

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai bahan tambahan air garam pada pengawetan produk keju mozzarella dilakukan selama kurang lebih 4 bulan, pada bulan Maret sampai dengan Juni 2024. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian thermometer, spatula kayu, *cheese cloth*, kompor, panci, gelas ukur, timbangan digital, wadah plastic dan pisau. Adapun alat yang digunakan dalam pengujian berupa alat-alat sesuai standar laboratorium, yaitu cawan petri, pipa L, Bunsen, tabung sentrifugasi 15 mL, gelas ukur 100 mL, labu Erlenmeyer 250 mL, autoklaf, inkubator digital B-One CIN-70, tabung reaksi, gelas kimia 100 mL, gelas kimia 250 mL, gelas kimia 500 mL, pipet tetes, pipet ukur 10mL, *ball* pipet, timbangan analitik, corong kaca, dan pH meter.

3.3 Bahan

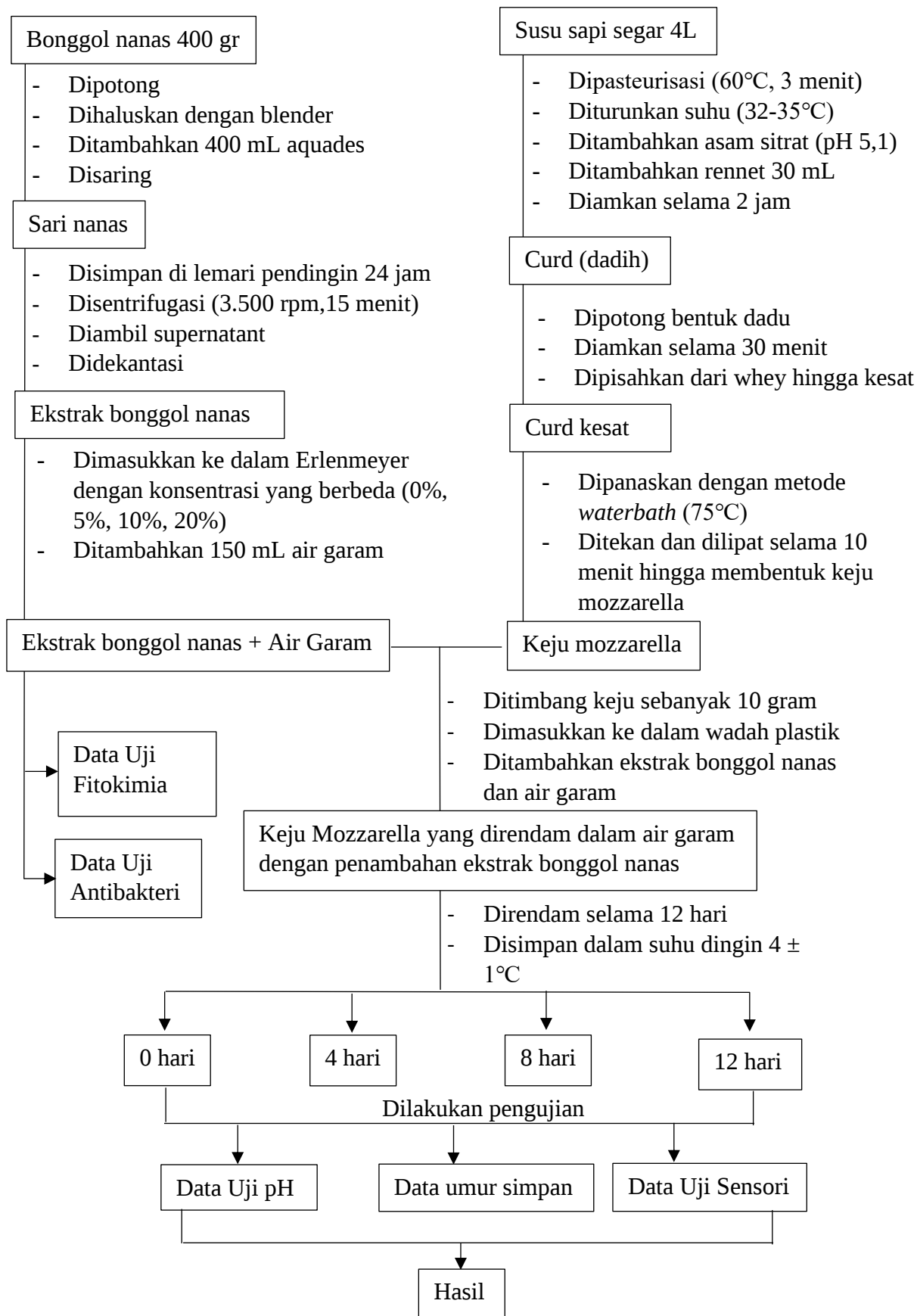
Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah susu sapi segar, rennet, garam dapur, dan asam sitrat, bonggol nanas subang. Lalu untuk pengujian bahan yang dibutuhkan adalah kertas saring *whattman*, aquades, magnesium, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, kloroform, BHI agar, BHI broth, amoxilin 10 ppm, feri klorida, pereaksi mayer dan asetat anhidrat.

3.4 Bagan Alir

Pada penelitian yang akan dilakukan kali ini, telah dibuat rancangan penelitian dalam bentuk bagan alir, mulai dari tahap pembuatan ekstrak bonggol nanas, pembuatan keju mozzarella, pembuatan *brine*, pengaplikasian ekstrak bonggol nanas terhadap keju mozzarella, hingga analisis kualitatif dan analisis kuantitatif fisika, kimia, dan biologi terhadap keju

mozzarella control dan keju mozzarella yang sudah ditambahkan berbagai ekstrak bonggol nanas.

Digunakan ekstrak bonggol nanas menurut Herdyastuti (2006), konsentrasi ekstrak bonggol nanas sebesar 5%, 10%, dan 20% menurut Parafati *et al.*, (2023), pembuatan keju mozzarella menurut Patahanny dkk (2019). Berikut merupakan bagan alir yang telah dibuat untuk penelitian:



3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Keju Mozzarella

Pemeriksaan bahan akan dilakukan secara organoleptik dengan memeriksa warna, rasa dan aroma air susu dengan indera kita. Hal pertama yang dilakukan yaitu, memanaskan susu pada suhu 60°C selama 3 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu sekitar 32-35°C dengan bantuan air yang mana panci berisi susu panas direndam dalam air dingin dan ditambahkan asam sitrat hingga berkisar pada pH 5,1 – 5,4 lalu didiamkan selama 15 menit. Kemudian tambahkan rennet sebanyak 30 ml. Setelah penambahan rennet dan didiamkan selama 2 jam, maka terbentuklah curd (dadih), pada 1 jam pertama curd dicek dengan cara menggoyangkan panci yang berisi curd, dan setelah didiamkan selama kurang lebih 2 jam curd di potong menjadi bentuk dadu lalu didiamkan selama 15 menit agar curd yang terbentuk terpisah dari whey. Pemisahan curd dengan whey dengan cara mengepres curd sehingga whey yang berbentuk cair benar-benar terpisah. Tahap terakhir yang dilakukan yaitu proses pematangan keju (ripening) sekaligus membentuk dan memulurkan keju (Calandrelli, 2011). Pematangan dan memulurkan keju dilakukan menggunakan air panas pada suhu 75°C dengan memasukkan curd kedalam saringan yang berada di atas air panas tersebut sambil ditekan dan dilipat lipat selama 10 menit hingga terbentuk keju mozzarella, hal ini juga membantu untuk pengeluaran whey sisa.

3.5.2 Pembuatan ekstrak bonggol nanas

Batang nanas dipotong kecil-kecil sebanyak 400 g kemudian dihaluskan dengan menambahkan 400 ml aquades. Preparat halus ini kemudian disaring untuk mendapatkan sari batang yang selanjutnya disimpan di lemari es selama 24 jam, kemudian terbentuk 2 lapisan dimana lapisan atas adalah air dan lapisan bawah adalah sari nanas yang mengendap. Sari nanas yang muncul disentrifus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 15 menit. Lapisan atas atau supernatant dipisahkan dengan cara dekantasi. Kemudian filtrat hasil dekantasi sudah dapat digunakan karena merupakan ekstrak bonggol nanas.

3.5.3 Pembuatan Sampel Mozzarella yang Ditambahkan Ekstrak Bonggol Nanas pada Air Garam

Keju mozzarella segar yang telah dibuat dan disimpan dalam kondisi dingin. Sampel dibagi ke dalam empat wadah tertutup berbeda dalam keadaan steril sekitar 10 gr untuk setiap wadah. Sebanyak 5 gr garam NaCl dilarutkan dalam 150 ml aquades. Sampel mozzarella direndam dalam larutan air garam sebanyak 30 mL dari 150 mL total air garam dan ditambahkan ekstrak bromelin dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 5, 10, dan 20% (vol/vol). Sampel control dibuat dengan air garam tanpa penambahan ekstrak apapun. Setiap wadah disimpan dalam kondisi dingin ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) hingga 12 hari.

3.6 Prosedur Pengujian

3.6.1 Pengujian Ekstrak Bonggol Nanas

Ekstrak bonggol nanas yang sudah di sentrifugasi dan sudah di dekantasi kemudian dilakukan pengujian.

3.6.1.1 Antibakteri

Uji antibakteri pada ekstrak bonggol nanas meliputi pembuatan media, inokulasi bakteri, dan uji aktivitas antibakteri

3.6.1.1.1 Pembuatan media

Untuk media padat dilakukan dengan menimbang BHI agar sebanyak 2,6gr dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL lalu ditambahkan aquades sebanyak 50 mL. Lalu diaduk dan dipanaskan diatas hotplate hingga homogen. Kemudian tuang ke dalam cawan petri dan biarkan hingga memadat. Cawan petri yang berisi media agar dilapisi oleh aluminium foil untuk di sterilisasi dalam autoklaf selama ± 15 menit pada suhu 121°C .

Untuk media cair dilakukan dengan menimbang BHI broth sebanyak 2,5gr dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL lalu ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Lalu diaduk dan dipanaskan diatas hotplate hingga homogen. Dinginkan media cair lalu masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 25 mL lalu ditutup dengan sumbat kapas dan aluminium foil kemudian disterilisasikan dalam autoklaf selama ± 15 menit pada suhu 121°C .

3.6.1.1.2 Inokulasi Bakteri

Media cair yang sudah disterilisasi ditanami bakteri *Streptococcus aureus* dalam keadaan aseptis lalu di vortex. Setelah itu, tabung reaksi kembali ditutup dengan sumbat kapas dan aluminium foil untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.6.1.1.3 Uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram

Pengujian antibakteri ekstrak bonggol nanas dengan metode difusi cakram. Sebanyak 100µL bakteri *Staphylococcus aureus* dituangkan ke dalam media agar lalu diratakan menggunakan batang L hingga rata dan kering. Kertas cakram ditempatkan pada media agar dan diteteskan sebanyak 10µL sampel pada masing-masing kertas cakram dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi larutan ekstrak bonggol nanas yang digunakan adalah 5%, 10%, dan 20%, kontrol positif (+) amoxilin 10 ppm dan kontrol negatif (-) larutan garam NaCl, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diamati dengan adanya zona bening di sekitar cakram, kemudian diukur diameter zona hambat tersebut.

3.6.1.2 Uji Fitokimia (Harborne, 1996)

3.6.1.2.1 Uji Flavonoid

1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi berbeda, lalu ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,05 gram dan 10 tetes HCl pekat. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning, atau jingga.

3.6.1.2.2 Uji Alkaloid

1 mL sampel dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes kloroform. Kemudian ditambahkan reagen mayer sebanyak 2 tetes. Bila positif akan memberikan endapan putih atau kuning yang menunjukkan positif alkaloid.

3.6.1.2.3 Uji Saponin

1 mL sampel dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas sebanyak 10 mL lalu dikocok selama 1 menit. Kemudian ditambahkan HCl 2N sebanyak 2 tetes, bila positif saponin akan terbentuk busa yang stabil.

3.6.1.2.4 Uji Tanin

1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 3 tetes FeCl₃ 1%. Bila positif tannin, akan terbentuk endapan biru tua atau hitam kehijauan.

3.6.1.2.5 Uji Terpenoid-Steroid

1 mL sampel dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambah 10 tetes CH_3COOH glasial lalu ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Selanjutnya dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Bila terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan positif steroid, sedangkan terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid.

3.6.2 Pengujian pH

Pengujian pH keju mozzarella mengacu pada cara yang dilakukan oleh Dari *et al.*, (2021). Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat pH meter dicelupkan pada sampel kemudian ditunggu hingga muncul angka indikator pada layer pH meter yang menunjukkan besarnya nilai pH sampel.

3.6.3 Pengujian Umur Simpan

Pengujian umur simpan keju mozzarella dilakukan dengan menggunakan factor organoleptic yaitu menggunakan parameter sensori seperti warna, aroma, tekstur. Pengamatan dilakukan hingga keju mengalami kerusakan atau pembusukan. Jika keju sudah mengalami kerusakan, pendugaan umur simpan dapat ditentukan dengan cara menghitung hari dari awal pengamatan hingga keju mengalami pembusukan atau kerusakan.

3.6.4 Analisa Sensori (SNI 01-2346-2006)

Pengujian sensori dilakukan dengan uji kesukaan hedonik untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap keju mozzarella yang dihasilkan meliputi warna, aroma, tekstur, dan tingkat kesukaan keseluruhan. Uji yang digunakan adalah uji rating hedonik (SNI 01-2346-2006). Karakteristik sensori keju mozzarella dievaluasi oleh 20 panelis tidak terlatih terdiri dari mahasiswa Universitas Pendidikan Indonesia dan masyarakat. Semua sampel dievaluasi menggunakan skala numerik lima poin dengan skor 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (netral), 4 (suka), dan 5 (sangat suka).