

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

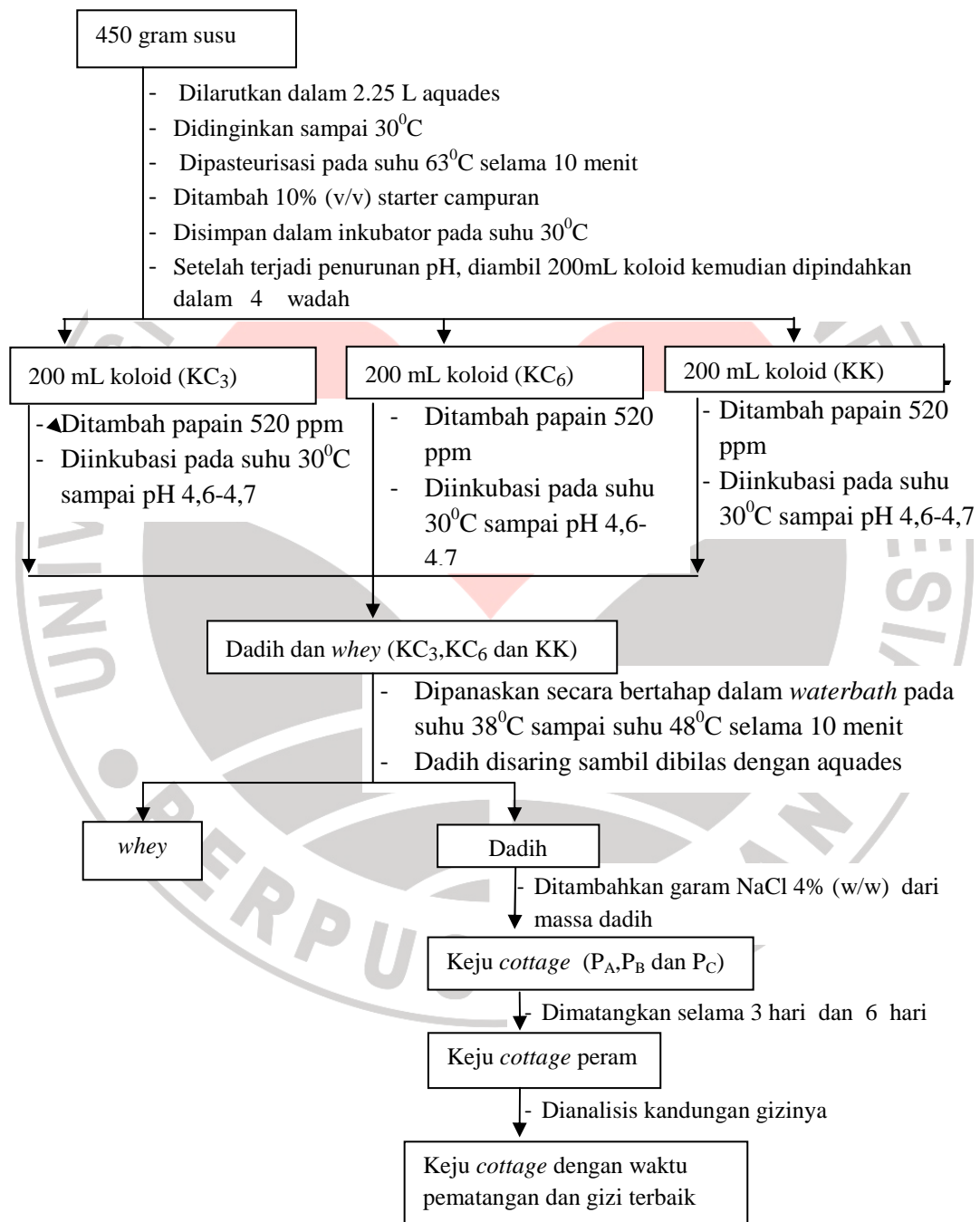
Dalam pembuatan dan analisis kualitas keju *cottage* digunakan peralatan antara lain : oven, autoklap, pH meter, spatula, saringan, shaker *waterbath*, inkubator, pemanas listrik, set alat Kjeldahl, cawan krus, tang krus, neraca analitik, termometer, botol semprot, dan berbagai macam peralatan gelas seperti: gelas kimia, Erlenmeyer, gelas ukur, kaca arloji, labu takar, batang pengaduk, tabung reaksi, alat soxhlet, pipet tetes dan buret mikro.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : susu skim, enzim papain (Merck), buffer fosfat pH 7, bakteri starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lacyococcus lactis* dan *Leuconostoc mesentroides*), air, etanol 70% (Brataco), dan NaCl.

### 3.2 Bagan Alir Penelitian

Langkah-langkah penelitian yang dilakukan, ditunjukkan dalam bagan alir berikut :



**Gambar 3.1** Prosedur pembuatan keju *cottage* dan analisisnya

### 3.3 Metodologi Penelitian

Tahapan kegiatan yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tahap preparasi bakteri starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesentroides*
2. Tahap pembuatan keju *cottage*
3. Tahap penentuan kandungan gizi produk keju *cottage* yang dihasilkan

#### 3.3.1 Preparasi Bakteri Starter

Bakteri starter yang digunakan disiapkan berdasarkan umur inokulum yang telah ditentukan. Tahapan yang dilakukan dalam penumbuhan bakteri starter ini adalah menyiapkan media *panthotenate broth* sebagai media penumbuhan bakteri dan penumbuhan bakteri starter sesuai dengan umur inokulumnya. Media *panthotenate broth* dibuat dengan cara menimbang 5 gram glukosa, 5 gram natrium asetat dan 20 gram ekstrak ragi, kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquades. Campuran ini dipanaskan sambil diaduk dengan *magnetic stirer* selama 15 menit setelah mendidih. Kemudian media tersebut didinginkan, lalu dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer steril dan ditutup dengan kapas yang dibalut kain kasa. Langkah terakhir adalah sterilisasi media menggunakan autoklap dengan tekanan 1,5 atm dan suhu 121 °C selama 15 menit.

Tahap selanjutnya adalah penumbuhan bakteri starter sesuai dengan umur inokulumnya. Starter yang digunakan adalah starter campuran 3 bakteri yaitu 10% starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc*

*mesentroides* dengan perbandingan 3:1:2. Masing-masing bakteri di inokulasi dalam 225 mL, 75 mL, dan 150 mL *panthotenate broth* steril secara berurutan. Diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 6 jam untuk bakteri *Streptococcus thermophilus*, 4 jam untuk bakteri *Lactococcus lactis* dan 8 jam untuk bakteri *Leuconostoc mesentroides*. Kemudian bakteri-bakteri starter tersebut dicampurkan menjadi satu.

### 3.3.2 Produksi Keju *Cottage*

Sebanyak 450 gram susu skim yang merupakan bahan dasar keju dilarutkan dalam 2,25 liter aquades dan dipasteurisasi pada suhu 63<sup>0</sup>C selama 10 menit, selanjutnya campuran didinginkan sampai suhu 30<sup>0</sup>C sebagai suhu inkubasi, kemudian ditambahkan 10% (v/v) starter campuran dan kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu 30<sup>0</sup>C. Setelah terjadi penurunan keasaman, sebanyak 200mL campuran dipindahkan dalam wadah, kemudian ditambahkan enzim papain 520 ppm, kemudian diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C sampai pH 4,6-4,7. Hasil dari proses inkubasi diperoleh dadih dan *whey* yang selanjutnya dipisahkan dengan cara pemanasan secara bertahap dalam *waterbath* pada suhu 38<sup>0</sup>C sampai suhu 48<sup>0</sup>C selama 10 menit, kemudian campuran disaring dengan kain kassa. Setelah diperoleh dadih, selanjutnya ditambahkan garam NaCl 4% (w/w) dari masa dadih. Hasil penambahan dengan garam adalah berupa keju *cottage*. Keju *cottage* yang dihasilkan didiamkan dalam lemari pemeraman pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 3 hari dan 6 hari. Setelah diperam, selanjutnya dilakukan uji kandungan gizi yang terkandung dalam masing-masing keju.

### 3.4 Penentuan Nilai Gizi Keju *Cottage*

Pada pengujian kadar air dan kualitas yang meliputi kadar lemak dan kadar protein ini diperlakukan pada susu skim sebagai bahan dasar dan keju *cottage* yang sudah terbentuk. Dalam analisis ini digunakan metode SNI 01-2891-1992 sebagai bahan acuan.

#### 3.4.1 Penentuan Kadar Protein Keju

Penentuan kadar protein susu skim dan keju *cottage* menggunakan metode mikro Kjeldahl. Metode ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap destruksi dan tahap penentuan kadar protein.

Tahap destruksi sampel yaitu dengan cara 0,5 gram sampel dimasukkan dalam labu Kjeldahl dan ditambahkan 5 gram garam Kjeldahl yang terdiri dari campuran  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{K}_2\text{SO}_4$  dengan perbandingan massa 1:3, garam ini berfungsi sebagai katalis. Kemudian dipanaskan dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan ditambahkan beberapa batu didih sehingga destruksi berlangsung sampai larutan menjadi jernih, lalu didinginkan.

Tahap penentuan kadar protein, larutan sampel dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Ke dalam labu destilasi yang telah berisi 10 mL NaOH 30% ditambahkan 5 mL sampel. Campuran yang terbentuk kemudian didestilasi sampai diperoleh destilat sebanyak 75 mL, destilat ini ditampung dalam 10 mL  $\text{H}_3\text{BO}_3$  3% dan 2 tetes indikator tashiro kemudian dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai warna hijau menjadi ungu.

Kadar protein dapat ditentukan dengan persamaan dibawah ini :

$$\% \text{ N dalam contoh} = \frac{50 \times \text{mL HCl} \times \text{N HCl} \times 14 \times 100\%}{\text{Berat contoh}}$$

Keterangan : faktor 50 = larutan contoh yang telah didestruksi diencerkan sampai 50 mL dalam labu takar

mL HCl = banyaknya larutan contoh yang didestilasi

N HCl = normalitas HCl

14 = BM nitrogen

### 3.4.2 Penentuan Kadar Air

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air ini adalah metode oven yaitu dengan menghitung kehilangan bobot sampel setelah pengovenan. Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram di dalam cawan porselen bertutup yang sebelumnya sudah ditimbang (diketahui massanya). Sampel dikeringkan menggunakan cawan porselen dalam oven pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 3 jam (tutup botol ditimbang). Sampel didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang sampai diperoleh berat yang konstan. Perhitungan dalam penentuan kadar air dapat ditentukan melalui persamaan berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{w - w1}{w} \times 100\%$$

Keterangan: W = berat sampel awal (gram)

W1 = berat sampel setelah pengeringan (gram)

### 3.4.3 Penentuan Kadar Lemak dengan Metode Soxhletasi

Metode yang digunakan adalah soxhletasi, langkah awal yang dilakukan adalah proses hidrolisis terhadap sampel. Hidrolisis bertujuan untuk membebaskan lemak yang terikat. Penentuan kadar lemak ini mula-mula sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer 300 mL. Sampel yang ada dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 45 mL aquadest panas (mendidih) sambil diaduk. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan 55 mL HCl 25% dan masukkan beberapa batu didih, erlenmeyer ditutup dengan kondensor, kemudian larutan dididihkan secara perlahan-lahan selama 30 menit. Setelah itu bilas kondensor dengan 100 mL aquadest. Larutan selanjutnya disaring menggunakan kertas saring bebas lemak yang telah dibasahkan. Endapan yang dihasilkan dicuci dengan aquadest hingga air saringan bebas dari ion Cl. Selanjutnya kertas saring yang berisi endapan tersebut dimasukkan dalam timbel dan tutup permukaannya dengan glasswool, kemudian endapan dikeringkan selama 6-18 jam pada suhu 100-101<sup>0</sup>C. Setelah endapan kering, masukkan ke dalam alat Soxhlet dengan menggunakan labu penampung yang telah diisi batu didih dan beratnya konstan. Hasil yang diperoleh selanjutnya diekstraksi dengan petroleum eter selama 4 jam. Setelah diekstraksi, larutan petroleum eter dievaporasi. Lemak yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 100-101<sup>0</sup>C selama 1 jam, masukkan ke dalam eksikator selama 15 menit, kemudian ditimbang.

Penentuan kadar lemak dari hasil ekstraksi diperoleh berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\text{Berat lemak}}{\text{berat contoh}} \times 100\%$$

Keterangan:

Berat lemak = berat lemak yang ada dalam sampel (gram)

Berat contoh = berat sampel yang akan diukur (gram)

