

TESIS

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN PADA SUHU KAMAR
TERHADAP MUTU TELUR PUYUH
DITINJAU DARI SEGI MIKROBIOLOGIS
DAN KUALITAS FISIK**

KK

TKD 06/03

Uno

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

P



WIRNANGSI DIN UNO


**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

TESIS

PENGARUH LAMA PENYIMPANAN PADA SUHU KAMAR TERHADAP MUTU TELUR PUYUH DITINJAU DARI SEGI MIKROBIOLOGIS DAN KUALITAS FISIK

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

WIRNANGSI DIN UNO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN PADA SUHU KAMAR
TERHADAP MUTU TELUR PUYUH
DITINJAU DARI SEGI MIKROBIOLOGIS
DAN KUALITAS FISIK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

WIRNANGSI DIN UNO
NIM 090014146M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

iii

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 27 SEPTEMBER 2002**

Oleh :

Pembimbing Ketua



Dr. Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK
NIP: 130676011

Pembimbing



Didik Handijatno, drh, MS
NIP: 130933208

Mengetahui

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



Dr. Saetjpto, MS, Ph.D
NIP: 130687606

Telah diuji pada

Tanggal 27 September 2002

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : dr. Kuntoro, MPH, Dr.PH

Anggota : 1. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK

2. Didik Handijatno, drh, MS

3. Dr. AT. Soelih Estoepangesti, drh

4. dr. Lindawati Alimsardjono, MKes



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dalam wujud sebuah karya tesis dengan judul **“Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Kamar Terhadap Mutu Telur Puyuh Ditinjau Dari Segi Mikrobiologis Dan Kualitas Fisik”**. Tesis ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Magister pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Mikrobiologi Kedokteran, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.

Sebagai rasa syukur, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus khususnya kepada:

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, yang telah membantu memberikan kesempatan mendapatkan beasiswa kepada penulis melalui program Beasiswa Program Pasca Sarjana sehingga dapat mengikuti pendidikan Pascasarjana di Universitas Airlangga, Surabaya.

Rektor Universitas Airlangga, Direktur Program Pascasarjana beserta Staf Tenaga Administrasi yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan Program Magister kepada penulis.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Pengelola Pendidikan Pascasarjana dan seluruh Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga

atas segala bantuan ilmu dan fasilitas yang telah diberikan kepada penulis selama mengikuti pendidikan Program Magister.

Rektor IKIP Negeri Gorontalo yang telah memberikan izin dan kesempatan studi kepada penulis.

Bapak Dr. Eddy B. Wasito, dr, MS, SpMK, sebagai Pembimbing Ketua sekaligus sebagai Ketua Minat Studi Mikrobiologi dan Bapak Didik Handijatno, drh, MS., sebagai pembimbing yang telah memberikan bimbingan berupa petunjuk atau arahan sejak pembuatan rencana penelitian, pelaksanaan penelitian sampai penyusunan tesis ini dengan penuh kesabaran.

Bapak dr. Kuntoro, MPH, Dr.PH., Ibu Dr. AT. Soelih Estoepangesti, drh dan Ibu Lindawati Alimsardjono, dr, MKes, yang telah memberikan banyak masukan berupa saran-saran baik selama penelitian maupun penulisan tesis ini.

Ketua Tropical Disease Centre Universitas Airlangga beserta staf atas izin penggunaan Laboratorium.

Ibu Wahyu Hidayatiningsih yang telah banyak membantu penulis selama melakukan penelitian.

Kepala Perpustakaan Pascasarjana dan Kepala Perpustakaan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga beserta staf yang telah memberi fasilitas kepada penulis selama studi.

Ayahanda Din Uno dan Ibunda Saliha Djakaria yang telah memberikan doa kepada penulis selama studi, juga saudara-saudaraku yang ikut pula memberikan motivasi kepada penulis selama studi.

Rekan-rekan mahasiswa Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Mikrobiologi Kedokteran, angkatan tahun 2000/2001 yaitu Pesta, Juni dan Agung yang telah banyak membantu dalam penyelesaian studi.

Rekan-rekan mahasiswa Program Magister dari IKIP Negeri Gorontalo di Surabaya yang telah banyak membantu dan memberi semangat dalam belajar.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan tesis ini.

Akhirnya kepada suami tercinta Syukri Gubali, Ir, MP dan anak-anakku tersayang Derina Dwifila Ridhani, Karina Rizkita Ramadhanti dan Rahmawan Frilidi penulis ucapkan terima kasih atas pengertian, kasih sayang, kesabaran, kesetiaan, dorongan semangat dan doa kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Semoga bantuan dan amal baik tersebut yang telah diberikan kepada penulis selama studi mendapat balasan anugerah dan imbalan yang lebih mulia dari Allah SWT, penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan saran-saran untuk penyempurnaan tesis ini dan semoga tesis ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan bagi pihak yang memerlukan.

Surabaya, September 2002

RINGKASAN

Telur merupakan sumber protein bagi manusia, tetapi telur mempunyai sifat mudah rusak. Lama dan suhu penyimpanan merupakan faktor penyebab meningkatnya jumlah mikroorganisme baik yang bersifat patogen maupun tidak, serta perubahan kualitas fisik telur.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap mutu telur puyuh ditinjau dari segi mikrobiologis yaitu jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dan adanya kuman *Salmonella sp.* pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh, serta kualitas fisik telur puyuh yang terdiri dari pH putih telur, Indeks Putih Telur dan nilai *Haugh Unit*.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan *the post test – only control group design*, yang terdiri dari 4 perlakuan yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, perlakuan dengan penyimpanan 1 minggu, perlakuan dengan penyimpanan 2 minggu dan perlakuan dengan penyimpanan 3 minggu, masing masing terdiri dari 6 replikasi. Analisis data menggunakan Analisis Varians Satu Arah yang dilanjutkan dengan uji LSD apabila terdapat perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh jumlah total kuman (*CFU/ml*) pada kulit telur puyuh dari masing-masing perlakuan adalah $3,4 \times 10^3$; $1,1 \times 10^6$; $1,3 \times 10^6$; $1,7 \times 10^6$. Jumlah total kuman (*CFU/ml*) pada isi telur puyuh dari masing-masing perlakuan adalah 0; $4,3 \times 10^3$; $6,9 \times 10^5$; $8,3 \times 10^5$. Sedangkan hasil isolasi kuman patogen *Salmonella sp.* pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh adalah negatif. Hasil pengukuran pH putih telur puyuh dari masing-masing perlakuan adalah 6,47;

6,93; 8,67; 9,0. Indeks putih telur puyuh dari masing-masing perlakuan adalah 0,103; 0,059; 0,033; 0,023. Nilai Haugh Unit dari masing-masing perlakuan adalah 90,37; 78,06; 71,19; 67,88.

Analisis data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar. Jumlah total kuman pada kulit yang tertinggi adalah pada penyimpanan 3 minggu, sedangkan jumlah total kuman pada isi telur yang tertinggi adalah pada penyimpanan 3 minggu. Demikian juga dengan kualitas fisik telur puyuh, terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pH putih telur, indeks putih telur dan nilai Haugh Unit dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.



ABSTRACT

Egg is the source of protein for men, but easily damage. The duration and temperature of storage are factors which can make the number of pathogen and non pathogen increase and alter the physical quality of the egg alter.

The objective of this study is to investigate the effect of duration of storage in room temperature on the quality of the egg considering microbiological and physical aspects. The quality of the egg considering microbiological aspect consists of the total number of microbes on the shell and in the substance of the quail egg and whether there is *Salmonella sp.* or not on the shell and in the substance of the egg. The physical aspect consists of pH, IPT and HU.

The design of the study is the post test only control group design which consists of 3 groups of treatments and 1 group of control. The treatments are 1 week storage, 2 week storage and 3 week storage, each treatment consists of 6 replications. The study uses one way anava and followed with LSD test if there is any significant difference.

The total number of microbes (CFU/ml) on shell of the quail eggs in groups of control, 1 week storage, 2 week storage, 3 week storage are sequentially $3,4 \times 10^3$; $1,1 \times 10^6$; $1,3 \times 10^6$; $1,7 \times 10^6$. The total number of microbes (CFU/ml) in the substance of the quail eggs in groups of control, 1 week storage, 2 week storage, 3 week storage are sequentially 0; $4,3 \times 10^3$; $6,9 \times 10^5$; $8,3 \times 10^5$. There is no pathogenic isolate of *Salmonella sp.* on the shell and in the substance of egg. pH of the quail eggs in groups of control, 1 week storage, 2 week storage, 3 week storage are sequentially 6,47; 6,93; 8,67; 9,0 and IPT are sequentially 0,103; 0,059; 0,033; 0,023 and HU are sequentially 90,37; 78,06; 71,19; 67,88.

The analysis of data indicates that there is significant difference ($p < 0,05$) between the total number of microbes on the shell and in the substance of the quail eggs in groups of different duration of storage in room temperature. There is difference significant ($p < 0,05$) between pH, IPT, HU of eggs which were stored in different duration of storage in room temperature.

The highest of the total number of microbes on shell is found on the eggs which were stored in room temperature for 3 weeks. The highest of the total number of microbes in substance of the eggs is found on the eggs which were stored for 3 weeks, too. There is significant difference ($p < 0,05$) of physical quality of the eggs (pH, IPT, HU) with different duration of storage in room temperature.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	ix
Abstract	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Struktur Dan Komposisi Telur Puyuh	7
2.2 Kualitas Telur	9
2.2.1 Indeks Putih Telur	11
2.2.2 pH Putih Telur	11
2.2.3 Nilai Haugh Unit	12
2.3 Kuman Pencemar	12
2.4 <i>Salmonella sp</i>	13

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN..	16
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	16
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB 4 METODE PENELITIAN	19
4.1 Rancangan Penelitian	19
4.2 Kerangka Operasional Penelitian	20
4.3 Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	20
4.3.1 Besar Sampel	20
4.3.2 Teknik Pengambilan Sampel	21
4.4 Variabel Penelitian	21
4.4.1 Klasifikasi Variabel	21
4.4.2 Definisi Operasional Variabel	22
4.4.3 Bahan Penelitian	24
4.5 Alat Penelitian	24
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	24
4.7 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data	24
4.7.1 Persiapan Telur Puyuh	24
4.7.2 Penghitungan Jumlah Total Kuman	25
4.7.2.1 Kulit telur	25
4.7.2.2 Isi Telur	26
4.7.3 Isolasi Kuman Patogen <i>Salmonella sp.</i>	27
4.7.3.1 Pemupukan dan Isolasi Kuman	27
4.7.3.2 Uji Biokimia	27
4.7.4 Pengujian Kualitas Fisik Telur	28
4.8 Cara Analisis Data	29
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	30
5.1 Data Penelitian	30
5.1.1 Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	30
5.1.1.1 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	30
5.1.1.2 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	32
5.1.2 Hasil Isolasi Kuman Patogen <i>Salmonella sp.</i> pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	34
5.1.3 Hasil Pengukuran Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	35
5.1.3.1 Hasil Pengukuran pH Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	35
5.1.3.2 Hasil Pengukuran Indeks Putih Telur (IPT) yang Disimpan pada Suhu Kamar	36
5.1.3.3 Hasil Pengukuran Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	38

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian	39
5.2.1 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	39
5.2.1.1 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	39
5.2.1.2 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	41
5.2.2 Analisis Statistik Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	43
5.2.2.1 Analisis Statistik pH Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	43
5.2.2.2 Analisis Statistik Indeks Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	44
5.2.2.3 Analisis Statistik Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	46
BAB 6 PEMBAHASAN	48
6.1 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	48
6.1.1 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	48
6.1.2 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	49
6.2 Isolasi Kuman Patogen <i>Salmonella sp.</i> pada Kulit Telur Puyuh dan Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	51
6.3 Pengukuran Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	51
6.3.1 Pengukuran pH Putih Telur Puyuh	52
6.3.2 Pengukuran Indeks Putih Telur Puyuh	53
6.3.3 Pengukuran Nilai Haugh Unit Telur Puyuh	54
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	56
7.1 Kesimpulan	56
7.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Kandungan Gizi Telur Berbagai Unggas	8
Tabel 5.1 : Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar ($\times 10^6$ CFU/ml)...	30
Tabel 5.2 : Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar ($\times 10^6$ CFU/ml)...	32
Tabel 5.3 : Hasil Isolasi Kuman Patogen <i>Salmonella sp.</i> pada Telur Puyuh (Kulit dan Isi) yang Disimpan pada Suhu Kamar....	34
Tabel 5.4 : Hasil Pengukuran pH Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	35
Tabel 5.5 : Hasil Pengukuran Indeks Putih Telur (IPT) yang Disimpan pada Suhu Kamar	37
Tabel 5.6 : Hasil Pengukuran Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	38
Tabel 5.7 : Rataan dan Simpangan Baku (SD) Jumlah Total Kuman (CFU/ml) pada Kulit Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)	40
Tabel 5.8 : Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	40
Tabel 5.9 : Rataan dan Simpangan Baku (SD) Jumlah Total Kuman (CFU/ml) pada Isi Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu).....	41
Tabel 5.10 : Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	42
Tabel 5.11 : Rataan dan Simpangan Baku (SD) pH Putih Telur Puyuh Menurut Lama Penyimpanan (minggu)	43
Tabel 5.12 : Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan	

Tabel 5.13 :	Rataan dan Simpangan Baku (SD) Indeks Putih Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)	44
Tabel 5.14 :	Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Indeks Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	45
Tabel 5.15 :	Rataan dan Simpangan Baku (SD) Nilai Haugh Unit (HU) menurut Lama Penyimpanan (minggu)	46
Tabel 5.16 :	Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Nilai Haugh Unit (HU) Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar	46



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Struktur Telur	6
Gambar 3.1 : Skema Kerangka Konseptual Penelitian	16
Gambar 4.1 : Skema Kerangka Operasional Penelitian	19
Gambar 5.1 : Histogram Rata-rata Jumlah Total Kuman (<i>CFU/ml</i>) pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)	31
Gambar 5.2 : Hasil Pemeriksaan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan Selama 1 Minggu dalam Suhu Kamar dengan Berbagai Pengenceran	32
Gambar 5.3 : Histogram Rata-rata Jumlah Total Kuman (<i>CFU/ml</i>) pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)	33
Gambar 5.4 : Hasil Pemeriksaan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh Segar (Tanpa Penyimpanan) dengan Berbagai Pengenceran	34
Gambar 5.5 : Histogram Rata-rata pH Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)....	36
Gambar 5.6 : Histogram Rata-rata Indeks Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)	37
Gambar 5.7 : Histogram Rata-rata Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Batas Cemaran Mikroba dalam Makanan	61
Lampiran 2a : Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar	62
Lampiran 2b : Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada suhu Kamar	63
Lampiran 3a : Uji Normalitas untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur.....	64
Lampiran 3b : Uji Anova untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur	65
Lampiran 3c : Uji LSD untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur	66
Lampiran 4a : Uji Normalitas untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Isi Telur	67
Lampiran 4b : Uji Anova untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Isi Telur	68
Lampiran 4c : Uji LSD untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Isi Telur	69
Lampiran 5a : Uji Normalitas Rata-rata pH Putih Telur	70
Lampiran 5b : Uji Anova untuk Rata-rata pH Putih Telur	71
Lampiran 5c : Uji LSD untuk Rata-rata pH Putih telur	72
Lampiran 6a : Uji Normalitas untuk Rata-rata Indeks putih Telur ...	73
Lampiran 6b : Uji Anova untuk Rata-rata Indeks Putih Telur	74
Lampiran 6c : Uji LSD untuk Rata-rata Indeks Putih Telur	75
Lampiran 7a : Uji Normalitas untuk Rata-rata Nilai Haugh Unit	76

Lampiran 7b	: Uji Anova untuk Rata-rata Nilai Haugh Unit	77
Lampiran 7c	: Uji LSD untuk Rata-rata Nilai Haugh Unit	78



BAB 1

PENDAHULUAN

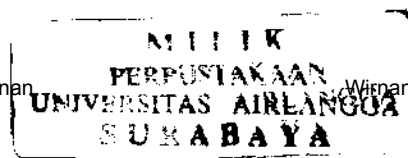
1.1 Latar Belakang

Telur merupakan salah satu produk peternakan yang memberikan sumbangan besar bagi tercapainya kecukupan gizi masyarakat. Sebagai bahan makanan, telur mempunyai beberapa kelebihan, yaitu mengandung semua zat gizi yang diperlukan tubuh, rasanya enak, mudah dicerna dan dapat diolah menjadi berbagai macam produk makanan (Sarwono, 1994).

Telur puyuh adalah salah satu jenis telur unggas yang banyak diminati oleh masyarakat, karena harganya terjangkau dan mempunyai komposisi kandungan gizi yang cukup baik. Ditinjau dari kandungan protein dan lemaknya, dapat dikatakan telur puyuh lebih baik dibandingkan telur unggas lainnya sebab mengandung protein yang tinggi tetapi kadar lemak yang rendah. Selain itu telur puyuh dapat disajikan dalam aneka bentuk dan rasa, bahkan telur puyuh ini dipercaya memberi kekuatan sehingga sering digunakan sebagai obat kuat dan campuran untuk minum jamu atau anggur (Listiyowati dan Roosпитasari, 1997).

Telur puyuh mempunyai ukuran lebih kecil dari telur ayam, dengan aneka pola warna pada kulit mulai dari coklat kehitam-hitaman sampai biru keputih-putihan dengan pigmen kulit telur porphyrin dan biliverdin (Woodard *et al.*, 1973 dan Shanaway, 1994).

Sebagai bahan makanan telur tergolong bahan yang mudah sekali mengalami kerusakan. Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan telur di



antaranya adalah adanya kuman pencemar, suhu lingkungan, kelembaban, faktor penanganan dan kondisi penyimpanan. Ditinjau dari adanya kuman pencemar ada 2 faktor utama yang bisa menyebabkan kerusakan telur, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal adalah faktor yang berasal dari dalam, yaitu telur telah terinfeksi pada waktu masih berada dalam tubuh induknya misalnya induk menderita salmonellosis sehingga telur mengandung kuman *Salmonella sp.* Faktor eksternal adalah faktor yang berasal dari luar meliputi masuknya mikroba ke dalam telur yang terjadi setelah telur keluar dari tubuh induknya misalnya yang berasal dari kotoran kandang, peralatan, udara dan tangan peternak (Sarwono, 1994). Hal ini ditegaskan oleh Jekti (1990) bahwa pada umumnya kerusakan telur adalah akibat adanya mikroorganisme pada permukaan kulit telur yang berhasil melakukan penetrasi ke dalam telur, atau karena perubahan fisiologi dalam telur itu sendiri. Selain itu dapat terjadi pada saat pengemasan telur, penanganan telur dalam transportasi dan proses penyimpanan yang panjang.

Jekti (1990) melaporkan bahwa besarnya kontaminasi kuman pada telur dan tingkat pertumbuhan kuman akan menentukan lamanya daya simpan telur. Jumlah kuman akan meningkat bila telur disimpan pada suhu yang sesuai dengan pertumbuhan kuman sehingga akan menyebabkan kerusakan dan penurunan mutu telur.

Adanya kuman pencemar dalam bahan makanan dapat menimbulkan keracunan makanan. Keracunan makanan ada dua macam yaitu tipe infeksi dan tipe intoksikasi. Keracunan makanan tipe infeksi di antaranya disebabkan oleh bahan makanan yang mengandung kuman *Salmonella sp.*, *Vibrio parahaemolyticus* dan

Escherichia coli. Keracunan makanan tipe intoksikasi adalah keracunan makanan karena *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* dan *Bacillus cereus* (Kartini dan Astrawinata, 1994). Pada tipe infeksi diperlukan penambahan jumlah kuman untuk menimbulkan efek, sedangkan pada tipe intoksikasi, toksin kuman sudah ada dalam makanan yang dikonsumsi.

Kualitas telur perlu diperhatikan pada pemilihan telur. Menurut Neisheim *et al.* (1979), untuk menentukan kualitas telur ada dua faktor yaitu kualitas telur bagian luar dan kualitas telur bagian dalam. Kualitas telur bagian luar meliputi berat telur, kebersihan kulit telur dan retak tidaknya kulit telur, sedangkan kualitas bagian dalam meliputi keadaan albumen, rongga udara, dan proporsi bagian-bagian telur (Board, 1986). Dari segi mikrobiologis, pengetahuan tentang jumlah dan jenis kuman tertentu dalam bahan makanan sangat penting dalam usaha menghindari keracunan yang berasal dari bahan makanan termasuk telur. Berdasarkan Keputusan Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan nomor: 03726/B/SK/VII/1989), tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam makanan, bahwa jumlah total kuman per gram atau per mililiter pada telur adalah 10^6 CFU dan kandungan *Salmonella sp* pada telur harus negatif.

Suhu dan lama penyimpanan telur dapat berpengaruh terhadap kuman pencemar dan kualitas telur. Kedua faktor ini sering diabaikan produsen maupun konsumen. Kendala yang dihadapi petani ternak adalah harga telur yang tidak stabil dan tidak adanya alat penyimpanan yang memadai. Dengan tidak adanya alat penyimpanan yang memadai sering peternak atau pedagang hanya menyimpan telur

pada suhu kamar dan tidak memperhatikan lama penyimpanannya sehingga konsumen sering mengeluh tentang mutu telur yang kurang baik.

Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap telur ayam, di antaranya oleh Purnomowati (1996) menyatakan bahwa daya tahan telur ayam komersial dalam suhu kamar, yang diawetkan dengan pencelupan minyak kelapa mendidih selama 5 detik mampu mempertahankan kualitas fisik lebih lama, yaitu rongga udara yang relatif tetap (4-5mm), nilai Haugh Unit sebesar 53,074 dan indeks putih telur sebesar 8,675 pada hari ke-21. Widhowati (1999) menyatakan bahwa jumlah total kuman kulit telur ayam buras yang tertinggi ($1,3 \times 10^8$ CFU/ml) pada penyimpanan 312 jam (13 x 24 jam) suhu kamar sedangkan jumlah total kuman isi telur ayam buras yang tertinggi ($2,3 \times 10^8$ CFU/ml) pada penyimpanan 168 jam (7 x 24 jam) suhu kamar. Selanjutnya dinyatakan pula bahwa kualitas fisik telur mampu dipertahankan lebih lama yaitu tinggi rongga udara sebesar 5,638 mm pada penyimpanan 96 jam (4 x 24 jam) suhu kamar, nilai HU sebesar 69,460 pada penyimpanan 240 jam (10 x 24 jam) suhu kamar, dan indeks putih telur sebesar 0,057 cm pada penyimpanan 168 jam (7 x 24 jam) suhu kamar. Adapun keasaman (pH) telur segar kurang lebih 7,6 dan IPT antara 0,050 dan 0,174 sedangkan nilai HU nya lebih dari 50.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dapat dikemukakan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat perbedaan jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.

2. Apakah ditemukan kuman patogen *Salmonella sp.* pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh selama penyimpanan pada suhu kamar.
3. Apakah terdapat perbedaan kualitas fisik telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar .

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum :

Adapun tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lama penyimpanan telur puyuh pada suhu kamar yang memberikan kondisi telur yang masih dapat dikonsumsi baik kulit maupun isi ditinjau dari jumlah total kuman pencemar dan kualitas fisik telur.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.
2. Untuk mengetahui adanya kuman patogen *Salmonella sp.* pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh selama penyimpanan pada suhu kamar..
3. Untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas fisik telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah tentang lama penyimpanan yang tepat terhadap telur puyuh pada suhu kamar, sehingga diperoleh

kondisi telur puyuh yang bermutu baik ditinjau dari jumlah kuman pencemar, adanya kuman patogen *Salmonella sp.* dan kualitas telur.



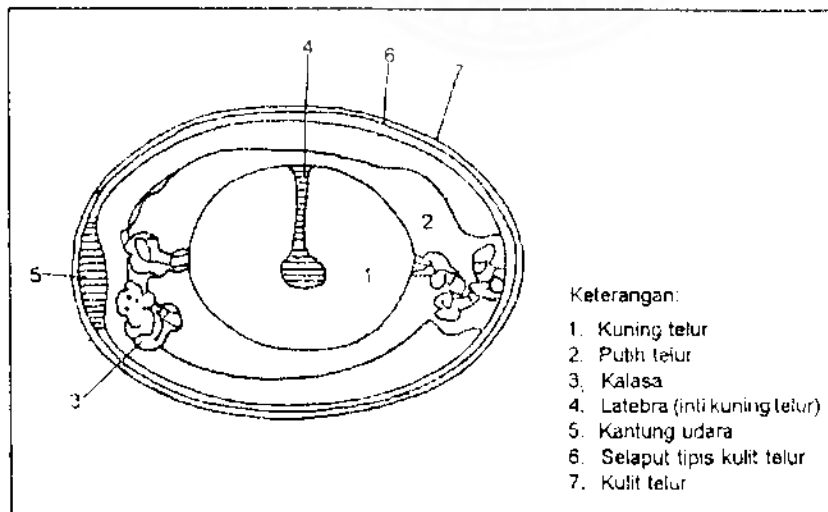
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Komposisi Telur Puyuh

Telur puyuh mempunyai ukuran lebih kecil dan ringan dari unggas lainnya, berbentuk bulat (spheroid) dengan aneka pola warna pada kulit, mulai dari coklat kehitam-hitaman sampai biru keputih-putihan dengan pigmen kulit porphyrin dan biliverdin (Woodard *et al.*, 1973 dan Shanaway, 1994). Telur puyuh ukurannya kira-kira seperlima dari ukuran telur ayam, yang beratnya berkisar 7 – 15 gram atau rata-rata 10 g / butir \pm 8 % dari berat badannya (Woodard *et al.*, 1973; Nugroho dan Mayun, 1981; Shanaway, 1984; Listiyowaty dan Roosпитasari, 1997).

Umumnya setiap telur unggas mempunyai struktur yang sama terdiri dari tiga bagian utama yaitu kerabang telur/kulit telur, putih telur (albumen), kuning telur (yolk).



Gambar 2.1 Struktur Telur (Sumber Sarwono, 1994).

Pada permukaan kulit telur banyak sekali pori-pori yang besarnya tidak seragam. Penyebaran jumlah pori-pori berbeda-beda pada bagian tumpul, tengah dan runcing telur. Bentuk pori-pori bermacam-macam, tergantung dari jenis telur dan letaknya pada permukaan telur. Ukuran pori-pori sangat bervariasi, lebarnya berkisar antara 9 – 38 mikron sedangkan panjangnya antara 14 – 54 mikron (Sarwono, 1994).

Telur puyuh mempunyai tebal kulit telur bervariasi dan biasanya telur yang dihasilkan oleh puyuh yang lebih tua, kulit telurnya tipis, mudah pecah dan daya tetasnya rendah dan tebal kulit telurnya kira-kira sepertiga lebih tipis dibanding telur ayam. Tebal kulit telur puyuh rata-rata 0,197 mm dan selaput telur 0,063 mm dan tiap-tiap puyuh cenderung menghasilkan telur dengan ukuran, bentuk dan pola warna tersendiri (Nugroho dan Manyun, 1981; Shanaway, 1994).

Sebutir telur puyuh bila dibuka terbagi atas bagian kulit, bagian yang bening dan bagian kuning. Bagian yang bening disebut albumen sebanyak 47,4%, kuning telur sebanyak 31,9% dan bagian kulitnya 20,7% (Mohmond dan Coleman, 1967 dalam Rasyaf, 1985; Nugroho dan Mayun, 1981).

Kuning telur adalah suatu bagian yang terpenting dari telur, warna kuning telur sangat ditentukan oleh kadar xanthofil pada ransum yang dikonsumsi selama bertelur. Xanthofil yaitu pigmen karotenoid pemberi warna khas pada kuning telur dan merupakan senyawa tidak stabil dan dapat hilang dari bahan pakan unggas karena oksidasi (Anggorodi, 1985)

Telur puyuh mempunyai nilai kandungan gizi yang tinggi, tidak kalah dengan telur unggas lainnya. Kadar proteinnya 13,1 %, lemaknya 11,1%, karbohidrat 1%, kadar abu 1,1%. (Tabel 2.1)

2.2 Kualitas Telur

Kualitas telur merupakan hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan telur. Menurut Nesheim *et al.* (1979) bahwa untuk menentukan kualitas telur ada dua faktor yaitu kualitas telur bagian luar dan kualitas telur bagian dalam. Kualitas telur bagian luar meliputi berat telur, kebersihan telur dan retak tidaknya kulit telur, sedangkan kualitas bagian dalam meliputi keadaan albumen, kuning telur, rongga udara dan proporsi bagian-bagian telur (Board, 1986).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Telur Berbagai Unggas

Macam Unggas	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)	Abu (%)
Ayam	12,9	11,5	0,9	1,0
Itik	13,3	14,5	0,7	1,1
Angsa	13,9	13,3	1,5	1,1
Merpati	13,8	12,0	0,8	0,9
Puyuh	13,1	11,1	1,0	1,1
Kalkun	13,1	11,8	1,7	0,8

Sumber: Sastry, Thomas dan Singh, 1982 dalam Rasyaf, 1985.

Menurut Sirait (1986), perubahan-perubahan yang menyebabkan penurunan kualitas telur segar dipengaruhi oleh faktor penanganan, temperatur, kelembaban relatif, lingkungan dan lama penyimpanan. Dari segi penanganan yang agak kasar terutama selama transportasi tidak hanya menyebabkan keretakan pada kulit telur tetapi dapat mengganggu kestabilan posisi dari komponen dalam telur sehingga mempercepat proses penurunan mutu telur. Menurunnya kualitas telur disebabkan oleh terjadinya perubahan-perubahan telur selama penyimpanan yang merupakan akibat adanya penguapan air dan pelepasan CO₂ dari dalam telur, serta masuknya

mikroorganisme ke dalam telur melalui pori-pori kulit telur (Hintono, 1985). Penguapan gas CO₂ dari dalam telur dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti suhu, kelembaban udara, konsentrasi CO₂ di udara serta tempat penyimpanan (Sabrani dan Setiyanto, 1980). Dijelaskan pula bahwa selama penyimpanan akan terjadi perubahan struktur gel putih telur karena adanya kerusakan serabut-serabut protein yang dibentuknya.

Menurut Ishak, dkk (1985), perubahan yang terjadi pada telur selama penyimpanan yaitu berat telur berkurang, membesarnya kantong udara yang disebabkan oleh penguapan air dari telur, terjadinya bintik-bintik pada kulit telur yang disebabkan oleh tidak meratanya penyebaran air, kekentalan putih telur berkurang karena pecahnya ovomisin, ukuran kuning telur bertambah karena pergerakan air dari albumen bertambah ke kuning telur akibat perbedaan dari tekanan osmotik antara albumen dan kuning telur, menguapnya CO₂ sehingga pH bertambah terutama pada albumen yaitu dari pH 7 sampai pH 10.

Nesheim *et al.* (1979) menyatakan bahwa kualitas telur dapat diketahui dengan *external appearance*, *candling quality* dan *quality of open egg*. *External appearance* meliputi ukuran, bentuk telur, warna dan tekstur kerabang, kebersihan dan keseragaman telur (cara ini bukan merupakan cara yang akurat tentang kualitas telur. *Candling quality* adalah mengukur kualitas dalam telur yang meliputi kerabang, rongga udara, kuning telur dan putih telur dengan cara peneropongan. Sedangkan *quality of open egg* merupakan cara mengetahui kualitas telur dengan memecah telur dan mengukur warna kuning telur, kekentalan putih telur dan kuning telur.

2.2.1 Indeks Putih Telur

Indeks putih telur merupakan parameter menentukan kualitas telur, yaitu meliputi perbandingan antara tinggi albumen dan rata-rata diameter albumen. Telur yang baru dikeluarkan oleh induknya, nilai indeks putih telurnya berkisar antara 0,050 dan 0,174, meskipun pada umumnya berkisar antara 0,090 dan 0,120 (Buckle *et al.*, 1987).

Struktur putih telur dibentuk oleh gabungan ester sulfat yang terkandung dalam glikoprotein, yang membentuk serat-serat putih telur dan terjalin seperti jala yang disebut sebagai ovomusin. Pecahnya ovomusin yang merupakan protein pengikat bahan cair putih telur, menyebabkan putih telur menjadi encer. Pada telur segar, putih telur mengandung ovomusin dalam jumlah yang banyak dan semakin turun seiring berjalannya waktu (Neisheim *et al.*, 1979).

2.2.2 pH Putih Telur

Segera setelah sebutir telur dikeluarkan dari tubuh induknya, terjadi peningkatan pH putih telur. Derajat keasaman (pH) telur segar kurang lebih 7,6, setelah beberapa hari penyimpanan tanpa pengawetan, pH telur dapat meningkat menjadi 8,4 sampai 9,4. Perubahan pH telur semakin cepat pada temperatur penyimpanan yang tinggi (Buckle *et al.*, 1987). Menurut yang dilaporkan Hidanah (1994), bahwa kenaikan pH ini disebabkan terlepasnya karbondioksida sehingga putih telur menjadi bersifat basa. Serabut protein yang membentuk jala yaitu ovomusin akan rusak dan pecah karena kenaikan pH yang mengakibatkan air dari putih telur akan keluar dan putih telur menjadi encer.

2.2.3 Nilai Haugh Unit (HU)

Menurut Sudaryani (2000), kualitas telur dapat diukur dengan HU yaitu satuan yang digunakan untuk mengetahui kesegaran isi telur, terutama bagian putih telur, yang ditentukan berdasarkan logaritma pengukuran tebal putih telur dalam milimeter dan berat telur dalam gram dengan rumus sebagai berikut: $HU = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$. Selanjutnya dikatakan bahwa United States Departement of Agriculture (USDA) dalam Neisheim *et al.*, (1979) menggolongkan kualitas telur menjadi 4 kelas yaitu kelas AA (baik sekali) nilai HU nya 72 – 100, kelas A (baik) nilai HU nya 60 – 72, kelas B (sedang) nilai HU nya 32 – 60 dan kelas C (jelek) nilai HU nya 32.

Menurut Buckle *et al.* (1987), nilai HU telur segar adalah 100 HU; nilai HU untuk telur yang berkualitas baik adalah 75-100 HU dan untuk telur yang berkualitas jelek, nilainya kurang dari 50 HU.

2.3 Kuman Pencemar

Kerusakan telur oleh bakteri terjadi karena mikroorganisme masuk ke dalam telur melalui lubang kecil yang terdapat pada permukaan telur. Jekti (1990) melaporkan, bahwa besarnya kontaminasi kuman pada telur dan tingkat pertumbuhan kuman akan menentukan lamanya daya simpan telur. Jumlah kuman akan meningkat bila telur disimpan pada suhu yang sesuai dengan pertumbuhan kuman sehingga akan menyebabkan kerusakan dan penurunan mutu telur.

Pertumbuhan kuman dapat dibagi menjadi empat fase yaitu fase lag, fase pertumbuhan logaritmik (eksponensial), fase konstan (*stationary*) dan fase penurunan yang menurun atau fase kematian.

1. Fase penyesuaian diri (*lag phase*), merupakan fase dimana kuman belum berkembang biak, tetapi aktivitas metabolismenya tinggi dan merupakan fase persiapan untuk fase berikutnya.
2. Fase pembelahan (*exponential phase*), merupakan fase dimana kuman berkembang biak dengan berlipat 2, jumlah kuman meningkat secara eksponensial. Pada pertengahan fase ini pertumbuhan kuman sangat ideal, pembelahan terjadi secara teratur.
3. Fase stasioner (*stationary phase*), merupakan fase dimana jumlah kuman meningkat tetapi jumlah hasil metabolisme yang toksis juga meningkat. Pada fase ini kuman mulai ada yang mati, pembelahan terjadi secara teratur, semua bahan dalam sel berada dalam keadaan seimbang.
4. Fase penurunan (*period of decline*), merupakan fase dimana jumlah kuman yang hidup berkurang dan mengalami penurunan.

Berdasarkan suhu optimum pertumbuhan kuman digolongkan menjadi psikrofilik dengan suhu pertumbuhan sekitar 0°C sampai 20°C , mesofilik sekitar 25°C sampai 37°C dan termofilik sekitar 40°C sampai 80°C (Jekti, 1990).

2.4 *Salmonella sp.*

Genus *Salmonella* merupakan anggota famili Enterobacteriaceae yang bersifat patogen untuk manusia atau hewan bila masuk melalui mulut. Bakteri ini ditularkan

dari hewan atau produk hewan kepada manusia dan menyebabkan enteritis, infeksi sistemik dan demam enterik. Sebagian besar *Salmonella* bersifat patogen bagi hewan yang merupakan *reservoir* untuk infeksi manusia (Jawetz, *et al.*, 1996).

Salmonella adalah salah satu bakteri yang bersifat *food borne pathogen* yang dapat menyebabkan penyakit yang fatal. Menurut Ewing *et al.* dalam Joklik *et al.* (1992) bahwa *Salmonella* diklasifikasikan dalam 3 spesies yaitu *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhi*. Kuman dengan struktur antigenik yang lain dimasukkan ke dalam serotip dari *Salmonella enteritidis* bukan spesies baru lainnya, misalnya *Salmonella paratyphi A* diklasifikasikan sebagai *Salmonella enteritidis* serotip paratyphi A.

Salmonella enteritidis bersifat gram negatif, berbentuk batang pendek, tidak berspora dengan ukuran $0,7 - 1,5 \times 20 - 50 \mu\text{m}$, umumnya bergerak dengan flagella peritrikus. Bakteri ini tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa, membentuk asam gas dari glukosa, maltosa dan mannitol, memberi reaksi positif terhadap sitrat, lisin, ornithin decarboxylase, memberi reaksi negatif pada indol dan urease serta dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, dapat memfermentasi dulcitol dan dapat memproduksi H_2S (Joklik *et al.*, 1992).

Keracunan makanan yang disebabkan oleh *Salmonella enteritidis* pada umumnya mengakibatkan infeksi saluran pencernaan (gastroenteritis). Gejala yang timbul pertama kali adalah mual dan muntah yang mereda dalam beberapa jam, kemudian diikuti dengan nyeri abdomen, demam. Diare merupakan gejala yang paling menonjol, pada kasus yang berat dapat berupa diare yang bercampur darah. Menurut Jayawardhita (1996) yang dikutip dari Jay (1992), *Salmonella enteritidis*

mempunyai dosis infeksi $10^9 - 10^{10}$ *CFU/ml*, sedangkan yang dikutip dari Benenson (1990), untuk terjadinya infeksi hanya dibutuhkan kurang dari $10^2 - 10^3$ *CFU/ml*.



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

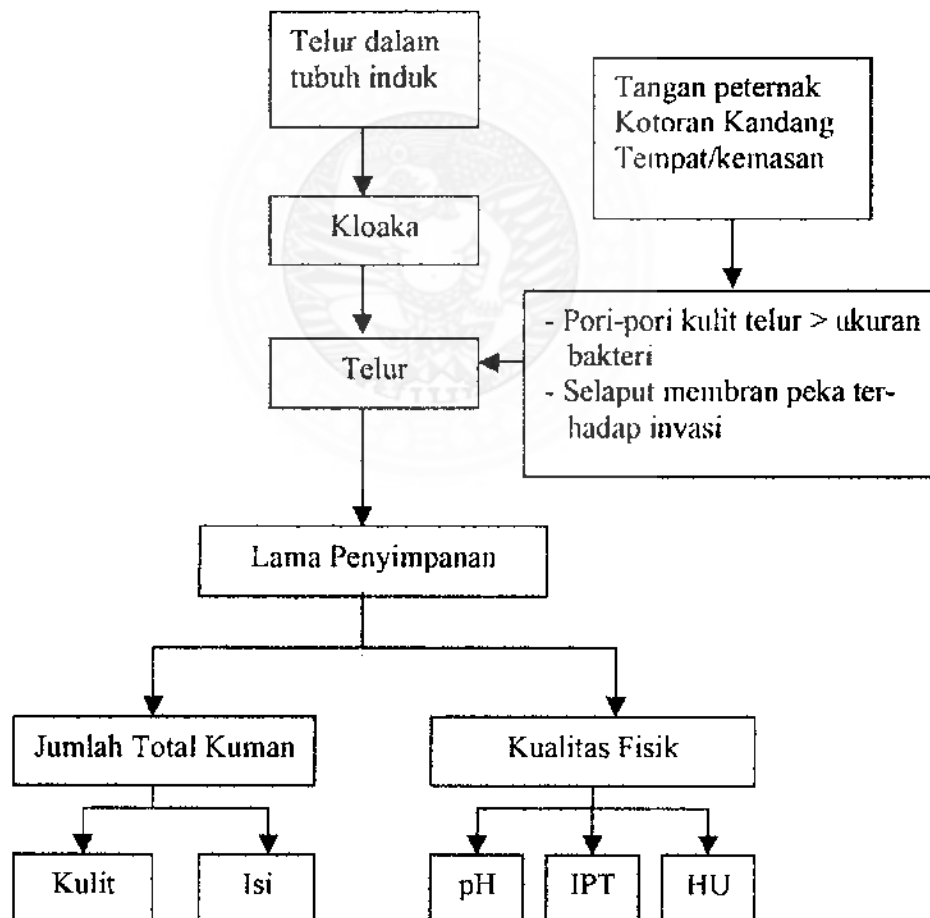
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Mutu suatu bahan makanan ditinjau dari segi mikrobiologis, ditentukan oleh jumlah dan jenis bakteri yang terdapat dalam bahan makanan tersebut. Telur puyuh merupakan bahan pangan yang diperlukan sebagai sumber protein hewani. Sebagai salah satu bahan pangan, telur puyuh harus mendapat perhatian dari segi keamanan dan mutunya bagi kepentingan konsumen.

Telur mempunyai sifat mudah rusak. Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan telur diantaranya adalah adanya kuman pencemar, suhu lingkungan, kelembaban, faktor penanganan dan kondisi penyimpanan. Ditinjau dari adanya kuman pencemar ada 2 faktor utama yang menyebabkan kerusakan telur, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal adalah faktor yang berasal dari dalam, yaitu telur telah terinfeksi pada waktu masih berada dalam tubuh induknya misalnya induk menderita salmonellosis sehingga telur mengandung bakteri *Salmonella sp.* Faktor eksternal adalah faktor yang berasal dari luar meliputi masuknya mikroba ke dalam telur yang terjadi setelah telur keluar dari tubuh induknya (mikroba bisa berasal dari kotoran kandang dan tangan peternak).

Besarnya kontaminasi kuman pada telur dan tingkat pertumbuhan kuman akan menentukan lamanya daya simpan telur. Jumlah kuman akan meningkat bila telur disimpan pada suhu yang sesuai dengan pertumbuhan kuman sehingga akan menyebabkan kerusakan dan penurunan mutu telur.

Lama penyimpanan dapat mempengaruhi kualitas telur, karena sejak dikeluarkan dari kloaka telur mengalami perubahan-perubahan akibat pengaruh suhu dan kelembaban ruang penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh CO₂ dan air yang dikandung oleh telur akan keluar melalui pori-pori kulit telur akibat perbedaan tekanan. Berkurangnya CO₂ dan air dalam isi telur menyebabkan protein telur akan mengalami degradasi, akibatnya pH telur akan naik, nilai Haugh unit dan indeks putih telur menjadi turun.



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual Penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.
2. Terdapat perbedaan kualitas fisik telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.

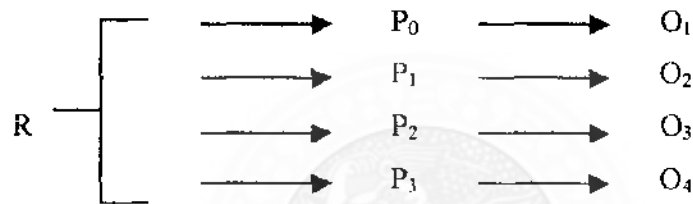


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorik berdasarkan rancangan *the post test – only control group design* (Zainuddin, 2000) dengan denah percobaan sebagai berikut:



Keterangan :

R = Sampel telur puyuh yang diambil secara random

P₀ = Sampel telur puyuh segar tanpa penyimpanan pada suhu kamar (kontrol)

P₁ = Sampel telur puyuh pada perlakuan penyimpanan selama 1 minggu pada suhu kamar

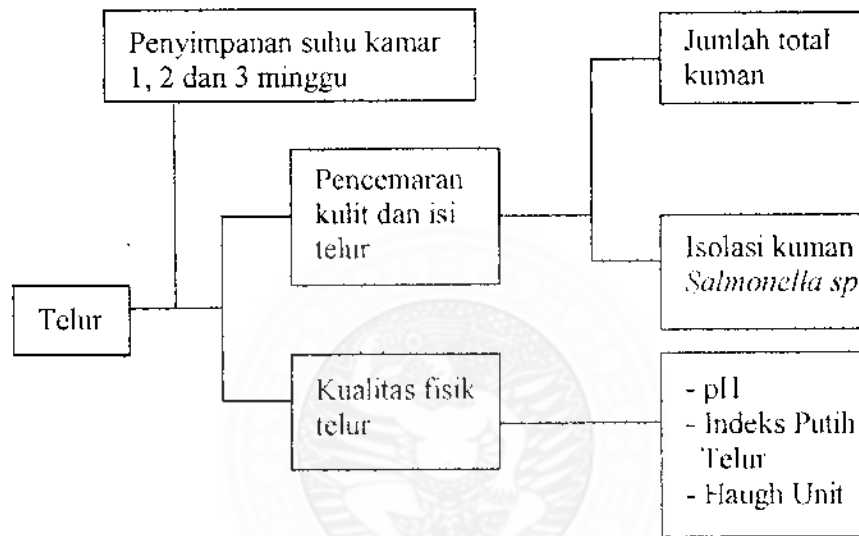
P₂ = Sampel telur puyuh pada perlakuan penyimpanan selama 2 minggu pada suhu kamar

P₃ = Sampel telur puyuh pada perlakuan penyimpanan selama 3 minggu pada suhu kamar

O_{1,2,3,4} = Penghitungan jumlah total kuman dan isolasi kuman *Salmonella sp.* pada kulit dan isi telur serta pemeriksaan kualitas fisik telur puyuh.

4.2 Kerangka Operasional Penelitian

Telur puyuh segar yang disimpan pada suhu kamar selama 1, 2 dan 3 minggu akan diamati pencemaran kulit dan isi telur meliputi jumlah total kuman dan isolasi kuman *Salmonella sp.* serta kualitas fisik telur yang meliputi pH, IPT dan Haugh Unit.



Gambar. 4.1 Skema Kerangka Operasional Penelitian

4.3 Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah telur puyuh segar yang berasal dari peternakan puyuh milik Bapak H. Cholil di Pacar Kembang Kecamatan Tambaksari di Surabaya.

4.3.1 Besar Sampel

Besar sampel adalah 24 butir dan ulangan masing-masing pengamatan adalah 6. Hasil tersebut diperoleh dengan rumus:

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15 \quad (\text{Hanafiah, 1997})$$

$$t = 4 \quad r \cdot 1 = 5 \rightarrow r = 6$$

Keterangan :

t = perlakuan r = ulangan

4.3.2 Teknik Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel sebagai berikut:

Telur puyuh segar diambil dari peternakan sebanyak 24 butir. Untuk 6 butir dari kelompok pertama langsung diperiksa jumlah total kuman dan isolasi kuman *Salmonella sp.* pada kulit dan isi telur serta uji kualitas fisik telur yang terdiri dari: nilai HU, pH putih telur dan indeks putih telur. Sampel lainnya disimpan pada suhu kamar sesuai dengan perlakuan yaitu: penyimpanan 1 minggu; 2 minggu dan 3 minggu masing-masing berjumlah 6 butir. Kemudian tiap-tiap sampel diperiksa jumlah total kuman dan isolasi kuman *Salmonella sp.* pada kulit dan isi telur serta uji kualitas fisik telurnya sesuai perlakuan.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Klasifikasi Variabel

Variabel penelitian yang dibahas dalam penelitian ini adalah:

1) Variabel bebas

Sebagai variabel bebas adalah lama penyimpanan telur puyuh segar.

2) Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung adalah mutu telur yang dilihat dari segi mikrobiologis yaitu jumlah total kuman dan kandungan *Salmonella sp.*

serta kualitas fisik telur yang terdiri dari nilai HU, pH putih telur dan indeks putih telur.

3) Variabel kendali

Sebagai variabel kendali adalah induk puyuh, lama transportasi, wadah, suhu penyimpanan, cara penghitungan jumlah total kuman dan cara pengambilan sampel untuk isolasi kuman *Salmonella sp.* serta pengukuran kualitas fisik telur.

4) Variabel confounding

Sebagai variabel confounding adalah keseragaman berat sampel telur puyuh.

4.4.2 Definisi Operasional Variabel

Lama penyimpanan adalah waktu yang dibutuhkan untuk penyimpanan pada suhu kamar yaitu: 1 minggu; 2 minggu dan 3 minggu terhadap telur puyuh segar sejak dikeluarkan dari kandang menuju laboratorium.

Jumlah total kuman adalah hitungan angka *Total Plate Count* kuman tiap mililiter sampel telur puyuh yang dilakukan terhadap telur puyuh tanpa penyimpanan dan pada penyimpanan 1 minggu; 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar dan dihitung menggunakan metode *drop plate*.

Salmonella sp. adalah kuman berbentuk batang pendek, gram negatif, fakultatif anaerob, motil, dapat membentuk asam dari glukosa, memberi reaksi negatif pada indol dan memberi reaksi positif pada sitrat dan lisin (Joklik *et al.*, 1992).

Nilai Haugh Unit (HU) adalah pengukuran kualitas albumen dengan rumus: $HU = 100 \log (H+7,57- 1,7W^{0,37})$ terhadap telur puyuh tanpa penyimpanan dan pada penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar. Nilai 'H' berasal dari tinggi putih telur kental (mm), yang diukur dengan spherometer berdaya ukur 0-20 mm dengan skala 1 mm dengan LC 0,01 mm. Nilai 'W' berasal dari berat telur (gram). Pengukuran berat telur dilakukan dengan timbangan analitis.

pH putih telur adalah pH yang diukur dengan *special indicator* pH terhadap putih telur dari telur puyuh tanpa penyimpanan dan penyimpanan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu.

Indeks putih telur adalah pengukuran tingkat keenceran putih telur tanpa penyimpanan dan pada penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar dengan cara membagi tinggi putih telur dengan diameter rata-rata putih telur.

Telur puyuh segar adalah telur puyuh yang baru dikeluarkan/dihasilkan oleh induk puyuh yang berasal dari peternakan puyuh milik Bapak H. Cholil di Pacar Kembang Kecamatan Tambaksari di Surabaya.

Mutu telur adalah suatu kondisi telur yang memiliki nilai pH, IPT, HU dan jumlah kuman tertentu yang memenuhi persyaratan untuk bisa dikonsumsi.

Wadah adalah tempat yang digunakan untuk meletakkan telur dari lokasi peternakan.

Lama transportasi adalah waktu yang digunakan untuk mengangkut telur dari lokasi peternakan menuju lokasi penelitian yaitu 1 jam.

Suhu kamar adalah suhu ruangan yang digunakan untuk penyimpanan telur puyuh yaitu 28°C – 29°C.

Metode drop plate adalah salah satu cara untuk menghitung jumlah kuman tiap satuan volume yang dilakukan dengan cara tetes (Wasito, 1986).

4.4.3 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang diberikan perlakuan adalah telur puyuh segar yang diperoleh dari peternakan milik Bapak H. Cholil di Pacar Kembang Kecamatan Tambaksari di Surabaya.

Bahan-bahan penunjang penelitian adalah *Nutrient Agar*, *Tryptic Soy Broth*, *Salmonella Shigella Agar*, bahan uji biokimia, NaCl fisiologis dan alkohol 70%.

4.5 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *petridish* diameter 9 cm dan 12 cm, pipet 1 ml, *erlenmeyer*, *beaker glass*, tabung reaksi, *eppendorf*, kabinet Ultraviolet, pengaduk, *ose*, mikropipet, *vortex*, bunsen, inkubator, *autoclave*, *microwave oven*, *special indicator* pH 6,5-10,0 Merck, kapas, *spherometer Cenco*, jangka sorong, timbangan analitik, *vortex*, *conical tube* dan *spreader*.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium *Salmonella, Tropical Disease Centre*, Kampus C Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian selama 2 bulan.

4.7 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data

4.7.1 Persiapan Telur Puyuh

Telur puyuh segar sebanyak 24 butir diperoleh dari peternakan puyuh dibawa ke Laboratorium *Tropical Disease Centre* Universitas Airlangga. Untuk 6 butir dari

kelompok pertama langsung ditimbang dan diperiksa jumlah total kuman dan isolasi kuman *Salmonella sp.* pada kulit dan isi telur serta uji kualitas fisik telur yang terdiri dari nilai HU, pH putih telur dan indeks putih telur. Sampel lainnya disimpan pada suhu kamar sesuai dengan perlakuan yaitu: penyimpanan 1 minggu; 2 minggu dan 3 minggu masing-masing berjumlah 6 butir. Kemudian tiap-tiap sampel telur puyuh setelah penyimpanan ditimbang dan diperiksa jumlah total kuman, isolasi kuman *Salmonella sp.* pada kulit dan isi telur serta uji kualitas fisik telurnya sesuai perlakuan.

4.7.2 Penghitungan Jumlah Total Kuman

Penghitungan jumlah total kuman pada kulit dan isi telur dilakukan dengan metode *Drop plate*.

4.7.2.1 Kulit Telur

Setiap kulit telur dimasukkan ke *beaker glass* yang sudah berisi pengaduk steril dan 10 ml NaCl fisiologis yang steril. Larutan NaClnya dipindahkan ke *conical tube* dan divortex selama 5 menit. Dengan menggunakan mikropipet, diambil larutan sebanyak 1 ml dan dilakukan pengenceran dengan NaCl fisiologis 9 ml (1:10), demikian seterusnya 1:100, 1:1000, 1:10.000 (Salamun, 1994).

Menyediakan lempeng NA yang telah dihangatkan lebih dahulu dalam inkubator, agar memungkinkan satu tetesan bahan pemeriksaan membentuk daerah sebaran dan bagian yang cair terserap ke dalam media NA (Wasito, 1986).

Dengan mikropipet 0,05 ml bahan pemeriksaan diletakkan pada lempeng NA yang telah dipersiapkan sebelumnya. Posisi mikropipet diusahakan vertikal sehingga

ujung pipet tidak menyentuh permukaan medium. Tetesan tersebut dibiarkan menyebar sendiri pada permukaan medium pada suhu kamar sampai bagian cair terserap semua ke dalam medium agar. Satu bahan pemeriksaan dengan 4 pengenceran yang berbeda dilakukan secara sama, masing-masing dilakukan secara duplo. Kemudian diinkubasi dalam inkubator 37⁰C selama 24 jam dengan cara meletakkan dalam keadaan terbalik (Wasito, 1986).

Penghitungan jumlah total kuman = rata-rata jumlah koloni x 20 x 1/pengenceran (Fardiaz, 1993). Menurut Reed dan Reed dalam Wasito (1986), bahwa luas daerah yang ditumbuhi koloni dipengaruhi oleh volume tetesan, apabila menggunakan cara tetes dengan volume 0,025 ml dan menemukan koloni yang paling mudah untuk dihitung adalah pada jumlah 20 – 40.

4.7.2.2 Isi Telur

Mengambil isi telur dan memasukkannya ke *erlenmeyer* dan mengocoknya supaya homogen pada kondisi steril, kemudian diambil sebanyak 1 ml dengan mikropipet dan diencerkan menjadi 1:10 dengan menambahkan NaCl fisiologis steril sebanyak 9 ml demikian seterusnya dibuat pengenceran 1:100, 1:1000, 1:10.000.

Dengan mikropipet 0,05 ml bahan pemeriksaan diletakkan pada lempeng NA yang telah dipersiapkan sebelumnya. Posisi mikropipet diusahakan vertikal sehingga ujung pipet tidak menyentuh permukaan medium tetapi tetesannya menyentuh medium. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator 37⁰C selama 24 jam dengan cara meletakkan dalam keadaan terbalik Untuk setiap satu sampel dengan 4 pengenceran yang berbeda masing-masing duplo.

Penghitungan jumlah total kuman = rata-rata jumlah koloni x 20 x 1/pengenceran.

Sebagai kontrol untuk kedua sampel tersebut di atas ditetaskan 1 ml larutan NaCl fisiologis pada media NA yang telah dipersiapkan sebelumnya. Selanjutnya diinkubasi ke dalam inkubator 37⁰C selama 24 jam dengan cara meletakkan dalam keadaan lempeng petri terbalik. Setelah 24 jam pada kontrol ini tidak boleh terjadi pertumbuhan koloni kuman.

4.7.3 Isolasi Kuman Patogen *Salmonella sp.*

Isolasi kuman patogen *Salmonella sp.* dilakukan dengan metode *spread plate*.

4.7.3.1 Pemupukan dan Isolasi Kuman

Bahan pemeriksaan kulit dan isi telur masing-masing ditumbuhkan pada media TSB (enrichment) dan diinkubasi 37⁰C selama 24 jam. Bahan tersebut diambil 0,1 ml dengan mikropipet, kemudian ditetaskan ke media Salmonella Shigella Agar (SSA = media selektif untuk bakteri *Salmonella sp.*) lalu diratakan dengan *spreader* kemudian diinkubasi 37⁰C selama 24 jam dan diletakkan secara terbalik.

4.7.3.2 Uji Biokimia

Menurut Koneman *et al.* (1992), koloni tak berwarna/berbintik hitam yang tumbuh pada media SSA dimokulasikan masing-masing pada media :

1. *Kligler Iron Agar* (KIA), pada media ini dibuat goresan pada bagian agar miring (*slant*), setelah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37⁰C akan menghasilkan basa dan tusukan pada ujung (*butt*) setelah diinkubasi

selama 24 jam pada temperatur 37°C akan menghasilkan asam. Selain itu adanya bakteri ini dapat diketahui dengan adanya produksi gas hidrogen sulfida (H₂S), ditandai adanya warna di bagian *butt* yang hitam.

2. *Lysin Indol Motility* (I.IM), ada tidaknya indol dapat diketahui dengan cara meneteskan 3,5 tetes reagen Kovach pada media yang telah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, akan membentuk cincin berwarna merah (positif) pada permukaan media. Pergerakan kuman dapat dilihat dengan adanya penyebaran pertumbuhan di sekitar tusukan jarum ose, sedangkan adanya lisin dekarboksilase dapat dilihat dengan adanya perubahan warna media menjadi ungu.
3. Media Simmon's Citrate Agar (SCA), jika pada media ini tumbuh koloni akan ada perubahan warna media dari hijau menjadi biru, yang berarti kuman menggunakan unsur C sitrat yang terdapat dalam media sebagai sumber karbonnya. Hal ini terjadi setelah media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C.

4.7.4 Pengujian Kualitas Fisik Telur

Uji kualitas fisik telur meliputi nilai Haugh Unit, pH putih telur dan indeks putih telur.

Nilai Haugh Unit dihitung dengan rumus : $HU = 100 \log (H+7,57- 1,7W^{0,37})$.

H = tinggi putih telur kental yang diukur dengan spherometer (mm), W = berat telur (gram). Telur ditimbang untuk mendapatkan nilai W, baru dipecah untuk mendapatkan nilai H (Widhowati, 1999).

Indeks Putih Telur (IPT) ditentukan dengan mengukur tinggi dan diameter putih telur yang tebal di atas kaca datar tanpa memisahkan dari kuning telur dengan menggunakan spherometer dan jangka sorong (Widhowati, 1999). Kemudian IPT dihitung dengan rumus:

$$\text{IPT} = \frac{\text{Tinggi putih telur kental}}{\text{Diameter rata-rata putih telur}}$$

Derajat keasaman atau pH putih telur diukur dengan *special indicator* pH 6,5 - 10.

4.8 Cara Analisis Data

Untuk parameter jumlah total kuman dan kualitas fisik telur (pH, IPT dan HU) dilakukan analisis varians yaitu untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan. Bila terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji Least Significant Differences (LSD), (Sudjana, 1992).

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Analisis hasil penelitian tentang pengaruh lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap mutu telur puyuh ditinjau dari segi mikrobiologis yaitu jumlah total kuman dan kandungan *Salmonella sp.* serta kualitas fisik, yang meliputi pH putih telur, indeks putih telur dan nilai *Haugh Unit* akan disajikan di bawah ini.

5.1 Data Penelitian

5.1.1 Jumlah Total Kuman pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

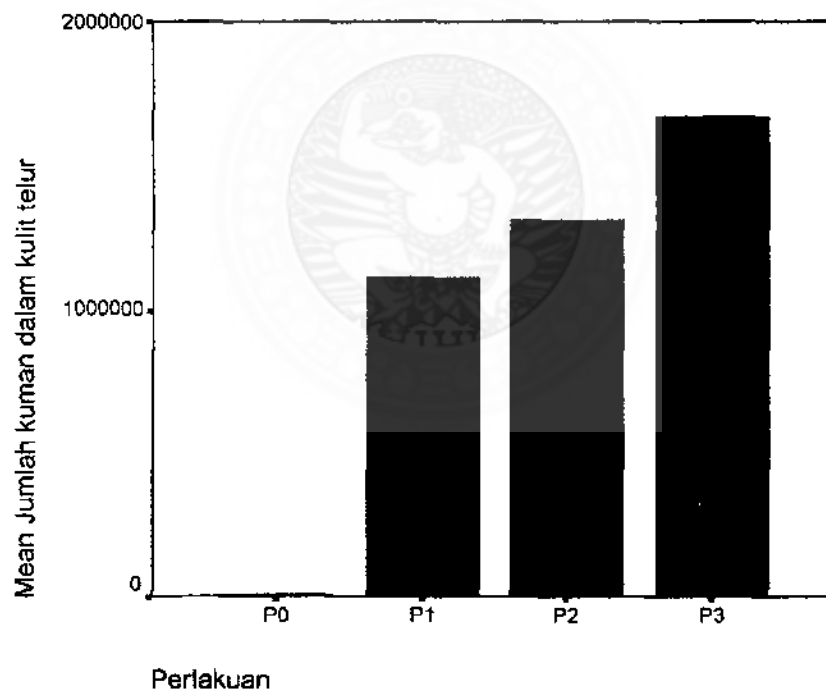
5.1.1.1 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil penghitungan jumlah total kuman pada kulit telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu dapat dilihat pada tabel 5.1.

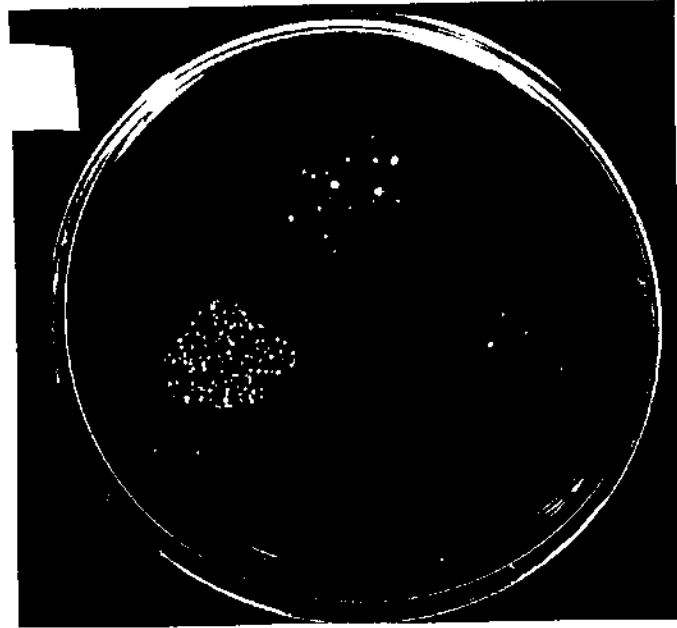
Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar ($\times 10^6$ CFU/ml)

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	0,002	1,320	1,62	2,33
2	0,005	1,11	1,61	0,0086
3	0,0052	1,09	0,88	2,22
4	0,0022	0,0048	1,06	1,92
5	0,0011	0,94	1,23	1,61
6	0,0051	2,17	1,45	1,93
Jumlah	0,0206	6,634	7,85	10,0186
Rata-rata	0,03433	1,1058	1,308333	1,6698

Berdasarkan tabel 5.1 dapat diketahui bahwa jumlah total kuman pada kulit telur puyuh akan meningkat dengan bertambah lamanya penyimpanan pada suhu kamar. Rata-rata jumlah total kuman pada kulit telur puyuh pada penyimpanan 1 minggu adalah 1,1 juta *CFU/ml*, pada penyimpanan 2 minggu adalah 1,3 juta *CFU/ml* dan rata-rata jumlah total kuman yang tertinggi adalah pada penyimpanan 3 minggu yaitu 1,7 juta *CFU/ml*. Untuk lebih jelasnya data tersebut disajikan dalam bentuk grafik histogram (gambar 5.1).



Gambar 5.1 Histogram Rata-Rata Jumlah Total Kuman (*CFU/ml*) pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)



Gambar 5.2 Hasil Pemeriksaan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan Selama 1 Minggu pada Suhu Kamar dengan Berbagai Pengenceran

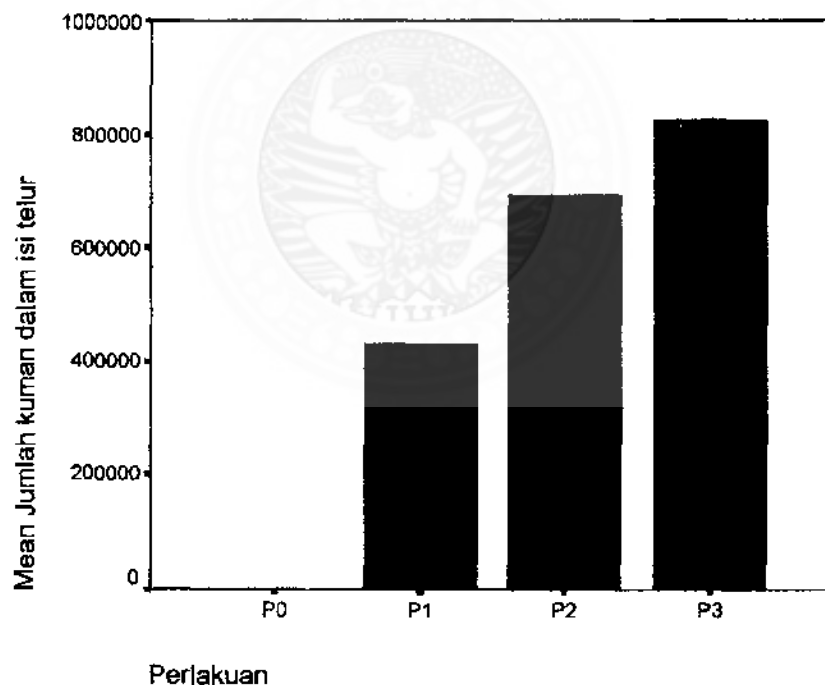
5.1.1.2 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil penghitungan jumlah total kuman pada isi telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar ($\times 10^6$ CFU/ml)

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	0	0,0035	1,04	1,44
2	0	0,7	1,37	0,0167
3	0	0,0045	0,64	0,63
4	0	0,004	0,18	0,62
5	0	0,063	0,113	0,67
6	0	1,25	0,8	1,57
Jumlah	0	2,592	4,143	4,9467
Rata-rata	0	0,432	0,6905	0,82445

Berdasarkan tabel 5.2 dapat diketahui bahwa jumlah total kuman pada isi telur puyuh akan meningkat dengan bertambah lamanya penyimpanan pada suhu kamar. Rata-rata jumlah total kuman pada isi telur puyuh pada penyimpanan 1 minggu adalah 0,4 juta *CFU/ml*, pada penyimpanan 2 minggu adalah 0,7 juta *CFU/ml* dan pada penyimpanan 3 minggu adalah 0,8 juta *CFU/ml*. Untuk lebih jelasnya data tersebut disajikan dalam bentuk grafik histogram (gambar 5.3).



Gambar 5.3 Histogram Rata-Rata Jumlah Total Kuman (*CFU/ml*) pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)



Gambar 5.4 Hasil Pemeriksaan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh Segar (Tanpa Penyimpanan) dengan Berbagai Pengenceran

5.1.2 Hasil Isolasi Kuman Patogen *Salmonella sp.* pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil isolasi kuman patogen *Salmonella sp.* pada telur puyuh dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Isolasi Kuman Patogen *Salmonella sp.* pada Telur Puyuh (Kulit dan Isi) yang Disimpan pada Suhu Kamar

		P0	P1	P2	P3
Kulit telur	+	-	-	-	-
	-	6	6	6	6
Isi telur	+	-	-	-	-
	-	6	6	6	6

Keterangan : + = ditemukan - = tidak ditemukan

Dari tabel 5.3 dapat diketahui bahwa isolasi kuman patogen *Salmonella sp.* yang dilakukan pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh, tanpa penyimpanan dan pada penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar, tidak ditemukan adanya kuman patogen tersebut.

5.1.3 Hasil Pengukuran Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

5.1.3.1 Hasil Pengukuran pH Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

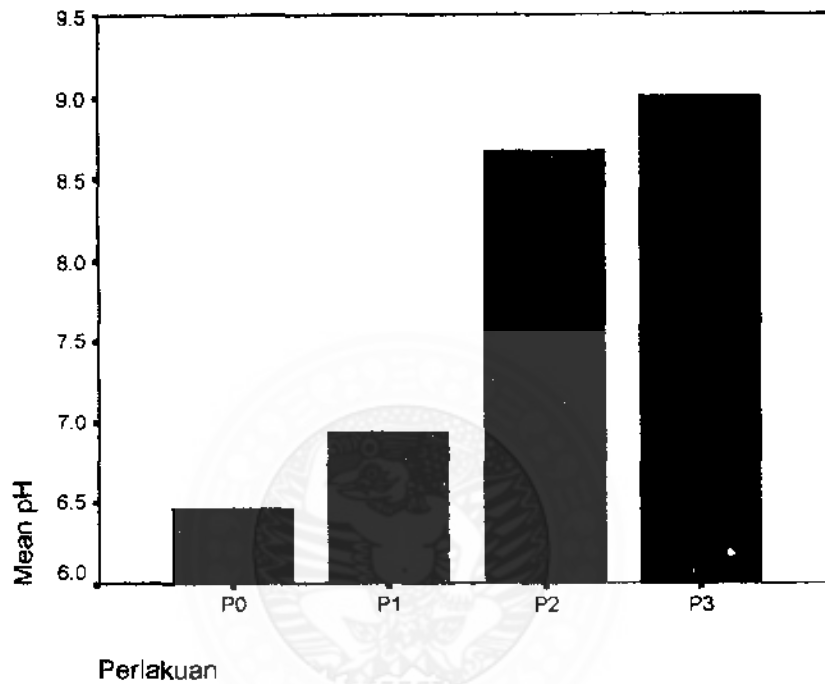
Hasil pengukuran pH putih telur yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Pengukuran pH Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	6,0	6,4	8,0	9,0
2	8,0	6,4	8,8	8,8
3	5,4	8,0	8,8	8,8
4	8,0	7,2	8,8	9,2
5	5,4	7,2	8,8	9,0
6	6,0	6,4	8,8	9,2
Jumlah	38,8	41,6	52,0	54,0
Rata-rata	6,47	6,93	8,67	9,0

Dari tabel 5.4 dapat diketahui bahwa dengan bertambah lamanya penyimpanan telur puyuh maka pH putih telur akan meningkat. Rata-rata pH putih telur pada telur segar (tanpa penyimpanan) adalah 6,47. Pada penyimpanan berikutnya pH putih telur meningkat yaitu penyimpanan 1 minggu adalah 6,93 dan penyimpanan 2 minggu adalah 8,67 serta penyimpanan 3 minggu adalah 9,0. Untuk

lebih jelasnya data tersebut dapat disajikan dalam bentuk grafik histogram (gambar 5.5).



Gambar 5.5 Histogram Rata-rata pH Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)

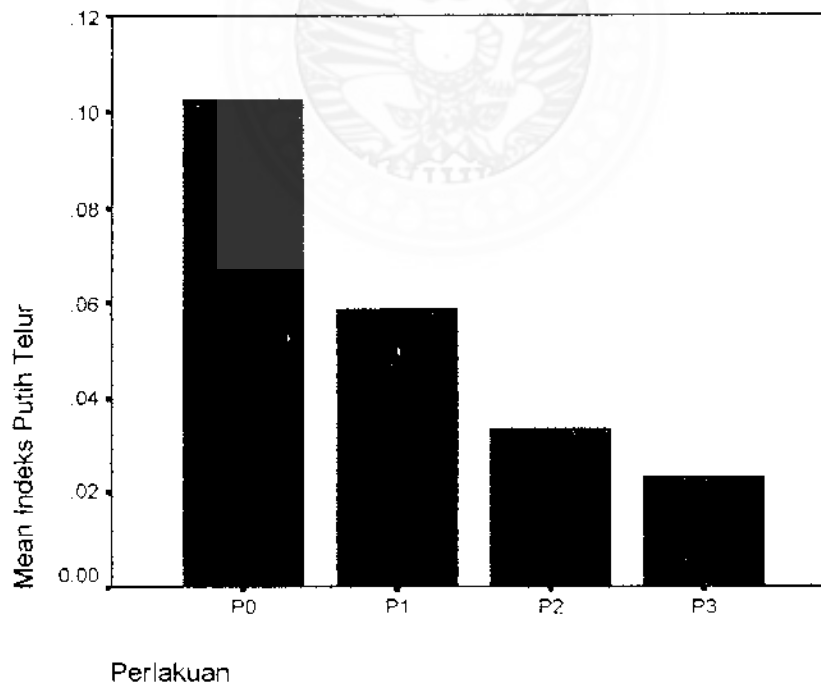
5.1.3.2 Hasil Pengukuran Indeks Putih Telur (IPT) yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil pengukuran indeks putih telur yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Hasil Pengukuran Indeks Putih Telur (IPT) yang Disimpan pada Suhu Kamar

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	0,100	0,027	0,028	0,024
2	0,106	0,077	0,030	0,020
3	0,101	0,028	0,039	0,023
4	0,096	0,076	0,037	0,024
5	0,106	0,061	0,026	0,024
6	0,107	0,085	0,040	0,023
Jumlah	0,616	0,354	0,20	0,138
Rata-rata	0,103	0,059	0,033	0,023

Dari tabel 5.5 diketahui bahwa dengan bertambahnya waktu penyimpanan telur puyuh pada suhu kamar, maka terjadi penurunan indeks putih telur berturut-turut dari IPT awal 0,103; 0,059; 0,033; hingga IPT terakhir mencapai 0,023. Data tersebut dapat disajikan dalam bentuk grafik histogram (gambar 5.6).



Gambar 5.6 Histogram Rata-rata Indeks Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar menurut Lama Penyimpanan (minggu)

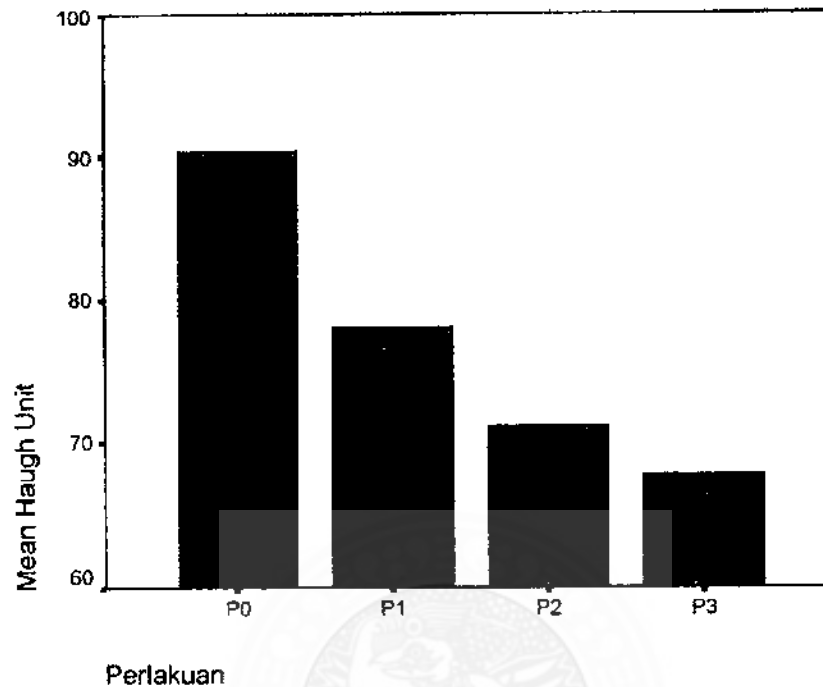
5.1.3.3 Hasil Pengukuran Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil pengukuran indeks putih telur yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Pengukuran Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	89,49	66,74	68,21	70,58
2	92,12	83,12	69,81	67,30
3	88,99	70,16	73,55	66,46
4	90,95	83,95	74,50	67,94
5	88,59	78,24	68,39	67,39
6	92,06	86,15	72,67	67,58
Jumlah	542,2	468,36	427,13	407,25
Rata-rata	90,367	78,06	71,188	67,875

Dari tabel 5.6 dapat diketahui bahwa dengan bertambahnya waktu penyimpanan telur puyuh pada suhu kamar, maka terjadi penurunan nilai Haugh Unit (HU) berturut-turut dari nilai HU awal 90,367 (tanpa penyimpanan), 78,06 (penyimpanan 1 minggu), 71,188 (penyimpanan 2 minggu) hingga 67,875 (penyimpanan 3 minggu). Untuk lebih jelasnya data tersebut disajikan dalam bentuk grafik histogram (gambar 5.7).



Gambar 5.7 Histogram Rata-rata Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar Menurut Lama Penyimpanan (minggu)

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

5.2.1 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

5.2.1.1 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil penghitungan rata-rata dan simpangan baku (SD) jumlah total kuman pada kulit telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rataan dan Simpangan Baku (SD) Jumlah Total Kuman (CFU/ml) pada Kulit Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)

Perlakuan	Lama Penyimpanan	Rataan jumlah total kuman / ml \pm SD	
P0	Tanpa penyimpanan	3433,33	\pm 1864,05
P1	1 minggu	1113000	\pm 681878,29
P2	2 minggu	1308333,3	\pm 303144,63
P3	3 minggu	1669766,7	\pm 852296,85

Dari hasil analisis data dengan anova satu arah dengan taraf signifikan 5% maka diperoleh nilai $F = 9,646$ dan $p = 0,000$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang bermakna di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari jumlah total kuman pada kulit telur dengan taraf signifikan 5%.

Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang berbeda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan LSD (tabel 5.8).

Tabel 5.8 Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Rataan	Perlakuan	P0	P1	P2	P3
3433,33	P0		*	*	*
1113000	P1	*			
1308333,3	P2	*			
1669766,7	P3	*			

Dari tabel 5.8 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna jumlah total kuman pada kulit telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan. Dari tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah total kuman pada kulit telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu dengan telur yang disimpan selama 2 minggu, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu dan antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu.

5.2.1.2 Analisis Statistik Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil penghitungan rata-rata dan simpangan baku (SD) jumlah total kuman pada isi telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Rataan dan Simpangan Baku (SD) Jumlah Total Kuman (*CFU/ml*) pada Isi Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)

Perlakuan	Lama Penyimpanan	Rataan jumlah total kuman / ml ± SD	
P0	Tanpa penyimpanan	0	
P1	1 minggu	432000	± 515694,58
P2	2 minggu	690500	± 488370,25
P3	3 minggu	824450	± 581493,26

Dari hasil analisis data dengan anova satu arah dengan taraf signifikan 5% maka diperoleh nilai $F = 3,755$ dan $p = 0,027$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang bermakna di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari jumlah total pada isi telur dengan taraf signifikan 5%.

Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang berbeda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan LSD (tabel 5.10).

Tabel 5.10 Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Rataan	Perlakuan	P0	P1	P2	P3
0	P0			*	*
432000	P1				
690500	P2	*			
824450	P3	*			

Dari tabel 5.10 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna jumlah total kuman pada isi telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan. Dari tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah total kuman pada isi telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan selama 1 minggu dengan telur yang disimpan selama 2 minggu dan 3 minggu, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu.

5.2.2 Analisis Statistik Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

5.2.2.1 Analisis Statistik pH Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Hasil penghitungan rata-rata dan simpangan baku (SD) pH putih telur yang disimpan pada suhu kamar dapat dilihat pada tabel 5.11.

Tabel 5.11 Rataan dan Simpangan Baku (SD) pH Putih Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)

Perlakuan	Lama Penyimpanan	Rataan pH putih telur \pm SD	
P0	Tanpa penyimpanan	6,47	\pm 1,22
P1	1 minggu	6,93	\pm 0,65
P2	2 minggu	8,67	\pm 0,33
P3	3 minggu	9,00	\pm 0,18

Dari hasil analisis data anova satu arah dengan taraf signifikan 5% maka diperoleh nilai $F = 18,42$ dan $p = 0,000$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,000$) di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari pH putih telur dengan taraf signifikan 5%.

Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang berbeda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan LSD (Tabel 5.12).

Tabel 5.12 Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan pH Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Rataan	Perlakuan	P0	P1	P2	P3
6,47	P0			*	*
6,93	P1			*	*
8,67	P2	*	*		
9,00	P3	*	*		

Dari tabel 5.12 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pH putih telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dan 3 minggu dengan telur yang disimpan selama 1 minggu. Dari tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pH putih telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu dengan telur tanpa penyimpanan,, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu.

5.2.2.2 Analisis Statistik Indeks Putih Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Tabel 5.13 Rataan dan Simpangan Baku (SD) Indeks Putih Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)

Perlakuan	Lama Penyimpanan	Rataan indeks putih telur	± SD
P0	Tanpa penyimpanan	0,103	± 4,3665 E – 03
P1	1 minggu	5,900 E – 02	± 2,5605 E – 02
P2	2 minggu	3,333 E – 02	± 6,0553 E – 03
P3	3 minggu	2,300 E – 02	± 1,5492 E – 03

Dari hasil analisis data anova satu arah dengan taraf signifikan 5% maka diperoleh nilai $F = 42,375$ dan $p = 0,000$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang bermakna di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari indeks putih telur dengan taraf signifikan 5%.

Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang berbeda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan LSD (Tabel 5.14).

Tabel 5.14 Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Indeks Putih Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Rataan	Perlakuan	P0	P1	P2	P3
0,103	P0		*	*	*
5,900 E – 02	P1	*		*	*
3,333 E – 02	P2	*	*		
2,300 E – 02	P3	*	*		

Dari tabel 5.14 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna indeks putih telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu, 3 minggu dan tanpa penyimpanan dengan telur yang disimpan selama 1 minggu. Dari tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna indeks putih telur pada telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu.

5.2.2.3 Analisis Statistik Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Tabel 5.15 Rataan dan Simpangan Baku (SD) Nilai Haugh Unit (HU) Telur Puyuh menurut Lama Penyimpanan (minggu)

Perlakuan	Lama Penyimpanan	Rataan Nilai Haugh Unit \pm SD		
P0	Tanpa penyimpanan	90,37	\pm	1,5558
P1	1 minggu	78,06	\pm	7,9540
P2	2 minggu	71,19	\pm	2,7328
P3	3 minggu	67,88	\pm	1,4125

Dari hasil analisis data anova satu arah dengan taraf signifikan 5% maka diperoleh nilai $F = 31,592$ dan $p = 0,000$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang bermakna di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari nilai Haugh Unit (HU) telur dengan taraf signifikan 5%.

Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang berbeda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan LSD (Tabel 5.16).

Tabel 5.16 Hasil Uji Komparasi Ganda (LSD) Penghitungan Rataan Nilai Haugh Unit (HU) Telur yang Disimpan pada Suhu Kamar

Rataan	Perlakuan	P0	P1	P2	P3
90,37	P0		*	*	*
78,06	P1	*		*	*
71,19	P2	*	*		
67,88	P3	*	*		

Dari tabel 5.16 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna nilai Haugh Unit (HU) telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu, 3 minggu dan tanpa penyimpanan dengan telur yang disimpan selama 1 minggu. Dari tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna nilai Haugh Unit (HU) telur pada telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu dengan telur yang disimpan selama 3 minggu.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Telur mempunyai sifat yang mudah rusak, karena telur mempunyai komposisi gizi yang baik, kelembaban yang tinggi dan pH yang mendekati normal. Keadaan tersebut merupakan media pertumbuhan yang baik bagi bakteri. Penyimpanan yang lama pada suhu kamar dapat meningkatkan jumlah kuman pencemar pada permukaan kulit telur sehingga terjadi penetrasi ke dalam isi telur.

6.1.1 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Kulit telur adalah bagian terluar dari telur, berfungsi sebagai pembungkus dan pelindung isi telur. Kulit telur merupakan bagian dari telur yang langsung atau tidak langsung berhubungan dengan lingkungan luar seperti kotoran kandang, feses, debu atau tanah, peralatan kandang, tangan peternak dan tempat telur. Hal ini memungkinkan kulit telur mengandung kuman pencemar.

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah total kuman pada kulit telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar diperoleh bahwa jumlah total kuman pada kulit telur puyuh akan meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan pada suhu kamar. Jumlah total kuman pada kulit telur tanpa penyimpanan adalah $3,4 \times 10^3$ CFU/ml. Jumlah total kuman pada penyimpanan 1 minggu pada suhu kamar adalah $1,1 \times 10^6$ CFU/ml, penyimpanan 2 minggu sebesar $1,3 \times 10^6$ CFU/ml dan penyimpanan 3

minggu sebesar $1,7 \times 10^6$ CFU/ml. Jumlah total kuman pada kulit telur pada penyimpanan suhu kamar selama 1, 2 dan 3 minggu lebih besar dari batas maksimal cemaran mikroba yaitu 10^6 CFU/ml.

Dari hasil analisis data dengan anova satu arah diketahui bahwa terdapat perbedaan di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan dan setelah penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar, ditinjau dari jumlah total kuman pada kulit telur puyuh.

Setelah dilakukan uji LSD diketahui bahwa antara telur puyuh tanpa penyimpanan (P0) dengan telur yang disimpan selama 1, 2 dan 3 minggu pada suhu kamar, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) ditinjau dari jumlah total kuman pada kulit telur.

Kulit telur mudah mengalami kontaminasi oleh kuman yang berasal dari kotoran kandang, feses, debu atau tanah, peralatan kandang, tangan peternak dan tempat telur. Pada umumnya kuman pencemar tersebut adalah kuman mesophilik yang diketahui dapat tumbuh pada suhu sekitar 25°C sampai 50°C (Jekti, 1990). Menurut Frazier dan Westhoff (1988) dalam Widhowati (1999), bahwa jenis kuman yang ditemukan pada kulit telur adalah bakteri *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *E. coli*, *Salmonella sp.* dan *Klebsiella sp.*

6.1.2 Penghitungan Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Pencemaran telur dapat terjadi melalui 2 cara yaitu secara vertikal dan secara horizontal. Secara vertikal terjadi karena telur telah terinfeksi pada waktu masih

berada dalam tubuh induknya misalnya induk menderita salmonellosis sehingga telur mengandung bakteri *Salmonella sp.* Sedangkan secara horizontal terjadi apabila kulit telur yang keluar dari tubuh induk tercemar kotoran kandang, feses, debu atau tanah, peralatan kandang, tangan peternak dan tempat telur yang mengandung bakteri. Bakteri-bakteri yang terdapat pada kulit telur dapat melakukan penetrasi ke dalam isi telur melalui pori-pori kulit telur.

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah total kuman pada isi telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar diperoleh bahwa jumlah total kuman pada isi telur puyuh akan meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan pada suhu kamar. Jumlah total kuman pada isi telur tanpa penyimpanan adalah 0 *CFU/ml*. Jumlah total kuman pada penyimpanan 1 minggu pada suhu kamar adalah $4,3 \times 10^5$ *CFU/ml*. Jumlah akan meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan yaitu penyimpanan 2 minggu sebesar $6,9 \times 10^5$ *CFU/ml* dan penyimpanan 3 minggu sebesar $8,3 \times 10^5$ *CFU/ml*. Dengan demikian jumlah total kuman pada isi telur puyuh tanpa penyimpanan, penyimpanan, 1, 2 dan 3 minggu pada suhu kamar lebih kecil dari batas maksimal cemaran mikroba yaitu 10^6 *CFU/ml*.

Dari hasil analisis data dengan anova satu arah diketahui bahwa terdapat perbedaan di antara perlakuan, yaitu perlakuan tanpa penyimpanan dan setelah penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar, ditinjau dari jumlah total kuman pada isi telur puyuh.

Setelah dilakukan uji LSD diketahui bahwa antara telur puyuh tanpa penyimpanan (P0) dengan telur yang disimpan selama 2 dan 3 minggu pada suhu

kamar, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) ditinjau dari jumlah total kuman pada isi telur.

6.2 Isolasi Kuman Patogen *Salmonella sp.* pada Kulit Telur Puyuh dan Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Salmonella sp. merupakan bakteri yang bersifat patogen dan seharusnya tidak boleh ditemukan pada kulit dan isi telur. Hal ini sesuai Keputusan Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan nomor: 03726/B/SK/VII/1989, bahwa *Salmonella sp.* pada telur harus nol (negatif).

Dari hasil isolasi kuman patogen pada kulit dan isi telur puyuh tidak ditemukan adanya kuman *Salmonella sp.* (negatif). Hal ini kemungkinan karena peternakan puyuh tempat pengambilan sampel mempunyai puyuh yang bebas Salmonellosis, sehingga pencemaran kuman *Salmonella sp.* secara vertikal tidak terjadi, sehingga telur puyuh yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini tidak mengandung *Salmonella sp.* Dengan adanya induk puyuh yang bebas dari Salmonellosis menyebabkan feses, tempat bertelur, debu atau tanah di sekitar kandang tidak mengandung bakteri *Salmonella sp.*, sehingga pencemaran permukaan kulit telur oleh bakteri tersebut tidak ada. Kebersihan kandang, makanan, minuman dan peralatan kandang yang cukup juga mempengaruhi adanya kuman pencemar pada telur sehingga tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.* pada telur.

6.3 Pengukuran Kualitas Fisik Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Telur sejak dikeluarkan dari kloaka akan mengalami perubahan-perubahan akibat pengaruh suhu dan kelembaban ruang penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh

CO₂ dan air dalam isi telur menyebabkan protein telur akan mengalami degradasi, akibatnya kualitas fisik telur seperti pH akan naik, Indeks Putih Telur menjadi turun sehingga nilai Haugh Unit menjadi turun. Sebutir telur dikatakan mempunyai mutu yang baik apabila nilai HU lebih dari 50.

6.3.1 Pengukuran pH Putih Telur Puyuh

Sebutir telur setelah keluar dari tubuh induknya akan mengalami peningkatan pH putih telur. Perubahan pH putih telur akan semakin cepat pada suhu penyimpanan yang tinggi.

Hasil pengukuran pH putih telur pada telur puyuh yang disimpan pada suhu kamar diketahui bahwa bertambahnya waktu penyimpanan telur terjadi kenaikan pH putih telur. pH putih telur pada perlakuan tanpa penyimpanan adalah 6,47 dan pH putih telur pada penyimpanan 1 minggu adalah 6,93. pH putih telur akan meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan yaitu penyimpanan 2 minggu sebesar 8,67 dan penyimpanan 3 minggu sebesar 9,0.

Dari hasil analisis data dengan anova satu arah diketahui bahwa terdapat perbedaan diantara perlakuan yaitu perlakuan tanpa penyimpanan dan penyimpanan selama 1 minggu, 2 minggu dan 3 minggu pada suhu kamar ditinjau dari pH putih telur.

Setelah dilakukan uji komparasi ganda dengan metode LSD diketahui bahwa ternyata antara telur yang disimpan selama 2 dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) ditinjau dari pH putih

telur. Perbedaan yang bermakna juga terlihat antara telur yang disimpan selama 2 dan 3 minggu dengan telur yang disimpan selama 1 minggu.

Perbedaan tersebut disebabkan karena pH putih telur tergantung pada keseimbangan antara karbondioksida, ion bikarbonat dan ion karbonat. Apabila karbondioksida hilang dari dalam telur, maka konsentrasi ion bikarbonat menjadi turun, sehingga sistem buffer menjadi terganggu dan pH putih telur menjadi semakin basa.

pH yang tinggi pada isi telur dan enzim lisozim serta senyawa ovidine yang secara alami terdapat pada putih telur mempunyai sifat membunuh dan mencegah pertumbuhan kuman perusak. Adanya selaput kutikula juga berperan mencegah masuknya bakteri ke dalam isi telur, tetapi karena aktivitas bakteri berlangsung terus-menerus, maka secara berangsur-angsur dapat menghancurkan selaput kutikula dan dapat mengubah pH yang tinggi di dalam isi telur menjadi pH yang cocok untuk perkembangannya (Sarwono, 1994).

Pada penyimpanan awal sampai penyimpanan 3 minggu pH putih telur semakin tinggi (basa), karena semakin lama penyimpanan telur tanpa usaha pengawetan, maka semakin banyak karbondioksida yang hilang dari dalam telur.

6.3.2 Pengukuran Indeks Putih Telur Puyuh

Struktur putih telur dibentuk oleh ovomusin. Telur segar putih telurnya mengandung ovomusin dalam jumlah yang banyak. Penyimpanan yang lama akan mengakibatkan pecahnya ovomusin, yang merupakan protein pengikat bentuk cair putih telur, sehingga putih telur menjadi encer.

Dari hasil pengukuran indeks putih telur yang disimpan pada suhu kamar diketahui, bahwa semakin bertambahnya waktu penyimpanan telur, maka nilai indeks putih telurnya mengalami penurunan. Nilai indeks putih telur pada perlakuan tanpa penyimpanan adalah 0,103 dan nilai indeks putih telur pada penyimpanan 1 minggu adalah 0,059. Nilai indeks putih telur akan menurun dengan bertambahnya waktu penyimpanan yaitu penyimpanan 2 minggu sebesar 0,033 dan penyimpanan 3 minggu sebesar 0,023.

Berdasarkan hasil analisis data dengan anova satu arah diketahui, bahwa terdapat perbedaan diantara perlakuan ditinjau dari indeks putih telur. Setelah uji komparasi ganda dengan metode LSD diketahui, bahwa terdapat perbedaan yang bermakna indeks putih telur antara telur yang disimpan dalam suhu kamar selama 1, 2 dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 dan 3 minggu dengan telur yang disimpan selama 1 minggu.

Kadaan tersebut terjadi karena semakin lama penyimpanan telur, maka semakin banyak karbondioksida yang terlepas, sehingga pH putih telur menjadi semakin basa (alkalis), akibatnya ovomusin akan rusak dan pecah-pecah karena hidrolisis alkalis, dengan demikian putih telur menjadi encer dan nilai indeks putih telur semakin turun.

6.3.3 Pengukuran Nilai Haugh Unit Telur Puyuh

Nilai Haugh Unit dipengaruhi oleh berat telur dan tebal atau tinggi putih telur. Makin lama penyimpanan telur makin banyak penguapan air dan karbondioksida dari dalam telur, dengan demikian nilai Haugh Unitnya semakin turun.

Hasil pengukuran nilai Haugh Unit pada telur yang disimpan pada suhu kamar diketahui, bahwa dengan bertambahnya waktu penyimpanan maka nilai Haugh Unit semakin turun. Nilai Haugh Unit telur pada perlakuan tanpa penyimpanan adalah 90,37 dan nilai Haugh Unit putih telur pada penyimpanan 1 minggu adalah 78,06. Nilai Haugh Unit telur akan menurun dengan bertambahnya waktu penyimpanan yaitu penyimpanan 2 minggu sebesar 71,19 dan penyimpanan 3 minggu sebesar 67,88.

Berdasarkan hasil analisis data dengan anova satu arah diketahui, bahwa terdapat perbedaan diantara perlakuan ditinjau dari nilai Haugh Unit telur. Setelah uji komparasi ganda dengan metode LSD diketahui, bahwa terdapat perbedaan yang bermakna nilai Haugh Unit (HU) telur antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 1, 2 dan 3 minggu dengan telur tanpa penyimpanan, antara telur yang disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu, 3 minggu dan tanpa penyimpanan dengan telur yang disimpan selama 1 minggu.

Keadaan tersebut terjadi karena semakin lama penyimpanan telur, maka semakin banyak penguapan karbondioksida dan air. Hilangnya air menyebabkan berat telur berkurang dan hilangnya karbondioksida menyebabkan pengenceran putih telur sehingga tinggi putih telur berkurang, dengan demikian nilai Haugh Unit telur menjadi turun.

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas fisik telur puyuh ditinjau dari pH, IPT dan nilai HU bahwa telur puyuh segar boleh disimpan selama 3 minggu pada suhu kamar, karena baik pH dan IPT masih memberikan kondisi nilai HU yang masih memenuhi kriteria telur yang bermutu.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jumlah total kuman pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar. Jumlah total kuman pada kulit dan isi telur yang tertinggi adalah pada penyimpanan 3 minggu.
2. Tidak ditemukan kuman patogen *Salmonella sp.* pada kulit telur puyuh dan isi telur puyuh selama penyimpanan pada suhu kamar.
3. Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) kualitas fisik telur puyuh yang terdiri dari pH putih telur, indeks putih telur dan nilai *Haugh Unit* dengan lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar.

7.2 Saran

Saran yang dapat dikemukakan adalah perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan jenis telur yang berbeda, suhu penyimpanan yang berbeda serta identifikasi kuman pada kulit dan isi telur.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi, R. 1985. **Kemajuan Mutakhir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas**. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Board RG, 1986. **The Microbiology of Egg**. In (Stadelman WJ, OJ Cotterill). **Egg Science and Tecnology**. Avi Publishing Company Inc. Westport, CT. pp. 49-61.
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, Wooton M, 1987. **Ilmu Pangan**. UI Press. Jakarta. Hal 57-65, 73-77.
- Fardiaz S, 1993. **Analisis Mikrobiologis Pangan**. Edisi 1. Raja Grafindo Persada. Jakarta. Hal. 40-43.
- Hanafiah, A. K, 1997. **Rancangan Percobaan**. Manajemen PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. Hal. 6.
- Hidanah S, 1994. **Perbandingan Mutu Telur Ayam Ras Yang Beredar di Supermaket dan Pasar**. Lembaga Penelitian universitas Airlangga. Hal. 19-23.
- Hintono, A. 1985. **Prinsip Pengawetan Telur**. Majalah Polutry Indonesia. Edisi Maret.
- Ishak, E., H. Pakasi., K.S. Berhimpon., C.H. Narare dan R. Sunaryanto. 1985. **Pengolahan Hasil Pertanian**. Cetakan I Penerbit Badan Kerja Sama Perguruan Tinggi Indonesia Bagian Timur. Universitas Hasanuddin. Ujung Pandang.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 1996. **Mikrobiologi Kedokteran**. Edisi 20. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 243-245.

- Jayawardhita AAG, 1996. **Tingkat Pencemaran Salmonella Pada Daging Sapi Dan Beberapa Faktor Yang Mempengaruhinya di Dua Rumah Potong Hewan di Bali**. Tesis, Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jekti RP, 1990. **Pencemaran Bahan Makanan oleh Mikroba**. Cermin Dunia Kedokteran no. 62. hal. 33-35.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, 1992. **Zinsser Microbiology** 20th ed. Appleton and Lange. California. pp. 559-563.
- Kartini AY, Astrawinata DAW, 1994. **Diagnosis Laboratorium Pada Keracunan Makanan Oleh Beberapa Mikroorganisme**. Majalah Medika no. 8, tahun XX. Agustus. Hal. 49.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Win WC, 1992. **Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology**. 4th ed. Lippincot Company Philadelphia.
- Listiyowati, E dan K. Roospitasari. 1997. **Puyuh Tata Laksana Budidaya Secara komersial**. Cetakan ke tujuh. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 2-3.
- Neisheim MC, Richard EA, Leslie EC, 1979. **Poultry Production**. Lea and Febiger. London. pp. 285-318.
- Nugroho dan I.G.K. Manyun. 1981. **Beternak Burung Puyuh**. Edisi kedelapan. Eka Offset. Semarang.
- Purnomowati S, 1996. **Perlakuan Perendaman Telur Konsumsi Dalam Bahan Cair Mendidih Terhadap Kualitas Fisiknya**. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal. 6-22.

- Rasyaf, M. 1985. **Memelihara Burung Puyuh**. Cetakan Kesebelas. Yayasan Kanisius. Jogjakarta. Hal. 94-101.
- Sabrani, M. dan H. Setiyanto, 1980. **Proses Yang Terjadi di dalam Telur Selama Penyimpanan**. LPP No. I. Penerbit Lembaga Penelitian Peternakan Bogor.
- Salamun, 1994. **Evaluasi Terhadap Beberapa Aspek Mikroflora Kulit Telur Ayam Ras Yang Dijual Di Pasaran**. Jurnal Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 66-71.
- Sarwono, B. 1994. **Pengawetan dan Pemanfaatan Telur**. Cetakan ke empat. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 6, 43-44.
- Shanaway, M.M. 1994. **Quail Production System**. Food And Agriculture Organization Of The United Nations, Rome. Pp. 22-24.
- Sirait, C.H. **Telur dan Pengolahannya**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Bogor.
- Sudaryani, T. 2000. **Kualitas Telur**. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 28
- Sudjana, 1992. **Metode Statistika**. Edisi 5. Penerbit Tarsito Bandung.
- Wasito EB, 1986. **Perhitungan Jumlah Kuman Dalam Cairan**. Majalah Teknologi Kesehatan Indonesia. No. 1, Tahun 2, Ags-Okt. Hal. 6-10.
- Widhowati, D. 1999. **Pengaruh Lama Penyimpanan Telur Ayam Buras Pada Suhu Kamar Ditinjau Dari Jumlah Total Kuman, Kandungan *Salmonella enteritidis* Dan Kualitas Fisik**. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.

Woodard, A. E. H. Abplanalp, W.O. Wilson And P. Vohra. 1973. **Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Husbandry in Laboratory**. Department of Avian Science. University California, Davis Co.

Zainuddin M, 2000. **Metodologi Penelitian**. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 53.



Lampiran 1 Batas Maksimal Cemaran Mikroba dalam Makanan

Kelompok Produk	Pedoman Jenis/Pengkajian	Batas Maksimal <i>CFU/ml</i>
Telur (cairan)	Angka TPC	10^6
	<i>Salmonella sp.</i>	negatif



Lampiran 2a Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	2000	1320000	1620000	2330000
2	5000	1110000	1610000	8600
3	5200	1090000	880000	2220000
4	2200	4800	1060000	1920000
5	1100	940000	1230000	1610000
6	5100	2170000	1450000	1930000
Jumlah	20600	6634800	7850000	10018600
Rata-rata	3433,33	1105800	1308333,33	1669766,67

Lampiran 2b Jumlah Total Kuman pada Isi Telur Puyuh yang Disimpan pada Suhu Kamar

Ulangan	P0	P1	P2	P3
1	0	3500	1040000	1440000
2	0	700000	1370000	16700
3	0	4500	640000	630000
4	0	4000	180000	620000
5	0	630000	113000	670000
6	0	1250000	800000	1570000
Jumlah	0	2592000	4143000	4946700
Rata-rata	0	432000	690500	824450

NPar Tests**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		P0	P1	P2	P3
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3433.33	1113000.0	1308333.4	1669766.6
	Std. Deviation	1864.05	681878.31	303144.63	852296.88
Most Extreme Differences	Absolute	.300	.233	.180	.305
	Positive	.246	.214	.152	.219
	Negative	-.300	-.233	-.180	-.305
Kolmogorov-Smirnov Z		.734	.571	.441	.748
Asymp. Sig. (2-tailed)		.654	.900	.990	.630

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



Oneway**Descriptives**

Jumlah kuman dalam kulit telur

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	6	3433.3333	1864.0458	760.9935	1477.1373	5389.5294
P1	6	1113000.0	681878.2883	278375.65	397412.6222	1828587.3778
P2	6	1308333.3	303144.6299	123758.28	990202.5546	1626464.1120
P3	6	1669766.7	852296.8536	347948.73	775335.9727	2564197.3606
Total	24	1023633.3	826210.8698	168649.59	674755.0805	1372511.5862

Descriptives

Jumlah kuman dalam kulit telur

	Minimum	Maximum
P0	1100.00	5200.00
P1	48000.00	2170000
P2	880000.0	1620000
P3	8600.00	Nan
Total	1100.00	Nan

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah kuman dalam kulit telur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.407	3	20	.097

ANOVA

Jumlah kuman dalam kulit telur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.28E+12	3	3.0947E+12	9.646	.000
Within Groups	6.42E+12	20	3.2082E+11		
Total	1.57E+13	23			

Post Hoc Tests

Lampiran 3c : Uji LSD untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada Kulit Telur

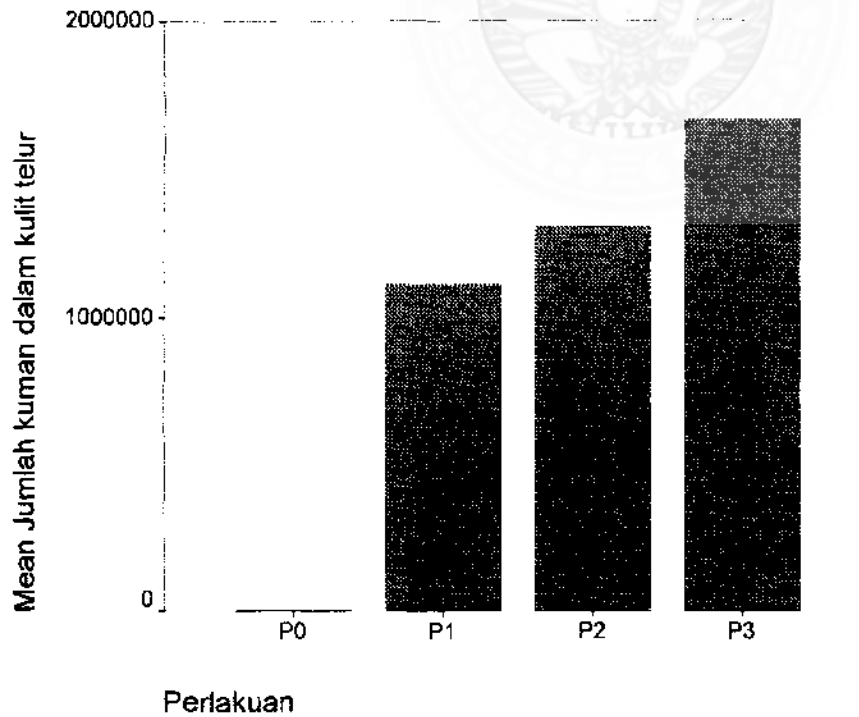
Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah kuman dalam kulit telur
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-1109566.7*	327015.30	.003	-1791708.627	-427424.7066
	P2	-1304900.0*	327015.30	.001	-1987041.960	-622758.0400
	P3	-1666333.3*	327015.30	.000	-2348475.293	-984191.3733
P1	P0	1109566.67*	327015.30	.003	427424.7066	1791708.6267
	P2	-195333.33	327015.30	.557	-877475.2934	486808.6267
	P3	-556766.67	327015.30	.104	-1238908.627	125375.2934
P2	P0	1304900.00*	327015.30	.001	622758.0400	1987041.9600
	P1	195333.3333	327015.30	.557	-486808.6267	877475.2934
	P3	-361433.33	327015.30	.282	-1043575.293	320708.6267
P3	P0	1666333.33*	327015.30	.000	984191.3733	2348475.2934
	P1	556766.6667	327015.30	.104	-125375.2934	1238908.6267
	P2	361433.3333	327015.30	.282	-320708.6267	1043575.2934

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

Graph



NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		P0	P1	P2	P3
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000	432000.00	690500.00	824450.00
	Std. Deviation	.0000 ^c	515694.59	488370.25	581493.25
Most Extreme Differences	Absolute		.296	.185	.271
	Positive		.296	.185	.271
	Negative		-.203	-.125	-.196
Kolmogorov-Smirnov Z			.726	.454	.665
Asymp. Sig. (2-tailed)			.667	.986	.769

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.



Isi Telur

Oneway**Descriptives**

Jumlah kuman dalam isi telur

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	6	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
P1	6	432000.00	515694.5802	210531.43	-109188.2717	973188.2717
P2	6	690500.00	488370.2489	199376.32	177986.8554	1203013.1446
P3	6	824450.00	581493.2631	237393.63	214210.2454	1434689.7546
Total	24	486737.50	535105.6351	109227.98	260782.2071	712692.7929

Descriptives

Jumlah kuman dalam isi telur

	Minimum	Maximum
P0	.00	.00
P1	3500.00	1250000
P2	113000.0	1370000
P3	16700.00	1570000
Total	.00	1570000

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah kuman dalam isi telur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.338	3	20	.007

ANOVA

Jumlah kuman dalam isi telur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.37E+12	3	7.9096E+11	3.755	.027
Within Groups	4.21E+12	20	2.1065E+11		
Total	6.59E+12	23			

Post Hoc Tests

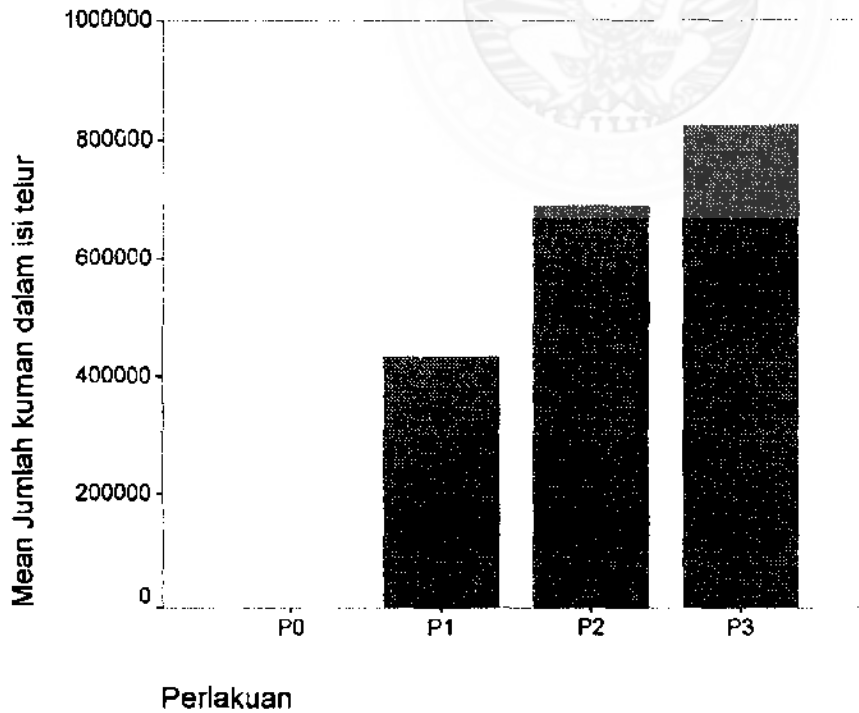
Lampiran 4c : Uji LSD untuk Rata-rata Jumlah Total Kuman pada
Isi Telur **Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Jumlah kuman dalam isi telur
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-432000.00	264981.26	.119	-984741.2216	120741.2216
	P2	-690500.00*	264981.26	.017	-1243241.222	-137758.7784
	P3	-824450.00*	264981.26	.006	-1377191.222	-271708.7784
P1	P0	432000.0000	264981.26	.119	-120741.2216	984741.2216
	P2	-258500.00	264981.26	.341	-811241.2216	294241.2216
	P3	-392450.00	264981.26	.154	-945191.2216	160291.2216
P2	P0	690500.0000*	264981.26	.017	137758.7784	1243241.2216
	P1	258500.0000	264981.26	.341	-294241.2216	811241.2216
	P3	-133950.00	264981.26	.619	-686691.2216	418791.2216
P3	P0	824450.0000*	264981.26	.006	271708.7784	1377191.2216
	P1	392450.0000	264981.26	.154	-160291.2216	945191.2216
	P2	133950.0000	264981.26	.619	-418791.2216	686691.2216

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

Graph



NPar Tests**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		P0	P1	P2	P3
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.4667	6.9333	8.6667	9.0000
	Std. Deviation	1.2176	.6532	.3266	.1789
Most Extreme Differences	Absolute	.316	.293	.492	.202
	Positive	.316	.293	.342	.202
	Negative	-.229	-.207	-.492	-.202
Kolmogorov-Smirnov Z		.774	.717	1.205	.494
Asymp. Sig. (2-tailed)		.587	.682	.110	.968

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



Oneway**Descriptives**

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	6	6.4667	1.2176	.4971	5.1888	7.7445
P1	6	6.9333	.6532	.2667	6.2478	7.6188
P2	6	8.6667	.3266	.1333	8.3239	9.0094
P3	6	9.0000	.1789	7.303E-02	8.8123	9.1877
Total	24	7.7667	1.2944	.2642	7.2201	8.3132

Descriptives

pH

	Minimum	Maximum
P0	5.40	8.00
P1	6.40	8.00
P2	8.00	Nan
P3	8.80	9.20
Total	5.40	9.20

Test of Homogeneity of Variances

pH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.393	3	20	.000

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.293	3	9.431	18.420	.000
Within Groups	10.240	20	.512		
Total	38.533	23			

Post Hoc Tests

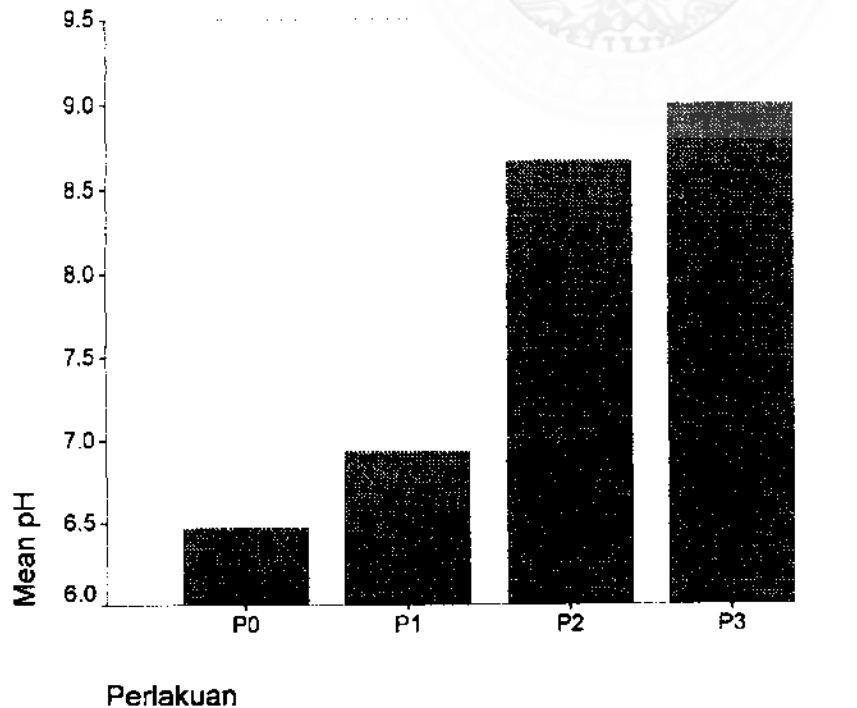
Multiple Comparisons

Dependent Variable: pH
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-.4667	.4131	.272	-1.3284	.3951
	P2	-2.2000*	.4131	.000	-3.0617	-1.3383
	P3	-2.5333*	.4131	.000	-3.3951	-1.6716
P1	P0	.4667	.4131	.272	-.3951	1.3284
	P2	-1.7333*	.4131	.000	-2.5951	-.8716
	P3	-2.0667*	.4131	.000	-2.9284	-1.2049
P2	P0	2.2000*	.4131	.000	1.3383	3.0617
	P1	1.7333*	.4131	.000	.8716	2.5951
	P3	-.3333	.4131	.429	-1.1951	.5284
P3	P0	2.5333*	.4131	.000	1.6716	3.3951
	P1	2.0667*	.4131	.000	1.2049	2.9284
	P2	.3333	.4131	.429	-.5284	1.1951

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

Graph



NPar Tests**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		P0	P1	P2	P3
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.10267	5.900E-02	3.333E-02	2.300E-02
	Std. Deviation	4.367E-03	2.560E-02	6.055E-03	1.549E-03
Most Extreme Differences	Absolute	.277	.247	.228	.333
	Positive	.161	.220	.209	.259
	Negative	-.277	-.247	-.228	-.333
Kolmogorov-Smirnov Z		.679	.604	.557	.816
Asymp. Sig. (2-tailed)		.745	.859	.915	.518

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



Oneway**Descriptives**

Indeks Putih Telur

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	6	.10267	4.3665E-03	1.783E-03	9.8084E-02	.10725
P1	6	5.900E-02	2.5605E-02	1.045E-02	3.2130E-02	8.5870E-02
P2	6	3.333E-02	6.0553E-03	2.472E-03	2.6979E-02	3.9688E-02
P3	6	2.300E-02	1.5492E-03	6.325E-04	2.1374E-02	2.4626E-02
Total	24	5.450E-02	3.3784E-02	6.896E-03	4.0234E-02	6.8766E-02

Descriptives

Indeks Putih Telur

	Minimum	Maximum
P0	.096	.107
P1	.027	.085
P2	.026	.040
P3	.020	.024
Total	.020	.107

Test of Homogeneity of Variances

Indeks Putih Telur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
14.648	3	20	.000

ANOVA

Indeks Putih Telur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.268E-02	3	7.561E-03	42.375	.000
Within Groups	3.569E-03	20	1.784E-04		
Total	2.625E-02	23			

Post Hoc Tests

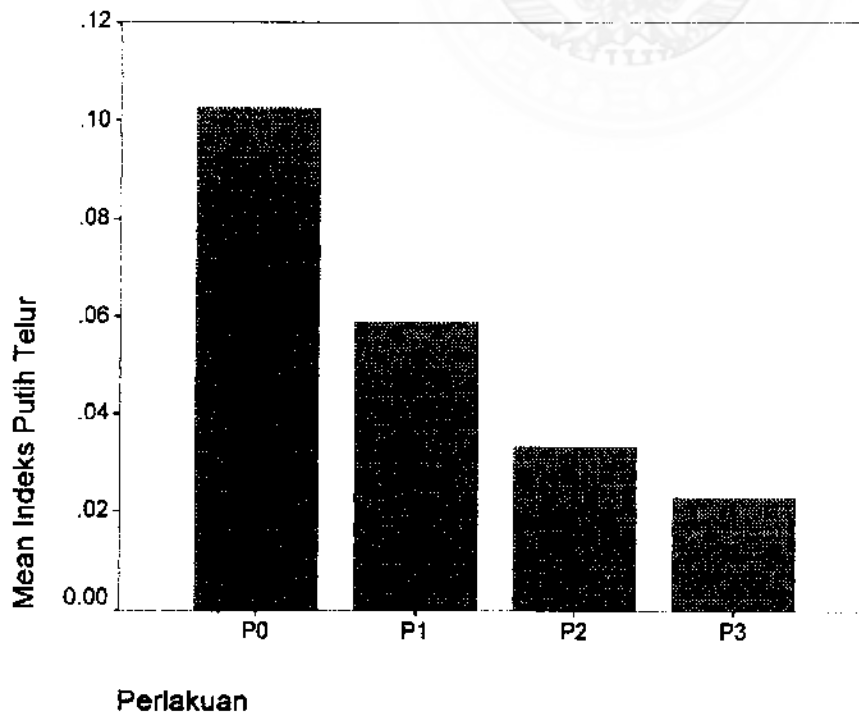
Multiple Comparisons

Dependent Variable: Indeks Putih Telur
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	4.3667E-02*	7.712E-03	.000	2.7579E-02	5.9754E-02
	P2	6.9333E-02*	7.712E-03	.000	5.3246E-02	8.5421E-02
	P3	7.9667E-02*	7.712E-03	.000	6.3579E-02	9.5754E-02
P1	P0	-4.3667E-02*	7.712E-03	.000	-5.9754E-02	-2.7579E-02
	P2	2.5667E-02*	7.712E-03	.003	9.5793E-03	4.1754E-02
	P3	3.6000E-02*	7.712E-03	.000	1.9913E-02	5.2087E-02
P2	P0	-6.9333E-02*	7.712E-03	.000	-8.54207E-02	-5.32460E-02
	P1	-2.5667E-02*	7.712E-03	.003	-4.17540E-02	-9.57933E-03
	P3	1.0333E-02	7.712E-03	.195	-5.75400E-03	2.6421E-02
P3	P0	-7.9667E-02*	7.712E-03	.000	-9.57540E-02	-6.35793E-02
	P1	-3.6000E-02*	7.712E-03	.000	-5.20873E-02	-1.99127E-02
	P2	-1.0333E-02	7.712E-03	.195	-2.64207E-02	5.7540E-03

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

Graph



NPar Tests**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		P015	P15	P25	P35
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a b}	Mean	90.3667	78.0600	71.1883	67.8750
	Std. Deviation	1.5558	7.9540	2.7328	1.4125
Most Extreme Differences	Absolute	.213	.238	.206	.315
	Positive	.213	.173	.193	.315
	Negative	-.195	-.238	-.206	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.523	.582	.505	.772
Asymp. Sig. (2-tailed)		.947	.887	.961	.591

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



Oneway**Descriptives**

Haugh Unit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	6	90.3667	1.5558	.6351	88.7340	91.9993
P1	6	78.0600	7.9540	3.2472	69.7128	86.4072
P2	6	71.1883	2.7328	1.1157	68.3204	74.0562
P3	6	67.8750	1.4125	.5767	66.3926	69.3574
Total	24	76.8725	9.6827	1.9765	72.7839	80.9611

Descriptives

Haugh Unit

	Minimum	Maximum
P0	88.59	92.12
P1	66.74	86.15
P2	68.21	74.50
P3	66.46	70.58
Total	66.46	92.12

Test of Homogeneity of Variances

Haugh Unit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.480	3	20	.000

ANOVA

Haugh Unit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1780.605	3	593.535	31.592	.000
Within Groups	375.748	20	18.787		
Total	2156.353	23			

Post Hoc Tests

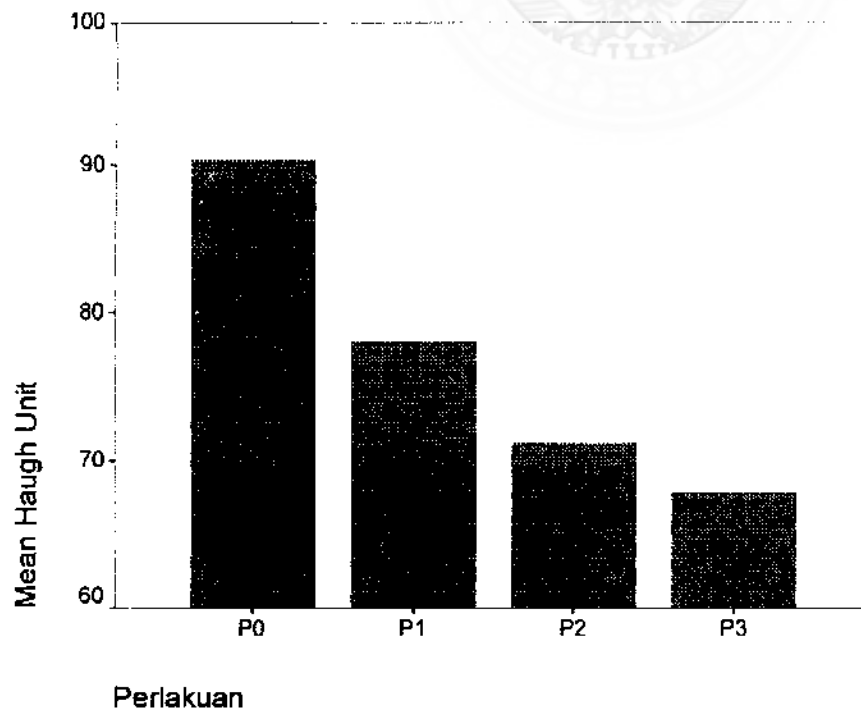
Multiple Comparisons

Dependent Variable: Haugh Unit
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	12.3067*	2.5025	.000	7.0866	17.5268
	P2	19.1783*	2.5025	.000	13.9582	24.3984
	P3	22.4917*	2.5025	.000	17.2716	27.7118
P1	P0	-12.3067*	2.5025	.000	-17.5268	-7.0866
	P2	6.8717*	2.5025	.012	1.6516	12.0918
	P3	10.1850*	2.5025	.001	4.9649	15.4051
P2	P0	-19.1783*	2.5025	.000	-24.3984	-13.9582
	P1	-6.8717*	2.5025	.012	-12.0918	-1.6516
	P3	3.3133	2.5025	.200	-1.9068	8.5334
P3	P0	-22.4917*	2.5025	.000	-27.7118	-17.2716
	P1	-10.1850*	2.5025	.001	-15.4051	-4.9649
	P2	-3.3133	2.5025	.200	-8.5334	1.9068

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

Graph



TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM *SUPER OXIDE DISMUTASE (SOD)* DALAM
ERITROSIT TIKUS YANG TERPAPAR
ASAP ROKOK KRETEK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



JULIANA CHRISTYANINGSIH

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM *SUPER OXIDE DISMUTASE (SOD)* DALAM
ERITROSIT TIKUS YANG TERPAPAR
ASAP ROKOK KRETEK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

**JULIANA CHRISTYANINGSIH
NIM 090014135M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

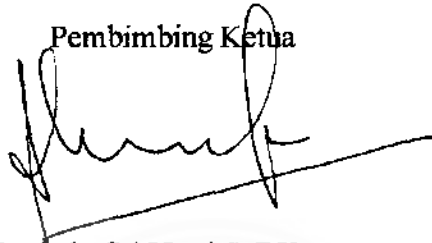
Tanggal 17 September 2002

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 23 AGUSTUS 2002

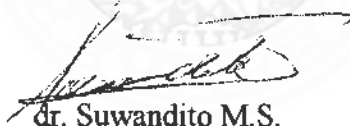
Oleh

Pembimbing Ketua



Prof. dr. Sri Utari SpBK
NIP 130 099 600


Pembimbing



dr. Suwandito M.S.
NIP 130 808 641

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar



dr. Soemпто M.S Ph.D
NIP 130 687 606.

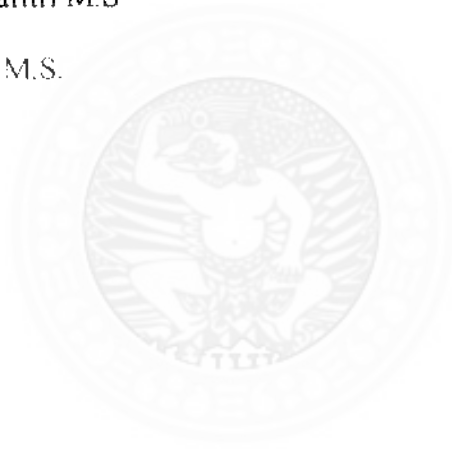
Telah diuji pada

Tanggal 17 September 2002

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo

Anggota : 1. Prof. dr. Sri Utari SpBK
2. dr. Moch. Cholil Munif AIF
3. Dr. dr. Indri Safitri M.S
4. dr Suwandito M.S.



UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Kesehatan melalui Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga **Prof Dr Med Puruhito, dr, Sp.BTKV(K)** dan mantan rektor Universitas Airlangga **Prof H Soedarto, dr, DTMH, Ph.D.**, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister, Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh **Prof. Dr. H. Muhammad Amin dr, Sp.P (K)** atas kesempatan untuk menyelesaikan pendidikan program Magister, Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar dan juga selaku Kepala Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, **Soetjipto dr, MS, PhD.**

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada **Profesor Sri Utari dr, SpBK**, Pembimbing Ketua sekaligus Ketua Minat studi Biokimia Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada **Suwandito dr, M.S**, Pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Ketua Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Surabaya, **Mohd. Junus Drs, M.Si**, yang telah mengizinkan untuk menempuh dan menyelesaikan studi di Program Magister ini.

Prof. Purnomo Suryohudoyo dr, Moch. Cholil Munif dr, AIF, Dr. Indri Safitri dr, M.S. selaku penguji usulan penelitian dan tesis atas saran dan perbaikannya.

Seluruh staf pengajar dan karyawan laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair , khususnya **bapak Heri** yang telah membantu dengan tulus ikhlas memberi ilmu dan pengalamannya selama studi.

Kepala Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan izin untuk menggunakan fasilitas di laboratorium dalam rangka pelaksanaan penelitian.

Loeki Enggar Fitri dr, M.Kes, ibu Afrida dan ibu Ucik, teknisi laboratorium Biomedik Universitas Brawijaya atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini.

Edyson dr dan kawan-kawan yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu, yang telah membantu memberikan dorongan semangat dan dukungan dalam menyelesaikan tesis ini.

Bapak dan Ibu yang selalu berkorban dan mendukung sampai selesainya pendidikan ini, serta bapak dan ibu mertua, adik-adik yang penuh perhatian dan kesabaran memahami kami.

Suami tercinta, **Agung Bagus Raka Drs, Ir.** dan kedua anak tercinta, **Christian** dan **Alvin** yang selalu setia mendampingi, mendengar keluhan, memberi semangat, mengorbankan apapun agar terselesaikannya pendidikan ini

Serta semua pihak yang ikut membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang namanya tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa dalam tesis ini banyak kekurangan, oleh karena itu saran dan kritik tetap diharapkan sebagai bahan perbaikan agar dapat menghasilkan suatu penelitian yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dan kesejahteraan umat pada umumnya.

Surabaya, Agustus 2002

RINGKASAN

Asap rokok merupakan aerosol heterogen dari pembakaran tembakau, komponen dalam rokok serta pembungkusnya . Setiap batang rokok mengandung banyak bahan kimia diantaranya adalah : nikotin, karbon monoksida, tar yang bersifat karsinogenik dan radikal bebas , seperti radikal *nitric oxide* ($\bullet\text{NO}$, $\bullet\text{NO}_2$) dll.. Radikal bebas merupakan oksidan yang dapat berdampak negatif antara lain mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen sel, yaitu : komponen struktural, merusak protein (termasuk enzim) dan DNA, yang akhirnya akan terjadi kerusakan sel.

Vitamin E merupakan antioksidan yang bekerja pada membran sel yang memerlukan tekanan oksigen yang tinggi, sedangkan vitamin C bekerja pada sitosol dan secara ekstrasel . Dengan mekanisme kerja yang berbeda, jika kedua vitamin ini digunakan bersamaan diharapkan akan memberikan efek yang optimal dalam menghadapi aktifitas senyawa oksigen reaktif (ROS) pada eritrosit.

Eritrosit yang dilengkapi dengan antioksidan yang berupa enzim CuZn-SOD, akan mencegah terhimpunnya senyawa oksidan yang berlebihan dan mencegah reaksi rantai lebih lanjut. Suplementasi vitamin E dan vitamin C diharapkan akan menghambat penurunan aktifitas enzim SOD yang diakibatkan oleh oksidan yang berasal dari paparan asap rokok .

Penelitian jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan *Randomized Post Test Only Control Group Design* dan analisis data dilakukan dengan uji Anova. Variabel penelitian yang diperiksa adalah aktivitas enzim SOD eritrosit., dengan menggunakan hewan coba *Rattus novergicus* jantan dewasa (umur 2,5 – 3 bulan). Hasil analisis aktivitas enzim SOD kelompok perlakuan terdiri dari 2 kelompok , yaitu kelompok tikus yang diberi asap rokok dan suplementasi vitamin E & C (kelompok P1) dan kelompok tikus yang hanya diberi asap rokok selama 2 bulan (kelompok P2) akan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hasil yang diperoleh menunjukkan pada kelompok tikus yang dipapar asap rokok dengan diberi vitamin E & C, aktivitas enzim SOD eritrosit lebih tinggi bermakna ($\times = 0,5908$ Unit/ml) bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diberi asap rokok

($\times = 0,1276$ Unit/ml) dan kelompok kontrol menunjukkan aktivitas enzim SOD yang paling tinggi ($\times = 1,0044$ Unit/ml).

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa suplementasi vitamin E dan C pada tikus yang dipapar asap rokok selama 2 bulan dapat menghambat penurunan aktifitas SOD dan asap rokok memang memberikan efek yang merugikan terhadap eritrosit. ROS eksternal dari asap rokok berpotensi merusak protein yang dibuktikan dengan adanya penurunan drastis terhadap aktifitas enzim SOD eritrosit pada tikus yang hanya dipapar asap rokok. Bagaimanapun juga suplementasi vitamin E dan C, tetap tidak dapat mempertahankan aktivitas enzim SOD seperti pada kelompok kontrol. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui efek asap rokok terhadap komponen lain dalam sel.



ABSTRACT

Cigarette smoke contains many chemical substances including nicotine, carbon monoxide, carcinogenic tar and free radicals e.g. nitric oxide radicals. Free radicals are a negative-impact oxide which disturbs cell integrity and reacts with cell component such as lipid, proteins (including enzymes) and DNA. The damaged protein c.q. enzymes, such as superoxide dismutase (SOD) will result in the decrease of its activity.

Tocopherol is an antioxidant, which works at the cell membrane needing high pressure oxygen, and ascorbic acid works extracellularly at cytosol. Although using different working mechanisms, if these two vitamins are used simultaneously they can be expected to provide an optimum effect to counter the Reactive Oxygen Species activity on erythrocytes.

Randomized Post-Test Only Control Group Design was used in this laboratory experiment. The data collected were then analysed by Anova. Superoxide dismutase enzyme levels in erythrocytes was used as the parameter.

Fifteen male *Rattus norvegicus*, age 2,5-3 months served as sample. The rats were divided into 2 separate groups and one control group. Both treatment group were fumigated with cigarette smoke for two months. Group 2 (second), beside fumigated got also vitamin E (400 mg/kg) and ascorbic acid (20 mg/kg) . After 2 months, erythrocytes were collected from the groups and analyzed.

The result shows that the vitamins were effective in reducing the decrease of SOD level significantly ($P = 0,005$; $\alpha = 5\%$). It can be concluded that external ROS is harmful to the proteins of the erythrocytes. Further investigation is needed to look for the effect of cigarette smoke to other components of the cell.

Keyword : cigarette smoke, Reactive Oxygen Species, ascorbic acid, tocopherol, , superoxide dismutase enzyme activity

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan terima kasih.....	vi
Ringkasan.....	viii
Abstrak.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Rokok	7
2.1.1 Asal usul merokok	7
2.1.2 Perokok pasif.....	8
2.1.3 Kandungan asap rokok.....	9
2.1.4 Rokok dan radikal bebas.....	13
2.2 Darah.....	14
2.2.1 Eritrosit.....	15
2.2.2 Oksidan dan antioksidan dalam eritrosit.....	15
2.2.3 Dampak oksidan terhadap tubuh.....	20

2.3 Vitamin C.....	23
2.3.1 Struktur vitamin C.....	23
2.3.2 Fungsi vitamin C.....	24
2.4 Vitamin E.....	25
2.4.1 Struktur vitamin E.....	25
2.4.2 Fungsi vitamin E.....	26
2.5 Kombinasi vitamin E dan vitamin C	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN...	29
3.1 Dasar Teori.....	29
3.2. Kerangka Konseptual Penelitian.....	32
3.3 Hipotesis Penelitian.....	33
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	34
4.1 Rancangan Penelitian	34
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Tehnik Pengambilan Sampel.....	34
4.3 Variabel Penelitian.....	35
4.3.1 Klasifikasi variabel	35
4.4. Bahan Penelitian.....	36
4.4.1 Hewan coba	36
4.4.2 Rokok.....	36
4.4.3 Antioksidan	36
4.4.4 Pakan dan air minum.....	37
4.4.5 Preaksi pemeriksaan SOD	37
4.5 Instrumen Penelitian	37
4.5.1 Peralatan untuk perlakuan	37
4.5.2 Peralatan untuk analisis aktivitas enzim SOD.....	38
4.6 Prosedur Penelitian.....	38
4.6.1 Tahap pra perlakuan.....	38
4.6.2 Tahap perlakuan.....	38
4.6.3 Tahap analisis sampel.....	40

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian	41
4.7.1 Lokasi penelitian.....	41
4.7.2 Waktu penelitian.....	41
4.8 Cara Analisis Data.....	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	42
5.1 Hasil Uji Deskriptif.....	42
5.2 Hasil Uji Normalitas Variabel Tergantung.....	43
5.3 Hasil Uji Homogenitas Variabel tergantung.....	44
5.4 Hasil Uji Univariate Test aktivitas enzim SOD eritrosit antar kelompok pelakuan.....	44
5.5 Hasil Analisis Kandungan Asap Rokok.....	45
BAB 6 PEMBAHASAN.....	46
6.1 Pengaruh Suplementasi Vitamin E & C Terhadap Aktifitas SOD....	46
6.2 Analisis Kandungan Asap Rokok.....	49
BAB 7 KESIMPULAN	50
7.1 Kesimpulan.....	50
7.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan asap rokok.....	10
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif variabel aktivitas enzim SOD eritrosit dalam satuan Unit/ml.....	42
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Distribusi variabel enzim SOD eritrosit.....	43
Tabel 5.3 Hasil <i>Univariate test</i> penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit antar kelompok Perlakuan.....	44



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur vitamin C.....	23
Gambar 2.2. Struktur vitamin E.....	25
Gambar 2.3. Peranan vitamin E terhadap radikal bebas.....	27
Gambar 2.4. Interaksi dan sinergisme antara sistem antioksidan yang bekerja dalam fase lipid sel dan fase aquocus.....	28
Gambar 4.1. Alur Penelitian.....	40
Gambar 5.1 Rerata SOD tiap Kelompok.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penghitungan besar sampel.....	56
Lampiran 2. Prosedur Pemeriksaan SOD Eritrosit.....	57
Lampiran 3 Kandungan Minyak Kelapa.....	59
Lampiran 4. Komposisi Pakan Tikus.....	60
Lampiran 5. Hasil Analisis Aktivitas Enzim SOD	61
Lampiran 6. Sketsa “Smoking Pump”.....	62
Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Komposisi Asap Rokok	63
Lampiran 8. Perhitungan Statistik.....	64

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

ADP	: Adenosin Diphosphate
ATP	: Adenosin Triphosphate
DHAA	: Dehydroascorbic Acid
DMF	: Dimethyl Formamide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
Cys-SH	: Cystein
EDTA	: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
GSHPx	: Glutathion Peroxydase
GSH	: Glutathion (Reduced)
GSSG	: Glutathion (Oxidized)
Hb	: Haemoglobine
HCl	: Hydrochlori : Acid
MDA	: Malondialde'ryde
NAD ⁺	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Oxidized)
NADH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Reduced)
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Reduced)
NTB	: Nitroblue Tetrazolium
ROS	: Reactive Oxygen Species
RNS	: Reactive Nitrogen Species
SOD	: Superoxyde dismutase
TCA	: Trichloroacetic Acid
XO	: Xanthine Oxidase
XII	: Xanthine Dehidrogenase
•R	: Alkyl Radical
•NO, •NO ₂	: Nitric Oxide Radicals
ONOO ⁻	: Peroxynitric Ionic

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Rokok mempunyai hubungan erat dengan terjadinya beberapa penyakit, terutama penyakit kanker paru, emfisema dan bronkhitis kronis. Selain itu merokok juga merupakan salah satu faktor resiko terjadinya aterosklerosis.(Halliwel, 1999). Kebiasaan merokok pada umumnya sulit dihentikan, karena perokok beresiko ketagihan. Hal ini ditunjang dengan adanya pariwara yang menampilkan bahwa seorang perokok nampak lebih jantan, tampan dan sehat.

Asap rokok yang dihisap oleh perokok disebut asap utama (*main stream smoke*), sedangkan asap yang keluar dari ujung rokok yang terbakar dan dihisap oleh orang yang ada disekitar perokok adalah asap sampingan (*side stream smoke*) (Stafford & Becker, 1996). Perokok pasif yang sering disebut sebagai *Environmental Tobacco Smoker* (ETS) akan menghisap asap rokok yang dihembuskan keluar oleh perokok aktif. Hal ini biasanya terjadi didalam ruangan tertutup seperti didalam gedung bioskop, ruangan kantor, dan tempat yang berada dalam lingkungan perokok. Yang termasuk dalam kelompok perokok pasif ini adalah janin dalam kandungan ibu perokok, anak-anak dari orang tua perokok, dan orang dewasa bukan perokok yang berada dalam lingkungan perokok.

Asap rokok merupakan aerosol heterogen dari pembakaran tembakau dan pembungkusnya. Setiap batang rokok mengandung lebih dari 4000 jenis bahan kimia,



400 diantaranya beracun dan kira-kira 43 diantaranya bersifat karsinogenik (Tjandra Yoga, 2001). Bahan-bahan kimia yang ada dalam rokok antara lain (Halliwell, 1999):

1. Nikotin, yang merangsang sekresi adrenalin sehingga menyebabkan jantung berdenyut lebih cepat dan bekerja lebih kuat.
2. Karbon monoksida, merupakan gas yang berbahaya yang dapat menggantikan oksigen sebanyak 15 % yang seharusnya dibawa oleh eritrosit.
3. Tar, bersifat karsinogenik yang berisi *benzo(a) pyrene*, *nitrosamine* dan *β -naphthylamine*, kadmium, *dibenzacridine*, dll.
4. Radikal bebas, seperti radikal *nitric oxide* (\bullet NO dan \bullet NO₂) dll..

Radikal bebas merupakan oksidan yang berbahaya karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga cenderung untuk menarik elektron molekul lain. Sifat ini menyebabkan radikal bebas menjadi sangat reaktif yang dapat mengakibatkan terjadinya reaksi berantai dengan menghasilkan senyawa radikal bebas yang baru. (Yueniwati, 2000). Dampak negatif radikal bebas antara lain mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen sel, yaitu : (1) komponen struktural, antara lain molekul-molekul penyusun membran sel yang dikenal dengan peroksidasi lipid yang menghasilkan senyawa toksik terhadap sel, seperti malondialdehida (MDA), (2) fungsional, antara lain protein (termasuk enzim) dan DNA, yang akhirnya akan terjadi kerusakan sel. (Widjaya, 1999).

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif suatu oksidan, termasuk didalamnya enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam.

Berdasarkan reaksinya terhadap oksidan, antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu :

- a. Antioksidan pencegah (*preventive antioxidants*), akan mencegah terjadinya reaksi berantai terutama yang disebabkan radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), yaitu radikal yang paling berbahaya. Yang termasuk antioksidan jenis ini adalah transferin, ferritin, seruloplasmin, albumin, ion *superoxide dismutase* (SOD), glutathion peroksidase.
- b. Antioksidan pemutus rantai (*chain breaking antioxidants*), akan memutus rantai reaksi menjadi senyawa non radikal atau radikal yang lebih stabil. Yang termasuk antioksidan jenis ini adalah tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), β -karoten, glutathion dan sistein (Suryohudoyo, 2000)

Vitamin E merupakan antioksidan yang bekerja pada membran sel yang memerlukan tekanan oksigen yang tinggi, sedangkan vitamin C bekerja pada sitosol (Suryohudoyo, 2000) (Murray, 1999) dan secara ekstrasel (Widjaya, 1999). Dengan mekanisme kerja yang berbeda, jika kedua vitamin ini digunakan bersamaan diharapkan akan memberikan efek yang optimal dalam menghadapi serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Aktivitas radikal bebas pada suatu organisme dapat diketahui dengan pemeriksaan aktivitas enzim antara lain enzim SOD dan atau kadar hasil peroksidasi lipid seperti MDA. Aktivitas enzim SOD dapat menurun dan hilang, bila terjadi kerusakan pada enzim SOD sendiri atau DNA / gen penyangganya akibat aktivitas radikal bebas (Suryohudoyo, 2000).

Paparan asap rokok yang mengandung tar, nikotin, radikal bebas dan karbon monoksida terbukti dapat meningkatkan aktivitas radikal bebas pada beberapa sel tubuh, seperti membran sel endotel pembuluh darah, epitel paru, lensa mata dan neuron (Halliwell, 1987) , serta dapat ditunjukkan dengan adanya penurunan aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) sampai 1100 % pada sel hepar tikus yang dipapar asap rokok kretek selama 10 minggu (Yueniwati & Ali, 1998) (Yueniwati, 2000). Pada penelitian ini menggunakan *Rattus novergicus* sebagai hewan coba, mengacu pada hewan coba yang dipakai Yueniwati (2000) yang meneliti pengaruh paparan asap rokok terhadap aktivitas enzim SOD .

Aktivitas enzim SOD dapat ditentukan dari eritrosit (Harjanto, 2002) atau jaringan lain, misalnya sel hati (Yueniwati, 2000). Eritrosit merupakan sel darah yang tidak memiliki inti, sehingga bila aktivitas enzim SOD ditentukan dari eritrosit akan mencerminkan keadaan yang sebenarnya. Apabila aktivitas SOD dalam eritrosit menurun akibat radikal bebas, tidak akan terjadi pembentukan enzim SOD baru oleh ekspresi gen yang menyandi protein SOD. Vitamin E berperan efektif bila berada pada konsentrasi oksigen yang tinggi dan cenderung terkonsentrasi dalam struktur lipid yang terkena tekanan parsial oksigen yang tinggi, misalnya pada membran eritrosit (Murray, 1999).

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka peneliti menganggap perlu melakukan penelitian mengenai pengaruh suplementasi vitamin E dan C terhadap aktifitas radikal bebas yang berasal dari asap rokok. Pada penelitian ini dipakai rokok kretek karena menurut Djahhuri (1991), rokok kretek mengandung komponen yang lebih kompleks dibandingkan rokok putih sehingga akan mempunyai kemampuan memicu radikal bebas yang lebih tinggi dibandingkan rokok putih.

Dengan pemakaian kombinasi vitamin E dan C sebagai antioksidan yang bekerja di tempat berbeda (vitamin E pada membran eritrosit dan vitamin C pada sitosol), akan didapatkan kerjasama yang baik dalam melawan radikal bebas (ROS) dari asap rokok. Karena keterbatasan dana, parameter yang diteliti hanya aktivitas enzim SOD dalam eritrosit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka masalah dapat dirumuskan sebagai berikut :

“Apakah suplementasi vitamin E dan vitamin C dapat menghambat penurunan aktivitas enzim SOD pada eritrosit tikus yang terpapar asap rokok kretek?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Untuk mempelajari pengaruh suplementasi vitamin E dan vitamin C terhadap aktivitas enzim pada tikus yang terpapar asap rokok kretek.

1.3.2. Tujuan khusus

Mempelajari pengaruh suplementasi vitamin E dan vitamin C terhadap aktivitas enzim SOD-dalam eritrosit tikus uji yang terpapar asap rokok kretek.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan , sehingga hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang pengaruh suplementasi vitamin E dan vitamin C pada manusia.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Rokok

2.1.1 Asal usul merokok

Merokok mempunyai sejarah yang panjang dan sangat bervariasi. Kata *tobacco* (tembakau) yang merupakan bahan utama dari rokok berasal dari kata indian *tobago*. Orang Indian dari benua Amerika dikenal sebagai orang pertama yang menanam dan menggunakan tembakau untuk dirokok, dihisap dan dikunyah. Tembakau adalah tanaman genus *Nicotiana* dan termasuk keluarga *Solanaceae*. Pada tahun 1550, pelaut yang pulang dari Dunia Baru (Amerika) membawa dan memperkenalkan tembakau ke Spanyol dan Portugis, kemudian menjalar ke negara-negara lain. Tembakau pada tahun 1565 diperkenalkan di Inggris, dan dari sana dengan cepatnya menyebar ke daratan Eropa, sedangkan negara-negara Rusia, Turki, Persia, Afrika, Filipina, Jepang dan Tiongkok baru mengenal rokok pada permulaan abad 17 (Sumintarti, 1997).

Di Indonesia sendiri tidak diketahui dengan pasti, kapan rokok mulai diperkenalkan. Setelah abad ke 17, pemakaian tembakau meluas dan mempunyai arti cukup penting dalam dunia perdagangan. Tembakau mempunyai peranan yang cukup strategis dalam penghasilan negara di Indonesia. Tembakau merupakan salah satu sumber penerimaan dalam negeri yaitu cukai, maupun sebagai salah satu komoditi ekspor non migas. Industri tembakau sangat besar dalam penyerapan tenaga kerja, artinya mulai dari

penanaman sampai pengolahannya di pabrik hingga menjadi rokok, banyak memerlukan tenaga kerja serta tidak melupakan penghasilan para petani tembakau (Sumintarti, 1997)

Tembakau digunakan dalam bentuk rokok sigaret, cerutu, tembakau pipa dan sebagai bubuk cerutu. Di Indonesia dikenal beberapa macam sigaret antara lain rokok putih, rokok kretek, rokok kelembak, rokok kemenyan dan lain-lain. Pada proses pembuatan rokok untuk menghilangkan rasa pahit dari tembakau yang berlebihan serta menimbulkan aroma yang menyegarkan telah ditambah bermacam-macam rempah, antara lain bumbu kimiawi, cengkeh, kelembak dan kemenyan. Sejak awal abad ke-20, terjadi perubahan cara merokok dimana orang lebih menyukai rokok sigaret daripada menghisap cerutu, pipa atau menghisap bubuk tembakau dengan demikian maka menyebar luaslah kebiasaan merokok. Hal ini ditunjang oleh industri rokok yang dalam pariwarnya selalu memperlihatkan bahwa perokok nampak lebih jantan, tampan dan sehat, sehingga kebiasaan merokok dengan cepat melanda dunia, tak ubahnya dengan epidemi. Kebiasaan merokok menjalar dari satu negara ke negara lain, dari satu benua ke benua lain, bahkan antara kelompok masyarakat yang berbeda dalam satu negara. Kebiasaan merokok menjadi sesuatu yang dapat dinikmati oleh umat manusia di seluruh penjuru dunia, bahkan siap dinikmati kapan saja dan oleh siapa saja. (Sumintarti, 1997)

2.1.2. Perokok pasif

Orang yang bukan perokok, tetapi berada di sekitar perokok dan ikut menghirup asap rokok beserta zat-zat yang terkandung di dalamnya disebut perokok pasif. Keadaan ini biasanya terjadi di ruangan umum yang tertutup seperti di dalam gedung bioskop, ruangan kantor dan tempat yang berada dalam lingkungan perokok. (Sumintarti, 1997)

Efek samping asap rokok yang merugikan bagi perokok pasif yaitu dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit paru dan kanker, seperti halnya yang terjadi pada perokok dengan segala akibat-akibat yang tidak berbeda. Yang termasuk dalam kelompok perokok pasif antara lain adalah janin dalam kandungan ibu perokok, anak-anak dari orang tua perokok, orang dewasa bukan perokok yang berada dalam lingkungan perokok. (Sumintarti, 1997)

2.1.3. Kandungan asap rokok

Asap rokok mengandung bahan-bahan kimia lebih dari 4000 macam, merupakan campuran yang terdiri dari bentuk partikel padat dan bentuk gas, 400 diantaranya beracun dan kira-kira 43 senyawa yang bersifat karsinogenik (Tjandra Yoga, 2001). Beberapa efek campuran bahan-bahan kimia yang ada dalam asap rokok terhadap jaringan tubuh terdapat pada tabel dibawah ini (Halliwel, 1999):

Kadar bahan kimia di dalam asap rokok yang bisa diperiksa di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan Indonesia, ada tiga macam yaitu tar, nikotin dan karbon monoksida

Tabel 2.1 Kandungan asap rokok

Bahan	Efek
<u>Bahan partikel</u>	
Tar	Karsinogen
Nikotin	Stimulator, depresor ganglionik
Logam (kadmium, timbal, nikel, besi, krom, arsenik)	Karsinogen dan iritan
<i>Phenols / semiquinones / quinones</i>	
<i>Carcinogenic hydrocarbons</i> (<i>Benzo(a)pyrene, benzathracene, chrysene</i>)	Karsinogen dan iritan
	Karsinogen
<u>Bahan Gas</u>	
Karbon monoksida	Gangguan transpor dan penggunaan O ₂
Asam hidrosianik	Siliotoksin dan iritan
NO•, NO ₂ •	Karsinogen
<i>Volatile aldehydes (etanal, formaldehyde, acrolein)</i>	Siliotoksin dan iritan
Amonia	Siliotoksin dan iritan
<i>Benzene vapour</i>	Siliotoksin dan iritan
Aceton	Siliotoksin dan iritan
Vinilklorida,	Karsinogen
<i>Unsaturated hydrocarbon (butadiene, isoprene)</i>	Karsinogen
Karbon dioksida	

Sumber : Halliwell, 1999

a. Tar

Tar terbentuk selama pemanasan tembakau. Tar merupakan kumpulan berbagai zat kimia yang berasal dari daun tembakau sendiri, maupun yang ditambahkan dalam proses pertanian dan industri sigaret. Tar adalah hidrokarbon aromatik polisiklik yang ada dalam asap rokok, tergolong zat karsinogen yaitu zat yang dapat menimbulkan kanker. Kadar tar yang terkandung dalam asap rokok inilah yang berhubungan dengan resiko timbulnya kanker. (Sumintarti, 1997). Dari tar ini bila diidentifikasi kandungannya dengan menggunakan kromatografi akan didapatkan senyawa-senyawa : naftilamin, *pyrene, benzo(a)pyrene, urethane, dibenzacridine, kadmium, dimethylnitrosamine* yang

bersifat karsinogen. Bahan-bahan karsinogen ini dapat memicu terbentuknya senyawa ROS didalam tubuh.

Dengan adanya aldehida, khususnya akrolein, aldehida tak jenuh lain, asetaldehida, dan formalin dapat menyebabkan deplesi GSH dan modifikasi protein grup -SH dan grup -NH₂, apabila protein tersebut jenis enzim maka enzim tersebut akan kehilangan sifat katalitiknya.

Hydroquinone / *quinone* dalam tar dapat menembus paru, berdifusi pada membran sel, dan ikut dalam reaksi redoks yang terjadi pada ekstraseluler dan intraseluler sehingga akan membentuk senyawa *semiquinone*, H₂O₂ dan O₂^{-•} (Halliwell, 1999)

b. Nikotin

Nikotin adalah bahan alkaloid toksis yang terdapat dalam tembakau. Banyak sigaret berisi kira-kira 8 -9 mg nikotin dan perokok umumnya mendapatkan kira-kira 1-3 mg nikotin. Nikotin diabsorpsi melalui paru-paru dan kecepatan absorpsinya hampir sama dengan masuknya nikotin secara intra vena. Nikotin masuk ke dalam otak dengan cepat dalam waktu kira-kira 10 detik, dapat melewati barrier di otak dan diedarkan ke seluruh bagian otak, kemudian menurun secara cepat. Efek bifasik dari nikotin pada dosis rendah menyebabkan rangsangan ganglionik yang merupakan eksitasi, tetapi pada dosis tinggi menyebabkan blokade ganglionik setelah eksitasi sepiantas. (Sumintarti, 1997)

Pada perokok sigaret, kadar nikotin dalam darah naik secara cepat dan mencapai puncaknya pada waktu selesai merokok. Nikotin pada dosis rendah (seperti pada saat awal merokok), efek kardiovaskuler nampak melalui sistem saraf pusat. Akibatnya terjadi

rangsangan simpatik dengan meningkatnya tekanan darah dan denyut jantung. Pada dosis yang lebih tinggi nikotin langsung bekerja pada sistem saraf perifer, menimbulkan rangsangan ganglionik dan pelepasan katekolamin. Dengan dosis yang sangat tinggi, nikotin dapat menyebabkan hipotensi dan menurunnya denyut jantung melalui blokade ganglionik perifer dan terjadi efek depresi langsung melalui kerja di otak. (Sumintarti, 1997). Kadar katekolamin dalam serum, telah diteliti akan meningkat pada keadaan tekanan rendah, suhu dingin, tindakan bedah, perdarahan, dan berbagai macam stres (termasuk stres oksidatif) (Prasetyo, 2002). Dengan peningkatan kadar katekolamin, secara tidak langsung akan menghasilkan senyawa oksigen reaktif (ROS).

c. Karbon monoksida

Karbon monoksida merupakan gas beracun yang tidak berwarna, kandungannya didalam asap rokok 2 – 6 %. Karbon monoksida dari asap rokok masuk ke dalam darah melalui alveoli paru-paru, mempunyai afinitas dengan hemoglobin (Hb) sekitar 200 kali lebih kuat dibanding afinitas oksigen terhadap hemoglobin, dan mempunyai *half life* 4 –7 jam dalam tubuh. Sebanyak 10 % dari seluruh hemoglobin dapat ditemukan terisi oleh karbon monoksida dalam bentuk COHb (*Carboxy Hemoglobin*) yang berakibat sel darah merah akan kekurangan oksigen. Keadaan kekurangan oksigen (hipoksia) dapat menyebabkan terbentuknya senyawa ROS dalam tubuh, jika diberikan reperfusi oksigen. Dengan adanya oksigen dalam jumlah banyak, oksigen akan mengalami reduksi univalen yang menyebabkan terbentuknya ion superoksida dan metabolit oksigen radikal lainnya. Xantin oksidase yang tereduksi akan mengalami oksidasi univalen dan akan terbentuk ion superoksida ($O_2^{\cdot-}$). (Siregar, 1992) Kekurangan oksigen jangka panjang dapat

menyebabkan pembuluh darah akan terganggu karena menyempit dan mengeras. Bila hal ini menyerang pembuluh darah jantung dapat menyebabkan terjadinya serangan jantung. (Sumintarti, 1997).

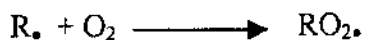
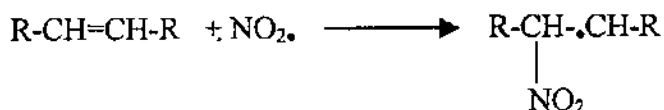
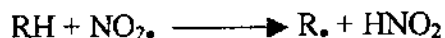
2.1.4. Rokok dan radikal bebas

Selain radikal bebas dapat ditemukan dalam asap rokok, asap rokok juga mengandung substansi yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas dalam tubuh, misalnya dimetilnitrosamin, benzo(a)pirena dll. (Halliwell, 1987 dan 1991). Menurut Djahuri (1991), rokok kretek mengandung komponen yang lebih kompleks dari rokok putih sehingga mempunyai kemampuan memicu radikal bebas yang lebih kompleks dibandingkan rokok putih.

Keberadaan radikal NO (\bullet NO) dalam fase gas asap rokok dapat ditemukan dengan teknik *spin trapping* dengan menggunakan alat *electrical spin resonance* (ESR). Radikal NO terbentuk dari donor \bullet NO seperti kompleks \bullet NO amina dan reaktan lain seperti *nitrogen oxide* (NOx). (Shinagawa K et al, 1998)

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Flicker TM (2001) tentang komparasi radikal bebas dari asap rokok beberapa merk dengan sistem model HPLC, ternyata radikal bebas yang ditangkap oleh kromatogram asap rokok mempunyai nilai bervariasi antara 54 sampai 185 nmol radikal alkil (\bullet R) per batang rokok.

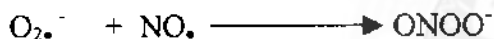
Reaksi-reaksi yang terjadi adalah (Halliwell, 1999) :



Reaksi radikal bebas ini dapat diredam apabila radikal bebas ini saling bereaksi :



Adanya $\text{RO}_2\cdot$ dan oksida-oksida nitrogen dapat menyebabkan kerusakan langsung, merangsang peroksidasi lipid dan mengoksidasi basa DNA.



Reaksi ion superoksida dengan oksida nitrogen yang terbentuk dari tar akan menghasilkan ion peroksinitrit

2.2. Darah

Darah tersusun dari plasma dan sel-sel darah yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan keping darah (trombosit). Penelitian dengan menggunakan sel darah banyak dilakukan, karena sel darah mudah diperoleh dan memiliki makna fungsional yang penting dan terlibat dalam banyak proses terjadinya penyakit. (Murray , 1999)

2.2.1. Eritrosit

Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut O_2 dari paru ke jaringan dan mengembalikan CO_2 dari jaringan ke paru. Fungsi ini dikerjakan oleh hemoglobin. Eritrosit mempunyai \varnothing 8 μm , bentuk bikonkaf, dengan umur kurang lebih 120 hari. Pembentukan eritrosit selama pertengahan trisemester pertama kehamilan terutama di hepar, kemudian fase berikutnya sampai janin lahir, sumsum tulang merupakan organ utama produsen eritrosit. Pengaturan eritropoesis berdasarkan mekanisme umpan balik, prosesnya akan menurun bila kadar eritrosit dalam sirkulasi meningkat di atas normal dan sebaliknya proses pembentukan akan meningkat jika terjadi anemia. (Darmawan, 1996).

Membran eritrosit merupakan lapisan lipid bipolar yang mengandung protein struktural, kontraktile, banyak enzim serta antigen permukaan. Kira-kira 50 % adalah protein, 40 % lipid dan sampai 10 % karbohidrat. Lipid terdiri dari 60 % fosfolipid, 30 % lipid netral (terutama kolesterol) dan 10 % glikolipid. Fosfolipid dan glikolipid adalah struktur dengan gugus polar pada permukaan eksterna dan interna, serta gugus nonpolar pada tengah membran. Karbohidrat hanya terdapat pada permukaan eksterna sedangkan protein diduga terdapat pada bagian perifer maupun integral yang menembus lipid bilayer. Satu dari protein tersebut yaitu spektrin merupakan struktur pada permukaan dalam yang berfungsi untuk mempertahankan bentuk bikonkaf. (Darmawan, 1996)

2.2.2. Oksidan dan antioksidan dalam eritrosit

A. Oksidan

Dalam pengertian ilmu kimia, oksidan adalah senyawa penerima elektron, yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron, sedangkan radikal bebas adalah atom atau molekul (sekumpulan atom) yang memiliki elektron yang tak berpasangan (*unpaired electron*) (Suryohudoyo, 2000).

Beberapa oksidan kuat (ROS) bisa dihasilkan selama proses metabolisme dalam sel darah maupun sebagian besar sel tubuh lainnya. Oksidan kuat ini adalah ion superoksid ($\bullet\text{O}_2$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), radikal peroksil ($\text{HOO}\bullet$) dan singlet oksigen ($^1\text{O}_2$). Radikal yang terakhir merupakan molekul yang reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid dan molekul lainnya untuk mengubah strukturnya serta menimbulkan kerusakan jaringan. (Murray, 1999)

Superoksida terbentuk karena adanya proses autooksidasi Hb (yang besarnya 3 % autooksidasi perhari) menjadi methemoglobin. Superoksid secara spontan mengalami dismutasi sehingga terbentuk H_2O_2 dan O_2 ; akan tetapi kecepatan reaksi yang sama akan mengalami peningkatan yang luar biasa akibat kerja *enzim superoksid dismutase* (SOD) (Murray K, 1999). Ion Fe^{2+} pada Hb rentan terhadap oksidasi oleh oksidan (ion superoksid), dimana terbentuk metHb yang tidak mampu mengangkut oksigen. Pada keadaan normal hanya dijumpai sedikit metHb di dalam darah, karena eritrosit memiliki sistem yang efektif untuk mereduksi kembali Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . (Darmawan, 1996). Ion superoksida terbentuk melalui beberapa cara, antara lain :

- Sebagai reaksi samping yang melibatkan Fe^{2+} , misalnya : pada proses fosforilasi oksidatif, proses oksigenasi hemoglobin, proses hidroksilasi oleh

enzim mono oksigenase (sitokrom P450 dan sitokrom b4), dan ion Fe^{2+} ,

dengan reaksi $Fe^{2+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \bullet O_2^-$

- Reaksi yang dikatalisis oleh *NADPH/NADH oksidase* yang terdapat dalam mitokondria.



- Reaksi yang dikatalisis oleh *enzim xantin oksidase*



Hidrogen peroksida terbentuk karena aktifitas-aktifitas *enzim oksidase* yang terdapat pada retikulum endoplasmik dan peroksisom. Enzim ini mengkatalisis reaksi :



Selain itu, hidrogen peroksida merupakan oksidan yang kuat dan dapat mengoksidasi berbagai senyawa yang terdapat di dalam sel, misalnya glutation.



Pada eritrosit dan beberapa jaringan, *enzim glutation peroksidase* yang mengandung selenium (Se) mengkatalisis H_2O_2 , sehingga mencegah peroksidasi lipid dan menghambat terjadinya oksidasi Hb menjadi metHb. (Darmawan, 1996) (Murray, 1999). Daya rusak hidrogen peroksida bukan hanya karena senyawa tersebut merupakan oksidan yang kuat, tetapi H_2O_2 juga dapat menghasilkan radikal hidroksil bila H_2O_2 bereaksi dengan logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^+

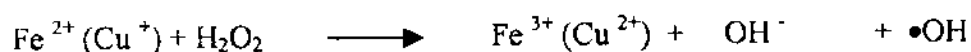


(Reaksi Fenton)

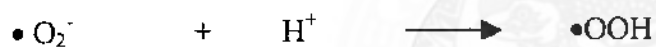
Selain terbentuk dari reaksi Fenton diatas, **radikal hidroksil** dapat juga terbentuk dari reaksi ion superoksida dan hidrogen peroksida (reaksi Haber Weiss).



Reaksi ini memerlukan ion Fe^{3+} dan Cu^{2+} dan diperkirakan melalui 2 tahap, yaitu :



Radikal peroksil terbentuk dari ion superoksida dengan asam . Radikal ini sangat reaktif dan akan membentuk radikal baru serta H_2O_2



Singlet Oksigen, merupakan bentuk oksigen yang jauh lebih reaktif dibandingkan oksigen "biasa". Singlet oksigen ini terbentuk dari reaksi-reaksi yang dikatalis oleh enzim-enzim tertentu, antara lain :

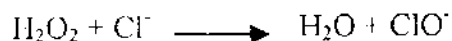
- a. *Enzim mono-oksigenase* yang menggunakan sitokrom P450 apabila enzim tersebut menggunakan suatu peroksida sebagai substrat :



- b. *Enzim prostaglandin endoperoksidase sintetase*, suatu enzim yang berperan dalam pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat :



- c. Reaksi yang dikatalis oleh *enzim mieloperoksidase* apabila ion hipoklorit yang terjadi bereaksi dengan H_2O_2 yang kedua:



B. Antioksidan

Senyawa antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, dalam arti yang lebih luas adalah : senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk diantaranya enzim-enzim dan protein pengikat logam. Dalam meredam dampak negatif oksidan diterapkan dua strategi:

1. Mencegah terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan secara berlebihan
2. Mencegah reaksi rantai lebih lanjut.

Berdasarkan dua mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan, antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu (Suryohudoyo, 2000):

1. Antioksidan pencegah
2. Antioksidan pemutus rantai.

Eritrosit dilengkapi antioksidan berupa enzim seperti *copper-zink-superoxide dismutase (CuZn-SOD)*, glutathion peroksidase (GSH-Px), katalase (Cat), dan glutathion reduktase (Anderson, 1997) (Murray K et al, 1999).

Sintesis antioksidan yang berupa enzim dalam eritrosit ini terjadi selama *erythropoiesis*. Sedangkan pada eritrosit dewasa, enzim-enzim ini tidak disintesis lagi, hal ini berkaitan dengan hilangnya inti sel pada eritrosit dewasa (Beutler E et al,

1995). Sebagai peredam dampak negatif ROS dalam penelitian ini akan digunakan antioksidan golongan pemutus rantai, yaitu kombinasi vitamin C dan vitamin E.

2.2.3. Dampak oksidan terhadap tubuh

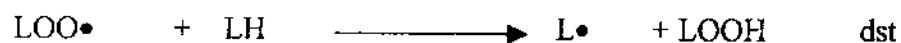
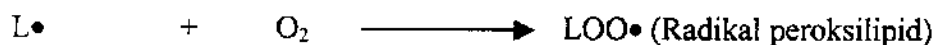
A. Dampak negatif.

Dampak negatif timbul karena senyawa ROS merupakan oksidan yang kuat dan mempunyai reaktifitas yang dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel.

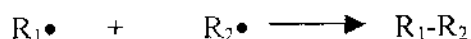
Diantara senyawa ROS yang lain, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktifitasnya sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu :

- **Terhadap membran sel**

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh (asam linolet, linolenat dan arakidonat) yang sangat rawan terhadap serangan-serangan radikal, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid.



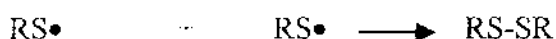
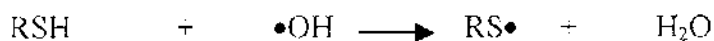
Akibat dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehida, seperti **malondialdehida (MDA)**, 9-hidroksi-nonenal serta bermacam-macam hidrokarbon seperti etana (C_2H_6) dan pentana (C_5H_{12}). Selain reaksi diatas dapat pula terjadi ikatan silang antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida (protein) yang timbul karena reaksi dua radikal :



Semuanya ini menyebabkan kerusakan parah membran sel yang membahayakan kehidupan sel. (Suryohudoyo, 2000)

- **Terhadap protein**

Oksidan dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein. Diantara asam-asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan sulfhidril (SH) dan justru gugusan inilah yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil :



Pembentukan ikatan disulfida (S-S) menimbulkan ikatan intra atau antar molekul sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya (misalnya enzim kehilangan aktifitasnya).(Suryohudoyo, 2000) (Siregar P, 1992)

- **Terhadap DNA**

Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang antara lain berupa : hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA.

Bila kerusakan tak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun apabila kerusakan terlalu parah, misalnya rantai DNA terputus diberbagai tempat, maka kerusakan tersebut tak dapat diperbaiki dan replikasi sel terganggu. Susahnya, perbaikan DNA ini justru menimbulkan mutasi, karena dalam memperbaiki DNA sistem perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan, dan apabila mutasi ini mengenai gen-gen tertentu, maka mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker.(Suryohudoyo, 2000)

B. Dampak positif

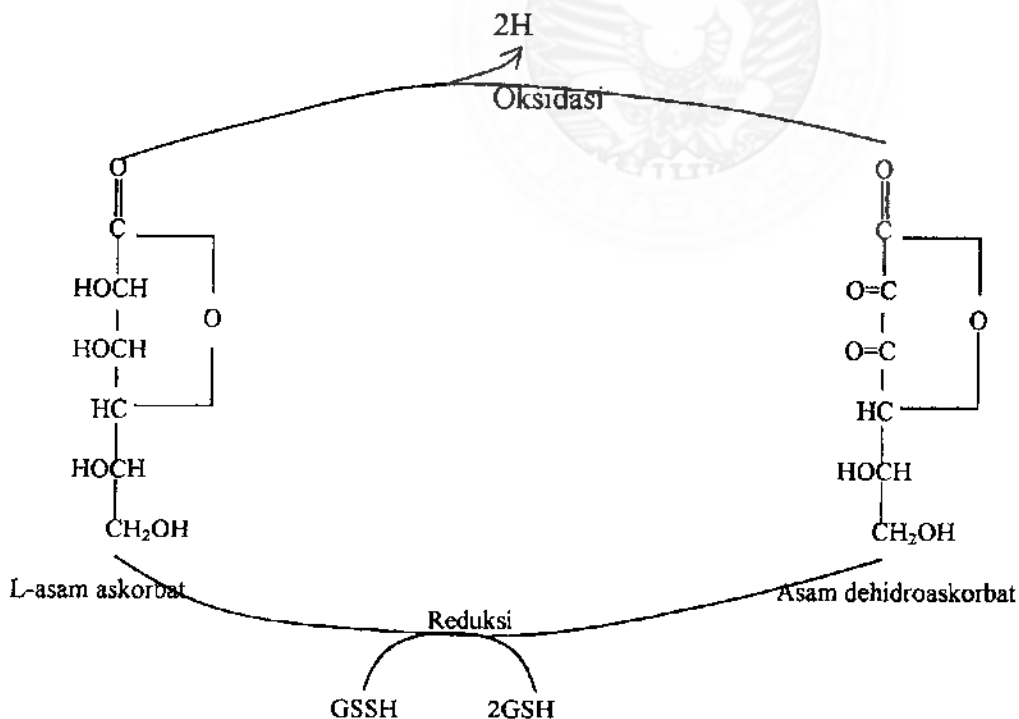
Oksidan yang dihasilkan oleh sel-sel khusus yang disebut sel radang seperti granulosit, monosit, dan makrofag mempunyai dampak positif dalam menghadapi serangan mikroorganisma. Namun oksidan tersebut selain dapat menghancurkan mikroorganisma, dapat pula merusak sel-sel jaringan tubuh sehingga apabila terjadi peradangan hebat yang melibatkan banyak sel radang, kerusakan jaringan tak dapat dihindarkan. (Suryohudoyo, 2000)

2.3. Vitamin C

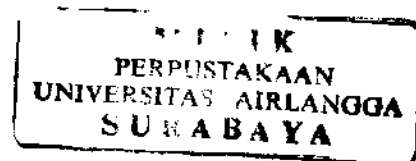
2.3.1. Struktur vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air, banyak didapatkan dalam buah-buahan segar dan sayur-sayuran terutama sitrus, beri dan dari famili kubis. Ditemukan pertama kali oleh Sir Richard Hawkins pada abad 16 yang melaporkan bahwa jeruk / lemon adalah yang paling efektif dalam menyembuhkan pelaut-pelaut Inggris dari penyakit scorbut (Linder , 1992)

Vitamin C mempunyai 2 bentuk, yaitu asam askorbat (bentuk reduksi) dan asam dehidroaskorbat (bentuk oksidasi). Vitamin ini sangat tidak stabil pada pH netral atau alkali, juga terhadap panas tetapi sangat stabil terhadap asam dan selama penyimpanan sementara dalam keadaan dingin dan segar (Girindra, 1990)



Gambar 2.1 Struktur vitamin C (Girindra, 1990)



2.3.2. Fungsi vitamin C

Pada level molekuler, askorbat dan dehidroaskorbat mempunyai sifat pereduksi dan juga mempunyai sifat penting lainnya sebagai antioksidan yang mempengaruhi redoks-potensial tubuh (sebagai sumber *reducing equivalent* di seluruh tubuh) . Pada proses hidroksilasi yang menggunakan molekul oksigen dan sering mempunyai kofaktor Fe^{++} atau Cu^{++} , vitamin C ikut berperanan sebagai :

1. Sumber elektron untuk mereduksi oksigen (misalnya sebagai kosubstrat)
2. Sebagai zat pelindung untuk memelihara status reduksi besi (Fe).

Reaksi hidroksilasi tersebut misalnya pada :

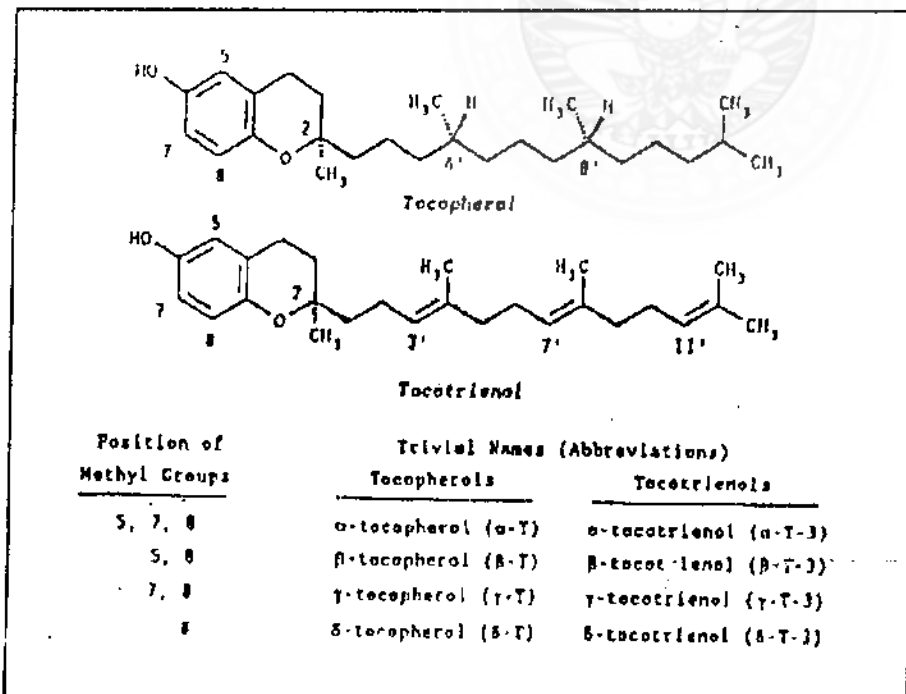
- Reaksi pembentukan hidroksiprolin dan hidroksilisin dalam sintesis prokolagen pada endoplasmik retikulum sel.
- Sintesis karnitin dari lisin yang penting dalam proses pengangkutan asam-asam lemak ke dalam mitokondria untuk mendapat proses oksidasi.
- Hidroksilasi tirosin dan mungkin pada pembentukan katekolamin dan serotonin-5-OH triptamin atau mungkin proses hidroksilasi hormon steroid, obat-obatan aromatik dan karsinogen melalui sistem mikrosomal oksigenase endoplasmik retikulum hati (Linder , 1992).

Kebutuhan vitamin C menurut RDA adalah 60 mg untuk orang dewasa, lebih banyak dalam kehamilan dan laktasi, dan untuk bayi dan anak-anak : 35-45 mg per hari. (Linder , 1992).Dosis vitamin C untuk tikus putih dihitung dari Ritchel (1974) serta Laurence & Bachranh (1964) yang dikonversi dari manusia $60 \text{ mg/hari} \times 0,018$ {faktor konversi tikus (200 mg)} $\times 5$ {konversi i.v menjadi p.o} = 5,4 mg/hari. Dosis penelitian adalah 4,5 mg / hari, sehingga dibawah dosis fisiologis.

2.4. Vitamin E

2.4.1. Struktur vitamin E

Vitamin E disebut juga tokoferol, merupakan vitamin yang larut dalam lemak yang banyak terdapat dalam minyak nabati (minyak jagung, minyak bunga matahari), kacang-kacangan (almond, kacang tanah), mentega, biji-bijian (gandum, beras pecah kulit) dan buah-buahan/ sayuran (muskmelon, pisang, wortel, tomat, brokoli). Vitamin ini mengandung cincin aromatik bergugus hidroksil dengan rantai samping isoprenoid, yang larut dalam lemak. (Girindra, 1990). Ada 4 jenis tokoferol, diantaranya yaitu : bentuk α , β , γ , δ yang dibedakan oleh letak berbagai grup metil pada cincin fenil pada rantai cabang molekul. Kebutuhan vitamin E menurut RDA adalah 30 IU/ hari untuk orang dewasa, dan 3-6 IU/ hari untuk bayi. (Linder , 1992)

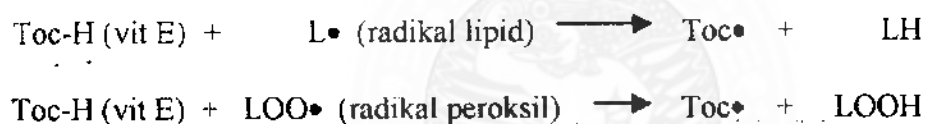


Gambar.2.3 Struktur vitamin E (Linder, 1992)

Vitamin E dapat berperan efektif bila berada dalam konsentrasi oksigen yang tinggi, oleh karena itu vitamin E cenderung terkonsentrasi dalam struktur lipid yang terkena tekanan parsial oksigen yang paling tinggi seperti pada membran eritrosit, membran respiratorius dan retina (Murray, 1999).

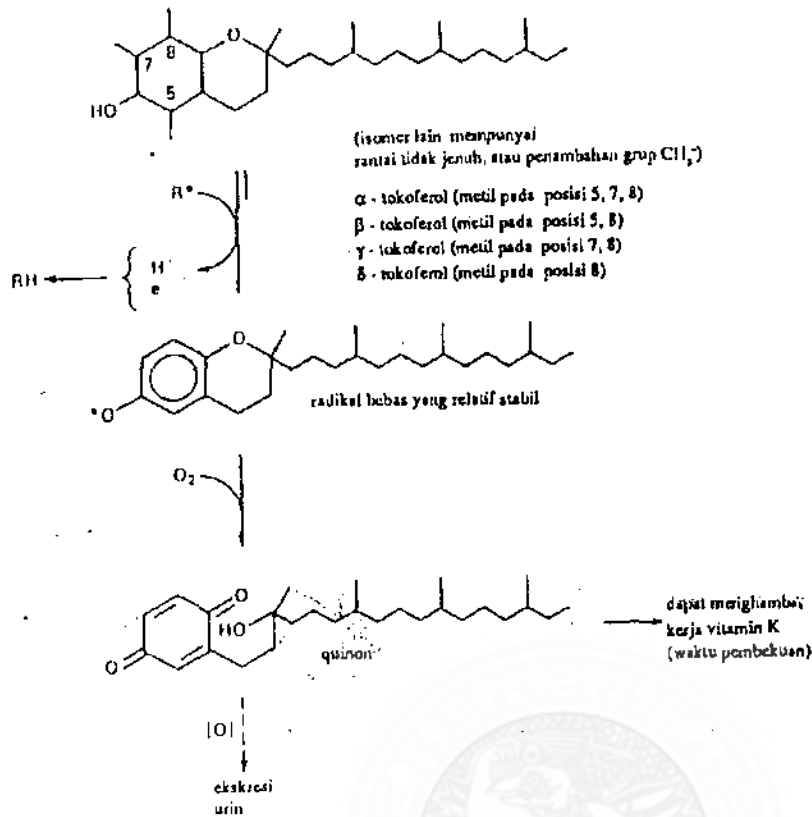
2.4.2. Fungsi vitamin E

Fungsi yang paling nyata dari vitamin E adalah antioksidan dan anti radikal bebas, terutama untuk asam lemak tidak jenuh pada fosfolipid dalam membran sel (Suryohudoyo, 2000).



Radikal vitamin E tidak terlalu reaktif, meskipun demikian perlu juga untuk dihilangkan. Ada dua cara untuk menghilangkan :

1. Radikal vitamin E mengalami reaksi-reaksi intramolekuler menghasilkan senyawa non radikal (Suryohudoyo, 2000) yang diperkirakan dapat dioksidasi lebih lanjut menjadi kuinon dan diekskresi melalui urin (Linder, 1992).



Gambar 2.4. Peranan vitamin E terhadap radikal bebas (Linder, 1992)

2. Radikal vitamin E bergeser ke arah permukaan membran selanjutnya akan bereaksi dengan vitamin C (Suryohudoyo, 2000).

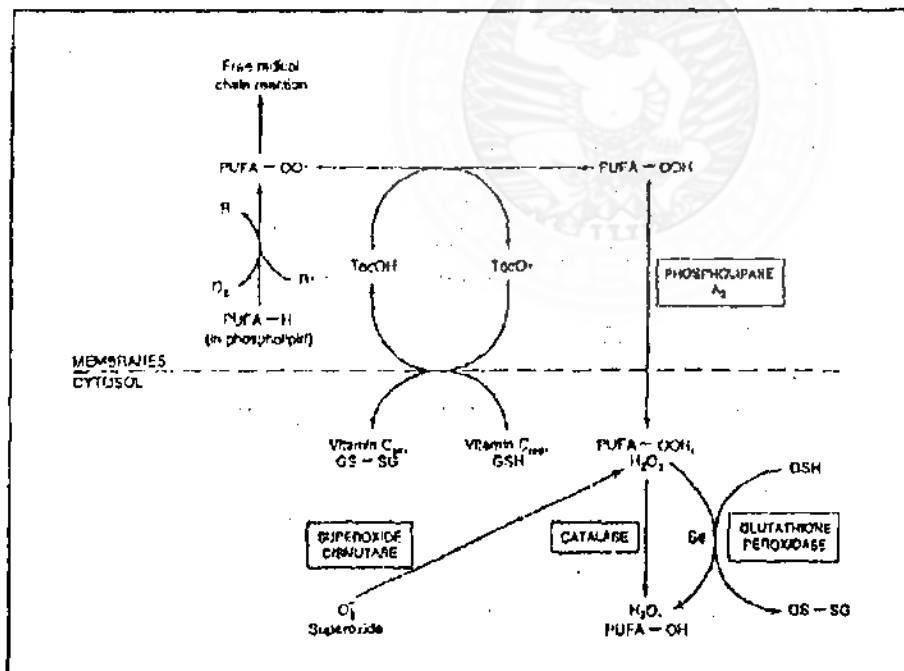


Fungsi vitamin E yang lain adalah menghambat dan memodifikasi pembentukan prostaglandin / tromboksan, terutama pada trombosit. Hal ini memungkinkan menurunkan pembentukan radikal bebas dari asam arakidonat dan meningkatkan produksi prostaglandin I_2 yang secara normal menghambat agregasi trombosit. (Linder, 1992).

2.5. Kombinasi vitamin E dan vitamin C

Dengan adanya kombinasi vitamin E dan vitamin C, akan menjadi grup antioksidan yang efektif, hal ini disebabkan masing-masing vitamin mempunyai keistimewaan tersendiri dan dapat bekerjasama dalam menghadapi ROS. Seperti yang sudah dibahas didepan, bahwa vitamin C akan bekerja dalam fase aqueous dan vitamin E akan bekerja dalam fase lipid sel (Murray, 1999)

Mekanisme cara kerjanya adalah sebagai berikut :



Gambar 2.5 Interaksi dan sinergisme antara sistem antioksidan yang bekerja dalam fase lipid sel dan fase aqueous (Murray, 1999)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Dasar Teori

Asap rokok, antara lain mengandung tar, nikotin, radikal bebas dan karbon monoksida dan paparan asap rokok terbukti dapat meningkatkan aktivitas radikal bebas pada beberapa sel tubuh, seperti membran sel endotel pembuluh darah, epitel paru, lensa mata dan neuron (Halliwell, 1987), yang dapat ditunjukkan dengan adanya penurunan aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) dalam sel hepar tikus (Yueniwati & Ali, 1998) (Yueniwati, 2000).

Tar dalam asap rokok merupakan kumpulan berbagai zat kimia berupa hidrokarbon aromatik polisiklik yang bersifat karsinogen (Tjandra yoga, 2001) (Sumintarti, 1997). Bila diidentifikasi dengan kromatografi, akan didapatkan senyawa-senyawa yang dapat memicu terbentuknya ROS misalnya : naftilamin, *pyrene*, *benzo(a)pyrene*, *urethane*, *dibenzacridine*, kadmium, *dimethylnitrosamine* (*National Health Education Departement Ministry of Health, Singapore*). Gas CO yang terdapat dalam asap rokok akan mengakibatkan terjadinya *carboxyhaemoglobin*, dan bila ditemukan dengan kadar tinggi akan mengakibatkan terjadinya hipoksia pada eritrosit (Sumintarti, 1997). Keadaan hipoksia akan memicu terbentuknya senyawa ROS (Siregar, 1992). Selain itu, asap rokok bila diidentifikasi dengan tehnik *spin trapping* menggunakan alat *electrical spin resonance (ESR)* dilanjutkan dengan kromatografi, diketahui mengandung radikal bebas dalam bentuk $\bullet\text{NO}$ dan radikal alkil ($\bullet\text{R}$)

Selain itu, asap rokok bila diidentifikasi dengan tehnik *spin trapping* menggunakan alat *electrical spin resonance (ESR)* dilanjutkan dengan kromatografi, diketahui mengandung radikal bebas dalam bentuk $\bullet\text{NO}$ dan radikal alkil ($\bullet\text{R}$) (Shinagawa, 1998) (Flicker, 2001). Radikal bebas mempunyai dampak negatif terhadap DNA, protein, dan membran sel yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim SOD, terputusnya rantai DNA dan mutasi pada gen penyandi protein serta terjadi peroksidasi lipid pada membran sel (Suryohudoyo, 2000).

Akhir-akhir ini pemakaian vitamin, terutama vitamin E dan vitamin C sangat meluas karena dipercaya dapat mencegah timbulnya berbagai macam penyakit terutama penyakit yang berhubungan dengan ROS, karena kedua vitamin ini dikenal sebagai antioksidan pemutus rantai reaksi radikal bebas (Suryohudoyo, 2000).

Vitamin E merupakan antioksidan yang bekerja pada membran sel yang memerlukan tekanan oksigen yang tinggi, sedangkan vitamin C bekerja pada sitosol (Suryohudoyo, 2000) (Murray, 1999) dan secara ekstrasel (Widjaya, 1999). Dengan mekanisme kerja yang berbeda, kedua vitamin ini apabila digunakan bersamaan akan memberikan efek yang optimal.

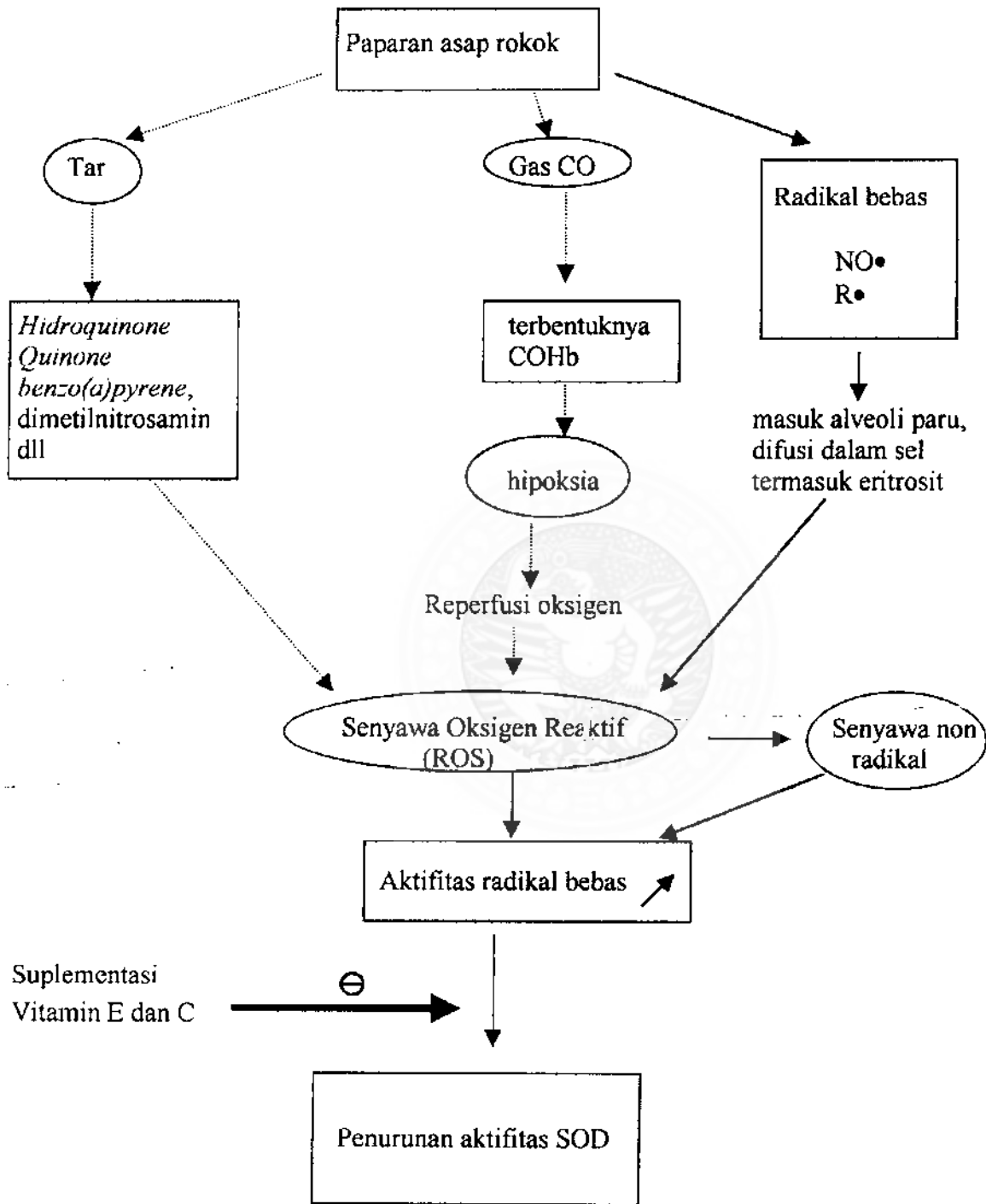
Aktivitas enzim SOD dapat ditentukan dari eritrosit (Harjanto, 2002) atau jaringan lain, misalnya sel hati (Yueniwati, 2000). Eritrosit merupakan sel darah yang tidak memiliki inti, sehingga bila aktivitas enzim SOD ditentukan dari eritrosit akan mencerminkan keadaan yang sebenarnya. Apabila aktivitas SOD dalam eritrosit menurun akibat radikal bebas, tidak akan terjadi pembentukan enzim SOD baru oleh ekspresi gen yang menyandi protein SOD. Vitamin E berperan efektif bila berada pada konsentrasi

oksigen yang tinggi dan cenderung terkonsentrasi dalam struktur lipid yang terkena tekanan parsial oksigen yang tinggi, misalnya pada membran eritrosit (Murray, 1999).

Untuk mengetahui efektifitas antioksidan vitamin E dan vitamin C dalam menghambat reaksi radikal bebas yang berasal dari asap rokok, sebagai indikator dilakukan pemeriksaan aktifitas enzim SOD dalam eritrosit .



3.2 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan :

.....

yang tidak diteliti
yang diteliti

3.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah : “Suplementasi vitamin E dan C menghambat penurunan aktifitas enzim SOD pada eritrosit tikus yang terpapar asap rokok kretek”.

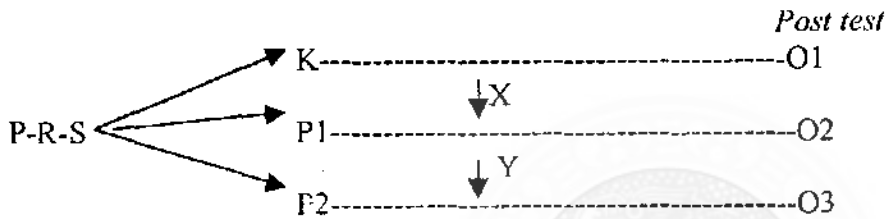


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *Randomized Post test only Control Group Design*. (Stanley, 1966).



Keterangan :

- P = Populasi
- R = Randomisasi
- S = Sampling
- K = Kelompok kontrol
- P = Kelompok perlakuan
- X = Pemberian paparan asap rokok dan suplementasi vitamin E dan vitamin C selama 2 bulan
- Y = Pemberian paparan asap rokok dan pelarut vitamin E dan C selama 2 bulan
- O1 = Data kelompok kontrol K
- O2 = Data kelompok perlakuan P1 yang dipapar asap rokok dan diberi vitamin E dan vitamin C selama 2 bulan
- O3 = Data kelompok perlakuan P2 yang dipapar asap rokok dan diberi pelarut vitamin selama 2 bulan

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

- Populasi adalah *Rattus novergicus* strain Wistar jenis kelamin jantan, dewasa yang ada di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

- Sampel menggunakan *Rattus novergicus* strain Wistar jenis kelamin jantan, dewasa, umur 2,5 – 3 bulan, berat 100 - 200 gram dengan kondisi sehat fisik (Sujari, 1996) dari laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Besar sampel :
Pada penelitian pendahuluan yang menggunakan 5 ekor tikus untuk tiap kelompok, ternyata sudah didapatkan data yang berbeda bermakna antar kelompok, sehingga jumlah sampel 5 ekor tiap kelompok sudah dianggap mewakili populasi. Perhitungan besar sampel dalam lampiran 1.
- Teknik pengambilan sampel menggunakan random sampling dan dibagi menjadi 3 kelompok secara undian.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel :

a. Variabel bebas (independen)

- Suplementasi vitamin C dan E
- Paparan asap rokok kretek

b. Variabel tergantung (dependen)

- Kadar SOD

c. Variabel kendali

- Jenis hewan coba
- Jenis kelamin hewan coba
- Umur hewan coba

- Berat badan hewan coba
- Kesehatan fisik hewan coba
- Faktor lingkungan laboratorium untuk pemeriksaan

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1. Hewan coba

Hewan coba adalah *Rattus novergicus* strain Wistar dari laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, jenis kelamin jantan, umur 2,5-3 bulan berat 100-200 gram, dalam kondisi sehat fisik dengan ciri-ciri bermata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif / lincah dan feses baik / tidak lembek (Sujari,1996).

4.4.2. Rokok

Rokok kretek ber-merek "X" dengan pembungkus kertas, dibeli di pasar daerah Sidoarjo, sebelum digunakan untuk penelitian, terlebih dulu diperiksa kadar nikotin, tar dan kandungan CO-nya di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan agar diketahui kadarnya. Dosis pemaparan adalah 2 kali sehari masing-masing dengan 1 batang rokok, dengan kecepatan pemaparan 1 batang rokok habis dalam 7,5 menit (Yueniwati ,2000)

4.4.3. Antioksidan

- Vitamin E (kadar 98,0 – 102,0 % alfa tokoferol 8283 dari *Merck*) dilarutkan dalam minyak kelapa dengan dosis 400 mg / kg BB secara peroral (Ozturk, 1997). 1 mg vitamin E setara dengan 1 Unit.

- Vitamin C (dengan kadar 99,5 % dari Fluka AG, *Chemische Fabrik CH-9470 Buchs SG*) dilarutkan dengan aquadest dengan dosis 20 mg/ kg BB secara peroral (Yunus, 2001)

Pemberian kedua antioksidan ini dilakukan secara terpisah, bergantian dan mulai diberikan pada 3 hari sebelum dilakukan pemaparan asap rokok (pada kelompok P1) selama 2 bulan.

4.4.4. Pakan dan air minum

Tikus uji maupun kontrol diberi makan pelet dan minum *ad libitum*. Pelet didapatkan dari PT Charoen Phokpand dengan komposisi seperti pada lampiran 4, sedangkan minum adalah air PDAM.

4.4.5. Pereaksi pemeriksaan Superoksid Dismutase (SOD)

Xanthine 25×10^{-6} · *Xanthine Oxidase* 1 Unit / ml, NitroblueTetrazolium (NBT) 30 mg / ml, DMF 70 %, EDTA 0,05 M, Bufer Fosfat 0,05 M pH 7,4, Dimethyl Formamide (DMF) 70 %, Aquabidest

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1. Peralatan untuk perlakuan

- Peralatan untuk perlakuan meliputi kandang tikus, botol minum, neraca analitis dan neraca kasar, sonde, *beaker glass* 100 ml.

- “Smoking pump” terbuat dari kotak kaca yang terbagi menjadi 3 ruang yang masing-masing mempunyai ukuran 25 x 12 x 15 cm. Didalam tiap ruangan terdapat pipa yang akan mengalirkan asap rokok, ketiga pipa ini nantinya menyatu keluar dengan pipa yang dipasang rokok. Bagian lainnya yaitu pompa yang berfungsi menghisap asap rokok (Yueniwati, 2000). Lihat lampiran 6.

4.5.2. Peralatan untuk analisis aktivitas enzim SOD

Tabung reaksi, *vortex*, *ependorf*, *waterbath*, transpipet dan tip, kertas saring whatman 42, *microcentrifuge*, spektrofotometer, *glass wool*.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1. Tahap pra perlakuan

Aklimatisasi hewan selama tujuh hari dalam kondisi laboratorium

4.6.2. Tahap perlakuan

Seluruh hewan percobaan dibagi secara acak dalam tiga kelompok.

a. Kelompok kontrol (K)

Kelompok kontrol adalah kelompok tikus yang tidak diberikan induksi apapun selama 2 bulan.

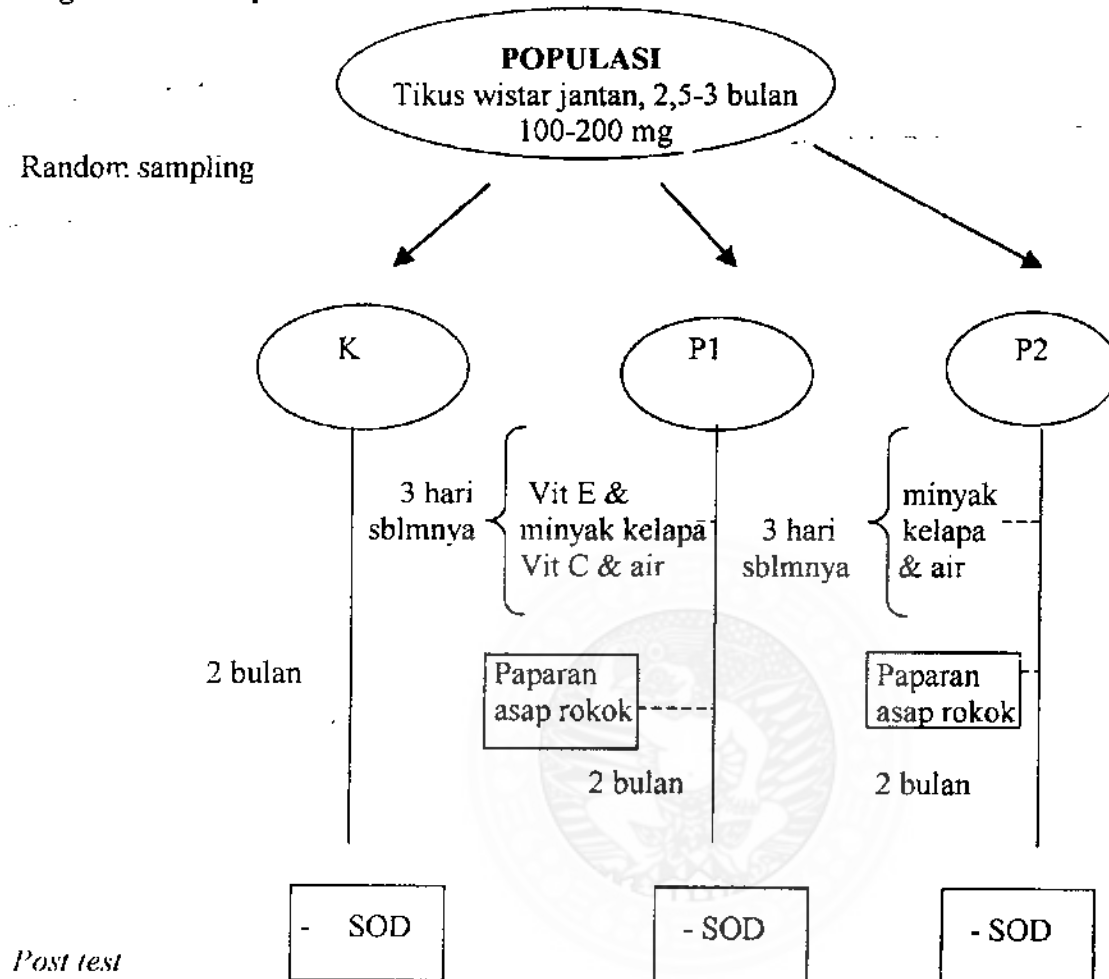
b. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Kelompok perlakuan 1 adalah kelompok tikus yang diberi vitamin E dan C peroral / sonde dimulai pada 3 hari sebelum pemaparan rokok dilakukan dan dipapar asap dari 2 batang rokok setiap hari pada pagi dan sore selama 2 bulan dengan alat “*smoking pump*” (dimana 1 batang rokok habis dalam 7,5 menit). Setelah selesai pemaparan, tikus dikembalikan pada kandang masing-masing secara berkelompok

c. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Kelompok perlakuan 2 adalah kelompok tikus yang terpapar asap dari 2 batang rokok setiap hari pada pagi dan sore selama 2 bulan dengan alat “*smoking pump*” (dimana 1 batang rokok habis dalam 7,5 menit) serta diberi pelarut vitamin. Setelah selesai pemaparan, tikus dikembalikan pada kandang masing-masing secara berkelompok

- Pemaparan asap rokok dilakukan setiap hari termasuk hari libur dengan dosis 2 batang rokok setiap hari, dan setiap batang rokok dipaparkan pada 3 ekor tikus.
- Pemberian larutan vitamin E dan C (pada kelompok P1) atau pelarutnya (pada kelompok P2) dilakukan setiap hari dan dimulai 3 hari sebelum pemaparan asap rokok sampai 2 bulan berikutnya.
- Pada hari ke 57, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok kontrol (K), diambil darah dari jantung dan ditampung dalam botol yang berisi EDTA, dipusingkan untuk memisahkan eritrositnya dan ditentukan aktivitas enzim SOD nya.

Bagan Prosedur penelitian

Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.6.3. Tahap analisis aktifitas enzim SOD eritrosit

Penentuan aktifitas enzim SOD dilakukan dengan protokol Wong dkk (1989)

dengan dasar teori :

Apabila xantin direaksikan dengan enzim xantin oksidase akan terbentuk radikal

bebas superoksida. ($\bullet\text{O}_2$). Superoksida yang terbentuk akan mereduksi *Nitroblue*

Tetrazolium (NBT) membentuk warna formazan, yang dibaca pada panjang gelombang 580 nm. Enzim SOD dalam eritrosit akan mampu menghambat superoksid untuk mereduksi NBT. Satuan pemeriksaan aktivitas enzim SOD dinyatakan dalam Unit / ml . Satuan Unit yang dimaksud adalah aktivitas enzim SOD yang mampu menghambat reduksi NBT sebesar 50 % pada penelitian ini.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam waktu 4 bulan.

4.5. Cara analisis data

Data aktivitas enzim SOD dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol akan dianalisis :

1. Deskriptif
2. Normalitas
3. Anova

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

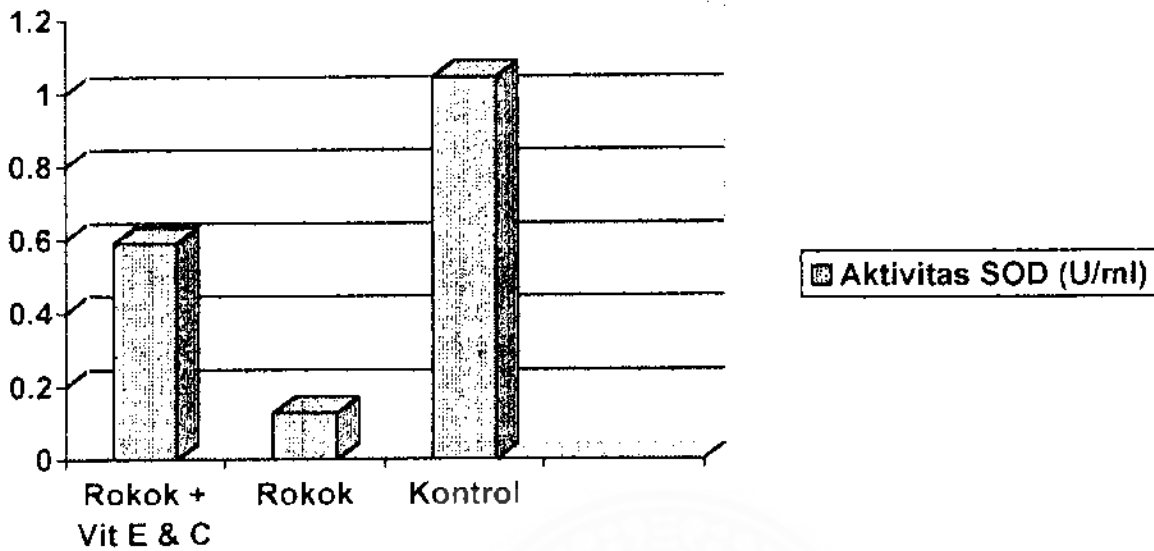
Data yang didapat dari hasil penelitian berupa aktivitas enzim SOD eritrosit yang dideskripsikan dan diuji dengan taraf signifikansi 5 % dan diolah dengan program SPSS V 09 dan *Systat for Window* untuk analisis grafik. Dari rangkaian penelitian yang telah dilaksanakan, diperoleh informasi data-data sebagai berikut :

5.1. Hasil Uji Deskriptif

Tabel 5.1. Hasil uji deskriptif variabel aktivitas enzim SOD eritrosit dalam satuan Unit/ml

Kelompok	Rerata	Simpangan baku
Asap Rokok+ Vitamin E&C	0,5908	0,3616
Asap Rokok	0,1276	0,0711
Kontrol	1,0044	0,8640

Apabila rerata enzim SOD tiap kelompok digambarkan dalam bentuk diagram akan terlihat sebagai berikut:



Gambar 5.2. Rerata enzim SOD tiap kelompok

5.2 Hasil Uji Normalitas Variabel Tergantung

Tabel 5.2. Hasil Uji Normalitas Distribusi (Uji *Kolmogorov-Smirnov*) Variabel enzim SOD eritrosit

Kelompok perlakuan	K-S(Z)	Sig (2-tailed)
Rokok + vitamin E & C	0,600	0,865 (P>0,05)
Rokok	0,561	0,911 (P>0,05)
Kontrol	0,674	0,754 (P>0,05)

Untuk melakukan analisis hasil penelitian dengan menggunakan statistik parametrik, penulis harus membuktikan bahwa data yang akan dianalisis berdistribusi normal. Dari tabel diatas ini data variabel tergantung berdistribusi normal pada semua kelompok ($p>0,05$) (Lampiran 8 hal 64-65)

5.3 Hasil Uji Homogenitas Variabel tergantung

Dari penghitungan dengan Bartlett's test didapatkan nilai uji statistik sebesar 14,191 dengan nilai $P = 0,001$ ($P < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data sampel adalah homogen (Lampiran 8 hal 70)

5.4 Hasil *Univariate Test* penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit antar kelompok perlakuan

Tabel 5.4 Hasil *Univariate Test* penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit antar kelompok perlakuan

Variabel	F	P
SOD	8,631	0,005 ($P<0,05$)

Berdasarkan tabel diatas (lampiran 8 hal 65), dapat dilihat bahwa pada enzim SOD antar kelompok perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$)

Dari hasil perhitungan statistik, dapat disimpulkan bahwa:

Suplementasi vitamin E dan C menghambat penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit pada tikus yang terpapar asap rokok, hipotesis dapat diterima. Hal ini terlihat dengan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok Rokok + Vitamin E & C terhadap kelompok Rokok .

5.5. Hasil Analisis Kandungan Asap Rokok

Analisis asap rokok kretek yang digunakan dalam perlakuan, dilakukan di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan . Ternyata asap rokok kretek tersebut mempunyai kandungan :

- Kadar nikotin sebesar 2,1 mg / batang ($< 1,5$ mg / batang), menggunakan alat Kromatografi Gas
- Gas Karbon monoksida sebesar 10,72 mg / batang, menggunakan alat *CO analyzer*.
- Kadar tar sebesar 43,78 mg / batang (< 20 mg / batang), menggunakan metode Gravimetri. (Lampiran 7 hal 63)



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Suplementasi Vitamin E & C terhadap aktifitas enzim SOD

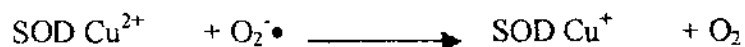
Eritrosit dalam darah dilengkapi antioksidan berupa enzim seperti *copper-zinc superoxide dismutase* (CuZn-SOD), glutathion peroksidase (GSH-Px), katalase (Cat) dan glutathion reduktase. (Anderson, 1997) (Murray, 1999) yang merupakan sistem pertahanan terhadap stress oksidatif. Pada penelitian ini, variabel yang digunakan adalah aktivitas enzim SOD karena :

1. Enzim SOD bereaksi spesifik, hanya dengan ion superoksid.
2. Pada tar yang terdapat dalam asap rokok, mengandung Hidroquinon / quinon yang dapat menembus paru, berdifusi pada membran sel dan ikut reaksi yang terjadi secara intra dan ekstrasel yang akhirnya dapat membentuk senyawa ion superoksid (Halliwell, 1999).
3. Asap rokok terbukti mengandung radikal bebas ($\bullet R$, *Nitric Oxides radicals*) yang dapat juga membentuk radikal ion superoksid (Halliwell, 1999) (Flicker TM, 2001).

Penentuan aktivitas enzim SOD dilakukan menurut protokol Wong dkk (1989), berdasarkan reaksi bahwa aktifitas enzim SOD dapat ditentukan sesuai dengan kemampuannya menghambat reduksi NBT. Metoda ini mempunyai sensitivitas dan recoveri yang tinggi sehingga hasil yang diperoleh dapat dipercaya validitas dan keakuratannya.

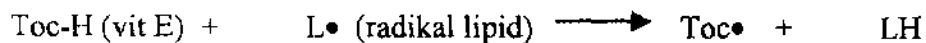
Rokok terbukti dapat menurunkan aktivitas *thiol dependent enzymes* seperti seperti glutathion peroksidase dan superoksid dismutase, yang merupakan sistem pertahanan selular aktif terhadap radikal bebas. (Halliwell, 1999). SOD dengan logam Cu dan Zn yang terdapat dalam eritrosit, berperan melindungi sel dari stress oksidatif. Hal ini terbukti pada penelitian ini dimana aktivitas enzim SOD eritrosit kelompok rokok lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Metal enzim SOD akan mereduksi superoksid dengan cara sebagai berikut :



Radikal bebas (yang berasal dari asap rokok) mempunyai sifat reaktivitasnya tinggi dan cenderung membentuk radikal baru, apabila radikal bebas ini menjumpai molekul lain akan membentuk molekul radikal lainnya (*chain reaction*) (Suryohudoyo, 2000). Bentuk radikal ion superoksid dapat membentuk radikal hidroksil dan pada akhirnya dapat membentuk radikal lipid ($\text{L}\bullet$) atau radikal peroksil ($\text{LOO}\bullet$).

Dengan suplementasi kombinasi vitamin E dan vitamin C, akan menjadi grup antioksidan yang efektif, hal ini disebabkan masing-masing vitamin mempunyai keistimewaan tersendiri dan dapat bekerjasama dalam menghadapi ROS. Seperti yang diketahui vitamin C akan bekerja dalam fase *aqueous* dan vitamin E akan bekerja dalam fase lipid sel (Murray, 1999) Mekanisme cara kerjanya adalah sebagai berikut :



Radikal vitamin E bergeser ke arah permukaan membran selanjutnya akan bereaksi dengan vitamin C (Suryohudoyo,2000).



Oksidasi askorbat dalam sitoplasma eritrosit dapat berlangsung karena eritrosit mempunyai enzim *GSH-dependent dehydroascorbate reductase* (Halliwell,1999). Dengan adanya suplementasi vitamin E dan C, akan membantu kerja enzim SOD dalam menghadapi oksidan dari asap rokok sehingga oksidan dari asap rokok merusak protein dalam eritrosit (dalam hal ini enzim SOD) tidak separah kelompok yang hanya diberi asap rokok.

Hasil analisis statistik penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dari aktifitas enzim SOD eritrosit pada tikus yang terpapar asap rokok selama 2 bulan pada kelompok tikus yang diberi rokok + antioksidan (kombinasi vitamin E & C) bila dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi antioksidan. Dengan analisis statistik dapat ditunjukkan bahwa suplementasi vitamin E & C dapat menghambat penurunan aktifitas enzim SOD eritrosit, sesuai dengan yang diprediksi.

Karena keterbatasan biaya dan waktu , pada penelitian ini memakai sampel hanya 5 ekor pada tiap kelompok. Meskipun penelitian ini hanya memakai jumlah sampel 5 (kurang dari jumlah sampel minimal hasil perhitungan), namun sudah bisa memperlihatkan perbedaan yang bermakna dari aktivitas enzim SOD antar kelompok. Ada baiknya bila variabel yang diperiksa tidak hanya aktivitas enzim SOD eritrosit saja, tetapi dilengkapi dengan pemeriksaan MDA eritrosit untuk membuktikan terjadinya peroksidasi lipid yang terjadi didalam membran eritrosit akibat adanya oksidan eksternal

yang berasal dari asap rokok. Pada penelitian pendahuluan ternyata memerlukan besar sampel minimal untuk parameter MDA sebesar 93 ekor tikus.

6.2. Analisis kandungan asap rokok.

Dari analisis kandungan asap rokok, terbukti bahwa dalam asap rokok terdapat gas karbon monoksida yang dideteksi dengan alat *CO analyzer*, tar yang ditetapkan kadarnya dengan metode Gravimetri dan nikotin yang ditetapkan dengan metode Kromatografi Gas. Dari analisis diatas membuktikan bahwa asap rokok benar-benar mengandung oksidan yang dapat mengganggu kesehatan.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

3.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dan pembahasan yang telah diuraikan, penulis berkesimpulan bahwa suplementasi vitamin E dan vitamin C dapat menghambat penurunan aktifitas enzim SOD pada eritrosit tikus yang terpapar asap rokok selama 8 minggu bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diberi rokok .

3.2 Saran

1. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan , sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh asap rokok (eksternal ROS) terhadap komponen-komponen lain yang terdapat dalam sel.
2. Penelitian ini dapat dipakai sebagai acuan untuk peneliti selanjutnya tentang pengaruh asap rokok pada manusia.
3. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang dosis terapeutik vitamin C

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson HR , 1997, *Antioxidative enzym activities in Human Erythrocytes*, Clinical Chemistry,
- Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, 1995, *Williams Hematology*, , fifth edition, United State of America, 406-417.
- Darmawan I, 1996, *Eritrosit : Kapita selekta Hematologi*, EGC, Jakarta,
- Djamhuri A, 1991, *Perbedaan gambaran histopatologik saluran nafas mencit pada pemberian asap rokok sigaret dan rokok kretek*, majalah Farmakologi dan Terapi Indonesia, IKAFI 8:1-2
- Flicker TM, Green SA, 2001, *Comparison of gas-phase free-radical populations in tobacco smoke and model system by HPLC*, Environ Health Perspect, ed Aug; 109(8) : 765-71
- Harjanto, 2002, *Permasalahan Pemeriksaan Senyawa Radikal Di Dalam Tubuh*, Seminar LAIFI.
- Halliwel B, 1987, *Oxidants and Human Disease : Some New Concepts*. FASEB J 1:358-364

- Halliwell B, 1991, *Reactive Oxygen Species in Living System : Source, Biochemistry and role in human disease*, Am.J. Med .91 (supl 3C), 14S-22S.
- Halliwell B, Gutteridge JMC., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd, Oxford University Press, 584-591, 485-495
- Higgins JE, Klimbaun AP, 1985, *Determining Sample Size* in introduction to Randomized Clinical Trials . USA: Family Health International, 24- 25
- Gilbert H.F, 2000, *Basic Concepts in Biochemistry*, McGraw-Hill, 28-30
- Girindra A, 1990, *Biokimia I*, PT Gramedia, Jakarta, 146-147
- Khotib J, 1998, *Pengaruh pemberian karoten dan kombinasi vitamin E-vitamin C terhadap karsinoma pada mencit galur Balb-C yang diinduksi dengan Benzo(a)pirena*, Tesis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Linder CM, 1992, *Nutritional Biochemistry and metabolism*, Elsevier Science Publishing, Company, Inc. 167-177, 201-214
- Murray K,Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW , 1999, *Harper's Biochemistry*, 24th,

Appleton & Lange, 637-641, 758 – 759.

Oey Kam Nio, 1992, *Daftar Analisis Bahan Makanan*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 34

Ozturk SH., Mustafa K, Murat K, Orhan C, 1997, *The effects of gentamicin on the activities of glutathion peroxidase and superoxide dismutase enzymes and malondialdehyde levels in heart tissues of guinea pigs*, Current Medical Research and Opinion, 14 (1): 47-52

.Prasetyo A, 2002, *Pengaruh pemberian stresor epinefrin terhadap fragilitas osmotik eritrosit tikus strain Wistar*, tesis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya

Shinagawa K, Tokimoto T, Shirane K, 1998, *Spin trapping of nitric oxide in aqueous solutions of cigarette smoke*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 1998 Dec 9; 253(1): 99-103

S. Ketaren, 1986, *Pengantar Teknologi : Minyak dan lemak pangan*, Universitas Indonesia Press, Jakarta

Siregar P, 1992, *Metabolit Oksigen Radikal Bebas, dan Kerusakan Jaringan*, Cermin

Dunia Kedokteran no 80, 112-115

Sumintarti, 1997, *Pengaruh asap rokok dan stres terhadap respon imun menciit*, disertasi,
Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya

Stafford RS, Becker CG, 1996, *Cigarette smoking and atherosclerosis*, In atherosclerosis
and Coronary artery disease. By Ross VF & Topol EJ (editor), Lippincott-
Raven Publishers, 303-325.

Stanley J.C, Campbell D.T, 1966, *Experimental and Quasi Experimental Designs for
research*, Rand McNally College Publishing Co, Chicago.

Sujari, 1996, *Tikus Wistar sebagai Hewan Coba untuk penelitian dengan toksoid tetanus*,
Majalah kedokteran UNIBRAW, XII(3)

Suryohudoyo P, 2000, *Kapita Selekta : Ilmu Kedokteran Molekuler*, Sagung Seto,
Surabaya, 31 – 47

Tjandra Yoga A, 2001, *Asap rokok lingkungan, Rokok dan masalahnya*, ed Januari

Widjaya K, 1999, *Pemberian Kombinasi Antioksidan Vitamin E dan Vitamin C untuk
Mencegah Nekrosis Sel Parenkim Hati*, Majalah Kedokteran vol 31 (4): 213-

220

Yueniwati Y, Ali M. 1998. *Pengaruh Rokok Kretek terhadap Peroksidasi Lemak dan Sistem Proteksi Superoksid Dismutase Hepar Tikus Wistar*. Simposium Nasional Hepatitis , Mataram Lombok.

Yueniwati, 2000, *Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap aktivitas radikal bebas mikrosom hepar yang menginduksi sitokrom P450 1A1*, tesis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.

Yunus M, 2001, *Pengaruh vitamin C terhadap kerusakan membran eritrosit (Tikus Wistar) akibat latihan anaerobik*, tesis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya

Zainudin M, 2000, *Metodologi Penelitian* , Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.

Lampiran 1

Penentuan jumlah sampel minimal berdasarkan rumus Higgins & Klinbaum (1985)

sebagai berikut :

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2}$$

dimana :

n = besarnya sampel

Xt = Nipura kelompok eksperimen

Xc = Nipura kelompok kontrol

Sc = simpangan baku kelompok kontrol

F = proporsi yang gagal

Z α = 1,96 (α = 0,05)

Z β = 1,28 (β = 0,10)

Berdasarkan penelitian pendahuluan, diperoleh data sebagai berikut :

Xc (Nipura SOD eritrosit kelompok asap rokok + vit E & C) = 0,2954

Sc (simpangan baku kelompok asap rokok + vit E & C) = 0,18079

Xt (Nipura SOD eritrosit kelompok terpapar asap rokok) = 0,0638

Besar sampel bila f = 0 adalah 10,47 dan dibulatkan menjadi 11 (sebelas) ekor tikus perkelompok. Jadi jumlah tikus minimal pada 3 kelompok adalah 33 ekor.

Lampiran 2.

Prosedur pemeriksaan SOD Eritrosit (Wong dkk, 1989)

1. Membuat kurva baku hambatan SOD terhadap NBT oleh superoksida. Selanjutnya kurva baku ini digunakan untuk menentukan aktivitas SOD dari sampel.
2. Ambil 500 μL darah + EDTA , dicentrifuge 3000 rpm 10 menit pada suhu kamar dan buang supernatannya.
3. Cuci peletnya dengan menggunakan 3 ml NaCl 0,9 % sebanyak 4 kali
4. Tambahkan H_2O dingin sampai 2 ml
5. Ambil tabung reaksi 3 buah, kemudian diisi dengan bahan-bahan sebagai berikut :

Bahan	Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3
EDTA (μL)	30	30	30
Bufer fosfat (μL)	1000	1000	1000
H_2O (μL)	2970	1770	1760
Xanthine (μL)	-	100	100
Xanthine oxidase (μL)	-	100	100
NBT (μL)	-	-	10
Sampel (μL)	-	1000	1000

Kemudian ketiga tabung tersebut dipanaskan 30 °C selama 10 menit. Setelah didiamkan 30 menit, kemudian aktivitas SOD dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm.



Lampiran 3

KANDUNGAN MINYAK KELAPA

No	Kandungan	Jumlah
1.	Bydd	100 %
2.	Energi	886 kal
3.	Air	0 g
4.	Protein	1 g
5.	Lemak	98 g
6.	Karbohidrat	0 g
7.	Mineral	1,0 g
8.	Kalsium	3 mg
9.	Fosfor	0 mg
10.	Besi	0 mg
11.	Akt. Retinol	0 mcg
12.	Tiamin	0 mg
13.	Asam askorbat	0 mg

Sumber : Oey Kam Nio, 1992

Sedangkan pada minyak kelapa yang belum dimurnikan, mengandung :

★Sterol 0,06 – 0,08 %

★Tokoferol 0,003 %

★Asam lemak bebas < 5 % (S. Ketaren, 1986)

Lampiran 4.

KOMPOSISI PAKAN TIKUS

1.	Protein	maksimal	21 –23 %
2.	Lemak	minimal	5,0 %
3.	Serat	minimal	5,0 %
4.	Kadar air	maksimal	13,0 %
5.	Abu	maksimal	7%
6.	Kalsium	minimal	0,9 %
7.	Fosfat	minimal	0,6 %

Sumber : PT Charoen Pokphand Indonesia

Lampiran 5

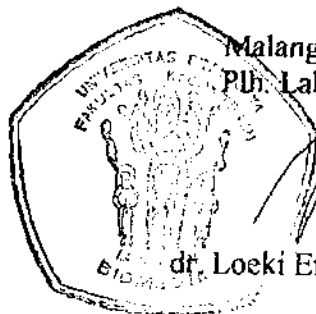
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM SENTRAL BIOMEDIK

Jl. May. Jend Haryono 171 Malang telp (0341) 569117 pes: 128, fax : (0341) 564755

HASIL ANALISIS AKTIVITAS ENZIM SOD ERITROSIT TIKUS

Nama Pengirim : Ir Juliana Christyaningsih
 Bahan : Whole Blood

Kode Sampel	Aktivitas SOD (Unit/ml)
P1.1	0,95
P1.2	0,748
P1.3	0,848
P1.4	0,248
P1.5	0,16
P2.1	0,15
P2.2	0,100
P2.3	0,238
P2.4	0,100
P2.5	0,050
K2.1	1,348
K2.2	0,548
K2.3	0,308
K2.4	2,37
K2.5	0,448

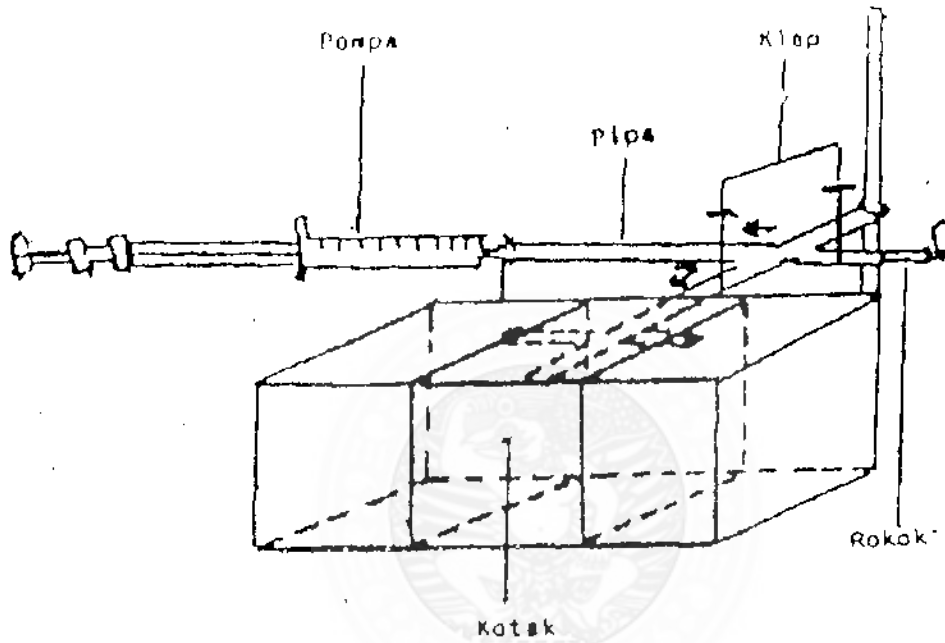


Malang, 29 Juli 2002
 Plh. Lab Biomedik

dr. Loeki Enggar Fitri M.Kes

Lampiran 6.

SKETSA "SMOKING PUMP"



Lampiran 7

BADAN POMLAPORAN PENGUJIAN

Nama sediaan contoh : Rokok merek -
 Produksi pabrik : -
 Kemasan : bungkus kertas
 No Batch : -
 No.Registrasi : -
 No.Kode : -

Pengirim contoh : Ir Juliana Christyaningsih

No.surat,tanggal pengirim : -
 Contoh diterima tanggal : -

HASIL PENGUJIAN

PEMERIAN : padat coklat rasa dan bau khas

IDENTIFIKASI : terhadap asap rokok :
 • Nicotin : positif
 • CO : positif
 • Tar : positif

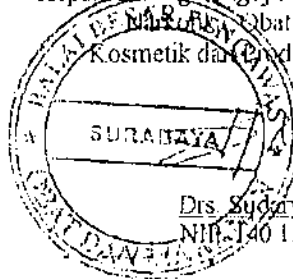
UJI YANG DILAKUKAN : terhadap asap rokok :
 • Kadar nicotin : 2,10 mg/batang (syarat : < 1,5 mg/bt)
 • Kadar CO : 10,72 mg/batang
 • Kadar Tar : 43,78 mg/batang (syarat : < 20mg/bt)

METODE, PUSTAKA : Kromatografi gas, CO analyzer, PP/81/99

KESIMPULAN : hasil uji seperti tersebut diatas

Surabaya, 11 SEP 2002

Kepala Bidang Pengujian Produk Terapeutik,
 Obat Tradisional,
 Kosmetik dan Produk Komplemen



Drs. Sudaryo Apt
 NIP. 140 158 558

Means

Report

SOD (Unit/ml)

KELOMPOK	Mean	N	Std. Deviation
ROKOK+VIT E & C	.59080	5	.36159
ROKOK	.12760	5	7.1125E-02
KONTROL	1.00440	5	.86397
Total	.57427	15	.62410

NPar Tests

KELOMPOK = ROKOK+VIT E & C

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SOD (Unit/ml)
N		5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.59080
	Std. Deviation	.36159
Most Extreme Differences	Absolute	.268
	Positive	.228
	Negative	-.268
Kolmogorov-Smirnov Z		.600
Asymp. Sig. (2-tailed)		.865

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ROKOK+VIT E & C

KELOMPOK = ROKOK

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SOD (Unit/ml)
N		5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.12760
	Std. Deviation	7.11E-02
Most Extreme Differences	Absolute	.251
	Positive	.251
	Negative	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		.561
Asymp. Sig. (2-tailed)		.911

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ROKOK

KELOMPOK = KONTROL**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		S O D (Unit/ml)
N		5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.00440
	Std. Deviation	.86397
Most Extreme Differences	Absolute	.301
	Positive	.301
	Negative	-.210
Kolmogorov-Smirnov Z		.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.754

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KONTROL

Univariate Analysis of Variance**Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KELOMPOK 1	ROKOK+VIT E & C	5
2	ROKOK	5
3	KONTROL	5

Descriptive Statistics

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

KELOMPOK	Mean	Std. Deviation	N
ROKOK+VIT E & C	.59080	.36159	5
ROKOK	.12760	7.1125E-02	5
KONTROL	1.00440	.86397	5
Total	.57427	.62410	15

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

F	df1	df2	Sig.
8.631	2	12	.005

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.924 ^a	2	.962	3.271	.073
Intercept	4.947	1	4.947	16.821	.001
KEL	1.924	2	.962	3.271	.073
Error	3.529	12	.294		
Total	10.400	15			
Corrected Total	5.453	14			

a. R Squared = .353 (Adjusted R Squared = .245)

Estimated Marginal Means KELOMPOK

Estimates

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

KELOMPOK	Mean	Std. Error
ROKOK+VIT E & C	.591	.243
ROKOK	.128	.243
KONTROL	1.004	.243

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
ROKOK+VIT E & C	ROKOK	.463	.343	.202
	KONTROL	-.414	.343	.251
ROKOK	KONTROL	-.877	.343	.025

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

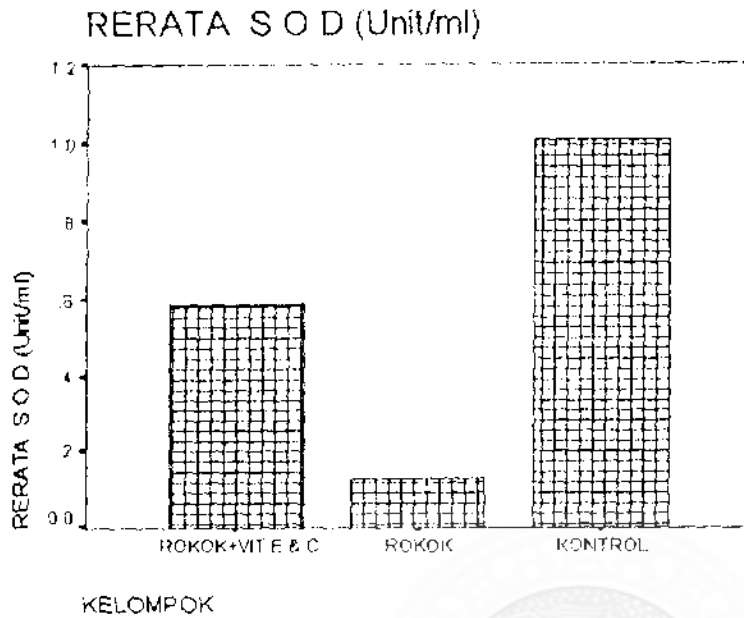
Univariate Tests

Dependent Variable: S O D (Unit/ml)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1.924	2	.962	3.271	.073
Error	3.529	12	.294		

The F tests the effect of KELOMPOK. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Profile Plots



GAMBAR : RERATA SOD MENURUT KELOMPOK PERLAKUAN

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	KELOMPOK	N	Mean Rank
S O D (Unit/ml)	ROKOK+VIT E & C	5	9.60
	ROKOK	5	3.20
	KONTROL	5	11.20
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	S O D (Unit/ml)
Chi-Square	8.976
df	2
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wall's Test

b. Grouping Variable: KELOMPOK

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SOD (Unit/ml) ROKOK+VITE & C	5	7.80	39.00
ROKOK	5	3.20	16.00
Total	10		

Test Statistics^a

	SOD (Unit/ml)
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.410
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SOD (Unit/ml) ROKOK+VITE & C	5	4.80	24.00
KONTROL	5	6.20	31.00
Total	10		

Test Statistics^a

	SOD (Unit/ml)
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
S O D (Unit/ml)	ROKOK	5	3.00	15.00
	KONTROL	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	S O D (Unit/ml)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

Homogeneity of Variance

Response Akt SOD
Factor faktor
ConfLvl 95.0000

Confidence intervals for standard deviations

Lower	Sigma	Upper	N	Factor Levels
0.466918	0.863970	3.32533	5	1
0.195415	0.361590	1.39172	5	2
0.038438	0.071125	0.27375	5	3

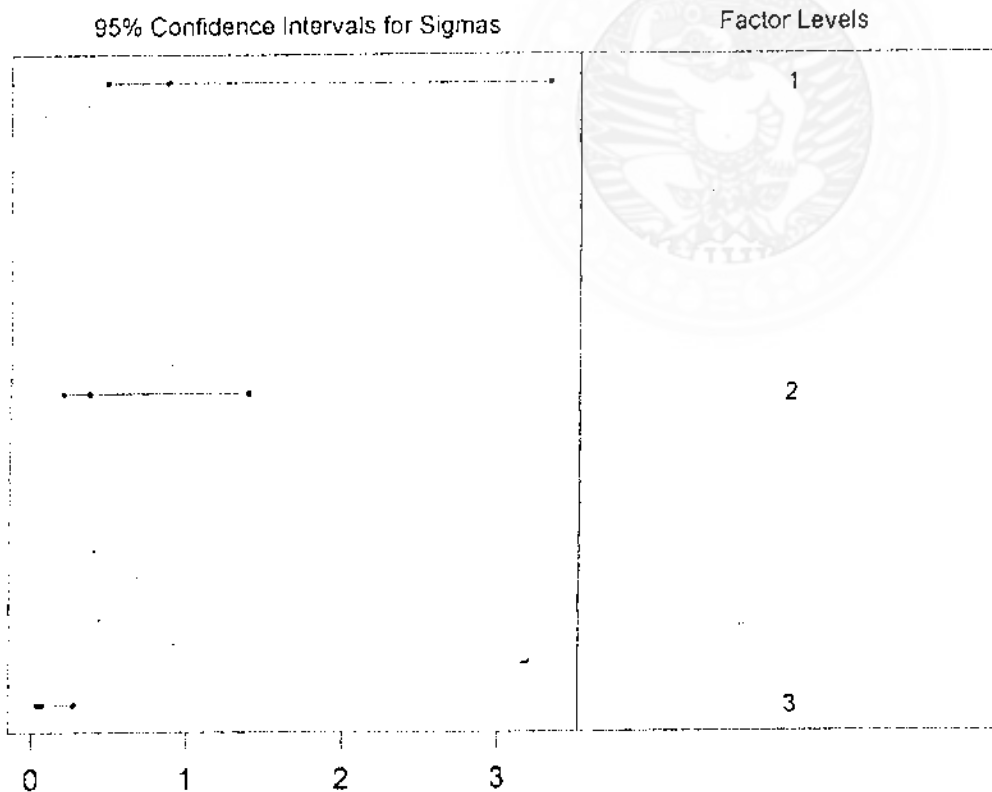
Bartlett's Test (normal distribution)

Test Statistic: 14.191
P-Value : 0.001

Levene's Test (any continuous distribution)

Test Statistic: 1.763
P-Value : 0.213

Homogeneity of Variance Test for Akt SOD



Bartlett's Test
Test Statistic: 14.191
P-Value : 0.001

Levene's Test
Test Statistic: 1.763
P-Value : 0.213