Pengaruh penambahan daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap kualitas mikrobiologis, kualitas organoleptis, dan daya simpan telur asin pada suhu kamar

The influence of salam leaf (*Eugenia polyantha*) addition on the microbiological quality, organoleptic quality, and salted duck egg shell-life during storage at room temperature

ANA FITRI, RATNA SETYANINGSIH, ARI SUSILOWATI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 9 April 2007. Revisi disetujui: 12 Juli 2007.

Abstract. Fitri A, Setyaningsih R, Susilowati A. 2007. The influence of salam leaf (*Eugenia polyantha*) adds to the microbiological quality, organoleptic quality, and salted duck egg shell-life during storage at room temperature. *Biofarmasi* 5: 47-54. This research aimed to determine the influence of salam leaf (*Eugenia polyantha* Wight) concentration variation on the microbiological quality, organoleptic quality, and the salted duck egg shell-life during storage at room temperature. In this research, the salam leaf concentration was added to four levels. The salam leaf water ratios were 1:4, 2:4, 3:4, and control. The analysis of experimental parameters was carried out once 2 weeks for 4 weeks. The experimental parameters were the presence of *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* number, organoleptic value, and total volatile bases (TVB). The presence of *Salmonella* sp. and the number of *Staphylococcus aureus* data were analyzed descriptively. In contrast, the organoleptic data were analyzed using a nonparametric test followed by correlation and regression analysis. Data were analyzed using a General Linear Model on TVB and followed with Duncan Multiple Range Test (DMRT) on the significance level of 5%, correlation, and regression analysis. This research showed no *Salmonella* sp. contained in the salted egg after 4 weeks of storage. The highest number of *Staphylococcus aureus* was found on the salted egg stored for 4 weeks with a ratio of 1:4 of salam leaf-water. However, the result of the organoleptic test showed that salam leaf addition did not significantly influence the acceptance of salted duck eggs and had a negative correlation. Salam leaf concentration influenced the TVB of the salted duck egg in different storage durations at room temperature and had a positive correlation.

Keywords: *Eugenia polyantha*, microbiological quality, organoleptic quality, salam leaf, shell-life salted duck egg

PENDAHULUAN

Keberhasilan yang dicapai di bidang peternakan unggas telah memberikan hasil panen yang berlimpah. Hasil utama yang diperoleh dari usaha tersebut selain daging adalah telur (Suprapti 2002). Telur merupakan bahan pangan yang mengandung protein cukup tinggi dengan susunan asam amino lengkap. Selain itu, telur juga mengandung lemak tak jenuh, vitamin, dan mineral yang diperlukan tubuh dan sangat mudah dicerna. Rasa yang enak, harga yang relatif murah, serta dapat diolah menjadi aneka macam produk makanan menyebabkan telur banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Tulung et al. 2003). Meskipun ketersediaannya tidak mengenal musim, telur memiliki beberapa kelemahan, antara lain kulit telur mudah pecah atau retak dan tidak dapat menahan tekanan mekanis yang besar, sehingga telur tidak dapat diperlakukan secara kasar dalam suatu wadah. Selain itu, kelembapan relatif udara dan suhu ruang penyimpanan dapat mempengaruhi kualitas telur serta dapat menyebabkan perubahan secara kimia dan mikrobiologis. Oleh sebab itu, usaha pengawetan sangat penting untuk mempertahankan kualitas telur (Departemen Kesehatan 2005).

Salah satu jenis telur yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia adalah telur itik/bebek (*Anas platyrhynchos*). Bobot dan ukuran telur itik rata-rata lebih besar dibanding telur ayam, berkisar antara 70-80 gram per butir. Cangkang telur itik umumnya berwarna biru muda (Srigandono 1986). Meskipun kualitas telur itik hampir sama dengan telur ayam, pemanfaatannya dalam makanan tidak seluas telur ayam. Hal ini disebabkan bau amisnya yang tajam, sehingga telur itik tidak biasa bagi masyarakat di Indonesia (Rasyaf 1991).

Bentuk olahan telur itik yang sampai sekarang paling dikenal dan paling digemari oleh masyarakat Indonesia adalah telur asin. Telur asin merupakan telur yang diawetkan dengan cara diasinkan. Tujuan utama dari proses pengasinan telur itik selain untuk membuang rasa amis dan menciptakan rasa yang khas, adalah untuk memperpanjang masa simpan telur (Agus 2002). Garam yang merupakan faktor utama dalam proses pengasinan telur berfungsi sebagai bahan pengawet yang dapat mencegah pembusukan telur, sehingga meningkatkan daya simpan telur. Semakin tinggi kadar garam yang diberikan dalam proses pengasinan telur maka daya simpannya semakin meningkat. Namun di sisi lain, telur akan menjadi

tidak disukai oleh konsumen karena rasanya yang terlalu asin (Suprapti 2002).

Telur merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme karena mengandung senyawa-senyawa yang dapat menjadi sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme dapat menyebabkan kerusakan pada telur, sehingga telur menjadi busuk serta menghasilkan racun yang dapat menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Adanya mikroorganisme, terutama jumlah dan jenis, dapat menunjukkan kualitas suatu bahan makanan ditinjau dari segi mikrobiologis (Pelczar et al. 1988). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 19-2897-1992, kualitas mikrobiologis telur asin dapat ditentukan berdasarkan ada tidaknya bakteri *Salmonella* dan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* pada telur asin tersebut (Direktorat Jenderal POM 1992).

Panjangnya mata rantai tata niaga dan proses penyimpanan yang kurang memadai dapat menyebabkan telur mengalami kerusakan meskipun telur sudah diawetkan dengan cara pengasinan. Untuk itu diperlukan gabungan dari metode pengawetan yang lain yang dapat mempertahankan kualitas telur asin, sehingga dapat memperpanjang masa simpan telur asin. Penyimpanan telur asin dalam suhu dingin meskipun telah terbukti efektif dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk, belum banyak dilakukan karena akan menambah biaya produksi sehingga secara ekonomis kurang menguntungkan. Selain itu, tidak semua produsen, pedagang, maupun konsumen memiliki lemari pendingin.

Metode pengawetan lain yang dapat dilakukan adalah penggunaan senyawa antimikrobia/antibakteri yang berfungsi sebagai bahan pengawet. Selama ini, sebagian besar bahan pengawet berasal dari bahan kimia sintetik. Berdasarkan hasil penelitian, bahan-bahan tersebut dapat menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan, sehingga sebagai alternatif pemecahannya dapat digunakan bahan-bahan pengawet alami yang lebih aman untuk dikonsumsi.

Salam (*Eugenia polyantha* Wight) merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan secara tradisional untuk mengobati penyakit kencing manis (diabetes mellitus), diare, sakit mag, eksim, serta menurunkan kolesterol dan tekanan darah tinggi. Beberapa riset ilmiah membuktikan bahwa salam mengandung minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan eugenol (Purwati 2004). Penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa ekstrak daun salam dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Salmonella*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Dalimartha 2005). Bakteri-bakteri tersebut apabila mengkontaminasi suatu bahan makanan, seperti telur asin, dapat menyebabkan keracunan makanan (*food borne disease*). Berdasarkan hal tersebut, daun salam berpotensi untuk dikembangkan sebagai pengawet makanan alami karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab kerusakan bahan makanan. Daun salam juga lebih aman dikonsumsi karena sudah biasa dipakai sebagai bumbu penyedap masakan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan daun salam (*E. polyantha*) terhadap kualitas mikrobiologis,

kualitas organoleptis, dan daya simpan telur asin pada suhu kamar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan daun salam (*E. polyantha*) dengan beberapa konsentrasi terhadap kualitas mikrobiologis, kualitas organoleptis, dan daya simpan telur asin pada suhu kamar.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai November 2006 di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium MIPA Pusat, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Bahan dan alat

Alat-alat untuk pembuatan telur asin meliputi ember atau bak besar, stoples, panci, kompor, pisau, timbangan elektrik, blender, erlenmeyer, dan oven. Alat-alat untuk uji mikrobiologis meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas beker, inkubator, *hot plate*, cawan petri, jarum ose, *magnetic stirrer*, batang gelas bengkok (*drygalski*), bunsen, corong *büchner*, vorteks, *laminar air flow*, *coloni counter*, dan autoklaf. Alat-alat untuk mengukur kadar TVB meliputi gelas ukur, *aluminium foil*, kertas saring, pipet ukur, cawan *conway*, buret, klem, dan statif.

Sementara itu, bahan-bahan untuk pembuatan telur asin meliputi daun salam (*Eugenia polyantha* Wight), telur itik (*Anas platyrhynchos*) sebanyak 136 butir, garam, akuades, dan bubuk batu bata. Media untuk uji mikrobiologis meliputi *Trypticase Soy Broth* (TSB), *Vogel-Johnson Agar* (VJA), *Lactose Broth* (LB), *Selenite Cystine Broth* (SCB), *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), dan *Lysine Iron Agar* (LIA). Bahan-bahan untuk mengukur kadar TVB meliputi asam trikloroasetat, K_2CO_3 , vaselin, HCl, asam borat, alkohol 96%, alkohol 70%, NaOH, *bromocresolgreen*, *methyldred*, dan akuades.

Rancangan percobaan

Pada penelitian ini, konsentrasi campuran serbuk daun salam dengan air yang digunakan adalah:

K₀: tanpa perendaman (kontrol)

K₁: campuran serbuk daun salam dengan air (1:4)

K₂: campuran serbuk daun salam dengan air (2:4)

K₃: campuran serbuk daun salam dengan air (3:4)

Pengamatan dilakukan pada waktu penyimpanan telur asin matang selama: 1) W₀ = minggu ke-0, 2) W₁ = minggu ke-2, dan W₂ = minggu ke-4. Adapun kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan

Konsentrasi	Waktu penyimpanan		
	W ₀	W ₁	W ₂
K ₀	K ₀ W ₀	K ₀ W ₁	K ₀ W ₂
K ₁	K ₁ W ₀	K ₁ W ₁	K ₁ W ₂
K ₂	K ₂ W ₀	K ₂ W ₁	K ₂ W ₂
K ₃	K ₃ W ₀	K ₃ W ₁	K ₃ W ₂

Keterangan: Percobaan dilakukan masing-masing dengan 3 ulangan

Cara kerja

Pemilihan telur

Telur itik yang dipilih adalah telur dengan masa simpan kurang dari 3 hari, memiliki bentuk oval sempurna dengan cangkang berwarna biru, kondisi telur utuh (tidak retak), serta memiliki ukuran yang cukup besar dengan berat berkisar antara 70-80 gram per butir (Suprpti 2002). Telur itik yang dipilih kemudian dibersihkan. Setelah bersih, telur dikeringkan dan diletakkan pada tempat telur (*egg tray*) (Rukmana 2003).

Pembuatan adonan garam

Adonan garam dibuat dengan cara mencampurkan bubuk batu bata dan garam dengan perbandingan 1:1, kemudian ditambahkan air secukupnya dan diaduk sampai menjadi adonan.

Pengasinan telur

Telur-telur yang sudah dibersihkan, masing-masing dibungkus/dibalut dengan adonan garam secara merata di seluruh permukaannya dengan ketebalan 1-2 mm. Telur kemudian disimpan dalam ember atau bak besar yang bersih selama 15 hari. Setelah pemeraman selesai, adonan pembungkus dibuka dan telur asin dibersihkan.

Pembuatan campuran serbuk daun salam dengan air

Daun salam dicuci bersih, kemudian dikeringanginkan selama satu malam. Daun salam lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 37-40°C sampai kering. Setelah kering, daun dipotong-potong dan dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk.

Dalam penelitian ini, perbandingan campuran serbuk daun salam dengan air yang digunakan adalah 1:4, 2:4, dan 3:4. Perbandingan tersebut secara berturut-turut dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 250 gram, 500 gram, dan 750 gram serbuk daun salam masing-masing dengan 1 liter akuades panas (suhu 60-80°C), lalu diaduk dan dibiarkan hingga dingin.

Perendaman telur asin pada campuran serbuk daun salam dengan air

Telur asin bersih dimasukkan ke dalam 4 buah bak besar berisi campuran serbuk daun salam dan air pada perbandingan tertentu (tidak diisi campuran, 1:4, 2:4, dan 3:4), masing-masing stoples diisi 34 butir telur asin. Perendaman dilakukan dengan cara memasukkan/menenggelamkan seluruh permukaan telur dalam campuran selama 5 hari. Setelah selesai, telur dibersihkan kembali dan direbus selama 30 menit (Astawan dan Astawan 1989). Sebanyak 36 butir telur asin yang sudah matang dilakukan uji mikrobiologis dan daya simpan, sedangkan untuk uji organoleptis digunakan 100 butir telur asin matang.

Uji mikrobiologis

Uji mikrobiologis dilakukan setelah penyimpanan 0, 2, dan 4 minggu.

Analisis kualitatif *Salmonella*

Sebanyak 25 gram sampel dicampur dengan 225 ml medium Lactose Broth (LB) steril dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah selesai diinkubasi,

homogenat dikocok dan sebanyak 1 ml dipindahkan ke dalam 9 ml Selenyte Cysteine Broth (SCB) sebagai media penyubur selektif. Campuran diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Pada tahap selanjutnya, sebanyak satu ose homogenat dari media SCB digoreskan pada media selektif Bismute Sulfite Agar (BSA) dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian diamati. Koloni diduga *Salmonella* positif apabila berwarna cokelat abu-abu sampai hitam dan kadang-kadang dengan kilap logam pada media BSA. Untuk uji konfirmasi, dipilih dua atau lebih koloni spesifik dari media BSA, kemudian diinokulasikan pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan Lysine Iron Agar (LIA). Selanjutnya, media tersebut diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Biakan diduga positif *Salmonella* jika: 1) Pada TSIA: terlihat warna merah pada permukaan agar miring, warna kuning pada media di dasar tabung, dengan atau tanpa pembentukan hidrogen sulfida (H_2S) yang berwarna hitam; 2) Pada LIA: terlihat warna ungu, dengan atau tanpa pembentukan warna kuning pada bagian dasar tabung. Jika dari seluruh biakan menunjukkan hasil uji *Salmonella* positif maka hasil interpretasi dinyatakan sebagai *Salmonella* positif/gram sampel (Portocarrero et al. 2002).

Analisis kuantitatif *Staphylococcus aureus* dengan metode Most Probable Number (MPN)

Sebanyak 25 gram sampel dicampur dengan 225 ml akuades steril hingga diperoleh homogenat dengan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 ml campuran dari pengenceran 10^{-1} tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml akuades steril dan dikocok sampai homogen hingga diperoleh suspensi pengenceran 10^{-2} . Dengan cara yang sama dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} .

Dari masing-masing pengenceran diambil 1 ml secara aseptis, kemudian dimasukkan ke dalam 3 tabung (3 seri) yang berisi media TSB. Selanjutnya, tabung-tabung tersebut diinkubasikan pada suhu 36°C selama 48 jam. Dari setiap tabung yang memperlihatkan adanya kekeruhan diambil 1 ose dan ditusukkan pada media pembenihan VJA (Vogel Johnson Agar) dalam cawan petri. Cawan-cawan petri tersebut selanjutnya diinkubasi selama sekurang-kurangnya 30 jam pada suhu 36°C. Jumlah tabung yang yang positif dihitung kemudian dirujuk pada MPN seri 3 tabung. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam MPN *Staphylococcus aureus* per gram sampel (MPN/gram).

Uji organoleptik

Uji organoleptis dilakukan pada 25 panelis dengan metode hedonik, yaitu menetapkan kisaran nilai kesukaan panelis terhadap telur asin matang yang telah diberi perlakuan perendaman dalam campuran serbuk daun salam dengan air pada beberapa variasi konsentrasi. Kisaran nilai meliputi: 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = biasa, 4 = suka, 5 = sangat suka (Kartika et al. 1988). Uji organoleptik dilakukan pada 0 minggu penyimpanan.

Uji daya simpan

Uji daya simpan telur asin dilakukan dengan cara mengukur kadar TVB. Sebanyak 25 gram sampel

dimasukkan ke dalam blender dan ditambah dengan 75 ml larutan 7% asam trikloroasetat (TCA), kemudian dicampur sampai homogen. Larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat yang jernih. Sebanyak 1 ml filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam *outer chamber* cawan conway. Larutan asam borat sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam *inner chamber* cawan conway. Bagian pinggir cawan dan tutup diolesi dengan vaselin, kemudian cawan conway diletakkan pada posisi hampir menutup, dan 1 ml K_2CO_3 jenuh ditambahkan ke dalam *outer chamber* cawan conway. Setelah itu, cawan conway segera ditutup sehingga diperoleh penutupan yang rapat.

Blanko titrat sampel dibuat dengan cara mengganti sampel dengan larutan 5% asam trikloroasetat dan dikerjakan seperti prosedur di atas.

Cawan conway digoyang perlahan-lahan selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu kamar selama semalam. Setelah inkubasi selesai, larutan asam borat dalam *inner chamber* cawan conway blanko dan sampel masing-masing dititrasi dengan larutan 1/70 N (Normalitas) HCl hingga warna larutan asam borat berubah menjadi merah muda. Perhitungan kadar TVB menurut Ozogul dan Ozogul (1999) dan Santoso (1999) adalah sebagai berikut:

Kadar TVB = $[(\text{ml titrasi sampel} - \text{ml titrasi blanko}) \times 80 \text{ mg N (Nitrogen)}] / 100 \text{ gr bahan makanan}$.

Analisis data

Data yang diperoleh adalah data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa ada atau tidaknya kontaminasi bakteri *Salmonella* sp. dan jumlah bakteri *S. aureus* pada telur asin yang disajikan secara deskriptif. Data kuantitatif meliputi hasil uji organoleptik dan kadar *Total Volatile Bases* (TVB) telur asin. Untuk uji organoleptik, data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis nonparametrik, korelasi, dan regresi. Data kuantitatif berupa kadar TVB dianalisis secara statistik dengan analisis *General Linear Model* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5%, analisis korelasi, dan analisis regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian mikrobiologis

Uji kualitatif bakteri *Salmonella* sp.

Bakteri *Salmonella* termasuk bakteri enteropatogenik, yaitu kelompok bakteri penyebab infeksi gastrointestinal. Bakteri enteropatogenik pada umumnya terdapat dalam jumlah kecil pada makanan, namun bersifat sangat infeksi. Pada uji kuantitatif, bakteri tersebut kadang-kadang tidak dapat tumbuh karena ditekan oleh bakteri lain yang ada pada makanan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini hanya dilakukan uji kualitatif untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri *Salmonella* pada telur asin.

Pada penelitian ini, uji kualitatif *Salmonella* dilakukan melalui 4 tahap, yaitu tahap pra-pengkayaan (*pre-enrichment*), pengkayaan (*enrichment*), seleksi, dan konfirmasi. Pada tahap *pre-enrichment*, medium yang digunakan adalah medium cair *lactose broth* (LB). Menurut

Humphrey (2000), medium LB merupakan medium yang paling sering digunakan dan telah terbukti mempunyai tingkat keberhasilan yang tinggi. *Beef extract* yang terdapat dalam medium LB mengandung karbohidrat (glukosa), nitrogen organik, dan air yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri (Gambar 1.A).

Tahap *enrichment* menggunakan medium cair *selenite cystine broth* (SCB) yang bersifat *selective enrichment* (Gambar 1.B). Medium SCB merupakan medium selektif untuk Enterobacteriaceae. Tahap selanjutnya adalah tahap seleksi. Pada tahap ini digunakan medium selektif *bismuth sulfite agar* (BSA) (Gambar 2.A). Kombinasi senyawa bismuth sulfit dan larutan sodium sulfit yang terdapat pada medium BSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri koliform, *Serratia*, dan *Proteus*. Pembentukan senyawa H_2S dari kandungan sulfur dalam media oleh bakteri *Salmonella* menyebabkan koloni dan medium di sekitar koloni berwarna hitam (Gambar 2.B). Pada pengujian yang terakhir, yaitu uji konfirmasi, digunakan medium *triple sugar iron agar* (TSIA) (Gambar 1.C) dan *lysine iron agar* (LIA) (Gambar 1.D).

Pada medium TSIA yang mengandung glukosa, sukrosa, dan laktosa, *Salmonella* mampu memfermentasi glukosa dan umumnya mampu memproduksi gas dari proses fermentasi yang ditandai dengan terbentuknya rongga udara pada bagian bawah medium, medium retak, ataupun medium terangkat ke atas. Pada medium tersebut, *Salmonella* juga mampu memproduksi gas H_2S yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada medium, tetapi kadang-kadang hanya sedikit sehingga tidak terlihat. Menurut Humphrey (2000), bakteri *Salmonella* mampu mendekarboksilasi lisin yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada medium LIA.

Gambar 1. Media cair LB (A), SCB (B), TSIA (C), dan LIA (D) yang diinokulasi dengan bakteri *Salmonella* ATCC 10708 yang digunakan sebagai kontrol positif

Gambar 2. Media BSA yang digunakan dalam uji kualitatif bakteri *Salmonella*. A = Media BSA yang menunjukkan hasil negatif, B = media BSA sebagai kontrol positif dari *Salmonella* sp. ATCC 10708.

Tabel 2. Hasil pengujian kualitatif bakteri *Salmonella* dalam telur asin yang telah diberi daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar

Tahap uji	Hasil positif	Hasil uji (minggu)			Keterangan hasil uji
		Ke-0	Ke-2	Ke-4	
Tahap pra-pengkayaan pada media LB	Media berwarna coklat muda, keruh	a. +	a. +	a. +	Media berwarna coklat muda, keruh
		b. +	b. +	b. +	
		c. +	c. +	c. +	
		d. +	d. +	d. +	
Tahap pengkayaan pada media SCB	Media berwarna merah bata, keruh	a. +	a. +	a. +	Media berwarna coklat, keruh
		b. +	b. +	b. +	
		c. +	c. +	c. +	
		d. +	d. +	d. +	
Tahap seleksi pada media BSA	Koloni berwarna hitam, kadang-kadang disertai kilap logam	a. –	a. –	a. –	Pada media tidak terdapat koloni yang tumbuh
		b. –	b. –	b. –	
		c. –	c. –	c. –	
		d. –	d. –	d. –	
Tahap konfirmasi	Media TSIA: terdapat warna merah pada permukaan agar miring, warna kuning pada media di dasar tabung, dengan atau tanpa pembentukan H ₂ S yang berwarna hitam	a. –	a. –	a. –	Tidak dilakukan uji konfirmasi
		b. –	b. –	b. –	
		c. –	c. –	c. –	
		d. –	d. –	d. –	
	Media LIA: terdapat warna ungu, dengan atau tanpa pembentukan warna kuning pada media di dasar tabung	a. –	a. –	a. –	Tidak dilakukan uji konfirmasi
		b. –	b. –	b. –	
		c. –	c. –	c. –	
		d. –	d. –	d. –	

Keterangan: a = Tidak ditambah daun salam (kontrol), b = konsentrasi daun salam 1:4, c = konsentrasi daun salam 2:4, d = konsentrasi daun salam 3:4, + = hasil positif, - = hasil negatif

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa tahap pra-pengkayaan pada medium LB dan tahap pengkayaan pada medium SCB, masih memperlihatkan hasil positif, sedangkan pada tahap uji selanjutnya memperlihatkan hasil negatif. Hal ini dapat terjadi karena pada tahap pra-pengkayaan, medium LB yang digunakan bukanlah medium selektif sehingga masih mampu mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Pada tahap pengkayaan, medium selektif SCB masih mampu mendukung pertumbuhan bakteri *Proteus* dan *Pseudomonas*. Selain itu, pertumbuhan *E. coli* juga tidak terlalu terhambat, sehingga masih memberikan hasil yang positif.

Pada akhir pengujian secara kualitatif terhadap bakteri patogen *Salmonella* menunjukkan hasil yang negatif pada berbagai perlakuan penambahan serbuk daun salam dengan beberapa perbandingan, baik pada penyimpanan 0, 2, maupun 4 minggu. Hal ini dapat terjadi karena meskipun bakteri *Salmonella* merupakan penyebab utama terjadinya *food borne disease* pada telur, bakteri tersebut sangat jarang ditemukan pada pengujian makanan. Selain itu, menurut Tranter (1994), telur secara alami juga mengandung beberapa senyawa, seperti lisozim, ovotransferin, dan avidin, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, termasuk *Salmonella*.

Lisozim atau 1,4- β -N-asetilmuramat merupakan enzim yang dapat memotong ikatan glikosida antara C1 dari asam N-asetilmuramat (NAM) dan C4 dari N-asetilglukosamin (NAG) pada membran peptidoglikan sel bakteri, serta dapat melisis sel bakteri. Ovotransferin (Otf), yang disebut juga konalbumin, merupakan suatu glikoprotein yang sebagian besar terdapat pada putih telur. Ovotransferin

dapat mengikat beberapa unsur logam yang sangat esensial bagi pertumbuhan bakteri (Tranter 1994).

Garam yang ditambahkan pada proses pembuatan telur asin juga berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella*. Adanya garam yang terlarut dalam telur asin menyebabkan tekanan osmotiknya menjadi lebih tinggi daripada tekanan osmotik di dalam sel bakteri. Perbedaan tekanan osmotik tersebut dapat menyebabkan terjadinya plasmolisis pada sel-sel bakteri tersebut. Menurut Hudaya dan Daradjat (1988), adanya penambahan garam yang bersifat higroskopis juga dapat menyerap air dan mengurangi kelarutan oksigen pada bahan yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri.

Daun salam yang ditambahkan pada proses pengasinan telur pada penelitian ini, mengandung beberapa senyawa yang bersifat antibakteri, diantaranya tanin, minyak atsiri, dan flavonoid. Menurut Pelczar et al. (1988), senyawa-senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa mekanisme, yaitu menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri, mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein pada sel bakteri.

Adanya salah satu atau gabungan dari ketiga faktor, yaitu faktor internal dari telur, faktor eksternal seperti garam, dan senyawa antibakteri pada serbuk daun salam, menyebabkan pertumbuhan bakteri *Salmonella* pada telur asin terhambat. Oleh karena itu, pengujian kualitatif terhadap bakteri *Salmonella* memberikan hasil yang negatif sampai akhir penyimpanan.

Uji kuantitatif bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian secara kuantitatif terhadap bakteri *S. aureus* dilakukan dengan teknik MPN (*Most Probable Number*) yang sesuai untuk mendeteksi adanya bakteri *S. aureus* pada makanan yang diduga terdapat dalam jumlah yang rendah (kurang dari 100 sel/gram). Prinsip dari metode MPN adalah pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada medium pembenihan cair yang cocok dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasikan pada suhu 36°C selama 48 jam. Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi (penegasan) pada medium agar padat selektif dan hasilnya merujuk pada tabel MPN. Adapun hasil pengujian secara kuantitatif terhadap bakteri *S. aureus* dalam telur asin yang telah ditambahkan daun salam pada beberapa konsentrasi, selama penyimpanan pada suhu kamar dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Pengujian secara kuantitatif terhadap bakteri *S. aureus* pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka semakin meningkatkan jumlah bakteri *S. aureus* pada telur asin. Hal ini dapat disebabkan bakteri *S. aureus* termasuk bakteri tahan garam, sehingga mampu terus tumbuh dengan baik pada lingkungan berkadar garam tinggi seperti telur asin. Faktor penyebab lainnya adalah suhu ruang penyimpanan yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu kamar yang merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Hasil penelitian pada Tabel 3 juga menunjukkan bahwa penambahan daun salam pada proses pembuatan telur asin dapat memperlambat peningkatan jumlah bakteri *S. aureus* pada telur asin. Semakin tinggi konsentrasi daun salam yang ditambahkan, semakin memperlambat peningkatan jumlah bakteri *S. aureus* pada telur asin. Hal ini memperlihatkan bahwa daun salam yang digunakan pada penelitian ini mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Menurut Purwati (2004), daya antibakteri pada daun salam disebabkan oleh kandungan senyawanya seperti tanin, minyak atsiri, dan flavonoid.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 2 dan 4 minggu, jumlah bakteri *S. aureus* tertinggi terdapat pada telur asin yang ditambah daun salam dengan konsentrasi 1:4. Hal tersebut diduga terjadi karena daun salam yang ditambahkan pada perlakuan ini memiliki konsentrasi yang terendah jika dibandingkan dengan perlakuan lain yang ditambah daun salam dengan konsentrasi 2:4 dan 3:4. Oleh karena itu, senyawa-senyawa antibakteri yang tersedia untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* juga lebih sedikit, sehingga jumlah bakteri *S. aureus* dalam telur asin pada perlakuan ini paling banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar et al. (1988) bahwa konsentrasi atau intensitas suatu zat antimikrobia dapat mempengaruhi aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikrobia tersebut. Semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobia yang ditambahkan maka akan semakin cepat atau semakin banyak sel-sel mikroorganisme yang terbunuh atau terhambat pertumbuhannya.

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 19-2897-1992, telur asin dapat dikategorikan mempunyai kualitas mikrobiologis yang masih baik dan aman untuk dikonsumsi apabila kandungan bakteri patogen *Salmonella*

adalah negatif dan kandungan bakteri *S. aureus* kurang dari 10 koloni/gram. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telur asin sampel secara mikrobiologis memiliki kualitas yang jelek dan tidak aman untuk dikonsumsi pada penyimpanan selama 4 minggu, baik telur asin kontrol maupun telur asin yang sudah diberi perlakuan dengan penambahan daun salam, karena kandungan bakteri *S. aureus* melebihi 10 koloni/gram.

Gambar 3. Jumlah bakteri *S. aureus* (MPN/g) dalam telur asin yang telah ditambah daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar.

Gambar 4. Nilai kesukaan panelis terhadap telur asin yang telah ditambahkan daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar.

Tabel 3. Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* (MPN/g) dalam telur asin yang telah ditambah daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar.

Konsentrasi daun salam	Jumlah bakteri <i>S. aureus</i> (MPN/g) (minggu)		
	Ke-0	Ke-2	Ke-4
0	<3	6,000	87,000
1:4	<3	9,000	111,333
2:4	<3	4,667	84,338
3:4	<3	2,667	16,333

Tabel 4. Nilai kesukaan panelis terhadap telur asin yang telah ditambah daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar

Konsentrasi daun salam (g/L)	0	1:4	2:4	3:4
Rata-rata nilai kesukaan panelis	3,44 ^a	3,08 ^a	3,36 ^a	3,24 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Tabel 5. Kadar TVB (mgN%) telur asin yang telah ditambah daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar

Konsentrasi daun salam	Kadar TVB (mgN%) (minggu)			Rata-rata
	Ke-0	Ke-2	Ke-4	
0	8,000	34,667	96,000	46,222 ^a
1:4	10,667	37,333	128,000	58,667 ^b
2:4	10,667	29,333	93,333	44,444 ^a
3:4	8,000	26,667	40,000	24,889 ^c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang tidak sama dalam satu kolom menunjukkan beda nyata pada uji DMRT 5%

Pengujian organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan berdasarkan tingkat kesukaan konsumen terhadap telur asin tanpa penyimpanan yang telah diberi perlakuan dengan penambahan daun salam (metode hedonik). Nilai 1 untuk telur asin yang sangat tidak disukai dan nilai 5 untuk telur asin yang sangat disukai. Pengujian dilakukan terhadap 25 orang panelis yang tidak terlatih dengan mengisi kuosioner yang telah disediakan. Hasil pengujian organoleptik terhadap telur asin yang telah ditambah daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 4.

Analisis nonparametrik terhadap hasil pengujian organoleptik berdasarkan tingkat kesukaan konsumen terhadap telur asin pada Tabel 4, menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antara telur asin kontrol (tidak diberi perlakuan) dengan telur asin yang telah diberi perlakuan penambahan daun salam dengan perbandingan 1:4, 2:4, dan 3:4. Penambahan daun salam pada pembuatan telur asin tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap tingkat kesukaan panelis karena telur dilindungi oleh cangkang telur dan beberapa selaput di dalamnya. Cangkang telur dan beberapa selaput tersebut melindungi telur dari pengaruh lingkungan serta menghalangi masuknya zat-zat asing dari luar ke dalam telur. Oleh karena itu, penambahan serbuk daun salam pada saat pembuatan telur asin tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap rasa dari telur asin.

Hasil analisis korelasi menunjukkan adanya hubungan yang sangat lemah antara konsentrasi daun salam yang ditambahkan (X) dan tingkat kesukaan panelis (Y), dengan koefisien korelasi (R) sebesar 0,043. Dari hasil analisis regresi didapatkan persamaan garis regresi: $Y = 3,360 - 3,20X$ yang berarti bahwa peningkatan konsentrasi daun salam dapat mengakibatkan penurunan tingkat kesukaan panelis terhadap telur asin sampel.

Gambar 4 menunjukkan bahwa para panelis (konsumen) memberikan skala nilai rata-rata 3,4; 3,08; 3,36; dan 3,24 secara berturut-turut untuk telur asin kontrol, telur asin yang ditambah daun salam dengan perbandingan 1:4, 2:4, dan 3:4. Berdasarkan skala nilai tersebut dapat diketahui bahwa telur asin pada semua perlakuan memiliki tingkat kesukaan yang biasa bagi para konsumen.

Pengukuran kadar TVB (*Total Volatile Bases*)

Pengukuran kadar TVB telur asin dilakukan dengan metode titrasi menggunakan larutan HCl terhadap larutan asam borat pada cawan conway. Pada saat pengukuran kadar TVB dilakukan proses inkubasi selama semalam pada suhu kamar. Selama waktu semalam tersebut diduga terjadi pengikatan basa-basa volatil telur asin yang diuji oleh asam borat. Hasil pengukuran kadar TVB telur asin yang ditambahkan daun salam dengan beberapa konsentrasi selama penyimpanan pada suhu kamar dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil uji *General Linear Model* dapat diketahui bahwa pemberian daun salam memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kadar TVB telur asin. Hasil uji lanjut menggunakan uji DMRT pada taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa kadar TVB yang terbentuk pada perlakuan kontrol, ditambah serbuk daun salam dengan perbandingan 1:4, 2:4, dan 3:4 sangat berbeda nyata.

Berdasarkan analisis korelasi dan regresi yang dilakukan, terdapat korelasi positif antara konsentrasi daun salam (X1) dan lama penyimpanan (X2) terhadap kadar TVB (Y) telur asin. Koefisien korelasi (R) yang diperoleh sebesar 0,862 dengan persamaan garis regresinya: $Y = 15,289 - 31,289X_1 + 20,000X_2$. Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan konsentrasi daun salam akan menurunkan kadar TVB telur asin. Sebaliknya, semakin lama penyimpanan akan semakin meningkatkan kadar TVB telur asin.

Pada semua perlakuan, kadar TVB tertinggi terlihat pada minggu ke-4 yaitu sebesar 96 mgN% untuk telur asin kontrol, 128 mgN% untuk telur asin yang ditambah dengan daun salam pada konsentrasi 1:4, 93,333 mgN% untuk telur asin yang ditambah dengan daun salam pada konsentrasi 2:4, dan 40 mgN% untuk telur asin yang ditambah dengan daun salam pada konsentrasi 3:4.

Kadar TVB tertinggi diperoleh pada telur asin yang ditambah dengan daun salam dengan konsentrasi 1:4. Hal tersebut dapat terjadi karena daun salam yang ditambahkan pada perlakuan tersebut memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lain yang ditambahkan daun salam dengan konsentrasi 2:4 dan 3:4. Oleh karena itu, senyawa-senyawa antibakteri yang tersedia untuk menghambat aktivitas dan pertumbuhan bakteri-bakteri pembusuk juga lebih sedikit, sehingga aktivitas pembusukan yang terjadi paling tinggi. Faktor lain yang berperan adalah tingkat kelembapan pada saat perendaman telur asin dalam campuran daun salam dan air. Pada saat itu, kelembapan tertinggi terdapat pada telur asin yang direndam dalam campuran daun salam dan air dengan konsentrasi 1:4. Kelembapan yang tinggi tersebut merupakan faktor pendukung pertumbuhan mikroba pada telur asin, sehingga jumlahnya paling tinggi dibanding telur asin pada perlakuan yang lain. Jumlah bakteri yang tinggi mengakibatkan aktivitas penguraian substrat untuk pertumbuhan bakteri dan pembusukan juga akan lebih besar, sehingga kadar TVB-nya paling tinggi daripada telur asin pada perlakuan lainnya.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka semakin meningkatkan

kadar TVB telur asin. Peningkatan kadar TVB berkaitan erat dengan pemecahan protein menjadi senyawa-senyawa sederhana yang mengandung basa-basa menguap seperti amonia dan trimetilamin (TMA) oleh enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri pembusuk. Pada tahap ini, mulai terbentuk metabolit-metabolit penyebab bau busuk seperti putresin, karbon dioksida, hidrogen sulfida, asam organik, amoniak, indol, dan skatol. Menurut Trihendrokesowo (1989), bakteri pembusuk pada telur yang paling umum adalah *Pseudomonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, dan *Citrobacter*. Pembusukan atau perusakan oleh mikroba pada bahan makanan juga dapat terjadi dengan cara menghidrolisis atau menguraikan makromolekul karbohidrat dan lemak menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Makromolekul karbohidrat dipecah menjadi gula sederhana yang selanjutnya akan dipecah lagi menjadi asam-asam dengan atom karbon rendah. Dengan terurainya karbohidrat (pati, pectin, dan selulosa), suatu bahan dapat mengalami pelunakan dan pH bahan akan menurun. Makromolekul lemak akan dipecah menjadi asam-asam lemak dan gliserol (Hudaya dan Daradjat 1988).

Dapat diketahui juga bahwa penambahan daun salam pada proses pembuatan telur asin dapat menekan kenaikan kadar TVB. Semakin tinggi konsentrasi daun salam yang ditambahkan pada proses pembuatan telur asin maka akan semakin memperlambat laju peningkatan kadar TVB telur asin. Hal ini dapat disebabkan serbuk daun salam yang ditambahkan pada proses pembuatan telur asin dalam penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri oleh adanya kandungan senyawa tannin, minyak atsiri, dan flavonoid. Senyawa-senyawa antibakteri telah diketahui dapat menghambat aktivitas bakteri pembusuk, sehingga pembentukan basa-basa volatil juga dapat dihambat.

Telur asin dikategorikan masih layak untuk dikonsumsi apabila memiliki kadar TVB di bawah 20 mgN% (Aritonang dan Rahayu 1993). Dari hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa berdasarkan kadar TVB, telur asin dikategorikan sudah tidak layak untuk dikonsumsi sejak minggu ke-2 penyimpanan, baik pada telur asin kontrol maupun telur asin yang telah diberi perlakuan penambahan daun salam, karena kadar TVB-nya lebih dari 20 mgN%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: (i) Adanya faktor internal dari telur, garam dan senyawa antibakteri pada serbuk daun salam dapat mengeliminasi keberadaan bakteri *Salmonella* sampai akhir penyimpanan. (ii) Variasi konsentrasi daun salam dapat menurunkan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* pada telur asin. (iii) Variasi konsentrasi daun salam dan lama penyimpanan berpengaruh secara signifikan terhadap kadar

Total Volatile Bases (TVB) telur asin, namun tidak dapat memperpanjang daya simpannya serta tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas organoleptik telur asin. (iv) Berdasarkan pengujian secara mikrobiologis, telur asin sudah tidak layak dikonsumsi pada minggu ke-4, sedangkan berdasarkan pengujian TVB, telur asin sudah tidak layak dikonsumsi pada minggu ke-2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan cara penambahan daun salam yang berbeda pada telur asin. Disarankan telur asin tidak disimpan lebih dari 2 minggu pada suhu kamar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus GTK. 2002. Intensifikasi beternak itik. AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Aritonang SN, I Rahayu HS. 1993. Pengaruh lama penggaraman dan penyimpanan telur itik diasin sebelum direbus terhadap daya simpan telur asin. Media Gizi dan Keluarga 17(2): 42-46.
- Astawan MW, Astawan M. 1989. Teknologi pangan hewani tepat guna. CV Akademika Presindo, Jakarta.
- Dalimarta S. 2005. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 2005. Telur. <http://pusat.jakarta.go.id/> [30 September 2005].
- Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. 1992. Farmakope Indonesia: Batas Maksimum Cemaran Mikroba Makanan, SNI No. 19-2897-1992. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hudaya S, Daradjat S. 1988. Dasar-dasar pengawetan I. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta.
- Humphrey T. 2000. Public health aspect of *Salmonella* infection. In: Wrey C, Wrey A (eds). *Salmonella* in Domestic Animal. CAB International, UK.
- Kartika B, Hastuti P, Supartono W. 1988. Pedoman uji inderawi bahan pangan. UGM Press, Yogyakarta.
- Ozogul F, Ozogul Y. 1999. Comparison of methods used for determination of total Volatile Bases Nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk J Zool 24: 113-120.
- Pelczar MJ, Raid RD, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid ke-2. UI Press, Jakarta.
- Portocarrero SM, Newman M, Mikel B. 2002. Reduction of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli* 0157:H7 during processing of country-cured hams. J Food Sci 67(5): 1892-1898.
- Purwati A. 2004. Sembilan tanaman obat unggulan hasil uji klinis badan POM 2004. Berita Keanekaragaman Hayati. <http://www.beritabumi.or.id/> [10 Maret 2006].
- Rasyaf M. 1991. Pengelolaan produksi telur. Edisi ke-2. Kanisius, Yogyakarta.
- Rukmana HR. 2003. Ayam buras, intensifikasi, dan kiat pengembangan. Kanisius, Yogyakarta.
- Santoso U. 1999. Metode analisis hasil-hasil perikanan. Hand Out Hasil Pertanian. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Srigandono B. 1986. Ilmu unggas air. UGM Press, Yogyakarta.
- Suprpti ML. 2002. Pengawetan telur. Kanisius, Yogyakarta.
- Tranter HS. 1994. Lysozyme, ovotransferrin and avidin. Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation. CAB International, UK.
- Trihendrokesowo. 1989. Petunjuk laboratorium mikrobiologi pangan. UGM Press, Yogyakarta.
- Tulung YLR, Suartha N, Hetharie H et al. 2003. Telur sebagai imunoterapi penyakit menular. Makalah Pengantar Falsafah Sains. Program Pascasarjana IPB, Bogor.