

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Proses penelitian dilakukan pada Februari hingga Juni 2024. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Riset Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Analisis kadar protein dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan.

### 3.2. Alat dan Bahan

#### 3.2.1. Alat

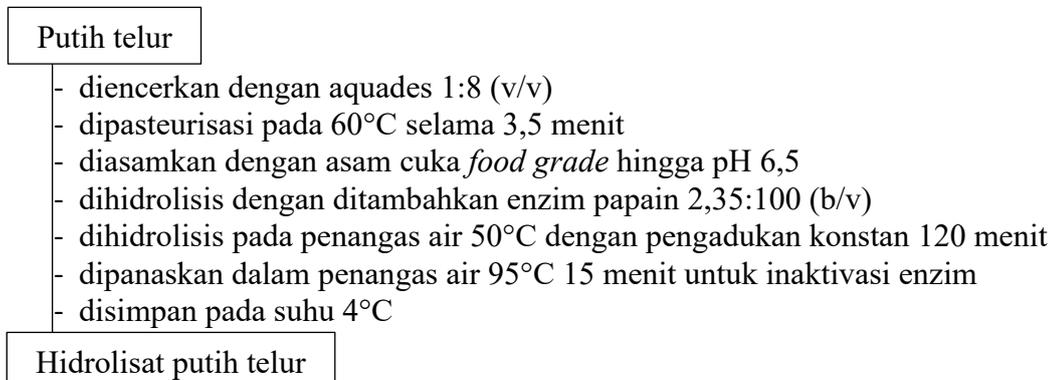
Alat yang digunakan antara lain panci, kompor, kain saringan keju, cetakan bulat, penangas air, batang pengaduk, spatula, pH universal, pipet tetes, gelas kimia 500 mL dan 250 mL, neraca analitik Mettler Toledo, *stirrer hot plate* Scilogex, termometer, tabung reaksi, lumpang dan alu, plastik *ziplock*, cawan penguapan, oven B-ONE, desikator, cawan bertutup, pembakar bunsen, *muffle furnace* Uchida, labu dasar bulat 500 mL, ekstraktor soxhlet, kondensor, batu didih, kertas saring hisap, kapas, benang kasur.

#### 3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu putih telur ayam, susu skim NZMP, enzim papain Shaanxi Fonde Biotech, bakteri mesofilik (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, subsp. *cremoris*, subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*), asam cuka *food grade*, aquades, garam, n-heksana.

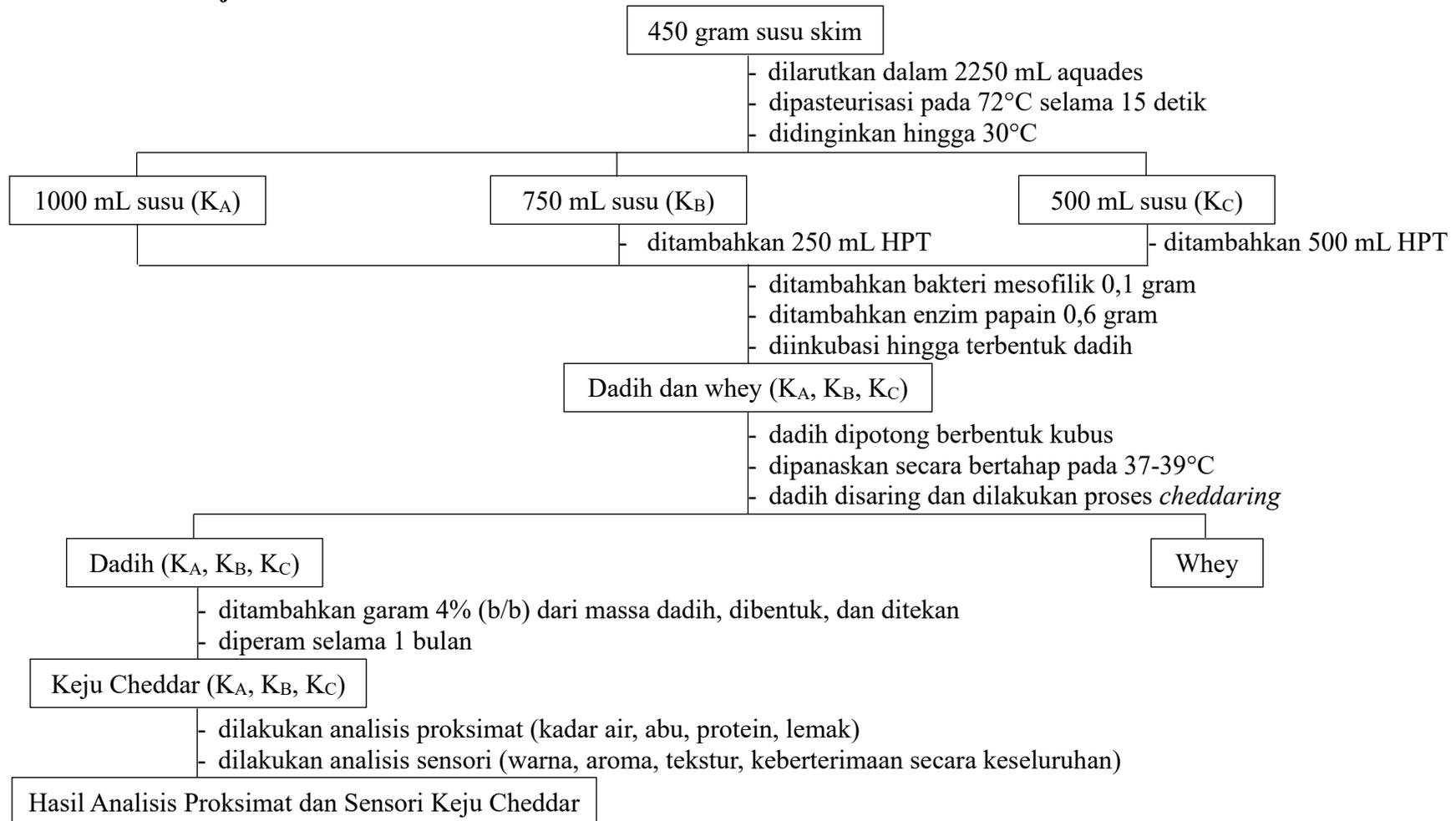
### 3.3. Bagan Alir Penelitian

#### 3.3.1. Pembuatan Hidrolisat Putih Telur



**Gambar 3.1.** Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Putih Telur

### 3.3.2. Produksi Keju Cheddar



**Gambar 3.2.** Diagram Alir Produksi Keju Cheddar

### 3.4. Prosedur Kerja Penelitian

#### 3.4.1. Pembuatan Hidrolisat Putih Telur

Pembuatan hidrolisat putih telur dilakukan mengikuti metode (Garcés-Rimón dkk., 2016) dengan sedikit modifikasi. Pertama putih telur diencerkan dengan aquades 1:8 (v/v) dan dipasteurisasi pada 60°C selama 3,5 menit. Setelah mencapai suhu ruang, kemudian diasamkan dengan penambahan asam cuka *food grade* hingga pH 6,5.

Kemudian putih telur dihidrolisis dengan enzim papain 2,35:100 (b/v) dalam penangas air 50°C dengan pengadukan konstan selama 120 menit. Selanjutnya inaktivasi enzim dengan dipanaskan pada penangas air 95°C selama 15 menit. Hidrolisat putih telur yang terbentuk kemudian disimpan pada suhu 4°C hingga akan digunakan.

#### 3.4.2. Produksi Keju Cheddar

Produksi keju cheddar mengikuti prosedur umum pembuatan keju cheddar (Ong dkk., 2017). Sebanyak 450 gram susu skim dilarutkan dalam 2250 mL aquades. Selanjutnya dipasteurisasi pada 72°C selama 15 detik lalu didinginkan hingga 30°C. Selanjutnya susu hasil pasteurisasi dibagi ke dalam masing-masing wadah sebanyak 1000 mL (K<sub>A</sub>), 750 mL (K<sub>B</sub>), 500 mL (K<sub>C</sub>). Susu pasteurisasi K<sub>B</sub> ditambahkan HPT sebanyak 250 mL dan K<sub>C</sub> ditambahkan 500 mL HPT.

Kemudian semua varian diberikan perlakuan yang sama yaitu ditambahkan 0,1 gram bakteri mesofilik (*Lactococcus lactis* subsp *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*) dan diinkubasi hingga terjadi penurunan nilai pH. Setelah pH mencapai 4,6-4,7 lalu ditambahkan enzim papain 0,6 gram dan diinkubasi kembali pada 30°C hingga terbentuk dadih. Setelah terjadi penggumpalan, dadih yang terbentuk dipotong berbentuk kubus untuk membebaskan lebih banyak whey.

Ketika sudah tidak ada dadih yang menempel pada pisau (*clean cut*), lalu campuran dadih dan whey dipanaskan secara bertahap pada 37-39°C dan diaduk perlahan tiap beberapa menit. Dadih kemudian dibiarkan agar mengendap, setelah dingin lalu dadih disaring dengan kain saringan keju. Selanjutnya dilakukan proses *cheddaring* yaitu dadih yang telah disaring kemudian dipotong, ditimbun, dan dibalik berulang-ulang hingga hampir seluruh whey yang tersisa keluar dari dadih.

Kemudian ditambahkan garam sebanyak 4% (b/b) dari massa dadih dan diaduk rata. Lalu dadih dibentuk dan ditekan pada cetakan berbentuk bulat agar teksturnya menjadi lebih padat. Calon keju yang telah terbentuk kemudian diperam selama 1 bulan hingga terbentuk keju cheddar.

### 3.4.3. Analisis Proksimat Keju Cheddar

#### 3.4.3.1. Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan dengan metode sesuai standar AOAC (2006) yaitu pertama cawan dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 1 jam, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang hingga beratnya konstan. Selanjutnya sebanyak 3 gram sampel dimasukkan ke dalam cawan dan dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 3 jam. Setelah dikeringkan lalu didinginkan dalam desikator, ditimbang, dan dicatat beratnya. Diulangi hingga diperoleh berat yang konstan. Kadar air kemudian dihitung dengan persamaan berikut:

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

W : berat sampel awal (gram)

W<sub>1</sub> : berat sampel setelah dikeringkan (gram)

#### 3.4.3.2. Penentuan Kadar Abu

Ditimbang dengan seksama 3 gram sampel ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Diarrangkan di atas nyala pembakar lalu diabukan dalam tanur listrik pada suhu maksimum 550°C sampai pengabuan sempurna. Selanjutnya cawan berisi sampel yang telah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh berat tetap (SNI 01-2891-1992). Kadar abu dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

W : berat sampel sebelum diabukan (gram)

W<sub>1</sub> : berat sampel + cawan setelah diabukan (gram)

W<sub>2</sub> : berat cawan kosong (gram)

#### 3.4.3.3. Penentuan Kadar Protein

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode semi mikro Kjeldahl sesuai SNI 01-2891-1992. Dibuat terlebih dahulu campuran selen yang berisi 2,5 gram serbuk SeO<sub>2</sub>, 100 gram K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan 20 gram CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O. Selanjutnya dilakukan

tahapan destruksi, dengan ditimbang sampel sebanyak 0,51 gram lalu dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, ditambahkan 2 gram campuran selen dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Campuran dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih dan larutan menjadi berwarna jernih kehijauan (atau sekitar 2 jam).

Selanjutnya larutan dibiarkan dingin, kemudian diencerkan, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda batas. Dipipet 5 mL larutan dan dimasukkan ke dalam set alat destilasi lalu ditambahkan 5 mL NaOH 30% serta beberapa tetes indikator fenolftalein. Didestilasi selama 10 menit dan digunakan 10 mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur indikator sebagai penampung destilat.

Setelah seluruh destilat ditampung dalam labu Erlenmeyer, kemudian dititrasi dengan larutan HCl 0,01 N. Dilakukan pula titrasi terhadap larutan blanko. Dicatat volume HCl yang digunakan untuk menitrasi larutan blanko dan sampel. Kadar protein diperoleh melalui perhitungan dengan persamaan berikut:

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0,014 \times fk \times fp}{W}$$

V<sub>1</sub> : volume HCl 0,01 N yang digunakan untuk titrasi sampel (mL)

V<sub>2</sub> : volume HCl 0,01 N yang digunakan untuk titrasi blanko (mL)

N : normalitas HCl

fk : faktor konversi untuk protein dari susu dan hasil olahannya (6,38)

fp : faktor pengenceran

W : berat sampel (gram)

#### 3.4.3.4. Penentuan Kadar Lemak

Kadar lemak ditentukan dengan metode ekstraksi soxhlet sesuai SNI 01-2891-1992. Pertama ditimbang sampel sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Selongsong kertas berisi sampel kemudian disumbat dengan kapas, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu tidak lebih dari 80°C selama 1 jam.

Kemudian selongsong kertas berisi sampel dimasukkan ke dalam set alat soxhlet yang dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih kering yang telah diketahui bobotnya. Selanjutnya diekstraksi dengan n-heksana selama 6 jam. Ekstrak lemak yang diperoleh kemudian dikeringkan pada oven suhu 105°C.

Setelah kering, ekstrak lemak didinginkan dan ditimbang. Diulangi pengeringan hingga tercapai bobot tetap. Kadar lemak dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\%$$

W : berat sampel (gram)

W<sub>1</sub> : berat labu lemak sebelum ekstraksi (gram)

W<sub>2</sub> : berat labu lemak setelah ekstraksi (gram)

#### **3.4.4. Analisis Sensori Keju Cheddar**

Analisis sensori dilakukan dengan metode uji hedonik sesuai SNI 2346:2015. Pengujian dilakukan terhadap 20 orang panelis tidak terlatih dengan atribut sensori yang diujikan meliputi warna, aroma, tekstur, dan keberterimaan secara keseluruhan. Penilaian dilakukan dengan skor berdasarkan skala hedonik 5 poin (1= sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = netral, 4 = suka, 5 = sangat suka) (Negara dkk., 2016).