

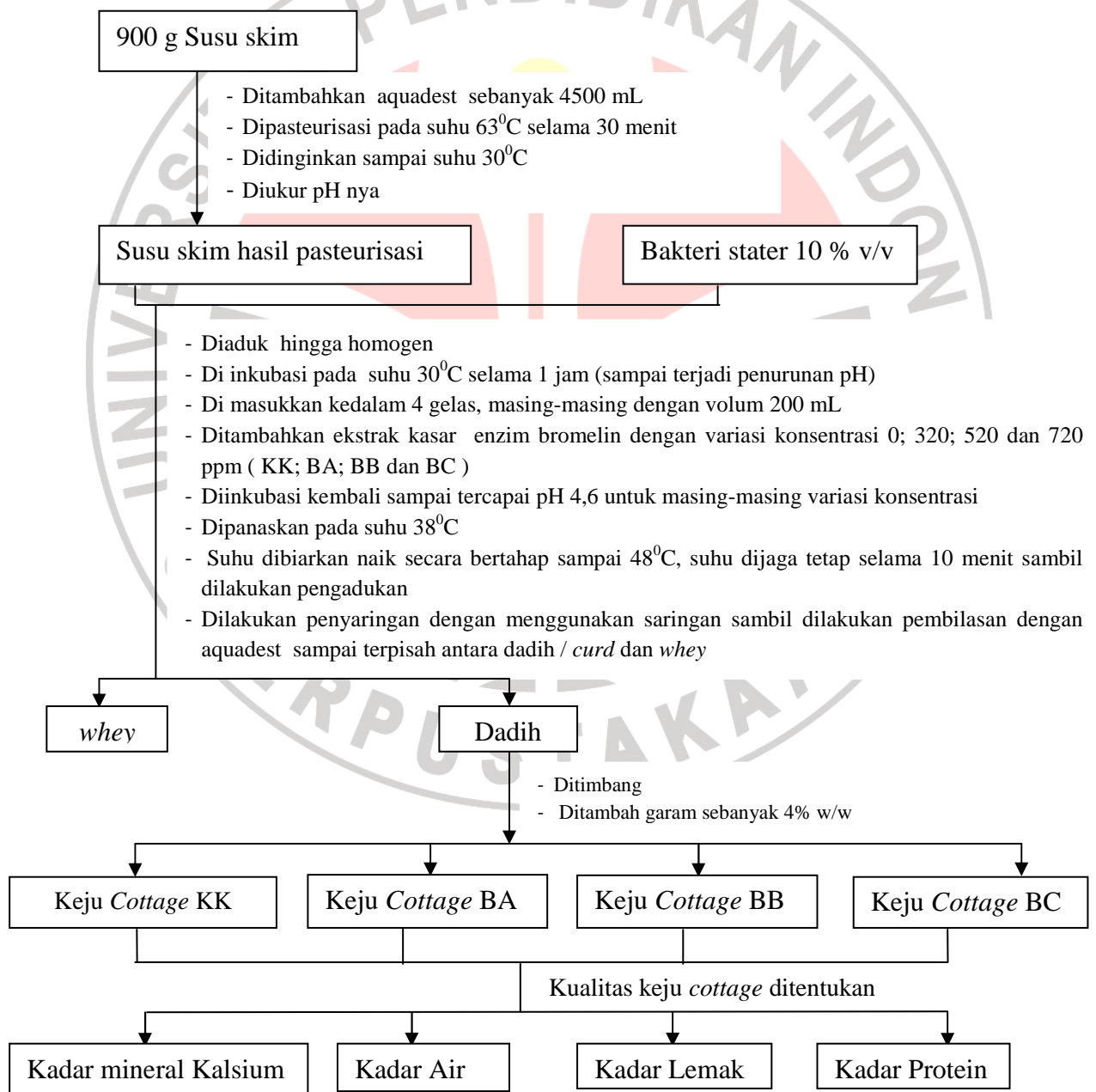
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bagan Alir Penelitian

3.1.1 Bagan Alir Pembuatan Keju *Cottage*

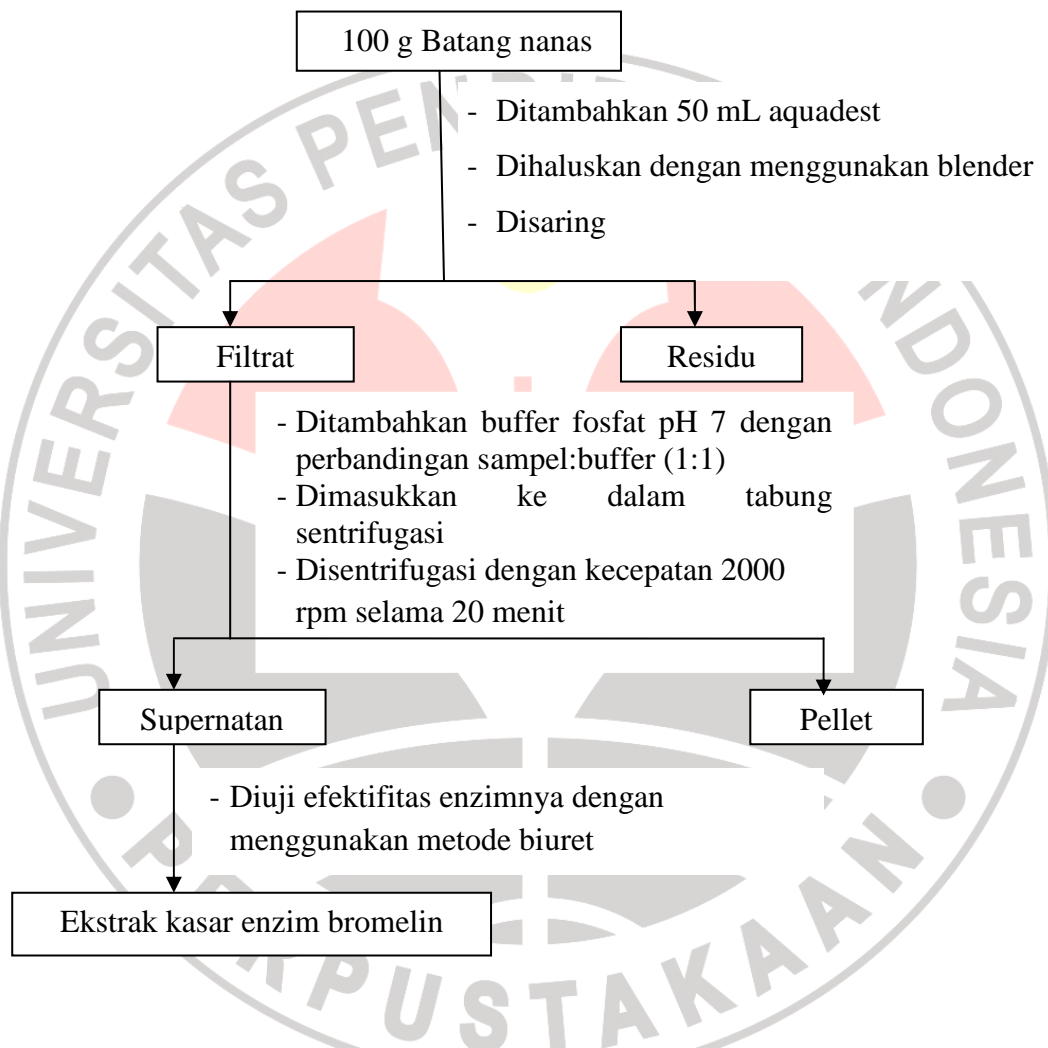
Penelitian ini dilaksanakan berdasarkan bagan alir yang ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Bagan alir proses pembuatan keju *cottage* dan analisis kualitasnya

3.1.2 Bagan Alir pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Bagan Alir preparasi ekstrak kasar enzim bromelin ditunjukkan pada gambar 3.2



Gambar 3.2 Bagan Alir preparasi ekstrak kasar enzim bromelin

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat gelas dan alat pendukung. Alat gelas terdiri dari buret, cawan porselen, desikator, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, labu Erlenmeyer, labu Kjeldhal, tabung reaksi, pipet tetes, pipet volum, butirometer, kawat Ose. Alat pendukung terdiri dari autoklap, pipet volum, pipet tetes, pembakar spirtus, inkubator, shaker, pH-meter, sentrifuse, dan spektrofotometer serapan atom (SSA).

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah susu skim, batang nanas dan bakteri starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* dan *Leuconostoc mesenteroides*). Bahan kimia yang digunakan adalah buffer posfat pH 7, natrium hidroksida, asam sulfat, amil alkohol, asam klorida, asam borat, indikator Tashiro (campuran metil merah 0,2 % dan metilen biru 0,1 %), pereaksi biuret (campuran NaOH 40% dan CuSO_4 0,01M), garam Kjeldahl (campuran $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan K_2SO_4 dengan perbandingan massa 1:3), asam nitrat, tembaga sulfat, natrium klorida, glukosa, agar, natrium asetat, dan *yeast ekstrak*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Proses pembuatan Enzim bromelin dimulai dari pemilihan batang nanas yang diperoleh di daerah subang, kemudian batang nanas yang akan digunakan

dipilih dan dibersihkan dari kotoran, debu serta dibuang bagian yang tidak diperlukan, dicuci, diiris dan dihancurkan menggunakan blender dengan sedikit penambahan aquadest. Batang nanas yang telah hancur di saring untuk mendapatkan ekstraknya berupa filtrat, lalu ditambahkan buffer posfat dengan perbandingan filtrat:posfat (1:1). Lalu disentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Setiap tahapan yang dilakukan diusahakan dalam kondisi dingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$). Tahapan terakhir adalah pengujian efektivitas ekstrak kasar enzim bromelin menggunakan metode biuret.

3.3.2. Pembuatan Bakteri Starter

Dalam pembuatan bakteri starter untuk pembuatan keju *cottage* ini dilakukan dalam dua tahapan yaitu, pembuatan media dan inkubasi bakteri.

3.3.2.1 Pembuatan Media Panthotenate Broth

Proses pembuatan *panthotenate broth* ini dimulai dengan menimbang bahan-bahan yang dibutuhkan, bahan yang dibutuhkan untuk 1 L media *panthotenate broth* adalah: glukosa 5 g, Natrium asetat 5 g dan *yeast extract* sebanyak 20 g. Semua bahan tersebut dilarutkan dalam 1L aquadest, kemudian dipanaskan sambil dilakukan pengadukan dengan pengaduk magnet. Pemanasan dilakukan sampai mendidih selama 15 menit. Media yang telah ada didinginkan, lalu dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer yang telah ditutup dengan kapas yang

dibalut kain kassa. Langkah terakhir adalah sterilisasi media menggunakan autoklap dengan tekanan 1,5 atm dan suhu 121 °C selama 15 menit.

3.3.2.2.Preparasi Bakteri Starter

Bakteri starter yang digunakan merupakan campuran 3 jenis bakteri dengan konsentrasi 10% v/v yaitu bakteri *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* dan *Leuconostoc mesentroides* dengan perbandingan 3:1:2 dan umur masing-masing inokulum berturut-turut adalah 6 jam, 4 jam, dan 8 jam. Tiga jenis bakteri ini diinkubasi dalam media *panthotenate broth* menggunakan *shaker* berpenangas pada suhu 30°C sesuai umur inokulum masing-masing bakteri. Bakteri starter hasil inkubasi disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C.

3.3.3 Pembuatan Keju *Cottage*

Metoda yang digunakan dalam pembuatan keju *cottage* ini adalah metoda *setting pendek* (Nurhidayati, 2003). Dibuat empat jenis keju *cottage* yaitu keju *cottage* yang dibuat dengan penambahan konsentrasi ekstrak kasar enzim bromelin sebanyak 0; 320; 520 dan 720 ppm, untuk selanjutnya ke empat jenis keju ini secara berurutan dinamai KK, BA, BB, dan BC.

Skim yang merupakan bahan dasar keju dipasteurisasi menggunakan metode *batch* yaitu pasteurisasi pada suhu 63°C selama 30 menit sambil diaduk, didinginkan sampai 30°C sebagai suhu inkubasi, kemudian ditambah 10% (V/V)

starter campuran, pH nya diukur menggunakan pH meter dan disimpan dalam inkubator pada suhu 30°C. Setelah terjadi penurunan pH lalu di tambahkan ekstrak kasar enzim bromelin dengan konsentrasi yang berbeda (0 ppm; 320 ppm; 520 ppm; 720 ppm). Susu di inkubasi kembali pada suhu 30°C, dilakukan pemeriksaan pH secara kontinu hingga keasaman mencapai pH 4,6-4,7. Setelah dicapai pH yang diinginkan lalu dilakukan pemasakan di water bath pada suhu 38°C, pemanasan dilakukan secara bertahap hingga dicapai suhu 48°C dan dibiarkan selama 10 menit, setelah itu *whey* dibuang menggunakan saringan sambil dibilas menggunakan aquades. Dadih yang dihasilkan ditimbang lalu ditambahkan garam sebanyak 4% w/w.

3.3.4 Analisis Kualitas Susu Skim dan Keju *Cottage*

3.3.4.1 Preparasi Sampel

Sebelum dilakukan analisis kualitas susu skim dan ke empat keju *cottage* yang dihasilkan diperlukan preparasi terhadap masing-masing sampel. Langkah yang dilakukan dalam preparasi ini adalah menghomogenkan sampel dengan cara mengaduk sampel.

3.3.4.2 Penentuan Kadar Air

Metode yang dilakukan dalam penentuan kadar air ini adalah dengan mengeringkan sampel dalam oven. 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°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)

W_1 = Berat sampel setelah pengeringan (g)

3.3.4.3 Penentuan Kadar Lemak dengan Metode Gerber

Metode penentuan kadar lemak untuk keju ini adalah metode hidrolisis oleh asam sulfat pekat dan amil alkohol menggunakan alat butirometer. Hidrolisis sampel ditunjukkan untuk membebaskan lemak yang terikat.

Cara kerja penentuan kadar lemak ini mula-mula sampel ditimbang sebanyak 10 gram. Butirometer diisi dengan asam sulfat pekat sebanyak 10 mL, lalu sampel dimasukkan dan ditambahkan amil alkohol sebanyak 1 mL, butirometer ditutup dengan prop karet lalu dikocok hingga semua gumpalan larut. Butirometer berisi sampel tersebut dipanaskan dalam penangas air pada suhu 65-70°C selama lima menit dan disentrifuse pada kecepatan 1100 rpm selama 3 menit. Butirometer disimpan kembali dalam penangas air pada suhu 65-70 °C dengan posisi terbalik (tutup/prop karet dibagian bawah) selama 2-3 menit. Lapisan yang terbentuk pada butirometer diatur sehingga ada di dalam garis

butirometer, skala yang menunjukkan persentase kandungan lemak dibaca pada butirometer.

3.3.4.4 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Mikro Kjeldahl

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

Destruksi Sampel

Sampel sebanyak 0,5 gram 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 K_2SO_4 dengan perbandingan massa 1:3, garam ini berfungsi sebagai katalis. Dimasukkan beberapa batu didih dan dipanaskan dalam 10 mL H_2SO_4 pekat sehingga destruksi berlangsung sampai larutan menjadi jernih, lalu didinginkan.

Penentuan Kadar Protein

Larutan sampel dipindahkan kedalam labu takar 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Kedalam labu destilasi yang telah berisi 10 mL NaOH 30% ditambahkan 5 mL sampel. Campuran tersebut didestilasi sampai diperoleh destilat sebanyak 75 mL, destilat ini ditampung dalam 10 mL H_3BO_3 3 % dan 2 tetes indikator tashiro. Selanjutnya, destilat dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai warna destilat berubah dari hijau menjadi ungu.

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

Kadar protein dapat ditentukan dengan persamaan dibawah

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

Keterangan : A = Berat sampel (g)

B = Volum pelarutan hasil destruksi (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)

3.3.3.5 Penentuan Kadar Mineral Ca dengan Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Penentuan kadar mineral kalsium dalam sampel susu skim dan keju *cottage* ini dilakukan dalam dua tahapan, yaitu tahap destruksi sampel dan tahap pengukuran.

Destruksi Sampel

Tahapan destruksi sampel ini dimulai dengan mengabukan sampel dalam purnish. Abu sampel yang telah dingin ditimbang sebanyak $\pm 0,06$ gram, kemudian abu didestruksi menggunakan 10 mL aqua regia (air raja) yang merupakan campuran dari HCl pekat dan HNO₃ pekat dengan perbandingan volume 3:1. Larutan abu dikisatkan dengan pemanasan sampai volumenya ± 1 mL, kemudian dipipet dan dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL dan diencerkan menggunakan aquadest sampai tanda batas, lalu dihomogenkan.

Penentuan Kadar Kalsium dengan Spektroskopi Serapan Atom

Pengukuran kadar kalsium ini dimulai dengan pembuatan larutan standar kalsium dalam beberapa konsentrasi. Kemudian absorbansi dari masing-masing larutan 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.