

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

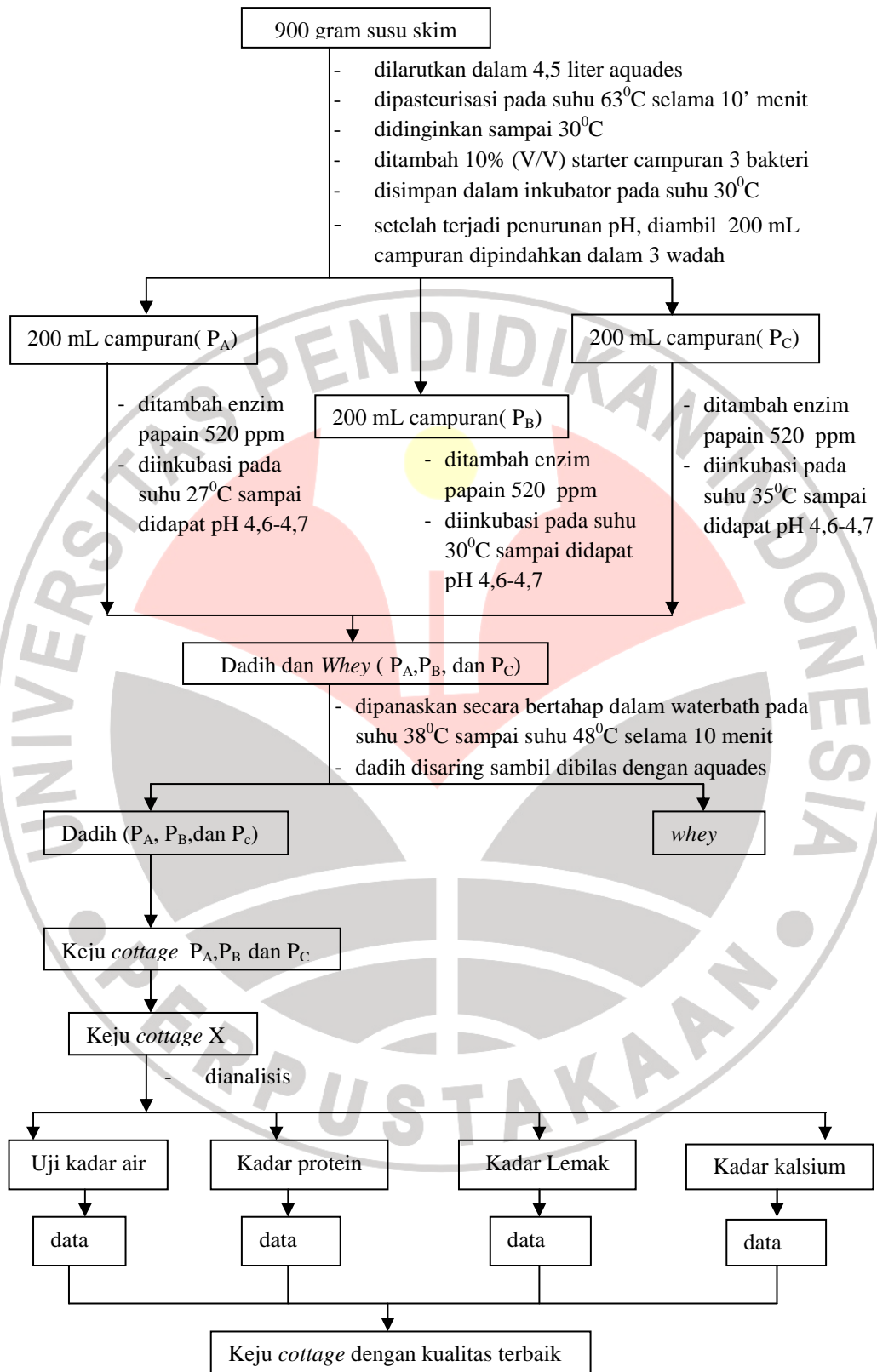
#### 3.1. Alat dan Bahan

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

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah susu skim, enzim papain murni, dan bakteri starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*). Bahan kimia yang digunakan adalah asam klorida, asam borat, natrium hidroksida, asam sulfat, buffer fosfat, indikator Tashiro (campuran metil merah 0,2 % dan metil biru 0,1%), pereaksi biuret (campuran NaOH 40% dan CuSO<sub>4</sub> 0,01 M), garam Kjeldahl (campuran CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O dan K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan perbandingan massa 1:3), asam nitrat, yeast ekstrak, agar, tembaga sulfat, glukosa, natrium asetat, dan natrium klorida.

#### 3.2. Bagan Alir Penelitian

Langkah-langkah penelitian yang dilaksanakan, berdasarkan bagan alir yang ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Prosedur pembuatan keju *cottage* dan analisisnya

### 3.3. Metode 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* dengan variasi suhu inkubasi
3. Tahap pengujian kualitas keju *cottage*

#### 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 air 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<sup>0</sup>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 ke 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 Pembuatan Keju Cottage

Produksi keju *cottage* dibuat dalam menjadi 3 jenis, dengan variabel suhu inkubasi yang berbeda:

- Keju *cottage* dengan suhu inkubasi 27<sup>0</sup>C (Keju P<sub>A</sub>)

Merupakan keju *cottage* yang dibuat dengan penambahan bakteri starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesentroides* dengan perbandingan 3:1:2 dan umur masing inokulum berturut-turut adalah 6 jam, 4 jam dan 8 jam, diinkubasi pada suhu 27<sup>0</sup>C dengan perbandingan tertentu, dan konsentrasi enzim papain 520 ppm.

- Keju *cottage* dengan suhu inkubasi 30<sup>0</sup>C (Keju P<sub>B</sub>)

Merupakan keju *cottage* yang dibuat dengan penambahan bakteri starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesentroides* dengan perbandingan 3:1:2 dan umur masing inokulum berturut-turut adalah 6 jam, 4 jam dan 8 jam, diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C dengan perbandingan tertentu, dan konsentrasi enzim papain 520 ppm.

- Keju *cottage* dengan suhu inkubasi 35<sup>0</sup>C (Keju P<sub>C</sub>)

Merupakan keju *cottage* yang dibuat dengan penambahan bakteri starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesentroides* dengan perbandingan 3:1:2 dan umur masing inokulum berturut-turut adalah 6 jam, 4 jam dan 8 jam, diinkubasi pada suhu 35<sup>0</sup>C dengan perbandingan tertentu, dan konsentrasi enzim papain 520 ppm.

Pembuatan keju *cottage* dilakukan dengan metode setting pendek.

Sebanyak 900 gram susu skim yang merupakan bahan dasar keju dilarutkan dalam 4,5 liter aquades dan dipasteurisasi pada suhu 63<sup>0</sup>C selama 10 menit, didinginkan sampai 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 200 mL campuran dipindahkan dalam wadah, kemudian ditambahkan enzim papain 520 ppm, kemudian diinkubasi dengan variasi suhu inkubasi yakni pada suhu 27<sup>0</sup>C, 30<sup>0</sup>C dan suhu 35<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. 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 selanjutnya dilakukan analisis kadar protein, kadar lemak, dan kadar air.

### 3.3.3. Penentuan Kadar Air dan Kualitas Susu Skim dan Keju *cottage*

Pada pengujian kadar air dan kualitas yang meliputi kadar lemak, kadar protein, dan kadar mineral kalsium 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.

#### 3.3.3.1. Penentuan Kadar Air

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air ini adalah metode pengovenan dengan menghitung kehilangan bobot sampel setelah pengovenan. Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram di dalam cawan porselen bertutup yang sebelumnya telah diketahui beratnya. 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 menentukan kadar air dapat ditentukan melalui persamaan berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{W-W_1}{W} \times 100\%$$

Keterangan : W = berat sampel awal (g)

W1 = berat sampel setelah pengeringan (g)

#### 3.3.3.2 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Mikro Kjeldhal

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.

### **Destruksi Sampel**

Sampel sebanyak 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.

### **Penentuan Kadar Protein**

Larutan sampel dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Kedalam 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 dari hijau menjadi ungu.

Penentuan kadar protein ini dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bandung.

Kadar protein dapat ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ Protein} = \frac{B}{C} \times \frac{D \times E \times F \times G}{A \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat sampel (g)

B = Volum pelarutan hasil destilasi (mL)

C = Volum yang dipipet untuk destilasi (mL)

D = Volum larutan penitrasi/HCl (mL)

E = Normalitas penitrasi/HCl (mL)

F = Faktor konversi untuk susu (6,38)

G = Berat molekul nitrogen (14)

### 3.3.3.3 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 Erlenmeyer 300 mL. Kedalam Erlenmeyer ditambahkan 45 mL aquadest panas sambil diaduk. Kemudian ditambah 55 mL HCl 25% dan beberapa butir batu didih. Erlenmeyer tersebut ditutup dengan kondensor/pendingin dan sampel dididihkan secara perlahan selama 30 menit. Larutan disaring dengan kertas saring bebas lemak yang telah dibasahkan. Kertas saring yang berisi sampel dikeringkan selama 6-18 jam pada suhu 100-101<sup>0</sup>C. Selanjutnya, kertas saring beserta endapan yang telah kering dimasukkan ke dalam kertas pembungkus (*kertas thimble*). Sampel dimasukkan ke dalam alat soxhlet dan diekstrak dengan petroleum eter selama 4 jam. Ekstrak sampel dievaporasi untuk menghilangkan pelarut petroleum eter. Lemak yang diperoleh dikeringkan dalam oven selama 1 jam, kemudian dimasukkan kedalam eksikator selama 15 menit. Lemak kering ditimbang, dilakukan secara duplo hingga diperoleh berat konstan.



Penentuan kadar lemak dari hasil ekstraksi diperoleh berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar Lemak} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100 \text{ gram bahan}$$

Keterangan:

$W_1$  = berat labu lemak sebelum ekstraksi (g)

$W_2$  = berat labu lemak setelah ekstraksi (g)

$W$  = berat sampel (g)

#### **3.3.3.4 Penentuan Kadar Mineral Kalsium dengan Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA)**

Pada penentuan kadar kalsium menggunakan metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA). Dalam penentuan kadar mineral kalsium dalam sampel susu skim dan keju *cottage* ini dilakukan dalam dua tahapan, yaitu tahap destruksi sampel dan tahap pengukuran.

Tahapan destruksi sampel dimulai dengan mengabukan sampel dalam *puvish*. Abu sampel yang telah dingin ditimbang 0.046 gram, kemudian sampel didestruksi menggunakan 10 mL aqua regia (air rajah) yang merupakan campuran dari HCl pekat dan HNO<sub>3</sub> pekat dengan perbandingan volume 3:1. Larutan abu dikisatkan dengan pemanasan sampai volumenya  $\pm$  1 mL, kemudian dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan menggunakan aquades sampai tanda batas, lalu dihomogenkan.

Tahapan selanjutnya pengukuran kadar kalsium. Tahap ini dimulai dengan pembuatan larutan standar kalsium dalam beberapa konsentrasi.

Kemudian absorbansi dari masing-masing standar ini diukur pada panjang gelombang maksimum untuk kalsium, yaitu 422,7 nm. Larutan sampel hasil destruksi lalu diukur pada panjang gelombang yang sama. Kadar kalsium dalam sampel ditentukan dengan mencocokkan absorbansi larutan sampel terhadap kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran larutan standar kalsium pada beberapa konsentrasi.

