

ISBN: 979-3450-04-5

PROSIDING SEMINAR DAN EKSPOSE TEKNOLOGI

**BALAI PENGKAJIAN TEKNOLOGI PERTANIAN
JAWA TIMUR**

MALANG, 9 - 10 Juli 2002



**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
SOSIAL EKONOMI PERTANIAN
Bogor, 2003**

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	iii
RUMUSAN SEMINAR TAHUNAN DAN EKSPOSE HASIL PENELITIAN/ PENGAJIAN BPTP JAWA TIMUR	iv
DAFTAR ISI	vii
I. MAKALAH UTAMA	
PROSPEK DAN TANTANGAN PENYULUHAN PERTANIAN DI MASA DEPAN <i>B. Lema, T. Siniati, dan N. Pangarsa</i>	1
UJI PENERAPAN PENGELOLAAN TANAMAN PADI SECARA TERPADU PADA SAWAH IRIGASI DI JAWA TIMUR <i>M.C.Mahfud, Handoko, H.Subagio, M.I.Wahab, C.Ismail, Suhardi, G.Kustiono dan W.Istuti</i>	12
PEMBUATAN KEJU DENGAN ENZIM RENIN (<i>Mucor pusillus</i>) <i>Lilik Eka Radiati</i>	37
ANALISIS KEBIJAKAN: KONSEP DASAR DAN PROSEDUR PELAKSANAAN <i>Pantjar Simatupang</i>	46
KONSEP DAN PENERAPAN KIMBUN <i>Dinas Perkebunan Prop. Jatim</i>	65
REVIEW HASIL PENGAJIAN PENERAPAN PHT PADA SAYURAN <i>Luki Rosmahani</i>	80
PROGRAM PENGAJIAN PENGEMBANGANINTEGRASI USAHATANI PADI SAWAH SAPI POTONG INDUK DI BPTP - JAWA TIMUR <i>M. A. Yusran, M. Soleh dan G. Kartono</i>	100
II. MAKALAH PENUNJANG	
A. Padi dan Palawija	
PENGAJIAN SISTEM USAHATANI PADI DI EKOREGION LAHAN SAWAH YANG MENDERITA STAGNASI PERTUMBUHAN DAN KEKUNINGAN (ASEM-ASEMAN) <i>Al. Gamal Pratomo, Suyamto, Suwono, Lulus Sunaryo, Roesmiyanto, Gatot Kartono, Eli Korlina, Edy Purnomo dan Wigati Istuti</i>	111
PENYUSUNAN REKOMENDASI PEMUPUKAN P DAN K PADI SAWAH BERDASARKAN STATUS HARA P DAN K DI PASURUAN DAN LUMAJANG <i>Suwono, Much. Soleh, Mardjuki, E. Purnomo, M. Saeri, L. Sunaryo, F. Kasijadi dan Suyamto</i>	125

PENGKAJIAN PUPUK ALTERNATIF PADA TANAMAN PADI DI JAWA TIMUR	134
<i>F. Kasijadi, Suwono, Gatot Kartono, Agus Suryadi, Chamdi Ismail, Endang P.K. Hendry suseno, Abu dan Suyanto</i>	
PENGUJIAN VARIETAS LOKAL PADI JAWA TIMUR	146
<i>Sunarsedyono, Suyanto, Sukarno Roesmarkam, Chamdi Ismail, Wigati Istuti, Sri Yuniastuti, Herman Subagyo, Rohmad Budiono, Abu Mansyur</i>	
PENGARUH PUPUK P, K DAN PUPUK KANDANG TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HASIL PADI DI LAHAN TADAH HUJAN	172
<i>S. Roesmarkam, A. Suryadi, S. Zunaini, S dan Suwono</i>	
ADAPTASI VARIETAS PADI PADA LAHAN TADAH HUJAN	177
<i>S. Roesmarkam, A. Suryadi, S. Zunaini, S dan Suyanto</i>	
COOPERATIVE FARMING PADA LAHAN SAWAH TADAH HUJAN BERBASIS PADI GOGO RANCAH	182
<i>S. Roesmarkam, H. Subagyo, A. Suryadi, Sarwono, Suyanto dan S. Saadah</i>	
PEMBENTUKAN VARIETAS UNGGUL PADI SPESIFIK LOKASI JAWA TIMUR SECARA PARTISIPATI	189
<i>S. Roesmarkam, Baswarsiati, M. Sugiarto, Suyanto, G. Kartono, Suwono, B. Pikukuh, Al. G. Pratomo, PER. Prahardini, G. Kustiono, C. Ismail, Abu, Suprii dan S. Zunaini</i>	
UJI ADAPTASI GALUR-GALUR HARAPAN CALON VARIETAS UNGGUL PADI SAWAH	204
<i>Baswarsiati, W. Istuti, S. Roesmarkam, B. Pikukuh, H. Suseno, R. Budiono, Rokaib, Sulyanto</i>	
UJI ADAPTASI CALON VARIETAS UNGGUL JAGUNG SPESIFIK LOKASI LAHAN KERING	216
<i>B. Pikukuh, Abu, Sarwono, Handoko, dan S. Roesmarkam</i>	
PENGKAJIAN SISTEM USAHATANI JAGUNG DI LAHAN KERING	224
<i>F. Kasijadi, M.I. Wahab, S. Roesmarkam, H. Suseno, B. Tegopati, Suhardi, W. Istuti, S.R. Sumarsono dan Wahyunindyawati</i>	
UJI ADAPTASI CALON VARIETAS UNGGUL KEDELAI BERBIJI BESAR SPESIFIK LOKASI LAHAN SAWAH	233
<i>Gunawan Effendi, Rusmiyanto dan Suryantoro</i>	
PENGKAJIAN PRODUKSI BENIH KACANG TANAH VARIETAS UNGGUL	240
<i>Chamdi Ismai, Al. Budijono, dan Gatot Kustiono</i>	

PENGAJIAN SISTEM USAHATANI KACANG TANAH DI EKOREGIONAL LAHAN KERING	252
<i>F. Kasijadi, Suhardjo, S. Roesmarkam, Suwono, Al. Budiyono, Wahyunindyawati, Ono Sutrisno, Abu, dan H. Nafik</i>	
UJI ADAPTASI CALON VARIETAS UNGGUL KACANG HIJAU SPESIFIK LOKASI LAHAN SAWAH	262
<i>Gatot Kustiono, Suwarno dan Gunawan Efendi</i>	
B. Tanaman Hortikultura	
PROSPEK PENGEMBANGAN BUAH NAGA (THANG LOY) DI JAWA TIMUR	267
<i>H.T. Soelistyari, T. Siniati, K. Blasius Lema, W.H. Utomo</i>	
VISITOR PLOT JAMUR TIRAM (<i>Pleurotus spp.</i>)	272
<i>W. Istuti, T. Siniati, dan E. Retnaningtyas</i>	
PENGAJIAN TEKNOLOGI PENGENDALIAN KERUSAKAN BUNGA MANGGA DI MUSIM HUJAN	280
<i>Al. Budijono, T. Purbianti, E. Retnaningtyas dan Wahyudi</i>	
PENGAJIAN PENGATURAN PEMBUNGAAN MANGGA DI DATARAN MEDIUM	288
<i>Al. Gamal Pratomo, Djoko Wijadi, Al. Budijono, M. Sugiyarto dan Martono</i>	
PENGAJIAN PENGGUNAAN ZAT PENGATUR TUMBUH DAN PUPUK ORGANIK PADA BEBERAPA KLON ANGGUR HARAPAN BANJARSARI	295
<i>B. Tegopati, N. Istiqomah</i>	
PENGARUH PENGGUNAAN ZPT TERHADAP PEMBUNGAAN DAN PRODUKSI PADA EMPAT VARIETAS MANGGA UNGGUL	303
<i>D. Rachmawati, S. Yuniastuti, Samad dan Indriana R.D.</i>	
UJI ADAPTASI GALUR HARAPAN CALON VARIETAS UNGGUL CABAI MERAH	311
<i>E.P Kusumainderawati, E. Retnaningtyas, Baswarsati, Sarwono, E. Korlina dan Prayitno. S</i>	
UJI ADAPTASI RAKITAN TEKNOLOGI PERBENIHAN TANAMAN CABAI	319
<i>E.P. Kusumainderawati, W. Istuti, Sarwono, N. Istiqomah dan Prayitno. S</i>	
PENGAJIAN PEMANFAATAN BIOPESTISIDA DAN PUPUK HAYATI MENDUKUNG PENGELOLAAN TANAMAN TERPADU PADA TOMAT	327
<i>L. Rosmahani, E. Korlina, M. Soleh, Dwi Setyorini</i>	

PEMBUATAN KEJU DENGAN ENZIM RENIN (*Mucor pusillus*)

Lilik Eka Radiati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik keju yang dihasilkan dengan menggunakan enzim renin *Mucor pusillus*, yang diekstraksi dari media cair dedak jagung dan peningkatan aktivitas koagulasi enzim melalui pemurnian. Hasil pengamatan menunjukkan keju bahwa yang dihasilkan dengan menggunakan ekstrak renin *M. pusillus* mempunyai kadar air $47,83 \pm 0,16\%$, kadar lemak b.k $35,78 \pm 0,50\%$, kasar protein b.k. $24,15 \pm 0,45\%$, total asam titrasi $1,17 \pm 0,19\%$, nilai pH $5,60 \pm 0,41$, kekerasan $23,55 \pm 2,00$ g/mm dan kekuatan gel $471,00 \pm 4,00$ g dengan kenampakan lebih putih dan lembut. Sedangkan keju standar yang dihasilkan dengan menggunakan renin anak sapi mempunyai kadar air $45,33 \pm 0,48\%$, kadar lemak (b.k.) $40,84 \pm 2,1\%$, kadar protein (b.k.) $27,54 \pm 0,51\%$, total asam tetraasi $1,50 \pm 0,14$, nilai pH $5,30 \pm 0,09$, kekerasan $21,10 \pm 1,20$ g/mm dan kekuatan gel $422,00 \pm 3,00$ g dengan kenampakan yang kekuningan dan tekstur bergranular. Walaupun ada perbedaan komposisi keju antara keju yang dihasilkan menggunakan renin *M. pusillus* dengan renin sapi, namun enzim *Mucor* tersebut menunjukkan kemampuannya untuk menggantikan renin anak sapi dalam proses pembuatan keju. Pemurnian dilakukan terhadap enzim renin *M. pusillus* secara kromatografi kolom (sephadex G-75) dapat meningkatkan rasio aktivitas koagulasi dari 7.33 menjadi 251,66 sehingga meningkatkan efisiensi produksi keju.

Kata kunci : Enzim renin *M. pusillus*, pemurnian, produksi keju

ABSTRACT

This research was carried out to study characterization of cheese preparation with *mucor pusillus* rennin and calf rennin. The *M. pusillus* rennin was extracted from corn medium submerged fermentation and purified this enzyme by sephadex G 75 chromatography column. This result showed that . cheese preparation with *M. pusillus* rennin showing water content $47.83 \pm 0.016\%$, fat d.w $35.78 \pm 0.05\%$, protein d.w. $24.15 \pm 0.5\%$ titratable acidity 1.17 ± 0.19 . pH value 5.60 ± 0.41 , firmness 23.55 ± 2.00 g/mm, gel strength 471.00 ± 4.00 g, the curd appear white colour and smooth texture. The standard . preparation of cheese with calf rennin had water content $45.33 \pm 0.48\%$, fat.d.w. $40.84 \pm 0.21\%$ protein d.w. $27.54 \pm 0.51\%$ titratable acidity 1.50 ± 0.14 , pH value 5.30 ± 0.09 . firmness 21.10 ± 1.20 g/mm, gel strength 422.00 ± 3.00 g, the curd appear yellowish colour and granular texture. However there were different of cheese composition but the rennin from *M. Pusillus* showed ability to substitute calf rennin. Purification of *M. Pusillus* rennin by chromatography (sephadex G-75) could increase coagulation activity ratio from 7.33 to 251.66, that increasing the efficiency of cheese production.

Key word: rennin *M. Pusillus*, enzyme purification and cheese production

PENDAHULUAN

Kesepakatan umum tarif dan perdagangan multilateral GATT/WTO deklarasi *Asia Pacific Economic Cooperation* (APEC) tentang sistem perdagangan bebas dan investasi secara penuh bagi seluruh anggota ekonomi APEC pada tahun 2020, dan kesepakatan perdagangan bebas dilingkungan negara-negara ASEAN yaitu *ASEAN Free Trade Area* (AFTA) mulai tahun 2003, mencerminkan bahwa Indonesia telah masuk kedalam siklus sistem perekonomian dunia yang bercirikan "ekonomi tanpa batas teritorial negara". Salah satu subsektor usaha yang menghadapi tantangan global adalah agroindustri susu, yaitu meliputi kegiatan usaha lepas panen susu atau industri pengolahan susu yang mengolah bahan baku susu segar yang berasal dari peternakan sapi perah dan atau bahan baku susu impor (BBSI) menjadi susulahan (Canny, 2001)

Pengaruh globalisasi terhadap agroindustri susu mulai dirasa sejak adanya kesepakatan antara pemerintah Republik Indonesia dengan IMF dalam Keputusan tahun 1997, dimana ditetapkan INPRES No.4 Tahun 1998 yang mencabut pemberlakuan beberapa ketentuan dalam lampiran INPRES No.2 Tahun 1985, yang mengenai dihapuskannya regulasi bahan baku. Kebijakan baru tersebut mencabut ketentuan sebelumnya tentang wajib serap susu segar dalam negeri (SSDN) oleh industri pengolahan susu (IPS), sehingga pihak IPS bebas menentukan sumber pengadaan bahan bakunya (Canny, 2001).

Sapi perah milik peternakan rakyat, yang kepemilikannya rata-rata di bawah sampai tiga ekor dan pengelolaan yang sederhana dengan penanganan pasca panen yang sederhana, hal ini memberikan peluang kontaminasi yang tinggi. Rendahnya mutu mikrobiologis susu yang maksimal hanya dapat menekan konsentrasi mikroba hingga 10^6 sel/ml susu, memungkinkan penekanan terhadap susu produksi lokal untuk dapat bersaing dengan susu impor. Hal ini disebabkan karena lemahnya manajemen pakan, kurang baiknya pemeliharaan kesehatan ternak, dan iklim yang kurang konduktif dibanding di lingkungan asal sapi. Hampir seluruh sapi perah yang dipelihara di Indonesia adalah sapi impor, hal yang menjadi salah satu kendala sulitnya untuk mencapai tingkat produksi dan kualitas yang optimal.

Sejalan dengan hal tersebut maka dicoba untuk mengantisipasi penolakan susu oleh IPS, maka pemerintah mencanangkan pengolahan susu termasuk sterilisasi, pasteurisasi, UHT dan keju yang diolah dengan modal swasta maupun modal pemerintah daerah. Salah satu bukti peran pemerintah daerah terhadap industri susu, telah berdiri industri keju di kota Malang sejak 1997 sampai sekarang. Mengingat hasil analisis situasi agroindustri susu yang hingga saat ini populasi sapi perah masih terkonsentrasi di Jawa dan Bali, yaitu mencapai 97% dari seluruh sapi perah di Indonesia. Sisanya sebesar 3% berada diluar Jawa dan Bali. Perkembangan pertumbuhan sapi perah mengalami pertumbuhan yang konstan. Pada tahun 1998 populasi sebesar 329.520 ekor, dan pada tahun 1999 populasi mencapai 333.975 ekor dengan produksi 399.458 ton dan pada tahun 2000 menjadi 415.248 ton. Data menunjukkan ketersediaan bahan baku untuk produksi keju, yang selama ini belum memenuhi kebutuhan keju masih impor. Keju merupakan olahan susu yang dapat digolongkan pada fermentasi susu (Fox dan Mcsweney, 1997). Di Indonesia produksi keju sangat rendah, keadaan ini terlihat pada peningkatan impor bahan tersebut menurut catatan statistik impor perdagangan luar negeri, kenaikan impor keju

meningkat dari 1.753.911 Kg pada tahun 1996 menjadi 1.811.471 Kg pada tahun 1997 (Anonim, 1997). Dengan adanya pengolahan keju dapat mengurangi ketergantungan akan impor keju dan berarti menghemat devisa.

Keju yang telah diproduksi merupakan keju Gouda dimana penyediaan bahan penggumpal kasein masih diimpor dari Belanda. Penggantian renin yang berasal dari lambung anak sapi yang masih menyusu dengan renin mikroba sebagai enzim penggumpal susu dalam proses pembuatan keju saat ini dirasakan sangat diperlukan. Mengingat penggunaan enzim yang berasal dari lambung anak sapi tersebut sangat mahal, sehingga meningkatkan biaya produksi keju (Sardinas, 1972), maka industri keju harus melihat potensi enzim penggumpal susu yang bersumber dari mikroba. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba tersebut merupakan enzim protease asam yang dikenal dengan nama renin mikroba, dihasilkan oleh beberapa mikroba diantaranya *M. pusillus*, *M. miehie*, *M. heimalis*, *Endothia parasitica* dan *M. rouxii* (Arima, 1964).

Renin mikroba mampu menggumpalkan susu seperti enzim renin sapi. Fedrich dan Fuller (1988) mengatakan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata dalam proses pematangan dan produk akhir keju, yang dihasilkan melalui penggumpalan dengan enzim renin mikroba maupun renin yang berasal dari lambung anak sapi.

Enzim telah nyata berjasa dan membuktikan kemampuannya dalam dunia industri, yaitu memperbaiki mutu produk dan menurunkan biaya produksi. Singkatnya enzim menghemat biaya produksi melalui substitusi bahan dasar fermentasi.

Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik keju yang dihasilkan melalui penggumpalan susu dengan enzim renin mikroba *M. pusillus*. pengamatan dilakukan terhadap nilai pH, total asam titrasasi, kadar air, kadar lemak dan tekstur keju. Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat diterapkan suatu pengolahan susu secara sederhana untuk menghasilkan keju yang dapat dikonsumsi secara langsung atau dengan proses pemeraman.

METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah susu sapi, renin sapi, renin *M. pusillus*, garam *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, CaCl_2 25% dan bahan kimia untuk analisis.

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu: penangas air termometer, pipet, pangepres, timbangan, homogeniser, pH, sentrifus, curd meter.

Pembuatan Ekstrak Renin

Renin sapi dibuat dengan cara merendam 100g lapisan mukosa abomasum anak sapi yang masih menyusu kedalam 500ml bahan pengekstrak yang terdiri dari 10% asam asetat dan 5% natrim kolida. Suhu ekstraksi 30°C selama 24 jam, ekstraksi dilakukan secara bertahap, kemudian filtrat yang dihasilkan dipekatkan sehingga volume menjadi 20ml dengan cara vakum dingin, renin *M. pusillus* di dalam medium : 4% dedak jagung, 0,2% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,5% KCl, 0,1% urea dan 1,0% pepton, air suling 200ml dengan pH medium 4,0 sebelum sterilisasi. Media diinokulasi dengan suspensi *M. pusillus* sebanyak 10 ml yang mengandung $4,7 \times 10^5$ spora/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 116 jam. Enzim diperoleh dengan cara sentrifus, filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan vakum dingin guna

mendapatkan keaktifan enzim tertentu agar mampu menggumpalkan protein susu. Aktivitas protease dan aktivitas koagulasi ditetapkan dengan cara Khan, Blain dan Paterson (1979)

Uji Aktivitas Proteolitik

Unit aktivitas proteolitik di tentukan berdasarkan jumlah enzim yang menghasilkan hidrolisat tirosin terlalu dalam 5% TCA (Trichloro acetic acid), yang dibebaskan dari 4ml substart kasein 1% dalam bufer fosfat 0,1M (pH 4,00). Aktivitas enzim ditentukan setelah inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 30 menit. Satuan unit aktivitas proteolitik tersebut setara dengan absorbansi 0,1 pada panjang gelombang 274,8 nm dan sebanding dengan 15 ug tirosin/ml.

Penentuan Protein Terlarut

Protein enzim terlarut metode Bradford (1979). Disediakan sebanyak 1 ml enzim, ditambah 5ml pereaksi Bradford. Campuran ini dibiarkan pada suhu ruang selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm.

Uji Aktivitas Koagulasi

Aktivitas koagulasi ditentukan dengan metode Berridge yang ditulis kembali oleh Khan *et al.* (1979), yaitu berdasarkan pada waktu yang diperlukan untuk membentuk koagulum tahap awal sebagai substart uji digunakan 10 ml susu skim 12% dalam CaCl_2 0,05M, susu di inkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit. Kemudian ditambah 1ml enzim yang telah diaktifkan pada suhu 40°C selama 10 menit. Waktu yang dicapai untuk membentuk koagulum tahap awal digunakan untuk mengestimasi aktivitas koagulasi. Unit aktivitas koagulasi didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu mengkoagulasi 10 ml susu skim selama 1 menit memiliki aktivitas 10⁴ Unit.

Pengukuran Tekstur Keju

Pengukuran tekstur ditentukan berdasarkan kekerasan keju yang dihasilkan alat yang digunakan adalah tekstur analyzer (Stevens LFRA Inggris) dengan standarisasi alat: diameter probe 12,7 mm, kecepatan penetrasi 0,5 mm per detik.

Isolasi Dan Pemurnian Enzim

Isolasi dan pemurnian dilakukan terhadap enzim yang dihasilkan dari kondisi optimum. Dilaksanakan tahap pemurnian sebagai berikut pertama dilakukan pemekatan enzim dengan cara pengendapan menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sehingga diperoleh fraksi protein dengan kejenuhan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0-20, 20-50 dan 50-80%. Selanjutnya enzim didialisis dengan selopan bag (*cut off* BM 5000 kDalton) dalam bufer fosfat 0,02 M pH 4,0 pada suhu 4°C. kemudian enzim dimurnikan secara kromatografi kolom pada sephadex G 75 (2,5 x 42 Cm). sebagai larutan elusi digunakan bufer fosfat 0,02 M pH 4,0. Tiap fraksi berisi 5 ml selanjutnya dilakukan uji Aktivitas enzim pada tiap fraksi.

Penentuan Berat Molekul Enzim

Penentuan berat molekul dilakukan dengan dua cara yaitu menggunakan kolom kromatografi sephadex G 75 (1,5 x 30 cm) dan elektroforesis SDS-Tris Disc gel poliakrilamid (Weber dan Osborn, 1975) dalam penentuan BM tersebut digunakan standart molekul protein BSA (BM 68.000 kDalton), ovalbumin (BM

45.000 kDalton), laktoglobulin (BM 36.000 kDalton), pepsin (BM 35.000 kDalton), dan Ovomukoid (BM 28.000 kDalton).

Pembuatan Keju

Penelitian dilanjutkan untuk mengetahui karakteristik keju, yang dihasilkan menggunakan kedua macam enzim penggumpalan susu, yaitu renin sapi dan renin *M. pusillus* proses pembuatan keju sebagai berikut: susu pasteurisasi pada suhu 72-73°C dan diberi starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (2:1) sebanyak 5% (v/v), dibiarkan selama 5 jam kemudian ditambahkan larutan CaCl_2 25% sebanyak 0,1% (v/v) dan renin sapi maupun renin mikroba ditambahkan sebanyak 2,5% (v/v) dengan aktivitas koagulasi 100 U/ml, diaduk perlahan-lahan pada pemanasan 40°C beberapa menit kemudian dibiarkan sehingga susu membentuk koagulum (*curd*). Koagulum yang terbentuk dipotong kecil-kecil dan ditiriskan guna memisahkan "whey" dari koagulum selanjutnya dipres pada tekanan yang bertahap mulai dari 2 kg cm^{-2} sampai 8 kg cm^{-2} selama 20 menit. Koagulum dipanaskan pada suhu 40°C selama 2 jam kemudian dicampur dengan garam 2% ditiriskan selama 2 jam, selanjutnya dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan dalam almari pendingin serta siap digunakan lebih lanjut.

Pengamatan dilakukan terhadap nilai pH (pH meter), total asam titrasi (AOAC, 1982), kadar air metode oven, kadar lemak (van Gulik Butirometer), kadar protein semi mikro Kjeldhal dan tekstur diukur dengan curd meter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 100g mukosa abomasum anak sapi yang masih menyusui diperoleh 20ml ekstrak renin sapi. Ekstraksi dengan menggunakan asam asetat dapat mengakibatkan protein lain ikut terekstrak tetapi hal ini tidak mempengaruhi aktivitas enzim.

Renin *M. pusillus* tergolong enzim protease asam ekstraseluler, sehingga memisahkan enzim tersebut dari medium dan kultur *M. pusillus* dapat dilakukan dengan mudah dengan cara sentrifus atau penyaringan.

Aktivitas koagulasi renin ditentukan dengan mengatur pengenceran sehingga diperoleh enzim dengan aktivitas koagulasi sebesar seratus U/ml. Penetapan aktivitas berdasarkan metode Anson (1935) yang ditulis kembali oleh Khan *et al.* (1979). Tabel 1 menunjukkan aktivitas renin yang digunakan dalam proses pembuatan keju. Hasil analisis keju mentah terhadap nilai pH total asam titrasi, kadar air, kadar protein, kadar lemak, dan kekerasan keju dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Aktivitas ekstrak kasa renin

Renin	Aktivitas Koagulasi (U/ml)	Aktivitas Proteolitik (U/ml)	Rasio Aktivitas Koagulasi Terhadap Aktivitas Proteolitik
Renin Sapi	100	10,58	9,45
Renin <i>M. pusillus</i>	100	14,04	7,33

Tabel 2. Komposisi, karakteristik dan nilai bias (sd) keju yang dihasilkan

Komposisi/karakteristik keju	Jenis Koagulasi	
	Renin Sapi	Renin <i>M. pusillus</i>
	<i>L.bulgaricus</i> <i>S.thermophilus</i>	<i>L.bulgaricus</i> <i>S.thermophilus</i>
Starter bakteri		
Kadar air(%)	45.33 + 0,48	47.83 + 0,16
Kadar lemak (%b.k)	40.84 + 2,10	35.78 + 0,50
Kadar protein b.k	27.54 + 0,51	24,15 + 0,45
Total asam titrasi	1.51 + 1,50	1,17 + 0,19
Nilai pH	5.30 + 0,09	5,60 + 0,41
Kekerasan (gram/mm)	23.55 + 2,00	21,10 + 1,20
Kekuatan gel (gram)	471.00 + 4,00	422.00 + 3,00

Nilai pH dan Total Asam Titrasi

Perbedaan dan nilai pH dan total asam titrasi antara keju yang dibuat dengan enzim renin sapi dengan *M. pusillus* dapat disebabkan aktivitas proteolitik kedua enzim berbeda. Hasil pengamatan terhadap nilai aktivitas terlihat pada Tabel 1. Menurut Scott (1986) semakin tinggi aktivitas proteolitik suatu enzim dapat mengakibatkan kenaikan nilai pH koagulum sebelum pengepresan, koagulum hasil kogulasi dengan renin anak sapi menampakkan bentuk granular. Perbedaan jumlah enzim yang dapat dipertahankan dapat mengakibatkan nilai pH rendah dan total asam yang lebih tinggi. Scott (1986) melaporkan renin sapi dapat dipertahankan sebanyak 5-8% sedang renin mikroba mencapai 3-5%, sehingga nilai keju yang dibuat dengan enzim renin anak sapi mempunyai nilai pH yang lebih rendah dan total asam yang lebih tinggi daripada keju yang dibuat dengan renin *M pusillus*

Kadar Air

Kadar air keju yang dibuat dengan renin sapi lebih rendah dari pada kadar air yang dibuat dengan renin *M. pusillus*. Perbedaan ini mungkin disebabkan pH pada waktu koagulasi. Pada suasana asam koagulum yang dihasilkan cenderung bersifat granular, sedangkan pH yang lebih tinggi bersifat lebih menyerupai tahu susu yang lebih lembut dan lunak. Penggunaan renin sapi yang menghasilkan pH rendah menghasilkan koagulum bergranular dengan kadar air yang lebih rendah dibandingkan dengan koagulum yang dihasilkan oleh renin *M. pusillus* yang mempunyai tekstur lembut dengan kadar air yang lebih tinggi. Disamping itu suasana asam membantu proses penyusutan partikel untuk mengeluarkan whey lebih banyak (Scott, 1986)

Kadar Lemak dan Protein

Kadar lemak dan protein yang lebih tinggi banyak produk susu mempunyai nilai nutrisi tersendiri. Kandungan bahan tersebut mencerminkan mutu sebuah produk. Kandungan protein dan lemak hasil koagulasi kedua enzim menunjukkan perbedaan. Hal ini erat kaitannya dengan karakteristik enzim yang digunakan dalam proses pembuatan keju. Aktivitas proteolitik renin *M. pusillus* yang lebih tinggi dari pada renin sapi yang dapat mengakibatkan lemak dan protein banyak terbawa kedalam whey, oleh karena itu keju yang dihasilkan mempunyai tekstur yang lebih keras. Kadar lemak yang lebih tinggi pada keju olahan dengan renin anak sapi memberikan tekstur yang lebih lunak. Kandungan lemak yang berpengaruh pada penampakan warna keju yang agak kekuningan pada renin anak sapi, mungkin disebabkan vitamin dan zat warna lain yang terlarut dalam lemak.

Pemurnian Renin *M. pusillus*

Menurunkan aktivitas proteolitik dan meningkatkan aktivitas koagulasi renin *M. pusillus* dapat dilakukan dengan cara pemurnian. Tahap awal pemurnian dilakukan pengendapan protein dengan menambahkan $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ pada ekstrak renin kasar dengan kejenuhan yang berbeda yaitu 50-80% dihasilkan aktivitas tertinggi. Perbedaan enzim tiap fraksi disebabkan karena enzim yang diproduksi, memiliki konstanta dielektrik yang berbeda

Tabel 3. Penyebaran aktivitas proteolitik dan koagulasi enzim renin *M. pusillus* hasil fraksinasi pengendapan dengan $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$

% Kejenuhan amonium sulfat	Aktivitas proteolitik U/mg protein	Aktivitas koagulasi U/mg protein	Ratio aktivitas koagulasi terhadap akt. Proteolitik
0-20	0,185	20	108,10
20-50	2,620	320	122,13
50-80	4,480	240	168,18

Pemurnian dilakukan pada enzim hasil fraksinasi pada kejenuhan 50-80% memperlihatkan hasil pemisahan melalui kolom kromatografi gel Sephadex G-75 (2,5 x 42 cm). Enzim hasil pemurnian memiliki rasio koagulasi dan aktivitas proteolitik yang lebih tinggi karena enzim proteolitik yang memiliki berat molekul yang lebih rendah sudah terpisahkan. Sehingga penurunan aktivitas proteolitik enzim murni disebabkan karena secara kuantitas proteolitik enzim tersebut menurun. Keuntungan lain pemurnian tersebut dapat menghilangkan warna kekuningan pada enzim dengan warna yang lebih putih.

Tabel 4. Hasil pemurnian renin *M. pusillus*

Perlakuan	Proten Terlarut (% b.k)	Aktivitas proteolitik		Aktivitas koagulasi		Rasio koagulasi terhadap akt proteolitik
		U/mg Prot./menit	U/g Sampel /menit	U/mg prot.	U/g Sampel	
Enzim kasar	22,00	2,11	2,40	234	248,22	110,90
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	67,00	4,48	3,53	740	584,40	165,17
Sephadex G 75	64,00	12,00	3,85	3.020	966,40	251,66

Karakteristik Renin *M. pusillus* dan Aplikasinya

Untuk mempermudah isolasi enzim perlu diketahui karakteristik enzim minimal adalah karakteristik berat melekul enzim. Penetapan berat melekul enzim dapat dilakukan pada sephadex G-75 (1,5x30 cm) dengan eluen bufer fospat 0,01 M pH 7 mengestimasi berat molekul berkisar 28.209 kDalton. Pengamatan dengan elektroforesis SDS Tris-Disc gelpoliakrilamit dengan penambahan 1% 2-mecaptoetanol menghasilkan satu pita warna posisi 28.313. Dari kedua metoda tersebut dapat dikatakan bahwa enzim renin mempunyai berat molekul sekitar 28.000-28.313 dan tergolong monomer. Tabel 4. menunjukkan spesifikasi renin *M. pusillus* murni dan aplikasi dalam pembuatan keju.

Tabel 5. Spesifikasi dan aplikasi renin *M. pusillus* dalam pembuatan keju

Renin	Satuan
Berat molekul	28.000-28.313
Aktivitas proteolitik (U/mg prot/menit)	12,00
Aktivitas proteolitik (U/mg prot.)	3.020,00
Penggunaan dalam pembuatan keju (mg prot./lt susu	2,00

Spesifikasi lain dari renin yang erat kaitannya dengan pembuatan keju adalah kekuatan gel atau kekerasan koagulum yang terbentuk. Aplikasi renin dalam pembuatan keju harus berimbang untuk mendapatkan tekstur yang diinginkan. Tabel 6. mencerminkan bahwa semakin tinggi enzim yang ditambahkan tidak meningkatkan kekuatan gel, hal ini terjadi sinersis dalam pembentukan gel. Penggunaan enzim renin *M. pusillus* murni dapat meningkatkan aktivitas koagulasi yang lebih tinggi dari pada renin sapi.

Tabel 6. Pengaruh renin pada kekerasan koagulum

Enzim	Konsentrasi protein (mg/ml)	Kekerasan (gram/mm)
M. pusillus	- Enzim kasar	0,20
		1,2
		0,40
	- (NH ₄) ₂ SO ₄	7,8
		11,2
		0,60
	- Sephadex G-75	0,20
		10,7
		0,40
Renin sapi	- Sephadex G-75	12,6
		11,2
		0,60
	- Enzim kasar	0,01
		6,9
		0,02
	Renin sapi	12,3
		8,3
		0,04
	Renin sapi	6,2

KESIMPULAN

Pengaruh jenis renin menunjukkan nilai pH, total asam tetrasis, kadar protein, kadar lemak dan tekstur keju yang dihasilkan, walaupun adanya perbedaan namun renin *M. pusillus* menunjukkan kemampuannya untuk menggantikan renin sapi dalam proses pembuatan keju.

Pemurnian parsial terhadap enzim renin kasar dengan menggunakan amonium sulfat dapat meningkatkan rasio aktivitas koagulasi terhadap aktivitas proteolitik dari 7,33 menjadi 168,18, pemurnian lebih lanjut terhadap enzim hasil pengendapan dengan amonium sulfat meningkatkan rasio menjadi 251,66. Dengan peningkatan rasio aktivitas koagulasi terhadap aktivitas proteolitik dapat menurunkan kehilangan protein dalam whey.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1997. Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia. Jakarta.
- Arima, K. 1964. Microbial Enzyme Production. In Starr, M.P. Global Impacts of Application Microbiology. John Wiley and Sons. New York.
- Canny, A.H. 2001. Reyasa Sistem Pengembangan Agroindustri Susu Berbasis Usaha Lepas Panen Susu. Disertasi PPS IPB. Bogor
- Fedrich, I.A and S.C.Fuller. 1988. Comparison .of calf rennet and modified Mucor miehei coagulant in cheddar cheese. J.Dairy Technol. 41 (1) : 12-15
- Khan, M.R., J.A Blain and J.D.E. Paterson. 1979. Extracellular protease of Mucor pusillus. J.Applied and Env Micriobiol. 17 (4) 719-724
- Sardinas, J.I. 1972 Micriobiol rennet. J. Applied Microbiol. 15:39-66
- Scott, R 1986. Cheesemaking Practice. Scond Ed. The Elsevier Applied Science Publysher London
- Fox, P.F. and P.L.H. Mc Sweeney. 1997. Rennets: their role in milk kogulating and cheese ripening In Law. B.A. Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. 2nd Ed. Chapman and Hall. London
- Weber K. and M. Osborn. 1975. Proteins and sodium dodesyl sulfat; molecul weight determination on polyacrilamide gel and related prosedures.In Neurath, H. and R.I. Hill. Eds Vol I Academic Press. London