

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei sampai dengan bulan Agustus 2015 di Laboratorium Riset Kimia Makanan FPMIPA UPI, Laboratorium Mikrobiologi FPMIPA UPI, dan Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Alat dan bahan yang digunakan dari tahapan-tahapan penelitian ini dijabarkan sebagai berikut.

Alat-alat yang digunakan yaitu peralatan antara lain: *autoclave*, oven listrik Shimadzu, pH meter *Mettler Toledo*, shaker *waterbath*, inkubator Shimadzu *Bitec-300*, neraca analitik, pemanas listrik, set alat Kjeldahl, cawan krus, tang krus, termometer, makropipet, botol semprot, kain saring dan berbagai macam peralatan gelas seperti: Gelas kimia, Erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, set alat Soxhlet, set alat Kjeldahl, pipet tetes, dan biuret mikro.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kambing jenis Peranakan Etawa (PE) segar. Susu kambing ini diperoleh dari Koperasi Mekar Harapan, Bandung.

Bahan-bahan lain yang digunakan adalah enzim papain, bakteri starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*), akuades, NaCl, garam Kjeldahl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH 30%, HCl 0,1 N, dan HCl 25%, .

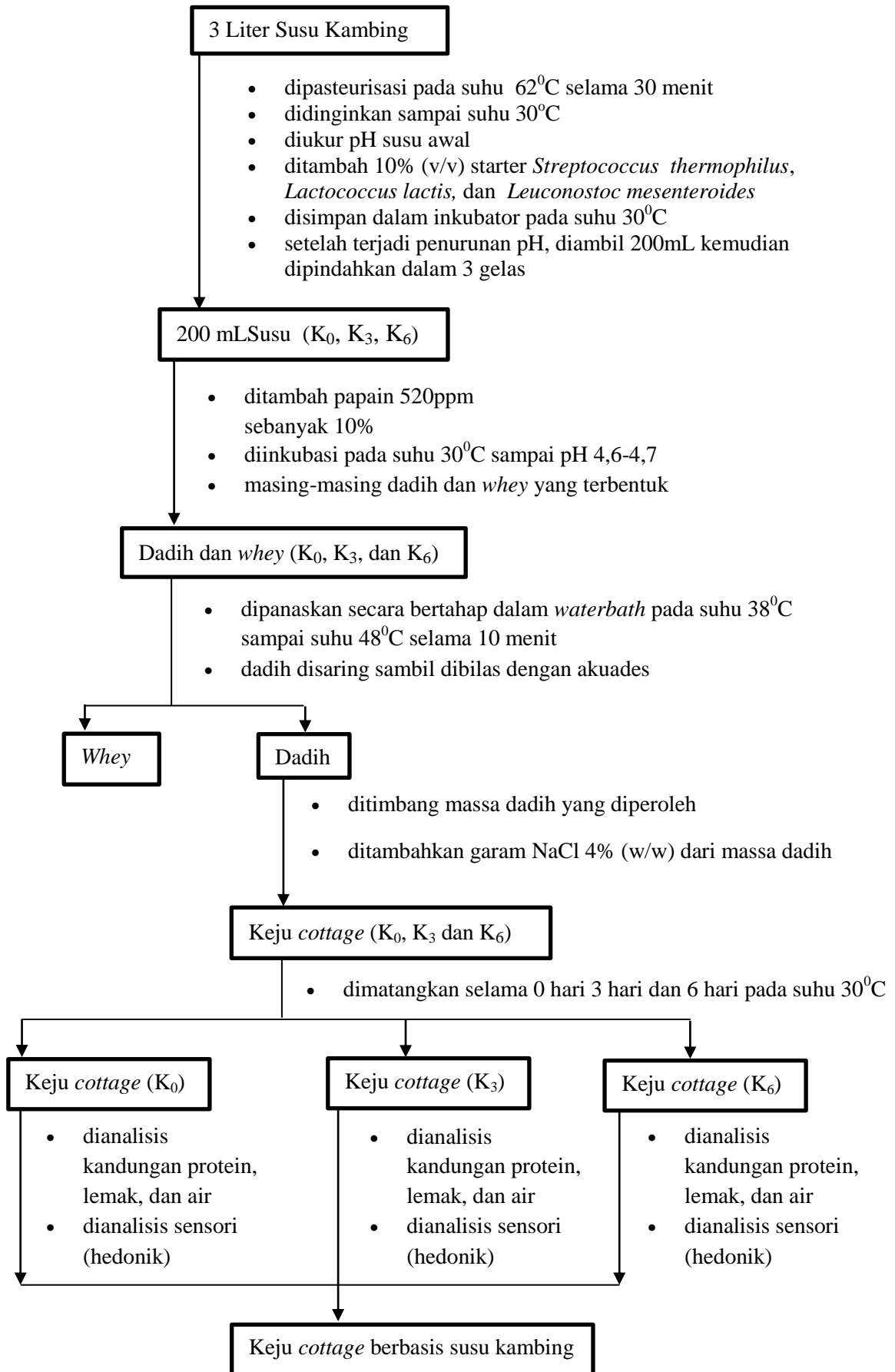
### 3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tahap preparasi starter bakteri *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*.
2. Tahap pembuatan keju *cottage* berbasis susu kambing.
3. Tahap analisis kandungan air, dan gizi (protein dan lemak) dari susu kambing dan keju *cottage*.
4. Tahap analisis sensori (hedonik) meliputi atribut warna, tekstur, dan aroma keju *cottage*.

### 3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan meliputi empat tahapan, yaitu preparasi bakteri starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*, pembuatan keju *cottage*, analisis kandungan air, dan gizi (protein dan lemak) dari susu kambing dan keju *cottage* serta uji sensori. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian

### 3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari tahap preparasi bakteri starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*), produksi keju *cottage*, penentuan kandungan protein, air dan lemak, serta uji sensori (hedonik) produk keju *cottage* ini dijelaskan sebagai berikut.

#### 3.5.1 Preparasi Bakteri Starter (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*)

Tahapan yang dilakukan dalam penumbuhan bakteri starter ini adalah melakukan sterilisasi untuk semua alat yang akan digunakan, kemudian pembuatan media *panthotenate broth* sebagai media penumbuhan bakteri sesuai umur inokulumnya. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat 1 Liter media *panthotenate broth* yaitu 5 gram glukosa, 5 gram natrium asetat, dan 20 gram ekstrak ragi kemudian dilarutkan dalam 1 Liter akuades. Campuran ini dipanaskan sambil diaduk dengan *magnetic stirer* selama 15 menit setelah mendidih. Kemudian media tersebut didinginkan, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer steril dan ditutup dengan kapas yang dibalut kain kassa. Langkah terakhir adalah sterilisasi media *panthotenate broth* menggunakan *autoclave* dengan tekanan 1,5 atm dan suhu 121°C selama 15 menit.

Tahap selanjutnya adalah penumbuhan bakteri starter sesuai dengan umur inokulumnya. Starter yang digunakan adalah starter campuran tiga bakteri yaitu 10% starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides* dengan perbandingan 3:1:2. Masing-masing bakteri diinokulasi dalam 225 mL, 75 mL, dan 150 mL *Panthotenate Broth* steril secara berurutan. Diinkubasi pada suhu 30°C selama 4 jam untuk bakteri *Lactococcus lactis*, 6 jam untuk bakteri *Streptococcus thermophilus*, dan 8 jam untuk bakteri *Leuconostoc mesenteroides*. Kemudian bakteri-bakteri starter tersebut dicampurkan menjadi satu dalam Erlenmeyer steril bertutup kapas yang dibalut kain kassa.

### 3.5.2 Pembuatan Keju *Cottage* berbasis Susu Kambing

Keju *cottage* dibuat menjadi tiga jenis perlakuan, dengan variabel waktu pematangan berbeda yaitu:

- Keju  $K_0$  : merupakan keju *cottage* yang dibuat tanpa pematangan.
- Keju  $K_3$  : merupakan keju *cottage* yang dibuat dengan waktu pematangan selama 3 hari.
- Keju  $K_6$  : merupakan keju *cottage* yang dibuat dengan waktu pematangan selama 6 hari.

Bahan dasar pembuatan keju *cottage* ini adalah susu kambing segar sebanyak 3 liter dan dipasteurisasi pada suhu  $62^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, selanjutnya susu hasil pasteurisasi didinginkan sampai suhu  $30^{\circ}\text{C}$  sebagai suhu inkubasi, kemudian diukur pH awal susu dan ditambahkan 10% (v/v) starter *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides* kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . Setelah terjadi penurunan keasaman, sebanyak 200 mL susu dipindahkan ke dalam 3 gelas, selanjutnya ditambahkan enzim papain 520 ppm kemudian diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  hingga pH mencapai 4,6 – 4,7.

Hasil dari proses inkubasi diperoleh dadih dan *whey* yang selanjutnya dipisahkan dengan cara pemanasan secara bertahap dalam *waterbath* pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$  sampai suhu  $48^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit, kemudian disaring dengan kain kassa. Dadih yang diperoleh selanjutnya ditimbang massanya dan ditambahkan garam NaCl 4% (w/w) dari massa dadih. Hasil penambahan dengan garam adalah produk keju *cottage*.

Keju *cottage* yang dihasilkan didiamkan dalam lemari pematangan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 3 hari dan 6 hari. Setelah dimatangkan, selanjutnya diuji kandungan gizi (protein dan lemak), air dan sensori (hedonik) dari masing-masing keju.

### 3.5.3 Analisis Nilai Gizi Keju *Cottage* Berbasis Susu Kambing

Analisis nilai gizi yang dilakukan meliputi kadar protein, lemak dan air yang diperlakukan pada susu kambing sebagai bahan dasar dan produk keju *cottage* yang sudah diperoleh. Dalam analisis ini digunakan metode SNI 01-2891-1992 sebagai bahan acuan.

#### 3.5.3.1 Analisis Kadar Protein menggunakan Metode Kjeldahl

Analisis kadar protein susu kambing dan keju *cottage* menggunakan metode Kjeldahl. Metode ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap dekstruksi dan tahap penentuan kadar protein.

Tahap dekstruksi sampel yaitu dengan cara 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 dekstruksi berlangsung sampai larutan menjadi jernih, lalu didinginkan.

Tahap penentuan kadar protein, larutan sampel dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Ke dalam labu destilasi yang 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 hijau menjadi ungu.

Kadar protein dapat ditentukan dengan persamaan berikut ini:

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

Keterangan:

A : Berat sampel (g)

B : Volum pelarutan hasil dekstruksi (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)

### 3.5.3.2 Analisis Kadar Lemak menggunakan Metode Soxhlet

Metode yang digunakan adalah soxhlet, 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 gelas Erlenmeyer 300 mL. Sampel yang ada dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan 45 mL akuades panas (mendidih) sambil diaduk. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan 55 mL HCl 25% dan dimasukkan beberapa batu didih, Erlenmeyer ditutup dengan kondensor, kemudian larutan dididihkan secara perlahan-lahan selama 30 menit. Setelah itu kondensor dibilas dengan 100 mL akuades. Larutan selanjutnya disaring menggunakan kertas saring bebas lemak yang telah dibasahkan. Endapan yang dihasilkan dicuci dengan akuades hingga air saringan bebas dari ion Cl. Selanjutnya kertas saring yang berisi endapan tersebut dimasukkan dalam timbel dan ditutup permukaannya dengan *glasswool*, kemudian endapan dikeringkan selama 6-18 jam pada suhu 100-101°C. Setelah endapan kering, dimasukkan kedalam alat Soxhlet dengan menggunakan labu penampung yang telah diisi batu didih. Hasil yang diperoleh selanjutnya diekstraksi dengan petroleum eter selama 4 jam. Setelah diekstraksi, larutan petroleum eter dievaporasi. Lemak yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 100-101°C. Setelah 1 jam, dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang.

Penentuan kadar lemak dari hasil ekstraksi diperoleh berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar Lemak} = \frac{\text{Berat Lemak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

- Berat Lemak: berat lemak yang ada dalam sampel (gram)
- Berat Sampel: berat sampel setelah pengeringan (gram)

### 3.5.3.3 Analisis Kadar Air menggunakan metode Gravimetri

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air ini adalah metode gravimetri dengan cara menghitung kehilangan bobot sampel setelah pengovenan. Cawan porselen bertutup ditimbang sebagai wadah kosong, kemudian ditimbang 1–2 gram di dalam cawan porselen. 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 penentuan kadar air dapat ditentukan melalui persamaan berikut:

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

Keterangan:

- W : berat sampel awal (gram)
- W1: berat sampel setelah pengeringan (gram)

### 3.5.4. Analisis Sensori (Uji Hedonik)

Uji hedonik merupakan uji berdasarkan tingkat kesukaan panelis terhadap suatu produk. Uji hedonik dilakukan pada produk keju *cottage* berbasis susu kambing yang memiliki perbedaan waktu pematangan yaitu 0 hari, 3 hari dan 6 hari. Dilakukan menggunakan skala hedonik meliputi warna (skala 1- tidak suka sampai 3-sangat suka); tekstur yang tampak (skala 1-tidak suka sampai 3-sangat suka), dan aroma (skala 1-tidak suka sampai 3-sangat suka). Analisis dilakukan dengan melibatkan 25 panelis tidak terlatih. Hasil data hedonik kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan aplikasi *IBM SPSS Statistic 22* dan diuji normalitas data menggunakan Kolmogorov-Smirnov, serta uji Kruskal Wallis.