

**PENGARUH KONSENTRASI PEPTON TERHADAP AKTIVITAS
RENNET *Mucor miehei* PADA PEMBUATAN KEJU**

SKRIPSI

oleh:

**Lulus Suci Nurhani
0510920037-92**



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

**PENGARUH KONSENTRASI PEPTON TERHADAP AKTIVITAS
RENNET *Mucor miehei* PADA PEMBUATAN KEJU**

SKRIPSI

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

oleh:

Lulus Suci Nurhani
0510920037-92



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

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

**PENGARUH KONSENTRASI PEPTON TERHADAP AKTIVITAS
RENNET *Mucor miehei* PADA PEMBUATAN KEJU**

Oleh:
LULUS SUCI NURHANI

0510920037-92

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

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 131 621 793

Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes
NIP.132 300 238

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 131 621 793

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : LULUS SUCI NURHANI

Nim : 0510920037-92

Jurusan : Kimia

Penulis tugas akhir berjudul:

Pengaruh Konsentrasi Pepton Terhadap Aktivitas Rennet *Mucor miehei* Pada Pembuatan Keju

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari tugas akhir 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,
Yang menyatakan,

(Lulus Suci Nurhani)

NIM. 0510920037-92

PENGARUH KONSENTRASI PEPTON TERHADAP AKTIVITAS RENNET *Mucor miehei* PADA PEMBUATAN KEJU

ABSTRAK

Mucor miehei merupakan salah satu mikroba penghasil rennet dan enzim penggumpal pada pembuatan keju. Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan aktivitas rennet yaitu dengan penambahan nutrisi tertentu pada media pertumbuhan mikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*. Pepton ditambahkan dengan variasi konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8% ($\frac{w}{v}$) ke dalam media pertumbuhan potato dekstrosa. Rennet yang diperoleh digunakan untuk pembuatan keju. Pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei* diketahui dari jumlah keju yang dihasilkan. Keju ditentukan kualitasnya dengan cara menentukan kadar asam laktat, kadar air, kadar abu, kadar protein, pH, dan uji organoleptik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pepton 5% memberikan jumlah keju yang paling baik (49,67 gram keju) berupa keju mentah dan keju lunak. Komposisi keju yang dihasilkan yaitu kadar asam laktat 22,2%, kadar air 79%, kadar abu 0,07%, kadar protein 8,8%, dan pH 4,91.

Kata kunci: pepton, rennet, *Mucor miehei*

THE INFLUENCE OF PEPTONE CONCENTRATION TO *Mucor miehei* RENNET ACTIVITY IN THE CHEESE MAKING

ABSTRACT

Mucor miehei is one of many microbial rennet producer and a coagulant agent in the cheese making. One of the methods commonly used to enhance rennet activity is the addition of specific microbial nutrient in the growth media of micro bacteria. The aim of this research is to study the influence of peptone concentration to *Mucor miehei* rennet activity. Peptone in several concentration (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, and 8%) (w/v) were added in Potato dextrose media. Rennet was used as the coagulant agent in the cheese making. The influence of peptone concentration to *Mucor miehei* rennet activity is indicated by the amount the cheese yield. The amount of lactic acid, water, ash, protein, pH, and organoleptic test were used to determine the quality of the cheese. The result showed that peptone concentration of 5% gives the best yield (49.67gram cheese) in the form of raw and soft cheese, with compositions 22.2% lactic acid, 79% water, 0.07% ash, 8.80% protein and pH 4.91.

keyword: peptone, rennet, *Mucor miehei*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul **"Pengaruh Konsentrasi Pepton Terhadap Aktivitas Rennet *Mucor miehei* Pada Pembuatan Keju"**. Penulisan tugas akhir ini merupakan salah satu syarat kelulusan memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan tugas akhir ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS., selaku Ketua Jurusan Kimia dan dosen pembimbing I, atas bimbingan, pengarahan, dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan tugas akhir ini.
2. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes, selaku dosen pembimbing II, atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan.
3. Dr. Soebiantoro, Apt.MSc selaku dosen penasihat akademik yang telah banyak memberikan nasehat dan arahan selama perkuliahan.
4. Bapak / Ibu dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik dalam perbaikan skripsi ini.
5. Segenap staff pengajar dan karyawan Jurusan Kimia yang telah membantu terfasilitasinya tugas akhir.
6. Ayah, Ibu dan seluruh keluarga yang selalu mengiringi penulis dengan do'a, perhatian, kasih sayang, dan nasehat, serta dukungan hingga terselesainya tugas akhir ini.
7. Semua rekan-rekan di Jurusan Kimia, khususnya angkatan 2005 yang telah memberikan semangat dan persahabatan selama ini.

Penulis menyadari tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Dengan kerendahan hati penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan tugas akhir ini. Akhirnya semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH	xii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan masalah	2
1.3 Batasan masalah	2
1.4 Tujuan penelitian	3
1.5 Manfaat penelitian	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Mucor miehei</i>	4
2.2 Media pertumbuhan	4
2.3 Pepton	9
2.4 Rennet	9
2.5 Keju	10
2.6 Starter	12
2.7 Uji kualitas keju	12
2.7.1 Penentuan asam laktat	12
2.7.2 Penentuan kadar protein	13
2.7.3 Penentuan kadar air	13
2.7.4 Penentuan kadar abu	14
2.7.5 Penentuan pH	14
2.8 Hipotesis	14

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu penelitian.....	15
3.2 Bahan dan alat penelitian.....	15
3.2.1 Bahan penelitian	15
3.2.2 Bahan kimia.....	15
3.2.3 Alat penelitian.....	15
3.3 Tahapan penelitian.....	16
3.4 Cara kerja.....	16
3.4.1 Pembuatan media padat	16
3.4.2 Pembuatan biakan murni	16
3.4.3 Pembuatan media cair.....	17
3.4.4 Isolasi rennet <i>Mucor miehei</i>	17
3.4.5 Penentuan konsentrasi pepton optimum terhadap aktivitas rennet <i>Mucor miehei</i>	17
3.4.6 Penentuan kadar asam laktat.....	17
3.4.7 Penentuan kadar air	18
3.4.8 Penentuan kadar abu.....	18
3.4.9 Penentuan kadar protein	18
3.4.10 Penentuan pH.....	19
3.4.11 Uji organoleptik.....	19
3.5 Analisis data	19

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet <i>Mucor miehei</i>	21
4.2 Karakter keju yang dihasilkan	22
4.2.1 Sifat kimia keju yang dihasilkan	22
4.2.2 Uji organoleptik.....	23

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran	26

DAFTAR PUSTAKA

27

LAMPIRAN

30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 4.1	Pengaruh konsentrasi pepton terhadap jumlah keju .. 21
Gambar 4.3	Uji organoleptik keju.....23
Gambar L.7.1	Keju segar..... 44
Gambar L.7.2	Whey 44



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1	Tabel data penelitian..... 20
Tabel 3.2	Tabel uji ANNOVA..... 20
Tabel 4.1	Data uji kualitas keju 22
Tabel L.4	Kuisisioner uji organoleptik..... 37
Tabel L.5.1	Kurva pengaruh penambahan pepton terhadap aktivitas rennet <i>Mucor miehei</i> yang38
Tabel L.5.2	Analisis ragam pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet <i>Mucor miehei</i>39
Tabel L.5.3	Hasil uji BNT 5% pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet <i>Mucor miehei</i>40
Tabel L.11	Data uji organoletik43



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Pembuatan pereaksi 30
Lampiran 2	Perhitungan preparasi larutan 31
Lampiran 3	Alur penelitian 32
Lampiran 4	Diagram kerja penelitian..... 33
Lampiran 5	Analisis data..... 38
Lampiran 6	Uji kualitas keju 41
Lampiran 7	Gambar hasil penelitian 44



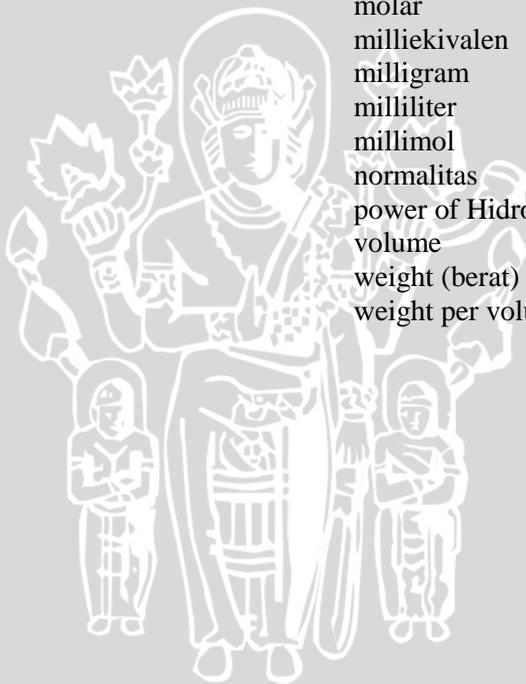
DAFTAR ISTILAH

Simbol/singkatan

α
BM
BNT
C
cc
g
k
L
M
mek
mg
mL
mmol
N
pH
V
W
w/v

Keterangan

alpha
Berat Molekul
Beda Nyata Terkecil
celcius
centimeter cubic
gram
kappa
Liter
molar
milliekivalen
milligram
milliliter
millimol
normalitas
power of Hidrogen
volume
weight (berat)
weight per volume



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keju merupakan suatu produk pangan yang berasal dari hasil koagulasi protein susu. Keju memiliki kandungan kalsium, protein dan fosfor yang besar. Dalam 30 gram keju cheddar mengandung 7 gram protein dan 200 miligram kalsium. Konversi susu menjadi keju memberikan keuntungan karena sebagian besar lemak dan proteinnya telah dicerna enzim dalam proses pembuatan keju sehingga lebih mudah diterima sistem pencernaan manusia (Kosikowski dan Mistry, 1997). Untuk membuat keju diperlukan rennet untuk membantu proses penggumpalan.

Rennet umumnya diekstrak dari *abomasum* pedet yang masih menyusu kepada induknya dan dipasarkan dalam bentuk larutan dengan kekuatan 1:10000 sampai 1:15000, yang berarti bahwa satu bagian rennet bisa mengentalkan 10000–15000 bagian susu dalam 40 menit pada 35 °C. Kombinasi rennet *bovine* (termasuk keluarga sapi) dan babi yang paling umum digunakan yaitu 50:50, 30:70, dan 25:75 (Kosikowski dan Mistry, 1997).

Pengambilan rennet dari pedet sempat mengundang kecaman dari berbagai kalangan antara lain dari para penyayang binatang yang memprotes kegiatan ini dan menganggap sebagai tindakan yang di luar kepatutan. Apalagi hal itu dilakukan terhadap bayi binatang. Eksploitasi pedet yang berlebihan dapat mengancam kelangsungan populasi sapi di beberapa negara Eropa. Sekitar 50 tahun yang lalu, di India dan Israel terjadi penolakan kaum vegetarian untuk menerima keju yang dibuat dengan rennet hewan. Penggunaan rennet babi hukumnya haram dan proses pembuatan rennet dari hewan yang masih menyusu masih dipermasalahkan. Selain itu, meningkatnya permintaan keju (4% per tahun) dalam 20 tahun terakhir, menyebabkan permintaan akan rennet meningkat dan menyebabkan harga rennet sangat mahal (Harii, 2008).

Hal tersebut mendorong para peneliti untuk mencari sumber alternatif untuk memperoleh enzim penggumpal susu. Salah satunya yaitu dari golongan mikroba, antara lain *Endothia parasitica*, *Cryptococcus albidus*, *Bacillus cereus*, *Mucor pusillus* dan *Mucor*

miehei. Pada penelitian ini digunakan *Mucor miehei* karena protease dari *Mucor miehei* memiliki rasio MCA/PA (Milk Clotting Activity/Proteolytic Activity) yang tinggi, hal ini sangat diperlukan untuk menggantikan rennet sapi (Da Silveira *dkk.*, 2005).

Media pertumbuhan kapang membutuhkan nutrisi antara lain karbon, fosfat dan nitrogen. Sumber karbon dapat diperoleh dari fruktosa, glukosa, gliserol, laktosa, maltosa, mannitol dan sukrosa sedangkan sumber nitrogen dapat diperoleh dari ammonium klorida, ammonium nitrat, ammonium sulfat, kalsium nitrat, asam casamino, kasein dan pepton. Berdasarkan penelitian D'souza dan Pereira, (1982), laktosa dan pepton merupakan sumber karbon dan nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan jamur jika digunakan pada konsentrasi yang tepat. Berdasarkan penelitian Sastraatmajda (2003) pemberian pepton 1% dan inkubasi 7 hari memberikan aktifitas rennet *Mucor pusillus* paling baik. Menurut Da Silveira *dkk* (2005), konsentrasi asam amino dan sulfat dapat menekan aktivitas enzim pada *Mucor miehei*.

Pada penelitian ini akan dilihat pengaruh penambahan pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei* yang diketahui dari jumlah keju yang dihasilkan. Semakin optimal aktivitas rennet *Mucor miehei*, semakin banyak protein yang terkoagulasi sehingga jumlah keju yang dihasilkan juga semakin banyak. Sehingga dapat diketahui konsentrasi pepton yang tepat untuk mendapatkan jumlah keju yang maksimal.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penambahan pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei* pada pembuatan keju?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan diatas, maka penelitian ini dibatasi pada penggunaan ekstrak kasar rennet *Mucor miehei*.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei* pada pembuatan keju.

1.5 Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai konsentrasi pepton yang sesuai untuk pembuatan rennet *Mucor miehei* sehingga akan diperoleh keju dengan jumlah rendemen yang maksimal.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mucor miehei*

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi. Ilmu mengenai fungi disebut mikologi. Perbedaan utama antara kapang dan khamir adalah kapang merupakan fungi berfilamen sedangkan khamir merupakan fungi bersel tunggal tanpa filamen (Fardiaz, 1992).

Mucor miehei merupakan fungi yang berfilamen, berwarna abu-abu, tidak memiliki rhizoid, bersifat non patogenik dan non toksik pada manusia dan hewan. *Mucor* banyak ditemukan di tanah dan sisa tanaman lain. *Sporangiospore mucorales* dapat mengandung satu atau lebih nukleus seperti spora dalam media agar yang sesuai akan berkecambah. Umumnya spesies *Mucor* tidak dapat menginfeksi manusia dan hewan endothermik karena *Mucor* tidak dapat tumbuh pada lingkungan di atas 37°C (Charlie and Wilkinson, 1994).

Klasifikasi dari *Mucor miehei* adalah sebagai berikut (De Hoog *dkk*, 2000):

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Zygomycota
Kelas	: Zygomycetes
Ordo	: Mucorales
Famili	: Mucoraceae
Genus	: <i>Mucor</i>
Spesies	: <i>Mucor miehei</i>

Mucor miehei menghasilkan protease yang digunakan sebagai koagulan pada proses pembuatan keju dan menghasilkan lipase yang berperan dalam industri makanan, detergen, industri farmasi, dan agrokimia (Saxena *dkk*, 2005).

2.2 Media Pertumbuhan

Pertumbuhan sel mikroba merupakan penambahan substansi hidup yang tidak reversible, biasanya disertai penambahan ukuran dan pembelahan sel (Schegel, 1994). Mikroba dapat tumbuh pada kondisi fisik, kimia dan kandungan nutrisi yang beraneka ragam.

Sebagian nutrisi untuk menghasilkan energi dan sebagian untuk biosintesis sel dan pembentukan produk. (Schuler, 1994).

Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media. Berikut ini beberapa media yang sering digunakan secara umum dalam mikrobiologi (Stevens, 1981):

1. Water Agar (WA)
Digunakan untuk isolasi jamur dari substrat dengan permukaan steril
2. Antibiotic Agar (AA)
Digunakan untuk isolasi jamur dari substrat dengan permukaan yang tidak steril atau untuk pembersihan jaringan yang terkontaminasi bakteri
3. Acidified Cornmeal Agar (ACMA)
Digunakan untuk isolasi jamur dari substrat yang terkontaminasi bakteri. Caranya tidak dengan penggantian asam amino tetapi menggunakan asam untuk menghambat bakteri. Medium ini dapat digunakan untuk sebagian besar jamur
4. Cornmeal Agar (CMA)
Digunakan untuk pertumbuhan sebagian besar jamur, terutama golongan jamur imperfekti
5. Potato Carrot Agar (PCA)
Digunakan untuk pertumbuhan beberapa jamur imperfekti. Media ini hampir sama dengan CMA
6. Malt Agar (MA)
Media ini tidak menggunakan pepton dan digunakan untuk budidaya Ascomycota dan beberapa spesies yang mampu dihambat oleh pepton
7. Malt Extract Agar (MEA)
Media ini bagus untuk pertumbuhan jamur yang diisolasi dari tanah, kayu misalnya basidiomycetes. Media ini dapat digunakan untuk berbagai tujuan.
8. Potato Dextrose Agar (PDA)
PDA digunakan untuk menumbuhkan atau mengidentifikasi yeast dan kapang, enumerasi yeast dan kapang dalam sampel atau produk makanan. PDA mengandung karbohidrat yang

cukup sehingga baik untuk pertumbuhan kapang tapi tidak baik untuk pertumbuhan bakteri

9. Potato Dextrose-Yeast Extract Agar (PDYA)

Media ini berfungsi untuk isolasi, enumerasi, dan menumbuhkan sel khamir. Media PDYA mengandung dekstrosa dan CaCO_3

Jenis-jenis media antara lain (Lay *dkk*,1992):

1. Media diferensial

Merupakan media yang menunjang kehidupan beberapa bakteri dan juga dapat membedakan berbagai kelompok bakteri. Contoh, agar darah

2. Media selektif

Media ini menghambat pertumbuhan bakteri tertentu dan membolehkan pertumbuhan bakteri tertentu, digunakan untuk mengisolasi bakteri tertentu, media penghambat yang digunakan garam empedu, pH, antibiotik

3. Media selektif dan differential

Bersifat selektif dan differential, biasanya untuk identifikasi

4. Media untuk bakteri anaerob

Dengan penambahan bahan kimia untuk mengurangi kandungan oksigen dengan cara pengikatan kimiawi. Contoh, Na thioglikat, cystein, asam askorbat

5. Media penyubur

Media ini akan mempercepat pertumbuhan organisme tertentu, cara ini digunakan jika diinginkan salah satu organisme dari suatu biakan campuran bakteri. Pada pembiakan ini ditambahkan zat hara tertentu untuk menambah peluang pertumbuhan organisme yang diinginkan atau menambahkan zat penghambat. Zat ini tidak menghambat organisme yang diisolasi tetapi menghambat organisme lain

Kapang yang bersifat aerobik membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Kapang tumbuh pada kisaran pH 2-8,5 tapi pertumbuhannya akan lebih baik pada asam atau pH rendah. Salah satu contoh media untuk pertumbuhan jamur yaitu Potato Dekstrosa Agar (PDA) karena media ini relatif kaya nutrisi untuk pertumbuhan jamur (Stevens, 1981).

Susunan dan kadar nutrisi suatu medium untuk pertumbuhan mikroba harus seimbang agar mikroba dapat tumbuh optimal. Hal ini dikarenakan banyak senyawa yang menjadi zat penghambat atau

racun bagi mikroba jika kadarnya terlalu tinggi (misalnya garam dari asam lemak, gula, dan sebagainya). Nutrisi tersebut antara lain (Lay *dkk*, 1992):

1. Nitrogen

Pada umumnya mikroba tidak dapat langsung menggunakan nitrogen bebas dari udara sehingga keperluannya diberikan dalam bentuk garam, nitrogen diperlukan sebagai dasar untuk protein, asam nukleat dan vitamin. Dalam media, bahan yang mengandung N ini antara lain pepton, yeast ekstrak, malt ekstrak, asam amino, ammonium dan nitrat

2. Karbon

Sumber karbon yang biasa digunakan yaitu berbagai gula, pati, dan glikogen. Gula yang dipakai berupa 5C, 6C atau disakarida (laktosa, sukrosa, maltosa) untuk dapat menggunakan sumber karbon ini, mikroba menguraikannya menjadi molekul yang lebih kecil yang kemudian digunakan untuk bahan dasar protein, polisakarida, lipida, dan asam nukleat

3. Vitamin

Vitamin adalah senyawa organik kompleks yang diperlukan dalam jumlah sedikit untuk pertumbuhan. Vitamin berfungsi sebagai koenzim. Berbagai vitamin yang diperlukan adalah thiamin, riboflavin, asam nuktinat, asam pantoteat, dan biontin

4. Garam mineral

Garam mineral diperlukan untuk pertumbuhan mikroba karena selain berfungsi sebagai penyusun sel, unsur mineral juga berfungsi untuk mengatur tekanan osmosis, kadar ion H^+ (keasaman, pH), dan potensial oksidasi reduksi medium. Garam mineral yang dibutuhkan, antara lain (Stainer *dkk*, 1982):

- S sebagai unsur pokok protein (seperti asam amino sistein dan methionin), unsur pokok koenzim (contoh KoA, kokarboksilase)
- P sebagai unsur pokok asam nukleat, fosfolipid dan koenzim
- K sebagai salah satu kation anorganik utama dalam sel, kofaktor untuk enzim
- Mg sebagai kation penting untuk sel (kofaktor anorganik untuk banyak reaksi enzimatik, termasuk yang melibatkan ATP, berfungsi dalam pengikatan enzim pada substrat, unsur pokok klorofil
- Mn sebagai kofaktor anorganik untuk beberapa enzim, kadang-kadang menggantikan Mg

- Ca sebagai kation penting untuk sel, kofaktor untuk beberapa enzim (contoh Proteinase)
- Fe sebagai unsur pokok sitokrom dan protein heme atau nonheme yang lain, kofaktor untuk sejumlah enzim
- Co sebagai unsur pokok vitamin B₁₂ dan turunan koenzim
- Cu, Zn, Mo sebagai unsur pokok anorganik enzim-enzim yang khusus

5. Air

Air merupakan komponen utama sel mikroba dan medium. Fungsi air adalah sebagai sumber oksigen untuk bahan organik sel pada respirasi. Selain itu air berfungsi sebagai pelarut dan alat pengangkut dalam metabolisme

Selain faktor nutrisi, mikroba juga dipengaruhi oleh beberapa faktor.

Antara lain (Fardiaz, 1992):

1. Suhu

Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Apabila suhu naik atau turun secara dratis maka pertumbuhannya akan terhenti dan komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak, sehingga sel-sel menjadi mati

2. Keasaman (pH)

Setiap organisme memiliki pH optimum yang berbeda-beda, kebanyakan mikroba tumbuh baik pada pH sekitar netral. pH 4,6-7,0 merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri, sedangkan kapang dan khamir tumbuh pada pH yang lebih rendah

3. Oksigen

Oksigen merupakan kebutuhan esensial untuk pertumbuhan mikroba. Oksigen dapat diperoleh dari air, molekul O₂, oksidasi molekul anorganik seperti: nitrat, sulfat dan CO₂ atau dari molekul organik yang mengandung oksigen (Atlas, 1993). Mikroorganisme memiliki karakteristik sendiri-sendiri dalam kebutuhan akan oksigen sehingga dapat dibedakan menjadi (Stainer, 1982):

- aerob, yaitu hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas
- anaerob, yaitu hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas
- anaerob fakultatif, yaitu dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas

- mikroaerofilik, yaitu dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah sedikit

2.3 Pepton

Pepton merupakan sumber utama nitrogen organik, vitamin dan garam mineral pada pertumbuhan mikrobakteria. Pepton dapat dihasilkan dari albumin, daging, dan susu. Pepton memiliki fungsi sebagai nutrisi pada media untuk pertumbuhan bakteriologi (Sax dan Lewis, 1987).

Berdasarkan penelitian D'souza dan Lancelot (1982), laktosa dan pepton merupakan sumber karbon dan nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan suatu kapang.

Berdasarkan penelitian Sastraatmadja (2003) Produksi enzim rennet dari *Mucor pusillus* yang tertinggi diperoleh pada penambahan pepton 1%. Menurut Stanier *dkk* (1982) memberi zat gizi berimbang dan pada konsentrasi yang tepat dapat memungkinkan pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme, sebaliknya pemberian zat gizi yang terlalu banyak dapat menjadi penghambat pertumbuhan atau bersifat racun.

2.4 Rennet

Renin adalah enzim yang digunakan pada proses pembuatan keju. Renin diproduksi dari *abomasum* pedet atau hewan mamalia lainnya. Sedangkan rennet adalah tepung dari *abomasum* pedet atau mamalia lain (Winarno, 1995).

Rennet secara spesifik memotong kasein yang berperan sebagai penyetabil emulsi susu pada asam amino phenilalanin (105) dan methionin (106). Perusakan kasein ini menyebabkan protein susu terkoagulasi (Coulter, 1996).

Sumber alternatif sebagai pengganti rennet sapi, antara lain:

1. Lambung hewan mamalia: babi, kelinci, anjing laut, dan hewan mamalia lainnya (Shasuzzaman, 1985)
2. Tumbuhan: pohon kurma, pohon nettles, pohon thistle, mallow, creeping Charlie, papain dari getah pohon pepaya, dan bromelin dari buah nanas
3. Mikroorganisme: *Rhizomucor pusillus*, *Rhizomucor miehei*, *Endothia parasitica*, *Aspergillus oryzae*, and *Irpex lactis* (Da Silveira *dkk*, 2005)

Rennet menghasilkan aktifitas protease. Protease merupakan biokatalisator untuk reaksi pemecahan protein. Macam-macam protease (Suhartono, 1992):

- a. protease serin: protease yang memiliki residu serin dalam lokasi aktifnya, seluruh enzim bersifat endopeptidase. Contoh: tripsin, cymotripsin, elastase
- b. protease sulfhidril: protease yang memiliki residu sulfhidril pada lokasi aktifnya. Contoh: papain, fisin, dan bromelin
- c. protease logam: keaktifannya bergantung pada adanya logam. Contoh: logam Mg, Zn, Ca, Fe, Cd, Cu, N
- d. protease asam: lokasi aktifnya ada pada 2 gugus karboksil. Contoh: pepsin, renin, dan protease kapang

2.5 Keju

Keju merupakan salah satu produk olahan susu yang terbentuk karena koagulasi susu oleh rennet. Secara umum, keju memiliki kandungan kalsium, protein dan fosfor yang besar. Pada keju keras, seperti Cheddar, dalam 30 gram keju cheddar mengandung 7 gram protein dan 200 miligram kalsium. Konversi susu menjadi keju memberikan keuntungan karena sebagian besar lemak dan proteinnya telah dicerna enzim dalam proses pembuatan keju sehingga lebih mudah diterima sistem pencernaan manusia. (Kosikowski dan Mistry, 1997).

Macam-macam keju menurut Ensrud (1981):

1. Brie

Keju lembut Perancis ini mengandung 45% lemak. Kulitnya putih dan memiliki bintik-bintik pikmen warna kemerahan. Bila sudah matang bagian dalamnya menyerupai krim. Aromanya cukup tajam

2. Camembert

Keju Perancis ini termasuk keju lembut dengan kandungan lemak antara 45-50%. Kulitnya putih dan bagian dalamnya berbentuk krim

3. Cheddar

Saat muda, aroma keju ini cukup lembut dan berwarna pucat, tetapi setelah tua, warnanya lebih kuning dan aromanya lebih tajam. Keju Cheddar dimatangkan dengan dibungkus kain katun selama beberapa hari di awal masa pematangan

4. Cream cheese

Keju jenis lembut ini dibuat dari krim dan susu. Mengandung lemak 45%. Bila kandungan lemaknya sampai 65%, maka disebut double cream cheese

5. Edam

Keju Belanda ini termasuk jenis keras dengan kandungan lemak 40%. Biasanya dikemas dalam kemasan lilin

6. Emmenthal

Keju Swis jenis keras ini biasa dibuat dalam ukuran besar seberat 80 kilogram. Termasuk jenis keju yang dimasak. Karena jenis fermentasinya, keju ini memiliki lubang-lubang agak besar

7. Gruyere

Keju ini umumnya berbentuk bulat pipih seperti roda, termasuk jenis keju keras dari Swiss yang dimasak

8. Mozzarella

Keju Italia ini termasuk jenis keju lembut yang mengandung 40-50% lemak. Sebagai bahan baku pembuatan pizza

9. Parmesan

Termasuk jenis keju Italia yang keras. Kandungan lemaknya 32%. Usianya 2-3 tahun. Aromanya sangat tajam

10. Ricota

Keju Italia yang termasuk keju lembut ini dibuat dari sapi atau domba. Namun sekarang dicampur dengan whole milk. Kandungan lemaknya 20-30%.

Sebelum pembuatan keju, susu harus dipasteurisasi terlebih dahulu. Macam-macam pasteurisasi (Susilorini dan Sawitri, 2006):

- Pasteurisasi batch/metode holding, yaitu proses pemanasan susu pada suhu 61-63°C selama \pm 30 menit, dengan cara susu dalam botol dipanaskan dengan menempatkan pada wadah yang berisi air (steam) sambil diaduk secara kontinyu untuk menghindari terbentuknya langit-langit susu dan mencegah kerusakan susu
- Pasteurisasi cepat/metode continous, yaitu proses pemanasan susu dengan cepat (flash) pada suhu 71-72,5°C selama 15 detik, dengan cara dilakukan dalam keadaan susu mengalir berkesinambungan

Fungsi pasteurisasi menurut Hadiwiyoto (1983) yaitu,

- membunuh bakteri-bakteri patogen seperti *Mycrobacterium tuberculosis* dan bakteri-bakteri tertentu
- memperpanjang daya simpan

- memberikan cita rasa yang menarik
- menginaktifkan fosfatase dan katalase yang membuat enzim rusak

2.6. Starter

Starter yang digunakan yaitu bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat adalah sekelompok bakteri yang dalam metabolisme karbohidratnya menghasilkan asam laktat sebagai bahan utama. Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif berbentuk batang dan bulat, katalase negatif, tidak berbentuk spora, mikroaerofilik sampai aerob, tidak mereduksi nitrit menjadi nitrat, dan suhu optimum pertumbuhan 20-40°C. Sifat-sifat bakteri asam laktat adalah tumbuh pada pH 3,8-8 serta mampu menfermentasikan berbagai monosakarida dan disakarida (Stainer *dkk*, 1982).

Yang termasuk dalam bakteri asam laktat adalah lactobacilli (*Lactobacillus spp.*), bifidobacteria (*Bifidobacterium spp.*), dan lactic cocci (*Streptococcus*, *Peptococcus*, dan *Leuococcus spp.*). *Lactobacillus spp.* dan *Streptococcus spp.* termasuk grup termobakterium, mampu tumbuh pada suhu 45°C dan tidak mampu tumbuh pada suhu 15°C, toleransi pH 5,5-5,8 (Killington, 1999).

Setelah dipasteurisasi, susu ditambahkan starter untuk mengembangkan asam dalam *curd*. Ketika susu mengental, sel-sel bakteri terkonsentrasi dalam koagulum kemudian dalam keju. Perkembangan asam menurunkan pH yang penting untuk membantu sineresis (kontraksi koagulum disertai dengan pengurangan *whey*), selain itu juga dapat menekan bakteri yang tahan pasteurisasi (Kosikowski dan Mistry, 1997).

2.7 Uji Kualitas Keju

2.7.1 Penentuan asam laktat

Keasaman keju disebabkan oleh adanya asam laktat akibat bakteri asam laktat yang memecah laktosa menjadi asam laktat. Pada dasarnya asam laktat akan memberikan rasa asam yang selanjutnya menyebabkan pengendapan kasein dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroorganisme. Kandungan asam laktat dapat diukur dengan metode volumetri menggunakan larutan NaOH 0,1M (Reesang dan Nasution, 1982).

2.7.2 Penentuan kadar protein

Peneraan jumlah protein secara empiris yang umum dilakukan adalah dengan menentukan jumlah nitrogen (N) yang dikandung suatu bahan. Apabila jumlah unsur N dalam bahan telah diketahui maka jumlah protein dihitung dengan (Sudarmadji, 1989):

Jumlah N x faktor perkalian

Faktor perkalian (James, 1996):

No	Bahan	Faktor perkalian
1	Daging	6,25
2	Susu dan turunannya	6,38
3	Tepung	5,70
4	Telur	6,68
5	Gelatin	5,55
6	Kedelai	5,71
7	Beras	5,95
8	Bahan lain yang belum diketahui unsur penyusunnya	6,25

Reaksi yang terjadi pada metode Kjeldahl (James, 1996):

- Proses konversi N makanan menjadi ammonium sulfat. Elemen karbon dan hidrogen teroksidasi menjadi CO, CO₂, dan H₂O



- Ammonium sulfat dikonversi menjadi gas ammonia dengan penambahan NaOH dan pemanasan



- Ammonia yang dibebaskan ditangkap dalam oleh larutan asam borat



- Ammonium borat dititrasi dengan asam sulfat



- Pada akhir titrasi



2.7.3 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air digunakan untuk mengetahui kandungan air dari sampel. Kadar air dari sampel ditentukan dengan cara pengeringan. Prinsipnya dengan menguapkan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai

diperoleh berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan. Suatu bahan yang telah mengalami pengeringan lebih bersifat higroskopis dari bahan asalnya. Oleh karena itu selama pendinginan sebelum penimbangan, bahan selalu ditempatkan dalam ruang tertutup yang kering misalnya desikator yang diberi zat penyerap air seperti silika gel (Sudarmadji, 1989).

2.7.4 Penentuan Kadar Abu

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu ada hubungannya dengan mineral suatu bahan, mineral yang terdapat pada bahan berupa garam organik yaitu garam-garam asam malat, oksalat, asetat, pektat. Sedangkan garam anorganik yaitu garam fosfat, karbonat, klorida, sulfat, dan nitrat. Penentuan kadar abu ada dua macam, yang pertama penentuan kadar abu secara langsung (cara kering) yaitu dengan mengoksidasikan semua zat organik pada suhu yang tinggi sekitar 500-600°C, kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut. Metode kedua yaitu penentuan kadar abu secara tidak langsung (metode basah) yaitu dengan memberikan reagen kimia tertentu seperti asam sulfat, campuran asam sulfat dan pottasium sulfat, campuran asam sulfat dan asam nitrat, asam perklorat ke dalam bahan sebelum dilakukan pengabuan (Sudarmadji, 1989).

2.7.5 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).

2.8 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini adalah penambahan pepton dengan konsentrasi tertentu dapat meningkatkan aktivitas rennet *Mucor miehei* yang digunakan pada pembuatan keju sehingga akan diperoleh jumlah keju yang maksimal.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Penelitian yang dilaksanakan adalah penelitian eksperimental. Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2008 sampai Februari 2009.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah kentang, susu sapi segar yang diperoleh dari Koperasi susu Dau, kultur murni Bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dan sampel kapang *Mucor miehei* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang.

3.2.2 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan-bahan kimia berkualitas p.a dengan merk Merck yaitu dekstrosa, asam sitrat, nutrient agar, pepton, NaOH, H₂SO₄ 95%, asam borat. Indikator phenolphthalein (pp), indikator Metil Orange (MO), akuades.

3.2.3 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, cawan porselen, oven (Memmert), tanur, inkubator (Haraeus), penangas air (Memmert NR 900660), buret, bola hisap, pH meter digital (Beckman ϕ 40), jarum ose, autoclave, neraca analitik (mettler Todelo AL 204), aluminium foil, dan kapas steril.

3.3 Tahapan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dengan metode percobaan di laboratorium yang berupa pembuatan rennet *Mucor miehei* dengan variasi konsentrasi pepton dan pembuatan keju dengan menggunakan rennet *Mucor miehei*. Konsentrasi pepton yang digunakan yaitu, 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8%. Dari setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan, pola rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Tahapan penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan media padat dan cair
2. Peremajaan biakan
3. Isolasi rennet *Mucor miehei*
4. Penentuan suhu optimum rennet *Mucor miehei*
5. Penentuan pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*
6. Uji kualitas keju

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pembuatan media padat

Media yang digunakan adalah media PDA, yang terdiri atas kentang 50 gram, dekstrosa 5 gram, agar 5 gram, akuades 200 mL. Kentang dipotong kecil-kecil, direbus dalam akuades sampai mendidih kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 gram dekstrosa sambil dipanaskan, ditambah asam sitrat sampai pH 5. Setelah itu larutan ditambah tepung agar didihkan sampai larut. Larutan di atas dipipet 5 mL dimasukkan dalam tabung kemudian ditutup dengan kapas steril dan kertas sampul, disterilkan dalam autoclave pada 121°C, 15 psi selama 15 menit. Disimpan dalam temperatur kamar dalam keadaan miring dan dibiarkan memadat.

3.4.2 Pembuatan biakan murni

Kapang dari biakan *Mucor miehei* digoreskan pada media padat dengan jarum ose secara aseptik yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose dan dilakukan pada keadaan steril. Kemudian tabung ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 4 hari dalam inkubator.

3.4.3 Pembuatan media cair

Media pertumbuhan untuk isolasi rennet *Mucor miehei* terdiri dari: kentang 50 gram, dekstrosa 5 gram, pepton, akuades 200 mL. Kentang dipotong kecil-kecil, direbus dalam akuades sampai mendidih kemudian disaring dan dimasukkan Erlenmeyer. Filtrat ditambah 5 gram dekstrosa sambil dipanaskan. Ditambah pepton dengan variasi konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8% ($\frac{w}{v}$) dan ditambah asam sitrat sampai pH 5. Erlenmeyer ditutup kapas dan dilapisi kertas sampul, disterilkan dalam autoclave 121°C, 15 psi selama 15 menit.

3.4.4 Isolasi rennet *Mucor miehei*

Kapang dari biakan *Mucor miehei* dicelupkan ke dalam media cair dengan ujung jarum ose secara aseptik yaitu dengan mendekatkan mulut Erlenmeyer pada nyala api saat mencelupkan jarum ose dan dilakukan pada keadaan steril. Erlenmeyer ditutup kembali dengan kapas, diinkubasi pada temperatur 37°C selama 4 hari dan disaring untuk diambil filtratnya.

3.4.5 Penentuan pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*

Susu 200 mL dipasteurisasi pada suhu 63-67°C sampai sedikit mendidih, didinginkan sampai suhu 30°C, ditambah 2 gram starter, dimasukkan oven dengan suhu 40°C selama 30 menit, ditambah 2 gram rennet *Mucor miehei* dengan konsentrasi pepton 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8% ($\frac{w}{v}$), dan didiamkan selama 7 hari kemudian disaring. *Curd* yang dihasilkan berupa keju dan ditimbang. Jumlah keju yang paling banyak menunjukkan konsentrasi pepton optimum rennet *Mucor miehei*.

3.4.6 Penentuan kadar asam laktat

Keju 10 gram dimasukkan gelas beaker, diencerkan dengan 50 mL akuades, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambah akuades sampai tanda batas dan disaring, 50 mL filtrat sampel dimasukkan erlenmeyer, ditambah 3 tetes indikator pp 1%, dititrasi dengan NaOH sampai berwarna merah muda. Dan dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar asam laktat} = V_{\text{NaOH}} \times M_{\text{NaOH}} \times 0,09 \times fp \quad \times 100\%$$

V_{NaOH}	= Volume titrasi NaOH (ml)
M_{NaOH}	= Molaritas NaOH (mol/L)
0,09	= Berat miliekivalen asam laktat
W_{Sampel}	= Berat sampel (g)

3.4.7 Penentuan kadar air

Sampel 2,0076 gram yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam. Setelah itu sampel ditimbang dan dioven lagi selama setengah jam, kemudian sampel ditimbang lagi untuk mendapatkan berat yang stabil atau kurang dari 0,02 mg. Persentase rasio penyusutan berat awal merupakan kadar air bahan.

$$\text{Kadar air} = \frac{W_{\text{awal}} - W_{\text{akhir}}}{W_{\text{awal}}} \times 100\%$$

3.4.8 Penentuan kadar abu

Sampel 4,5628 gram yang telah dihaluskan ditimbang dalam cawan pengabuan yang telah diketahui beratnya. Sampel tersebut kemudian dibakar sampai asapnya habis. Setelah itu dimasukkan ke dalam tanur (500°C) selama 3 jam atau sampai terbentuk abu dengan berat yang tetap. Kadar abu adalah rasio berat abu dengan berat sampel basah.

$$\text{Kadar abu} = \frac{W_{\text{abu}}}{W_{\text{awal}}} \times 100\%$$

3.4.9 Penentuan kadar protein

Analisa protein dengan metode makro Kjeldahl, sampel ditimbang 1,8357 g, ditambah H_2SO_4 20 ml dan $\frac{1}{2}$ tablet Kjeldahl dimasukkan kemudian dididihkan sampai berhenti berasap dan jernih dalam perangkap dekstruktif selama 1,5-2 jam dalam ruangan asam. Bahan didinginkan dan ditambah 75 mL NaOH 45% dan indikator pp 2-3 tetes sampai berubah warna. Setelah itu dilakukan destilasi. Destilat sebanyak 100 mL ditampung dalam Erlenmeyer yang berisi larutan jenuh asam borat 3% ($\pm 20\text{mL}$) dan 3 tetes indikator metil

orange. Kemudian dititrasi dengan 0,252 M H₂SO₄ sampai terjadi perubahan warna.

$$\%N = \frac{28 \times V \text{ H}_2\text{SO}_4 \times M \text{ H}_2\text{SO}_4}{W \text{ sampel} \times 1000} \times 100\%$$

$$\% \text{ protein} = \%N \times 6,38$$

3.4.10 Penentuan pH

Sampel diambil 3,5 gram kemudian diencerkan dengan akuades sampai 100 mL dalam labu ukur. Kemudian hasilnya diukur dengan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 7 dan pH 4.

3.4.11 Uji Organoleptik

Pengujian ini dilakukan dengan menyodorkan sampel kepada 20 responden, selanjutnya responden diminta memberikan penilaian terhadap sampel meliputi aroma, rasa, tekstur, dan warna. Pengujian menggunakan uji skala hedonik yang terdiri dari 7 nilai dari 7 pernyataan, yaitu:

- 1 = sangat tidak suka
- 2 = tidak suka
- 3 = agak tidak suka
- 4 = netral/biasa
- 5 = agak menyukai
- 6 = menyukai
- 7 = sangat menyukai

3.5 Analisis Data

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

Tabel 3.1 Tabel Data Penelitian

	jumlah keju ($\frac{keju(g)}{susu(ml)} \times 100\%$)			Total	Rerata
Perlakuan	ulangan I	Ulangan II	ulangan III		
A	Y ₁₁	Y ₁₂	Y ₁₃		
B					
C					
Total			Y _{ij}		

Tabel 3.2 Tabel Uji ANNOVA

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F hit	F tabel
perlakuan	n-1	JKP	JKp/dBp	KTp/KT	F(p-1);(n-1)
Galat	(p-1);(n-1)	JKG	JKG/dB _G		
Total	pn-1	JKT			

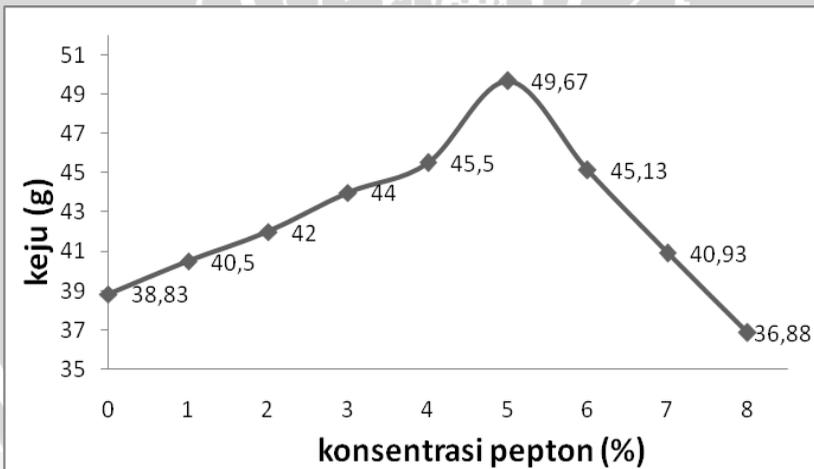
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Pepton Terhadap Aktivitas Rennet *Mucor miehei*

Rennet *Mucor miehei* diproduksi dengan menambahkan pepton dengan variasi konsentrasi (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8%) (w/v) pada media tumbuh yang berupa potato dekstrosa. Pengaruh konsentrasi pepton sebagai sumber nitrogen terhadap aktivitas *Mucor miehei* dapat diketahui dari jumlah keju yang dihasilkan.

Pada penelitian ini aktivitas rennet *Mucor miehei* dilihat dari jumlah keju yang dihasilkan karena enzim rennet mengkatalisis ikatan peptida kasein yang mengakibatkan kasein kehilangan kemampuan sebagai penyetabil emulsi susu. Hal ini menyebabkan protein susu yang lain terkoagulasi menghasilkan *curd* yang akan menjadi keju. Komposisi nutrisi pertumbuhan kapang yang seimbang menyebabkan semakin tinggi aktivitas rennet dan jumlah keju yang dihasilkan juga semakin banyak.



Gambar 4.1 Kurva Pengaruh Konsentrasi Pepton Terhadap Jumlah Keju

Dari kurva 4.1 dapat dilihat bahwa konsentrasi pepton berpengaruh terhadap jumlah keju. Hal ini dapat dibuktikan dengan uji analisis statistik. Berdasarkan hasil analisa secara statistik diperoleh nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ (taraf nyata $\alpha = 0,05$). Uji beda nyata terkecil (BNT 5%) (tabel L.5.3) menyatakan bahwa konsentrasi pepton 5% memberikan beda nyata terhadap yang lain. Pada penambahan konsentrasi pepton 0% sampai 5% terjadi peningkatan aktivitas rennet *Mucor miehei* karena pepton merupakan sumber nitrogen yang baik untuk mikroba dan nitrogen merupakan komponen utama protein dan asam nukleat. Semakin meningkat jumlah pepton yang ditambahkan pada media menyebabkan nutrisi yang tersedia untuk mikroba juga semakin banyak sehingga pertumbuhan dan aktivitas rennet *Mucor miehei* semakin optimal. Pada penambahan konsentrasi pepton 6% sampai 8% terjadi penurunan aktivitas rennet *Mucor miehei* karena komponen media cair untuk pertumbuhan mikroba tidak dalam keadaan seimbang atau terlalu pekat sehingga sel mengalami osmolisis. Hal ini dikarenakan larutan di luar sel lebih pekat daripada larutan di dalam sel, sehingga air dari dalam sel keluar. Hal ini menyebabkan sel kehilangan air sehingga sel keriput dan mati.

Nutrisi yang berimbang dan pada konsentrasi yang tepat menyebabkan pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme, sedangkan pemberian nutrisi yang berlebih dapat menjadi penghambat pertumbuhan atau bersifat racun.

4.2 Karakter Keju yang Dihasilkan

4.2.1 Sifat kimia keju yang dihasilkan

Sifat kimia keju digunakan untuk mengetahui kualitas keju. Sifat kimia keju yang diteliti meliputi, kadar asam laktat, pH, kadar protein, kadar air, dan kadar abu. Dari uji kualitas keju diperoleh data yang ditunjukkan pada tabel 4.1:

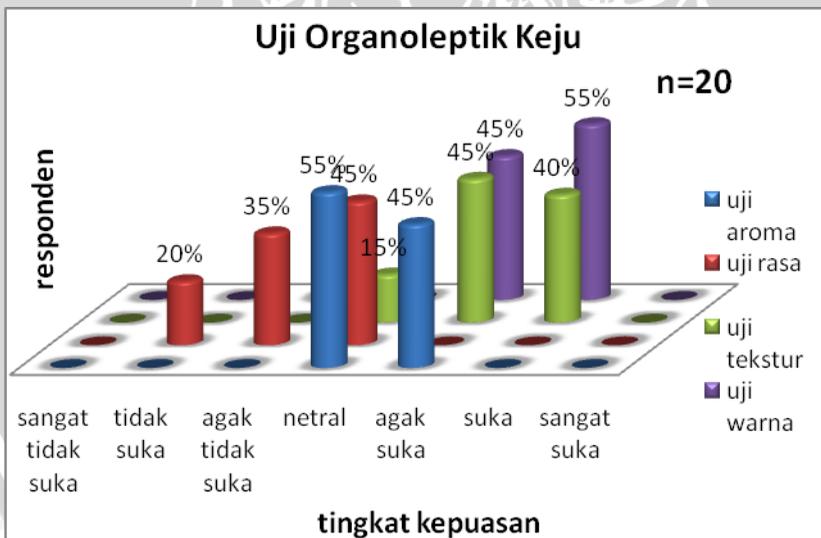
Tabel 4.1 Data uji kualitas keju

No.	Uji kualitas keju	Hasil
1	Penentuan kadar asam laktat	2,22%
2	Penentuan pH	4,91
3	Penentuan kadar protein	8,80%
4	Penentuan kadar air	79,00%
5	Penentuan kadar abu	0,07%

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa keju yang dihasilkan berupa keju segar karena syarat keju segar yaitu memiliki kandungan air 70% sampai 80%. Keju yang diperoleh termasuk keju mentah. Untuk menjadikan keju olahan, diperlukan perlakuan lebih lanjut.

4.2.2 Uji Organoleptik

Parameter organoleptik dilakukan dengan menggunakan indera pengecap, pembau, dan peraba pada waktu sampel dikonsumsi. Walaupun pengujian dengan alat dianggap lebih objektif, namun pengujian langsung oleh manusia tetap dianggap penting untuk dilakukan, bahkan digunakan untuk menstandarisasi pengujian dengan alat. Informasi tentang dapat diterimanya produk tersebut oleh konsumen sangatlah penting. Interaksi dari hasil pengujian dengan alat inderawi tersebut dipakai untuk mengukur mutu bahan pangan dalam rangka pengendalian mutu serta pengembangan produk baru (Idris, 1992). Uji organoleptik meliputi uji aroma, rasa, tekstur, dan warna dibagikan kepada 20 orang, pengujian ini berdasarkan skala hedonik.



Gambar 4.2 Uji organoleptik keju

- **Rasa**

Berdasarkan hasil analisis uji organoleptik yang dilakukan dengan membagikan kuisioner kepada 20 responden, 20% responden menyatakan tidak menyukai rasa keju yang dihasilkan, 35% responden menyatakan agak tidak menyukai dan 45% responden menyatakan rasa keju yang dihasilkan memiliki rasa yang netral/biasa. Secara umum nilai rata-rata kegemaran responden terhadap rasa yaitu 3,15 sehingga dapat disimpulkan responden agak tidak menyukai rasa keju yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan keju yang dihasilkan pada awal pematangan memiliki rasa seperti keju cheddar umumnya tetapi agak asam, rasa asam tersebut dikarenakan pH yang terlalu rendah yaitu 4,91, ini dapat dihilangkan dengan menambahkan NaCl jenuh dan perasa makanan. Garam-garam NaCl dapat meingkatkan pH sehingga dapat mengurang rasa pahit.

- **Tekstur**

Berdasarkan uji tekstur keju kepada 20 responden, 15% responden menyatakan tekstur keju netral/biasa, 45% responden agak menyukai tekstur keju yang dihasilkan dan 40% responden menyatakan menyukai. Secara umum nilai rata-rata kegemaran responden terhadap tekstur yaitu 5,25 sehingga dapat disimpulkan responden agak menyukai tekstur keju. Keju yang dihasilkan memiliki tekstur lembut dan lunak sepeti tekstur keju segar pada umumnya.

Tekstur lunak ini disebabkan oleh kandungan air yang tinggi dan tidak dilakukan penambahan garam. Kadar garam dapat mempengaruhi tekstur keju karena garam menyebabkan adanya proses salting out sehingga kelarutan air dalam garam berkurang dan menyebabkan kadar air keju menjadi rendah. Hal ini didukung oleh pernyataan Riieg (1985) bahwa kadar air sebagai faktor penting untuk menentukan tekstur keju dimana kadar air yang semakin meningkat maka tekstur keju semakin lunak. Tekstur yang rendah menandakan keju semakin keras.

- **Aroma**

Berdasarkan uji aroma keju kepada 20 responden, 55% responden menyatakan aroma keju yang dihasilkan memiliki aroma netral/biasa dan 45% responden agak menyukai. Secara umum nilai rata-rata

kegemaran responden terhadap aroma yaitu 4,45 sehingga dapat disimpulkan responden menyatakan rasa keju netral/biasa. Keju yang dihasilkan memiliki aroma sedap dan bau seperti keju pada umumnya.

Aroma keju diakibatkan pada saat pemeraman keju terjadi hidrolisis lemak dan laktosa yang menghasilkan senyawa-senyawa volatil. Hidrolisis lemak menghasilkan asam butirat, asam kaproat, asam kaprilat, asam kaprat, sedangkan laktosa menghasilkan asam laktat, asam asetat, asam formiat, diasetil, asetaldehid, dan propionat yang mempengaruhi aroma keju.

- **Warna**

Berdasarkan uji warna keju kepada 20 responden, 45% responden agak menyukai warna keju yang dihasilkan dan 55% responden menyatakan menyukai warna keju. Secara umum nilai rata-rata kegemaran responden terhadap aroma yaitu 5,55 sehingga dapat disimpulkan responden menyatakan agak menyukai warna keju. Keju yang dihasilkan memiliki warna putih kekuningan. Warna keju ini dipengaruhi oleh warna susu yang digunakan, yaitu putih bersih.

BAB V

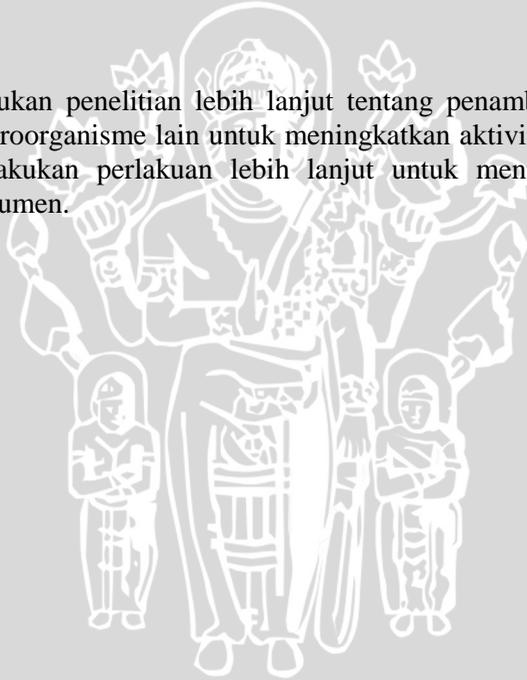
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi pepton 5% menghasilkan jumlah keju paling banyak yaitu 49,67 gram keju. Uji kualitas keju menunjukkan bahwa kadar asam laktat 3,56 %, kadar air 79%, kadar abu 0,07%, kadar protein 8,8%, dan pH 4,91. Berdasarkan cara pemeraman dan uji kadar air, keju yang diperoleh termasuk keju mentah dan keju lunak.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan zat gizi untuk mikroorganisme lain untuk meningkatkan aktivitas rennet dan perlu dilakukan perlakuan lebih lanjut untuk meningkatkan kepuasan konsumen.



DAFTAR PUSTAKA

- Apriantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N.L. dan Budiyanto, S. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan, Pusat Antar Universitas Pangan Dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Atlas, R.M dan L.C.Parks. 1993. Hand Book of Microbiological Media, CRC Press, London.
- Charlie, M.J dan Wilkinson. 1994. The Fungi. Academic Press. London. pp 35-39
- Coulter, T.P. 1996. Food The Chemistry of Its Component 3rd edition. South Banj University. London
- Da Silveira, G.G, De Oliveira, G.M., Ribeiro, E.J., Monti, R., dan Contreiro, J. 2005. Microbial Rennet Produced by *Mucor miehei* in Solid-State and Submerged Fermentation. *J.Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48: 931-937
- D'souza, Trevor M. dan Pereira, Lancelot. 1982. Production and Immobilization of a Bacterial Milk-Clotting Enzyme. *J.Dairy Sci*. 65:2074-2081
- De Hoog, G. S., J. Guarro, J. Gene, and M. J. Figueras. 2000. Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed, vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Ensrud, Barbara. 1981. The Pocket Guide to Cheese, Lansdowne Press/Quarto Marketing Ltd
- Fardiaz. 1992. Mikrobiologi Pangan. PAN Pangan dan gizi IPB. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Gaman, P.M dan K.B. Sherington. 1994. Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi, edisi kedua. UGM Press. Yogya
- Hadiwiyoto, S. 1983. Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging, Telor. Liberty. Yogyakarta
- Harri. 2008. Rennet Sapi, Baru Hidup Sudah Mati Lagi. www.halalguide.info. Diakses tanggal 26 desember 2008

- Idris, S. 1992. Teknologi Pengolahan Susu. LUW-Unibraw. Malang
- James, Ceirwyin. 1996. Analytical Chemistry of Foods. Chaffman and Hall. United Kingdom
- Killington, R.A. 1999. Microbiology. Departement of Microbiology. University of Leeds. Leeds
- Kosikowski, F.V., dan V.V. Mistry. 1997. Cheese and Fermented Milk Foods. Third edition. Kosikowski and associates Book Tondale. New York
- Lay, W. Bibiana, dan Hastowo, Sugyo. 1992. Mikrobiologi, Rajawali Pers. Jakarta
- Locke, S. 1897. Note on The Influence of "Peptone" on The Clotting of Milk by Rennet. Harvard Medical School. Boston
- Pelzar, M.J, Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerjemah Ratnasari Hadioetomo. UI Press. Jakarta
- Nurhidayati, Tutik. 2003. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Suhu Fermentasi Terhadap Kualitas Keju Cottage. *KAPPA* Vol. 4, No.1, 13-17
- Rahman. 1992. Tekhnologi Fermentasi Susu. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB
- Ressang, A.H., dan J.L. Nasution. 1982. Pedoman Pelajaran Ilmu Kesehatan Susu. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor
- Riieg. M. 1985. Water Diary Product Related to Quality with Special Preference Cheese. Martius Nijhott Pub. Netherland
- Sastraatmadja, Dudi D. 2003. Produksi Enzim Rennet dari *Mucor Pusillus* Dalam Medium Singkong (*Manihot utilisima* L.). LIPI. Jakarta
- Sax dan lewis. 1987. Hawley's Condensed Chemical Dictionary. Van Nostrand Reinhold. New York
- Saxena, R.K., P.K., Ghod, dan Rani Gupta. 2005. Microbial of Lipase. <http://www.ias.ac>. Diakses tanggal 1 April 2009
- Schegel, H. 1994. Mikrobiologi Umum edisi 6. Alih bahasa RMT Baskoro, UGM Press. Yogya

- Schuler, M.L. dan F. Kargi. 1992. *Bioprocess Engineering, Basic Concepts*. Prentice hall Engelwood-clift. New Jersey
- Shasuzzaman, Kazi M dan Haard, Norman F. 1985. *Rennet Substitute from Seals for Making Cheese*. United States Patent (4526868)
- Stanier, Y. R Adelberg, E.A., dan Ingraham, J. 2001. *The Microbial World*. Prentice Hall Inc EagleWood. New Jersey
- Stanier, Y.R, Adelberg, E.A., dan Ingraham, J. 1982. *The Microbial World fourth edition*. Diterjemahkan oleh Agustin W.G., Sri L.A., Ko Gin Lioe, Hastowo, dan Bibiana L. dalam buku *Dunia Mikrobe I*, Penerbit Bhatara Karya Aksara. Jakarta
- Stevens, R. B., editor. 1981. *Mycology Guidebook*. University of Washington Press, Seattle
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1985. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Suhartono. 1992. *Protease*. Dirjen Dikti Pusat antar universitas bioteknologi. IPB. Bogor
- Susilorinio, T.E. dan Sawitri, M.E. 2006. *Produk Olahan Susu*. Penerbit Swadaya. Jakarta

Lampiran 1. Pembuatan Pereaksi

1.1 larutan Asam Oksalat 0,0479 M

Ditimbang 0,6039 gram asam oksalat dihidrat kemudian dilarutkan dengan 25mL akuades dalam gelas beaker 100mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100mL dan diencerkan sampai tanda batas.

1.2 Larutan NaOH 0,1075 M

Ditimbang 0,43 gram NaOH kemudian dilarutkan dengan 25 mL akuades dalam gelas beaker 100mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100mL dan diencerkan sampai tanda batas.

Diambil larutan asam oksalat dihidrat 10mL ditetesi 3 tetes indikator pp dan dititrasi dengan NaOH.



Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Larutan

2.1 Larutan Asam Oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

$$\begin{aligned} \text{massa } \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= 0,6039 \text{ g} \\ \text{BM } \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= 126 \text{ g/mol} \\ [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] &= \frac{0,6039 \text{ g}}{126 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}} \\ &= 0,0479 \text{ mol/L} \end{aligned}$$

2.2 Larutan NaOH

$$\begin{aligned} \text{massa NaOH} &= 0,43 \text{ g} \\ \text{BM NaOH} &= 40 \text{ g/mol} \\ [\text{NaOH}] &= \frac{0,43 \text{ g}}{40 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}} \\ &= 0,1075 \text{ mol/L} \end{aligned}$$

Pembakuan larutan NaOH

$$V \text{ titrasi NaOH} = 15,2 \text{ mL}$$

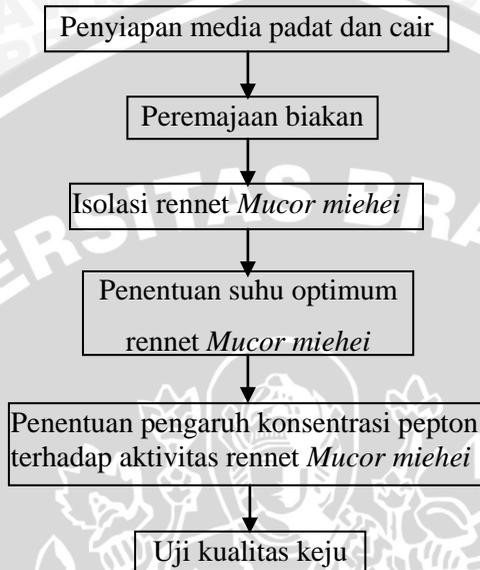


$$\text{mol NaOH} = 2 \text{ mol H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

$$M. 0,0152 \text{ L} = 2 \cdot 0,0479 \text{ mol/L} \times 0,01 \text{ L}$$

$$M \text{ NaOH} = 0,06303 \text{ mol/L}$$

Lampiran 3. Alur Penelitian



Lampiran 4. Diagram Kerja Penelitian

4.1. Pembuatan Media Padat

50 g kentang

- Dikupas, dicuci, dan dipotong kecil-kecil
- Ditambah 200 mL akuades
- Direbus sampai mendidih
- Disaring

filtrat

- Ditambah 5 g dekstrosa sambil dipanaskan
- Ditambah asam sitrat sampai pH 5
- Ditambah 5 g agar sambil dipanaskan hingga mendidih
- Dipipet 5 mL
- Dimasukkan tabung reaksi
- Ditutup kapas dan dilapisi kertas sampul
- Disterilkan dengan autoclave 121°C, 15 psi selama 15 menit
- Diletakkan pada posisi miring dan dibiarkan mengeras

Media padat

4.2. Penanaman Biakan Murni

Kultur Murni *Mucor miehei*

- Dipindahkan secara aseptis dengan digoreskan pada tabung reaksi yang berisi media padat
- Dibakar mulut tabung dengan api dari bunsen, kemudian ditutup kapas
- Diinkubasi 4 hari dengan suhu 37°C

Hasil

4.3. Pembuatan Media Cair

50 g kentang

- Dikupas, dicuci, dan dipotong kecil-kecil
- Ditambah 200 mL akuades
- Direbus sampai mendidih
- Disaring

filtrat

- Dimasukkan Erlenmeyer
- Ditambah 5 g dekstrosa sambil dipanaskan
- Ditambah asam sitrat sampai pH 5
- Ditambah pepton dengan variasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8% (w/v)
- Ditutupi kapas dan dilapisi kertas sampul
- Disterilkan dengan autoclave 121°C, 15 psi selama 15 menit

Media cair

4.4. Isolasi Rennet *Mucor miehei*

Kultur Murni *Mucor miehei*

- Dipindahkan secara aseptis dengan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi media cair
- Dibakar mulut tabung dengan api dari bunsen, kemudian ditutupi kapas
- Diinkubasi 4 hari dengan suhu 37°C
- Disaring

Hasil

4.5. Penentuan Pengaruh Konsentrasi Pepton Terhadap Aktivitas Rennet *Mucor miehei*

Susu 200mL

- Dipasteurisasi pada suhu 63-67°C selama 30 menit
- Didinginkan sampai suhu 30°C
- Ditambah 2 gram starter bakteri asam laktat
- Dioven pada suhu 40°C selama 30 menit
- Ditambah 2 gram rennet *Mucor miehei* dengan variasi konsentrasi pepton 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, dan 8% (^{w/v})
- Didiamkan selama 7 hari
- Disaring

curd

- ditimbang

keju

whey

4.6. Uji Kualitas Keju

- Penentuan kadar asam laktat

10,2 g Keju

- Dimasukkan labu ukur
- Ditambah aquadest sampai tanda batas, dihomogenkan, dan disaring
- Diambil 50 mL filtrat, dimasukkan Erlenmeyer
- Ditambah 2 tetes indikator pp 1%
- Dititrasi dengan NaOH 0,063 M sampai berwarna merah muda

Hasil

- Penentuan kadar air

2,4020 g sampel keju

- Dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya
- Dioven dengan suhu 105°C selama 5 jam
- Ditimbang sampai konstan

Hasil

- Penentuan kadar abu

4,5628 g sampel

- Dimasukkan ke dalam cawan pengabuan yang telah diketahui beratnya
- Dimasukkan dalam oven 100°C
- Dimasukkan dalam tanur 500°C selama 3 jam atau sampai terbentuk abu dengan berat yang tetap
- Ditimbang

Hasil

- Penentuan kadar protein dengan metode makro kjeldahl

1,8357 g sampel

- Ditambah 20mL H₂SO₄ pekat dan ½ tablet Kjeldahl
- Dididihkan sampai berhenti berasap dan jernih dalam perangkap dekstruksi 1,5-2jam dalam ruangan asam
- Bahan dididihkan dan ditambah 75 mL NaOH 45% dan indikator pp 2-3 tetes sampai berubah warna
- Didestilasi dengan destilat sebanyak 100mL ditampung dalam Erlenmeyer yang berisi larutan jenuh asam borat 3% (± 20mL) dan 3 tetes indikator MO
- Dititrasi dengan 0,252 M H₂SO₄

Hasil

- Penentuan pH

3,5 g sampel

- Dilarutkan dalam 100ml aquadest
- Diukur pH nya dengan elektroda pH meter yang telah distandarisasi dengan buffer pH 4 dan 7

Hasil

- Uji organoleptik

Pengujian ini dilakukan dengan menyodorkan sampel kepada 20 responden, selanjutnya responden diminta memberikan penilaian terhadap sampel meliputi aroma, rasa, tekstur, dan warna. Pengujian menggunakan uji skala hedonik yang terdiri dari 7 nilai dari 7 pernyataan, yaitu:

- 1 = sangat tidak suka
- 2 = tidak suka
- 3 = agak tidak menyukai
- 4 = netral
- 5 = agak menyukai
- 6 = menyukai
- 7 = sangat menyukai

Tabel L.4 : kuisisioner uji organoleptik

Kuisisioner uji organoleptik (<i>hedonic scale</i>)				
Nama panelis :				
Tanggal :				
Nama produk : keju segar				
<p>Dihadapan anda tersedia keju segar dengan ini kami meminta anda untuk memberikan penilaian terhadap aroma, rasa, tekstur, dan warna dari produk sesuai dengan tingkat kesukaan anda, setiap kali selesai pengujian tuliskan 'numeric' yang mewakili kesukaan anda pada tabel berdasarkan kode sampel.</p>				
sampel	Pengujian			
	Aroma	Rasa	Tekstur	Warna
Keju segar				
<p>Keterangan,</p> <ul style="list-style-type: none"> 1 = sangat tidak suka 2 = tidak suka 3 = agak tidak menyukai 4 = netral/ biasa 5 = agak menyukai 6 = menyukai 7 = sangat menyukai 				

Lampiran 5. Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh penambahan pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei* yang diketahui dari jumlah keju yang dihasilkan maka harus dianalisa dengan menggunakan pola RAL sebagai berikut:

Tabel L.5.1. Pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*:

[C] pepton (%)	jumlah keju ($\frac{\text{keju}(g)}{\text{susu}(ml)} \times 100\%$)			Total	rerata
	1	2	3		
0	41,5	39,9	35,1	116,5	38,83
1	43	42,1	36,4	121,5	40,5
2	43,5	43	39,6	126,1	42
3	45	46	41	132	44
4	46,5	47	43	136,5	45,5
5	50	51,2	47,8	149	49,67
6	45,4	46	44	135,4	45,13
7	42	41,5	39,3	122,8	40,93
8	38,1	38,1	34,45	110,65	36,88
				1150,45	

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh tiap-tiap perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$FK = \frac{(\text{total ulangan})^2}{\text{jumlah seluruh observasi}}$$

$$= \frac{1150,45^2}{9 \times 3} = 49019,8223$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

- a. Jumlah kuadrat Total (JKT)

$$JKT = (41,5)^2 + (39,9)^2 + \dots + (34,45)^2 - 49019,8223$$

$$= 464,6802$$

b. Jumlah kuadrat perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{\Sigma(\text{jumlah hasil perlakuan})^2}{n} - FK$$

$$= \frac{(116,5)^2 + (121,5)^2 + \dots + (110,65)^2}{3} - 49019,8223$$

$$= 363,3052$$

c. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

$$= 464,6802 - 363,3052$$

$$= 101,375$$

3. Menghitung Kuadrat Tengah (KT) setiap perlakuan

a. Kuadrat Total Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JK \text{ perlakuan}}{\text{db perlakuan}} = \frac{363,3052}{8}$$

$$= 45,413$$

b. Kuadrat Total Galat (KTG)

$$KTG = \frac{JK \text{ galat}}{\text{db galat}} = \frac{101,375}{18} = 5,632$$

4. Menghitung nilai F

$$F \text{ hitung} = \frac{KT \text{ perlakuan}}{KT \text{ galat}} = \frac{45,413}{5,632} = 8,063$$

Tabel L.5.2 Analisis ragam pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel 5%
Perlakuan	8	363,3052	45,413	8,063	2,51
Galat	18	101,375	5,632		
Total	26	464,6802			

F hitung > F tabel, ada perbedaan yang nyata dalam perlakuan pengaruh penambahan pepton, sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan uji BNT.

5. Menghitung nilai BNT 5%

$$BNT_{(0,05)} = t_{\text{dbg}}^{\alpha/2} \sqrt{\frac{2KTG}{n}}$$

$$= 2,101 \sqrt{\frac{2 \times 5,632}{3}} = 4,071$$

Tabel L.5.3. Hasil uji BNT 5% pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas rennet *Mucor miehei*:

C]	[C]	8	0	1	7	2	3	6	4	5	Nota
(%)	(%)										si
	rerata	36,88	38,83	40,5	40,93	42	44	45,13	45,5	49,67	
8	36,88	0									a
0	38,83	1,95	0								a
1	40,5	3,62	1,67	0							a
7	40,93	4,05	2,1	0,43	0						a
2	42	5,12	3,17	1,5	1,07	0					a
3	44	9,12	5,17	3,5	3,07	2	0				a
6	45,13	8,25	6,3	4,63	4,2	3,13	1,13	0			a
4	45,5	8,62	6,67	5	4,57	3,5	1,5	0,37	0		a
5	49,67	12,79	10,84	9,17	8,74	7,67	5,67	4,54	4,17*	0	b

6. Uji hipotesis

H_0 : diterima

Jadi, penambahan pepton dengan konsentrasi tertentu dapat meningkatkan aktivitas rennet *Mucor miehei* yang diketahui dari jumlah keju yang dihasilkan. Yaitu pada penambahan pepton 5%.

Lampiran 6. Uji Kualitas Keju

6.1. Penentuan Total Asam Laktat

W sampel	= 10,2 gram
M. NaOH	= 0,06303 mol/L
V. NaOH titrasi	= 20 mL

$$\begin{aligned}\% \text{ asam laktat} &= \frac{V_{\text{NaOH}} \times M_{\text{NaOH}} \times 0,09 \times fp \times 100\%}{W_{\text{Sampel}}} \\ &= \frac{20 \text{ mL} \times 0,06303 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 0,09 \text{ mek} \times 2 \times 100\%}{10,2 \text{ g}} \\ &= 2,22 \%\end{aligned}$$

6.2. Penentuan Kadar Air

Berat awal (W_{awal})	= 2,0076 gram
Berat akhir (W_{akhir})	= 0,4216 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar air sampel} &= \frac{W_{\text{awal}} - W_{\text{akhir}}}{W_{\text{awal}}} \times 100\% \\ &= \frac{2,0076 - 0,4216}{2,0076} \times 100\% \\ &= 79 \%\end{aligned}$$

6.3. Penentuan Kadar Abu

Berat awal (W_{awal})	= 4,5628 gram
Berat abu (W_{abu})	= 0,0032 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu sampel} &= \frac{W_{\text{abu}}}{W_{\text{awal}}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0032}{4,5628} \times 100\% \\ &= 0,07\%\end{aligned}$$

6.4. Penentuan Kadar Protein

W sampel = 1,8357 gram

Volume titrasi = 3,6 mL

M H₂SO₄ = 0,252 M

$$\begin{aligned}\%N &= \frac{28 \times V.H_2SO_4 \times M H_2SO_4}{W \text{ sampel} \times 1000} \times 100\% \\ &= \frac{28 \times 3,6 \text{ mL} \times 0,252 \text{ M}}{1,8357 \text{ gram} \times 1000} \times 100\% \\ &= 1,38 \%\end{aligned}$$

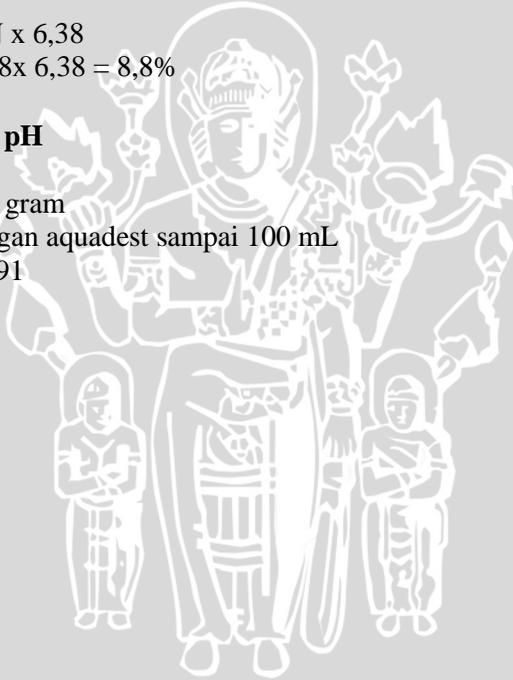
$$\begin{aligned}\% \text{ protein} &= \%N \times 6,38 \\ &= 1,38 \times 6,38 = 8,8\%\end{aligned}$$

6.5. Penentuan pH

W sampel = 3,5 gram

Diencerkan dengan aquadest sampai 100 mL

pH diperoleh 4,91



6.6. Uji Organoleptik

Tabel L.6.1: Data uji organoleptik

konsumen	Pengujian keju segar			
	Aroma	Rasa	Tekstur	Warna
1	4	3	5	6
2	5	4	6	6
3	5	3	6	6
4	4	2	6	6
5	5	3	6	6
6	5	4	6	5
7	5	4	5	5
8	4	2	5	5
9	4	3	5	5
10	4	3	6	6
11	4	3	6	6
12	4	4	6	6
13	4	4	5	5
14	4	2	5	5
15	5	3	5	5
16	5	4	4	6
17	5	4	4	6
18	4	4	4	6
19	5	4	5	5
20	4	2	5	5
total	89	63	105	111
Rata-rata	4,45	3,15	5,25	5,55

Keterangan:

- 1 = sangat tidak suka
- 2 = tidak suka
- 3 = agak tidak menyukai
- 4 = netral/ biasa
- 5 = agak menyukai
- 6 = menyukai
- 7 = sangat menyukai

Lampiran 7. Gambar Hasil Penelitian



Gambar L.7.1 Keju segar



Gambar L.7.2 Whey

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

