

**PENGARUH SUHU, KONSENTRASI ASAM ASETAT  
DAN KONSENTRASI BROMELIN TERHADAP  
KADAR PROTEIN SUSU TERKOAGULASI**

**SKRIPSI**

oleh :  
**SEPTI DWI FIFIANTI**  
**0510920055-92**



**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**MALANG**  
**2009**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PENGARUH SUHU, KONSENTRASI ASAM ASETAT  
DAN KONSENTRASI BROMELIN TERHADAP  
KADAR PROTEIN SUSU TERKOAGULASI**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh :  
**Septi Dwi Fifianti**  
**0510920055-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2009**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH SUHU, KONSENTRASI ASAM ASETAT  
DAN KONSENTRASI BROMELIN TERHADAP  
KADAR PROTEIN SUSU TERKOAGULASI**

Oleh :  
**Septi Dwi Fifianti**  
**0510920055-92**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal .....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
**Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

**Pembimbing I,**

**Pembimbing II,**

**Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes**  
**NIP. 197203262002122001**

**Dra. Anna R. M. App., Sc.**  
**NIP. 195807111992032002**

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan Kimia**  
**Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS**  
**NIP. 196304041987011001**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Septi Dwi Fifianti

NIM : 0510920055-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Pengaruh Suhu, Konsentrasi Asam Asetat dan Konsentrasi Bromelin terhadap Kadar Protein Susu Terkoagulasi

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Oktober 2009  
Yang menyatakan,

(Septi Dwi Fifianti)  
NIM. 0510920055-92

# PENGARUH SUHU, KONSENTRASI ASAM ASETAT DAN KONSENTRASI BROMELIN TERHADAP KADAR PROTEIN SUSU TERKOAGULASI

## ABSTRAK

Protein susu (kasein) dapat dikoagulasi oleh asam asetat dan bromelin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu, konsentrasi asam asetat dan konsentrasi bromelin terhadap koagulasi protein susu. Susu pasteurisasi dikoagulasi pada variasi suhu: 35°C, 45°C, 55°C, 65°C, 70°C oleh asam asetat 3% maupun bromelin 3%. Suhu optimum digunakan untuk koagulasi protein pada variasi konsentrasi: 1%, 3%, 5%, 7%, 9% oleh asam asetat maupun bromelin. Koagulasi akan membentuk dadih (*curd*) dan *whey*. Kadar protein dalam dadih dapat diperoleh dengan menentukan kadar protein kasar dalam *whey* menggunakan metode Kjeldahl. Metode penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa koagulasi protein susu oleh asam asetat tidak dipengaruhi suhu, namun dipengaruhi oleh konsentrasi asam asetat. Konsentrasi optimum koagulasi susu terjadi pada penambahan asam asetat 3% dengan jumlah protein terkoagulasi sebesar 2,52%. Koagulasi protein susu menggunakan bromelin dipengaruhi oleh suhu dan konsentrasi. Koagulasi optimum ditunjukkan pada suhu 65°C dengan penambahan bromelin 9% dan jumlah protein terkoagulasi sebesar 2,13%.

**Kata kunci:** asam asetat, bromelin, koagulasi, kasein, dadih, *curd*, *whey*

# THE INFLUENCE OF TEMPERATURE, CONCENTRATION OF ACETIC ACID AND BROMELIN ON MILK PROTEIN COAGULATION

## ABSTRACT

Milk protein (casein) can be coagulated by acetic acid and bromelin. The aims of this research were to investigate the influence of temperature, concentration acetic acid and bromelin on milk protein coagulation. The pasteurized milk was coagulated at temperature variation of 35°C, 45°C, 55°C, 65°C, 70°C at acetic acid 3% or bromelin 3%. The optimum temperature was used to coagulate milk by acetic acid or bromelin in concentration variation of 1%, 3%, 5%, 7%, 9%. The coagulation produced curd and whey. The concentration of protein curd can be obtained by determining of protein whey through Kjeldahl method. Research method which used is complete random device continued with least significant different (LSD) 95%. The results showed that acetic acid concentration influenced coagulation of milk protein, but temperature did not. The optimum coagulation was occurred on acetic acid 3% yielding in 2.52% of protein curd. Temperature and concentration of bromelin influenced coagulation of milk protein. The optimum coagulation was occurred at 65°C with bromelin 9% resulting in 2.13% of protein curd.

**Keyword:** acetic acid, bromelin, coagulation, casein, curd, whey

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, ridho serta petunjuk-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW beserta sahabat dan seluruh umatnya.

Skripsi berjudul **"Pengaruh Suhu, Konsentrasi Asam Asetat dan Konsentrasi Bromelin terhadap Kadar Protein Susu Terkoagulasi"** ini disusun sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes, selaku dosen pembimbing I dan Dra. Anna R. M. App., Sc., selaku pembimbing II atas segala bimbingan, pengarahan dan kesabaran yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Sasangka Prasetyawan, M.S., selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan fasilitas untuk mengadakan penelitian di seluruh laboratorium kimia.
3. Dra. Diah Mardiana, M.Si, selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan selama kuliah.
4. M. Farid Rahman, S.Si, M.Si, Darjito, S.Si, M.Si, Ir. Bambang Poerwadi, MS dan Dr. Akhmad Sabarudin selaku dosen penguji.
5. Seluruh civitas akademika jurusan Kimia, Universitas Brawijaya, dan semua pihak yang telah membantu tersusunnya skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu, atas semua bantuan dan kemudahan yang diberikan selama penelitian ini berlangsung.
6. Ibu dan bapak yang telah memberikan semangat serta dukungannya selama ini.
7. Teman – temanku yang telah memberi semangat dan ide.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran diharapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Oktober 2009

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK/ ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Maslah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	2
1.5 Manfaat Penelitian.....	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Susu .....	3
2.2 Asam Asetat sebagai Koagulan Susu .....	5
2.3 Bromelin sebagai Enzim Proteolitik.....	6
2.4 Penentuan Kadar Protein .....	7
2.5 Penentuan pH .....	7
2.6 Spektrometri UV.....	7
2.7 Hipotesis.....	7
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Tempat Penelitian.....	8
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	8
3.2.1 Bahan Penelitian .....	8
3.2.2 Bahan Kimia .....	8
3.2.3 Alat Penelitian.....	8
3.3 Metode Penelitian.....	8
3.4 Cara Kerja.....	9
3.4.1 Penyiapan Enzim Bromelin.....	9

3.4.2 Analisa Protein pada Susu Segar dan Susu Pasteurisasi.....	9
3.4.3 Koagulasi Susu.....	9
3.4.3.1 Variasi Suhu Penambahan Asam Asetat 3% .....	9
3.4.3.2 Variasi Suhu Penambahan Bromelin 3%.....	10
3.4.3.3 Variasi Konsentrasi Asam Asetat .....	10
3.4.3.4 Variasi Konsentrasi Bromelin pada Suhu 65°C .....	10
3.4.4 Uji Kadar Protein pada Whey Hasil Koagulasi....	10
3.5 Analisis Data.....	11

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Analisa Protein Susu Sapi .....	12
4.2 Pengaruh Suhu Penambahan Asam Asetat 3% dan Bromelin 3% terhadap Koagulasi Susu .....	12
4.3 Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat dan Bromelin pada Suhu 65°C terhadap Koagulasi Susu.....	14

**BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	19
5.2 Saran .....	19

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	20
<b>LAMPIRAN</b> .....	24

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1</b> Koagulasi susu oleh asam ( $H^+$ ) .....	5
<b>Gambar 2.2</b> Reaksi proteolitik secara umum .....	5
<b>Gambar 2.3</b> Hidrolisis kasein (proses proteolisis) .....	6
<b>Gambar 4.1</b> Pengendapan protein pada titik isoelektrik .....	17
<b>Gambar L.2.1</b> Kurva baku protein .....	25



## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 4.1</b> Data kadar protein dalam dadih hasil koagulasi oleh asam asetat 3% dan bromelin 3% dengan variasi suhu .....	13
<b>Tabel 4.2</b> Kadar protein dalam dadih dan pH hasil koagulasi susu pada variasi konsentrasi asam asetat pada suhu 65°C.....	14
<b>Tabel 4.2</b> Kadar protein dalam dadih dan pH hasil koagulasi susu pada variasi konsentrasi bromelin pada suhu 65°C.....	17
<b>Tabel L.2.1</b> Data absorbansi kurva baku protein.....	25
<b>Tabel L.3.1</b> Data analisa protein pada susu.....	25
<b>Tabel L.3.2</b> Uji protein pada whey hasil koagulasi susu oleh variasi suhu penambahan CH <sub>3</sub> COOH 3% .....	26
<b>Tabel L.3.3</b> Uji protein pada whey hasil koagulasi susu oleh variasi suhu penambahan bromelin 3% .....	26
<b>Tabel L.3.4</b> Uji protein pada whey hasil koagulasi susu pada suhu penambahan 65°C dengan variasi konsentrasi CH <sub>3</sub> COOH .....	26
<b>Tabel L.3.5</b> Uji protein pada whey hasil koagulasi susu pada suhu penambahan 65°C dengan variasi konsentrasi bromelin.....	27
<b>Tabel L.5.1</b> Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat 3% dengan variasi suhu.....	28
<b>Tabel L.5.2</b> Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi .....	29
<b>Tabel L.5.3</b> Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu.....	29
<b>Tabel L.5.4</b> Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi .....	31
<b>Tabel L.5.5</b> Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu .....	31
<b>Tabel L.5.6</b> Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat dengan variasi konsentrasi .....	32
<b>Tabel L.5.7</b> Analisa sidik ragam satu arah penentuan	

	protein terkoagulasi.....	33
<b>Tabel L.5.8</b>	Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat dengan variasi konsentrasi.....	34
<b>Tabel L.5.9</b>	Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin pada suhu 65°C dengan variasi konsentrasi .....	34
<b>Tabel L.5.10</b>	Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi .....	35
<b>Tabel L.5.11</b>	Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin pada suhu 65°C dengan variasi konsentrasi .....	36



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Pembuatan Pereaksi .....	24
<b>Lampiran 2.</b> Pembuatan Kurva Baku.....	24
<b>Lampiran 3.</b> Hasil Absorbansi Protein dalam <i>Whey</i> .....	25
<b>Lampiran 4.</b> Contoh Perhitungan Data .....	27
<b>Lampiran 5.</b> Uji Statistik Jumlah Protein Hasil Koagulasi.....	28
<b>Lampiran 6.</b> Perhitungan Volume yang ditambahkan pada variasi konsentrasi .....	36
<b>Lampiran 8.</b> Diagram Alir Tahap Penelitian .....	37
<b>Lampiran 9.</b> Diagram Kerja Penelitian.....	38



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Susu merupakan bahan pangan alami yang diperoleh dari pemerahan ambing mamalia yang sehat dengan nilai nutrisi yang lengkap, mengandung lemak, protein, laktosa serta berbagai jenis garam dan vitamin. Susu baik untuk manusia, hewan muda dan cocok untuk media tumbuh mikroorganisme karena menyediakan berbagai nutrisi (Susilorini, 2006). Adanya mikroorganisme akan menjadikan susu mudah rusak bila pengolahannya kurang baik. Maka, diperlukan pengolahan susu untuk mencegah kerusakan tersebut.

Salah satu hasil pengolahan susu adalah keju. Keju dibuat melalui proses penggumpalan atau koagulasi. Koagulasi susu dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu menggunakan enzim, penambahan asam serta dengan penambahan asam dan pemanasan tinggi (Zakiah, 2008). Enzim yang sering digunakan dalam proses pembuatan keju yaitu enzim rennet. Namun, isolasi enzim rennet cukup sulit dan harganya sangat mahal karena tersedia dalam jumlah yang terbatas, sehingga perlu adanya pengganti enzim rennet. Salah satu enzim yang dapat digunakan sebagai pengganti rennet adalah bromelin. Hal ini disebabkan karena bromelin memiliki aktivitas proteolitik yang dapat mengkoagulasi protein susu. Selain menggunakan enzim, susu juga dapat dikoagulasi oleh penambahan asam salah satunya adalah asam asetat. Asam asetat dapat digunakan sebagai bahan untuk mendenaturasi protein di dalam susu sehingga dihasilkan dadih (gumpalan tahu) (Syamsir, 2008).

Jenis enzim dan asam yang digunakan mempengaruhi koagulasi susu sapi. Selain itu, koagulasi juga bergantung pada suhu dan konsentrasi. Menurut Scott (1986), koagulasi spontan dari susu skim terjadi dengan penambahan 0,25% asam pada suhu 82°C atau pada penambahan 0,35% asam pada suhu 65°C.

Enzim atau pun asam ditambahkan ketika dicapai kondisi (konsentrasi dan suhu) yang sesuai sehingga koagulasinya optimum (Anonymous, 2009). Maka, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh suhu dan konsentrasi asam asetat (asam) serta bromelin (enzim) untuk mendapatkan koagulasi yang optimum terhadap susu sapi.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Perumusan masalah yang dapat diambil pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh suhu penambahan dan konsentrasi asam asetat terhadap koagulasi protein susu ?
2. Bagaimana pengaruh suhu penambahan dan konsentrasi enzim bromelin terhadap koagulasi protein susu ?

## **1.3 Batasan Masalah**

Masalah dalam penelitian ini dibatasi pada:

1. Penggunaan susu sapi yang berasal dari KUD Dau Sengkaling Malang.
2. Enzim bromelin diperoleh dari buah nanas yang tidak dibedakan umur dan varietasnya.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh suhu penambahan dan konsentrasi asam asetat terhadap koagulasi protein susu.
2. Mengetahui pengaruh suhu penambahan dan konsentrasi bromelin terhadap koagulasi protein susu.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

Memanfaatkan dadih dari hasil koagulasi optimum sebagai bahan pembuatan keju dengan proses lebih lanjut.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Susu

Susu secara kimiawi merupakan emulsi (campuran zat yang tidak saling larut) butiran lemak dalam cairan berbahan dasar air. Susu mentah adalah susu yang tidak diproses, baik pasteurisasi (pemanasan) maupun homogenisasi (perlakuan tekanan udara terhadap susu untuk mencegah krim terpisah dari cairan). Susu mentah lebih berisiko menyebabkan penyakit akibat kemungkinan hadirnya mikroorganisme patogen (penyebab penyakit). Pasteurisasi membunuh sebagian besar mikroorganisme alami (termasuk yang menguntungkan karena membantu proses pencernaan dan metabolisme susu) dan merusak banyak kandungan nutrisi. Kasein tidak terdegradasi pada temperatur proses pasteurisasi, tapi terkoagulasi (tergumpalkan) pada saat dididihkan. Susu pasteurisasi merupakan susu yang diberi perlakuan panas sekitar 63-72°C selama 15 detik yang bertujuan untuk membunuh bakteri patogen (Anonymous<sup>1</sup>, 2008).

Susu merupakan bahan pangan yang memiliki komponen spesifik seperti lemak susu, laktosa (karbohidrat susu) dan kasein (protein susu). Persentase lemak susu antara 2,4% - 5,5%. Lemak susu terdiri atas trigliserida yang tersusun dari satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak (*fatty acid*) melalui ikatan-ikatan ester (*ester bonds*). Karbohidrat merupakan zat organik yang terdiri atas karbon, hidrogen, dan oksigen. Laktosa adalah karbohidrat utama susu dengan proporsi 4,6% dari total susu. Laktosa tergolong dalam disakarida yang disusun dua monosakarida, yaitu glukosa dan galaktosa (Shiddieqy, 2007).

Protein dalam susu mencapai 3,25%. Struktur protein terdiri atas rantai polipeptida dari asam-asam amino yang disatukan ikatan-ikatan peptida (*peptide linkages*). Kasein merupakan komponen protein yang terbesar dalam susu dan sisanya berupa *whey* protein. Kasein akan mengendap karena memiliki kelarutan (*solubility*) rendah pada kondisi asam. Pemanasan, pemberian enzim proteolitik (rennin), dan pengasaman juga dapat memisahkan kasein dengan *whey* protein (Shiddieqy, 2007).

Menurut Spreer (1998), susunan komponen protein susu tidak seragam, tetapi terdiri dari 2 fraksi yaitu kasein dan protein *whey* (protein yang larut dalam air). Kasein menyusun 80% dari protein susu, tersusun dalam bentuk misel yang hampir seluruhnya berupa koloidal kalsium fosfat sedangkan protein *whey* merupakan kelompok dari komponen yang disebut albumin ( $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, serum albumin) dan globulin (immunoglobulin).

Protein sering mengalami perubahan sifat setelah mengalami perlakuan tertentu, meskipun sangat sedikit ataupun ringan dan belum menyebabkan terjadinya pemecahan ikatan kovalen atau peptida yang dinamakan dengan denaturasi protein. Protein dapat terdenaturasi dengan berbagai macam perlakuan, antara lain dengan perlakuan panas, pH dan garam. Pada protein yang mengalami denaturasi, proteinnya akan mengendap karena gugus-gugus yang bermuatan positif dan negatif dalam jumlah yang sama atau netral (keadaan titik isoelektrik). Pada denaturasi terjadi pemutusan ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan ikatan garam (Riwan, 2008).

Manfaat dari susu sapi (Anonimous<sup>2</sup>, 2008):

1. Susu mengandung *potassium*, yang dapat menggerakkan dinding pembuluh darah pada saat tekanan darah tinggi untuk menjaganya agar tetap stabil, mengurangi bahaya akibat *apopleksi*, juga dapat mencegah penyakit darah tinggi dan penyakit jantung.
2. Dapat menetralkan racun seperti logam, timah dan *cadmium* dari bahan makanan lain yang diserap oleh tubuh.
3. Kandungan yodium, seng dan *lecitin* dapat meningkatkan secara drastis efisiensi kerja otak besar.
4. Zat besi, tembaga dan vitamin A dalam susu mempunyai fungsi terhadap kecantikan, yaitu dapat mempertahankan kulit agar tetap bersinar.
5. Kalsium susu dapat menambah kekuatan tulang, mencegah tulang menyusut dan patah tulang.
6. Kandungan magnesium dalam susu dapat membuat jantung dan sistem syaraf tahan terhadap kelelahan.
7. Kandungan seng pada susu sapi dapat menyembuhkan luka dengan cepat.
8. Kandungan vitamin B2 di dalam susu sapi dapat meningkatkan ketajaman penglihatan.

## 2.2 Asam Asetat sebagai Koagulan Susu

Asam asetat merupakan senyawa organik yang mengandung gugus asam karboksilat (Irfani, 2008). Asam asetat (asam etanoat atau asam cuka) adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam asetat memiliki rumus  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ . Dalam industri makanan, asam asetat digunakan sebagai pengatur keasaman (Anonimous<sup>3</sup>, 2008).

Menurut Zakiah (2008), penggumpalan susu dapat dilakukan melalui penambahan asam yaitu asam asetat. Maka, asam asetat dapat disebut sebagai koagulan pada susu. Koagulan adalah bahan yang digunakan untuk mendenaturasi protein di dalam susu sehingga dihasilkan dadih (gumpalan tahu) (Syamsir, 2008).

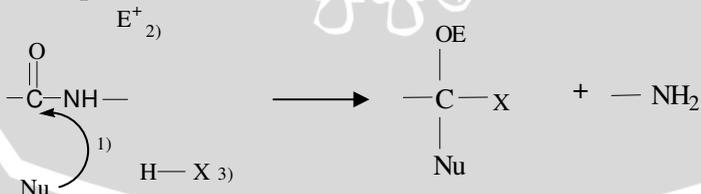
Menurut Spreer (1998), koagulasi asam, kompleks kalsium dari protein susu diubah pada titik isoelektrik, menjadi kasein terkoagulasi dan ion kalsium terbebaskan. Reaksi ini bersifat reversibel dimana pengendapan berjalan dengan sangat lambat pada pH 4,6 - 4,9.



Gambar 2.1 Koagulasi susu oleh asam ( $\text{H}^+$ )

Menurut Daulay (1991), dalam kimia koloid penggumpalan susu terjadi pada titik isoelektrik yaitu suatu kondisi dimana muatan listrik pada permukaan protein adalah nol. Dalam keadaan normal protein susu yang tidak menggumpal bermuatan negatif dan muatan ini mempertahankan susu dalam suspensi. Koagulasi susu terjadi pada titik isoelektrik yaitu suatu kondisi dimana muatan listrik pada protein adalah nol. Ion  $\text{H}^+$  dari asam asetat dapat menetralkan muatan negatif protein susu, sehingga susu dapat mengalami koagulasi.

Reaksi proteolitik secara umum (Fax, 1991):



Gambar 2.2 Reaksi proteolitik secara umum



aktifnya (Suhartono, 1992).

Karakterisasi bromelin untuk menentukan suhu optimum, semakin tinggi suhunya aktivitas enzim semakin naik dan menunjukkan aktivitas tertinggi pada suhu 55°C, tetapi setelah melewati suhu tersebut aktivitasnya semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa pada suhu 55°C tersebut enzim bekerja secara maksimal. Pada suhu di atas 55°C kerja enzim mulai menurun, hal ini disebabkan enzim adalah suatu protein apabila berada pada suhu yang tinggi maka akan mengalami denaturasi sehingga enzim rusak dan aktivitasnya turun (Cristara, 2003).

## **2.4 Penentuan Kadar Protein**

Protein yang terkandung dalam sampel dapat ditentukan dengan metode Kjeldahl. Senyawa nitrogen (protein) diubah menjadi senyawa ammonia. Keadaan yang bebas ammonia dapat diperoleh dengan menambahkan NaOH. Kandungan nitrogen ditentukan secara spektrofotometri dengan pereaksi Nessler (Sudarmadji dkk, 1985).

## **2.5 Penentuan pH**

PH merupakan ukuran keasaman atau alkalinitas suatu larutan yang diturunkan dari konsentrasi ion  $H^+$  suatu larutan, larutan pH tinggi menunjukkan konsentrasi  $H^+$  yang lebih rendah dan sebaliknya, larutan dengan pH rendah menunjukkan konsentrasi  $H^+$  yang lebih tinggi (Gaman dan Sherington, 1994).

Pengukuran pH sampel dilakukan menggunakan pH meter (Apriantono, 1989).

## **2.6 Spektrometri 20**

Spektrometri 20 merupakan spektrofotometer yang dapat mengukur intensitas dari sebuah cahaya sebelum dan sesudah melewati sebuah sampel dan dibandingkan kedua intensitas. Hasil dari spektrometri 20 ada 2 tipe yaitu pengukuran % transmittansi dan absorbansi (Khopkar, 2002).

## **2.7 Hipotesis**

Koagulasi susu menggunakan asam asetat dan bromelin dengan variasi konsentrasi dan suhu yang berbeda diduga akan berpengaruh terhadap dadih yang dihasilkan.

## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **3.2.1 Bahan penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang didapat dari KUD Dau Sengkaling Malang dan bromelin dari buah nanas.

#### **3.2.2 Bahan kimia**

Bahan-bahan yang digunakan adalah akuades, asam asetat 25%, reagen Nessler, KNa tartrat, NaOH 30%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%, fenol 5%.

#### **3.2.3 Alat penelitian**

Alat - alat yang digunakan meliputi: seperangkat alat gelas, kertas saring, hot plate, termometer, oven (Mettler), neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), pH meter digital (Beckman φ40), seperangkat alat Kjeldahl, spektrometri UV (Bausch and Lomb).

### **3.3 Metode Penelitian**

Metode penelitian dilakukan dengan :

- Variasi suhu penambahan asam asetat 3%: 35°C, 45°C, 55°C, 65°C dan 70°C
- Variasi suhu penambahan bromelin 3%: 35°C, 45°C, 55°C, 65°C dan 70°C
- Variasi konsentrasi bromelin pada suhu optimum koagulasi: 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%
- Variasi konsentrasi asam asetat pada suhu optimum koagulasi: 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%

Dari setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan, pola rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) selanjutnya dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan batas kepercayaan 95%.

Adapun tahap – tahap penelitian sebagai berikut :

1. Analisa protein pada susu segar.
2. Penyiapan bromelin.
3. Koagulasi susu
  - Asam asetat
  - Bromelin.
4. Penentuan kadar protein dari *whey* (hasil samping koagulasi).

### **3.4 Cara Kerja**

#### **3.4.1 Penyiapan enzim bromelin**

Buah nenas dikupas kulitnya, diambil buah dan hatinya, dicuci dengan air bersih, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender. Selanjutnya, nenas yang sudah halus diperas, diambil airnya (bromelin) untuk mengkoagulasi susu dan ampas nenas dibuang.

#### **3.4.2 Analisa protein pada susu segar dan susu pasteurisasi**

Analisa protein dengan metode makro Kjeldahl, sampel ditimbang 3,2129 g, ditambah  $H_2SO_4$  98% 15 ml dan 1-2 g tablet Kjeldahl dimasukkan kemudian dididihkan sampai berhenti berasap dan berwarna hijau jernih dalam perangkap destruktif selama 1,5-2 jam dalam ruangan asam. Bahan didinginkan dan ditambah NaOH 30% sampai netral. Bahan disaring dan diencerkan sampai 25 ml. Bahan hasil pengenceran diambil 5 ml diencerkan menjadi 100 ml dan hasil pengenceran ke-2 diambil 5 ml kemudian diencerkan 50 ml. Hasil pengenceran terakhir diambil 5 ml ditambah KNa tartarat 0,5 ml dan reagen Nessler 0,5 ml. Absorbansi dibaca dengan spektrometri pada  $\lambda = 490$  nm.

#### **3.4.3 Koagulasi susu**

##### **3.4.3.1 Variasi suhu penambahan asam asetat 3%**

Susu segar 1 L dipasteurisasi sampai suhu 70-80°C. Susu pasteurisasi ditambah asam asetat 3% (v/v) dengan variasi suhu penambahan 35°C, 45°C, 55°C, 65°C serta 70°C sehingga akan terbentuk gumpalan atau dadih, diukur pH campuran dan diamati dadih yang terbentuk. Dadih dan *whey* dipisahkan menggunakan kertas saring kasar. *Whey* hasil penyaringan dianalisa kadar protein dengan Kjeldahl dan diukur dengan spektrometri pada  $\lambda = 490$  nm.

### **3.4.3.2 Variasi suhu penambahan bromelin 3%**

Susu segar 1 L dipasteurisasi sampai suhu 70-80°C. Susu pasteurisasi ditambah bromelin 3% (v/v) dengan variasi suhu penambahan 35°C, 45°C, 55°C, 65°C serta 70°C sehingga akan terbentuk gumpalan atau dadih, diukur pH campuran dan diamati dadih yang terbentuk. Dadih dan *whey* dipisahkan menggunakan kertas saring kasar. *Whey* hasil penyaringan dianalisa kadar protein dengan Kjeldahl.

### **3.4.3.3 Variasi konsentrasi asam asetat pada suhu 65°C**

Susu segar 1 L dipasteurisasi sampai suhu 70-80°C. Susu pasteurisasi didinginkan sampai suhu 65°C ditambah asam asetat dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% (v/v), sehingga akan terbentuk dadih, diukur pH campuran dan diamati dadih yang terbentuk. Dadih dan *whey* dipisahkan menggunakan kertas saring kasar. *Whey* hasil penyaringan dianalisa kadar protein dengan Kjeldahl.

### **3.4.3.4 Variasi konsentrasi bromelin pada suhu 65°C**

Susu segar 1 L dipasteurisasi sampai suhu 70-80°C. Susu pasteurisasi didinginkan sampai suhu 65°C ditambah bromelin dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% (v/v), sehingga akan terbentuk dadih, diukur pH campuran dan diamati dadih yang terbentuk. Dadih dan *whey* dipisahkan menggunakan kertas saring kasar. *Whey* hasil penyaringan dianalisa kadar protein dengan Kjeldahl.

### **4.3.4.5 Uji kadar protein pada whey hasil koagulasi**

Analisa protein dengan metode makro Kjeldahl, sampel ditimbang 2-5 g, ditambah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% 15 ml dan 1-2 g tablet Kjeldahl dimasukkan kemudian dididihkan sampai berhenti berasap dan berwarna hijau jernih dalam perangkap destruktif selama 1,5-2 jam dalam ruangan asam. Bahan didinginkan dan ditambah NaOH 30% sampai netral. Bahan disaring dan diencerkan sampai 250 ml. Baha hasil pengenceran diambil 5 ml diencerkan menjadi 100 ml dan hasil pengenceran ke-2 diambil 5 ml kemudian diencerkan 50 ml. Hasil pengenceran terakhir diambil 5 ml ditambah KNa tartrat 0,5 ml dan reagen Nessler 0,5 ml. Absorbansi dibaca dengan spektronik 20 pada  $\lambda = 490$  nm. Blanko dibuat dengan mencampurkan 5 ml akuades ditambah KNa tartrat 0,5 ml dan reagen Nessler 0,5 ml dalam tabung

reaksi dan dikocok.

### 3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari variasi konsentrasi asam asetat dan variasi suhu penambahan bromelin dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pola rancangan acak lengkap sederhana (RAL), dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) 5%.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Analisa Protein Susu**

Susu merupakan emulsi yang berwarna putih dengan zat penyusun utama adalah laktosa, lemak serta protein (kasein). Hasil analisa protein susu (lampiran 4) dari KUD Dau Sengkaling Malang sebesar 3,36%. Pasteurisasi susu (jumlah protein 3,34%) tidak mengakibatkan protein dalam susu berkurang (terdegradasi) namun hanya mengalami penggumpalan. Hal ini disebabkan sebagian protein telah mengalami denaturasi. Denaturasi protein dapat menyebabkan insolubilisasi kasein yang dapat mempengaruhi sifat-sifat fungsional protein sehingga mempengaruhi kelarutannya (Apriyantono, 2002). Winarno (2004) menyatakan denaturasi protein dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya oleh panas. Denaturasi merupakan suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang menyebabkan kelarutan protein dalam air berkurang.

#### **4.2 Penentuan Suhu Optimum Koagulasi Susu oleh Asam Asetat 3% dan Bromelin 3%**

Koagulasi susu dapat dilakukan dengan penambahan asam organik, seperti asam asetat (Zakiah, 2008). Selain asam asetat, susu juga dapat dikoagulasi oleh enzim, yaitu bromelin. Hadiwiyoto (1989) menyatakan bahwa tahu susu merupakan produk hasil koagulasi protein susu oleh aktivitas enzim proteolitik. Contoh enzim proteolitik yang dapat mengkoagulasi protein susu adalah enzim bromelin yang diperoleh dari tanaman nanas.

Pada Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa penambahan asam asetat 3% pada koagulasi susu terjadi kenaikan dan penurunan jumlah protein yang terkoagulasi, namun tidak terlalu signifikan. Berdasarkan perhitungan statistik melalui rancangan acak lengkap (RAL) dengan taraf nyata 5% (lampiran 5), diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} < F_{tabel}$  (3,45). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asam asetat pada variasi suhu tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah protein susu yang terkoagulasi. Koagulasi susu terjadi apabila muatan kasein nol atau dalam keadaan netral. Muatan kasein dalam susu (pH 7) adalah negatif, sehingga membutuhkan muatan positif untuk menetralkan muatan kasein. Penambahan muatan positif dapat dilakukan dengan

menambahkan asam asetat ke dalam susu. Stabilitas muatan kasein tidak dipengaruhi oleh perubahan suhu namun dipengaruhi oleh jumlah konsentrasi asam yang ditambahkan. Hal ini juga dapat dilihat dari dadih pada variasi suhu bentuknya tidak berbeda karena konsentrasi yang digunakan sama yaitu 3%.

Pada penelitian ini dilakukan variasi suhu penambahan asam asetat 3% yaitu 35°C, 45°C, 55°C, 65°C dan 70°C dan penambahan bromelin 3% dengan variasi suhu yang sama. Data dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data kadar protein dalam dadih hasil koagulasi oleh asam asetat 3% dan bromelin 3% dengan variasi suhu

Suhu (°C)	Penambahan asam asetat		Penambahan bromelin	
	Protein dalam dadih (%)	Bentuk dadih	Protein dalam dadih (%)	Bentuk dadih
35	2,51	Padat	0,21	Pecah
45	2,52	Padat	0,48	Pecah
55	2,40	Padat	0,59	Pecah
65	2,41	Padat	<b>0,74</b>	<b>Lebih padat</b>
70	2,39	Padat	0,27	Pecah
BNT 5%	0,23		73	

Pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa penambahan bromelin 3% dipengaruhi oleh perubahan suhu. Semakin tinggi suhu, protein yang terdapat dalam dadih (protein yang terkoagulasi) semakin banyak dan menurun pada suhu 70°C. Berdasarkan analisis data pada perhitungan statistik melalui rancangan acak lengkap dengan taraf nyata 5% diperoleh  $F_{hitung} > F_{tabel} (3,45)$ . Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan variasi suhu berpengaruh nyata terhadap koagulasi susu sapi. Selanjutnya dilakukan uji lanjut BNT dengan taraf 5% diketahui bahwa koagulasi optimum terjadi pada suhu 65°C.

Pada suhu 35°C, 45°C, 55°C 65°C protein yang terdapat dalam dadih (terkoagulasi) semakin besar. Pada suhu 35°C, 45°C dan 55°C bromelin belum bekerja secara maksimal, sehingga protein yang terukur dalam dadih sedikit. Koagulasi optimum terjadi pada suhu 65°C. Hal ini disebabkan oleh aktivitas proteolitik bromelin meningkat dan mampu mengkoagulasi protein susu sehingga protein

yang terukur dalam dadih besar. Pada suhu 70°C jumlah protein dalam dadih menurun, hal ini dikarenakan bromelin telah rusak akibat dari suhu yang terlalu tinggi sehingga bromelin tidak dapat bekerja.

Menurut Cristara (2003) karakter bromelin semakin tinggi suhunya aktivitas enzim semakin naik dan menunjukkan aktivitas tertinggi pada suhu 55°C dalam proses pengempukan daging. Sedangkan menurut Suprayitno (2001) ekstraksi optimum minyak hati ikan cucut menggunakan enzim bromelin kasar diperoleh dengan perlakuan garam 30 %, pH 6, suhu 55°C. Menurut Rasyid (2006) dalam pembuatan kecap asin dari limbah kepala udang windu memberikan hasil optimum dengan penambahan enzim bromelin dari kulit nanas pada suhu inkubasi 35°C. Sehingga dapat diketahui bahwa pada substrat yang berbeda kerja optimum enzim bromelin terjadi pada suhu yang berbeda. Pada suhu 65°C, jumlah protein terkoagulasi paling besar dan bentuk dadih yang diperoleh paling padat maka dapat diketahui bahwa koagulasi optimum susu terjadi pada suhu 65°C.

#### 4.3 Penentuan Konsentrasi Optimum Koagulasi Susu oleh Asam Asetat dan Bromelin pada Suhu 65°C

Penentuan konsentrasi optimum pada koagulasi susu oleh asam asetat dilakukan dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% pada suhu 65°C begitu juga dengan koagulasi susu oleh bromelin dilakukan dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% pada suhu optimum yaitu 65°C. Data dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Data kadar protein dalam dadih dan pH hasil koagulasi susu pada variasi konsentrasi asam asetat pada suhu 65°C

Konsentrasi (%)	Protein dalam dadih (%)	pH	Bentuk dadih
1	2,41	4,93	Kurang padat
<b>3</b>	<b>2,52</b>	<b>4,56</b>	<b>Padat dan kompak</b>
5	2,49	4,36	Padat
7	2,39	3,87	Pecah
9	1,43	3,70	Pecah
BNT 5%	3.165		

Pada Tabel 4.2 diketahui bahwa konsentrasi asam asetat berpengaruh terhadap koagulasi susu. Hal ini ditunjukkan adanya kenaikan jumlah protein terkoagulasi pada penambahan asam asetat 3%, sedangkan pada penambahan asam asetat 5% sampai 9% mengalami penurunan jumlah protein terkoagulasi. Berdasarkan perhitungan statistik melalui rancangan acak lengkap dengan taraf nyata 5% pada lampiran 9 diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  (3,45). Hal ini menunjukkan konsentrasi asam asetat memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah protein yang terkoagulasi. Berdasarkan uji lanjut BNT pada taraf 5% dapat diketahui bahwa perlakuan dengan konsentrasi 3% dan 5% memberikan pengaruh yang sama. Koagulasi optimum terjadi pada penambahan asam asetat 3% dengan jumlah protein yang terkoagulasi adalah 2,52%.

Daulay (1991) menyatakan bahwa dalam kimia koloid penggumpalan susu terjadi pada titik isoelektrik yaitu suatu kondisi dimana muatan listrik pada permukaan protein adalah nol. Koagulasi kasein oleh asam mulai terjadi pada pH 5,3 dan penggumpalan berlangsung sempurna pada titik isoelektriknya yaitu 4,6. Semakin besar konsentrasi asam asetat pada koagulasi susu, pH semakin jauh dari titik isoelektrik.

Pada penambahan asam asetat semakin tinggi konsentrasi, pH campuran semakin rendah. Ketika terlalu banyak asam yang ditambahkan akan terjadi penetralan muatan (pada pH isoelektrik 4,60), sehingga terbentuk gumpalan (Joshi, 2004).

Muatan protein (kasein) bergantung pada pH lingkungannya. Jika pH lingkungan di atas titik isoelektrik muatan kasein adalah negatif, sedangkan jika pH lingkungan di bawah titik isoelektrik maka muatan kasein adalah positif. Susu murni (tanpa penambahan) yang mempunyai pH 7 membutuhkan asam untuk mencapai titik isoelektrik (pH 4,6) agar kasein dapat menggumpal.

Pada Tabel 4.2 dapat dilihat, dengan penambahan asam asetat 1% menunjukkan jumlah protein yang terukur dalam dadih sedikit dan mengalami kenaikan jumlah protein terkoagulasi pada penambahan asam asetat 3% dengan pH campuran 4,56. Pada penambahan asam asetat 1% jumlah  $H^+$  dari asam asetat tidak cukup untuk menetralkan muatan negatif dari kasein susu. Maka kasein masih bermuatan negatif sehingga protein yang terkoagulasi sedikit. Pada penambahan asam asetat 5%, 7% serta 9%, jumlah protein semakin kecil. Hal ini menunjukkan kasein bermuatan positif

sehingga banyak protein yang larut dalam *whey* (cairan). Jika penambahan asam berlebih, kasein akan kelebihan muatan H<sup>+</sup> yang menyebabkan pH lingkungan rendah (di bawah titik isoelektrik). Koagulasi merupakan proses penggumpalan atau pengendapan partikel-partikel koloid yang bersifat netral. Ketika kasein bermuatan, kelarutannya dalam air meningkat. Hal ini juga dapat dilihat dari bentuk dadih, pada asam asetat 3% bentuk dadih padat dan kompak karena pH campuran telah mendekati titik isoelektrik kasein. Pada saat pH di atas maupun di bawah titik isoelektrik bentuk dadih pecah, semakin jauh selisih pH dari titik isoelektrik bentuk dadih semakin pecah.

Perubahan muatan menyebabkan menurunnya daya tarik menarik antara molekul protein sehingga molekul lebih mudah terurai. Semakin jauh perbedaannya dari titik isoelektrik maka kelarutan protein semakin meningkat.

Spreer (1998) menyatakan bahwa pada koagulasi susu oleh asam, kompleks kalsium dari protein susu diubah pada titik isoelektrik menjadi kasein terkoagulasi dan ion kalsium terbebaskan. Reaksi ini bersifat reversible dimana pengendapan berjalan dengan sangat lambat pada pH 4,6-4,9.



Pengendapan kasein pada titik isoelektrik dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar. 4.1 Pengendapan kasein pada titik isoelektrik

Penentuan konsentrasi optimum pada koagulasi susu oleh bromelin dilakukan dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% pada suhu optimum yaitu 65°C. Data dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data kadar protein dalam dadih dan pH hasil koagulasi susu pada variasi konsentrasi bromelin pada suhu 65°C

Konsentrasi (%)	Protein dalam dadih (%)	pH	Bentuk dadih
1	0,42	6,06	Pecah dan halus
3	0,56	5,69	Pecah dan halus
5	0,76	5,56	Pecah dan halus
7	1,05	5,45	padat dan halus
<b>9</b>	<b>2,13</b>	<b>5,04</b>	Lebih padat, halus dan elastis
BNT 5%	267,308		

Pada Tabel 4.3 menunjukkan konsentrasi bromelin sangat berpengaruh terhadap koagulasi susu. Hal ini dapat dilihat dari perhitungan statistik melalui rancangan acak lengkap dengan taraf nyata 5% bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  (3,45), yang menunjukkan perlakuan konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah protein yang terkoagulasi. Berdasarkan uji lanjut BNT dengan taraf 5% menunjukkan koagulasi optimum terjadi pada penambahan bromelin 9% dengan jumlah protein yang mengalami koagulasi sebesar 2,13%.

Semakin besar konsentrasi penambahan bromelin, jumlah protein terkoagulasi semakin tinggi diikuti dengan menurunnya pH. Sama halnya seperti koagulasi oleh asam asetat, dilihat dari bentuk dadih semakin mendekati titik isoelektrik kasein (4,6) bentuknya semakin padat dan jumlah protein yang terkoagulasi semakin besar. Namun, jumlah protein terkoagulasi pada penambahan bromelin berbeda dengan jumlah jumlah protein terkoagulasi pada penambahan asam asetat.

Pada konsentrasi 1% jumlah protein dalam dadih hasil koagulasi oleh asam asetat (2,41%) jauh berbeda dengan penambahan bromelin (0,42%). Hal ini dipengaruhi oleh pH. Pada bromelin 1% pH jauh lebih besar dari penambahan asam asetat 1%. Koagulasi protein terjadi pada titik isoelektrik. Semakin jauh perbedaannya dari titik isoelektrik maka kelarutan protein semakin meningkat. Pada penambahan asam asetat 1%, pH mendekati titik isoelektrik. Sedangkan penambahan bromelin 1%, pH campuran lebih besar dari titik isoelektrik, pH semakin turun dan mendekati titik isoelektrik pada penambahan bromelin 9% (koagulasi optimum).

Menurut Spreer (1998), susunan komponen protein susu tidak seragam, tetapi terdiri dari 2 fraksi yaitu kasein dan protein *whey* (protein yang larut dalam air). Kasein berperan penting dalam koagulasi susu. Ketika struktur kasein rusak, maka akan terjadi koagulasi. Bromelin merupakan enzim yang mempunyai kemampuan untuk memecah protein (kasein) menjadi peptida-peptidanya dengan kata lain bromelin dapat merusak struktur kasein yang dapat menyebabkan terjadinya koagulasi.

Pada penambahan bromelin 1%, jumlah bromelin dan kasein tidak seimbang (bromelin < kasein) sehingga kemampuan bromelin memecah kasein tidak maksimal, hal ini menyebabkan protein yang mengalami koagulasi sedikit. Semakin besar penambahan bromelin, jumlah protein terkoagulasi juga semakin besar karena telah terjadi keseimbangan antara jumlah enzim dan substrat (kasein) sehingga kemampuan untuk memecah ikatan kasein semakin meningkat.



## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Koagulasi susu sapi oleh penambahan asam asetat tidak dipengaruhi oleh suhu. Koagulasi optimum terjadi pada konsentrasi 3%. Dadih yang terkoagulasi sebesar 2,52%.
2. Koagulasi optimum susu sapi oleh penambahan bromelin diperoleh pada suhu penambahan 65°C dengan konsentrasi 9%. Dadih yang terkoagulasi adalah 2,13%.

### 5.2 Saran

Dadiah hasil koagulasi susu pada penggumpalan optimum oleh asam asetat 3% dan bromelin 9% pada suhu 65 °C menghasilkan *whey* yang masih mengandung karbon (C) dan nitrogen (N), sehingga perlu dilakukan penelitian pada *whey* sebagai media fermentasi.



- Hadiwiyoto, S.. 1989. Biokimia dan Nilai Gizi Bahan Makanan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta
- Hartadi, H. 1980. Komposisi Bahan Makanan Indonesia, Data Ilmu Makanan untuk Indonesia. UGM. Yogyakarta.
- Indra, Eigmon. 2008. Aktivitas Enzim Mikroorganisme. [lh6.ggpht.com/.../MQAOIINCbmiE/clip\\_image0144.jpg](http://lh6.ggpht.com/.../MQAOIINCbmiE/clip_image0144.jpg). Diakses tanggal 29 Desember 2008
- Irfani, Achmad dan Luli Setiyawan. 2008. Pembuatan Asam Asetat (CH<sub>3</sub>COOH) Dengan Cara Fermentasi, <http://72.14.235.132/search?q=cache:XiANtcXRaWkJ:ac hmadirfani.files.wordpress.com/2007/12/t-bioproses-pembuatan-cuka-luli.ppt+asam+asetat&hl=id&ct=clnk&cd=4&gl=id>. Diakses pada tanggal 29 Desember 2008
- Joshi, N. S.. 2004. Small-Dairy Farming Manual. <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAP/Dairyman/Dairy/VIU ID 3 htm>. Diakses pada tanggal 4 Februari 2009
- Khopkar. 2002. Konsep Dasar Kimia Analitik. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Rahman dkk. 1992. Teknologi Fermentasi Susu. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor
- Rasyid, M. Jamil. 2006. Optimalisasi Fermanteasi dengan Pemanfaatan Enzim Kulit Nanas dan Papaya dada Pembuatan Kecap Asin Limbah Kepala Udang Windu (*Panaeous monodon fabrious*). <http://www.google.co.id/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=27&url=http%3A%2F%2Fcourse.usu.ac.id%2Fcontent%2Fteknik0%2Fteknologi0%2Ftextbook.pdf&ei=dKefSsuJKZr46wPy1r3IBg&rct=j&q=suhu+optimum+kerja+bromelin&usg=AF QjCNF4Hs2BfuRz3H8p-xYdRXqIU36CKA>. Diakses tanggal 3 September 2009
- Riwan. 2008. Protein . <http://tekhnologi-hasil-pertanian.blogspot.com/2008/08/protein.html>. Diakses

pada tanggal 2 Januari 2008

- Rosyidah, Etika. 2003. Pengaruh Penambahan Ekstrak Nenas (*Ananas comosus*) dan Kalsium Klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) Terhadap Kualitas Keju  
<http://digilib.gunadarma.ac.id/go.php?id=jiptumm-gdl-s1-2003-etikarosyi-910&node=2315&start=1>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2008
- Sastrohamidjojo. 2001. Spektroskopi. Liberty. Yogyakarta
- Scott, R.. 1986. Cheese Making Practice, 2<sup>nd</sup> edition. Elsevier Applied Science Publisher. New York
- Shiddieqy, M. Ikhsan. 2007. Memetik Manfaat Susu Sapi.  
<http://1ggplus.wordpress.com/2007/11/05/memetik-manfaat-susu-sapi/>. Diakses pada tanggal 29 Desember 2008
- Speer, E. 1998. Milk and Dairy Product Technology. Marcel Dekker, Inc. New York
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1985. Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Suhartono, M. T.. 1992. Protease. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Suprayitno, Eddy. 2001. Peningkatan Rendemen dan Kualitas Minyak Hati Ikan Cucut.  
<http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=jiptunair-gdl-s3-1995-suprayitno2c-497-fish>. Diakses tanggal 3 September 2009
- Susilorini, T.E., Eirry Sawatri, M.. 2006. Produk Olahan Susu. Jakarta. Penerbit Penebar Swadaya
- Syamsir, Elvira. 2008. Ilmu Pangan,  
<http://ilmupangan.blogspot.com/>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2008
- Winarno, F. G.. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Wiseman, Alan. 1986. Handbook of Enzyme Biotechnology, 2<sup>nd</sup>. John Wiley and Son. New York

Zakiah.

2008.

Keju

Tua.

[http://fathinajwa.multiply.com/journal/item/2/keju\\_tua](http://fathinajwa.multiply.com/journal/item/2/keju_tua).  
diakses pada tanggal 2 Januari 2008

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## LAMPIRAN

### Lampiran 1: Pembuatan Pereaksi

#### L.1.1 Pembuatan reagen Nessler

Dilarutkan 5 g kalium iodida (KI) dalam air dan ditambahkan larutan merkuri(II) klorida (HgCl<sub>2</sub>) (1:20) sampai terjadi endapan merah yang tidak hilang dan disaring. Kemudian ditambah 15 g natrium hidroksida (NaOH) 30 mL air lalu ditambahkan air sampai 100 mL. Campuran didiamkan sampai mengendap dan dipisahkan secara dekantasi. Larutan jernih yang dipakai.

#### L.1.2 Pembuatan reagen Kalium Natrium Tartrat

Dilarutkan 500 g kalium natrium tartrat dalam 1 L akuades yang dipanaskan, dibiarkan sampai dingin. Selanjutnya ditambah pereaksi nessler 50 mL dan dibiarkan selama 2 hari kemudian disaring.

#### L.1.3 Pembuatan asam asetat 25%

Asam asetat glasial diambil 25 mL dan dimasukkan pada labu ukur 100 mL, kemudian diencerkan sampai tanda batas.

### Lampiran 2: Pembuatan Kurva Baku

#### L.2.1 Menentukan $\lambda_{\max}$ ammonium sulfat

1 ml larutan ammonium sulfat 0,2 mmol/ml ditambah reagen KNa tartrat 0,5 mL dan reagen nessler 0,5 mL, dikocok. Selanjutnya diukur absorbansi pada  $\lambda$  450 – 530 nm.

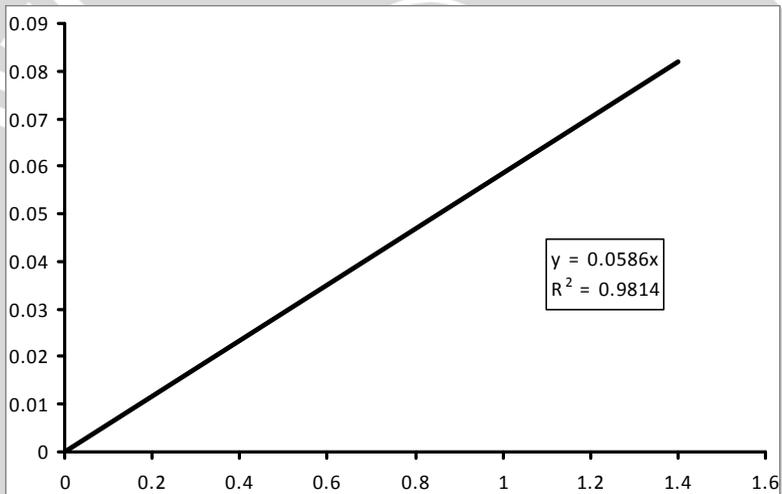
#### L.2.2 Pembuatan kurva baku ammonium sulfat

Ditimbang 14,48 g ammonium sulfat, dilarutkan pada 50 mL akuades dalam beaker glass. Kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL. Sehingga akan diperoleh larutan ammonium sulfat 1,4 mmol/mL. Selanjutnya disiapkan 3 labu ukur 10 mL masing-masing diisi larutan ammonium sulfat 1,4 mmol/mL sebanyak 7,1 mL, 2,9 mL dan 1,4 mL diencerkan sampai tanda batas, dikocok hingga homogen. Masing-masing larutan ditambah reagen KNa tartrat 0,5 mL dan reagen nessler 0,5 mL, dikocok. Selanjutnya diukur

absorbansinya dengan spektrometri pada  $\lambda_{\max} = 490 \text{ nm}$ .

Tabel L.2.1 Data absorbansi kurva baku protein

Konsentrasi amonium sulfat (mmol/mL)	Absorbansi pada $\lambda = 490 \text{ nm}$
0	0
0,2	0,02
0,6	0,035
1,0	0,06
1,4	0,08



Gambar L.2.1 Kurva baku protein

### Lampiran 3: Hasil Absorbansi Protein dalam Whey

Tabel L.3.1 Data absorbansi analisa protein pada susu

Protein	Absorbansi Pada $\lambda = 490 \text{ nm}$
Susu segar	0,20
Susu pasteurisasi	0,19

Tabel L.3.2 Data absorbansi protein pada whey hasil koagulasi susu oleh variasi suhu penambahan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  3%

Suhu (°C)	Absorbansi pada whey ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ )		
	I	II	III
35	0,08	0,07	0,08
45	0,07	0,09	0,08
55	0,09	0,09	0,08
65	0,10	0,09	0,09
70	0,10	0,09	0,10

Tabel L.3.3 Data absorbansi protein pada whey hasil koagulasi susu oleh variasi suhu penambahan bromelin 3%

Suhu (°C)	Absorbansi pada whey ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ )		
	I	II	III
35	0,30	0,029	0,31
45	0,27	0,26	0,26
55	0,25	0,24	0,26
65	0,23	0,22	0,23
70	0,29	0,28	0,28

Tabel L.3.4 Data absorbansi protein pada whey hasil koagulasi susu pada dengan variasi konsentrasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$

Suhu (%)	Absorbansi pada whey ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ )		
	I	II	III
1	0,10	0,09	0,10
3	0,08	0,09	0,09
5	0,09	0,08	0,09
7	0,10	0,10	0,11
9	0,18	0,17	0,18

Tabel L.3.5 Data absorbansi protein pada whey hasil koagulasi susu pada suhu penambahan 65°C dengan variasi konsentrasi bromelin

Suhu (%)	Absorbansi pada whey ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ )		
	I	II	III
1	0,31	0,32	0,30
3	0,30	0,29	0,31
5	0,27	0,28	0,27
7	0,24	0,23	0,25
9	0,15	0,13	0,14

#### Lampiran 4: Contoh Perhitungan Data

##### L.4.1 Contoh perhitungan kadar protein kasar

Kadar protein dalam whey hasil samping koagulasi ditentukan berdasarkan persamaan:

$$\text{Kadar N\%} = \frac{\text{Asampel} / \text{slope} \times \text{fp}}{\text{beratsampe} / l \times 10^6} \times 100 \%$$

Kadar protein = N% x fk, dimana:

$$\begin{aligned} \text{Absorbansi} &= 0,20 & \text{berat sampel} &= 3,2129 \text{ g} \\ \text{Faktor pengenceran} &= 5000x & \text{slope} &= 0,0583 \end{aligned}$$

Sehingga:

$$\text{Kadar N\%} = \frac{0,20 / 0,0583 \times 5000}{3,2129 \times 10^6} \times 100 \% = 0,527\%$$

$$\text{Kadar protein} = 0,527\% \times 6,38 = 3,36\%$$

## Lampiran 5: Uji Statistik Jumlah Protein Hasil Koagulasi

### L.5.1 Uji statistik jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat 3% dengan variasi suhu

Tabel L.5.1 Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat 3% dengan variasi suhu

Suhu (°C)	I	II	III	total	Rerata % protein terkoagulasi
35	2,507	2,529	2,495	7,531	2,510
45	2,612	2,459	2,473	7,544	2,515
55	2,398	2,390	2,409	7,197	2,399
65	2,286	2,466	2,485	7,237	2,412
70	2,320	2,461	2,391	7,172	2,391
Jumlah				36,681	12,227

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{(\text{total ulangan})^2}{\sum \text{seluruh observasi}} \\
 &= \frac{(36,681)^2}{5 \times 3} \\
 &= 89,699
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat total (JKT)} &= (2,507^2 + 2,612^2 + \dots + 2,391^2) - \text{FK} \\
 &= 89,795 - 89,699 \\
 &= 0,096
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jml Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(\sum \text{total kuadrat})^2}{n} - \text{FK} \\
 &= \frac{7,531^2 + 7,544^2 + \dots + 7,172^2}{3} - \text{FK} \\
 &= 89,745 - 89,699 \\
 &= 0,046
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 0,096 - 0,046 \\
 &= 0,050
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat total perlakuan (KTP)} &= \text{JKP} / \text{dBP} \\
 &= 0,046 / 5 - 1
 \end{aligned}$$

$$= 0,0115$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat total galat} &= \text{JKG/ dB} \\ (\text{KTG}) &= 0,050/ 5(3-1) \\ &= 0,005 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} F_{\text{hitung}} &= \text{KTP/ KTG} \\ &= 0,0115/ 0,005 \\ &= 2,3 \end{aligned}$$

F tabel ( $f_1, f_2$ ) = (4, 10) pada taraf nyata 5% = 3,45

Tabel L.5.2 Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F	
				hitung	tabel
Perlakuan	4	0,046	0,0115	2,3	3,45
Galat	10	0,050	0,005		
Total	14	0,096	0,0165		

$F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}}$ , maka tidak ada perbedaan nyata dalam perlakuan suhu pada koagulasi susu oleh asam asetat sehingga tidak perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

### L.5.2 Uji statistik jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu

Tabel L.5.3 Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu

Suhu (°C)	I	II	III	total	Rerata % protein terkoagulasi
35	0,251	0,222	0,150	0,623	0,208
45	0,513	0,463	0,476	1,452	0,484
55	0,649	0,574	0,541	1,764	0,588
65	0,769	0,714	0,728	2,211	0,737
70	0,322	0,228	0,252	0,802	0,267
Jumlah				6,852	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{(\text{total ulangan})^2}{\sum \text{seluruh observasi}} \\
 &= \frac{(6,852)^2}{5 \times 3} \\
 &= 3,13
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat total (JKT)} &= (0,251^2 + 0,513^2 + \dots + 0,252^2) - \text{FK} \\
 &= 3,733 - 3,13 \\
 &= 0,603
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jml Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(\sum \text{total kuadrat})^2}{n} - \text{FK} \\
 &= \frac{0,623^2 + 1,452^2 + \dots + 0,802^2}{3} - \text{FK} \\
 &= 3,713 - 3,13 \\
 &= 0,583
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 0,603 - 0,583 \\
 &= 0,020
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat total perlakuan (KTP)} &= \text{JKP} / \text{dBP} \\
 &= 0,583 / 5 - 1 \\
 &= 0,146
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat total galat (KTG)} &= \text{JKG} / \text{dBG} \\
 &= 0,020 / 5(3-1) \\
 &= 0,002
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{\text{hitung}} &= \text{KTP} / \text{KTG} \\
 &= 0,146 / 0,005 \\
 &= 73
 \end{aligned}$$

F tabel ( $f_1, f_2$ ) = (4,10) pada taraf nyata 5% = 3,45

Tabel L.5.4 Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F	
				hitung	tabel
Perlakuan	4	0,583	0,146	73	3,45
Galat	10	0,020	0,002		
Total	14	0,603	0,148		

$$H_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4 = P_5$$

$$H_1 = P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4 \neq P_5$$

$F_{hitung} < F_{tabel}$  pada taraf nyata 5%, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Berarti ada perbedaan yang sangat nyata dalam perlakuan suhu pada koagulasi susu oleh bromelin sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan yang berbeda.

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{(0,05)} &= t_{\text{dbg}}^{a/2} \sqrt{2 \times \text{KTG} \div n} \\ &= 2,228 \sqrt{2 \times 0,02 \div 3} \\ &= 0,0814 \end{aligned}$$

Tabel L.5.5 Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu

T (°C)	Rerata (%)	35	70	45	55	65	notasi
		0,208	0,267	0,484	0,588	0,737	
35	0,208	0	-	-	-	-	a
70	0,267	0,059	0	-	-	-	a
45	0,484	0,276*	0,217*	0	-	-	b
55	0,588	0,380*	0,321*	0,104*	0	-	c
65	0,737	0,529*	0,470*	0,253*	0,149*	0	d

(\*) = berbeda nyata pada taraf 5%

### L.5.3 Uji statistik jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat dengan variasi konsentrasi

Tabel L.5.6 Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh asam asetat dengan variasi konsentrasi

Konsentrasi (%)	I	II	III	total	Rerata % protein terkoagulasi
1	2,401	2,415	2,400	7,216	2,405
3	2,518	2,520	2,521	7,559	2,520
5	2,500	2,499	2,497	7,496	2,499
7	2,391	2,394	2,390	7,175	2,392
9	1,418	1,463	1,422	4,303	1,434
Jumlah				33,749	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{(\text{total ulangan})^2}{\sum \text{seluruh observasi}} \\
 &= \frac{(33,749)^2}{5 \times 3} \\
 &= 75,933
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat total (JKT)} &= (2,401^2 + 2,518^2 + \dots + 1,422^2) - \text{FK} \\
 &= 78,467 - 75,933 \\
 &= 2,534
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jml Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(\sum \text{total kuadrat})^2}{n} - \text{FK} \\
 &= \frac{7,216^2 + 7,559^2 + \dots + 4,303^2}{3} - \text{FK} \\
 &= 78,465 - 75,933 \\
 &= 2,532
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 2,534 - 2,532 \\
 &= 0,002
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat total perlakuan (KTP)} &= \text{JKP} / \text{dBP} \\
 &= 2,532 / 5 - 1 \\
 &= 0,633
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat total galat} &= \text{JKG} / \text{dB} \\ (\text{KTG}) &= 0,002 / 5(3-1) \\ &= 0,0002 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} F_{\text{hitung}} &= \text{KTP} / \text{KTG} \\ &= 0,633 / 0,0002 \\ &= 3.165 \end{aligned}$$

F tabel ( $f_1, f_2$ ) = (4,10) pada taraf nyata 5% = 3,45

Tabel L.5.7 Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F	
				hitung	tabel
Perlakuan	4	2,532	0,633	3.165	3,45
Galat	10	0,002	0,0002		
Total	14	2,534	0,6332		

$$\begin{aligned} H_0 &= P_1 = P_2 = P_3 = P_4 = P_5 \\ H_1 &= P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4 \neq P_5 \end{aligned}$$

$F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}}$  pada taraf nyata 5%, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Berarti ada perbedaan yang sangat nyata dalam perlakuan suhu pada koagulasi susu oleh bromelin sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan yang berbeda.

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{(0,05)} &= t_{\text{dbg}}^{a/2} \sqrt{2 \times \text{KTG} \div n} \\ &= 2,228 \sqrt{2 \times 0,0002 \div 3} \\ &= 0,0257 \end{aligned}$$

Tabel L.5.8 Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin pada suhu 65°C dengan variasi konsentrasi

Kons. (%)	Rerata (%)	9	7	1	5	3	notasi
		1,434	2,392	2,405	2,499	2,520	
9	1,434	0	-	-	-	-	a
7	2,392	0,958*	0	-	-	-	b
1	2,405	0,971*	0,013	0	-	-	b
5	2,499	1,065*	0,107*	0,094*	0	-	c
3	2,520	1,086*	0,128*	0,115*	0,021	0	c

(\*) = berbeda nyata pada taraf 5%

#### L.5.4 Uji statistik jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin pada suhu 65°C dengan variasi konsentrasi

Tabel L.5.9 Data jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin pada suhu 65°C dengan variasi konsentrasi

Kons. (%)	I	II	III	Total	Rerata % protein terkoagulasi
1	0,500	0,449	0,317	1,266	0,422
3	0,546	0,564	0,584	1,694	0,565
5	0,746	0,760	0,774	2,280	0,760
7	1,034	1,057	1,061	3,152	1,051
9	2,084	2,142	2,163	6,382	2,129
jumlah				14,774	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{(\text{total ulangan})^2}{\sum \text{seluruh observasi}} \\
 &= \frac{(14,774)^2}{5 \times 3} \\
 &= 14,551
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah kuadrat total (JKT)} &= (0,500^2 + 0,546^2 + \dots + 2,163^2) - \text{FK} \\
 &= 20,164 - 14,551 \\
 &= 5,613
 \end{aligned}$$

$$\text{Jml Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{(\sum \text{total kuadrat})^2}{n} - \text{FK}$$

$$= \frac{1,266^2 + 1,694^2 + \dots + 6,382^2}{3} - FK$$

$$= 20,112 - 14,551$$

$$= 5,561$$

Jumlah kuadrat galat (JKG) = JKT – JKP

$$= 5,613 - 5,561$$

$$= 0,052$$

Kuadrat total perlakuan (KTP) = JKP/ dBP

$$= 5,561/ 5 - 1$$

$$= 1,39$$

Kuadrat total galat (KTG) = JKG/ dBG

$$= 0,052/ 5(3-1)$$

$$= 0,0052$$

F<sub>hitung</sub> = KTP/ KTG

$$= 1,39/ 0,0052$$

$$= 267,308$$

F tabel (f<sub>1</sub>, f<sub>2</sub>) = (4, 10) pada taraf nyata 5% = 3,45

Tabel L.5.10 Analisa sidik ragam satu arah penentuan protein terkoagulasi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F	
				hitung	tabel
Perlakuan	4	5,561	1,39	267,308	3,45
Galat	10	0,052	0,0052		
Total	14	5,613	1,3952		

$$H_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4 = P_5$$

$$H_1 = P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4 \neq P_5$$

F<sub>hitung</sub> < F<sub>tabel</sub> pada taraf nyata 5%, maka H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima. Berarti ada perbedaan yang sangat nyata dalam perlakuan suhu pada koagulasi susu oleh bromelin sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan yang berbeda.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{(0,05)} &= t_{\text{dbg}}^{\omega^2} \sqrt{2 \times KTG \div n} \\
 &= 2,228 \sqrt{2 \times 0,0052 \div 3} \\
 &= 0,131
 \end{aligned}$$

Tabel L.5.11 Uji BNT jumlah protein pada dadih hasil koagulasi oleh bromelin 3% dengan variasi suhu

Kons. (%)	Rerata (%)	1	3	5	7	9	notasi
		0,422	0,565	0,760	1,051	2,129	
1	0,422	0	-	-	-	-	a
3	0,565	0,143*	0	-	-	-	b
5	0,760	0,338*	0,195*	0	-	-	c
7	1,051	0,629*	0,486*	0,291*	0	-	d
9	2,129	1,707*	1,564*	1,369*	1,078*	0	e

(\*) = berbeda nyata pada taraf 5%

### Lampiran 6: Perhitungan Volume yang Ditambahkan pada Variasi Konsentrasi

L.6.1 Volume asam asetat yang ditambahkan pada variasi konsentrasi

volume total (susu+ CH<sub>3</sub>COOH)= 200 ml  
[CH<sub>3</sub>COOH] = 25%

$$\text{Volume CH}_3\text{COOH } 1\% = \frac{1\%}{25\%} \times 200\text{ml} = 8 \text{ ml}$$

$$\text{Volume CH}_3\text{COOH } 3\% = \frac{3\%}{25\%} \times 200\text{ml} = 24 \text{ ml}$$

$$\text{Volume CH}_3\text{COOH } 5\% = \frac{5\%}{25\%} \times 200\text{ml} = 40 \text{ ml}$$

$$\text{Volume CH}_3\text{COOH } 7\% = \frac{7\%}{25\%} \times 200\text{ml} = 56 \text{ ml}$$

$$\text{Volume CH}_3\text{COOH } 9\% = \frac{9\%}{25\%} \times 200\text{ml} = 72 \text{ ml}$$

## L.6.2 Volume bromelin yang ditambahkan pada variasi konsentrasi

volume total (susu+  $\text{CH}_3\text{COOH}$ )= 200 ml

Volume bromelin 1% = 1%  $\times$  200 ml = 2 ml

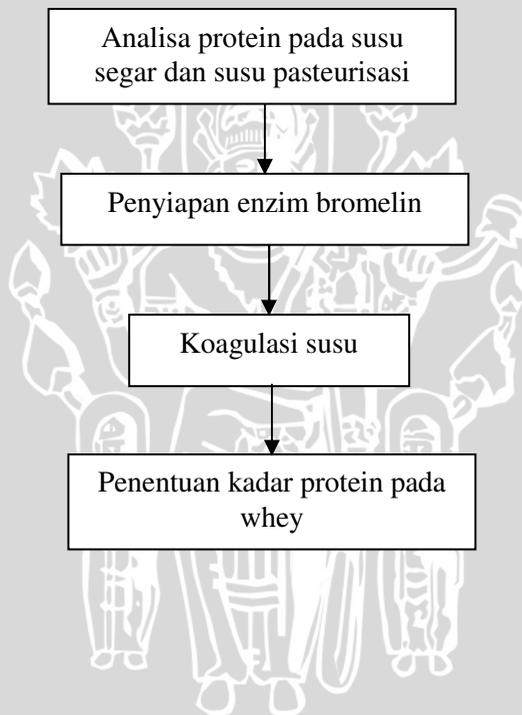
Volume bromelin 3% = 3%  $\times$  200 ml = 6 ml

Volume bromelin 5% = 5%  $\times$  200 ml = 10 ml

Volume bromelin 7% = 7%  $\times$  200 ml = 14 ml

Volume bromelin 9% = 9%  $\times$  200 ml = 18 ml

### Lampiran 8: Diagram Alir Tahap Penelitian

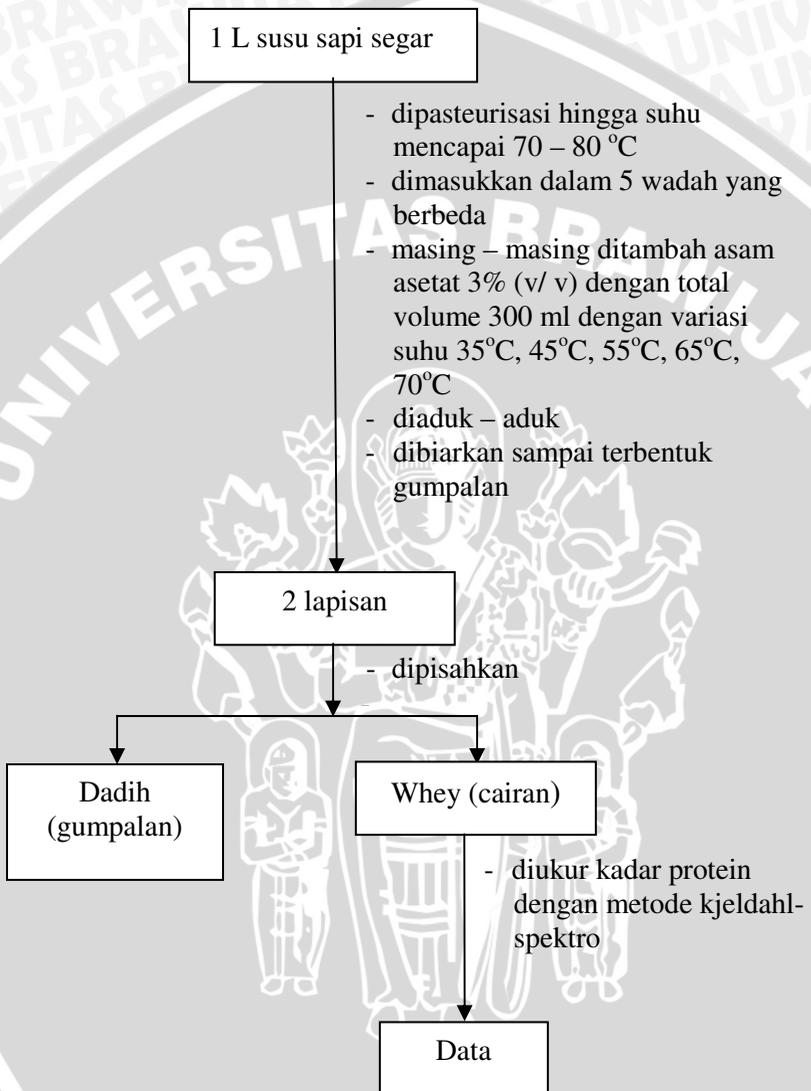


## Lampiran 9: Diagram Kerja Penelitian

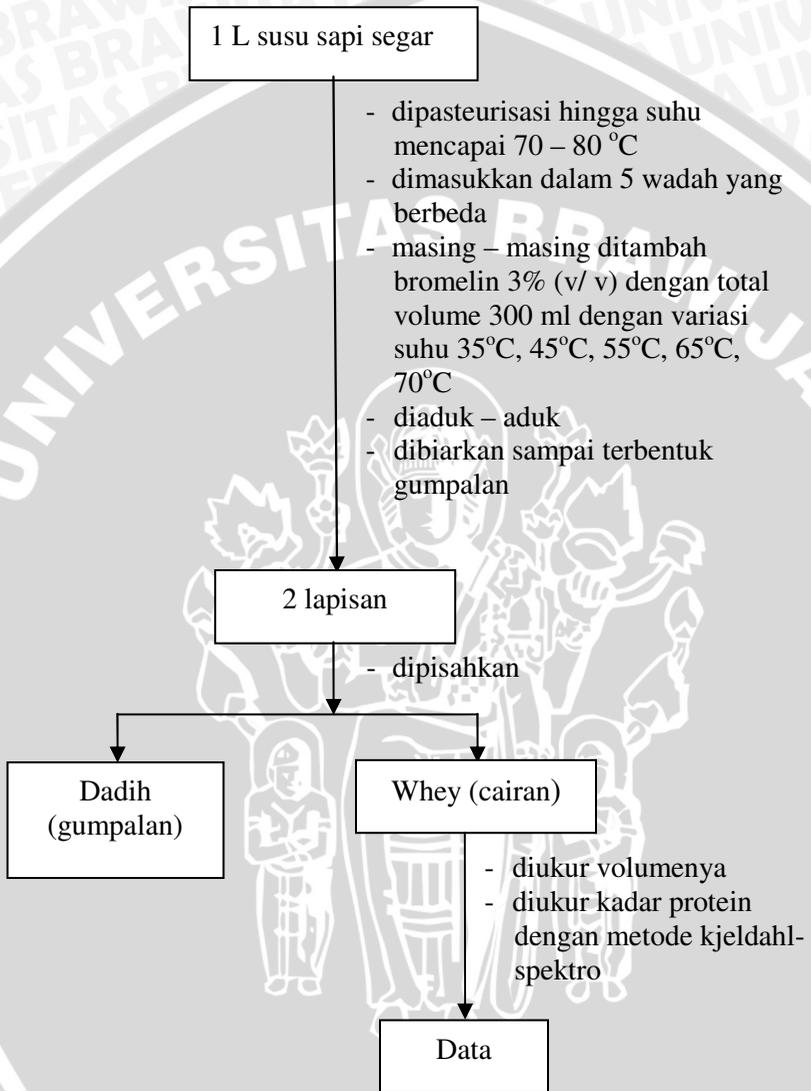
### L.9.1 Penyiapan enzim bromelin



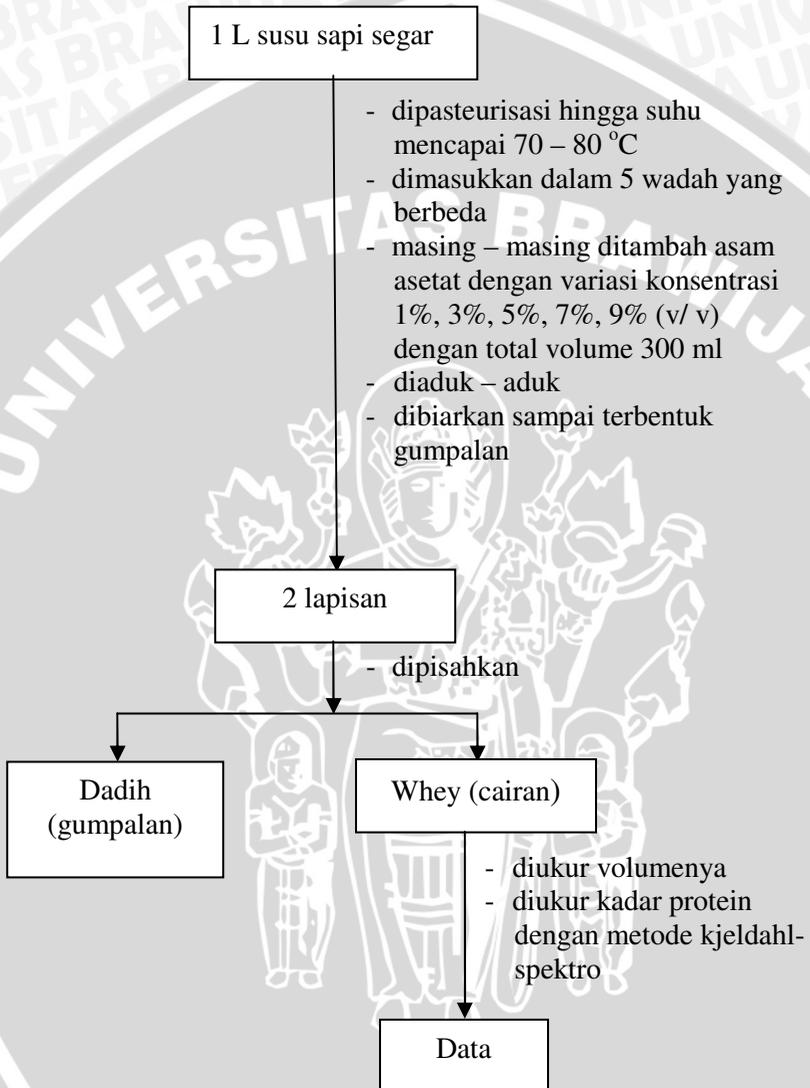
### L.9.2 Variasi suhu penambahan asam asetat 3%



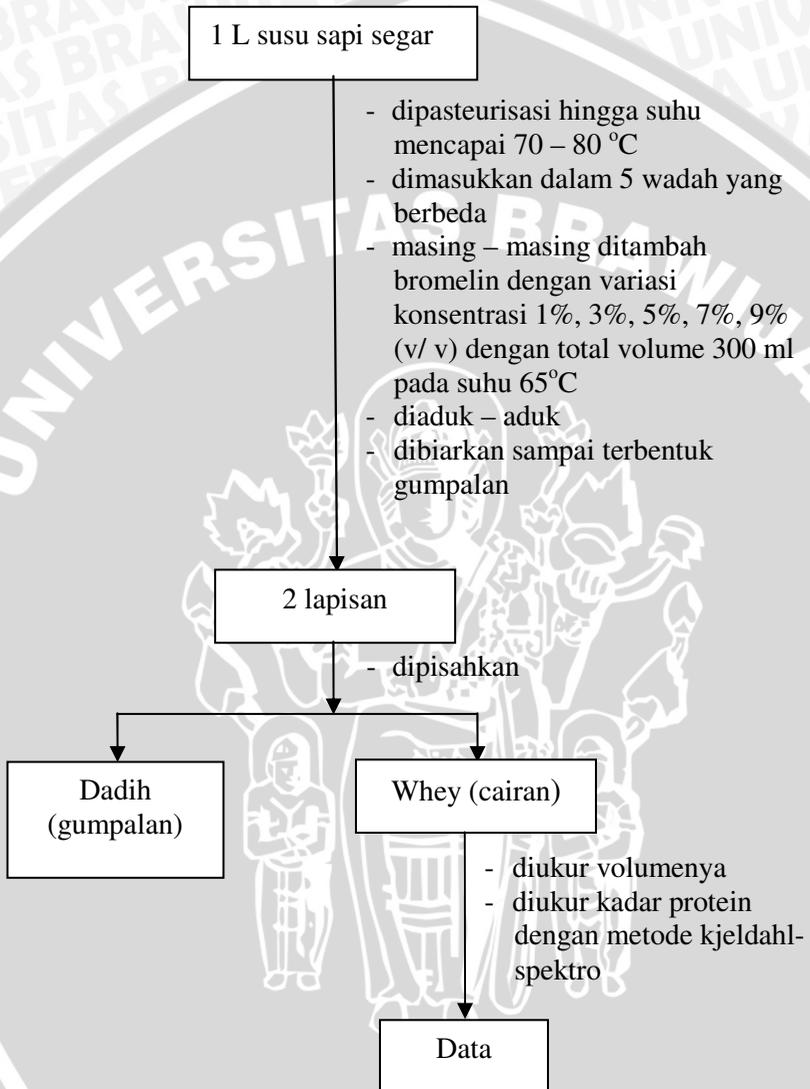
### L.9.3 Variasi suhu penambahan bromelin 3%



### L.9.4 Variasi konsentrasi asam asetat pada suhu 65°C



### L.9.5 Variasi konsentrasi bromelin pada suhu 65°C



## L.9.6 Analisa protein

5 g sampel

- ditambah 15mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 1-2 g tablet Kjeldahl
- dididihkan sampai berhenti berasap dan jernih dalam perangkap dekstruksi 1,5-2jam dalam ruangan asam
- didinginkan
- dinetralkan dengan NaOH

Larutan campuran

- diencerkan sampai 25 ml

Larutan encer

- diambil 5 ml
- ditambah KNa tartrat 0,5 ml
- ditambah reagen Nessler 0,5 ml
- dibaca absorbansi pada  $\lambda = 490 \text{ nm}$

Hasil