

PEMERAMAN UNTUK MENINGKATKAN KUALITAS KEJU YANG DIINOKULASI *Rhizopus oryzae* SEBAGAI SALAH SATU SUMBER BELAJAR BIOLOGI

Solikhah Ana Estikomah

Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Metro
E-mail:Solikhah_ae@yahoo.com

Abstract: Cheese is dairy product resulted from fermented milk in which the fermentation process can be done by lactic acid bacteria or fungus. *R.oryzae* is able to produce lactic acid, protease and lipase. Ripening process changes the taste and texture. The purpose of this research is ripening to improve the quality of inoculated cheese *Rhizopus oryzae*. This research the ripening was conducted the concentration variation of temperature (5°C; 10 °C; 15°C), and time (7 days; 14 days). The procedure of research consisted of two steps. The first was un-ripened cheese preparation. The second was the ripening cheese preparation. Cheese produced in this study analyzed the value of pH, fat content, protein content, amino acid levels and identification of microba with Anava then followed by DMRT at 5% level of significance. Data results were analyzed with the likes nonparametric statistical test, followed by Friedman Wilcoxon Signed Rank Test (WSRT) at 5% level significance. The results showed that the preferred ripened cheese panelist at a temperature of 15°C for 14 days has a pH value of 4.40, the highest protein content of 9.78%, and fat content of 35.02%. Differences affect ripening conditions of pH, fat content, protein content and do not affect the levels of amino acids that formed ripened cheese. The results of identified microba in un-ripened cheese and ripened cheese include *Enterococcus hirae* (*Enterococcus faecalis*), *Bacillus subtilis*, and *Aspergillus sp.*

Kata kunci: Keju, fermentasi, *Rhizopus oryzae*, pemeraman, suhu.

Susu merupakan bahan pangan yang terdiri dari berbagai nutrisi dengan proporsi yang seimbang. Penyusun utamanya adalah air, protein, lemak, laktosa, mineral, dan vitamin-vitamin. Kandungan nutrisi yang tinggi ini akan mudah rusak karena adanya kontaminasi mikroba. Pada sisi lain, kandungan nutrisi tinggi dapat dimanfaatkan sebagai

substrat bagi mikroba bakteri asam laktat untuk menghasilkan produk yang diinginkan seperti keju (Widodo, 2003).

Terdapat permasalahan mendasar yang menimpa peternak susu, yaitu daya tahan susu yang rendah/mudah rusak, posisi tawar peternak terhadap harga susu lemah dan sedikitnya daya serap produksi susu oleh pabrik/koperasi serta

minimnya pengetahuan peternak terhadap olahan susu. Disisi lain peternak senantiasa menginginkan agar susu yang diproduksi dapat dimanfaatkan seutuhnya tanpa ada yang mengalami kerusakan ataupun terbuang percuma, sehingga perlu pengolahan susu yang bertujuan untuk mengawetkan susu agar lebih lama bila disimpan.

Keju merupakan produk olahan susu. Keju merupakan gumpalan (*curd*) dari proses koagulasi kasein susu menggunakan *rennet*, asam laktat atau enzim lain yang dapat menggumpalkan kasein susu (Daulay, 1991).

Jamur *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan asam laktat (Purwoko & Pamudyanti, 2004). Selain itu *Rhizopus oryzae* memiliki enzim protease yang sifatnya seperti *rennet* (Hadiwiyoto, 1983). Asam laktat akan membantu mengasamkan susu, sedangkan protease berfungsi menggumpalkan kasein susu. Selain asam laktat dan protease *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan lipase yang berfungsi sebagai pemecah lemak yang akan meningkatkan cita rasa keju.

Dalam pembuatan keju pemeraman merupakan salah satu tahapan penting. Produk keju yang mengalami pemeraman dapat merubah keju muda secara perlahan menjadi keju yang matang. Pada proses pemeraman terjadi perubahan cita rasa dan tekstur. Perubahan tersebut disebabkan adanya pemecahan protein menjadi peptida sederhana dan asam amino, pemecahan lemak menjadi asam lemak dan asam volatil seperti asam asetat dan propionat, fermentasi laktosa, sitrat, dan bahan organik lainnya menjadi asam-asam,

ester, alkohol, cita rasa, diasetil dan komponen lainnya

Susu merupakan bahan pangan yang terdiri dari berbagai nutrisi dengan proporsi yang seimbang. Penyusun utamanya adalah air, protein, lemak, laktosa, mineral, dan vitamin-vitamin. Kandungan nutrisi yang tinggi ini akan mudah rusak karena adanya kontaminasi mikroba. Pada sisi lain, kandungan nutrisi tinggi dapat dimanfaatkan sebagai substrat bagi mikroba bakteri asam laktat untuk menghasilkan produk yang diinginkan seperti keju (Widodo, 2003).

Jamur *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan asam laktat (Purwoko & Pamudyanti, 2004). Selain itu *Rhizopus oryzae* memiliki enzim protease yang sifatnya seperti *rennet* (Hadiwiyoto, 1983). Asam laktat akan membantu mengasamkan susu, sedangkan protease berfungsi menggumpalkan kasein susu. Selain asam laktat dan protease *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan lipase yang berfungsi sebagai pemecah lemak yang akan meningkatkan cita rasa keju.

Dalam pembuatan keju pemeraman merupakan salah satu tahapan penting. Produk keju yang mengalami pemeraman dapat merubah keju muda secara perlahan menjadi keju yang matang. Pada proses pemeraman terjadi perubahan cita rasa dan tekstur. Perubahan tersebut disebabkan adanya pemecahan protein menjadi peptida sederhana dan asam amino, pemecahan lemak menjadi asam lemak dan asam volatil seperti asam asetat dan propionat, fermentasi laktosa, sitrat, dan bahan organik lainnya menjadi asam-asam, ester, alkohol, cita rasa, diasetil dan komponen lainnya.

Pembuatan keju peram melibatkan proses pengasaman dan pemeraman. Pengasaman susu dilakukan dengan penambahan asam maupun inokulasi mikroba. Pengasaman susu langsung dengan asam kurang sesuai untuk pembuatan keju peram karena selama proses pemeraman tidak terjadi perubahan yang nyata terhadap protein (proteolisis), lemak (lipolisis), dan laktosa. Sedangkan pengasaman dengan menggunakan inokulum dapat mengakibatkan perubahan biokimia meliputi proteolisis, lipolisis dan fermentasi laktosa. Perubahan biokimia dapat mempengaruhi cita-rasa dan tekstur (Septiana, 1994).

Pemeraman keju dilakukan dengan menyimpan keju selama beberapa waktu dan pada suhu tertentu. Semakin lama pemeraman, semakin kuat cita-rasa keju yang terbentuk. Dalam pemeraman keju, suhu pemeraman berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas proteolitik dan produksi asam. Suhu yang tinggi akan mempercepat proses tersebut, tetapi tidak menguntungkan. Pada suhu yang tinggi, produksi asam lebih cepat, sehingga timbul cita rasa asam yang kuat dan penguapan dipercepat sehingga kehilangan air lebih banyak dan pembusukan lebih cepat terjadi. Pada suhu yang rendah terjadi keseimbangan produksi asam dan aktivitas proteolitik serta penguapan air terhambat (Daulay, 1991).

Rumusan permasalahan yang diajukan dalam penelitian ini sebagai berikut: Bagaimanakah pengaruh variasi suhu dan lama pemeraman terhadap kualitas keju berdasarkan nilai pH, kadar

lemak, kadar protein, kadar asam amino, serta uji kesukaan pada keju peram?

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh variasi suhu dan lama pemeraman terhadap kualitas keju berdasarkan nilai pH, kadar lemak, kadar protein, kadar asam amino, serta uji kesukaan pada keju peram

METODE

Penelitian meliputi beberapa tahap kerja, yaitu:

1. Persiapan.

Langkah pertama dilakukan persiapan alat, dan bahan yang akan digunakan. Selanjutnya dilakukan sterilisasi alat, dan bahan serta pembuatan medium. Alat dicuci bersih, dan disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Meja yang akan digunakan dibuat aseptis dengan penyemprotan alkohol 70%. Sterilisasi merupakan suatu proses untuk mematikan mikroba yang terdapat pada suatu benda (Prasetyowati, 2007).

2. Pembuatan media.

Proses pembuatan media diawali dengan mencampurkan bahan-bahan media PDA (*Potato Dextrosa Agar*), yang merupakan media untuk pertumbuhan *Rhizopus oryzae*. Selanjutnya aquades dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah campuran mendidih, media PDA dituangkan kedalam tabung reaksi kemudian dilanjutkan dengan proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada

suhu 121° C pada tekanan 1 atm sel ama 30 menit selanjutnya tabung reaksi diletakkan pada posisi miring agar terbentuk media miring.

3. Pembuatan kultur kerja.

Kultur kerja berupa *Rhizopus oryzae* yang siap digunakan untuk pembuatan starter. Kultur kerja didapatkan dengan meremajakan kultur *Rhizopus oryzae* yaitu dengan menginokulasikan 1 ose kultur murni *Rhizopus oryzae* kedalam PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3-4 hari, sedangkan sisanya disimpan pada suhu 4 °C sebagai kultur stok dan diremajakan setiap 6 bulan (Wijaya, 2002 dan Suharyanto dkk, 2006).

4. Pembuatan Starter .

Starter dibuat dengan cara susu segar (susu skim cair) sebanyak 250 ml diinokulasi dengan *Rhizopus oryzae* dari media PDA yang berumur 3-4 hari, biakan *Rhizopus oryzae* diambil sebanyak 50 sel/ml (3 ose) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 hari (Nurhidayati, 2003).

5. Pembuatan Keju.

Pembuatan keju meliputi: pasteurisasi, fermentasi dan inkubasi, koagulasi susu terfermentasi, pembuangan *whey*, pengepresan *curd*, penggaraman, dan pemeraman.

a. Pasteurisasi

Susu sapi segar, sebanyak 3600 ml dipasteurisasi sampai suhu 70 °C selama 30 detik. Setelah dipasteurisasi,

susu tersebut didinginkan sampai suhu mencapai 37 °C kemudian dimasukkan ke dalam 8 buah gelas beker dengan volume masing-masing 200 ml.

b. Fermentasi dan koagulasi susu terfermentasi

Botol kaca yang berisi susu yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 ° C selama 9 jam. Selama inkubasi botol ditutup dengan aluminium foil (Wardhani, 1996). Bagian yang menjedal disebut *curd* sedangkan bagian cairan disebut *whey* (Wardhani, 1996).

c. Pembuangan *whey*

Proses pembuangan *whey* dilakukan dengan pemanasan pada selama 30 menit pada suhu 40 °C. Setelah proses pemanasan selesai dikerjakan, lalu didinginkan selama 1 jam sambil diaduk tiap 5 menit (Hadiwiyoto, 1983). Kemudian dilakukan penyaringan dengan kain kasa yang bersih. Penyaringan dilakukan agar *curd* dan *whey* terpisah. *Curd* yang terbentuk diambil sedangkan *whey* dibuang (Legowo, 2003).

d. Pengepresan *Curd*

Curd yang terbentuk dibungkus dengan kain kasa bersih dilanjutkan pengepresan. Tujuan pengepresan adalah memberikan kekompakan dan bentuk pada keju. Disamping itu sisa-sisa *whey* dapat dikeluarkan/dipisahkan seluruhnya (Hadiwiyoto, 1983).

e. Penggaraman

Penggaraman dilakukan dengan menaburkan garam dipermukaan *curd*. *Curd* yang terbentuk diberi garam sebanyak 4%. Garam yang diberikan dalam bentuk kristal yang telah dihaluskan dan ditaburkan kemudian diaduk sampai betul-betul rata (Prasetyowati, 2007). Penggaraman ini menambah cita rasa keju menjadi agak asin dan menambah ketahanan keju (Legowo, 2003).

f. Pemeraman

Curd yang telah diberi garam kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan diperam selama 0 hari (tanpa peram), 7 hari, 14 hari, dengan suhu pemeraman 5°C, 10 °C, dan 15°C.

6. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi meliputi perhitungan total mikroba dan identifikasi mikroba. Perhitungan total mikroba dilakukan dengan menimbang keju 25 g kemudian dihomogenkan dengan 225 ml aquadest (Rosa *et al.*, 2003; Ceylan *et al.*, 2003; Mennane, *et al.* 2007).

Perhitungan total mikroba berdasarkan *Standart Plate Count*. Pemupukan dilakukan dengan media *Plate Count Agar* (PCA) dengan cara 1 ml inokulasi dipepet kedalam petri steril dan selanjutnya media PCA yang telah dingin dituangkan kedalam cawan petri steril tersebut sebanyak 12-15 ml, campuran dihomogenkan dengan cawan petri digerakan dengan arah membentuk angka delapan. Setelah agar mengeras, cawan petri diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37 °C selama 24-48

jam. Kemudian koloni yang terbentuk dihitung.

Identifikasi dilakukan dengan mengisolasi koloni mikroba kemudian menumbuhkan pada media PDA untuk kapang dan media MRSA untuk bakteri. Identifikasi kapang berdasarkan ciri morfologinya. Identifikasi bakteri menggunakan BD *PhoenixTM*.

7. Analisis Kadar lemak

Analisis lemak menggunakan metode *Soxhlet* sebagai berikut: Sampel sebanyak 3 g diambil lalu dimasukkan kedalam timbel. Labu yang telah bersih dimasukkan kedalam oven, lalu ditambahkan batu didih dan ditimbang sebagai bobot kosong. Timbel dimasukkan kedalam *soxhlet*, kemudian labu lemak dihubungkan dengan *soxhlet* dan ditambahkan cairan pelarut lemak yaitu eter sebanyak 150 ml melewati *soxhlet*. Labu lemak dan *soxhlet* dihubungkan dengan penangas dan diekstrak selama 6 jam. Setelah ekstrak selesai, labu lemak dievaporasi untuk menghilangkan pelarut. Selanjutnya labu lemak dimasukkan kedalam oven bersuhu 105 ° C selama 1 jam. Setelah dingin ditimbang sebagai bobot akhir (bobot labu dan lemak). Rumus perhitungan sampel yaitu:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{c-b}{a} \times 100 \%$$

keterangan:

a = bobot contoh

b = bobot lemak dan labu didih

c = bobot labu lemak, batu didih dan lemak

8. Analisis Protein Total

Kadar protein dianalisis dengan metode *Lowry-Folin* secara spektrofotometri (Sudarmadji dkk., 1984). Pengukuran dimulai dengan pembuatan larutan standart BSA (Bovine Serum Albumin). Seri pengenceran dibuat dari larutan standart dengan masing-masing konsentrasi 0,00; 0,06; 0,18; 0,24; dan 0, 30 (mg/ml H₂O) dan dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi. 1 ml larutan D ditambahkan kedalam tabung reaksi kemudian divortek selama 5 menit. Setelah itu dilakukan penambahan reagen E sebanyak 3 ml lalu didiamkan selama 10 menit. Pengukuran OD dilakukan pada panjang gelombang 560 nm menggunakan spektrofotometer.

Tahap selanjutnya yaitu pengambilan sampel keju sebanyak 1 g dan dilarutkan dalam 100 ml aquades kemudian dilakukan pengadukan dengan *magnetik stirrer*, larutan kemudian disaring dan ditambahkan 100 ml aquadest. 1 ml larutan sampel diambil kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml reagen *lowry D*, digojog dengan vortex selama 5 menit. Selanjutnya reagen *lowry E* sebanyak 3 ml ditambahkan kedalam tabung reaksi dan digojog dengan vortex kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 45 menit. Pengukuran OD pada panjang gelombang 590 nm menggunakan spektrofotometer.

Rumus perhitungan sampel yaitu:

$$\% \text{ protein} = \frac{a \times b}{c} \times 100 \%$$

keterangan:

a = konsentrasi

b = faktor pengenceran

c = banyak sampel (g)

9. Analisis Asam Amino

Kadar asam amino keju dianalisis dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromathography*). Sampel keju yang akan dianalisis kandungan asam aminonya terlebih dahulu dipreparasi, dengan cara sampel keju diambil sebanyak 5 g yang telah digiling halus dimasukkan kedalam Erlenmeyer bertutup asah, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dihidrolisis pada suhu 110 ° C selama 12 jam. Kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman no.41, dan pH diatur hingga normal (pH 7). Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml, diambil 3 ml dari larutan tersebut dan disaring dengan millex 0, 45 µm. Untuk injeksi kedalam HPLC, diambil larutan yang telah di milex sebanyak 10 µL + 990 µL OPA dan divortek. Direaksikan selama 3 menit. Selanjutnya diinjeksi kedalam HPLC.

Pembuatan larutan standart. Standart stok terdiri dari L-threonin =1050 ppm; L-Methionine= 1000 ppm; L-valine= 1010 ppm; L-thriptophan=1010; L-Phenilalanine= 1000 ppm; L-isoleusine=1060; L-Leucine= 1010 ppm; L-lycine = 1000 ppm; masing-masing diambil dengan perbandingan 1:1:1:1:1:1:1 menjadi 10 µL + 990 µL OPA diinjeksi ke HPLC

Kondisi HPLC. Asam amino keju dideteksi dengan HPLC dengan

seperangkat alat HPLC. Sampel yang telah dipreparasi diambil sebanyak 20 µl dengan menggunakan injektor. Asam amino dideteksi seperangkat alat HPLC kolom Eurospher 100-5 C18, 250x4.5 mm dengan precolumn P/N: 1115Y535. Eluen: A= Buffer Asetat 0.01 M pH 5.9; B= (MeOH: Buffer Asetat 0.01 M pH 5.9).

10. Uji Organoleptik

Uji organoleptik yang akan dilakukan adalah uji kesukaan. Uji ini untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk yang dihasilkan. Uji tingkat kesukaan yang dinilai meliputi warna, rasa, aroma, dan tekstur keju. Penilaian dilakukan oleh 20 panelis tidak terlatih. Uji kesukaan ini mengacu pada Zulaekah dan Widiyaningsih (2005). Skala dibuat lima tingkat (taraf 1-5), dimulai dari 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (agak suka), 4 (suka), 5 (sangat suka)

E. Analisis Data

Data yang diperoleh dari analisis nilai pH, kadar lemak, dan kadar protein serta jumlah mikroba dianalisis dengan Analisis Variansi (Anava) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Data hasil uji tingkat kesukaan dianalisis secara deskriptif dengan statistik nonparametrik *Friedman Test* (uji Friedman) yang dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon Signed Rank Test* (WSRT) pada taraf signifikansi 5%.

HASIL

Tabel 1. Nilai pH keju peram yang diinokulasi dengan *Rhizopus oryzae*

Lama pemeraman	suhu		
	5 °C	10 °C	15 °C
7 hari	5,44 ^{bc}	5,09 ^b	4,87 ^{ab}
14 hari	5,14 ^{bc}	4,88 ^{ab}	4,40 ^a

Keterangan: Kadar protein (%) dengan superskrip huruf kecil berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada uji Duncan.

Tabel 2. Kadar lemak keju peram yang diinokulasi dengan *Rhizopus oryzae*

Lama pemeraman	suhu		
	5 °C	10 °C	15 °C
7 hari	34,56 ^{ab}	34,48 ^{ab}	35,30 ^{ab}
14 hari	32,43 ^a	33,31 ^{ab}	35,02 ^{ab}

Keterangan: Kadar lemak (%) dengan superskrip huruf kecil berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada uji Duncan

Tabel 3. Nilai kadar protein (%) keju peram yang diinokulasi dengan *Rhizopus oryzae*.

Lama pemeraman	suhu		
	5 °C	10 °C	15 °C
7 hari	6.28 ^d	7.56 ^c	8,34 ^b
14 hari	7.22 ^c	7.60 ^c	9,78 ^a

Keterangan: Kadar protein (%) dengan superskrip huruf kecil berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada uji Duncan.

Tabel 4. Kadar asam amino pada keju yang diinokulasi dengan starter *Rhizopus oryzae*.

Senyawa Asam Amino Esensial	Kadar asam amino esensial keju peram (%)		
	0 hari	7 hari	14 hari
L-Threonine	1,15	1,68	1,58
L-Methionine	0,47	0,62	0,58
L-Valine + L-Thriptophan	0,70	1,78	1,65
L-Phenylalanine	0,66	1,12	1,00
L-Isoleucine	0,48	0,99	0,84
L-Leucine	1,28	2,30	1,96
L-Lycine	1,64	2,42	2,44
Total	6,38	10,91	10,05

Tabel 5. Skor uji kesukaan rasa, aroma, warna dan tekstur pada keju peram

Pemeraman	Rasa	Aroma	Warna	Tekstur
5°C selama 7 hari	3,40 ^a	3,47 ^a	4,70 ^a	4,25 ^a
5°C selama 14 hari	3,75 ^a	4,43 ^a	3,40 ^a	3,75 ^a
10°C selama 7 hari	4,45 ^a	3,95 ^a	4,22 ^a	4,60 ^a
10°C selama 14 hari	4,03 ^a	4,45 ^a	4,00 ^a	4,13 ^a
15°C selama 7 hari	4,22 ^a	3,83 ^a	3,85 ^a	3,17 ^a
15°C selama 14 hari	4,50 ^a	4,42 ^a	3,45 ^a	4,20 ^a
Kontrol	3,92 ^a	3,65 ^a	4,38 ^a	3,90 ^a

Keterangan: Semakin besar nilai, maka keju peram (*ripened cheese*) semakin disukai. Superskrip sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada uji fridman 5%. 1 = sangat tidak suka 2 = tidak suka 3 = agak suka 4 = suka 5 = sangat suka

Tabel 6. Mikroorganisme yang ditemukan selama pemeraman 7 dan 14 hari pada suhu 15 °C pada media MRS dan PDA.

Jenis Media	kontrol	7 hari	14 hari
media PDA (cfu/ml)	<i>Aspergillus</i> sp (1,2x10 ⁴)	<i>Aspergillus</i> sp (1,1x10 ⁴)	<i>Aspergillus</i> sp (2,8x10 ⁴)
media MRS (cfu/ml)	<i>Enterococcus hirae</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> (3,8x10 ⁴)	<i>Enterococcus hirae</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> (3,3x10 ⁴)	<i>Enterococcus hirae</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> (3,2x10 ⁴)

Tabel 7. Jumlah mikroba x 10⁴ pada media *Total Plate Count* (TPC)

Lama pemeraman	suhu		
	5 °C	10 °C	15 °C
7 hari	10,99 ^{ab}	11,95 ^{ab}	12,99 ^b
14 hari	10,12 ^a	11,14 ^{ab}	11,30 ^{ab}

PEMBAHASAN

A. NILAI pH

Dari Tabel 1, dapat diketahui bahwa nilai pH bahwa perlakuan variasi suhu dan lama pemeraman berpengaruh pada nilai pH. Semakin lama pemeraman nilai pH semakin rendah. Pada penelitian ini nilai pH tertinggi pada perlakuan pemeraman pada suhu 5 °C selama 7 hari sebesar 5,44 dan terendah pada perlakuan pemeraman pada suhu 15 °C selama 14 hari sebesar 4,40.

Menurut Soeza (2003), kadar pH menurun selama proses pemeraman. Penurunan kadar pH keju dipengaruhi oleh jumlah asam laktat yang dihasilkan oleh mikroorganisme, semakin tinggi asam laktat maka pH-nya semakin rendah. Turunnya nilai pH karena adanya aktivitas bakteri dalam keju tersebut. BAL yang ada di dalam keju (*Bacillus subtilis* dan *Enterococcus*

hirae) mampu memproduksi asam laktat dari gula yang nantinya diperlukan dalam membentuk rasa, mencegah pertumbuhan bakteri patogen, dan keselamatan produk akhir (Kayagil, 2006). Asam laktat merupakan hasil metabolisme glukosa. Meningkatnya asam laktat ditandai dengan penurunan pH. Meningkatnya asam laktat timbul akibat ion H⁺ yang terjadi karena dekomposisi laktosa yang menghasilkan asam-asam yang mudah menguap, dan pecahnya fosfat organik yang terdapat di dalam kasein, sehingga menghasilkan asam. Menurut Rahman (1992) BAL akan terus membentuk asam laktat sampai jumlah aktivitas sel menurun. Aktivitas sel BAL dapat menurun atau bahkan mati jika keadaan asam yang terlalu tinggi

B. Kadar Lemak

Berdasarkan Tabel 3 perlakuan variasi suhu, dan lama pemeraman berpengaruh terhadap kadar lemak. Pada pemeraman selama 7 hari pada suhu 15°C menghasilkan kadar lemak yang paling tinggi yaitu sebesar 35,30 % sedangkan kadar lemak yang paling rendah pada pemeraman suhu 5 °C selama 14 hari kadar lemak keju sebesar 33,43%. Jika dibandingkan dengan kontrol yang memiliki kadar lemak sebesar 40,70%, maka kadar lemak keju peram memiliki kadar yang lebih rendah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar lemak semakin lama pemeraman kadar lemaknya semakin menurun. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kayagil (2006) menurunnya kadar lemak pada keju karena pada proses pemeraman terjadi degradasi lemak dengan bantuan enzim lipase. Enzim lipase selama pemeraman berasal dari mikroba yang tumbuh selama pemeraman BAL (*Enterococcus* dan *Bacillus*) dan *Aspergillus* sp.

C. Kadar Protein

Dari Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan variasi suhu dan lama pemeraman berpengaruh terhadap kadar protein. Pemeraman pada suhu 15 °C selama 14 hari memiliki kadar protein paling tinggi yaitu sebesar 9,78%. Kadar protein terendah terdapat pada pemeraman 5 °C selama 7 hari yaitu sebesar 6,28%.

Tingginya kadar protein keju peraman pada suhu 15°C selama 14 hari sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Licitra *et al.*, (2000) yang menunjukkan

adanya peningkatan kadar protein selama pemeraman dari 0 sampai 12 bulan. Pada pemeraman 0 bulan kadar protein sebesar 25,30% dan meningkat 29,24% setelah pemeraman 12 bulan. Jika dibandingkan dengan kontrol yang memiliki kadar protein sebesar 2,23%, maka keju peram pada penelitian ini memiliki kadar protein yang lebih tinggi. Menurut Daulay (1991), meningkatnya kadar protein pada keju disebabkan karena proses pemeraman keju memberi kesempatan bagi mikroba (*Enterococcus hirae*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus* sp), dan enzim-enzim dalam dadih keju untuk menghidrolisis protein.

D. Kadar Asam Amino Esensial Keju Peram

Dari hasil dapat diketahui pada kontrol mempunyai hasil yang paling rendah, sedangkan pada perlakuan 7 hari, diperoleh hasil yang maksimum dan menurun pada perlakuan 14 hari. Menurut Daulay (1991) jenis dan jumlah asam amino yang terbentuk selama pemeraman keju bervariasi tergantung pada jenis keju. Kebanyakan asam amino terus meningkat dengan cepat dan beberapa diantaranya mencoba mencapai hasil yang maksimum pada tahap tertentu, kemudian asam amino yang terbentuk didekomposisikan lebih lanjut dengan enzim spesifik, asam amino bukan merupakan produk akhir selama pemeraman keju

E. Uji Kesukaan

Hasil analisis non-parametrik menunjukkan aroma yang paling disukai pada pemeraman 10°C selama 14 hari,

sedangkan aroma yang paling tidak disukai pada 5°C selama 7 hari yang merupakan keju peram pada suhu paling rendah, menurut Daulay (1991) suhu rendah menghambat proses biokimia sehingga mengakibatkan proses pembentukan aroma terhambat. Jika dibandingkan dengan kontrol keju peram lebih disukai, pada penelitian ini kontrol merupakan keju tanpa pemeraman (*unripened*) yang merupakan jenis keju segar tanpa pemeraman sehingga aroma keju belum terbentuk dan masih didominasi oleh aroma susu yang digunakan

F. Mikroorganisme yang ditemukan dalam keju peram yang diinokulasi *Rhizopus oryzae*

1. Identifikasi mikrobiologi

Dari Tabel 6, dapat diketahui jumlah kapang yang semakin lama semakin meningkat sedangkan jumlah bakteri semakin lama semakin menurun hal ini dikarenakan *Bacillus subtilis* dan *Enterococcus hirae* merupakan bakteri termodurik yang memiliki suhu optimal 30-45°C sedang *Aspergillus* tumbuh pada suhu optimal pada 29 – 32 °C sehingga perlakuan pemeraman pada suhu 15 °C mengakibatkan *Aspergillus* lebih mampu bertahan dari pada *Bacillus subtilis* dan *Enterococcus hirae*.

2. Jumlah Total koloni mikroba keju peram yang diinokulasi dengan *Rhizopus oryzae*.

Dari Tabel 7, diketahui bahwa semakin lama pemeraman semakin sedikit jumlah mikroorganisme yang tumbuh. Menurut Amos (2007) mikroba

pada keju akan tumbuh cepat pada susu dan *curd* selama pembuatan keju, kemudian akan terjadi penurunan jumlah selama pemeraman, disebabkan selama pemeraman terjadi penurunan pH, berkurangnya laktosa dan tingginya konsentrasi kadar garam

Dari Tabel 8, diketahui bahwa pada pemeraman suhu 15 °C selama 7 hari memiliki jumlah mikroba yang paling banyak sedangkan yang paling sedikit pada perlakuan pemeraman pada suhu 5 °C selama 14 hari. Pemeraman keju pada suhu rendah menghasilkan jumlah mikroba paling sedikit. Suhu rendah pada perlakuan pemeraman pada suhu 5 °C selama 14 hari mengakibatkan hampir semua pertumbuhan mikroba diperlambat. Suhu mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme. Semua proses pertumbuhan tergantung reaksi kimiawi dan suhu mempengaruhi laju reaksi-reaksi kimia. Enzim akan mengalami denaturasi pada suhu yang terlalu tinggi atau menjadi tidak aktif pada suhu terlalu rendah. Hal ini akan menyebabkan perubahan laju reaksi kimia. Pada suhu rendah dapat menghambat reaksi kimia sehingga proses pertumbuhan menjadi terhambat.

Jika dibandingkan dengan kontrol yang merupakan keju tanpa pemeraman yang memiliki jumlah mikroba sebesar $12,15 \times 10^{-4}$ cfu^{-g}, keju peram pada penelitian ini memiliki jumlah mikroba yang sedikit, disebabkan pH pada keju peram lebih rendah (4 sampai 5,4) dibanding pH keju tanpa peram (5,5) yang mengakibatkan mikroba yang berada didalam keju mati karena tidak tahan asam.

Sebagai salah satu sumber belajar biologi, kajian ini mendukung materi pokok fermentasi. Guru biologi dapat memanfaatkan proses pembuatan keju dalam eksperimen siswa. Perangkat yang dibutuhkan adalah petunjuk praktikum dan lokasi kegiatan praktikum. Pemanfaat hasil penelitian memberikan informasi kepada siswa mengenai proses fermentasi, perkembangan ilmu dan teknologi pengolahan susu, sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu pedoman alternatif dalam variasi pengolahan susu dan pembuatan keju peram.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penggunaan variasi lama pemeraman berpengaruh pada jumlah mikroba, nilai pH, kadar lemak dan kadar protein. Kualitas keju terbaik pada suhu 15 °C pemeraman 14 hari, memiliki nilai pH 4,40, kadar protein tertinggi yaitu sebesar 9,78 %, kadar lemak sebesar 35,02 % dan menghasilkan rasa yang sangat disukai oleh panelis.

DAFTAR RUJUKAN

Amos, L.M. 2007. Enzymes from Yeast Adjuncts In Proteolysis During Cheddar Cheese Ripening. *Dissertatio submitted in fulfillment of the degree.* University of the Free State, Bloemfontein South Africa.

Ceylan, Z., H. Turgoklu, K.S. Dayisoğlu. 2003. The Microbiological and Chemical

Saran

Penelitian lebih lanjut diharapkan ada penambahan starter sekunder pembuatan keju peram. Penelitian lebih lanjut diharapkan menggunakan pemeraman suhu 15 °C dengan waktu antara 7 sampai 14 hari. Identifikasi bakteri *Bacillus subtilis* yang menggunakan *BD PhoenixTM* tingkat konfidensinya hanya 90 % sehingga diharapkan pada penelitian selanjutnya menggunakan metode analisis secara molekuler untuk mendapatkan hasil yang lebih tepat.

Sebagai sumber belajar biologi, kajian ini mendukung materi pokok fermentasi. Kepada guru biologi disarankan untuk mengembangkan perangkat pembelajaran dengan memasukkan penelitian ini, sehingga memperkaya pengetahuan siswa tentang proses fermentasi. Selain itu langkah-langkah metode penelitian dapat dilaksanakan dalam kegiatan eksperimental.

Quality of Sikma Cheese Produced in Turkey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (2): 95-97.

Daulay, Djundjung. 1991. *Fermentasi keju*. IPB. Bogor.

Hadiwiyoto, Soewedo. 1983. *Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging, dan Telur*. Liberty. Yogyakarta.

- Kayagil, Fuyagil. 2006. Effect of Traditional Starter Cultures On quality of cheese. *Tesis*. Department of Biotechnology. Middle East Technical University.
- Legowo, A., Nurwantoro, A.N. Albaari. 2003. Kadar Protein, Lemak, Nilai pH dan Mutu Hedonik Keju *Cottage* dengan Bahan Dasar Susu Kambing dan Susu Sapi Skim. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Puslitbang Peternakan, Bogor. p: 272-277. 29-30 September 2003.
- Mc. Kay, L.L., W.E. Sandine and P.R. Elliker. 1971. Lactose Utilization by Lactic Acid and Bacteria. *J. Dairy Science*. 37: 493.
- Mennane, Z., Faïd, M., Lagzouli, M. 2007. Physico-Chemical, Microbial and Sensory Characterisation of Moroccan Klila. *Middle-East Journal of Scientific Resarch* 2 (3-4): 93-97.
- Nurhidayati, T. 2003. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Suhu Fermentasi Terhadap Kualitas Keju *Cottage*. *Kappa*. 4 (1): 13-17.
- Pazakova, J. Pipova, M., Turek, P., Nagy, J. 2001. Change In Some Microbiological and Chemical Parameter During The Ripening of Sheep Cheese at Diferrent Temperatur. *Czech. J. Food Sci.*, 19:121-124.
- Purwoko, T. dan I.R. Pramudyanti. 2004. Pengaruh CaCO₃ pada Fermentasi Asam Laktat oleh *Rhizopus oryzae*. *Journal Mikrobiologi. Indon*. 9: 19-22.
- Rahman, A., Srikandi, F., Winiarti, P.R., dan C. C., Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Rosa, T., C.F. Volken, M. Antonio. 2003. Changes in The Microbiological and Physicochemical Characteristics of Serrano Cheese during Manufacture and Ripening. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 260-266.
- Septiani, Y. 2004. Studi Karbohidrat, Lemak dan protein pada kecap dari tempe. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Wardhani, B. 1996. Mempelajari Penggunaan Beberapa Jenis *Rennet* Dalam Pembuatan Keju *Cottage*. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Wijaya, S. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 3(1): 30-35.
- Widodo, 2003. *Mikrobiologi Pangan Dan Industri Hasil Ternak*. Lacticia press, Yogyakarta.

