

Pengaruh Enzim Proteolitik dengan Bakteri Asam Laktat Probiotik terhadap Karakteristik Dadih Susu Sapi

MISKIYAH¹, S. USMIATI¹ dan MULYORINI²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian

²Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Email: miski_pascapanen2005@yahoo.co.id

(Diterima Dewan Redaksi 27 September 2011)

ABSTRACT

MISKIYAH, S. USMIATI and MULYORINI. 2011. Effect of proteolytic enzymes with probiotic of lactic acid bacteria on characteristics of cow milk dadih. *JITV* 16(4): 304-311.

Texture of dadih from cow milk tends to be soft, while dadih from buffalo milk have more compact and solid texture. Enzyme is one of food additives that may produce fermented products made from cow milk that has same characteristic as dadih's from buffalo milk. Lactic acid bacteria in fermented milk affect product characteristics. This study aimed to determine the effect of combination of enzyme and probiotic lactic acid bacteria on the characteristics of cow's milk dadih. The study was aimed designed using completely randomized design (CRD) with 9 treatments, A: renin 2 ppm + 3% *Lactobacillus casei*; B: renin 2 ppm + 3% *B. longum*; C: renin 2 ppm + 1.5% *L. casei* + 1.5% *B. longum*; D: crude extract of *Mucor sp.* 0.5 ppm + 3% *L. casei*; E: crude extract of *Mucor sp.* 0.5 ppm + 3% *Brevibacterium longum*; F: crude enzyme extract of *Mucor sp.* 0.5 ppm + 1.5% *L. casei* + 1.5% *B. longum*; G: papain 100 ppm + 3% *L. casei*; H: papain 100 ppm + 3% *B. longum*; and I: papain 100 ppm + 1.5% *L. casei* + 1.5% *B. longum*. Each treatment was repeated two times. Results showed that combination of renin 2 ppm with 3% of *L. casei* resulted in the best characteristics of cow milk dadih with viscosity 2278 cP; pH 5.63; titrable acidity 0.56%; moisture 75.03%; protein 6.80%; fat 3.35%; carbohydrate 13.21%; LAB total 6.90×10^{10} cfu/g; it also had a flavor, aroma, texture, and general acceptance that mostly preferred by panelists.

Key Words: Dadih, Cow Milk, Enzyme, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*

ABSTRAK

MISKIYAH, S. USMIATI dan MULYORINI. 2011. Pengaruh enzim proteolitik dengan bakteri asam laktat probiotik terhadap karakteristik dadih susu sapi. *JITV* 16(4): 304-311.

Tekstur dadih dari susu sapi cenderung lembek, sedangkan dadih dari susu kerbau bertekstur lebih kompak dan padat. Enzim merupakan salah satu bahan tambahan pangan yang kemungkinan dapat menghasilkan produk fermentasi berbahan baku susu sapi yang menyerupai karakteristik dadih susu kerbau. Bakteri asam laktat dalam fermentasi susu mempengaruhi karakteristik produk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui enzim dan bakteri asam laktat probiotik terhadap karakteristik dadih susu sapi. Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan yaitu : A: renin 2 ppm + *L. casei* 3%; B: renin 2 ppm + *B. longum* 3%; C: renin 2 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%; D: ekstrak kasar enzim *Mucor sp.* 0,5 ppm + *L. casei* 3%; E: ekstrak kasar enzim *Mucor sp.* 0,5 ppm + *B. longum* 3%; F : ekstrak kasar enzim *Mucor sp.* 0,5 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%; G: papain 100 ppm + *L. casei* 3%; H: papain 100 ppm + *B. longum* 3%; dan I : papain 100 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%. Setiap perlakuan dua kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi renin 2 ppm dengan *L. casei* 3% menghasilkan karakteristik dadih susu sapi terbaik yaitu memiliki viskositas 2278 cP; pH 5,63; total asam tertitrasi 0,56%, air 75,03%, protein 6,80%, lemak 3,35%, karbohidrat 13,21%, total BAL $6,90 \times 10^{10}$ cfu/g, memiliki rasa, aroma, tekstur, dan penerimaan umum yang paling disukai oleh panelis.

Kata Kunci: Dadih, Susu Sapi, Enzim, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*

PENDAHULUAN

Dadiah merupakan susu fermentasi tradisional khas Sumatera Barat yang dibuat dengan memasukkan susu kerbau segar tanpa memasakan ke dalam tabung bambu dan ditutup dengan daun pisang, dibiarkan terfermentasi pada suhu ruang selama 2 hari (SURONO, 2003). Susu akan terfermentasi oleh bakteri asam laktat yang terdapat pada susu kerbau (SURONO, 2000).

Saat ini dadiah hanya dikonsumsi oleh masyarakat Sumatera Barat, belum diproduksi dan dijual secara komersial, sehingga banyak yang belum mengetahui potensi dadiah bagi kesehatan (PATO, 2003a). Konsumsi dadiah atau produk yang mengandung bakteri asam laktat (BAL) asal dadiah berpotensi mencegah kanker usus (PATO, 2003b). Hal ini kemungkinan BAL mampu menghambat terjadinya mutagenisitas dari makanan. Mekanisme efek antimutagenik berlangsung oleh

adanya ikatan antara mutagen/karsinogen dengan peptidoglikan pada dinding sel BAL, kemudian dikeluarkan melalui feses dan urin.

Karakteristik fisik dan kimia bahan baku susu yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan karakteristik dadih. Tekstur dadih dari susu sapi cenderung lembek sedangkan dadih dari susu kerbau bertekstur lebih kompak dan padat. Oleh karena itu, perlu memodifikasi susu sapi tersebut misalnya menggunakan bahan tambahan pangan (BTP) dan atau BAL. Penggunaan BTP bertujuan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. Bahan tambahan pangan yang kemungkinan dapat menghasilkan karakteristik produk serupa dadih susu kerbau diantaranya enzim yang bersifat merusak kestabilan misel kasein, yaitu enzim proteolitik atau protease, sehingga membentuk gumpalan.

Enzim proteolitik misalnya rennet, renin, dan papain. Aktivitas proteolitik merupakan tingkat keaktifan enzim untuk menghidrolisis protein. Rennet dan renin merupakan enzim yang digunakan untuk menggumpalkan susu. Enzim yang paling umum diisolasi dari rennet adalah *chymosin* (PHILLIPS, 2011). Rennet yang banyak digunakan sebagai pengganti rennet anak sapi muda adalah rennet mikroba seperti dari kapang dan bakteri. Beberapa studi banyak dilakukan untuk mencari alternatif enzim yang menyerupai renin dari mikroba untuk menggantikan renin pada pembuatan keju (ADDIS *et al.*, 2008). Persyaratan yang harus dipenuhi adalah mampu melakukan aktivitas penggumpalan susu dengan baik namun mempunyai aktivitas proteolitik paling kecil untuk mengurangi pelarutan *curd* (HASHIM, 1999). Kelebihan rennet dari mikroba adalah biaya untuk memproduksi lebih murah. Jenis kapang yang biasa digunakan untuk menghasilkan rennet adalah *Bacillus sphaericus* (EL-BENDARY *et al.*, 2007), *Cryphonectria parasitica* (TRUJILLO *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2004), dan *Rhizomucor miehei* (TRUJILLO *et al.*, 2000).

Rennet dan renin merupakan istilah umum untuk enzim yang digunakan untuk mengkoagulasi susu. *Chymosin* adalah enzim utama yang diisolasi dari rennet, selain diperoleh dari hewan, sumber lain rennet adalah mikroba atau sayuran. Namun, *chymosin* asal mikroba (asal kapang dan bakteri) kurang efektif (PHILLIPS, 2011).

Renin termasuk enzim protease asam, yaitu enzim yang mempunyai sisi aktif pada dua gugus karboksil (RAO *et al.*, 1998). Disamping terdapat renin, dalam rennet juga terkandung enzim protease lain yaitu pepsin. Renin bekerja menggumpalkan susu melalui dua tahap reaksi, yaitu secara enzimatik dan non enzimatik. Kedua reaksi tersebut berlangsung secara terpisah, namun tidak dapat dibedakan secara visual (RAHMAN *et al.*, 1991). Enzim renin akan merusak kestabilan misel kasein. Renin memecah ikatan spesifik antara fenilalanin dan metionin, merusak bagian yang

kaya karbohidrat (glikoprotein) sehingga terbentuk para-k-kasein. Sisa kasein tidak dapat mempertahankan kestabilan misel karena hilangnya bagian asam dari molekul. Kemudian k-kasein saling mendekat dan bersatu dengan ikatan hidrofobik, membentuk jaringan tiga dimensi yang merangkap fase cairan dari susu. Renin tidak memindahkan kalsium dari misel, sehingga terbentuk kalsium-fosfo-kaseinat yang keras dan elastis (CHARLEY, 1982).

Papain adalah suatu protease sulfhidril dari getah pepaya *carica*. Sementara itu, protease kedua yaitu *cymopapain* dan *lysozyme* (ANONYMOUS, 2011). Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Aktivitas katalitiknya dipengaruhi oleh karakteristik getah pepaya serta proses pengeringan getah (SABARIYYAH, 2005). Penggunaan papain sebagai enzim proteolitik mempunyai beberapa kelebihan, antara lain mudah didapat, tersedia dalam jumlah banyak dengan harga murah, tahan pada kondisi asam dan basa, serta suhu tinggi (ANONIMUS, 1991).

Penambahan BTP pada pembuatan dadih susu sapi bertujuan mempercepat terjadinya proses penggumpalan kasein oleh asam laktat yang dihasilkan BAL selama fermentasi. Mikroba yang berperan pada fermentasi susu adalah golongan BAL yang memproduksi asam laktat serta metabolit sekunder yang erat hubungannya dengan flavor khas produk tertentu (RAHMAN *et al.*, 1991).

Lactobacillus casei merupakan BAL homofermentatif yang dapat berkembang biak dalam saluran pencernaan dan tahan terhadap enzim pencernaan. Mikroba tersebut mengeluarkan peptidoglikan yang mendukung pertahanan alamiah dan merangsang respon kekebalan dalam usus tubuh inang. Selain itu, *L. casei* dapat meningkatkan sistem kekebalan dengan memproduksi senyawa bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam usus halus (WAHYUDI dan SAMSUNDARI, 2008).

Bifidobacterium longum merupakan BAL heterofermentatif. Metabolit utama *Bifidobacterium* sp. adalah asam asetat. *Bifidobacterium longum* menghasilkan asam laktat dan asam asetat dengan rasio 2 : 3 dari fermentasi laktosa sehingga dapat menurunkan pH usus dan menghalangi masuknya bakteri yang tidak diinginkan ke dalam tubuh, mempunyai aktivitas antitumor, dan menekan timbulnya tumor kolon (WAHYUDI dan SAMSUNDARI, 2008). Mikroba tersebut banyak ditemukan dalam usus besar dalam konsentrasi tinggi, membantu mencegah kolonisasi bakteri patogen dengan cara menempel pada dinding usus dan mendesak bakteri merugikan dan kapang keluar dari tubuh.

Berdasarkan uraian mengenai kemampuan BTP dan BAL dalam mempengaruhi karakteristik pangan, maka diharapkan dapat menjadi salah satu solusi dalam

pemecahan masalah keterbatasan produksi susu kerbau pada pembuatan dadih. Sehingga diharapkan akan menghasilkan dadih susu sapi dengan karakteristik menyerupai dadih susu kerbau. Informasi penggunaan BTP dan BAL dalam pembuatan dadih susu sapi masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian pengaruh penggunaan BTP dan BAL pada pembuatan dadih susu sapi perlu dilakukan.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pascapanen Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bahan yang digunakan pada penelitian adalah susu sapi segar (berasal dari pondok pesantren Daarul Falah, Bogor), susu skim, starter *Lactobacillus casei* (*L. casei*), dan *Bifidobacterium longum* (*B. longum*), renin (Marschall M-50), papain (Paya), dan *Mucor* sp. (diisolasi dari keju *creamy camembert Australian Gold*, Australia). Media yang digunakan adalah *deMan Rogosa Sharpe Agar* (Oxoid), *deMan Rogosa Sharpe Broth* (Oxoid), *Potato Dextrose Agar* (Oxoid), dan bahan kimia untuk analisis.

Persiapan kultur kerja

Bifidobacterium longum dan *Lactobacillus casei* dari agar miring diaktivasi sebanyak 1 ose ke dalam 10 ml media cair *deMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) steril, diinkubasi 37°C selama 24 jam. Kultur aktif sebanyak 1% dipropagasi pada media MRSB, diinkubasi 37°C selama 24 jam sebagai kultur induk. Sebanyak 3% kultur induk dibuat kultur *intermediate* pada media dan kondisi sama dengan kultur induk. Untuk membuat kultur kerja dalam pembuatan dadih susu sapi, sebanyak 1% kultur *intermediate* diinokulasi ke dalam susu steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam untuk *L. casei* dan 3 jam untuk *B. longum*.

Penentuan konsentrasi susu sapi untuk membuat dadih

Susu segar ditambah 3% susu skim dipanaskan pada suhu 60°C menjadi media susu pasteurisasi tanpa penguapan, diuapkan 25%, dan diuapkan 50%. Starter 3% *B. longum* ditambah 150 ppm enzim papain diinokulasi ke dalam tiga media susu tersebut untuk membuat dadih. Selanjutnya tekstur dadih susu sapi diamati. Konsentrasi susu sapi yang menghasilkan tekstur produk yang kompak dan padat menyerupai dadih susu kerbau yang dipilih untuk digunakan pada penelitian utama.

Penentuan konsentrasi enzim proteolitik

Tahap ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi terbaik setiap BTP yaitu enzim (papain dan rennin), dan

ekstrak kasar enzim dari *Mucor* sp. (kapang). Papain digunakan berdasarkan aplikasinya pada keju. Konsentrasi papain 200 ppm menghasilkan keju dengan aroma, tekstur, rasa, dan warna terbaik (SUMARTO, 1984). Konsentrasi papain yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100, 150, 200, dan 250 ppm, sedangkan konsentrasi rennin adalah 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Pemilihan penggunaan konsentrasi rennin didasarkan pada aplikasinya pada keju (DAULAY, 1991). Konsentrasi ekstrak enzim dari *Mucor* sp. adalah 0,25; 0,5 dan 1 ppm ditentukan dengan *trial and error*. Isolat *Mucor* sp. berasal dari keju *camembert*. Pemilihannya berdasarkan pertimbangan bahwa keju ini lunak (tidak terlalu padat) sehingga diharapkan menghasilkan dadih bertekstur padat dan lunak.

Tahap pembuatan ekstrak enzim *Mucor* sp.

Isolat kapang ini diaktifkan pada *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan diinkubasi selama 1-2 hari pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan propagasi untuk diambil ekstraknya dengan mengacu metode KHUSNIATI dan TUNJUNGSARI (2002). Miselium *Mucor* sp. pada media PDA dilepas dengan jarum ose steril, dimasukkan ke dalam 15 ml aquadest steril dan dihomogenkan dengan *vortex* selama 15 menit untuk mendapat suspensi. Nilai *Optical Density* suspensi *Mucor* sp. diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 540 nm. Jika nilai OD suspensi >0,5, maka diencerkan kembali dengan aquadest steril. Sebanyak 1,76 ml suspensi biak *Mucor* sp. diinokulasi ke dalam media steril (17,5 g media padat bekatul dan onggok dengan perbandingan 3 : 1 pada cawan petri dan telah disterilisasi), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Media yang telah ditumbuhi kapang dipindah ke dalam erlenmeyer bersama 52,5 ml aquadest steril dan 0,048 g asam sorbat. Proses ekstraksi dilakukan dengan *shaker* selama 75 menit, dan kemudian ekstrak disaring ditampung filtratnya.

Sebelum digunakan untuk membuat dadih, aktivitas koagulasi tiap BTP diuji dengan metode koagulasi (NASUTION, 1991). Sebanyak 10 ml susu dalam tabung reaksi diatur suhunya pada 30°C, kemudian ditambah 1 ml renin. Waktu koagulasi diamati saat timbul gumpalan-gumpalan kecil pada dinding tabung

Aktivitas koagulasi diperoleh menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas koagulasi (RU/mL)} = \frac{10 \times Q}{T \times R}$$

Keterangan:

- Q : Jumlah susu yang digunakan (mililiter)
- R : Jumlah enzim yang digunakan
- T : Waktu koagulasi (menit)
- RU/mL : Rennin unit per mililiter

Penelitian utama

Konsentrasi terbaik setiap BTP selanjutnya dikombinasi dengan dua jenis BAL (*L. casei* dan *B. Longum*), baik secara tunggal atau kombinasi dengan perbandingan 1 : 1. Metode pembuatan dadih menggunakan BTP mengacu penelitian sebelumnya (YODHABRATA, 2010). Susu sapi ditambah 3% susu skim dan 0,01% CMC, lalu dihomogenisasi. Campuran tersebut dipasteurisasi, dan dilakukan penguapan atau *toning* pada suhu 60°C sampai volume mencapai setengah volume awal. Setelah didinginkan hingga suhu $\pm 30^\circ\text{C}$, susu dituang ke dalam *cup* plastik dan ditambah masing-masing BTP dan BAL sesuai perlakuan.

Dadiah susu sapi yang dihasilkan diamati atas parameter viskositas, pH, total asam tertitrasi, total BAL, proksimat (kadar protein, air, lemak, karbohidrat), dan uji hedonik (warna, rasa, aroma, dan penerimaan umum) terhadap produk. Uji organoleptik (hedonik) dilakukan pada 10 orang panelis terlatih, dengan parameter penilaian meliputi kesukaan terhadap sensori warna, rasa, aroma, dan tekstur dadiah menggunakan skala: (1) sangat tidak suka; (2) tidak suka; (3) agak suka; (4) suka; dan (5) sangat suka. Pemilihan perlakuan terbaik didasarkan pada hasil pengujian fisik, kimia, mikrobiologi, serta uji hedonik terhadap dadiah susu sapi.

Rancangan penelitian

Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan yaitu: A: renin 2 ppm + *L. casei* 3%; B: renin 2 ppm + *B. longum* 3%; C: renin 2 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%; D: ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. 0,5 ppm + *L. casei* 3%; E: ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. 0,5 ppm + *B. longum* 3%; F: ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. 0,5 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%; G: papain 100 ppm + *L. casei* 3%; H: papain 100 ppm + *B. longum* 3%; dan I: papain 100 ppm + *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%; masing-masing dua ulangan. Terdapat satu faktor yang dikaji, yaitu faktor kombinasi penambahan jenis BTP dengan BAL. Data yang dihasilkan dianalisis dengan analisis ragam, apabila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjut *Duncan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan konsentrasi susu sapi

Kegiatan ini bertujuan untuk menentukan penanganan yang tepat terhadap susu sapi sebagai bahan baku pembuatan dadiah. Hasil menunjukkan bahwa proses penguapan hingga 50% (*v/v*) dari volume awal susu terpilih untuk digunakan pada penelitian

selanjutnya, karena menghasilkan karakteristik terbaik dadiah susu sapi.

Penentuan konsentrasi enzim proteolitik

Pemilihan konsentrasi bahan tambahan pangan yang digunakan pada penelitian utama menunjukkan bahwa dadiah yang dihasilkan dengan penambahan renin pada semua tingkat konsentrasi, menghasilkan dadiah dengan warna, aroma, dan rasa yang relatif sama. Berdasarkan pertimbangan ekonomis, konsentrasi enzim renin 2 ppm yang dipilih sebagai konsentrasi terbaik yang digunakan dalam penelitian utama.

Hasil pengujian kualitatif terhadap dadiah dengan penambahan ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. pada semua tingkat konsentrasi, menghasilkan warna dan aroma yang relatif sama, namun pada konsentrasi 0,25 ppm menghasilkan tekstur yang lebih lembek dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 dan 1 ppm. Hasil uji hedonik dengan mempertimbangkan aspek ekonomis, konsentrasi ekstrak kapang *Mucor* sp. 0,5 ppm yang dipilih sebagai konsentrasi terbaik yang digunakan dalam penelitian utama.

Penggunaan konsentrasi enzim papain 100 maupun 150 ppm memberikan hasil yang relatif sama terhadap semua parameter penilaian. Dengan mempertimbangkan aspek ekonomis, konsentrasi enzim papain 100 ppm yang digunakan pada penelitian utama.

Penelitian utama

Hasil penelitian pendahuluan ditentukan bahwa penanganan susu sapi terbaik adalah penguapan 50%, konsentrasi enzim proteolitik terbaik adalah 2 ppm renin; 0,5 ppm ekstrak kasar enzim *Mucor* sp.; dan 100 ppm papain. Masing-masing konsentrasi terbaik dikombinasikan dengan *L. casei* dan *B. longum* secara tunggal dan kombinasinya dengan perbandingan 1 : 1.

Karakteristik fisikokimia

pH dan total asam tertitrasi(TAT)

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan enzim proteolitik berpengaruh nyata terhadap nilai total asam dadiah dan pH dadiah. Penggunaan enzim renin menghasilkan dadiah dengan nilai pH yang hampir sama dengan enzim yang berasal dari ekstrak kasar *Mucor* sp., dengan nilai TAT lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan enzim yang lain ($P < 0,05$), seperti terlihat pada Tabel 1.

Perlakuan enzim renin 2 ppm dengan kombinasi starter *L. casei* 3% menunjukkan nilai pH yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan dadiah yang dibuat dengan starter *B. longum* 3% maupun kombinasi *L. casei* 1,5% + *B. longum* 1,5%. Sementara itu, jenis starter yang

digunakan tidak mempengaruhi nilai TAT dadih, seperti terlihat pada Tabel 2. Nilai TAT yang tinggi diduga karena banyaknya jumlah laktosa yang diubah menjadi asam laktat. Dihasilkannya asam laktat dalam jumlah yang cukup tinggi, kemungkinan berhubungan dengan aktivitas BAL yang optimum. Bakteri asam laktat mampu mendegradasi kasein menjadi asam-asam amino melalui sistem proteolitik yang kompleks dengan melibatkan enzim protease, peptidase, *amino acid-carriers* dan *peptide-carriers* (WIDODO, 2003). Namun proses tersebut biasanya dilakukan setelah semua asam amino dan peptida bebas pada susu habis dikonsumsi oleh sel bakteri (MULHOLLAND, 1994), sehingga dengan penambahan enzim proteolitik kinerja BAL semakin optimum karena ketersediaan asam amino dan peptida yang cukup.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan enzim terhadap karakteristik dadih susu sapi

Enzim	pH	TAT	Viskositas	Air
Renin	5,45 ^a	0,58 ^b	2465,00 ^b	73,34 ^a
Ekstrak kasar <i>Mucor</i> sp.	5,60 ^a	0,81 ^c	2994,33 ^a	73,64 ^a
Papain	5,04 ^b	1,21 ^a	2989,33 ^a	73,58 ^a

*Superskrip berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Seharusnya nilai TAT berbanding terbalik dengan pH, namun pada hasil penelitian ini tidak semuanya menunjukkan hal tersebut. Menurut TAMIME dan ROBINSON (1999), hubungan antara asam tertirasi dengan pH tidak dapat berlaku dengan ketat dalam setiap kondisi apalagi dalam suatu sistem *buffer* yang tinggi, seperti yoghurt ataupun produk susu fermentasi lainnya. Penambahan ingredien akan meningkatkan kapasitas *buffer*, kemungkinan juga meningkatkan waktu fermentasi sehingga menghambat penurunan pH (HELLAND *et al.*, 2004; OSTLIE *et al.*, 2003). Akibatnya aktivitas BAL terhambat. Pertumbuhan *Bifidobacterium* optimal pada pH 6-7 (GOMES dan MALCATA, 1999), dan pada pH di bawah 4 kemungkinan tidak kondusif untuk strain tertentu tetap *survive* (HELLAND *et al.*, 2004). Laktosa merupakan substrat utama untuk produksi asam pada susu. Namun fermentasi tersebut tidak terbatas dengan jumlah laktosa yang ada, tetapi oleh produksi asam laktat yang mengakibatkan pH turun sehingga menghambat kinerja *starter* mikroba (NARVHUS *et al.*, 1998).

Kadar air

Kadar air dalam suatu bahan pangan dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme dalam bahan

pangan. Hasil analisis perlakuan enzim proteolitik tidak berpengaruh terhadap kadar air dadih, terlihat pada Tabel 1. Nilai kadar air dadih penelitian lebih rendah dibandingkan dengan nilai kadar air dadih penelitian sebelumnya (YODHABRATA, 2010), maupun dengan dadih susu kerbau. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan enzim dan BAL mampu menurunkan nilai kadar air produk. Ketiga jenis enzim yang digunakan bersifat larut dalam air, sehingga terjadi sintesis air oleh enzim tersebut. Hidrolisis protein oleh enzim protease akan memutuskan ikatan peptida yang terdapat pada protein. Proses pemutusan ini membutuhkan air, makin aktif daya proteolitiknya maka makin banyak kebutuhan akan air, sehingga akan menurunkan nilai aktivitas air bahan (WINARNO, 1997). Selain itu proses pasteurisasi dan penguapan susu sapi sebesar 50% (v/v), kemungkinan juga mengakibatkan terjadinya penurunan nilai kadar air dadih karena selama proses berlangsung, kandungan air yang ada di dalam susu menguap. Pasteurisasi dapat menurunkan kadar air terikat (RAHMAN *et al.*, 1991). Rendahnya nilai kadar air pada dadih ini dapat meningkatkan nilai viskositas produk.

Viskositas

Viskositas dadih yang dihasilkan diduga dipengaruhi oleh enzim yang menggumpalkan protein susu. Selain itu, adanya asam laktat hasil metabolisme BAL diduga juga menyebabkan keasamaan susu meningkat, sehingga protein susu menggumpal. Hasil analisis perlakuan enzim proteolitik berpengaruh nyata terhadap viskositas dadih. Penggunaan enzim renin menghasilkan dadih dengan viskositas yang berbeda dengan enzim yang berasal dari ekstrak kasar *Mucor* sp. dan enzim papain, terlihat pada Tabel 1. Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan enzim renin 2 ppm dengan starter *L. casei* 3% tidak berbeda dengan perlakuan enzim renin 2 ppm + starter *B. longum* 3% ($P > 0,05$). Namun, dadih yang mempunyai viskositas yang rendah cenderung mempunyai tekstur di mulut (*mouthfeel*) yang lebih lembut.

Nilai viskositas dadih menjadi tinggi karena tingginya nilai total padatan susu yang menjadi bahan baku pembuatan dadih tersebut (TAUFIK, 2004). Selain itu diduga disebabkan oleh perbedaan lama waktu fermentasi, dadih dengan perlakuan penambahan enzim papain memiliki waktu fermentasi paling lama karena enzim tersebut memiliki aktivitas penggumpalan yang paling kecil dibandingkan dengan enzim renin maupun ekstrak kasar *Mucor* sp. Semakin optimum waktu untuk fermentasi dadih, maka asam laktat yang terbentuk maksimal sehingga proses penggumpalan susu menjadi dadih semakin optimum (SAYUTI, 1993).

Tabel 2. Pengaruh enzim renin dan BAL terhadap karakteristik dadih susu sapi

Perlakuan	pH	TAT	Viskositas
Enzim renin 2 ppm + <i>L. casei</i> 3%	5,64 ^a	0,56 ^a	2278,00 ^b
Enzim renin 2 ppm + <i>B. longum</i> 3%	5,33 ^b	0,62 ^a	2269,00 ^b
Enzim renin 2 ppm + <i>L. casei</i> 1,5% + <i>B. longum</i> 1,5%	5,40 ^b	0,56 ^a	2848,00 ^a

Superskrip berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Kadar protein

Hasil analisis perlakuan enzim proteolitik tidak berpengaruh terhadap kandungan gizi pada dadih, terlihat pada Tabel 3. Nilai kadar protein dadih yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh TAUFIK (2004), kecuali parameter lemak.

Tabel 3. Pengaruh enzim terhadap kandungan gizi dadih susu sapi

Enzim	Protein	Lemak	Abu	Karbohidrat
Renin	5,54 ^a	3,53 ^a	1,64 ^a	15,95 ^a
Ekstrak kasar <i>Mucor</i> sp.	4,58 ^a	3,46 ^a	1,59 ^a	16,74 ^a
Papain	4,68 ^a	3,69 ^a	1,60 ^a	16,46 ^a

Superskrip yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Enzim protease yang ditambahkan dan penambahan starter bakteri diduga mampu meningkatkan kadar protein dadih. Aktivitas koagulasi enzim protease yang digunakan pada penelitian yang mempengaruhi lama waktu fermentasi. Renin mempunyai aktivitas tertinggi diikuti dengan ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. dan papain, sehingga enzim yang ditambahkan tersebut kemungkinan masih tersisa di dalam dadih, setelah mengkatalisis reaksi penggumpalan kasein, sehingga meningkatkan kadar protein dadih. WIDODO (2003) menambahkan bahwa pada akhir dari fase penggumpalan kasein oleh enzim protease, sekitar 6% dari enzim yang ditambahkan pada susu akan tetap terdapat pada *curd*.

Susu mengandung protein khususnya kasein, selain itu susu mengandung *whey protein* seperti laktalbumin dan laktoglobulin. Protease adalah enzim yang ditambahkan pada susu untuk menghidrolisa kasein, khususnya *kappa* kasein, yang menstabilkan pembentukan misel pencegah koagulasi (PHILLIPS, 2011). Selain itu protease digunakan untuk menghidrolisa *whey protein*, memecah menjadi sekuen polipeptida yang lebih pendek.

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan penambahan enzim protease yang dikombinasikan

dengan BAL tidak berpengaruh terhadap kadar lemak dadih. Lemak dalam suspensi susu terdistribusi dalam bentuk emulsi. Lemak merupakan senyawa kimia kelompok ester yang tersusun atas asam-asam lemak (asam lemak jenuh dan tak jenuh) dan gliserol (WIDODO, 2003).

Kadar lemak hasil penelitian bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (TAUFIK, 2004) lebih rendah. *Mucor* sp. mampu menghasilkan beberapa enzim, antara lain amilase, lipase, pektinase, dan protease, dengan produksi enzim lipase yang paling besar (ALVES *et al.*, 2002), dan selama fermentasi berlangsung, bakteri asam laktat menghasilkan enzim lipase (RAHMAN *et al.*, 1991), sehingga mampu menghidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol, akibatnya kadar lemak yang terukur rendah. Lipase digunakan untuk memecah lemak susu dan memberikan karakteristik flavor yang khas. Flavor berasal dari asam lemak bebas yang dihasilkan ketika lemak susu dihidrolisis (PHILLIPS, 2011).

Pengukuran kadar karbohidrat dilakukan dengan menggunakan metode *Carbohydrate by difference* sehingga nilainya dipengaruhi oleh kadar air, kadar protein, kadar abu, serta kadar lemak dadih. Rata-rata nilai kadar karbohidrat dadih susu sapi cukup tinggi. Kisaran kadar karbohidrat dadih antara 13,21% hingga 17,88%. Dibandingkan dengan nilai kadar karbohidrat dadih tradisional asal susu kerbau (YUDOAMIDJOYO *et al.*, 1983) maka dadih hasil penelitian ini lebih tinggi. Hal ini kemungkinan karena terjadinya kenaikan nilai total padatan susu akibat proses penguapan yang dilakukan.

Karakteristik mikrobiologi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan enzim protease tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah total bakteri dadih (Tabel 4). Jumlah bakteri dalam dadih pada semua perlakuan, bernilai lebih dari 10^{10} cfu/g, sehingga dapat disimpulkan bahwa dadih yang dihasilkan pada penelitian memenuhi syarat sebagai makanan probiotik. Efek probiotik dapat memberikan pengaruh positif, jika mikroba aktif dan konsentrasi minimal 10^6 cfu/g (SAMONA dan ROBINSON, 1991; VINDEROLA *et al.*, 2000).

Tabel 4. Pengaruh enzim terhadap jumlah bakteri probiotik pada dadih susu sapi

Enzim	TPC (log CFU/g)
Renin	11,18 ^a
Ekstrak kasar <i>Mucor</i> sp.	11,85 ^a
Papain	10,48 ^a

Superskrip yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Semakin banyak jumlah total BAL dalam suatu produk seharusnya nilai total asamnya juga semakin besar. Namun hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan enzim renin dan enzim dari ekstrak kasar *Mucor* sp. meskipun memiliki jumlah total BAL lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan penambahan enzim papain, namun mempunyai nilai total asam lebih rendah. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan lama waktu fermentasi pada perlakuan enzim renin dan ekstrak kasar *Mucor* sp. yang lebih singkat (19 jam). Perlakuan tersebut memiliki waktu fermentasi yang lebih singkat dikarenakan kekuatan koagulasi dari enzim renin dan ekstrak kasar enzim *Mucor* sp. yang tinggi. Singkatnya waktu fermentasi kemungkinan mengakibatkan pembentukan asam laktat oleh BAL belum optimal, sehingga nilai total asamnya rendah. Sementara itu, rendahnya jumlah total BAL pada perlakuan enzim papain bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya kemungkinan akibat kematian sel mikroba karena keterbatasan ketersediaan substrat.

Karakteristik organoleptik

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan jenis BTP dan BAL berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap tingkat kesukaan panelis pada parameter warna, aroma, rasa, tekstur, dan penerimaan umum dadih susu sapi. Nilai modus uji hedonik memperlihatkan bahwa panelis memberikan penilaian yang hampir sama terhadap perlakuan enzim renin dan enzim papain. Sedangkan untuk perlakuan ekstrak kasar *Mucor* sp. panelis memberikan penilaian tidak suka.

Flavor susu dan sebagian besar produk susu olahan terutama ditimbulkan oleh kandungan lemak dalam susu (RAHMAN *et al.*, 1991). Lemak-lemak yang terbentuk dari asam-asam lemak yang mudah menguap (volatil) bersifat mudah terurai menjadi senyawa-senyawa volatil seperti diasetil dan asetildehida sehingga mempengaruhi flavor susu. Selain itu rasa dadih dengan perlakuan tersebut tidak terlalu asam dengan nilai pH paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Selain itu panelis telah terbiasa mengkonsumsi susu fermentasi cair seperti yoghurt, sehingga memiliki kecenderungan lebih menyukai produk susu yang

bertekstur lembut. Rata-rata panelis lebih menyukai tekstur dadih yang dihasilkan oleh perlakuan penambahan enzim renin dengan BAL. Namun secara statistik tidak berbeda dengan perlakuan penambahan enzim papain dengan BAL. Dengan demikian berdasarkan keseluruhan parameter yang diujikan, maka perlakuan enzim renin 2 ppm menghasilkan dadih yang mempunyai karakteristik secara umum paling baik dan secara organoleptik paling disukai oleh panelis.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi enzim renin 2 ppm dengan *L. casei* 3% menghasilkan karakteristik dadih susu sapi terbaik yaitu memiliki viskositas 2278 cP; pH 5,63; total asam tertitrasi 0,56%, air 75,03%, protein 6,80%, lemak 3,35%, karbohidrat 13,21%, total BAL $6,90 \times 10^{10}$ cfu/g, memiliki rasa, aroma, tekstur, dan penerimaan umum yang paling disukai oleh panelis.

Kadar protein dadih susu sapi relatif tinggi, dengan nilai total asam yang rendah yang secara umum cukup diminati panelis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dewi Agustina Lestari (Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor) atas bantuannya selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- ADDIS, M., G. PIREDDA and A. PIRISI. 2008. The use of lamb rennet paste in traditional sheep milk cheese production. *Small Rum. Res.* 79: 2-10.
- ALVES, M.H., G.M. CAMPOS-TAKAKI, A.L.F. PORTO and A.I. MILANEZ. 2002. Screening of *Mucor* spp. for the production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease. *Braz. J. Microbiol.* 33:325-330.
- ANONIMUS. 1991. Pengolahan Hasil-Hasil Peternakan. Departemen Pertanian. Diakses dari www.Deptan.go.id. (1 Juni 2010).
- ANONIMUS. 2011. Papain, Chymo. <http://www.worthington-biochem.com/pcyp/default.htm>. (21 Oktober 2011).
- CHARLEY, H. 1982. Food Science. John Wiley & Sons. New York.
- DAULAY, D. 1991. Fermentasi Keju. Pusat Antar Universitas (PAU). IPB, Bogor. hlm. 124, 132, 134 dan 154.
- EL-BENDARY, M.A., M.E. MOHARAM and T.H. ALI. 2007. Purification and characterization of milk clotting enzyme produced by *Bacillus sphaericus*. *J. Appl. Sci. Res.* 3: 695-699.

- GOMES, A.M.P. dan F.X. MALCATA. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Technol.* 10: 139-157.
- HASHEM, A.M. 1999. Optimization of milk-clotting enzyme productivity by *Penicillium oxalicum*. *Bioresource Technol.* 70: 203-207.
- HELLAND, M.H., T. WICKLUND and J.A. NARVHUS. 2004. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings *Int. Dairy J.* 14: 957-965.
- KHUSNIATI, T. dan I. TANJUNGSARI. 2002. Aktivitas rennet dari berbagai *Mucor* sp. dalam mengkoagulasi protein susu pasteurisasi dan susu madu. Pros. Seminar Nasional Kimia X. Yogyakarta, 22 Sept. 2002. FMIPA. Univ. Gadjah Mada, Yogyakarta.
- KIM, S.Y., S. GUNASEKARAN dan N.F. OLSON. 2004. Combined use of chymosin and protease from *Cryphonectria parasitica* for control of meltability and firmness of cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 87: 274-283.
- MULHOLLAND, F. 1994. Peptidase from Lactococci and Secondary Proteolysis of Milk Proteins. In: *Biochemistry of Milk Products*. ANDERWS, A.T. dan J. VARLEY. (Eds). The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- NARVHUS, J.A., K. ØSTERAAS, T. MUTUKUMIRA and R.K. ABRAHAMSEN. 1998. Production of fermented milk using a malty compound producing strain of *Lactococcus lactis subsp. lactis* biovar. *Diacetylactis* isolated from Zimbabwean naturally fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.* 41: 73-80.
- NASUTION, R. 1991. Studi Stabilitas Rennet *Mucor Pusillus* T83 yang Diproduksi pada Media Onggok. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor. hlm. 59.
- ØSTLIE, H.M., M.H. HELLAND dan J.A. NARVHUS. 2003. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. *International J. Food Microbiol.* 87: 17-27.
- PATO, U. 2003a. Bile and acid tolerance of lactic acid bacteria isolated from dadih and their antimutagenicity against mutagenic heated tauco. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16: 1860-1685.
- PATO, U. 2003b. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih untuk menurunkan resiko penyakit kanker. *J. Natur Indones.* 5: 162-166.
- PHILLIPS, T. 2011. Enzymes Used in The Dairy Industry. <http://biotech.about.com/casestudies/a/dairyenzymes.htm>. (21 Oktober 2011).
- RAHMAN, A., S. FARDIAZ, W.P. RAHAJU dan C.C. NURWITRI. 1991. Teknologi Fermentasi Susu. Pusat Antar Universitas (PAU). Institut Pertanian Bogor, Bogor. hlm. 6-59.
- ROBINSON. 1991. *Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk*. Applied Science Publishing, London and New Jersey.
- SABARIYAH, P.N. 2005. Pemanfaatan Enzim Papain dalam Produksi Hidrolisat Protein Susu Sapi. *Skripsi*. Departemen Biokimia. FMIPA. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- SAMONA, A. dan R.K. ROBINSON. 1991. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *J. Soc. Dairy Technol.* 44: 64-66.
- SAYUTI, K. 1993. Mempelajari Mutu Dadih pada Lama Penyimpanan dan Jenis Bambu yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang.
- SIRAIT, C.H. 1993. Pengolahan Susu Tradisional untuk Perkembangan Agroindustri Persusuan di Pedesaan. Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor.
- SURONO, I.S. 2000. Performance of Dadih Lactic Cultures at Low Temperature Milk Application. Proceeding of The Ninth Animal Science Congress of AAAP. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13 (Suppl. A) 5: 495-498.
- SURONO, I.S. 2003. In Vitro Probiotik Properties of Indigenous Dadih Lactic Acid Bacteria. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16: 726-731.
- SUMARTO, A.W. 1984. Mempelajari Pembuatan Keju dengan Menggunakan Enzim Papain dari Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai Koagulan. *Thesis*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- TAMIME, A.Y. dan R.K. ROBINSON. 1999. *Yoghurt: Science and Technology*. 2nd edition. Woodhead Publishing, England.
- TAUFIK, E. 2004. Dadih susu sapi hasil fermentasi berbagai starter bakteri probiotik yang disimpan pada suhu rendah. *Media Peternakan* 27: 88-100.
- TRUJILLO, A.J., G. BUENAVENTURA, J. LAENCINA, dan M.B. LO´PEZ, 2000. Proteolytic activities of some milk clotting enzymes on ovine casein. *Food Chemist.* 71: 449-457.
- VINDEROLA, C.G., N. BAILO dan J.A. REINHEIMER. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinean yoghurts during refrigerated storage. *Food Res. Int.* 33: 97-102.
- WAHYUDI, A. dan S. SAMSUNDARI. 2008. Bugar dengan Susu Fermentasi. UMM Press, Malang. hlm. 108-174.
- WIDODO. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Leticia Press. Yogyakarta. hlm. 12-86.
- WINARNO, F.G. 1997. *Enzim Pangan*. PT Gramedia, Jakarta. hlm. 103-106.
- YODHABRATA, M. 2010. Pengaruh Penambahan Bahan Pengental terhadap Kualitas Dadih Susu Sapi dengan Starter *Lactobacillus casei*. *Skripsi*. FATETA. Institut Pertanian Bogor, Bogor. hlm. 25-31.