	20.0
B5	14.9	17.6	17.0	15.2	16.0	16.8	16.6	18.0	19.8
Rata2	16.5	17.3	16.0	14.5	17.0	17.4	16.5	18.4	17.7
C1	14.5	16.2	19.9	17.0	16.1	19.4	17.0	18.5	19.1
C2	11.3	12.3	13.7	11.8	12.0	11.0	12.5	12.0	14.0
C3	14.7	15.1	14.4	15.1	20.0	15.0	15.0	15.0	17.4
C4	13.2	17.2	17.4	15.1	15.8	17.3	16.6	13.0	15.7
C5	17.2	19.6	20.0	19.8	16.5	15.5	18.8	17.8	20.0
Rata2	14.2	16.1	17.1	15.8	16.1	15.6	16.0	15.3	17.2
D1	14.9	20.0	16.3	14.3	16.3	17.0	15.1	16.4	17.4
D2	11.3	14.2	11.8	20.0	20.0	10.6	10.7	17.9	13.0
D3	11.0	19.7	20.0	20.0	18.3	18.7	18.8	20.0	20.0
D4	12.0	16.0	16.9	13.2	19.6	15.2	16.4	16.2	13.0
D5	17.1	17.7	19.5	20.0	16.9	19.8	18.8	18.8	17.1
Rata2	13.3	17.5	16.9	17.5	18.2	16.3	16.0	17.9	16.1
E1	15.6	18.8	17.3	16.2	14.9	18.6	17.7	16.2	18.3
E2	18.9	20.0	20.0	20.0	17.3	19.5	19.7	19.8	20.0
E3	12.3	14.6	14.9	15.2	14.2	15.2	14.0	16.1	15.8
E4	14.8	17.6	15.8	14.4	14.6	17.3	17.0	16.0	17.3
E5	16.5	17.9	13.9	19.3	14.7	17.7	17.5	18.2	18.1
Rata2	15.6	17.8	16.4	17.0	15.1	17.7	17.2	17.3	17.9
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	16.0	20.0	20.0	19.9	17.4	18.8	17.5	18.3	20.0
F6	15.7	20.0	20.0	18.2	16.0	15.5	15.3	15.4	14.0
F7	14.8	16.4	15.3	16.8	14.8	16.7	16.5	18.8	18.0
F8	15.1	13.4	17.5	14.9	14.8	16.5	16.0	16.1	16.8
Rata2	15.4	17.5	18.2	17.5	15.8	16.9	16.3	17.2	17.2



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	1-Jun	2-Jun	3-Jun	4-Jun	5-Jun	6-Jun	7-Jun	8-Jun	9-Jun
A1	17.9	13.2	14.6	11.2	12.2	12.1	11.9	12.8	4.5
A2	15.9	11.8	12.5	10.6	5.4	12.9	12.6	12.8	11.6
A3	20.0	10.9	11.7	4.3	15.6	11.0	15.1	14.3	10.1
A4	20.0	14.6	16.5	13.3	14.2	11.1	14.3	14.4	11.0
A5	16.3	9.8	6.6	4.5	10.7	9.8	11.8	12.8	12.0
Rata2	18.0	12.1	12.4	8.8	11.6	11.4	13.1	13.4	9.8
B1	19.0	5.3	7.5	9.6	8.8	11.0	13.8	17.9	20.0
B2	16.4	9.2	11.1	11.0	12.9	12.3	20.0	17.9	14.6
B3	20.0	16.7	14.4	8.6	11.5	13.8	15.6	14.0	13.1
B4	17.9	9.0	9.5	10.6	10.6	10.9	13.0	13.0	11.9
B5	20.0	7.9	10.4	11.1	12.2	9.8	7.5	13.4	10.1
Rata2	18.7	9.6	10.6	10.2	11.2	11.6	14.0	15.2	13.9
C1	17.4	10.7	16.3	10.3	9.1	8.6	13.1	13.3	9.3
C2	14.7	6.1	13.5	7.2	6.9	6.4	6.9	9.9	3.5
C3	16.6	12.3	16.4	9.6	10.0	9.8	13.1	12.1	9.8
C4	19.7	11.5	17.6	10.7	11.8	8.9	12.4	13.7	11.0
C5	20.0	14.2	16.6	14.4	13.0	11.6	15.9	16.5	15.8
Rata2	17.7	11.0	16.1	10.4	10.2	9.1	12.3	13.1	9.9
D1	18.8	12.8	13.2	13.8	12.2	11.3	14.7	14.8	11.5
D2	12.6	5.9	6.6	7.4	5.9	8.0	9.2	20.0	9.2
D3	20.0	12.7	10.2	7.7	12.7	6.6	18.4	17.7	16.0
D4	20.0	4.5	8.8	6.1	9.4	12.0	13.8	13.5	12.0
D5	19.8	8.5	10.8	10.0	9.3	13.2	16.5	15.3	15.6
Rata2	18.2	8.9	9.9	9.0	9.9	10.2	14.5	16.3	12.9
E1	12.7	10.9	12.1	11.8	9.7	11.3	14.2	14.0	13.3
E2	20.0	14.7	13.3	11.1	15.7	14.1	17.3	14.2	14.4
E3	17.6	9.3	10.1	10.8	20.0	10.6	10.1	12.5	12.7
E4	18.0	9.7	9.3	10.0	9.6	10.7	11.0	12.3	10.5
E5	18.0	6.6	8.2	10.3	13.1	11.1	14.1	18.0	10.7
Rata2	17.3	10.2	10.6	10.8	13.6	11.6	13.3	14.2	12.3
F1									
F2									
F3									
F4									
F5	19.7								
F6	15.1								
F7	19.2								
F8	16.0								
Rata2	17.5								



Lampiran 12. Rekapitulasi data konsumsi ransum tikus selama pemeliharaan (lanjutan)

Tikus	10-Jun	11-Jun	12-Jun	13-Jun	14-Jun	15-Jun
A1	-	14.9	14.1	14.5	14.4	14.6
A2	9.6	12.4	11.1	12.4	11.8	13.0
A3	9.7	20.0	5.3	6.0	6.8	19.0
A4	14.3	20.0	12.4	12.5	12.5	13.8
A5	11.9	11.7	11.7	11.4	10.5	9.8
Rata2	9.1	15.8	10.9	11.4	11.2	14.0
B1	13.0	13.0	11.3	11.0	13.0	16.8
B2	15.2	16.3	14.0	13.0	11.6	12.2
B3	13.7	14.4	12.9	13.1	12.7	18.6
B4	12.3	10.5	10.5	10.6	10.5	11.0
B5	12.6	15.3	11.6	11.5	10.8	12.5
Rata2	13.4	13.9	12.1	11.8	11.7	14.2
C1	12.6	20.0	11.1	14.3	12.2	10.5
C2	3.9	7.7	8.2	9.7	8.9	8.4
C3	11.6	9.1	9.5	10.7	11.0	13.1
C4	10.8	10.6	10.2	11.5	11.1	11.6
C5	15.9	13.7	14.8	15.2	15.3	13.9
Rata2	11.0	12.2	10.8	12.3	11.7	11.5
D1	14.2	12.5	11.3	11.5	12.5	16.2
D2	10.0	2.5	0.5	2.7	7.6	6.1
D3	16.3	15.9	15.5	13.5	12.8	17.7
D4	13.5	13.4	11.3	11.8	13.2	15.5
D5	15.4	15.4	16.1	15.7	16.2	16.9
Rata2	13.9	11.9	10.9	11.0	12.5	14.5
E1	14.1	12.7	7.0	13.3	12.3	11.4
E2	15.5	15.1	20.0	14.4	12.7	9.7
E3	12.6	9.7	11.2	10.9	10.5	9.5
E4	6.5	10.4	12.9	11.9	12.0	12.8
E5	13.0	13.3	10.9	12.1	12.4	13.0
Rata2	12.3	12.2	12.4	12.5	12.0	11.3

Keterangan:

A: Kelompok KS

B: Kelompok SC

C: Kelompok KN

D: Kelompok KC

E: Kelompok KP

F: Kelompok tambahan

Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa spektrofotometer

- Hati kelompok KS**

Data pembuatan kurva standar retinol:

Konsentrasi standar retinol (ppm)	Absorbansi
0	0
0.5	0.0795
1.0	0.1595
1.5	0.2394

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar retinol:

$$y = 0.1596 x + 1.3 \cdot 10^{-4}$$

Data pengukuran konsentrasi retinol hati kelompok KS:

Sampel	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
Pooling 1	0.0782	0.2103	23.30
Pooling 2	0.0674	0.2004	21.07

Rumus perhitungan konsentrasi retinol hasil analisa spektrofotometer:

$$\text{Konsentrasi sampel} = \frac{\text{abs. sampel}}{\text{abs. standar}} \times \frac{\text{vol. Akhir}}{\text{g sampel}}$$

Contoh perhitungan :

Konsentrasi retinol hati pooling 1

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0.0782}{0.1596} \times \frac{10}{0.2103} \\
 &= 23.30 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$



Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa spektrofotometer (lanjutan)

- Hati kelompok SC dan KC**

Data pembuatan kurva standar retinol:

Konsentrasi standar retinol (ppm)	Absorbansi
0	0
0.5	0.0799
1.0	0.1598
1.5	0.2397

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar retinol:

$$y = 0.1598 x$$

Data pengukuran konsentrasi retinol hati kelompok SC dan KC:

Kelompok	Sampel	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
SC	Pooling 1	0.1956	0.5214	23.48
	Pooling 2	0.2069	0.5346	24.22
KC	Pooling 1	0.1069	0.5280	12.67
	Pooling 2	0.1163	0.5176	14.06

Contoh perhitungan:

Konsentrasi retinol hati SC pooling 1

$$= \frac{0.1956 \times 10}{0.1597 \times 0.5214}$$

$$= 23.48 \text{ ppm}$$

- Hati kelompok KN**

Data pembuatan kurva standar retinol:

Konsentrasi standar retinol (ppm)	Absorbansi
0	0
0.5	0.0799
1.0	0.1597
1.5	0.2396

Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa spektrofotometer (lanjutan)

Dari data pada halaman sebelumnya, didapatkan persamaan regresi standar retinol:

$$y = 0.1597 x + 1 \cdot 10^{-5}$$

Data pengukuran konsentrasi retinol hati kelompok KN:

Sampel	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
Pooling 1	0.0377	0.5223	4.52
Pooling 2	0.0404	0.5139	4.92

Contoh perhitungan:

Konsentrasi retinol hati kelompok KN pooling 1

$$= \frac{0.0377 \times 10}{0.1598}$$

$$= \frac{0.377}{0.1598}$$

$$= 4.52 \text{ ppm}$$

• Hati kelompok KP

Data pembuatan kurva standar retinol:

Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
0	0
5	0.136
10	0.272
15	0.401
20	0.542
25	0.673

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar retinol:

$$y = 0.0269 x + 7.6190 \cdot 10^{-4}$$



Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa spektrofotometer (lanjutan)

Data pengukuran konsentrasi retinol hati kelompok KP:

Sampel	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
Pooling 1	0.0246	0.5032	18.17
Pooling 2	0.0277	0.5043	20.42

Contoh perhitungan:

Konsentrasi retinol hati kelompok KP pooling 1

$$= \frac{0.0246 \times 10}{0.0269 \times 0.5032}$$

$$= 18.17 \text{ ppm}$$

- Hati kelompok tambahan**

Data pembuatan kurva standar retinol:

Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
0	0
5	0.138
10	0.271
15	0.403
20	0.542
25	0.671

Dari data diatas, didapatkan persamaan regresi standar retinol:

$$y = 0.0269 x + 1.8571 \cdot 10^{-3}$$

Data pengukuran konsentrasi retinol hati kelompok tambahan:

	Sampel	Absorbansi	Berat sampel (g)	Konsentrasi retinol (ppm)
Sebelum masa deplesi	Pooling 1	0.0272	0.5049	20.03
	Pooling 2	0.0190	0.5055	13.97
Sesudah masa deplesi	Pooling 1	0.0075	0.5087	5.50
	Pooling 2	0.0060	0.5089	4.38

Lampiran 13. Perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa spektrofotometer (lanjutan)

Contoh perhitungan :

Kadar retinol hati kelompok tambahan sebelum masa deplesi pooling 1

$$\begin{aligned} &= \frac{0.0272}{0.0269} \times \frac{10}{0.5049} \\ &= 20.06 \text{ ppm.} \end{aligned}$$

Lampiran 14. Analisa lanjutan retinol hati hasil spektrofotometer.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
PELAKUAN A	2
B	2
C	2
D	2
E	2

Descriptive Statistics

Dependent Variable: RETINOL

PELAKUAN	Mean	Std. Deviation	N
A	22.1850	1.5768	2
B	23.8500	.5233	2
C	4.7200	.2828	2
D	13.3650	.9829	2
E	19.2950	1.5910	2
Total	16.6830	7.3900	10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RETINOL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	485.166 ^a	4	121.291	95.693	.000
Intercept	2783.225	1	2783.225	2195.821	.000
PELAKUAN	485.166	4	121.291	95.693	.000
Error	6.338	5	1.268		
Total	3274.728	10			
Corrected Total	491.503	9			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .977)

Lampiran 14. Analisa lanjutan rethol hati hasil spektrofotometer (lanjutan)

Post Hoc Tests

PERLAKUAN

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RETINOL

Tukey HSD

(I) PELAKUAN	(J) PELAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	-1.6650	1.1258	.613	-6.1813	2.8513
	C	17.4650*	1.1258	.000	12.9487	21.9813
	D	8.8200*	1.1258	.003	4.3037	13.3363
	E	2.8900	1.1258	.212	-1.6263	7.4063
B	A	1.6650	1.1258	.613	-2.8513	6.1813
	C	19.1300*	1.1258	.000	14.6137	23.6463
	D	10.4850*	1.1258	.001	5.9687	15.0013
	E	4.5550*	1.1258	.048	.0387	9.0713
C	A	-17.4650*	1.1258	.000	-21.9813	-12.9487
	B	-19.1300*	1.1258	.000	-23.6463	-14.6137
	D	-8.6450*	1.1258	.003	-13.1613	-4.1287
	E	-14.5750*	1.1258	.000	-19.0913	-10.0587
D	A	-8.8200*	1.1258	.003	-13.3363	-4.3037
	B	-10.4850*	1.1258	.001	-15.0013	-5.9687
	C	8.6450*	1.1258	.003	4.1287	13.1613
	E	-5.9300*	1.1258	.017	-10.4463	-1.4137
E	A	-2.8900	1.1258	.212	-7.4063	1.6263
	B	-4.5550*	1.1258	.048	-9.0713	-.0387
	C	14.5750*	1.1258	.000	10.0587	19.0913
	D	5.9300*	1.1258	.017	1.4137	10.4463

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 14. Analisa lanjutan rethol hati hasil spektrofotometer (lanjutan)

Homogeneous Subsets

RETINOL

Tukey HSD^{a,b}

PELAKUAN	N	Subset			
		1	2	3	4
C	2	4.7200			
D	2		13.3650		
E	2			19.2950	
A	2			22.1850	22.1850
B	2				23.8500
Sig.		1.000	1.000	.212	.613

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.268.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

Keterangan:

A: Kelompok KS

B: Kelompok SC

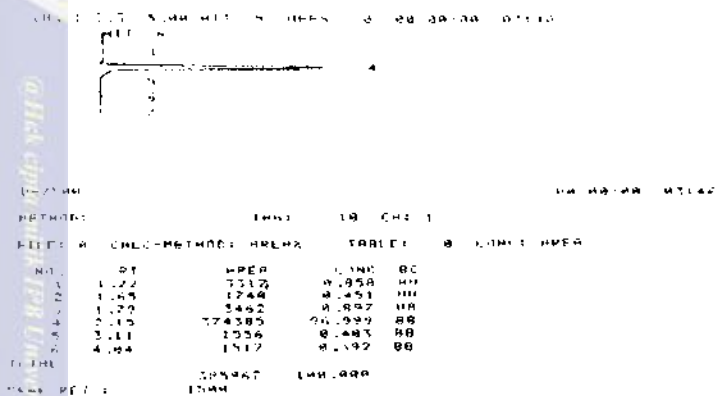
C: Kelompok KN

D: Kelompok KC

E: Kelompok KP

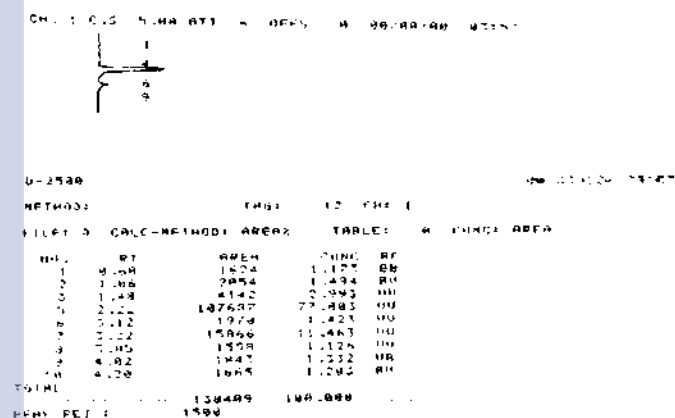
Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati

Standar retinol 80 ppm



Kelompok perlakuan KS

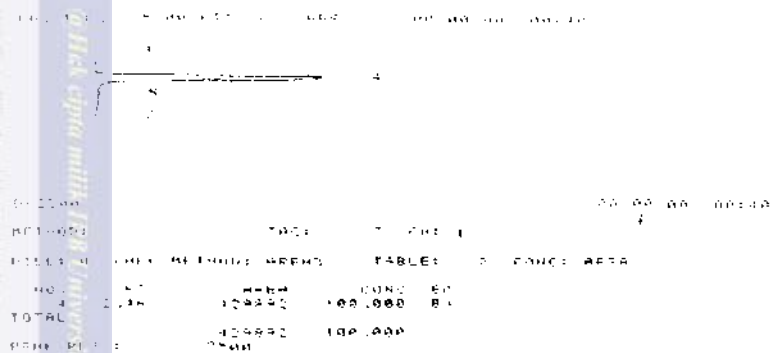
- Pooling 1



- Pooling 2

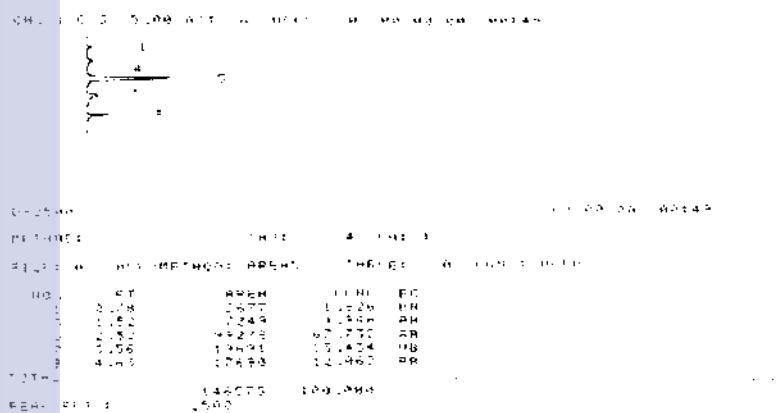
Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati (lanjutan)

Standar retinol 100 ppm

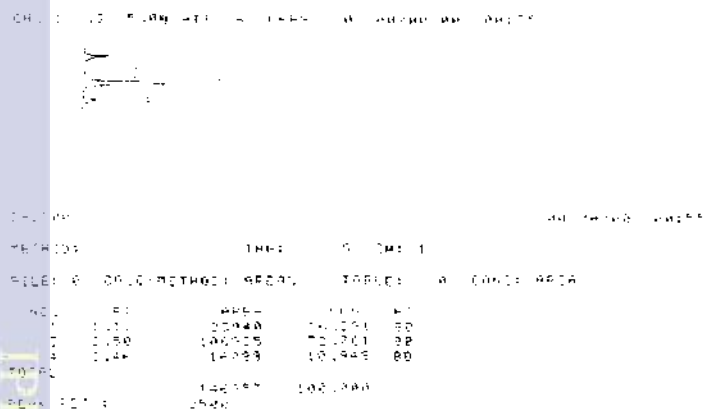


Kelompok perlakuan SC

• Pooling 1



• Pooling 2



Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati
(lanjutan)

Standar retinol 10 ppm

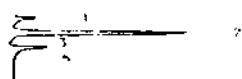
Kelompok perlakuan KN

- Pooling 1

```

Cm 1 C-S 5 MM ATT 5 OFFS 0 00/00/00 0x104

```

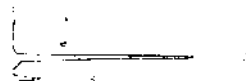


```

D-2508
METHOD:          TABLE 21 CH 1
FILE:  M      FILE-METHOD:  AREA%      TABLE:  M      UNIT:  NONE
NO.      PT      AREA      CONC      BC
1      1.58      13159      7.588      BU
2      2.58      154675      77.574      BU
3      3.58      25755      14.842      BU
TOTAL      177490      100.000
PEAK SET 1:      1584

```

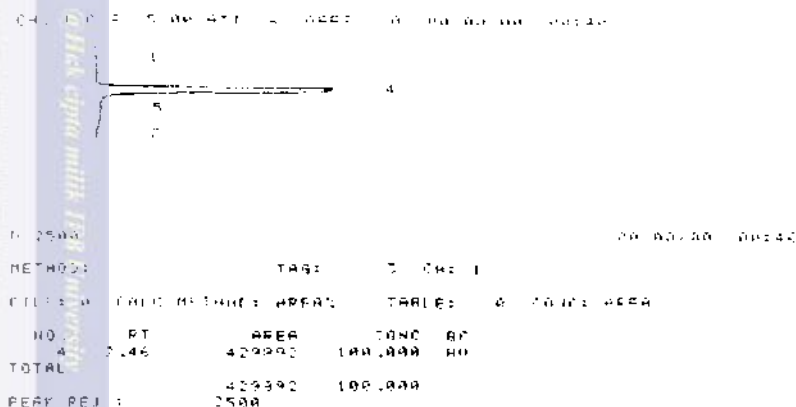
- **Pooling 2**

[illegible]

```
000500          AN AR AR QUIT
METHOD:      TAB:      14 16 17
FILE: 8 TAB-METHOD: APERA   TABLE: 11 12 13 14 PER
NO      ST      AREA      COUNT    AC
7      1.51     145592     57856    BL
9      1.72     201972     81177    TRA
TOTAL
PERCENTAGE 100.0000
```

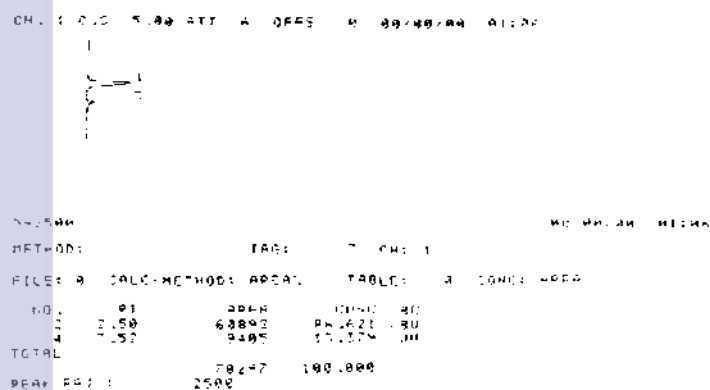
Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati
(lanjutan)

Standar retinol 100 ppm

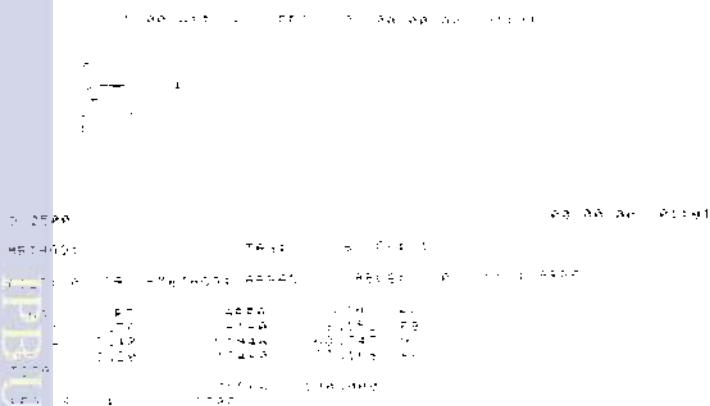


Kelompok Perlakuan KC

- Pooling 1

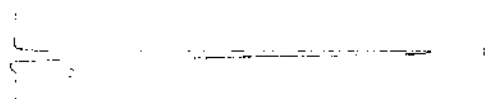


- **Pooling 2**



Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati
(lanjutan)

Standar retinol 50 ppm

$$f_m = 1 - \frac{1}{2} \left(\frac{1}{5} \right)^m \quad \text{for } m \geq 0, \quad f_m = 0 \quad \text{for } m < 0, \quad \text{and } f_m = 0 \quad \text{for } m \geq 5.$$
 $\lambda = 25.6 \text{ nm}$

MS	13531	107	842
----	-------	-----	-----

C15: 0 C16: 0 C17: 0 C18: 0 C19: 0 C20: 0 C21: 0 C22: 0 C23: 0 C24: 0 C25: 0 C26: 0 C27: 0 C28: 0 C29: 0 C30: 0 C31: 0 C32: 0 C33: 0 C34: 0 C35: 0 C36: 0 C37: 0 C38: 0 C39: 0 C40: 0 C41: 0 C42: 0 C43: 0 C44: 0 C45: 0 C46: 0 C47: 0 C48: 0 C49: 0 C50: 0 C51: 0 C52: 0 C53: 0 C54: 0 C55: 0 C56: 0 C57: 0 C58: 0 C59: 0 C60: 0 C61: 0 C62: 0 C63: 0 C64: 0 C65: 0 C66: 0 C67: 0 C68: 0 C69: 0 C70: 0 C71: 0 C72: 0 C73: 0 C74: 0 C75: 0 C76: 0 C77: 0 C78: 0 C79: 0 C80: 0 C81: 0 C82: 0 C83: 0 C84: 0 C85: 0 C86: 0 C87: 0 C88: 0 C89: 0 C90: 0 C91: 0 C92: 0 C93: 0 C94: 0 C95: 0 C96: 0 C97: 0 C98: 0 C99: 0 C100: 0 C101: 0 C102: 0 C103: 0 C104: 0 C105: 0 C106: 0 C107: 0 C108: 0 C109: 0 C110: 0 C111: 0 C112: 0 C113: 0 C114: 0 C115: 0 C116: 0 C117: 0 C118: 0 C119: 0 C120: 0 C121: 0 C122: 0 C123: 0 C124: 0 C125: 0 C126: 0 C127: 0 C128: 0 C129: 0 C130: 0 C131: 0 C132: 0 C133: 0 C134: 0 C135: 0 C136: 0 C137: 0 C138: 0 C139: 0 C140: 0 C141: 0 C142: 0 C143: 0 C144: 0 C145: 0 C146: 0 C147: 0 C148: 0 C149: 0 C150: 0 C151: 0 C152: 0 C153: 0 C154: 0 C155: 0 C156: 0 C157: 0 C158: 0 C159: 0 C160: 0 C161: 0 C162: 0 C163: 0 C164: 0 C165: 0 C166: 0 C167: 0 C168: 0 C169: 0 C170: 0 C171: 0 C172: 0 C173: 0 C174: 0 C175: 0 C176: 0 C177: 0 C178: 0 C179: 0 C180: 0 C181: 0 C182: 0 C183: 0 C184: 0 C185: 0 C186: 0 C187: 0 C188: 0 C189: 0 C190: 0 C191: 0 C192: 0 C193: 0 C194: 0 C195: 0 C196: 0 C197: 0 C198: 0 C199: 0 C200: 0 C201: 0 C202: 0 C203: 0 C204: 0 C205: 0 C206: 0 C207: 0 C208: 0 C209: 0 C210: 0 C211: 0 C212: 0 C213: 0 C214: 0 C215: 0 C216: 0 C217: 0 C218: 0 C219: 0 C220: 0 C221: 0 C222: 0 C223: 0 C224: 0 C225: 0 C226: 0 C227: 0 C228: 0 C229: 0 C230: 0 C231: 0 C232: 0 C233: 0 C234: 0 C235: 0 C236: 0 C237: 0 C238: 0 C239: 0 C240: 0 C241: 0 C242: 0 C243: 0 C244: 0 C245: 0 C246: 0 C247: 0 C248: 0 C249: 0 C250: 0 C251: 0 C252: 0 C253: 0 C254: 0 C255: 0 C256: 0 C257: 0 C258: 0 C259: 0 C260: 0 C261: 0 C262: 0 C263: 0 C264: 0 C265: 0 C266: 0 C267: 0 C268: 0 C269: 0 C270: 0 C271: 0 C272: 0 C273: 0 C274: 0 C275: 0 C276: 0 C277: 0 C278: 0 C279: 0 C280: 0 C281: 0 C282: 0 C283: 0 C284: 0 C285: 0 C286: 0 C287: 0 C288: 0 C289: 0 C290: 0 C291: 0 C292: 0 C293: 0 C294: 0 C295: 0 C296: 0 C297: 0 C298: 0 C299: 0 C300: 0 C301: 0 C302: 0 C303: 0 C304: 0 C305: 0 C306: 0 C307: 0 C308: 0 C309: 0 C310: 0 C311: 0 C312: 0 C313: 0 C314: 0 C315: 0 C316: 0 C317: 0 C318: 0 C319: 0 C320: 0 C321: 0 C322: 0 C323: 0 C324: 0 C325: 0 C326: 0 C327: 0 C328: 0 C329: 0 C330: 0 C331: 0 C332: 0 C333: 0 C334: 0 C335: 0 C336: 0 C337: 0 C338: 0 C339: 0 C340: 0 C341: 0 C342: 0 C343: 0 C344: 0 C345: 0 C346: 0 C347: 0 C348: 0 C349: 0 C350: 0 C351: 0 C352: 0 C353: 0 C354: 0 C355: 0 C356: 0 C357: 0 C358: 0 C359: 0 C360: 0 C361: 0 C362: 0 C363: 0 C364: 0 C365: 0 C366: 0 C367: 0 C368: 0 C369: 0 C370: 0 C371: 0 C372: 0 C373: 0 C374: 0 C375: 0 C376: 0 C377: 0 C378: 0 C379: 0 C380: 0 C381: 0 C382: 0 C383: 0 C384: 0 C385: 0 C386: 0 C387: 0 C388: 0 C389: 0 C390: 0 C391: 0 C392: 0 C393: 0 C394: 0 C395: 0 C396: 0 C397: 0 C398: 0 C399: 0 C400: 0 C401: 0 C402: 0 C403: 0 C404: 0 C405: 0 C406: 0 C407: 0 C408: 0 C409: 0 C410: 0 C411: 0 C412: 0 C413: 0 C414: 0 C415: 0 C416: 0 C417: 0 C418: 0 C419: 0 C420: 0 C421: 0 C422: 0 C423: 0 C424: 0 C425: 0 C426: 0 C427: 0 C428: 0 C429: 0 C430: 0 C431: 0 C432: 0 C433: 0 C434: 0 C435: 0 C436: 0 C437: 0 C438: 0 C439: 0 C440: 0 C441: 0 C442: 0 C443: 0 C444: 0 C445: 0 C446: 0 C447: 0 C448: 0 C449: 0 C450: 0 C451: 0 C452: 0 C453: 0 C454: 0 C455: 0 C456: 0 C457: 0 C458: 0 C459: 0 C460: 0 C461: 0 C462: 0 C463: 0 C464: 0 C465: 0 C466: 0 C467: 0 C468: 0 C469: 0 C470: 0 C471: 0 C472: 0 C473: 0 C474: 0 C475: 0 C476: 0 C477: 0 C478: 0 C479

[illegible]

TOTAL	100.00
-------	--------

DECEMBER 1993

Kelompok perlakuan KP

- Pooling 1

CH. 15.2 5.00 HIT 5.00 FS 10.00 HIT/FS 500:22



D-2592

44:00:00 00:37

ME⁺HCO₂ [H₂O] [H₂O] [H₂O]

```
FILE: 0  CALL-METHOD: MSG40  TABLE: 0  COND: none
```

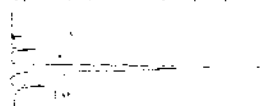
HC	PT	AGE	CUBC	BC
2	1.75	1174	3.579	80
7	1.39	8585	3.161	69
8	3.02	166795	3.126	69
9	4.50	31346	3.353	68

TOTAL	195.97	196.99
-------	--------	--------

PEAK REF : 1449

- Pooling 2

5.00 3.51 2.06 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00



7-2533

[illegible]

RECEIVED: 15 February 1999; REVISED: 14 April 1999; ACCEPTED: 15 April 1999

TABLE 1. *Mean (SD) values of the dependent variables for the 10 subjects in the two groups*

	57	ADPW	7-90	8
1	1,771	1,000	9,294.6	65
2	1,449	1,074	9,812	69
3	1,097	1,015	9,255	66
4	1,064	1,077.5	9,384	68

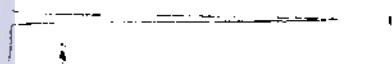
Figure 6

1000

Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati (lanjutan)

Standar retinol 45 ppm

CHROM: 0.5 5.00 ATT 5 DEFS 4 00/00/00 02:20



D-2500 00/00/00 02:20

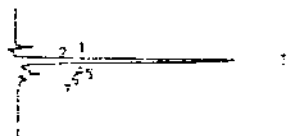
METHOD: RETINOL TRACE: 1 CH1: 1				
FILE: 1 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA				
NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	2.44	270969	100.000	BB
TOTAL		270969	100.000	
PERK RET:		10000		

Kelompok tambahan tambahan

Sebelum masa deplesi

• Pooling 1

CHROM: 0.5 5.00 ATT 5 DEFS 4 00/00/00 02:27

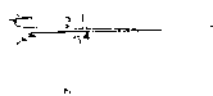


D-2500 00/00/00 02:27

METHOD: RETINOL TRACE: 2 CH1: 1				
FILE: 1 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA				
NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	1.00	18529	5.170	BB
3	2.51	151855	94.829	BB
TOTAL		204944	100.000	
PERK RET:		10000		

• Pooling 2

CHROM: 0.5 5.00 ATT 5 DEFS 4 00/00/00 02:40



D-2500 00/00/00 02:40

METHOD: RETINOL TRACE: 4 CH1: 1				
FILE: 1 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA				
NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	1.00	10691	9.141	BB
3	2.45	10798	90.859	BB
TOTAL		118959	100.000	
PERK RET:		10000		

Lampiran 15. Hasil analisa HPLC dan perhitungan konsentrasi retinol hati (lanjutan)

Sesudah masa deplesi

• Pooling 1

CH: 1 C.S 5.00 ATT 5 OFFS 0 00/00/00 03:04



D-2590

00/00/00 03:04

METHOD: RETINDL TAG: 7 CH: 1

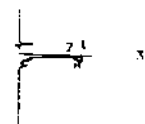
FILE: 1 CALC-METHOD: AREA TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
3	2.46	41764	100.000	00
TOTAL		56957	100.000	

PEAK #1: 10000

• Pooling 2

CH: 1 C.S 5.00 ATT 5 OFFS 0 00/00/00 03:10



D-2500

00/00/00 03:10

METHOD: RETINDL TAG: 0 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: AREA TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	1.00	5275	14.474	00
2	2.46	36742	55.566	00
TOTAL		56957	100.000	

PEAK #1: 5000

Rumus perhitungan konsentrasi retinol hati hasil analisa HPLC:

$$\text{Konsentrasi retinol hati} = \frac{\text{luas peak sampel} \times \text{konsentrasi standar}}{\text{luas peak standar}}$$

Contoh perhitungan :

$$\text{Luas peak standar} = 374385$$

$$\text{Luas peak sampel} = 107687$$

$$\text{Konsentrasi retinol hati kelompok KS pooling 1}$$

$$= \frac{107687 \times 80 \text{ ppm}}{374385}$$

$$= 23.01 \text{ ppm}$$

Lampiran 16. Analisa lanjutan konsentrasi retinol hati hasil analisa HPLC

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
PELAKUAN	A	2
	B	2
	C	2
	D	2
	E	2

Descriptive Statistics

Dependent Variable: RETINOL

PELAKUAN	Mean	Std. Deviation	N
A	22.4400	.8061	2
B	23.9800	1.2587	2
C	4.6950	.2616	2
D	13.1200	1.4708	2
E	21.1350	2.8779	2
Total	17.0740	7.7205	10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RETINOL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	523.705 ^a	4	130.926	51.351	.000
Intercept	2915.215	1	2915.215	1143.392	.000
PELAKUAN	523.705	4	130.926	51.351	.000
Error	12.748	5	2.550		
Total	3451.667	10			
Corrected Total	536.453	9			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .957)



Lampiran 16. Analisa lanjutan konsentrasi retinol hati hasil analisa HPLC (lanjutan)

Post Hoc Tests

PERLAKUAN

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RETINOL

Tukey HSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) PELAKUAN	(J) PELAKUAN				Lower Bound	Upper Bound
A	B	-1.5400	1.5968	.861	-7.9454	4.8654
	C	17.7450*	1.5968	.001	11.3396	24.1504
	D	9.3200*	1.5968	.011	2.9146	15.7254
	E	1.3050	1.5968	.915	-5.1004	7.7104
B	A	1.5400	1.5968	.861	-4.8654	7.9454
	C	19.2850*	1.5968	.000	12.8796	25.6904
	D	10.8600*	1.5968	.006	4.4546	17.2654
	E	2.8450	1.5968	.469	-3.5604	9.2504
C	A	-17.7450*	1.5968	.001	-24.1504	-11.3396
	B	-19.2850*	1.5968	.000	-25.6904	-12.8796
	D	-8.4250*	1.5968	.017	-14.8304	-2.0196
	E	-16.4400*	1.5968	.001	-22.8454	-10.0346
D	A	-9.3200*	1.5968	.011	-15.7254	-2.9146
	B	-10.8600*	1.5968	.006	-17.2654	-4.4546
	C	8.4250*	1.5968	.017	2.0196	14.8304
	E	-8.0150*	1.5968	.021	-14.4204	-1.6096
E	A	-1.3050	1.5968	.915	-7.7104	5.1004
	B	-2.8450	1.5968	.469	-9.2504	3.5604
	C	16.4400*	1.5968	.001	10.0346	22.8454
	D	8.0150*	1.5968	.021	1.6096	14.4204

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 16. Analisa lanjutan konsentrasi retinol hati hasil analisa HPLC (lanjutan)

Homogeneous Subsets

RETINOL

Tukey HSD^{a,b}

PELAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
C	2	4.6950		
D	2		13.1200	
E	2			21.1350
A	2			22.4400
B	2			23.9800
Sig.		1.000	1.000	.469

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.550.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

Keterangan:

A: Kelompok KS

B: Kelompok SC

C: Kelompok KN

D: Kelompok KC

E: Kelompok KP

Lampiran 17. Perhitungan faktor akumulasi

Faktor akumulasi β -karoten bubuk daun cincau hijau menjadi retinol

$$= \frac{\text{total retinol hati perlakuan} - \text{total retinol hati sebelum replasi}}{\text{Jumlah } \beta\text{-karoten yang dikonsumsi}}$$

Jumlah β -karoten yang dikonsumsi

o Kelompok KC

$$\text{Faktor akumulasi} = \frac{(13.12 \times 10.51) - (6.27 \times 10.75)}{14 \times 13.70 \times 0.1913 \times 25.38}$$

$$= 1/13.21$$

Faktor akumulasi Vitamin A sintetik

$$= \frac{\text{total retinol hati perlakuan} - \text{total retinol hati sebelum replasi}}{\text{Jumlah vitamin A sintetik yang dikonsumsi}}$$

Jumlah vitamin A sintetik yang dikonsumsi

o Kelompok KS

$$\text{Faktor akumulasi} = \frac{(22.44 \times 12.21) - (6.27 \times 10.75)}{14 \times 13.40 \times 6.19}$$

$$= 1/5.62$$

o Kelompok KP

$$\text{Faktor akumulasi} = \frac{(21.14 \times 11.42) - (6.27 \times 10.75)}{14 \times 14.10 \times 4.24}$$

$$= 1/4.81$$

Kelompok SC

Faktor akumulasi

$$= \frac{\text{total retinol hati perlakuan} - \text{total retinol hati sebelum replasi}}{\text{jumlah vitamin A sintetik dan } \beta\text{-karoten yang dikonsumsi}}$$

$$= \frac{((23.98 \times 10.47) - (6.27 \times 10.75))}{(14 \times 13.40 \times 6.19) + (14 \times 13.40 \times 0.1913 \times 25.38)}$$

$$= 1/(6.32+4.96)$$