

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Bagian Teknologi Hasil Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan Desember 2010.

Materi

Sampel Telur

Sampel telur yang digunakan pada penelitian ini adalah telur itik dan telur ayam arab dengan umur yang berbeda yaitu dua hari, lima hari dan delapan hari. Jumlah telur yang digunakan sebanyak 14 butir telur itik dan 16 butir telur ayam arab. Sampel telur itik dan ayam arab yang digunakan diperoleh dari peternakan rakyat di Ciampea dan Leuwiliang, Bogor.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan untuk pengujian kimia adalah katalis selenium mixture, H_2SO_4 pekat, aquadest dan NaOH 40%. Bahan-bahan yang digunakan pada saat pengujian mikroba adalah *Buffer Pepton Water* (BPW), *Plate Count Agar* (PCA), *Eosyn Metylen Blue Agar* (EMBA), *Violet Red Bile Agar* (VRBA), *Salmonella and Shigella Agar* (SSA), alkohol 70%, sabun, spiritus, aquades, plastik *wrap*, aluminium foil, kapas, label dan tisu.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah oven, cawan aluminium, eksikator, labu destruksi, gelas ukur, labu destilasi, buret, kjeldahl, *water bath*, botol *Schoot* duran, timbangan digital dengan ketelitian 0,01 g (AND GR- 300), cawan Petri, *autoklaf*, tabung reaksi, tabung Erlenmeyer, rak tabung reaksi, pipet mikro dengan tip, inkubator, vortex, pH meter (Schott instrumen lab 850), *Roche yolk colour fan*, dan Viscotester (VT-04 F).

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Pengujian Karakteristik Madu

Pengujian ini dilakukan untuk penentuan karakteristik dan kualitas madu yang digunakan untuk dicampurkan dengan kuning telur. Karakteristik madu yang diamati diantaranya kadar air madu, nilai pH dan pengujian total asam tertitrasi.

Prosedur

Persiapan Sampel

Sampel telur itik dan telur ayam arab diulas dengan alkohol sebelum dipecahkan. Pada masing-masing telur dipisahkan antara putih dan kuningnya. Bagian yang digunakan adalah kuning telur. Masing-masing kuning telur diberi perlakuan dengan penambahan madu dengan perbandingan kuning telur dan madu adalah 2:1. Penimbangan kuning telur dan madu dilakukan berdasarkan b/b, yaitu sebanyak 20 gram kuning telur dicampurkan dengan 10 gram madu. Campuran kuning telur dan madu diaduk dengan sendok supaya homogen, kemudian dilakukan pengamatan meliputi pengujian fisik, kimia dan mikrobiologi kuning telur dengan penambahan madu dan tanpa penambahan madu. Pengujian dilakukan pada kuning telur itik dan kuning telur ayam arab dengan umur dua hari, lima hari dan delapan hari.

Peubah yang Diukur

Pengujian Sifat Fisik

Pengujian sifat fisik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji warna, uji viskositas dan temperatur dari kuning telur dengan madu dan kuning telur tanpa penambahan madu.

Pengukuran Warna. Skor warna kuning telur diamati dengan cara memecahkan telur dan dipisahkan bagian putih dan kuningnya lalu ditempatkan pada cawan Petri. Warna kuning telur dibandingkan dengan warna standar pada alat Roche *Egg Yolk Colour Fan* yaitu dari skor 1 sampai 15. Warna kuning telur yang mendekati dengan salah satu warna pada alat tersebut merupakan angka skor warna kuning telurnya.

Pengukuran Viskositas (Dewan Standardisasi Nasional, 1992). Pengukuran viskositas menggunakan alat Viscotester VT-04 F dengan cara memasukkan alat pemutar dari viskometer ke dalam sampel sebanyak 100 ml. Tangki alat viskometer

dibiarkan berputar, hingga jarum jam penunjuk berhenti pada skala tertentu. Hasil pengukuran viskositas dinyatakan dengan satuan Pascal Second (Pas).

Pengukuran Temperatur. Pengukuran dilakukan bersamaan dengan pengukuran nilai pH dengan menggunakan pH meter (Schott instrumen lab 850). pH meter yang digunakan sudah dilengkapi dengan termistor temperatur yaitu suatu alat untuk mengoreksi pengaruh temperatur. Termistor adalah komponen alat berupa sensor elektronika yang dipakai untuk mengukur temperatur. Sampel kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian *plat* dari pH meter dimasukkan ke dalam gelas ukur yang telah diisi dengan kuning telur. Nilai temperatur tertera pada layar bersamaan dengan nilai pH bahan yang diuji. Contoh pH meter yang dilengkapi termistor dapat dilihat pada gambar terlampir pada Lampiran 23.

Pengujian Sifat Kimia

Pengujian sifat kimia meliputi pengukuran nilai pH, kadar protein, serta kadar air dari kuning telur itik dan ayam Arab dengan dan tanpa penambahan madu.

Nilai pH (AOAC, 1995). Nilai pH diukur dengan alat pH meter (Schott instrumen lab 850) yang telah dikalibrasi dengan larutan *buffer* pada pH 7 dan 4. Sampel kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian *elektroda* dari pH meter dimasukkan ke dalam gelas ukur yang telah diisi dengan kuning telur, nilai pH tertera pada layar pH meter.

Kadar Air (AOAC, 1995). 1) Pengukuran kadar air total dilakukan dengan metode termogravimetri (metode oven). Sampel terlebih dahulu ditimbang kemudian dikeringkan di dalam alat pengering (oven) pada suhu 40-60 °C selama 24 jam, setelah kering ditimbang kembali (A). 2) Pengeringan sampel kembali menggunakan oven 105 °C (B). Sampel yang sudah dikeringkan ditimbang ± 5 gram (Y) pada cawan yang sudah diketahui bobotnya lalu dikeringkan pada oven suhu 105° C selama 4-6 jam (tercapai bobot tetap). Setelah itu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang berat stabilnya (Z). Perhitungan kadar air dengan cara perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air pada } 105 \text{ } ^\circ\text{C} = \frac{X + Y - Z}{Y} \times 100\%$$



$$\text{Konversi ke dalam bentuk segar} = A + \frac{(100 - A) \times B}{100}$$

Keterangan : X = berat cawan;
Y = berat sampel (kuning telur);
Z = berat stabil;
A = berat sampel setelah dioven 60 °C;
B = berat sampel setelah dioven 105 °C.

Kadar Protein (SNI 01-2891-1992). Penetapan nitrogen menggunakan metode Kjeldahl terhadap bahan yang diuji untuk penentuan % N total. Bahan ditimbang \pm 0,3 gram dan ditambahkan \pm 1,5 gram katalis selenium Mixture, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dan ditambah dengan 20 ml H₂SO₄. Bahan didestruksi sampai warna larutan menjadi hijau kekuningan jernih lalu didinginkan selama 15 menit. Ditambahkan 300 ml aquadest dan didinginkan kembali. Setelah dingin ditambahkan 100 ml NaOH 40% dan didestilasi.

Hasil destilasi ditampung dengan 10 ml H₂SO₄ 0,1 N yang sudah ditambah 3 tetes indikator campuran *methylen blue* dan *methylen red* (MB-MR). Campuran dititrasasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna dari ungu menjadi biru kehijauan. Dilakukan penetapan blanko yaitu 10 ml H₂SO₄ 0,1 N dan ditambah 2 tetes indikator PP, kemudian dititrasasi dengan NaOH 0,1 N.

$$\text{Kadar nitrogen (\%)} = \frac{(\text{ml blanko} - \text{ml sampel}) \times N \text{ NaOH} \times 14 \times 6,25}{\text{berat sampel}} \times 100 \%$$

Keterangan : 6,25 = faktor konversi untuk protein dari makanan secara umum

Pengujian Kualitas Mikrobiologi

Pengujian kualitas mikrobiologi dilakukan sebanyak dua kali berdasarkan jenis telur yang berbeda dengan perlakuan umur telur yang berbeda yaitu telur umur dua, lima dan delapan hari. Pengujian kualitas mikrobiologi yang dilakukan yaitu *Total Plate Count* (TPC), *Escherichia coli*, *Coliform* dan *Salmonella* sp.).

Pengujian Total Plate Count (Dewan Standardisasi Nasional, 1992)

Sampel kuning telur yang dihomogenkan diambil sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 45 ml larutan BPW steril. Campuran tersebut dipipet 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer BPW 9 ml kemudian dihomogenkan dan didapatkan pengenceran satu per sepuluh (P⁻¹).

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Selanjutnya dari P^{-1} dipipet sebanyak 1 ml dan dilarutkan ke dalam 9 ml larutan pengencer BPW untuk memperoleh P^{-2} , demikian seterusnya dengan cara yang sama dilakukan sampai diperoleh P^{-4} . Pemupukan dilakukan terhadap semua pengenceran yang telah dilakukan (P^{-1} sampai P^{-4}) dengan cara sebanyak 1 ml pengenceran dipipet ke dalam cawan Petri secara duplo dan ditambahkan medium agar PCA sebanyak 12-15 ml.

Campuran dihomogenkan dengan cara digerakkan membentuk angka delapan diatas bidang datar dan dibiarkan hingga agar mengeras. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan setelah inkubasi 24 jam. Cara perhitungan jumlah koloni adalah:
Jumlah bakteri = rata-rata jumlah koloni \times faktor pengencer.

Pengujian *Salmonella* sp. (Dewan Standardisasi Nasional, 1992)

Sampel kuning telur yang dihomogenkan diambil sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 45 ml larutan BPW steril. Campuran tersebut dipipet 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer BPW 9 ml kemudian dihomogenkan dan didapatkan pengenceran satu per sepuluh (P^{-2}). Selanjutnya dari P^{-2} dipipet sebanyak 1 ml dan dilarutkan ke dalam 9 ml larutan pengencer BPW untuk memperoleh P^{-3} , demikian seterusnya dengan cara yang sama dilakukan sampai diperoleh P^{-4} .

Pemupukan dilakukan terhadap semua pengenceran yang telah dilakukan (P^{-1} sampai P^{-4}) dengan cara sebanyak 1 ml pengenceran dipipet ke dalam cawan Petri secara duplo dan ditambahkan medium agar SSA sebanyak 12-15 ml. Campuran dihomogenkan dengan cara digerakkan membentuk angka delapan di atas bidang datar dan dibiarkan hingga agar-agar mengeras. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan setelah inkubasi 24 sampai 48 jam.

Pengujian *Escherichia coli* (Dewan Standardisasi Nasional, 1992)

Sampel kuning telur itik dan ayam arab yang dihomogenkan diambil sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 45 ml larutan BPW steril. Campuran tersebut dipipet 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer BPW 9 ml, kemudian dihomogenkan dan didapatkan pengenceran satu per sepuluh

(P⁻¹). Selanjutnya dari P⁻¹ dipipet sebanyak 1 ml dan dilarutkan ke dalam 9 ml larutan pengencer BPW untuk memperoleh P⁻², demikian seterusnya dengan cara yang sama dilakukan sampai diperoleh P⁻³. Pemupukan dilakukan terhadap semua pengenceran yang telah dilakukan (P⁰ sampai P⁻³) dengan cara sebanyak 1 ml pengenceran dipipet ke dalam cawan petri secara duplo dan ditambahkan medium agar EMBA sebanyak 12-15 ml. Campuran dihomogenkan dengan cara digerakkan membentuk angka delapan di atas bidang datar dan dibiarkan hingga agar-agar mengeras. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C dengan posisi terbalik. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan setelah inkubasi 24 sampai 48 jam. Cara perhitungan jumlah koloni sebagai berikut:

Jumlah bakteri = rata-rata jumlah koloni × faktor pengencer.

Pengujian *Coliform* (Dewan Standardisasi Nasional, 1992)

Sampel kuning telur yang dihomogenkan diambil sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 45 ml larutan BPW steril. Campuran tersebut dipipet 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer BPW 9 ml kemudian dihomogenkan dan didapatkan pengenceran satu per sepuluh (P⁻¹). Selanjutnya dari P⁻¹ dipipet sebanyak 1 ml dan dilarutkan ke dalam 9 ml larutan pengencer BPW untuk memperoleh P⁻², demikian seterusnya dengan cara yang sama dilakukan sampai diperoleh P⁻³. Pemupukan dilakukan terhadap semua pengenceran yang telah dilakukan (P⁻¹ sampai P⁻³) dengan cara sebanyak 1 ml pengenceran dipipet ke dalam cawan Petri secara duplo dan ditambahkan medium agar VRBA lapisan pertama sebanyak 10 ml ditunggu hingga mengeras.

Lapisan kedua medium agar VRBA dituang kembali di atas medium sebelumnya sebanyak 3-5 ml. Campuran dihomogenkan dengan cara digerakkan membentuk angka delapan diatas bidang datar dan dibiarkan hingga agar-agar mengeras. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C dengan posisi terbalik. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan setelah inkubasi 24 jam. Cara perhitungan jumlah koloni adalah:

Jumlah bakteri = rata-rata jumlah koloni × faktor pengencer.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama (A) adalah perlakuan penambahan madu (kuning telur dengan dan kuning telur tanpa penambahan madu) sedangkan faktor kedua (B) adalah perbedaan umur telur dua hari, lima hari dan delapan hari (H2, H5, H8). Kuning telur itik dan kuning telur ayam arab dianalisis secara terpisah. Model matematika rancangan tersebut menurut Steel dan Torrie (1997):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} : nilai pengamatan akibat pengaruh penambahan madu ke - i dan umur telur ke- j pada ulangan ke- k

μ : nilai tengah umum

α_i : pengaruh perlakuan penambahan madu ke-i

β_j : pengaruh perlakuan umur telur ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$: pengaruh interaksi antara penambahan madu ke- i dengan umur telur ke- j

ϵ_{ijk} : pengaruh galat percobaan pada unit percobaan ke- k dalam kombinasi perlakuan ke- ij

Analisis Data

Data diolah menggunakan ANOVA, selanjutnya hasil analisis sidik ragam yang menunjukkan pengaruh perlakuan yang nyata diuji lanjut dengan menggunakan uji Tukey's (Mattjik dan Sumertajaya, 2000). Data tentang sifat mikrobiologi dianalisis secara deskriptif.