

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pengertian dan Komposisi Susu**

Susu didefinisikan sebagai cairan berwarna putih hasil pemerahan sapi atau hewan menyusui lainnya yang dapat dimakan atau digunakan sebagai bahan makanan yang aman dan sehat (Soedono, 1982). Susu merupakan bahan pangan alami dengan nilai nutrisi yang lengkap dan telah dikonsumsi oleh hampir seluruh lapisan masyarakat. Susu berasal dari semua hewan mamalia yaitu hewan yang mempunyai kelenjar ambing atau kelenjar susu. Ada lebih dari 10.000 spesies mamalia yang menghasilkan susu.

Susu segar dikatakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Nilai gizinya yang tinggi juga menyebabkan susu merupakan medium yang sangat disukai oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar (Eniza, 2004). Oleh karena alasan itulah perlu adanya usaha pengolahan susu baik itu secara diversifikasi maupun pengawetan susu agar keadaannya tidak cepat rusak (Arif, 2006).

Susu mengandung berbagai macam senyawa organik dan anorganik yang sangat diperlukan oleh tubuh, namun begitu komponen terbanyak susu adalah air,

jumlahnya mencapai 84-89%. Air merupakan tempat terdispersinya komponen - komponen susu yang lain (Ikawati, 2006). Secara umum komposisi susu dalam 100 gram susu segar diperlihatkan dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komponen kimiawi rata-rata susu sapi dan variasinya tiap 100 gram

| Komponen    | Rata-rata kandungan |
|-------------|---------------------|
| Air         | 88 gram             |
| Kalori      | 61kal               |
| Protein     | 3,2 gram            |
| Lemak       | 3,5 gram            |
| Karbohidrat | 4,3 gram            |
| Kalsium     | 143 mili gram       |
| Posfor      | 60 mili gram        |
| Besi        | 1,7 mili gram       |
| Vitamin A   | 130 SI              |
| Vitamin B1  | 0,03 mili gram      |
| Vitamin C   | 1 mili gram         |

(sumber : Anna Poedjadi dan F.M. Titin Supriyanti, 2006)

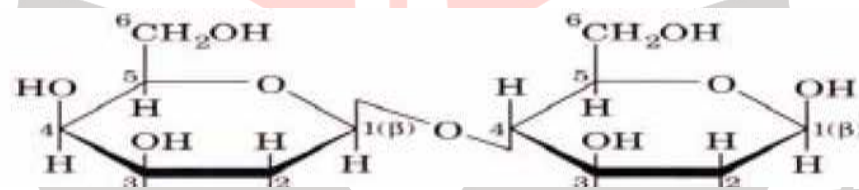
Komposisi senyawa dalam susu kadarnya bisa berbeda – beda karena dipengaruhi oleh beberapa faktor. Laktosa dan protein dalam susu relatif konstan dan menunjukkan kadar yang kecil bila pemerahan dilakukan pada siang hari. Tetapi kandungan lemak susu mungkin berbeda jika pemerahan dilakukan pada pagi hari dan kemudian sore hari. Susu yang diperah pada pagi hari mengandung lebih banyak lemak daripada susu yang diperah pada sore hari. Semakin teratur

jarak antara pemerahan, semakin teratur pula kandungan lemak pada susu tersebut.

## 2.2 Sifat Kimia Susu

### 2.2.1 Laktosa dalam Susu

Laktosa adalah karbohidrat utama yang terdapat dalam susu. Apabila dihidrolisa laktosa ini akan menghasilkan galaktosa dan glukosa. Ikatan galaktosa dan glukosa terjadi antara atom karbon nomor satu pada glukosa dan atom karbon nomor empat pada glukosa. struktur kimia dari laktosa dapat dilihat pada gambar dibawah:



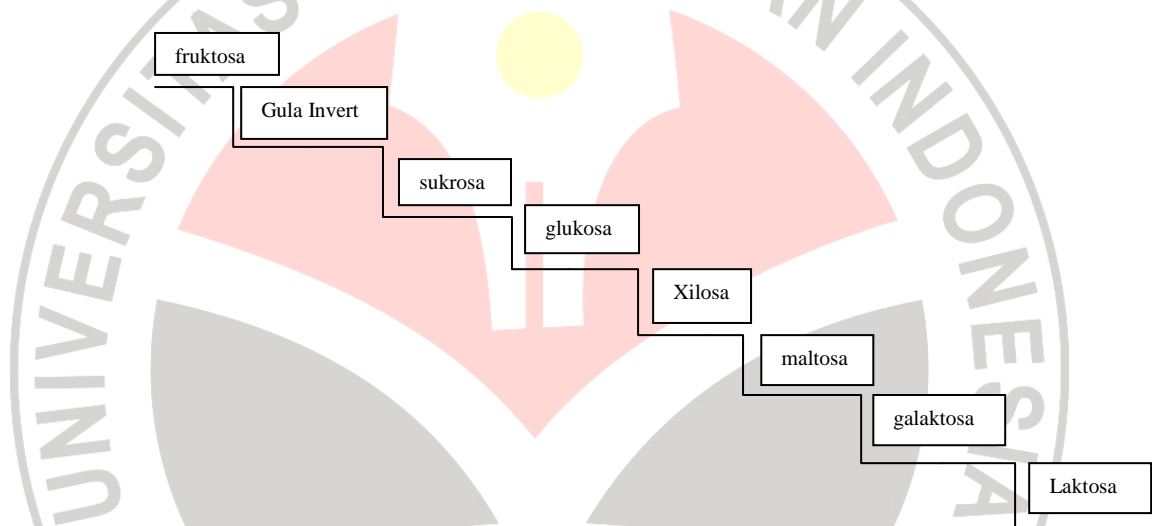
Gambar 2.1 struktur laktosa

Seperti terlihat pada gambar di atas, laktosa mempunyai ikatan  $\beta$  1-4, ikatan ini merupakan ikatan yang kuat. Untuk hidrolisa laktosa dibutuhkan kadar asam dan suhu yang tinggi, oleh karena itu dengan perlakuan hidrolisa tersebut dapat menyebabkan timbulnya diskolorisasi dan flavor yang tidak dikehendaki. Laktosa dapat dihidrolisis dengan enzim  $\beta$ - D-galaktosidase. Hasil hidrolisis tersebut berupa asam-asam organik, terutama asam laktat.

Laktosa merupakan karbohidrat yang digunakan untuk pertumbuhan pembuatan makanan bayi. Karbohidarat yang terdapat di dalam air susu ibu

adalah laktosa yang kadarnya 7 %, kadar tersebut lebih besar dari kadar laktosa di dalam air susu sapi (Adnan, 1984). Dalam pembuatan keju dikenal *whey*, yaitu merupakan hasil samping dari pembuatan keju. Kandungan laktosa dalam *whey* sebanyak 70% oleh karena itu laktosa memegang peranan penting dalam menentukan sifat dari produk-produk berbahan *whey*.

Laktosa memiliki derajat kemanisan yang lebih kecil dari glukosa, tingkat kemanisan beberapa jenis karbohidrat dapat dilihat pada gambar 2.2 di bawah ini.



Gambar 2.2 Tingkat kemanisan beberapa jenis karbohidrat

(Poedjiadi, 2006)

Karena tingkat kemanisan yang rendah laktosa sangat berguna dalam pengolahan berbagai bahan makanan. Misalnya dapat digunakan untuk memperbaiki tekstur makanan tanpa menyebabkan bahan makanan tersebut menjadi terlalu manis. Juga dapat digunakan dalam industri kue dan roti untuk menghasilkan warna kecoklatan dan menghasilkan flavor yang lebih baik.

### 2.2.2 Protein dalam Susu

Menurut Adnan (1984) dalam Riyadh (2003), protein yang terkandung dalam susu adalah kasein dan merupakan partikel yang besar. Di dalamnya tidak hanya terdiri dari zat-zat organik, melainkan mengandung juga zat-zat anorganik seperti kalsium, phosphor, dan magnesium. Kasein yang merupakan partikel yang besar dan senyawa yang kompleks tersebut dinamakan juga kasein misel (*casein micell*). Kasein misel tersebut besarnya tidak seragam, berkisar antara 30 - 300  $\mu$ m. Kasein juga mengandung sulfur (S) yang terdapat pada metionin (0,69%) dan sistin (0,09%). Kasein adalah protein yang khusus terdapat dalam susu. Dalam keadaan murni, kasein berwarna putih seperti salju, tidak berbau dan tidak mempunyai rasa yang khas. Karena kasein mengandung senyawa kalsium dan phosphat, oleh karena itu kasein memiliki nama lain Ca-caseinate-phosphate micell. Dengan elektroforesis kasein dapat dibedakan menjadi tiga jenis protein yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$  kasein (Buckle, 2007). Secara berurutan besarnya konsentrasi protein-protein tersebut didalam susu adalah 75 %, 23 % dan 3 %. Dengan pemisahan lebih lanjut ternyata  $\alpha$ -kasein bukan merupakan protein yang homogen melainkan masih tersusun dari beberapa fraksi. Fraksi utamanya yaitu  $\alpha_s$ -kasein dan k-kasein.

Selanjutnya Buda dkk. (1980) dalam Riyadh (2003) menjelaskan, bahwa kasein dapat diendapkan oleh asam, enzim rennet dan alkohol. Oleh karena itu kasein dalam susu dapat dikoagulasikan atau digumpalkan oleh asam yang terbentuk di dalam susu sebagai aktivitas dari mikrobia. Sisa dari penggumpalan tersebut adalah whey. Kira-kira 0,5 – 0,7 % dari bahan protein yang dapat larut

tertinggal dalam whey yaitu protein – protein laktalbumin dan laktoglobulin (Buckle, 2007).

### 2.2.3 Denaturasi dan Koagulasi pada Protein Susu

Menurut Anna Poedjadi dan F.M. Titin Supriyanti (2006), beberapa jenis protein sangat peka terhadap perubahan lingkungannya. Perubahan konformasi alamiah menjadi suatu konformasi yang tidak menentu merupakan suatu proses yang disebut denaturasi. Proses denaturasi ini kadang – kadang dapat berlangsung secara reversibel, kadang – kadang tidak. Penggumpalan protein biasanya didahului oleh proses denaturasi yang berlangsung dengan baik pada titik isolistrik protein tersebut.

Menurut Winarno (1997), ada dua macam denaturasi, yaitu pengembangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Pengembangan atau pemekaran molekul protein yang terdenaturasi akan membuka gugus reaktif yang berada pada rantai polipeptida. Selanjutnya akan terjadi pengikatan kembali pada gugus reaktif yang sama atau berdekatan. Bila unit kimia yang terbentuk cukup banyak sehingga protein tidak lagi terdispersi sebagai suatu koloid, maka protein tersebut mengalami koagulasi. Apabila ikatan – ikatan antara gugus – gugus reaktif protein tersebut menahan seluruh cairan, akan terbentuk gel. Sedangkan bila cairan terpisah dari protein yang terkoagulasi itu, protein akan mengendap. Protein yang terdenaturasi berkurang kelarutannya. Lapisan molekul protein bagian dalam yang bersifat hidrofobik berbalik keluar, sedangkan bagian luar yang bersifat hidrofil terlipat ke dalam.



Pelipatan atau pembalikan terjadi khususnya bila larutan protein mendekati pH isolistriknya, dan akhirnya protein akan menggumpal atau mengendap.

#### 2.2.4 Lemak dalam susu

Adnan (1984) dalam Riyadh (2003) menjelaskan, di dalam susu, lemak terdapat sebagai emulsi minyak dalam air. Bagian lemak tersebut dapat terpisah dengan mudah karena berat jenisnya yang kecil. Karena mempunyai luas permukaan yang sangat besar, reaksi-reaksi kimia mudah sekali terjadi di permukaan perbatasan antara lemak dan mediumnya. Permukaan yang luas tersebut dapat terjadi karena lemak berada dalam bentuk globula-globula yang mempunyai diameter berkisar antara 0,1  $\mu$  sampai 15  $\mu$  dengan diameter rata-rata berkisar antara 3-4  $\mu$ . Lemak di dalam susu terdapat dalam tiga tempat, yaitu di dalam globula, pada membran material dan di dalam serum. Selanjutnya dijelaskan, bahwa lemak merupakan komponen yang penting dalam susu, karena :

- 1 Mempunyai arti ekonomi yang penting, karena dapat digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan es krim, mentega dan produk-produk susu lainnya.
- 2 Lemak mempunyai nilai gizi yang tinggi atas dasar jumlah energi yang dikandungnya. Selain itu lemak juga mengandung nutrisi lain yang penting seperti vitamin-vitamin dan asam-asam lemak esensial.
- 3 Lemak memegang peranan dalam menentukan rasa, bau dan tekstur.

Menurut Buckle (2007), sekurang – kurangnya 50 macam asam lemak berbeda telah ditemukan dalam lemak susu di mana 60-75% bersifat jenuh, 25-

30% bersifat tidak jenuh dan sekitar 4 % merupakan asam lemak *polyunsaturated*. Asam lemak yang berada paling banyak adalah miristat (C<sub>14</sub>), palmitat (C<sub>16</sub>), dan stearat (C<sub>18</sub>), asam lemak tak jenuh yang utama adalah oleat (C<sub>18</sub>- satu ikatan rangkap), linoleat (C<sub>18</sub>- dua ikatan rangkap) dan linolenat (C<sub>18</sub>- *polyunsaturated*). Asam butirat (C<sub>4</sub>) dan kaproat (C<sub>6</sub>) juga terdapat dalam jumlah kecil sebagai trigliserida.

### 2.3 Pengertian Susu Skim

Susu skim adalah bagian susu yang banyak mengandung protein, sering disebut “serum susu”. Susu skim mengandung semua zat makanan dari susu kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak. Krim dan susu skim dapat dipisahkan dengan alat yang disebut *separator*. Alat ini bekerja berdasarkan gaya sentrifugasi. Pemisahan krim dan susu skim dapat terjadi karena kedua bahan tersebut mempunyai berat jenis yang berbeda (Adnan, 1984). Krim mempunyai berat jenis yang rendah karena banyak mengandung lemak. Sedangkan susu skim mempunyai berat jenis yang lebih tinggi karena banyak mengandung protein, sehingga dalam sentrifugasi akan berada dibagian dalam. Susu skim dapat digunakan oleh orang yang menginginkan nilai kalori rendah di dalam makanannya, karena susu skim hanya mengandung 55% dari seluruh energi susu, dan susu skim juga digunakan dalam pembuatan keju dengan lemak rendah (Saleh, 2004). Komposisi susu skim secara umum dapat dilihat pada tabel 2.



Tabel 2.2. Komponen kimiawi rata-rata susu skim tiap 100 gram

| Komponen    | Rata-rata kandungan |
|-------------|---------------------|
| Air         | 91 gram             |
| Kalori      | 36 kal              |
| Protein     | 3,5 gram            |
| Lemak       | 0,1gram             |
| Karbohidrat | 5,1 gram            |
| Kalsium     | 123 mili gram       |
| Posfor      | 97 mili gram        |
| Besi        | 0,1 mili gram       |
| Vitamin B1  | 0,04 mili gram      |
| Vitamin C   | 1 mili gram         |

(sumber : Anna Poedjadi dan F.M. Titin Supriyanti, 2006)

#### 2.4 Keju dan Macam - Macamnya

Keju merupakan suatu produk pangan yang berasal dari hasil penggumpalan (koagulasi) dari protein susu. Proses utama yang terjadi dalam pembuatan keju adalah pengasaman, koagulasi, dehidrasi dan penggaraman (Heintz, 2008). Susu yang digunakan untuk pembuatan keju adalah susu sapi walaupun susu dari hewan lainnya juga dapat digunakan. Selain dari kasein (protein susu), komponen susu lainnya seperti lemak, mineral-mineral dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak juga terbawa dalam gumpalan partikel-partikel kasein.

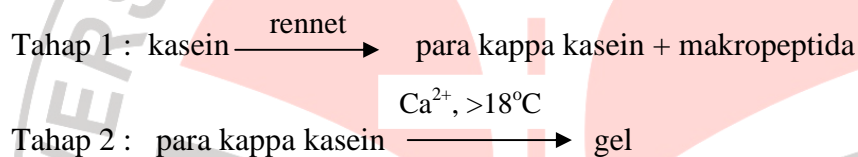
Dewasa ini, terdapat berbagai macam dan jenis keju, tergantung di mana keju tersebut dibuat, jenis susu yang digunakan, metode pembuatannya dan perlakuan yang digunakan untuk proses pemeraman atau pematangannya. Cara yang umum digunakan untuk mengklasifikasi keju adalah berdasarkan tekstur dan proses pemeraman atau pematangan. Berdasarkan teksturnya keju diklasifikasi menjadi :

1. Keju sangat keras,
2. Keju keras,
3. Keju semi keras, dan
4. Keju lunak.

Keju lunak peram mempunyai kadar air lebih dari 45% sampai 52% terdiri dari yang diperam dengan kapang : *Camembert cheese* dan yang diperam dengan bakteri : *Limburger cheese*. Keju lunak tanpa peram dengan kadar air lebih dari 52% sampai dengan 80% terdiri dari yang berkadar lemak rendah : *Cottage cheese* (0.5 - 1.5%) dan berkadar lemak tinggi : *Cream cheese* (30% lemak) dan *Neufchalel cheese* (29% lemak. Beberapa jenis keju lunak yang berasal dari beberapa Negara yaitu *camembert* dari Normandia, *ricotta* berasal dari Italia, dan *brie* berasal dari Italia (Sutomo, 2006).

Menurut Fulya Kayagil (2006), Pada dasarnya teknologi dasar dalam membuat berbagai macam tipe keju adalah sama, namun perubahan kecil selama proses pembuatan keju dapat menghasilkan keju yang berbeda. Perubahan susu yang terjadi dari cair menjadi gel (koagulasi) adalah langkah awal dalam pembuatan segala jenis keju. Koagulasi ini terjadi akibat dari terganggunya

kestabilan protein oleh bakteri starter, enzim protease seperti rennet, cymosin, papain dan sebagainya, kombinasi antara bakteri starter dan enzim, ataupun akibat penurunan keasaman. Koagulasi dapat terjadi melalui tiga tahapan yaitu pada tahap awal, rennet akan memotong phe(105)-met(106) pada kappa kasein (gambar 2.3) menghasilkan para kappa kasein dan CMP (kasein makro peptida) dalam bentuk larutan CMP yang berdifusi jauh dari misell. Tahap kedua misell berkumpul karena adanya interaksi hidropobik dan kalsium yang menjadi jembatan antara misel-misel tersebut bergabung. Reaksi yang terjadi secara keseluruhan adalah :



Gambar 2.3 Pemotongan para  $\kappa$ -kasein oleh rennet diantara Phe(105)-met(106)

(Sumber : [www.cheesescience.net](http://www.cheesescience.net))

Keju *cottage* merupakan keju yang memiliki *setting* waktu pematangan yang pendek. Sehingga proses pembentukan keju *cottage* hanyalah sampai tahap pengambilan dadih yang dikeringkan dari *whey*. Menurut Surono & Hosono (1995), dadih merupakan sumber protein yang tinggi yaitu sekitar 39,8% dimana proteinnya tergolong protein lengkap yang mengandung hampir semua jenis asam amino esensial guna keperluan pertumbuhan. Selain itu dadih mengandung kalsium, dimana mineral ini sangat berperan dalam pertumbuhan dan pembentukan tulang dan gigi dan mencegah terjadinya pengeroposan tulang (osteoporosis) pada orang dewasa atau usia lanjut. Selain itu pula terdapat beberapa jenis vitamin terutama vitamin B kompleks yang merupakan komponen susu sendiri dan vitamin B dan K yang terbentuk selama proses fermentasi (Pato, 2003).

## 2.5 Enzim Papain dalam Getah Pepaya

Enzim papain sebagai salah satu pengganti enzim rennet mempunyai beberapa kelebihan antara lain lebih mudah didapat, tersedia dalam jumlah banyak, lebih tahan terhadap kondisi asam dan kondisi basa, suhu tinggi serta harganya murah (Tutik, 2003). Papain adalah salah satu jenis enzim protease. Papain dapat diperoleh dari penyadapan getah pepaya. Adapun klasifikasi tanaman pepaya adalah: (Warisno, 2003).

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Spermatophyta*  
Subdivisi : *Angiospermae*

Klas : *Dicotyledonae*  
Ordo : *Parietales*  
Famili : *Caricaceae*  
Genus : *Carica*  
Spesies : *Carica pepaya L*



Gambar 2.4 Tanaman Pepaya (*Carica pepaya L*)

Batang, daun dan buah tanaman pepaya mengandung getah putih yang merupakan suatu enzim yang berfungsi sebagai pemecah protein dan dikenal dengan nama papain. Banyaknya getah yang dihasilkan dari pepaya dipengaruhi oleh usia buah. Hal ini disebabkan oleh perubahan sifat fisiologis dan morfologis yang terjadi selama proses perkembangan buah, dari bunga hingga menjadi buah. Untuk mendapatkan hasil yang terbaik dapat dilakukan penyadapan pada saat buah masih muda yaitu pada usia 2-3 bulan.

Faktor lain yang mempengaruhi hasil getah adalah keadaan lingkungan pada saat penyadapan. Suhu udara yang tinggi akan menyebabkan pohon pepaya banyak mengalami proses transportasi dan memberikan produk lateks dalam

jumlah dan kualitas yang menurun. Penyadapan sebaiknya dilakukan pada pagi hari yaitu antara jam 5.00-8.00 pagi (Suhartono, 1991).

Getah pepaya hasil penyadapan dapat diproses dengan teknologi *spray dryer* atau *freeze drying* berkualitas tinggi untuk memperoleh papain. Metode *freeze drying* dilakukan dengan cara mencampurkan getah pepaya yang diperoleh dengan larutan 0,1 % b/v ( $\text{NaHSO}_3$  : NaCl, 1:1). Campuran larutan getah pepaya ini diaduk sampai rata, kemudian disaring untuk membuang kotoran – kotorannya. Selanjutnya campuran larutan getah pepaya yang telah disaring dimasukkan ke dalam labu pengering beku (*freeze dryer*). Labu yang telah diisi campuran larutan getah pepaya dibekukan pada minus  $20^\circ\text{C}$ , kemudian labu dipasangkan pada mesin *freeze dryer*, pengeringan dilakukan sampai papain terlihat kering berwarna putih kekuningan sekitar 3-4 jam, kemudian dilakukan fraksinasi dan dialisis (Yuniasih, 2005).

Enzim papain sebagai protease sulfhidril dapat diaktifkan oleh zat-zat pereduksi dan menjadi tidak aktif jika terdapat zat pengoksidasi. Enzim papain akan memutus ikatan peptida pada residu asparagin-glutamin, glutamate-alanin, leusin-valin dan penilalanin-tirosin (Tutik, 2003). Papain merupakan rantai polipeptida yang terdiri atas 212 asam amino (Suhartono, 1991).

## 2.6 Bakteri Starter

Menurut Fulya Kayagil (2006), dalam memproduksi keju tipe yang berbeda, termasuk aroma, rasa dan tekstur keju, tipe organisme yang digunakan pun akan bereda. Sebagai contoh untuk keju yang dibuat melalui pemanasan *crud*



selama proses pembuatan, biasanya digunakan bakteri starter seperti *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis*. Dilain pihak, untuk keju yang memerlukan pematangan dalam proses pembuatannya maka digunakan bakteri starter seperti *Lactococcus species*, *Leuconostoc cremoris*, *Lactobacillus casei*.

Menurut Yaygin (1993) dalam Fulya (2006) dalam proses pematangan keju menggunakan kombinasi laktokokus, streptokokus, dan laktobasilus akan dapat memproduksi asam, menghidrolisis protein susu dan menghasilkan aroma lebih cepat. Kecepatan pembentukan asam oleh bakteri starter dalam pembuatan keju lunak tanpa pematangan seperti keju *Mozzarella* dan *Cottage*, sangat penting untuk dilakukan.

### **2.6.1 Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai bakteri starter**

Teknologi fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun moderen, dengan memanfaatkan mikroba baik langsung maupun tidak langsung. Dalam proses fermentasi, mikroba maupun enzim yang dihasilkan dapat menstimulir flavor yang spesifik, meningkatkan nilai cerna bahan pangan, menurunkan kandungan antigizi atau bahan lain yang tidak dikehendaki, dan dapat menghasilkan produk atau senyawa turunan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia (Neech et al., 1985 dalam Misgiyarta, dkk., —). Mikroba yang biasa digunakan sebagai starter dalam fermentasi susu adalah bakteri asam laktat. Bakteri starter memiliki peranan yang penting dalam pembuatan keju, diantaranya :



- Mengembangkan asam dalam dadih (menurunkan pH).
- menekan bakteri yang tahan pasteurisasi atau rekontaminasi bakteri yang membutuhkan laktosa atau tidak bisa mentolerir asam laktat.

Bakteri starter yang paling sering digunakan adalah starter campuran (*mixed-strain*), dimana dua atau lebih turunan bakteri *mesophilic* dan *thermophilic* berada dalam simbiosis mutualisme yang saling menguntungkan. Biakan ini tidak hanya memproduksi asam laktat tetapi juga komponen aroma dan CO<sub>2</sub>. Karbondioksida sangat penting untuk menciptakan rongga-rongga di tipe keju butiran dan tipe “mata bundar (*round-eyed*)”.

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat (Amin dan Leksono, 2001 dalam Rostini, 2007).

Selain itu bakteri asam laktat sebagai starter berperan pula pada pembentukan dadih. Pembuatan dadih atau proses penggumpalan pada pembuatan keju mulai terjadi pada saat penambahan kultur starter. Kultur starter tersebut akan mengubah laktosa menjadi asam laktat, menyebabkan pH menurun (Ansori, 1992) sehingga dapat membantu dalam proses koagulasi.

### 2.6.2 Bakteri *Leuconostoc mesenteroides*

*Leuconostoc mesenteroides* menghasilkan CO<sub>2</sub> dan asam yang dapat menurunkan pH dan menghalangi perkembangan mikroorganisme yang

merugikan. Selain itu dapat membuat lingkungan menjadi anaerobik dan cocok untuk pertumbuhan spesies berikutnya dari ordo laktobasillus.

Morfologi *Leuconostoc mesenteroides* dalam medium cair berbentuk kokus, tunggal atau berpasangan dan berantai pendek, namun bentuknya dapat berubah-ubah sesuai kondisi pertumbuhan. Sel-sel dapat tumbuh dalam media yang mengandung glukosa baik pada media cair maupun media padat. Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* merupakan gram positif, tidak memiliki spora dan tidak bergerak. Bakteri ini pun dapat memproduksi asam dan gas dari glukosa dan memiliki suhu optimum pertumbuhan 20-30 °C (Hendrika, 2008). Adapun klasifikasi *Leuconostoc mesenteroides* adalah :

Kingdom : *Monera*  
Filum : *Firmicutes*  
Kelas : *Bacilli*  
Ordo : *Lactobacilalles*  
Family : *Streptococcaceae*  
Genus : *Leuconostoc*  
Spesies : *Leuconostoc mesenteroides*

(Sumber : [www.en.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc\\_mesenteroides/](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc_mesenteroides/))

### 2.6.3 Bakteri *Streptococcus thermophilus*

*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (lebih dikenal dengan nama *Streptococcus thermophilus*) merupakan bakteri gram positif yang bersifat anaerob dan termasuk homofermentatif. *Streptococcus thermophilus* merupakan

spesies lpha-hemolytik dari kelompok viridans . Biasa diklasifikasikan ke dalam jenis Bakteri Asam Laktat (BAL). *Streptococcus thermophilus* biasa digunakan dalam fermentasi produk susu. Bukan merupakan bakteri probiotik (bakteri yang dapat bertahan dalam perut). Adapun klasifikasi dari *Streptococcus thermophilus* ini adalah:

Kingdom : Monera  
 Filum : Firmicutes  
 Kelas : Cocci  
 Ordo : Lactobacillales  
 Family : Streptococcaceae  
 Genus : Streptococcus  
 Spesies : *S. salivarius*  
 Subspecies : *S. salivarius subsp. thermophilus*

(Sumber : [www.en.wikipedia.org/wiki/ Streptococcus thermophilus /](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Streptococcus_thermophilus/))

#### 2.6.4 Bakteri *Lactococcus lactis*

*Lactococcus lactis* adalah salah satu mikroba yang diklasifikasikan dalam bakteri asam laktat karena *Lactococcus lactis* memfermentasi gula (laktosa) dalam susu menjadi asam laktat. Bakteri ini termasuk gram positif dan tidak membentuk spora (Heintz, 2008).

*Lactococcus lactis* memiliki peranan penting dalam produksi keju seperti Cheddar, keju cottage, cream cheese, Camembert, Roquefort dan Brie. Selain itu

berperan juga dengan baik dalam produk hasil olahan susu seperti mentega dan kefir. Bakteri ini dapat digunakan sebagai kultur starter tunggal atau dicampur dengan bakteri asam laktat lain seperti spesies *Lactobacillus* dan *Streptococcus*.

Adapun klasifikasi dari *Lactococcus lactis* ini adalah:

Kingdom : *Monera*  
Divisi : *Firmicutes*  
Kelas : *Bacilli*  
Ordo : *Lactobacillales*  
Famili : *Streptococcaceae*  
Genus : *Lactococcus*  
Spesies : *Lactococcus lactis*

(Sumber : [www.en.wikipedia.org/wiki/Lactococcus\\_lactis/](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Lactococcus_lactis/))

## 2.7 Metode Analisis Kandungan Gizi

Dalam penentuan kandungan gizi keju *cottage* yang dihasilkan nanti dilakukan analisis kadar protein, kadar lemak dan kadar mineral kalsium yang terdapat dalam keju *cottage*. Dalam menganalisis kadar protein dilakukan dengan metode kjeldahl, kadar lemak dengan metode Gerber, dan kadar mineral kalsium dengan metode spektroskopi serapan atom.

### 2.7.1 Analisis Kandungan Protein dengan Metode Kjeldahl

Metode Kjeldahl merupakan metode yang sederhana untuk penetapan nitrogen total pada asam amino, protein dan senyawa yang mengandung nitrogen.

Metode ini cocok digunakan secara semimikro, sebab hanya memerlukan jumlah sampel dan pereaksi yang sedikit dan waktu analisa yang pendek. Menurut Fatmawaty, (2009) cara Kjeldahl pada umumnya dapat dibedakan atas dua cara, yaitu cara makro dan semimakro. Cara makro kjeldahl digunakan untuk contoh yang sukar dihomogenisasi dan besar contoh 1-3 g, sedang semimikro kjeldahl dirancang untuk contoh ukuran kecil yaitu kurang dari 300 mg dari bahan yang homogen. Analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, destilasi dan titrasi. Prinsip dari analisis Kjeldahl adalah sample yang akan ditentukan kadar nitrogennya direaksikan dengan  $H_2SO_4$  untuk mengubah nitrogen (N) dalam sampel menjadi senyawa ammonium hydrogen sulfat ( $NH_4HSO_4$ ). Larutan yang terbentuk didinginkan dan kemudian direaksikan dengan larutan basa pekat untuk membuat larutan bersifat basa. Gas  $NH_3$  yang keluar dari larutan kemudian ditampung dalam wadah tertutup yang berisi larutan standar asam berlebih, artinya tidak semua asam yang ada akan bereaksi dengan  $NH_3$ , asam yang tidak bereaksi ini nantinya akan dititrasi dengan larutan standar basa. Menurut Fatmawaty (2009), analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, destilasi dan titrasi.

#### 1. Tahap destruksi

Pada tahapan ini sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat sehingga terjadi destruksi menjadi unsur-unsurnya. Elemen karbon, hidrogen teroksidasi menjadi  $CO$ ,  $CO_2$  dan  $H_2O$ . Sedangkan nitrogennya (N) akan berubah menjadi  $(NH_4)_2SO_4$ . Untuk mempercepat proses destruksi sering ditambahkan katalisator

berupa campuran  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{HgO}$  (20:1). Dengan penambahan katalisator tersebut titik didih asam sulfat akan dipertinggi sehingga destruksi berjalan lebih cepat.

## 2. Tahap destilasi

Pada tahap destilasi, ammonium sulfat dipecah menjadi ammonia ( $\text{NH}_3$ ) dengan penambahan  $\text{NaOH}$  sampai alkalis dan dipanaskan. Agar supaya selama destilasi tidak terjadi superheating ataupun pemercikan cairan atau timbulnya gelembung gas yang besar maka dapat ditambahkan logam zink ( $\text{Zn}$ ). Ammonia yang dibebaskan selanjutnya akan ditangkap oleh asam klorida atau asam borat 4 % dalam jumlah yang berlebihan. Agar kontak antara asam dan ammonia lebih baik maka diusahakan ujung tabung destilasi tercelup sedalam mungkin dalam asam. Untuk mengetahui asam dalam keadaan berlebihan maka diberi indikator misalnya  $\text{BCG} + \text{MR}$  atau  $\text{PP}$ .

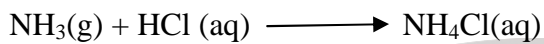
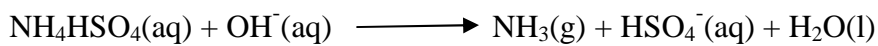
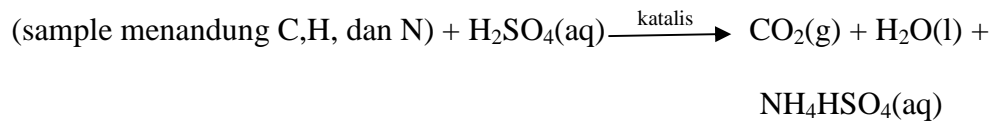
## 3. Tahap titrasi

Apabila penampung destilat yang digunakan asam klorida maka sisa asam klorida yang bereaksi dengan ammonia dititrasi dengan  $\text{NaOH}$  standar (0,1 N). Akhir titrasi ditandai oleh perubahan warna larutan menjadi merah muda dan tidak hilang selama 30 detik bila menggunakan indikator  $\text{PP}$ .

Apabila penampung destilasi digunakan asam borat maka banyaknya asam borat yang bereaksi dengan ammonia dapat diketahui dengan titrasi menggunakan asam klorida 0,1 N dengan indikator ( $\text{BCG} + \text{MR}$ ). Akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari biru menjadi merah muda.



Reaksi yang terjadi secara keseluruhan adalah sebagai berikut :



### 2.7.2 Analisis Kandungan Lemak dengan Metode Gerber

Metode Gerber digunakan untuk penentuan kadar lemak. Prinsipnya, susu dicampur dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan amil alkohol dalam tabung Gerber khusus yaitu tabung butirometer lalu disentrifus sehingga lemak susu terpisah dan menempati bagian atas tabung. Lemak yang terpisah ini dapat ditentukan kadarnya dengan melihat panjang kolom lemak yang terbentuk. Tabung butirometer di perlihatkan pada gambar 2.5 dibawah ini



**Gambar 2.5 tabung butirometer**



### 2.7.3 Analisis Kandungan Mineral Kalsium dengan Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Spektroskopi serapan atom (SSA) merupakan instrumen yang sangat potensial untuk menganalisa mineral. Peristiwa serapan atom pertama kali diamati oleh Fraunhofer, ketika menelaah garis-garis hitam pada spektrum matahari. Sedangkan yang memanfaatkan prinsip serapan atom pada bidang analisis adalah seorang Australia bernama Alan Walsh pada tahun 1955 (Chrisye, 2007).

Metode spektroskopi serapan atom berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom netral menyerap cahaya (energi sinar) dalam keadaan gas pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada unsurnya. Sinar yang diserap oleh atom ini adalah sinar tampak atau sinar ultraviolet. Dengan absorpsi energi, berarti memperoleh lebih banyak energi, suatu atom pada keadaan dasar dinaikan tingkat energinya ke tingkat eksitasi yaitu melakukan transisi antar tingkat energi elektron dari elektron yang ada di kulit terluar atom – atom tersebut (Chrisye, 2007). Metode ini digunakan untuk analisa kuantitatif unsur logam dalam jumlah relik (*trace*). Keberhasilan analisis ini tergantung pada proses eksitasi dan memperoleh garis resonansi yang tepat. Sumber cahaya pada spektroskopi serapan atom adalah lampu hallow katoda yang sesuai dengan unsur yang dianalisis.

Setiap alat AAS memiliki tiga komponen utama yaitu unit atomisasi, sumber radiasi, dan sistem pengukur fotometrik. Tujuan Atomisasi adalah untuk mendapatkan atom-atom netral. Untuk mengubah unsur metalik menjadi uap atau hasil disosiasi diperlukan energi panas. Temperatur harus benar-benar terkendali

dengan sangat hati-hati agar proses atomisasinya sempurna. Biasanya temperatur dinaikkan secara bertahap, untuk menguapkan dan sekaligus mendisosiasikan senyawa yang dianalisis. Bila ditinjau dari sumber radiasi, haruslah bersifat sumber yang kontinyu. Di samping itu sistem dengan penguraian optis yang sempurna diperlukan untuk memperoleh sumber sinar dengan garis absorpsi yang semonokromator mungkin. Tahap pembentukan atom dari larutan adalah:

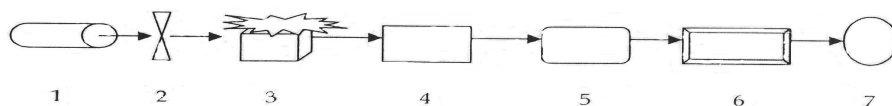
1. Pengkabutan
2. Penguapan pelarut
3. Penguraian zat menjadi atom

Sumber atomisasi dibagi menjadi dua yaitu sistem nyala dan sistem tanpa nyala. Kebanyakan instrumen sumber atomisasinya adalah nyala dan sampel diintroduksi dalam bentuk larutan. Sampel masuk ke nyala dalam bentuk aerosol. Aerosol biasa dihasilkan oleh nebulizer (pengabut) yang dihubungkan ke nyala oleh ruang penyemprot (*chamber spray*). Jenis nyala yang digunakan secara luas untuk pengukuran analitik adalah udara-asetilen dan nitrous oksida-asetilen. Dengan kedua jenis nyala ini, kondisi analisis yang sesuai untuk kebanyakan analit dapat ditentukan dengan menggunakan metode-metode emisi, absorpsi dan juga fluoresensi.

Nyala udara asetilen biasanya menjadi pilihan untuk analisis menggunakan SSA. Temperatur nyalanya yang lebih rendah mendorong terbentuknya atom netral dan dengan nyala yang kaya bahan bakar pembentukan oksida dari banyak unsur dapat diminimalkan. Nitrous oksida-asetilen dianjurkan dipakai untuk penentuan unsur-unsur yang mudah membentuk oksida dan sulit terurai. Hal ini

disebabkan karena temperatur nyala yang dihasilkan relatif tinggi. Unsur-unsur tersebut adalah: Al, B, Mo, Si, So, Ti, V, dan W.

Alat spektrofotometer serapan atom terdiri dari rangkaian dalam diagram skematik berikut:



Gambar 2.6 Diagram Spektrometer Serapan Atom atau SSA

(Syahputra, 2004)

Keterangan :

1. Sumber sinar
2. Pemilah (*Chopper*)
3. Nyala
4. Monokromator
5. Detektor
6. Amplifier
7. Meter atau recorder

Analisis kandungan mineral dengan menggunakan Spektroskopi Serapan Atom (SSA) ini meliputi dua tahapan, yaitu tahap destruksi sampel dan tahap pengukuran. Tahapan destruksi sampel dilakukan dengan cara mendestruksi sampel yang telah diabukan menggunakan *aqua regia*, kemudian dikisatkan dan diencerkan dengan aquades.

Tahapan selanjutnya adalah tahapan pengukuran absorbansi larutan sampel. Data yang diperoleh berupa nilai absorbansi dari sampel, lalu dibandingkan dengan kurva kalibrasi yang dibuat dengan mengukur absorbansi

larutan standar pada berbagai konsentrasi, sehingga konsentrasi mineral di dalam sampel dapat diketahui. Penentuan kuantitatif mineral suatu sampel didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang dinyatakan dalam persamaan berikut:

Keterangan :  $A = \epsilon b c = \log T_0/T$

$\epsilon$  = Absorptivitas molar ( L/ cm.mol)

b = Tebal celah (cm)

c = Konsentrasi larutan (mol/L)

T = Transmittansi

A = Absorbansi

(Hendayana, 1994)

