

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

##### **3.1.1 Alat**

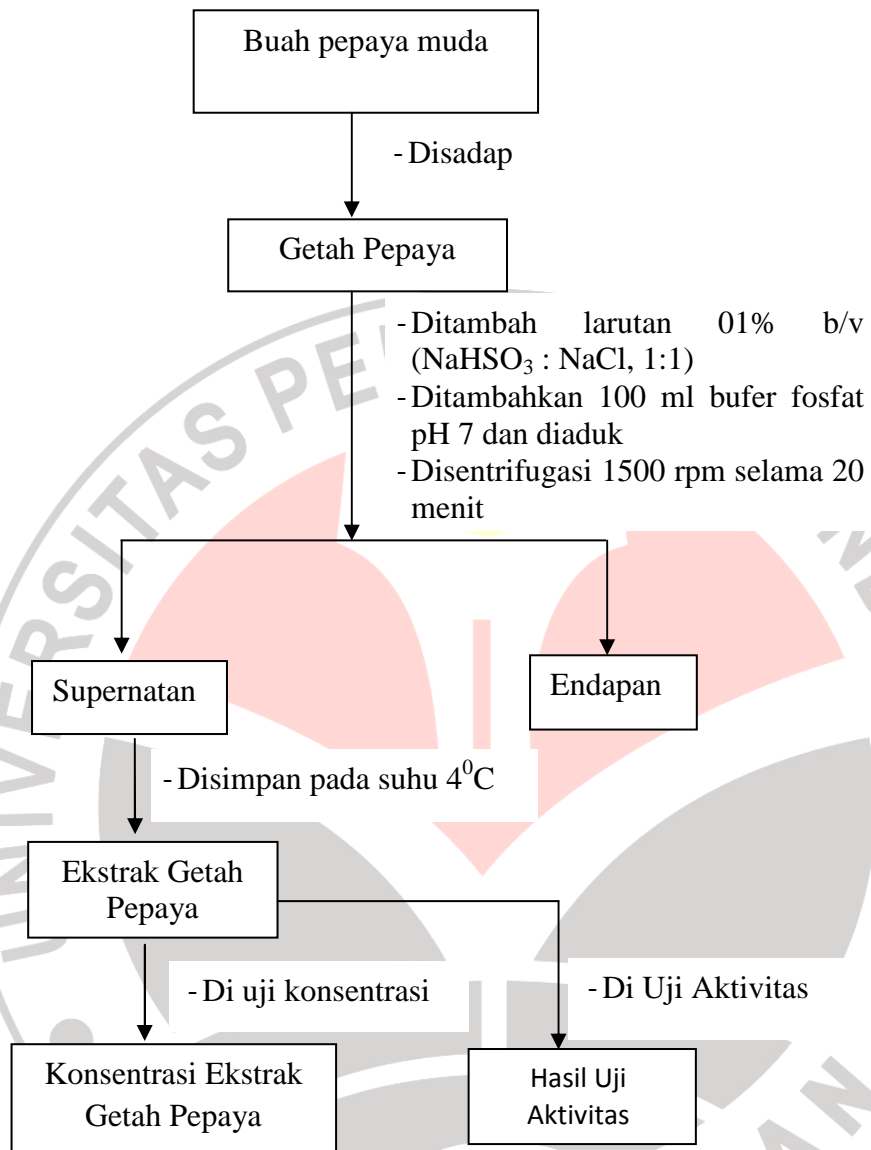
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : peralatan gelas dan plastik, neraca analitik, pH meter, termometer, botol semprot, peralatan menyadap seperti pisau *stainless steel*, mangkuk, plastik, botol kaca dan Spektrofotometer Uv mini 1240 Shimadzu spec.

##### **3.1.2 Bahan**

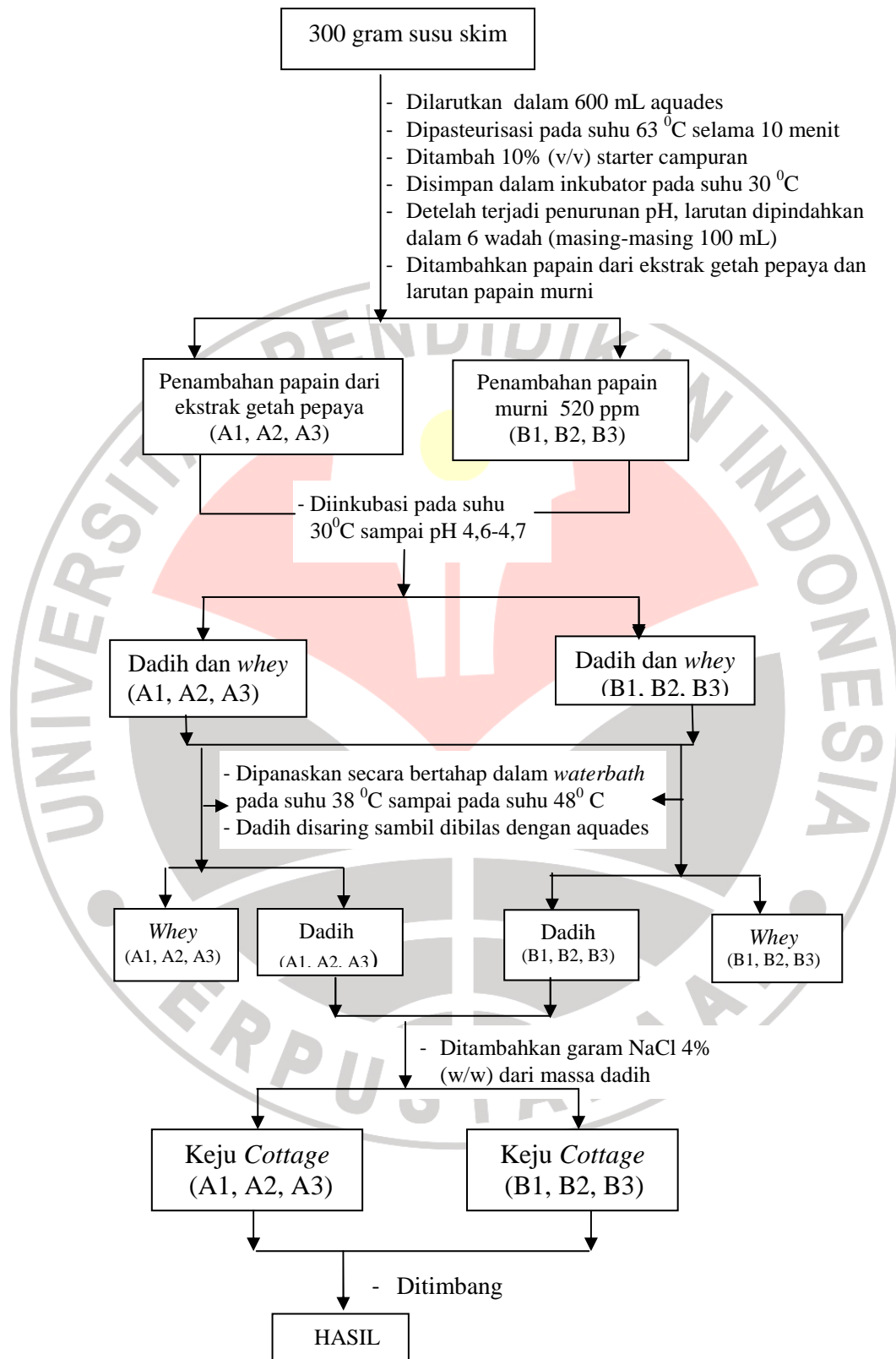
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : susu skim, getah buah pepaya, papain murni (Merck),  $\text{NaHSO}_3$ pa,  $\text{NaCl}$  pa,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ teknis,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ teknis,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pa, KNa-Tartarat pa, bakteri starter campuran (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*) dan aquades.

#### **3.2. Bagan Alir Penelitian**

Untuk lebih memudahkan prosedur kerja produksi keju *cottage* dan isolasi enzim papain, maka dibuat bagan alir prosedur kerja yaitu prosedur umum isolasi enzim papain dari getah buah pepaya dan produksi keju *cottage* dengan variasi jenis enzim papain seperti ditunjukkan pada Gambar 3.1 dan Gambar 3.2.



**Gambar 3.1** Isolasi Getah Pepaya



**Gambar 3.2** Produksi *Cottage Cheese* bervariasi pada jenis papain yang digunakan

### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.3.1. Metode Penyadapan Getah Buah Pepaya**

Penyiapan ekstrak getah pepaya dimulai dengan penyadapan getah buah pepaya yang berumur 2,5- 3 bulan. Buah disadap pada pagi hari yaitu sekitar pukul 06.00-08.00. Sebelum disadap, buah dibersihkan dari kotoran, debu, dan embun dengan kain. Penyadapan dilakukan dengan cara menorehkan alat sadap (pisau) pada kulit buah mulai dari pangkal menuju ujung buah. Kedalaman torehan sekitar 1-2 mm. Setelah ditoreh, getah yang keluar ditampung dalam wadah (mangkok) yang telah disiapkan.

Getah pepaya selanjutnya dicampur dengan larutan 0,1% b/v ( $\text{NaHSO}_3:\text{NaCl}$ , 1:1). Campuran getah pepaya ini diaduk sampai rata kemudian ditambahkan 100 ml buffer fosfat pH 7,0. Kemudian untuk memisahkan bagian-bagian yang tidak terlarut dilakukan sentrifugasi antara supernatan dan endapannya. Bagian yang diambil adalah supernatan lalu disimpan pada suhu 4°C (Yuyun, 2005).

#### **3.3.2. Penentuan Konsentrasi Larutan Ekstrak Getah Pepaya**

Penentuan konsentrasi larutan ekstrak getah pepaya meliputi tahap – tahap sebagai berikut : pembuatan larutan standar papain, pembuatan kurva standar papain dan preparasi sampel.

Pembuatan larutan standar dilakukan dengan membuat larutan induk papain murni dengan konsentrasi 2000 ppm kemudian dilakukan pengenceran menjadi beberapa konsentrasi yaitu 400, 500, 1000, 1500 dan 2000 ppm. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara masing – masing larutan standar

sebanyak 3 ml di masukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 12 ml pereaksi Biuret kemudian di inkubasi dalam *shaker waterbath* pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 10 menit. Kemudian dilakukan pengujian terhadap larutan standar dengan menggunakan spektrofotometer *ultraviolet* pada panjang gelombang maksimum.

Setelah memperoleh kurva standar dilakukan pengukuran terhadap sampel, sebanyak 3 ml sampel ekstrak getah pepaya dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Biuret sebanyak 12 ml kemudian di inkubasi dalam *shaker waterbath* pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 10 menit, selanjutnya diukur serapannya terhadap kurva standar papain pada panjang gelombang maksimum.

### **3.3.3. Pembuatan Keju *Cottage***

Pembuatan keju *cottage* dilakukan dengan metode setting pendek. Sebanyak 300 gram susu skim dicampur dengan 600 ml aquades dan dipasteurisasi pada suhu 63<sup>0</sup>C selama 10 menit, didinginkan sampai 30<sup>0</sup>C, kemudian ditambahkan 10% (v/v) starter campuran dan kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu 30<sup>0</sup>C. Setelah terjadi penurunan keasaman, campuran dipindahkan dalam 6 wadah masing – masing sebanyak 100 mL, kemudian ditambah ekstrak getah pepaya masing – masing 9,3 ml kedalam 3 wadah pertama (A1, A2, A3) dan 12,5 ml enzim papain murni 520 ppm kedalam 3 wadah berikutnya (B1, B2, B3), 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 *shaker waterbath* pada suhu 38<sup>0</sup>C sampai suhu 48<sup>0</sup>C selama 10 menit, kemudian campuran disaring sambil dibilas

dengan aquades. Setelah diperoleh dadih, selanjutnya ditambahkan garam NaCl 4% (w/w) dari massa dadih dan terbentuklah keju *cottage*. Dilihat efektifitasnya dengan membandingkan massa dari keju yang dihasilkan.

