

**PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK
Pediococcus pentosaceus ASAL FERMENTASI KAKAO
HIBRID TERHADAP PENURUNAN KOLESTEROL
TELUR ITIK PITALAH**

TESIS

Oleh:

**FEBRIA YUNENSHI
0921207046**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK
Pediococcus pentosaceus ASAL FERMENTASI KAKAO
HIBRID TERHADAP PENURUNAN KOLESTEROL
TELUR ITIK PITALAH

Oleh:

FEBRIA YUNENSHI
0921207046

Tesis
Sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Master Sains
Program Pascasarjana Universitas Andalas

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011

Judul Penelitian : **Pengaruh Pemberian Probiotik *Pediococcus pentosaceus* Asal Fermentasi Kakao Hibrid Terhadap Penurunan Kolesterol Telur Itik Pitalah**

Nama Mahasiswa : **Febria Yunenshi**

Nomor Bukti Pokok : **0921207046**

Program Studi : **Kimia**

Tesis ini telah diuji dan dipertahankan dihadapan sidang panitia ujian akhir Magister Sains pada Program Pascasarjana Universitas Andalas dan dinyatakan lulus pada tanggal 31 Oktober 2011.

Menyetujui:

1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Sumaryati Syukur, M.Sc
Ph.D

Ketua

Prof. drh. Hj. Endang Purwati, MS,

Anggota

2. Ketua Program Studi Kimia

3. Direktur Program Pascasarjana

Dr. H. Adlis Santoni, MS
NIP. 196212031988111002

Prof. Dr. Ir. Novirman Jamarun, M.Sc
NIP. 19551106198003001

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bikittinggi pada tanggal 25 Februari 1987, merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Azwar, S.Pd dan Ibu Emizolla, S.Pd. Penulis menamatkan Sekolah Dasar pada tahun 1999 di SDN 10 Panyalaian X Koto, Kab. Tanah Datar, sekolah Lanjutan Pertama Negeri (SLTPN) I Panyalaian X Koto pada tahun 2002 dan Sekolah menengah Atas Negeri (SMAN) I Batipuh Tanah Datar pada Tahun 2005. Pada tahun 2005 penulis melanjutkan pendidikan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Negeria Padang dan menyelesaikan studi pada bulan Oktober 2009. Terhitung pada semester genap Januari-Juni tahun ajaran 2009-2010, penulis melanjutkan pendidikan S2 di Program Studi Kimia Pascasarjana Universitas Andalas Padang. Penulis kemudian menyelesaikan pendidikan pada Program Studi Kimia Pascasarjana Universitas Andalas Padang dan memperoleh gelar Master Sains pada bulan November 2011.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi tesis yang ditulis dengan judul **Pengaruh Pemberian Probiotik *Pediococcus pentosaceus* Asal Fermentasi Kakao Hibrid Terhadap Penurunan Kolesterol Telur Itik Pitalah** adalah hasil kerja/karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil kerja/karya orang lain, kecuali kutipan pustaka yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, November 2011

Yang membuat pernyataan,

Febria Yuneshi
0921207046

Pengaruh Pemberian Probiotik *Pediococcus pentosaceus* Asal Fermentasi Kakao Hibrid Terhadap Penurunan Kolesterol Telur Itik Pitalah

Oleh: Febria Yunenshi

(Di bawah Bimbingan Prof. Dr. Sumaryati Syukur, M.Sc dan Prof. drh. Hj. Endang Purwati, MS, Ph.D)

RINGKASAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia ataupun ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Probiotik mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol telur ayam (Mahdavi *et al.*, 2005). Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) sering digunakan sebagai kultur probiotik dalam produk-produk fermentasi susu atau produk olahannya, fermentasi daging dan fermentasi buah seperti kakao atau sayuran.

Karakterisasi bakteri asam laktat yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah diketahui sebagai materi yang tidak berbahaya, dapat hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan, memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen, toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya (Mac Farlane dan Cummings 2002; Begley *et al.*, 2005; Vesterlund *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2006 dalam Vélez, 2007).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh pemberian dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrid terhadap kadar kolesterol dan kualitas telur itik pitalah.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* dengan dosis 3 ml ($3,81 \times 10^7$ CFU/g) mampu menurunkan kadar kolesterol telur itik pitalah. Pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* dengan dosis 3 ml ($3,81 \times 10^7$ CFU/g) mampu meningkatkan kualitas telur yaitu meningkatkan Haugh Unit telur, dan tidak mempengaruhi ketebalan kerabang telur dan warna kuning telur itik pitalah.

Kata kunci: Bakteri Asam Laktat, probiotik, kolesterol, *Pediococcus pentosaceus*, telur dan itik pitalah.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kesehatan adalah modal yang utama bagi kehidupan, karena dengan kondisi sehat manusia dapat beraktivitas dalam rangka menjalankan tugas bagi dirinya dan orang lain. Kesadaran masyarakat terhadap pola makanan yang sehat sudah semakin tinggi. Semakin meningkatnya kesadaran manusia akan pentingnya hidup sehat maka terjadi pula peningkatan penelitian dan pemasaran produk-produk makanan yang berfungsi untuk menjaga kesehatan tubuh. Salah satunya adalah mutu dan tingkat keamanan pangan yaitu produk pangan yang menunjang kesehatan manusia.

Salah satu produk makanan yang digemari masyarakat adalah daging dan telur itik serta olahannya. Pangan berbahan baku ini banyak kita temukan dalam kehidupan sehari-hari diantaranya adalah gulai itik hijau, bebek goreng, pecel bebek, telur asin, martabak telur, kerak telur, tepung telur, teh telur dan lain sebagainya.

Itik adalah salah satu jenis unggas yang memiliki kelebihan dibandingkan dengan unggas yang lain. Itik mampu mempertahankan produksi telur lebih lama dibandingkan ayam, tingkat kematiannya kecil, tahan terhadap penyakit, dan pada penggunaan kualitas pakan yang rendah itik masih dapat berproduksi. Komoditas unggulan dari itik adalah daging dan telur. Telur merupakan produk itik yang lebih digemari masyarakat daripada daging itik. Produksi telur itik pada tahun 2005 mencapai 194.957 ton dan pada tahun 2006 meningkat menjadi 201.703 ton.

Konsumsi per kapita telur itik pada tahun 2005 sebesar 0,73 kg/tahun, sedangkan konsumsi per kapita daging itik hanya 0,05 kg/tahun (Ditjenak, 2006).

Telur merupakan salah satu bahan pangan yang mengandung zat gizi protein dan kolesterol. Protein merupakan salah satu indikator penting yang menentukan kualitas telur dan kolesterol, ini merupakan produk khas dari metabolisme hewan. Kandungan protein dan kolesterol pada telur itik lebih tinggi daripada telur ayam. Kandungan protein telur itik sebesar 13,1 g/100g bobot telur dan kolesterol sebesar 14,3 g/100g bobot telur, sedangkan protein telur ayam hanya 12,8 g/100g bobot telur dan kolesterol sebesar 11,5 g/100g bobot telur (Depkes, 1972).

Salah satu ternak itik lokal Indonesia khususnya Sumatera Barat adalah itik pitalah yang berasal dari Kabupaten Tanah Datar. Itik ini dikenal oleh masyarakat sebagai itik petelur yang berproduksi tinggi dan pernah menjadi itik primadona di Sumatra Barat. Dibanding jenis itik kampung lainnya, itik Pitalah memiliki kualitas jauh lebih bagus, baik dari segi produksi telur, lama masa produksi hingga kualitas telur yang dihasilkan. Dalam setahun itik yang berasal dari Kabupaten Tanah Datar, tepatnya di daerah Pitalah itu mampu memproduksi 300 lebih butir telur per-tahun dalam satu betina. Selain itu masa produksi jauh lebih panjang dibanding itik lainnya yakni 12 bulan, dalam artian tidak pernah berhenti bertelur dengan catatan jumlah dan kadar pakan tersedia.

Saat ini kesadaran masyarakat terhadap pola makan yang sehat sudah semakin tinggi. Masyarakat mulai memperhatikan *food safety* yang cenderung menghindari makanan yang rendah kolesterol. Telur merupakan salah satu sumber

kolesterol yang apabila terus dikonsumsi akan menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah sehingga dapat mengakibatkan stroke dan serangan jantung. Hal ini dikhawatirkan akan mengurangi konsumsi telur oleh masyarakat, sehingga penurunan kadar kolesterol pada telur perlu diupayakan. Pengupayaan ini dapat dilakukan dengan pemberian probiotik.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia ataupun ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Probiotik mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol serum darah (Kusumawati *et al.*, 2003). Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) sering digunakan sebagai kultur probiotik dalam produk-produk fermentasi susu atau produk olahannya, fermentasi daging dan fermentasi buah atau sayuran.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Genus bakteri yang tergolong kepada BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibakterium* (Nettles dan Barefoot, 1993).

Penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan probiotik untuk penurunan kadar kolesterol adalah pada telur ayam dengan persentase penurunan 5% pemberian $3,2 \times 10^6$ CFU/g *Bacillus subtilis* (Mahdavi *et al.*, 2005). Yousefi dan Karkoodi (2007) juga sudah telah melakukan penelitian pada ayam broiler, dimana penurunan kadar kolesterol pada kuning telur ayam dengan pemberian

probiotik Thepax® yaitu 9% (dengan pemberian 0,05% probiotik) dan pemberian *Saccaromyces* (ragi) yaitu 7,3% (dengan pemberian 0,15% ragi). Penurunan kolesterol pada kuning telur ayam dengan pemberian *Lactococcus plantarum* asal blondo dalam ransum ayam petelur menurunkan kadar kolesterol kuning telur pada pemberian 3 ml ($3,9 \times 10^8$ CFU/g) probiotik dengan persentase penurunan 53,6% (Purwati, 2011).

Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa tidak semua galur bakteri asam laktat yang diuji menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kadar kolesterol. Kemampuan BAL menurunkan kadar kolesterol disebabkan karena kemampuannya menghasilkan enzim *bile salt hydrolase* (BSH) (Loin, *et al.*, 2005). BSH mampu mendekongugasi asam empedu sehingga menghasilkan garam empedu bebas atau terdekongugasi yang akan disekresi melalui feses (Surono, 2004 dan Loin, *et al.*, 2005). Pembentukan garam empedu bebas yang disekresi melalui feses ini dapat menurunkan kadar kolesterol.

Berdasarkan informasi diatas maka penulis mencoba melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian dosis *Pediococcus pentosaceus* yang diperoleh dari fermentasi kakao hibrida untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kolesterol pada telur itik pitalah.

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrid terhadap kadar kolesterol telur itik pitalah.

2. Bagaimana pengaruh pemberian dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrid terhadap kualitas telur itik pitalah.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan:

1. Mengetahui pengaruh pemberian dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrid terhadap kadar kolesterol telur itik pitalah.
2. Mengetahui pengaruh pemberian dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrid terhadap kualitas telur itik pitalah.

D. Kegunaan Penelitian

1. Sebagai sumber informasi spesies BAL yang berpotensi sebagai probiotik sehingga menambah koleksi pada database penelitian BAL dan dapat dimanfaatkan sebagai pangan probiotik.
2. Memberikan informasi ilmiah bahwa bakteri probiotik *Pediococcus pentosaceus* dapat digunakan sebagai probiotik untuk menurunkan kadar kolesterol pada telur itik pitalah dan meningkatkan kualitas telur itik pitalah.

E. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol dan meningkatkan kualitas telur itik pitalah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Fermentasi Biji Kakao

Fermentasi merupakan suatu proses produksi suatu produk dengan mikroba sebagai organisme pemroses. Fermentasi biji kakao merupakan fermentasi tradisional yang melibatkan mikroorganisme indigen dan aktivitas enzim endogen. Mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi antara lain, *Yeast* (ragi), *Saccharomyces*, *Laktobasillus*, dan *Asetobacter* (Away, 1989). Suhu fermentasi tidak dikontrol, tetapi biasanya dimulai dari suhu 25°C dan meningkat menjadi 45-50°C dari panas yang dihasilkan oleh fermentasi (Fleet G dan Dircks H, 2007).

Pulpa kakao adalah medium yang kaya untuk pertumbuhan mikrobia, yang terdiri dari 82-87% air, 10-15% mono- dan disakarida, 2-3% pentose, 1-3% asam sitrat (yang menyebabkan pH 3,2-3,8) dan 1-1,5% pektin. Sedangkan pada biji kakao mengandung 55-60% lipid, 20% protein, pati, polifenol, antosianin dan alkaloid. (Fleet G, 2007 dan Lafeber T, 2010)

Berdasarkan kebutuhan akan oksigen fermentasi dapat dibagi menjadi dua tipe. Tipe pertama fermentasi aerob, yaitu fermentasi yang dalam prosesnya memerlukan oksigen. Tipe kedua fermentasi anaerob, yaitu fermentasi yang dalam prosesnya tidak memerlukan oksigen (Surono, 2004).

Fermentasi biji kakao pada dasarnya merupakan fermentasi aerob. Fermentasi biji kakao bertujuan untuk menumbuhkan cita rasa, aroma dan warna

yang baik, karena selama proses fermentasi berlangsung beberapa perubahan fisika, kimia dan biologi pada biji. Selama fermentasi terjadi penguraian senyawa polifenol, protein, dan zat gula oleh enzim yang menghasilkan senyawa calon aroma, perbaikan rasa dan perubahan warna (Widyotomo *et al.*, 2001)

Faktor yang berpengaruh terhadap fermentasi meliputi waktu, pembalikan, dan aktifitas mikroba, serta pengurangan kandungan pulpa. Pada proses fermentasi mikroba berperan untuk memecah gula menjadi alkohol dan dilanjutkan pemecahan alkohol menjadi asam asetat (Amin, 2006). Pengadukan adalah suatu cara yang umum diterapkan untuk membantu meningkatkan aerasi kedalam tumpukan biji kakao yang sedang difermentasi. Setelah pengadukan, oksigen yang semula terhalang oleh pulpa dan cairan sisa fermentasi mampu masuk ke dalam tumpukan biji dalam jumlah yang lebih banyak. Kondisi aerobik ini dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat untuk mengubah lebih banyak senyawa alkohol menjadi asam asetat.

Fermentasi anaerob juga dapat dilakukan pada kakao, fermentasi ini biasanya melibatkan bakteri asam laktat dan beberapa *Bacillus*. Fermentasi asam laktat terbagi dua yaitu fermentasi homolaktat dan heterolaktat. Dalam fermentasi homolaktat, semua asam piruvat dirubah menjadi asam laktat sedangkan pada heterolaktat juga dihasilkan produk lain seperti etanol dan CO₂ (Nicklin, Graeme-Cook, Paget and Killington, 1999). Bakteri yang termasuk homolaktat yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaris*, *L.casei*, *L.lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* dan *Pediococcus acidilactici* sedangkan bakteri

heterolakat dilakukan oleh bakteri heterofermentatif yaitu *Lactobacillus brevis*, *L. fermentum*, *Leuconostoc lactis* dan *Weissella confuse* (Radiah, 2008).

Bakteri asam laktat yang dihasilkan oleh fermentasi kakao diantaranya adalah *Lactobacillus cellobiosus* yang tumbuh baik pada suhu 45–47°C, *Lactobacillus plantarum* yang tumbuh baik pada suhu 40–45 °C dan *Lactobacillus hilgardii* yang tumbuh baik pada suhu 40°C (Ardhana dan Graham, 2003). *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, dan *Enterococcus casseliflavus* merupakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi kakao Ghanaian (Camu *et al.*, 2007). *Enterococcus* spp., *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus mali*, *Weissella cibaria*, *Weissella ghanaensis*, *Enterococcus columbae*, *Weissella* sp., *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc durionis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella confuse*, *Weissella paramesenteroides*, *Weissella kimchii* merupakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari kakao Ghanaian dengan jumlah yang sedikit (Camu *et al.*, 2007).

Pediococcus pentosaceus mempunyai kemampuan menghasilkan agen antimikroba (*bacteriocins*) serta penggunaannya dalam pengawetan makanan (Osmanagaoglu *et al.*, 2011). *Pediococcus* adalah mikroba berbentuk *coccus*, gram positif, tidak membentuk spora, tidak bergerak (non-motil) dan dikategorikan sebagai bakteri asam laktat, karena produk akhir metabolisme adalah asam laktat (Osmanagaoglu *et al.*, 2011). *Pediococcus pentosaceus* yang diisolasi dari air susu ibu (ASI) menghasilkan bakteriosin yang aktif pada pH 2-11 (Osmanagaoglu *et al.*, 2011).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Urnemi (2010) menyatakan bahwa *Pediococcus pentosaceus* strain ATCC yang diisolasi dari fermentasi kakao hibrid memiliki sifat antimikroba yang tinggi dan telah diuji pada bakteri patogen (*E. coli*, *S. aureus*, *S. typhii* dan *B. Subtilis*). *Pediococcus pentosaceus* dapat hidup pada suhu 37°C-42°C dan 60°C-121°C. *Pediococcus pentosaceus* ini juga dapat hidup pada pH 4 - 6,5.

B. Probiotik

Bakteri probiotik atau bakteri baik adalah bakteri asam laktat yang hidup di dalam usus, bersimbiosis dengan mikroflora usus yang mampu melawan bakteri patogen di dalam usus, oleh karena itu pemberian probiotik dapat berpengaruh menguntungkan bagi kesehatan. Sebagian besar jenis bakteri pada probiotik berasal dari *Lactobacillus* atau *Bifidobacterium*. Dua golongan bakteri ini mampu memperpanjang masa simpan produk dan secara alami melindungi usus manusia (Saxelin, 1997). Bakteri ini sering dimanfaatkan untuk industri makanan seperti yoghurt, keju, sauerkraut, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, cokelat dan makanan fermentasi lainnya (Khedid *et al.*, 2006).

Karakterisasi bakteri asam laktat yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah diketahui sebagai materi yang tidak berbahaya, dapat hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan, memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen, toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya (Mac Farlane dan

Cummings 2002; Begley *et al.*, 2005; Vesterlund *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2006 dalam Vélez, 2007).

Probiotik memberikan efek fisiologis terhadap kesehatan di dalam pencegahan dan terapi penyakit seperti antikolesterol, antihipertensi, intoleran laktosa, anti karsinogenik, gangguan saluran pencernaan serta alergi. Dengan memperhatikan kesehatan inangnya penambahan probiotik harus memperhatikan konsentrasi antara $10^7 - 10^{11}$ CFU/g per hari untuk manusia dan 10^7-10^9 /g per hari untuk binatang, sehingga dapat berperan untuk menurunkan kadar kolesterol (Ooi dan Min-Tze, 2010).

Sejumlah peneliti juga mengungkapkan beberapa pengaruh positif probiotik bagi kesehatan yaitu sebagai berikut :

- 1) Meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi terutama infeksi usus dan diare;
- 2) Menurunkan tekanan darah/ antihipertensi;
- 3) Menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah;
- 4) Mengurangi reaksi *lactose intolerance*;
- 5) Mempengaruhi respon imun;
- 6) Menurunkan resiko terjadinya tumor dan kanker kolon, dan
- 7) Bersifat antimutagenik serta bersifat antikarsinogenik (Tannock,1999).

C. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan BAL dapat memberikan efek bakterisidal untuk bakteri lain karena dapat menurunkan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. Bakteri asam laktat (BAL) secara luas digunakan sebagai starter untuk fermentasi minuman, daging dan sayuran. Selain itu berperan sebagai bahan flavor dan pengembang warna. Mikroorganisme ini berperan dalam perubahan tekstur, aroma, warna, pencernaan dan kualitas nutrisi produk fermentasi (Kusmiati dan Malik, 2002).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksik, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas *higiene* dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen (Kusmiati dan Malik, 2002). Suardana *et al.* (2007) melaporkan BAL dapat berfungsi sebagai biopreservatif karena kemampuannya untuk menghasilkan substansi antimikroba.

Senyawa yang dihasilkan oleh BAL diantaranya adalah asam organik, suatu peptida yang bersifat antimikroba, berbagai jenis vitamin, asam folat serta senyawa flavor. BAL juga menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan

senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer, asam amino dan bakteriosin (Surono, 2004).

Genus bakteri yang tergolong kepada BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* yang mempunyai potensi untuk digunakan sebagai probiotik (Nettles dan Barefoot, 1993).

D. Kolesterol

Kolesterol adalah suatu substansi seperti lilin yang berwarna putih, secara alami ditemukan di dalam tubuh kita dan juga ditemukan pada produk makanan seperti daging, unggas, ikan, dan produk susu (Ma, 2006). Kolesterol yang berada dalam zat makanan yang kita makan dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Tetapi, sejauh pemasukan ini seimbang dengan kebutuhan, tubuh kita akan tetap sehat. Kolesterol tidak larut dalam cairan darah, untuk itu agar dapat dikirim ke seluruh tubuh perlu dikemas bersama protein menjadi partikel yang disebut Lipoprotein, yang dapat dianggap sebagai pembawa (carier) kolesterol dalam darah (Balai Informasi Teknologi LIPI, 2009).

Kolesterol dibutuhkan dalam tubuh untuk melindungi saraf, membangun membran sel dan memproduksi hormon tertentu. Kolesterol merupakan komponen penting membrane sel dan lipoprotein plasma dan juga merupakan prekursor steroid seperti asam empedu dan juga merupakan bahan dasar pembentukan hormon-hormon steroid (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Kolesterol yang dibutuhkan tersebut, secara normal diproduksi sendiri oleh tubuh dalam jumlah yang tepat. Tetapi ia bisa meningkat jumlahnya karena asupan makanan yang berasal dari lemak hewani, telur dan yang disebut sebagai makanan sampah (*junkfood*) (Ma, 2006). Kolesterol dalam tubuh yang berlebihan akan tertimbun di dalam dinding pembuluh darah dan menimbulkan suatu kondisi yang disebut aterosklerosis yaitu penyempitan atau pengerasan pembuluh darah. Kondisi ini merupakan cikal bakal terjadinya penyakit jantung dan stroke (Ma, 2006).

Faktor penyebab meningkatnya kolesterol di dalam darah menurut Balai Informasi Teknologi LIPI (2009) yaitu faktor genetik dan faktor makanan. Faktor genetik yaitu kemampuan tubuh untuk memproduksi kolesterol, sekitar 80 % dari kolesterol di dalam darah diproduksi oleh tubuh sendiri. Ada sebagian orang yang memproduksi kolesterol lebih banyak dibandingkan yang lain. Ini disebabkan karena faktor keturunan. Pada orang ini meskipun hanya sedikit saja mengkonsumsi makanan yang mengandung kolesterol atau lemak jenuh, tetapi tubuh tetap saja memproduksi kolesterol lebih banyak. Faktor makanan yaitu asupan lemak yang berlebih.

Ma (2006) menjelaskan bahwa Kolesterol terbagi dua yaitu

- (a) Kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*). Kolesterol ini tidak berbahaya karena dapat membuang kelebihan kolesterol jahat (LDL) pada pembuluh darah arteri kembali ke hati, untuk diproses dan dibuang. HDL mencegah kolesterol mengendap pada arteri dan melindungi

pembuluh darah dari proses Aterosklerosis (terbentuknya plak pada dinding pembuluh darah). Kolesterol ini disebut kolesterol baik.

- (b) Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*), jenis kolesterol ini berbahaya sehingga sering disebut juga sebagai kolesterol jahat. Kolesterol LDL mengangkut kolesterol paling banyak di dalam darah. Tingginya kadar LDL menyebabkan pengendapan kolesterol dalam arteri.

1. Mekanisme kolesterol

Kolesterol diproduksi oleh hati, mekanisme kerja kolesterol adalah kolesterol dibawa oleh lipoprotein yang bernama LDL (*Low Density Lipoprotein*) untuk dibawa ke sel-sel tubuh yang memerlukan, termasuk ke sel otot jantung, otak dan lain-lain agar dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Kelebihan kolesterol yang diangkut oleh LDL akan diangkut kembali oleh lipoprotein yang disebut HDL (*High Density Lipoprotein*) untuk dibawa kembali ke hati yang selanjutnya akan diuraikan lalu dibuang ke dalam kandung empedu sebagai asam (cairan) empedu (Lehninger, 1982).

LDL mengandung lebih banyak lemak daripada HDL sehingga ia akan mengambang di dalam darah. LDL dianggap sebagai lemak yang "jahat" karena dapat menyebabkan penempelan kolesterol di dinding pembuluh darah. Sebaliknya, HDL disebut sebagai lemak yang "baik" karena dalam operasinya ia membersihkan kelebihan kolesterol dari dinding pembuluh darah dengan mengangkutnya kembali ke hati. HDL ini mempunyai kandungan lemak lebih sedikit dan mempunyai kepadatan tinggi sehingga lebih berat (Balai Informasi Teknologi LIPI, 2009)

2. Biosintesis kolesterol

Tahap-tahap biosintesis kolesterol, yaitu:

- a. Sintesis asam mevalonat berantai karbon 6 dari asetil-CoA
- b. Asam mevalonat membentuk unit isopren yang aktif yaitu isopentil pirofosfat.
- c. Enam unit isopren berkondensasi membentuk senyawa antara yaitu squalen.
- d. Squalen mengalami siklisasi dan menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol
- e. Perubahan lanosterol menjadi kolesterol

Sintesis kolesterol terjadi dalam mikrosom dan sitosol sel (Lehninger, 1982).

3. Pembentukan Kolesterol Telur

Hammad, Siegel dan Marks (1996) menyatakan bahwa kolesterol pada kuning telur disintesis dalam hati unggas, kemudian ditransportasi oleh darah dalam bentuk lipoprotein dan tersimpan dalam folikel pertumbuhan dan diteruskan ke ovarium.

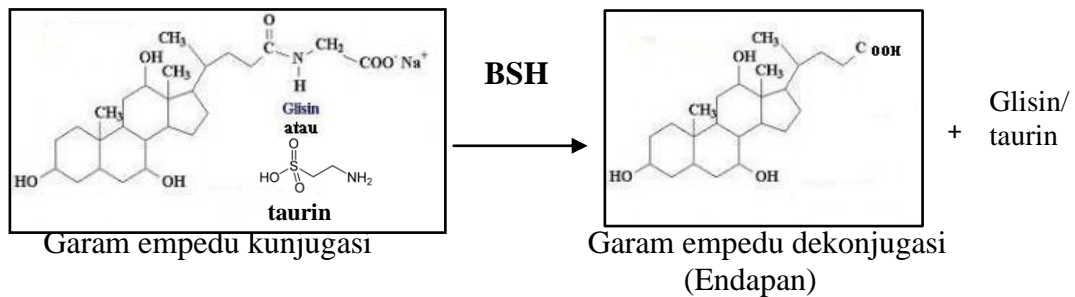
E. Peran Probiotik BAL terhadap Kolesterol

Kolesterol merupakan bagian lemak yang cenderung menempel di dinding pembuluh darah sehingga lama kelamaan menimbulkan penyempitan pembuluh darah, berlanjut dengan gangguan jantung bahkan stroke (Ma, 2006). Kadar kolesterol dapat diturunkan salah satunya adalah dengan mengonsumsi probiotik (Ooi dan Liong, 2010). Probiotik merupakan organisme hidup yang bila

dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia ataupun ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan (Kusumawati, Bettysri, Siswa, Ratihdewanti dan Hariadi, 2003).

Pengaruh bakteri probiotik terhadap penurunan kadar kolesterol diduga karena kemampuannya dalam mengasimilasi kolesterol (Pereira dan Glenn, 2002) dan mendekongugasi asam empedu (Lion dan Shah, 2005 dan Lamber, Riger, Willem dan Michiel, 2008). Bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan spesifik akan bekerja efektif apabila dapat bertahan pada kondisi yang ada dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu strain dari bakteri asam laktat tersebut harus tahan terhadap garam empedu dan kondisi asam lambung apabila dikonsumsi (Surono, 2004).

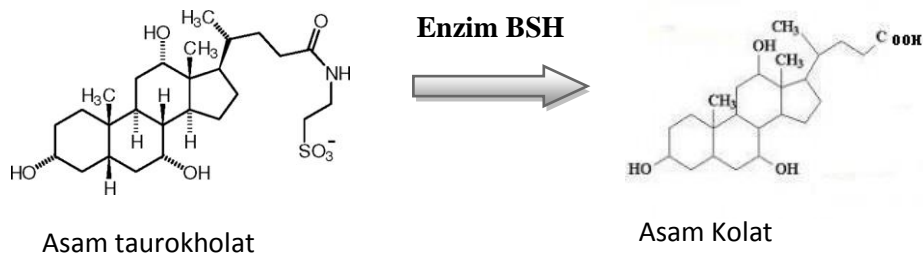
Proses dekonjugasi ini terjadi karena bakteri memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) yang dapat menghidrolisis atau memutuskan ikatan C-24 N-acyl amida yang terbentuk diantara asam empedu dan asam amino pada garam empedu terkonjugasi. Proses dari dekonjugasi menghasilkan garam empedu terdekonjugasi (*Unconjugated Bile Salt*) yang memiliki tingkat solubilitas/kelarutannya di dalam pH fisiologis lebih rendah, sehingga garam empedu terdekonjugasi lebih hidrofobik, kurang ionik dan secara pasif dapat langsung diabsorpsi oleh mukosa usus kembali ke hati melalui peredaran darah. Garam empedu terdekonjugasi memiliki kemampuan antimikroba yang rendah, sehingga tidak terlalu membahayakan kehidupan bakteri (Astuti dan Ana, 2010). Proses dekonjugasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Peranan BAL membentuk asam empedu dekonjugasi

Garam empedu yang bergabung dengan taurin dan glisin merupakan garam empedu terkonjugasi. Garam empedu terkonjugasi adalah suatu senyawa amphipatik, yang salah satu sisinya dapat larut dalam air (*polar/hydrophilic*) dan sisi lainnya tidak larut dalam air (*nonpolar/hydrophobic*). Struktur amphipatik ini mampu mengakumulasi atau menggabungkan antara air dan minyak/lemak dan menstabilkannya (Astuti dan Ana, 2010).

Strain bakteri asam laktat yang memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH), berperan dalam membentuk asam empedu dekonjugasi dengan penghilangan molekul air antara glisin dengan asam kolat menghasilkan asam kolat bebas (*unconjugated bile acid*). Asam kolat bebas tidak mudah diserap oleh usus halus dibanding asam empedu yang berikatan dengan glisin. Asam empedu dekonjugasi (asam kolat bebas) akan terbuang lewat feses sehingga jumlah asam empedu yang kembali ke hati berkurang. Untuk menyeimbangkan jumlah asam empedu, tubuh akan mengambil kolesterol tubuh sebagai prekursor. Proses itu pada gilirannya akan menurunkan kadar kolesterol darah secara keseluruhan. (Surono, 2004). Reaksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi garam empedu dengan enzim BSH/ dekonjugasi garam empedu

Khusus BAL *Lactobacillus acidophilus* mempunyai kemampuan menurunkan kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh dengan cara pengikatan kolesterol oleh sel bakteri sehingga menyebabkan turunnya kadar kolesterol (Suroño, 2004).

F. Itik Pitalah (*Anas spp*)

Ternak itik yang ada di Indonesia menurut para ahli berasal dari Amerika Utara yang merupakan itik liar (*Anas moscha*) atau *Wild mallard* yang sampai saat ini masih banyak tersebar diseluruh dunia. Itik turunan *Mallard* di Indonesia dikenal dengan berbagai macam nama seperti itik tegal, itik alabio, itik bali dan itik mojosari. Ternak itik merupakan komoditi ternak unggas yang potensial sebagai penghasil telur dan daging (Ranto dan Maloendyn, 2005).

Propinsi Sumatera Barat merupakan suatu propinsi yang kaya akan sumberdaya peternakan yaitu sebagai sumber daya genetik, baik itu yang disinyalir sebagai ternak asli Propinsi Sumatera Barat maupun ternak-ternak hasil persilangan yang sudah banyak dimanfaatkan oleh petani di pedesaan. Diantara ternak-ternak itu adalah itik Bayang yang hidup di desa Bayang Kabupaten Pesisir

Selatan dan itik Pitalah yang hidup di Pitalah Kabupaten Tanah Datar. Ternak itik merupakan salah satu komoditi peternakan yang populer dikembangkan di pedesaan Sumatera Barat, selain sebagai sumber plasma nutfah, ternak itik terbukti berperan besar sebagai penyedia daging dan telur bagi masyarakat (Ranto dan Maloendyn, 2005).

Populasi ternak itik di Sumatera Barat sekitar 1,19 juta ekor pada tahun 2009. Populasi ternak itik di Sumatera Barat mengalami peningkatan. Data selama tahun 2007 - 2009 menunjukkan bahwa populasinya meningkat dari 1 juta ekor pada tahun 2007 dan menjadi hanya 1,19 juta ekor di tahun 2009 (Disnak Pemprov Sumbar, 2010).

Itik pitalah adalah galur itik lokal yang terdapat di Kabupaten Tanah Datar Propinsi Sumatera Barat. Itik ini dikenal oleh masyarakat sebagai itik petelur yang berproduksi tinggi dan pernah menjadi itik primadona di Sumatra Barat. Dibanding jenis itik kampung lainnya, itik Pitalah memiliki kualitas jauh lebih bagus, baik dari segi produksi telur, lama masa produksi hingga kualitas telur yang dihasilkan.

Itik yang berasal dari Kabupaten Tanah Datar, tepatnya di daerah Pitalah dalam setahun mampu memproduksi 300 lebih butir telur dalam satu betina. Selain itu masa produksi jauh lebih panjang dibanding itik lainnya yakni 12 bulan, dalam artian tidak pernah berhenti bertelur dengan catatan jumlah dan kadar pakan tersedia.

Ciri-ciri itik pitalah menurut Yelita (1998) diantaranya adalah:

- Memiliki warna bulu hitam,
- Paruh kehitam-hitaman,
- Badan yang proporsional,
- Kepala kecil
- Warna telur biru,
- Gesit dan Mudah dipelihara,
- Itik akan mulai bertelur jika usianya sudah memasuki 6 bulan perawatan.

Ciri-ciri itik pitalah dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Itik Pitalah (Sumber : Dokumentasi hasil survey lapangan Hendri, 2011)

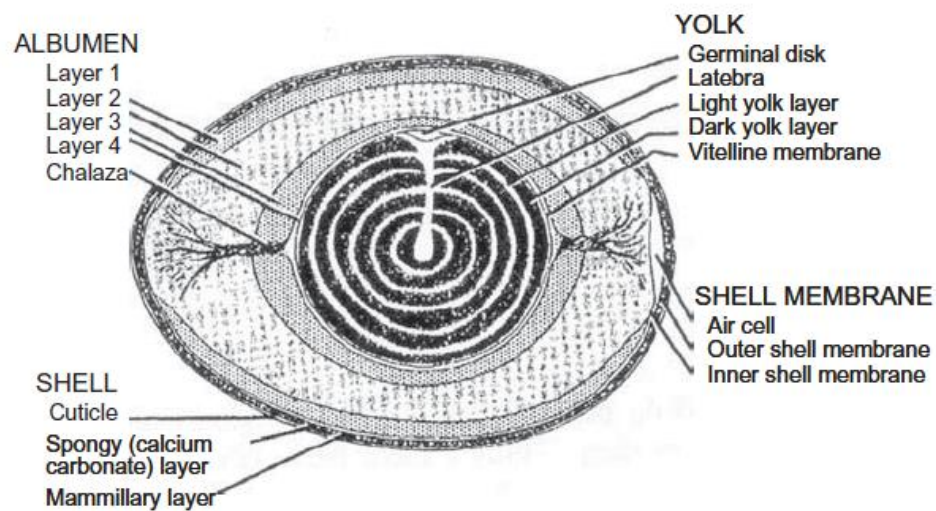
G. Telur Itik

Telur-telur spesies burung telah lama diakui sebagai sumber yang sangat baik untuk nutrisi bagi manusia. Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian yang inovatif mengungkapkan keragaman struktur dan fungsi komponen dalam telur dan telah memicu meningkatnya penelitian tentang telur. Aplikasi ini sedang

dikembangkan untuk mengetahui keuntungan tidak hanya dari kontribusi gizi dan fungsional telur dalam produk makanan, tetapi juga dari komponen bioaktif yang dapat digunakan sebagai nutraceutical dan bahan makanan fungsional dengan potensi untuk mengurangi risiko penyakit dan meningkatkan kesehatan manusia (Ranto dan Maloendyn, 2005).

a. Struktur Telur

Telur terdiri dari tiga bagian utama yaitu cangkang, albumin atau putih telur, dan kuning telur. Kuning telur dikelilingi oleh albumin dan diselubungi oleh selaput cangkang dan sebuah cangkang keras (Gambar 4).



Gambar 4. Struktural komponen cangkang, membran cangkang, albumin, dan kuning telur (Mine, 2008)

b. Komposisi Kimia Telur

Perkiraan komposisi kimia telur yaitu mineral, vitamin, asam lemak, asam amino, dan pigmen (USDA 2006). Kandungan air pada telur sekitar 75% dari berat total bagian telur yang dapat dimakan, sedangkan

lipid dan protein adalah kontributor utama nilai gizi. Sejumlah kecil karbohidrat (hadir dalam bentuk gula sederhana, termasuk glukosa, sukrosa, fruktosa, laktosa, maltosa, dan galaktosa) dan mineral (mine, 2008).

Telur merupakan hasil utama dari sebuah peternakan itik petelur. Telur itik memiliki nilai gizi tinggi dibandingkan dengan telur ayam. Telur itik mengandung protein, kalori, dan lemak lebih tinggi dibandingkan telur ayam.

c. Warna Kuning Telur

Warna kuning telur bervariasi yaitu disebabkan oleh a) *xantofil*, b) perbedaan strain dan variasi individu, c) jenis kandang (kandang baterai lebih baik), d) morbiditas, jika ayam sakit akan mengurangi kemampuan absorpsi xantofil mencapai ovarium, e) stres, akan mengurangi xantofil mencapai ovarium, f) bahan tambahan, adanya meat scraps dan sulfur menurunkan warna kuning telur karena rendahnya penyerapan pigmen, dan g) rasio telur perjumlah makanan, laju pertumbuhan yang tinggi memerlukan xantofil dalam ransum yang tinggi pula (North, 1990).

Kualitas warna kuning telur ditentukan dengan menggunakan kipas *Roche Yolk Colour Fan* pada tempat yang terang oleh orang yang tidak buta warna, yakni dengan cara membandingkan kuning telur dengan berbagai standar yang berupa lembaran kipas warna dengan skor 1-15 dari yang pucat sampai orange tua (Abbas, 1989). Menurut Meaty (1994) semakin kuning warna kuning telur semakin baik kualitas telur tersebut.

d. Kerabang Telur

Kerabang telur merupakan bagian telur yang keras. Dimana bagian ini tersusun dari 95,1% garam-garam organik, 3,3% bahan organik (terutama protein), dan 1,6% air. Bahan-bahan organik yang membentuk kerabang telur terdiri dari kalsium (Ca), magnesium (Mg), fosfor (P), besi (Fe) dan belerang (S), terutama dalam bentuk persenyawaan kalsium karbonat (CaCO_3) sekitar 98,5% dan magnesium karbonat (MgCO_3) sekitar 0,85% (Sarwono, 1994).

Anggorodi (1985) menyatakan bahwa tebal kerabang telur dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, genetik, makanan, lingkungan, produksi dan penyakit. Menurut Wahju (1997) tingkat kalsium dalam ransum merupakan prosedur untuk mengontrol kualitas kulit telur. Kelebihan kalsium sering mengakibatkan penimbunan kalsium secara lokal pada kulit telur. Sedangkan kelebihan fosfor dan defisiensi mangan akan mengakibatkan kulit telur menjadi tipis dan lemah.

e. Haugh Unit Telur

Haugh Unit adalah satuan kualitas telur yang ditentukan berdasarkan hubungan logaritma pengukuran tinggi albumen dalam milimeter dan berat telur dalam gram (Wahju, 1997). Sugandi (1973) menyatakan bahwa nilai Haugh Unit dipengaruhi oleh tingkat energi ransum, protein ransum dan interaksi antara tingkat energi dan protein ransum. Abbas (1980) menyatakan bahwa Haugh Unit dinyatakan dengan persamaan :

$$\text{HU} = 100 \log \left[\text{H} - \sqrt{\frac{\text{G}(30\text{W}^{0.37} - 100)}{100}} + 1.9 \right]$$

Penentuan kualitas telur berdasarkan Haugh Unit menurut standar USDA (United State Departement of Agriculture) adalah: a) kelas AA untuk nilai Haugh Unit lebih dari 72, b) kelas A untuk nilai Haugh Unit antara 60-71, c) kelas B untuk niali Haugh Unit antara 31-60, d) kelas C untuk nilai Haugh Unit kurang dari 31. Semakin tinggi Haugh Unit telur menunjukkan bahwa kualitas telur tersebut semakin baik (Sudaryani, 2003).

BAB III METODA PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2011 sampai dengan bulan Oktober 2011 di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak dan Laboratorium Kesehatan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Sementara untuk uji biologis dilaksanakan di kandang itik Laboratorium.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Alat untuk kandang ternak yaitu bambu yang berukuran 1 x 0,5 m per unitnya. Timbangan untuk menimbang ransum, tempat pakan itik dan tempat minum (Lampiran 2).
2. Alat yang digunakan untuk menghitung koloni bakteri: autoklaf, *laminar air flow cabinet*, cawan petri, botol media, tabung reaksi, erlenmeyer 250 ml, jarum ose, bunsen, magnetic stirer dan hot plate, *eppendorf*, inkubator, *vortex*, timbangan analitik, gelas ukur, kaca benda (*preparat*), *aluminium foil*, tip pipet mikro, *an aerob jar* atau desikator, pipet mikro 100 μ l.
3. Alat untuk menentukan kadar kolesterol telur itik: tabung reaksi, hot plate, inkubator dan Spektrofotometer *clinical chemistry analyzer*.

2. Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah:

1. *Pediococcus pentosaceus* (isolat Urnemi, 2010) yang diisolasi dari fermentasi kakao hibrid
2. Itik Pitalah yang berumur 5 bulan diambil dari Pitalah Kec. Batipuk Kab. Tanah Datar
3. Bahan untuk menyusun ransum terdiri dari jagung, dedak, kepala ikan, daun pepaya dan kangkung (Lampiran 3).
4. Bahan untuk menghitung koloni BAL adalah *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth (Merck), MRS agar (Merck), aquabidest (ddH₂O), Pepton Water (Bacto).
5. Bahan untuk uji kolesterol adalah alkohol p.a., aseton p.a. dan kit kolesterol.

C. Rancangan Percobaan

Metoda penelitian ini merupakan metoda penelitian eksperimental dengan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 x 3. Dimana ada 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan, sebagai perlakuan adalah dosis probiotik *Pediococcus pentosaceus* asal fermentasi kakao hibrida yang diberikan pada itik. Perlakuan yang diberikan adalah:

Perlakuan A : Sebagai Kontrol

Perlakuan B : Pemberian 1 ml *Pediococcus pentosaceus* ($1,27 \times 10^7$ CFU/g)

Perlakuan C : Pemberian 2 ml *Pediococcus pentosaceus* ($2,54 \times 10^7$ CFU/g)

Perlakuan D : Pemberian 3 ml *Pediococcus pentosaceus* ($3,81 \times 10^7$ CFU/g)

Model matematika dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Steel dan Torrie (1991) adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata sesungguhnya

α_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Galat

i = A, B, C, D, E (perlakuan)

j = 1,2,3 (ulangan)

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan menggunakan sidik ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*), seperti pada Tabel 2. berikut:

Tabel 1. Analisis Keragaman

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	n-1	JKP	JKP/dbp	KTP/KTG	
Galat	R	JKG	JKE/dbg		
Total	(r+n)-1	JKT			

D. Prosedur Kerja

1. Penghitungan Koloni Bakteri

Timbang 1 gr fermentasi kakao hibrid yang diperoleh dari penelitian sebelumnya dicampurkan kedalam 9 mL MRS Broth (Merk), lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 1 : 9 atau 10^{-1} kemudian

dimasukkan kedalam jar anaerobik dan di inkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah di inkubasi, sampel diencerkan menggunakan 0,9 mL *pepton water* yang berada di dalam tabung eppendorf melalui proses pengenceran (*serial delution*) sampai 10⁻⁹ dengan cara diambil 0,1 mL dari enrichment/10⁻¹ lalu ditambahkan kedalam tabung eppendorf yang berisi 0,9 mL *pepton water* sehingga didapat pengenceran 10⁻², diambil 0,1 mL dari pengenceran 10⁻² ditambahkan kedalam tabung eppendorf yang berisi 0,9 mL *pepton water* sehingga didapatkan pengenceran 10⁻³ dan seterusnya hingga didapatkan pengenceran 10⁻⁹. Kemudian di lanjutkan dengan proses penanaman (*planting*) dimana diambil 0,1 mL dari tabung eppendorf pada pengenceran 10⁻⁹ lalu ditanamkan pada medium MRS agar (Merck), kemudian dimasukkan dalam jar anerobik dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Total koloni diukur dengan Quebec Colony Counter (*Colony-Forming Unit*). Perhitungan total koloni bakteri adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{CFU/g} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \times \frac{1}{\text{faktor berat sampel}} \\ \text{CFU/g} &= 127 \times \frac{1}{10^9} \times \frac{1}{1 \text{ gr}} \\ &= 1,27 \times 10^7 \text{ CPU/g} \end{aligned}$$

Kemudian selanjutnya diberi pada itik Pitalah sesuai dengan perlakuan, pemberian probiotik dilakukan secara oral pada itik satu persatu sesuai dengan dosis perlakuan. Pemberian dilakukan selang waktu 10 hari selama 1 bulan.

E. Pengamatan

a. Kolesterol Telur Itik

- Cara ekstraksi bahan untuk analisis kadar kolesterol menurut Plummer (1978) (Lampiran 4):

a. Ekstraksi Kuning Telur

1. Kuning telur ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 10 ml etanol p.a : aseton p.a (1:1).
2. Pelarut dengan sampel dipanaskan didalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 15 menit (pelarut tinggal setengah).
3. Pelarut yang tinggal disaring dengan menggunakan kertas Whatman 41.
4. Residu sampel dilarutkan kembali dengan 5 ml etanol p.a : aseton p.a (1:1), kemudian dipanaskan kembali pada suhu 60°C selama 10 menit. Pelarut yang tersisa disaring.
5. Hasil ekstraksi yang no. 1 dan no. 4 digabung selanjutnya dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 60°C sehingga volume pelarut yang tertinggal adalah 1 ml. Larutan ekstraksi ini kemudian dianalisa kadar kolesterolnya.

b. Ekstraksi Campuran Kuning dan Putih Telur

1. Telur di pecah dan digabung kuning dan putih dengan cara di kocok, kemudian ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml etanol p.a : aseton p.a (1:1).

2. Pelarut dengan sampel dipanaskan didalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 15 menit (pelarut tinggal setengahnya).
 3. Pelarut yang tinggal disaring dengan menggunakan kertas Whatman 41.
 4. Residu sampel dilarutkan kembali dengan 5 ml etanol p.a : aseton p.a (1:1), kemudian dipanaskan kembali pada suhu 60°C selama 10 menit. Pelarut yang tersisa disaring.
 5. Hasil ekstraksi yang no. 1 dan no. 4 digabung selanjutnya dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 60°C sehingga volume pelarut yang tertinggal adalah 1 ml. Larutan ekstraksi ini kemudian dianalisa kadar kolesterolnya.
- Analisis kolesterol dengan metode Warna Enzimatik (SHM, 2000) (Lampiran 5)
 1. Sebanyak 1 ml reagent (kit) kolesterol dipipetkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan hasil ekstraksi sebanyak 0,01 ml.
 2. Larutan kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar sehingga warna larutan berubah menjadi warna lembayung (Lampiran 6).
 3. Pembuatan blanko: 1 ml kit kolesterol dipipet ke dalam tabung reaksi. Blanko dibuat sebagai pembanding. Setiap satu analisa dibuatkan satu seri blanko.
 4. Blanko dimasukkan ke dalam sel spektrofotometer setelah diarahkan pada panjang gelombang 550 nm, setelah angka dimonitor

menunjukkan angka 0 dimasukkan sampel yang akan dibaca. Kadar kolesterol merupakan angka yang terbaca di monitor spektrofotometer.

b. Warna Kuning Telur

Diukur dengan menggunakan “*Roche Yolk Colour Fan*”. Caranya dengan membandingkan warna kuning telur pada kipas standar kuning telur (Lampiran 7).

c. Tebal Kerabang Telur

Pengukuran tebal kerabang telur dalam satuan milimeter dengan menggunakan alat Micrometer.

d. Haugh Unit Telur

Mula-mula dilakukan penimbangan berat telur, kemudian dipecah secara hati-hati dan letakkan di tempat yang datar (kaca). Setelah itu ukur ketebalan putih telur (dalam mm) dengan Depth Micrometer berkaki tiga. Bagian putih telur yang diukur dipilih diantara pinggir kuning telur dan pinggir putih telur.

Rumus Haugh Unit sebagai berikut:

$$HU = 100 \log \left[H - \sqrt{\frac{G(30W^{0.37} - 100)}{100}} + 1.9 \right]$$

Keterangan:

- HU = Haugh Unit
- H = Tinggi albumen (mm)
- G = Konstanta gravitasi (32,2)
- W = Bobot telur (g)

BAB IV PEMBAHASAN

A. Kolesterol Telur Itik Pitalah

Rataan kolesterol kuning telur dan campuran kuning dan putih telur dengan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* pada itik pitalah petelur selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Kolesterol Telur Itik Selama Penelitian

Perlakuan	Kolesterol Kuning Telur (mg/dl)	Kolesterol Campuran Kuning dan Putih Telur (mg/dl)
A (control / tanpa pemberian)	239,81 ^a	153,55 ^a
B (1 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	234,13 ^b	139,64 ^b
C (2 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	219,87 ^c	102,6 ^c
D (3 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	118,62 ^d	75,37 ^d

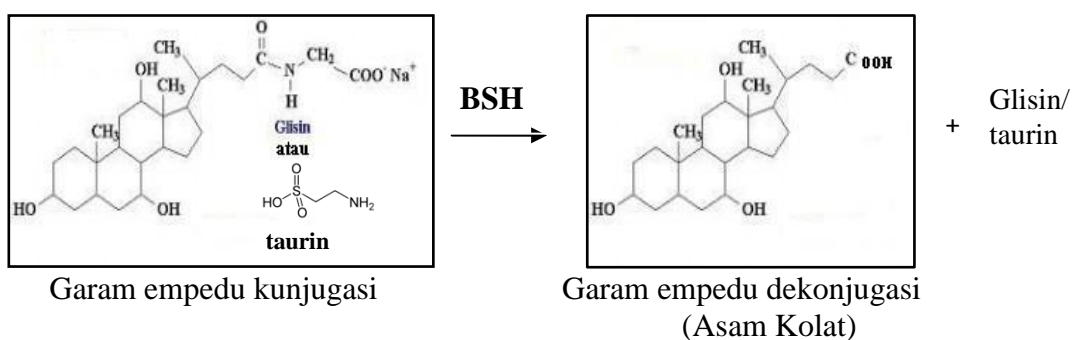
Ket: superkrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada $P < 0,05$ terhadap kolesterol kuning telur itik perlakuan dan campuran kuning dan putih telur itik perlakuan. Berdasarkan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT), terlihat bahwa perlakuan pemberian probiotik berbeda nyata ($P < 0,05$) menurunkan kadar kolesterol kuning telur dan campuran kuning dan putih telur dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian probiotik. Ini disebabkan adanya BAL dalam saluran pencernaan yang mampu menurunkan kolesterol (Lee *et al.*, 2009).

Kolesterol pada kuning telur yang didapat selama penelitian dari perlakuan B, C dan D berturut-turut adalah 234,13 mg/dl, 219,70 mg/dl dan 118,62 mg/dl. Kolesterol pada campuran kuning dan putih selama perlakuan B, C dan D berturut-turut adalah 139,64 mg/dl, 102,60 mg/dl dan 75,37 mg/dl. Adanya penurunan kadar kolesterol pada kuning telur maupun campuran kuning dan putih dari perlakuan disebabkan semakin besar jumlah probiotik yang diberikan sehingga semakin tinggi jumlah mikroba di dalam saluran pencernaan. Pemberian 1 ml *Pediococcus pentosaceus* setara dengan $1,27 \times 10^7$ CFU/g. Peningkatnya jumlah mikroba mengakibatkan terhambatnya kerja enzim Hydroxi Metyl Glutaryl-KoA reduktase (HMG-KoA reduktase) yang berperan dalam pembentukan mevalonat dalam proses sintesis kolesterol sehingga tidak terbentuknya kolesterol. Sesuai dengan Voet *et al.* (1999) dan Sudha *et al.* (2009) menyatakan penurunan kolesterol terjadi karena senyawa yang dihasilkan mikrobia berkompetisi dengan HMG-KoA untuk berikatan dengan enzim HMG-KoA reduktase.

Mahdavi *et al.* (2005) juga menjelaskan bahwa pemberian probiotik pada ayam meningkatkan kualitas telur ayam diantaranya penurunan kadar kolesterol dan trigilserida telur ayam. Hammad, Siegel dan Marks (1996) menyatakan bahwa kolesterol pada telur di sintesis dalam hati unggas, kemudian dibawa oleh darah dalam bentuk lipoprotein dan tersimpan dalam folikel pertumbuhan dan diteruskan ke ovarium. BAL sebagai probiotik mampu menurunkan kolesterol sehingga kolesterol yang akan diteruskan ke ovarium akan berkurang dan menyebabkan turunnya kolesterol telur.

Penurunan kolesterol disebabkan karena kemampuan probiotik dalam mendekongugasi garam empedu (Liong dkk, 2005). Proses dekonjugasi terjadi karena bakteri probiotik memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) (*cholyglycine hydrolase*; EC 3.5.1.24) yaitu enzim yang mengkatalisis hidrolisis glisin- dan taurin-garam empedu terkonjugasi menjadi residu asam amino dan garam empedu bebas (asam empedu) (Lion dkk, 2005). Mekanismenya adalah BSH menghidrolisis atau memutuskan ikatan C-24 N-Acyl amida yang terbentuk diantara asam empedu dan asam amino pada garam empedu terkonjugasi menghasilkan garam empedu terdekonjugasi dan glisin/taurin. Garam empedu terdekonjugasi memiliki tingkat kelarutan rendah, lebih hidrofobik dan secara paif langsung diserap oleh mukosa usus kembali ke hati melalui peredaran darah (Astuti dan Ana, 2010). BSH juga berperan dalam penghilangan molekul air antara glisin/taurin dengan asam kolat yang menghasilkan asam kolat bebas (*uncinjugated bile salt*). Reaksinya dapat dilihat pada reaksi Gambar 5.



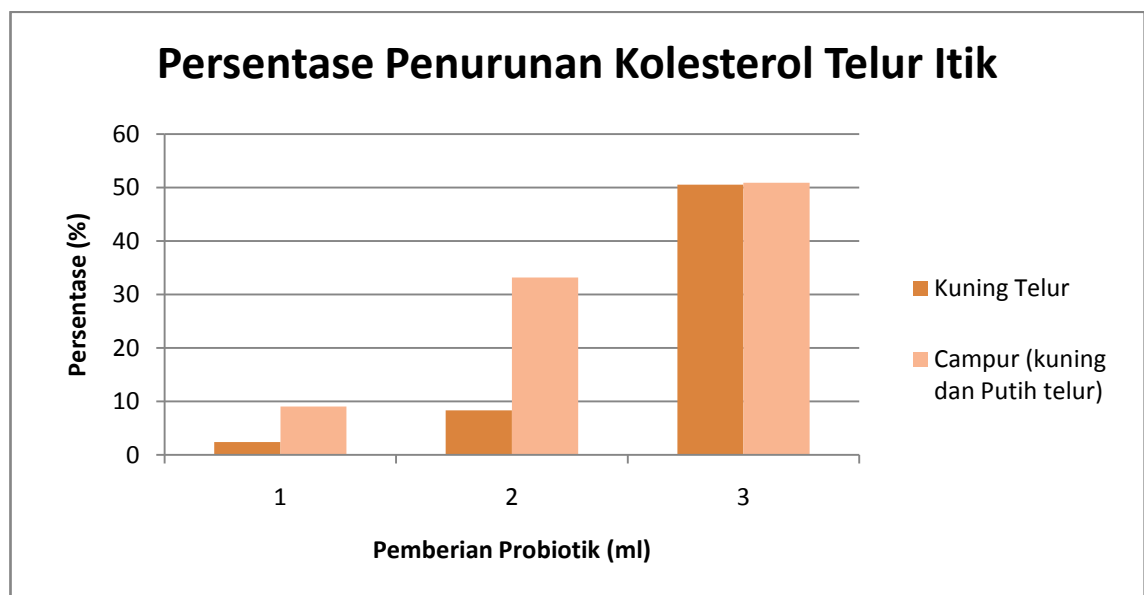
Gambat 5. Reaksi Dekonjugasi Garam Empedu

Asam kolat yang terbentuk kurang diserap oleh usus halus dibandingkan garam empedu terkonjugasi, dengan demikian asam empedu yang kembali ke hati selama sirkulasi enterohepatik menjadi berkurang dan terbuang melalui feses

(surono, 2004). Jadi asam empedu terdekonjugasi (asam kolat) akan terbuang melalui feses dan mengakibatkan semakin banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi sehingga menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh dan juga berkurangnya tranfer kolesterol pada ovarium itik, sehingga kolesterol yang terkandung pada telur itik juga menurun.

Menurunnya kolesterol pada telur itik mengindikasikan bahwa dengan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh sangat nyata dan membuktikan bahwa probiotik dapat memberikan dampak yang positif untuk kesehatan.

Pengaruh pemberian probiotik dapat di lihat pada gambar dibawah:



Gambar 6. Persentase Penurunan Kolesterol Telur itik

Grafik diatas menggambarkan bahwa pengaruh pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* terhadap kadar kolesterol adalah pada penambahan 1 ml, 2 ml dan 3 ml *Pediococcus pentosaceus* persentase penurunannya secara berturut-turun adalah 2,4%, 8,35% dan 50,5% untuk kuning telur dan 9,1%,

33,20% dan 50,9% untuk campuran kuning dan putih telur. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian *Pediococcus pentosaceus* pada itik dapat menurunkan kolesterol pada telur itik.

B. Warna Kuning Telur Itik Pitalah

Rataan warna kuning telur dengan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* itik petelur selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Warna Kuning Telur Itik Selama Penelitian

Perlakuan	Warna Kuning Telur
A (control / tanpa pemberian)	7,17 ^a
B (1 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	7,17 ^a
C (2 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	7,17 ^a
D (3 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	7 ^a

Keterangan : Superskrip yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0.05$)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap warna kuning telur itik perlakuan. Berdasarkan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT), terlihat bahwa perlakuan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hal ini disebabkan probiotik yang diberikan tidak memiliki keistimewaan untuk mempengaruhi warna kuning telur (Lampiran 7)

North (1984) menyatakan bahwa warna kuning telur dipengaruhi oleh xantofil, pada jagung terdapat sumber xantofil yang sangat menentukan terhadap warna kuning telur. Namun pada penelitian ini jumlah jagung yang diberikan sama pada setiap perlakuan sehingga tidak mempengaruhi warna kuning telur.

C. Tebal Kerabang Telur Itik Pitalah

Rataan tebal kerabang telur dengan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* pada itik petelur selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan Tebal Kerabang Telur Itik Selama Penelitian

Perlakuan	Tebal Kerabang Telur (mm)
A (control / tanpa pemberian)	0,49 ^a
B (1 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	0,51 ^a
C (2 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	0,51 ^a
D (3 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	0,52 ^a

Keterangan : Superskrip yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0.05$)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata pada $P>0,05$ terhadap tebal kerabang telur itik perlakuan. Berdasarkan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT), terlihat bahwa perlakuan yang diberi probiotik *Pediococcus pentosaceus* tidak berbeda nyata ($P>0,05$), namun ada peningkatan 0,01 poin dibandingkan A (kontrol/tanpa pemberian). Aghaii *et al.* (2010) melaporkan bahwa pemberian probiotik tidak berpengaruh signifikan terhadap ketebalan kerabang telur. Mahdavi *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa ketebalan kerabang telur tidak berpengaruh terhadap pemberian probiotik. Nahashon *et al.* (1994) menjelaskan bahwa penurunan pH pada usus ayam petelur disebabkan pemberian probiotik akan meningkatkan serapan kalsium dan fosfor dari pakan di dalam usus halus dan mineralisasi tulang serta kerabang telur. Pada penelitian ini pemberian *Pediococcus pentosaceus* tidak memberikan efek terhadap ketebalan kerabang telur.

D. Haugh Unit Telur Itik Pitalah

Rataan Haugh unit telur dengan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* pada itik pitalah petelur selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Haugh Unit Telur Itik Selama Penelitian

Perlakuan	Haugh Unit
A (control / tanpa pemberian)	80,62 ^a
B (1 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	85,79 ^b
C (2 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	76,53 ^c
D (3 ml <i>Pediococcus pentosaceus</i>)	93,32 ^d

Ket: superkrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata pada $P < 0,05$ terhadap Haugh Unit telur itik perlakuan. Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT perlakuan pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), dimana Haugh Unit telur perlakuan meningkat dibanding dengan perlakuan A (kontrol/tanpa pemberian).

Nilai yang didapat dari perlakuan pemberian *Pediococcus pentosaceus* pada perlakuan B, C dan D secara berturut-turut adalah 85,79; 76,53 dan 93,32 dan kontro/tanpa perlakuan adalah 80,62. Pada perlakuan 2 mL nilai Haugh Unit tidak berpengaruh signifikan terhadap perlakuan A, B dan C.

Tingginya Haugh Unit pada perlakuan yang diberi probiotik *Pediococcus pentosaceus* disebabkan kualitas protein yang dikonsumsi karena protein sangat penting bagi produksi itik. Pada penelitian ini jumlah protein yang diberikan sama akan tetapi jumlah protein yang terserap berbeda karena probiotik *Pediococcus pentosaceus* mampu menghasilkan enzim proteolitik yang berfungsi sebagai

pengurai protein sehingga dengan pemberian probiotik mampu mempengaruhi berat telur dan menunjukkan pengaruh yang sama pada Haugh Unit karena Haugh Unit dipengaruhi oleh berat telur. Wahyu (1997) menyatakan bahwa Haugh Unit adalah satuan kualitas telur yang ditentukan berdasarkan hubungan logaritma pengukuran tinggi albumen dalam milimeter dan berat telur dalam g.

Haugh Unit telur yang didapat selama penelitian dari pemberian probiotik berkisar antara 76,53-93,32. Hasil ini bisa digolongkan pada kelas AA karena nilainya lebih dari 72. Ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Sudaryani (2003) bahwa semakin tinggi Haugh Unit telur menunjukkan bahwa kualitas telur tersebut semakin baik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* dengan dosis 3 ml ($3,81 \times 10^7$ CFU/g) mampu menurunkan kadar kolesterol telur itik pitalah mencapai 50,9%.
2. Pemberian probiotik *Pediococcus pentosaceus* dengan dosis 3 ml ($3,81 \times 10^7$ CFU/g) mampu meningkatkan kualitas telur yaitu meningkatkan Haugh Unit telur, dan tidak mempengaruhi ketebalan kerabang telur dan warna kuning telur itik pitalah.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengisolasi enzim yang berperan dalam penurunan kadar kolesterol telur dan melanjutkan penambahan dosis probiotik *Pediococcus pertosaceus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, M. H. 1989. Pengelolaan Produksi Ternak Unggas. Diktat Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang
- Aghaei, A; S. Tabatabaei; M. Chaji dan M. Nazari. 2010. Effect of Dried Whey (Prebiotics) and Probiotics in Laying Hen's Performance and Intestinal flora. *Journal of Animal and Veterinari Advances*. Vol. 9(15): 1996-2000
- Aghaii, A; M. Chaji; T. Muhammadabadi dan M. Sari. 2010. The Effect of Probiotics Supplementation on Production Performance, Egg Quality and serum and Egg Chemical Composition of Laying Hen's. *Journal of Animal and Veterinari Advances*. Vol. 9(21): 27774-27777
- Amin, S. 2006. Pentingnya Proses Fermentasi Bir Kakao. [http://www.alumni.ipb.or.id.Pentingnya Proses Fermentasi Biji Kakao](http://www.alumni.ipb.or.id.Pentingnya-Proses-Fermentasi-Biji-Kakao).2007. Dikunjungi 13 Februari 2007
- Anggorodi, R. 1985. Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas. Cetakan Pertama. Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Ardhana, MM dan Graham HF. 2003. The Microbial Ecology of Cocoa Bean Fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 86: 87– 99
- Astuti dan Ana, R. 2010. Asimilasi Kolesterol dan Dekonjugasi Garam Empedu Oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Limbah Kotoran Ayam secara *in vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 15 Mei 2010*
- Away, Y. 1989. Evaluasi Pengaruh Beberapa Marga Mikroorganisme pada Proses Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) Terhadap Mutu Cita Rasa dan Indek Fermentasi. <http://digilib.bi.itb.ac.id/go.php?id=jbptitbbi-gdl-S2-1989-Yufnalaway-570>. Dikunjungi 13 Februari 2007.
- Balai Informasi Teknologi LIPI Pangan dan Kesehatan. 2009. Diktat Balai Informasi Teknologi LIPI, Jakarta
- Bouras, A D. 2006. Assimilation (In Vitro) of Cholesterol by Yogurt Bacteria. *Ann Agric Environ Med*. Vol. 13: 49-53
- Camu, N; Tom De Winter; Kristof, V; Ilse, C; Peter, V;Jemmy S. T; Marc V dan Luc, DV. 2007. Dynamics and Biodiversity of Populations of Lactic Acid

Bacteria and Acetic Acid Bacteria Involved in Spontaneous Heap Fermentation of Cocoa Beans in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 73, No. 6: 1809–1824

Djide, M N dan Wahyudin E. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Menurunkan Kadar Kolesterol secara In Vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 12(3)

Dobrogosz, Walter J. and Robert W. Stone. 1962. Oxidative Metabolism in *Pediococcus pentosaceus*. I. Role of oxygen and catalase. *J. Bacteriol.* Vol. 84: 716-723

Hammad, S. M., H. S. Siegel dan H. L. Marks (1996). Dietary Cholesterol Effects On Plasma and Yolk Cholesterol Fraction in Selected Lines of Japanese Quail. *Poultry Sci.* 75:933-942.

Hardiningsih, R dan Novik, N. 2006. Pengaruh Pemberian Pekan Hiperkolesterolemia terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat. *Biodiversitas*. Vol. 7(2): 127-130

Khedid. K dan Faid, M. 2006. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the One Humped Camel Milk Produced in Morocco. *Microbiology Reseach*. Vol. 164: 81-91.

Kusmiati dan Malik, A. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada Berbagai Media.

Kurnia.Y.T. 2011. Pengaruh Pemberian probiotik *Lactococcus plantarum* Asal Blondo Terhadap Performans dan Kualitas Telur Ayam Petelur. Thesis Pasca Sarjana Universitas Andalas, Padang.

Kusumawati, N; Bettysri, L J; Siswa S; Ratihdewanti dan Hariadi. 2003. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenous sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Journal Mikrobiologi Indonesia*. Vol. 8(2): 39-43

Lambert, J M; Roger, S B; Willem, M de Vos and Michiel, K. 2008. Functional Analysis of Four Bile Salt Hydrolase and Penicillin Acylase Family

Membrans in *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 74(15): 4719-4726

Lee, D K; Seok, J; Eun, H B; Mi, J K; Kyung, S L; Hea, S S; Myung, J C; Jin E K; Kang, O L dan Nam, J H. Lactic Acid Bacteria Effect Serum Cholesterol Levels, Harmful Fecal Anzyme Activity, and Affect Water Content. *Lipids in Health and Disease*. Vol. 8:21

- Lehninger, A. 1982. Dasar-Dasar Biokimia Jilid II. Diterjemahkan oleh Dr. Ir. Maggy Thenawidjaja. Erlangga: Jakarta
- Liong, MT and Shah, NP. 2005. Bile Salt Deconjugation Ability, Bile Salt Hydrolase Activity and Cholesterol Co-precipitation Ability of *Lactobacillus* Strains. *International Dairy Journal*. Vol. 15: 391-398
- Ma, Hongbao. 2006. Cholesterol and Human Health. *The Journal of American Science*. Vol. 2(1)
- Mahdavi, A.H; H.R. Rahmani dan J. Pourreza. 2005. Effect of Probiotic Supplements on Egg Quality and Laying Hen's Performance. *International Journal of Poultry Science*. Vol. 4 (7): 488-492
- Meaty, R. I. 1994. Kebutuhan Protein untuk Ayam Petelur Berdasarkan Efisiensi Penggunaan Protein dengan Supplementasi Vitamin C pada Ayam Petelur Fase II. Tesis Program Pascasarjana Universitas Padjajaran, Bandung
- Mine, Y. 2008. Egg *Bioscience* and Biotechnology. *Department of Food Science University of Guelph*. United States of America
- Nettles, C.G and Barefoot, S.F. 1993. Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocin of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. *J. Food Prot*. Vol. 56: 338-356
- North, M. O. 1990. Commercial Chicken Production. The Avi Publishing, Corp. Inc Westport. Connecticut
- Ooi, Lay-Gaik and Min-Tze Liong. 2010. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of *in Vivo* and *in Vitro* Findings. *Int. J. Mol. Sci*. Vol. 11: 2499-2522
- Osmanagaoglu, O; Kiran, F and Nes, Ingolf F. 2011. A Probiotic Bacterium, *Pediococcus pentosaceus* OZF Isolated from Human Breast Milk Produces Pediocin AcH/PA-1. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(11): 2070-2079
- Pato, U. 2003. Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. *Jurnal Natural Indonesia*. Vol. 5(2): 162-166
- Pereira, D I A dan Glenn, R B. 2002. Cholesterol Assimilation by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Isolated from the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 68(9): 4689-4693

- Purwati, E. 2011. Effect Of Probiotics In *Lactococcus Plantarum* Origin Blondo On The Quality Cholesterol Egg Of Layer Chicken. Telah diseminarkan pada International Seminar Faculty of Animal Husbandry, Universitas Padjadjaran, Jatinangor Campus pada tanggal 6-7 Agustus 2011.
- Ranto dan Maloedyn, S. 2005. Panduan Lengkap Beternak Itik. AgroMedia Pustaka: Jakarta
- Sarwono, B. 1994. Beternak Ayam Buras Cet Ke-IX. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Segara, HM. 2000. Prosedur Reagensia Kimia Klinik. PT. Segara Husada Mandiri, Jakarta
- Saxelin, M .1997. Lactobacillus GG – a Human Probiotic Strain with Thorough Clinical Documentation. *Food Rev Int.* Vol. 13: 293–313.
- Shareef, AM and Al-Dabbagh, ASA. 2009. Effect of Probiotic (*saccharomyces cerevisiae*) in Perfomance of Broiler Chicks. *Iraqi Journal of Sciences.* Vol. 23:23-29
- Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statiska Suatu Pendekatan Biometrik. Ed ke-2 Cet-2 Alihbahasa B. Soemantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Suardana, I W; I N Suarsana; I N Sujaya dan K G Wiryawan. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal Veteriner.* Vol. 8 No. 4 :155-159.
- Sudaryani, T. 2003. Kualitas Telur. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sudha, M R; Prashant, C; Kalpana, D; Sekhar, B dan Kaiser J. 2009. Probiotics as Complementary Therapy for Hypercholesterolemia. *Biology and Medicine.* Vol. 1 (4): Rev 4
- Sugandi, D. 1973. The Effest of Different Energy and Protein Level on the Performance of Laying
- Sumarsih, S; Yudiarti, T; Utami C S; Rahayu, E S dan Harmayani, E. 2010. The Influence of Using Fish Fermented by Lactic Acid Bacteria as Feed Substitution on serum Lipid Profile on Broilers. *J.Indonesian Trop. Anim. Agric.* Vol.35(2)
- Surono, IS. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya: Jakarta

- USDA (U.S. Department of Agriculture), Agricultural Research service. 2006. USDA National Nutrient Database for Standart Reference, release 19. Nutrient Data Lab didalam Egg Bioscience and Biothnology.
- Vélez, M. Perea. 2007. Identification and Characterization of Starter Lactic Acid Bacteria and Probiotics from Columbian Dairy Products. *Journal of Applied Microbiology*; ISSN; 1364-5072.
- Voet, D., J.G. Voet dan C.W. Pratt. 1999. Fundamentals of Biochemistry. Brisbane: John Willey and Sons.
- Wahju, J. 1997. Ilmu Nutrisi Unggas. Cetakan ke-4. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Widyotomo, S., S. Mulato., dan Yusianto. 2001. Karakteristik Biji Kakao Kering Hasil Pengolahan dengan Metode Fermentasi dalam Karung Plastik. Pelita Perkebunan. 17(2)72-84. [http://www.Pempropsu.go.id.php?filename=biji %20 Kakao%20 Kering.pdf&id=KA-01](http://www.Pempropsu.go.id.php?filename=biji%20Kakao%20Kering.pdf&id=KA-01). Dikunjungi 16 Februari 2007
- Yelita, Y. 1998. Pola polimorfisme protein darah itik lokal di Sumatera Barat. Tesis. Progam Pasca Sarjana Universitas Andalas, Padang.
- Yousefi, M and Karkoodi, K. 2007. Effect Probiotic Thepar® and Saccharomyces cerevisia Supplementation on Performance and Egg Quality of Laying Hens. *International Journal of Paultry Science*. Vol. 6(1):52-54
- Yuwanta, T. 2004. Dasar Ternak Unggas. Kanisius, Yogyakarta.

Lampiran 1. Road Map Penelitian



Lampiran 2. Gambar Kandang Penelitian

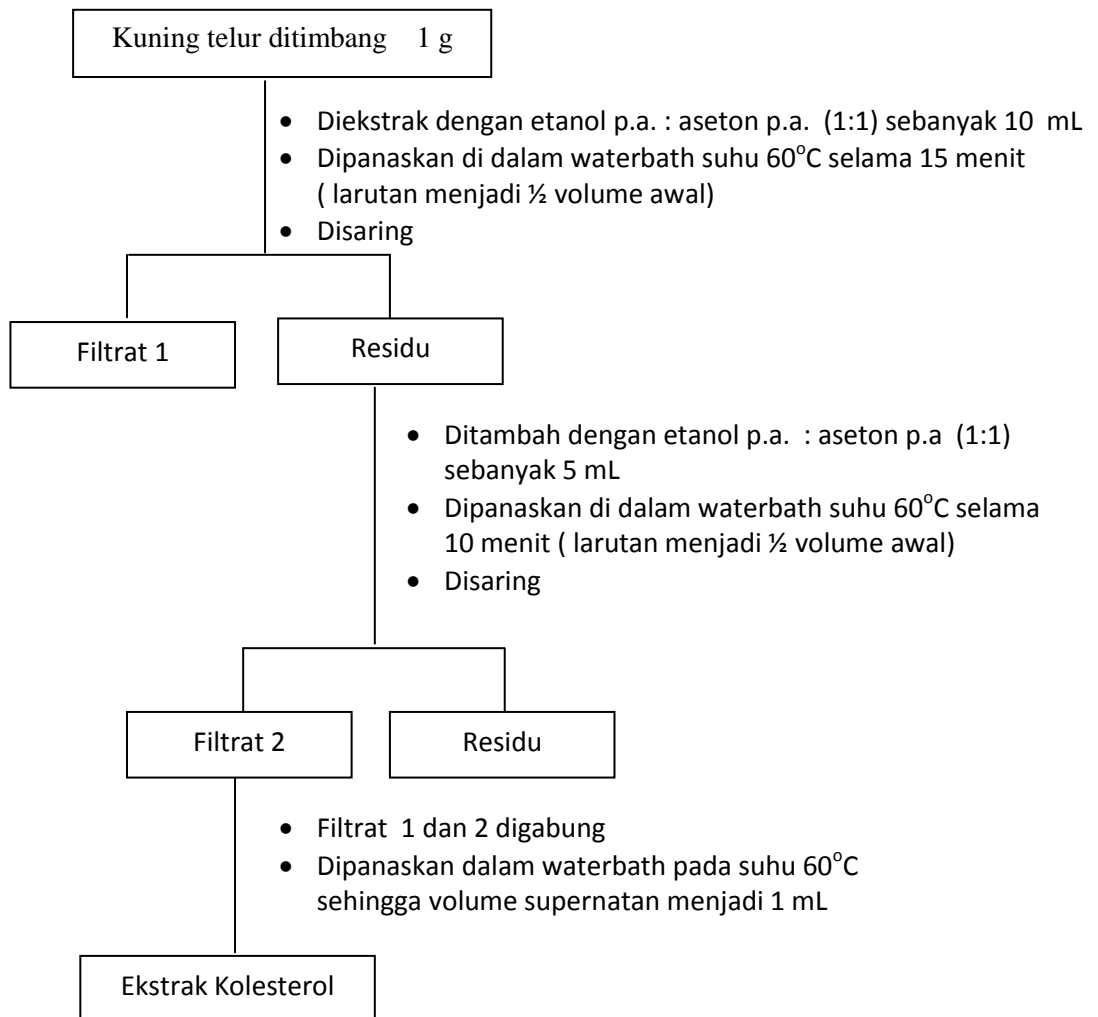


Lampiran 3. Ransum Ternak

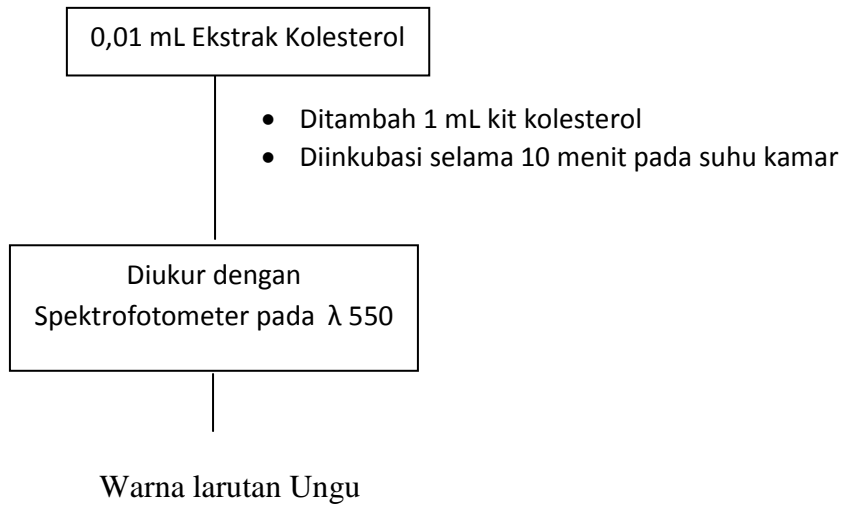
Ransum yang diberikan pada itik adalah:

1. Jagung tumbuk (50% dari total ransum)
2. Dedak (10-20% dari total ransum)
3. Bunttil (25% dari total ransum)
4. Kepala ikan (5-10% dari total ransum)
5. Konsentrat
6. Turbo
7. Top mix
8. Mineral itik
9. Dedaunan: keladi, singkong, papaya, ubi jalar (dicampur didalam makanan)

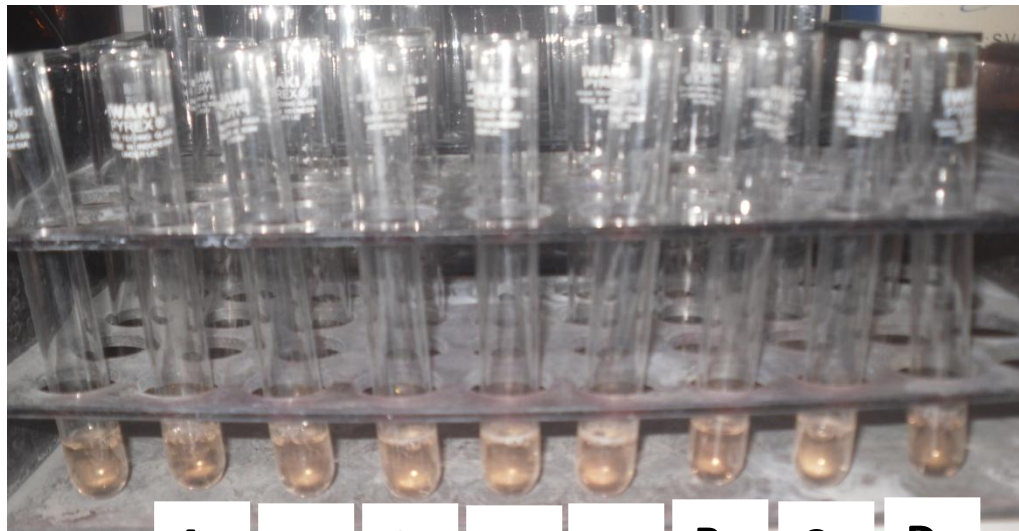
Lampiran 4. Ekstraksi Kolesterol Telur Itik



Lampiran 5. Penentuan Kolesterol dengan metode Warna (SHM,2000)



Lampiran 6. Gambar Ekstraksi setelah Penambahan Kit Kolesterol



A

B

C

D

A

B

C

D

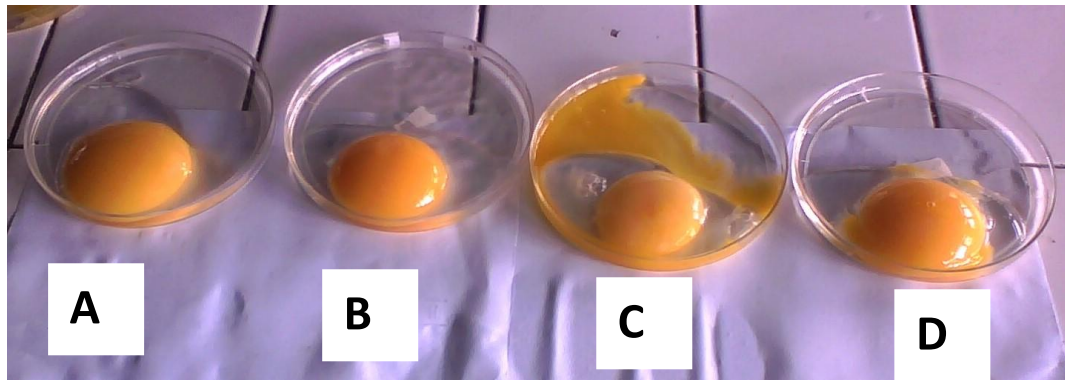


Kuning Telur



Campuran (Kuning dan Putih Telur)

Lampiran 7. Gambar Warna Kuning Telur



Lampiran 8. Data Kandungan Kolesterol Kuning Telur Itik Pitalah

Perlakuan Ulangan	A	B	C	D	
1	239,51	235,00	219,70	118,14	
2	239,92	234,01	219,90	118,72	
3	240,00	233,39	220,00	119,00	
$y_{i.}$	719,43	702,40	659,60	355,86	$y_{..}=2437,29$
$\bar{y}_{i.}$	239,81	234,13	219,87	118,62	$\bar{y}_{i.}=203,11$

Uji Anova Pengaruh Perlakuan

Percobaan ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan ($a = 4$) dan 3 ulangan ($n = 3$) sehingga terdapat 12 pengamatan ($N = 12$). Untuk memeriksa pengaruh perlakuan pada percobaan dengan data seperti data di atas maka akan dilakukan analisis sidik ragam (anova). Dalam analisis ini digunakan model pengaruh, yaitu:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \begin{cases} i = 1, 2, 3, 4 \\ j = 1, 2, 3 \end{cases}$$

di mana y_{ij} merupakan data pengamatan pada perlakuan ke- i ulangan ke- j , μ rata-rata total, τ_i pengaruh perlakuan ke- i , dan ε_{ij} bentuk galat data pada perlakuan ke- i ulangan ke- j .

Di samping itu, hipotesis uji yang akan diperiksa adalah:

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0 \text{ vs } H_1: \tau_i \neq 0, \text{ untuk paling sedikit satu } i,$$

dengan statistika uji $F_0 = \frac{KTP}{KTG}$ dan kriteria uji tolak H_0 pada taraf nyata α jika

$$F_0 > F_{(\alpha, db_{perlakuan}, db_{galat})}.$$

Berikut ini perhitungan yang diperlukan untuk uji yang dimaksud di atas.

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij})^2}{4 \times 3} = \frac{(2437,29)^2}{12} = 495031,88$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij}^2 - FK \\ &= \{(239,51)^2 + (239,92)^2 + \dots + (119,00)^2\} - 495031,88 \\ &= 524219,82 - 495031,88 \\ &= 29187,94 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
JKP &= \frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 y_i^2 - FK \\
&= \frac{1}{3} \{(719,43)^2 + (702,40)^2 + (659,60)^2 + (355,86)^2\} - \\
&\quad 495031,88 \\
&= 524217,93 - 495031,88 \\
&= 29186,05 \\
KTP &= \frac{JKP}{db_{perlakuan}} \\
&= \frac{29186,05}{3} \\
&= 9728,68 \\
JKG &= JKT - JKP \\
&= 29187,94 - 29186,05 \\
&= 1,89 \\
KTG &= \frac{JKG}{db_{galat}} \\
&= \frac{1,89}{8} \\
&= 0,24
\end{aligned}$$

Dengan demikian diperoleh tabel Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F_0
Perlakuan	29186,05	3	9728,68	41211,59
Galat	1,89	8	0,24	
Total	29187,94	11		

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel di atas, untuk taraf nyata $\alpha = 5\%$, disimpulkan untuk menolak H_0 karena $F_0 = 41211,59 > 4,07 = F_{(0,05;3;8)}$. Kesimpulan yang sama juga diperoleh untuk taraf nyata $\alpha = 1\%$ di mana $F_{(0,01;3;8)} = 7,59$. Hasil ini memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan dicobakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu selanjutnya dilakukan uji lanjut untuk memeriksa perlakuan yang memberikan hasil yang berbeda dari perlakuan yang lain dengan menggunakan uji Duncan.

Uji Duncan

Pertama kali rata-rata perlakuan diurutkan dari yang terkecil sampai dengan yang terbesar, yakni:

$$\bar{y}_D = 239,81$$

$$\bar{y}_C = 219,87$$

$$\bar{y}_B = 234,13$$

$$\bar{y}_A = 118,62$$

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,24}{3}} \\ &= 0,28 \end{aligned}$$

$$LSR = SE.SSR$$

perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,005	0,001		0,05	0,01
2	3,26	4,74	0,28	0,9128	1,3272
3	3,39	5		0,9492	1,4
4	3,47	5,14		0,9716	1,4392

Pengujian Nilai Tengah

Perlakuan ke- <i>i</i>	Perlakuan ke- <i>i'</i>	<i>p</i>	$ \bar{y}_i - \bar{y}_{i'} $	LSR 5%	LSR 1%	Keterangan
D	A	4	121,19	0,9716	1,4392	**
D	B	3	115,51	0,9492	1,4	**
C	A	3	19,94	0,9492	1,4	**
D	C	2	101,25	0,9128	1,3272	**
B	A	2	5,68	0,9128	1,3272	**
C	B	2	14,26	0,9128	1,3272	**

Keterangan : **) = Berbeda sangat nyata

Superskrip :

A^a B^b C^c D^d

**Lampiran 9 . Data Kandungan Kolesterol Campuran Kuning dan Putih
Telur Itik Pitalah selama Perlakuan**

Perlakuan Ulangan	A	B	C	D	
1	153,86	139,91	102,84	75,37	
2	153,95	140,01	102,01	75,50	
3	153,05	139,01	102,95	75,25	
$y_{i.}$	460,86	418,93	307,80	226,12	$y_{..}=1413,71$
$\bar{y}_{i.}$	153,62	139,64	102,60	75,37	$\bar{y}_{..}=117,81$

Uji Anova Pengaruh Perlakuan

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij})^2}{4 \times 3} = \frac{(1413,71)^2}{12} = 166548,00$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij}^2 - FK \\ &= \{(153,86)^2 + (153,95)^2 + \dots + (75,25)^2\} - 166548,00 \\ &= 177923,45 - 166548,00 \\ &= 11375,45 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 y_{i.}^2 - FK \\ &= \frac{1}{3} \{(460,86)^2 + (418,93)^2 + (307,80)^2 + (226,12)^2\} - \\ &\quad 166548,00 \\ &= 177921,79 - 166548,00 \\ &= 11373,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTP &= \frac{JKP}{db_{perlakuan}} \\ &= \frac{11373,80}{3} \\ &= 3791,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 11375,45 - 11373,80 \\ &= 1,66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTG &= \frac{JKG}{db_{galat}} \\ &= \frac{1,66}{8} = 0,21 \end{aligned}$$

Dengan demikian diperoleh tabel Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F_0
Perlakuan	11373,80	3	3791,27	18298,34
Galat	1,66	8	0,21	
Total	11375,45	11		

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel di atas, untuk taraf nyata $\alpha = 5\%$, disimpulkan untuk menolak H_0 karena $F_0 = 18298,34 > 4,07 = F_{(0,05;3;8)}$. Kesimpulan yang sama juga diperoleh untuk taraf nyata $\alpha = 1\%$ di mana $F_{(0,01;3;8)} = 7,59$. Hasil ini memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan dicobakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu selanjutnya dilakukan uji lanjut untuk memeriksa perlakuan yang memberikan hasil yang berbeda dari perlakuan yang lain dengan menggunakan uji Duncan.

Uji Duncan

Pertama kali rata-rata perlakuan diurutkan dari yang terkecil sampai dengan yang terbesar, yakni:

$$\bar{y}_D. = 75,37$$

$$\bar{y}_C. = 102,60$$

$$\bar{y}_B. = 139,64$$

$$\bar{y}_A. = 153,62$$

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,21}{3}} \\ &= 0,26 \end{aligned}$$

$$LSR = SE.SSR$$

perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,005	0,001		0,05	0,01
2	3,26	4,74	0,26	0,8476	1,2324
3	3,39	5		0,8814	1,3
4	3,47	5,14		0,9022	1,3364

Pengujian Nilai Tengah

Perlakuan ke- <i>i</i>	Perlakuan ke- <i>i'</i>	<i>p</i>	$ \bar{y}_i - \bar{y}_{i'} $	LSR 5%	LSR 1%	Keterangan
A	D	4	78,25	0,9022	1,3364	**
A	C	3	51,02	0,8814	1,3	**
B	D	3	64,27	0,8814	1,3	**
A	B	2	13,98	0,8476	1,2324	**
B	C	2	37,04	0,8476	1,2324	**
C	D	2	27,23	0,8476	1,2324	**

Keterangan : **) = Berbeda sangat nyata

Superskrip :

A^a B^b C^c D^d

Lampiran 10. Data Warna Kuning Telur

Perlakuan Ulangan	A	B	C	D	
1	7,00	7,00	7,00	7,00	
2	7,50	7,50	7,00	7,00	
3	7,00	7,00	7,50	7,00	
$y_{i.}$	21,50	21,50	21,50	21,00	$y_{..}=85,50$
$\bar{y}_{i.}$	7,17	7,17	7,17	7,00	$\bar{y}_{..}=7,13$

Uji Anova Pengaruh Perlakuan

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij})^2}{4 \times 3} = \frac{(85,50)^2}{12} = 609,19$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij}^2 - FK \\ &= \{(7,00)^2 + (7,50)^2 + \dots + (7,00)^2\} - 609,19 \\ &= 609,75 - 609,19 \\ &= 0,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 y_{i.}^2 - FK \\ &= \frac{1}{3} \{(21,50)^2 + (21,50)^2 + (21,50)^2 + (21,00)^2\} - 609,19 \\ &= 609,25 - 609,19 \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTP &= \frac{JKP}{db_{perlakuan}} \\ &= \frac{0,06}{3} \\ &= 0,02 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 0,56 - 0,06 \\ &= 0,50 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTG &= \frac{JKG}{db_{galat}} \\ &= \frac{0,50}{8} \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

Dengan demikian diperoleh tabel Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F_0
Perlakuan	0,06	3	0,02	0,33
Galat	0,50	8	0,06	
Total	0,56	11		

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel di atas, untuk taraf nyata $\alpha = 5\%$, disimpulkan untuk menolak H_0 karena $F_0 = 0,33 > 4,07 = F_{(0,05;3;8)}$. Kesimpulan yang sama juga diperoleh untuk taraf nyata $\alpha = 1\%$ di mana $F_{(0,01;3;8)} = 7,59$. Hasil ini memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan dicobakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut untuk memeriksa perlakuan.

Uji Duncan

Pertama kali rata-rata perlakuan diurutkan dari yang terkecil sampai dengan yang terbesar, yakni:

$$\bar{y}_{D.} = 7$$

$$\bar{y}_{C.} = 7,17$$

$$\bar{y}_{B.} = 7,17$$

$$\bar{y}_{A.} = 7,17$$

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,06}{3}}$$

$$= 0,14$$

$$LSR = SE \cdot SSR$$

perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,005	0,001		0,05	0,01
2	3,26	4,74	0,14	0,4564	0,6636
3	3,39	5		0,4746	0,7
4	3,47	5,14		0,4858	0,7196

Pengujian Nilai Tengah

Perlakuan ke- <i>i</i>	Perlakuan ke- <i>i'</i>	<i>p</i>	$ \bar{y}_i - \bar{y}_{i'} $	LSR 5%	LSR 1%	Keterangan
A	D	4	0,17	0,4858	0,7196	ns
A	C	3	00	0,4746	0,7	ns
B	D	3	0,17	0,4746	0,7	ns
A	B	2	00	0,4564	0,6636	ns
B	C	2	00	0,4564	0,6636	ns
C	D	2	0,17	0,4564	0,6636	ns

Keterangan : ns = Tidak berbeda nyata

Superskrip :

A^a B^a C^a D^a

Lampiran 11. Data Tebal Kerabang Telur Selama Penelitian

Perlakuan Ulangan	A	B	C	D	
1	0,48	0,50	0,53	0,52	
2	0,50	0,53	0,52	0,50	
3	0,49	0,49	0,49	0,53	
$y_{i.}$	1,47	1,52	1,54	1,55	$y_{..}=6,08$
$\bar{y}_{i.}$	0,49	0,51	0,51	0,52	$\bar{y}_{i.}=0,51$

Uji Anova Pengaruh Perlakuan

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij})^2}{4 \times 3} = \frac{(6,08)^2}{12} = 3,08$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij}^2 - FK \\ &= \{(0,48)^2 + (0,50)^2 + \dots + (0,53)^2\} - 3,08 \\ &= 3,08 - 3,08 \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 y_{i.}^2 - FK \\ &= \frac{1}{3} \{(1,47)^2 + (1,52)^2 + (1,54)^2 + (1,55)^2\} - 3,08 \\ &= 3,08 - 3,08 \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTP &= \frac{JKP}{db_{perlakuan}} \\ &= \frac{0,00}{3} \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 0,00 - 0,00 \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTG &= \frac{JKG}{db_{galat}} \\ &= \frac{0,00}{8} \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

Dengan demikian diperoleh tabel Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F_0
Perlakuan	0,00	3	0,00	0,00
Galat	0,00	8	0,00	
Total	0,00	11		

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel di atas, untuk taraf nyata $\alpha = 5\%$, disimpulkan untuk menolak H_0 karena $F_0 = 0,00 > 4,07 = F_{(0,05;3;8)}$. Kesimpulan yang sama juga diperoleh untuk taraf nyata $\alpha = 1\%$ di mana $F_{(0,01;3;8)} = 7,59$. Hasil ini memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan dicobakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut untuk memeriksa perlakuan.

Lampiran 12. Data Haugh Unit Telur Selama Penelitian

Perlakuan Ulangan	A	B	C	D	
1	84,95	88,13	80,15	93,87	
2	80,42	83,17	71,27	93,32	
3	76,50	86,08	78,18	92,76	
$y_{i.}$	241,87	257,38	229,60	279,95	$y_{..}=1008,80$
$\bar{y}_{i.}$	80,62	85,79	76,53	93,32	$\bar{y}_{..}= 84,07$

Uji Anova Pengaruh Perlakuan

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij})^2}{4 \times 3} = \frac{(1008,8)^2}{12} = 84806,45$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 y_{ij}^2 - FK \\ &= \{(84,95)^2 + (80,42)^2 + \dots + (92,76)^2\} - 166548,00 \\ &= 85370,21 - 84806,45 \\ &= 563,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 y_{i.}^2 - FK \\ &= \frac{1}{3} \{(241,87)^2 + (257,38)^2 + (229,60)^2 + (279,95)^2\} - \\ &\quad 84806,45 \\ &= 85277,91 - 84806,450 \\ &= 471,45 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTP &= \frac{JKP}{db_{perlakuan}} \\ &= \frac{471,45}{3} \\ &= 157,15 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 563,75 - 471,45 \\ &= 92,30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} KTG &= \frac{JKG}{db_{galat}} \\ &= \frac{92,30}{8} \end{aligned}$$

$$= 11,54$$

Dengan demikian diperoleh tabel Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F_0
Perlakuan	471,45	3	157,15	13,62
Galat	92,30	8	11,54	
Total	563,75	11		

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel di atas, untuk taraf nyata $\alpha = 5\%$, disimpulkan untuk menolak H_0 karena $F_0 = 13,62 > 4,07 = F_{(0,05;3;8)}$. Kesimpulan yang sama juga diperoleh untuk taraf nyata $\alpha = 1\%$ di mana $F_{(0,01;3;8)} = 7,59$. Hasil ini memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan dicobakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu selanjutnya dilakukan uji lanjut untuk memeriksa perlakuan yang memberikan hasil yang berbeda dari perlakuan yang lain dengan menggunakan uji Duncan.

Uji Duncan

Pertama kali rata-rata perlakuan diurutkan dari yang terkecil sampai dengan yang terbesar, yakni:

$$\bar{y}_C = 76,53$$

$$\bar{y}_A = 80,62$$

$$\bar{y}_B = 85,79$$

$$\bar{y}_D = 93,32$$

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{11,54}{3}} \\ &= 1,96 \end{aligned}$$

$$LSR = SE.SSR$$

perlakuan	SSR		SE	LSR	
	0,005	0,001		0,05	0,01
2	3,26	4,74	1,96	6,3896	9,2904
3	3,39	5		6,6444	9,8
4	3,47	5,14		6,8012	10,0744

Pengujian Nilai Tengah

Perlakuan ke- <i>i</i>	Perlakuan ke- <i>i'</i>	<i>p</i>	$ \bar{y}_i - \bar{y}_{i'} $	LSR 5%	LSR 5%	Keterangan
C	D	4	16,78	6,8012	10,0744	**
C	B	3	9,26	6,6444	9,8	*
A	D	3	12,69	6,6444	9,8	**
C	A	2	4,09	6,3896	9,2904	**
B	D	2	7,52	6,3896	9,2904	*
A	B	2	5,17	6,3896	9,2904	*

Keterangan : **) = Berbeda sangat nyata

*) = Berbeda nyata

Superskrip :

A^a B^b C^c D^d