



MEMPELAJARI PENGARUH PEMERAMAN  
TERHADAP SIFAT - SIFAT KEJU YANG DIBUAT  
DENGAN ENZIM PROTEASE TANAMAN  
BIDURI (*Calotropis gigantea*)

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Menyelesaikan Studi Strata I Pada  
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember



Asal:	Hadiah	Klass
Tanggal:	Pembelian	637.4
Oleh :	No. Induk : 0302	SAT
	KLASIR / PENYALIN:	m

**Triyanto Budi Santoso**

NIM : 971710101077

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER

2002

Diterima Oleh :

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

---

Dipertahankan pada :

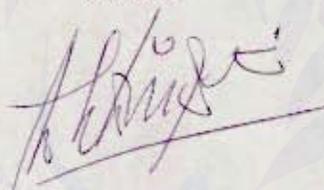
Hari : Senin

Tanggal : 28 Januari 2002

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

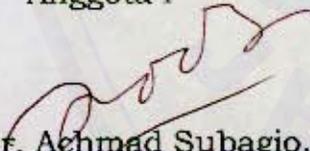
Tim Penguji

Ketua



Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.  
NIP. 130 787 732

Anggota I



Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr.  
NIP. 131 975 306

Anggota II

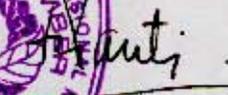


Yuli Witono, S.TP. MP.  
NIP. 132 206 028

Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



  
Sati Hartanti, MS  
NIP. 130 350 763

**MOTTO**

"Sesungguhnya Allah tidak melihat kepada jasad dan rupa-rupa kalian, tetapi Dia melihat kepada hati kalian."

(HR. Muslim)

"Sesungguhnya amal-amal itu hanya bergantung kepada niat. Dan, setiap orang hanya memperoleh menurut apa yang diniatkan."

(HR. Bukhari dan Muslim)

"Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan seberat dzarrah pun, niscaya dia akan melihat (balasan)nya. Dan, barangsiapa yang mengerjakan kejahatan seberat dzarrah pun, niscaya dia akan melihat (balasan)nya pula."

(Az-Zalzalah: 7-8)

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah robbil` alamin..... Akhirnya karya tulis ini dapat terselesaikan. Dengan sepenuh cinta yang tulus kupersembahkan kepada :

Bapak Mujo widodo dan ibu Wijiyati yang telah memberikan kasih sayang, do` a dan dukungannya yang tiada pernah henti, serta almarhum Arjo tinoyo yang telah membangkitkan semangat, memberikan wejangan dan doa

Adik-adikku tercinta : Ernawati dan Etik Irawati, yang telah banyak memberikan bantuan dalam penulisan karya ilmiah ini

Almamater yang kubanggakan

Special thank to :

Someone yang telah memberikan kenangan dan pengalaman yang sangat berarti bagiku yang tak mungkin kulupakan

Tim penelitian enzim protease Biduri : A. Nafi, Erna dwi A., Muflikatul M., Luci A., kerjasama dan kerja keras kita akhirnya membuahkan hasil, lho

Teman-teman seperjuangan di TP` 97 : Pamuji, Rakhit, Priyadi, Ari, Wahyu, Danu, Atik, Yosi, illa, yeni dan yang lainnya ( tidak bisa disebut satu persatu) yang telah memberikan nuansa persaudaraan dan keakraban

Keluarga besar Wisma bisu : Akrom, Tulus, Joko wiyono s.sos arepe.....,Gana, Rendra, Puguh, Eko S.Pd isih suwe, Sumidi, mas Anis dan yang lainnya yang telah banyak membantu baik dalam suka dan duka selama kuliah di Jember

**DOSEN PEMBIMBING :**

**DPU : Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.**

**DPA : 1. Dr.Ir. Achmad Subagio, M.Agr.**

**2. Yuli Witono, S.TP, MP.**

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT. Atas segala karunia dan rahmat yang telah diberikan sehingga penulisan karya ilmiah tertulis yang berjudul "Mempelajari Pengaruh Pemeraman terhadap Sifat-sifat Keju yang dibuat dengan Enzim Protease Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*)" dapat terselesaikan dengan baik.

Penulisan karya ilmiah ini untuk memenuhi persyaratan akademik dalam rangka menyelesaikan program kesarjanaan (strata satu) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dalam proses penyelesaian skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan dan kerjasamanya kepada:

1. Ibu Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan kepada penulis menyelesaikan pendidikan S1;
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS., selaku ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember atas ijin penelitian yang diberikan;
3. Ibu. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., selaku dosen pembimbing utama yang telah bersedia membimbing dan memberikan saran dalam proses penyelesaian karya tulis ini;
4. Bapak Dr.Ir. Achmad Subagio, M.Agr., selaku dosen pembimbing anggota satu yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan karya tulis ini;
5. Bapak Yuli Witono, S.TP, MP., selaku dosen pembimbing anggota dua yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan karya tulis ini;

6. Ir. Boedi Soesanto,MS., selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis selama kuliah;
7. Bapak-bapak dan Ibu-ibu dosen yang telah memberikan tambahan ilmu pengetahuan kepada penulis;
8. Segenap teknisi laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil pertanian, yang dengan sabar telah membantu dan mendampingi penulis selama penelitian;
9. Segenap karyawan Fakultas Teknologi Pertanian yang telah memberikan pelayanan kepada penulis dengan baik;
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung sejak awal hingga akhir penulisan.

Semoga kebaikan-kebaikan mereka diberi imbalan yang lebih besar oleh Allah SWT, Amin. Selanjutnya penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat kepada penulis khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Jember, Januari 2002

Penulis

DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>MOTTO</b> .....	iii
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	iv
<b>DOSEN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>RINGKASAN</b> .....	xiii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Keju.....	4
2.2 Pembuatan Keju dengan Enzim Protease.....	5
2.3 Enzim Protease Biduri .....	6
2.4 Pemeraman Keju .....	8

**III. METODOLOGI PENELITIAN**

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	11
3.2.1 Bahan.....	11
3.2.2 Alat.....	11
3.3 Metode Penelitian .....	12
3.3.1 Rancangan Penelitian dan Analisa Data .....	12
3.3.2 Parameter Pengamatan .....	12
3.3.3 Prosedur Kerja .....	13
3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter .....	14

**IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Tekstur.....	19
4.2 Warna .....	21
4.3 Kadar Air .....	24
4.4 Kadar Protein Terlarut.....	25
4.5 Total Mikroba .....	27
4.6 Organoleptik.....	30
4.6.1 Organoleptik kenampakan.....	30
4.6.2 Organoleptik Tekstur .....	33
4.6.3 Organoleptik Aroma .....	34
4.6.4 Organoleptik Rasa .....	37

**V. KESIMPULAN**

5.1 Kesimpulan .....	39
5.2 Saran .....	40

**DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN**

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
1. Reaksi katalisa protease dalam menghidrolisa ikatan peptida protein .....	8
2. Diagram alir proses pembuatan keju dengan enzim protease biduri .....	13
3. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	19
4. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap kadar air keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	24
5. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap kadar protein terlarut keju yang dibuat dengan enzim protease biduri.....	26
6. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap total mikroba keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	28
7. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap organoleptik kenampakan keju yang dibuat dengan enzim protease biduri.....	31
8. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap organoleptik tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	33
9. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap organoleptik aroma keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	35
10. Grafik pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap organoleptik rasa keju yang dibuat dengan enzim protease biduri.....	37
11. Grafik kurva standard analisa kadar protein dengan metode lowry .....	43

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Kurva standard analisa kadar protein terlarut dengan metode lowry .....	43
2. Rata-rata tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	44
3. Rata-rata nilai warna (L; C dan H) keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman.....	44
4. Rata-rata kadar air keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	46
5. Rata-rata kadar protein terlarut keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	46
6. Rata-rata total mikroba pada keju yang dibuat Dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman.....	47
7. Rata-rata organoleptik kenampakan keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman.....	47
8. Rata-rata organoleptik tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	48
9. Rata-rata organoleptik aroma keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	48
10. Rata-rata organoleptik rasa keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman .....	49

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Tabel pengaruh berbagai metode dan lama pemeraman terhadap warna keju yang dibuat dengan enzim protease biduri .....	21



**Triyanto Budi Santoso** (971710101077) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian "**Mempelajari Pengaruh Pemeraman Terhadap Sifat-sifat Keju yang dibuat dengan Enzim Protease Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*)**" dibimbing oleh **Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. dan Yuli Witono, S.Tp, MP.**

## RINGKASAN

Keju merupakan makanan yang dibuat dari dadih susu yang dilakukan dengan penggumpalan kasein dari susu dan susu skim. Penggumpalan ini terjadi dengan adanya enzim protease atau melalui fermentasi asam laktat. Keju tidak mengandung karbohidrat, kaya akan kalsium dan merupakan sumber penting protein, vitamin A dan riboflavin. Sebagian besar jenis keju memerlukan pengolahan dan penyimpanan lebih lanjut untuk mendapatkan sifat-sifat keju yang khas. Selama pematangan dan curing, keju mengalami perubahan yang mengubah flavour, masa (body), tekstur dan kadang-kadang bau.

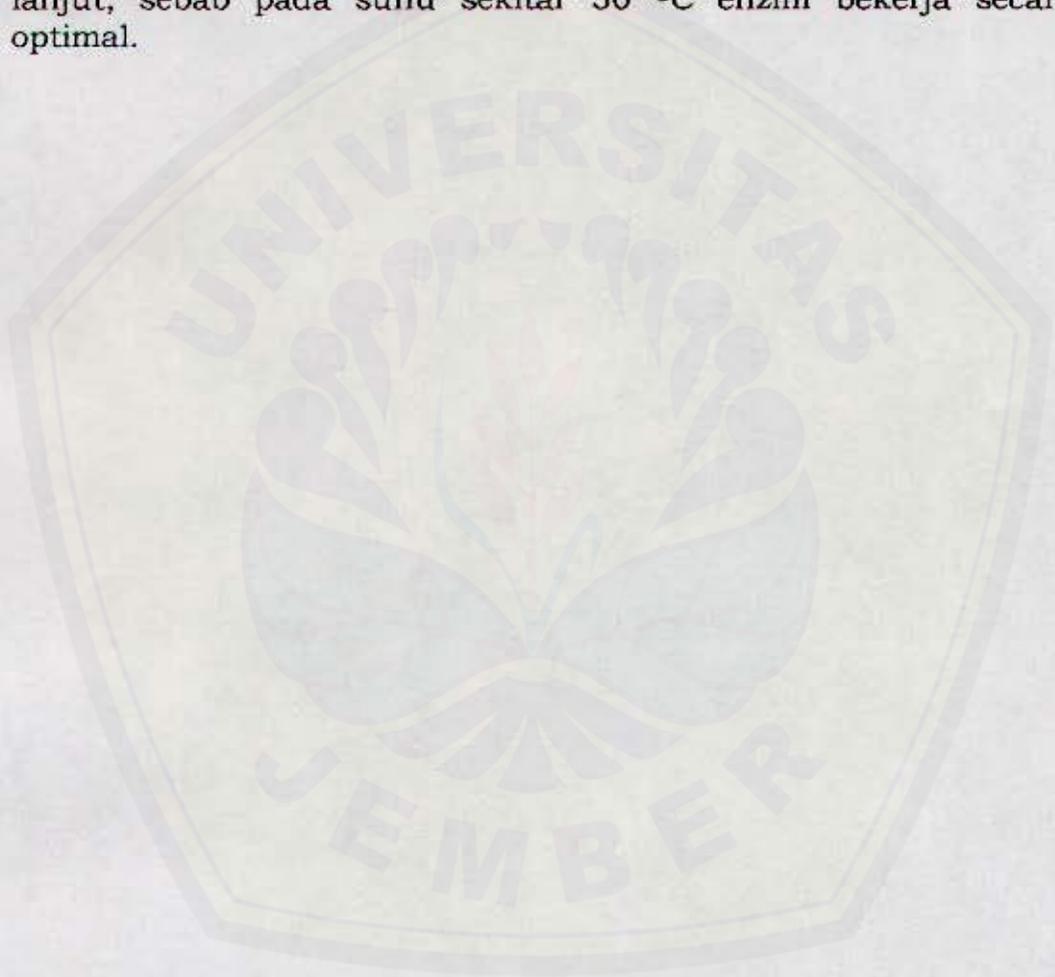
Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh metode dan lama pemeraman terhadap sifat-sifat keju dan mencari kombinasi metode dan lama pemeraman yang tepat sehingga diperoleh keju dengan sifat-sifat yang baik.

Penelitian pemeraman keju dilaksanakan dengan memeram keju dalam freezing ( $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), cooling ( $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu ruang ( $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama 4; 8 dan 12 hari. Keju dianalisa sifat fisik yaitu tekstur diukur dengan rheotex dan warna diukur dengan colour reader sedangkan sifat kimia yaitu kadar air diukur dengan metode oven, kadar protein terlarut dengan metode Lowry, total mikroba dengan PCA dan uji organoleptik secara deskriptif oleh panelis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tekstur keju berkisar 181,93 sampai 86,72 mm/gr. Intensitas warna keju agak kuning yaitu berkisar 9,39 sampai 5,44. Kadar air berkisar 45,65% sampai 57,78%. Kadar protein terlarut berkisar 14,02% sampai 82,7%. Total mikroba berkisar  $52,3.10^6$  sampai  $217.10^6$  koloni/ml bahan dan nilai organoleptik relatif stabil untuk pemeraman pada kondisi dingin sedangkan pada pemeraman suhu ruang nilai organoleptik semakin berkurang seiring dengan lama penyimpanan.

Tekstur keju yang agak lunak disebabkan keju yang dibuat termasuk jenis keju lunak dengan kadar air lebih besar dari 40%. Warna agak kuning keju yang diperam lebih lama diduga berasal dari pigmen karoten yang terdapat dalam lemak keju. Kadar protein terlarut meningkat karena adanya aktivitas enzim protease

yang menghidrolisis protein kasein menjadi fraksi-fraksi peptida yang lebih sederhana. Total mikroba semakin meningkat sebanding lamanya pemeraman karena semakin lama pemeraman jumlah mikroba yang dapat beradaptasi dengan lingkungan tersebut semakin banyak. Sedangkan uji organoleptik kenampakan, tekstur, rasa dan aroma pada pemeraman freezing dan cooling lebih stabil karena selama pemeraman perubahan kimia berlangsung lebih lambat. Sedangkan pada pemeraman suhu ruang mengalami penurunan karena perubahan kimia berjalan lebih cepat dan terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih lanjut, sebab pada suhu sekitar 30 °C enzim bekerja secara optimal.





## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pembuatan keju selama ini banyak menggunakan enzim renin untuk menggumpalkan susu. Selama dua puluh tahun terakhir ini terjadi kekurangan renin yang mendorong orang untuk mencari pengganti renin (Sardjoko, 1991). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Witono, (2000) melaporkan bahwa enzim protease hasil ekstraksi dari getah tanaman biduri telah menunjukkan adanya aktivitas enzim protease. Bahkan dari penelitian oleh Apriliasari, (2002) dilaporkan bahwa enzim protease dari tanaman biduri telah dapat digunakan sebagai pengganti renin untuk menggumpalkan susu pada pembuatan keju.

Pemeraman merupakan langkah lanjutan dalam pembuatan keju. Beberapa jenis keju seperti keju Cottage siap dikonsumsi segera setelah tahu susu diambil, tetapi sebagian besar jenis keju memerlukan pengolahan dan penyimpanan lebih lanjut untuk mendapatkan sifat-sifatnya yang khas. Keju yang kurang matang mempunyai flavour yang hambar dan agak asam dan masanya agak lentur. Selama pematangan dan curing, keju mengalami perubahan terhadap flavour, masa (body), tekstur dan kadang-kadang bau (Buckle *et al.* 1987). Menurut Sardjoko (1991), sesudah tahu susu diolah untuk memperoleh sifat-sifat yang dikehendaki, tahu susu dikeluarkan dari whey, selanjutnya bahan ini dilakukan pemeraman dengan menempatkan keju di dalam ruangan pada suhu terkendali, suhu bervariasi antara 2-16 °C, tergantung jenis keju.

Upaya memperpendek waktu pematangan sangat diperlukan agar biaya produksi dapat ditekan. Metode yang dikembangkan

diarahkan untuk mempercepat proses pemecahan protein dan lemak keju. Salah satu metode untuk mempercepat pematangan dilakukan dengan memperbanyak jumlah bakteri starter. Keberadaan proteinase dan peptonase dalam starter akan meningkatkan konsentrasi enzim (Mangunwidjaja dan Suryani, 1994).

Enzim renin selain untuk menggumpalkan susu, ikut menyumbang terjadinya proteolisis pada keju selama pematangan. Setiap pengganti renet, selain untuk menggumpalkan susu harus dapat menimbulkan reaksi proteolitik yang diperlukan. Kebanyakan pengganti renet lebih proteolitik dari pada renet dalam kaitannya dengan aktivitas untuk pengumpulan. Aktivitas proteolitik yang berlebihan dapat menurunkan hasil dan retensi lemak, selain itu mungkin menimbulkan efek yang tidak diinginkan pada bau keju akibat terbentuknya produk-produk proteolisis. Sehingga perlu dicarikan suatu metode pemeraman yang dapat mengendalikan aktivitas proteolitik yang berlebihan dari enzim protease biduri sebagai pengganti renet, agar diperoleh keju dengan sifat-sifat yang baik. Hal ini dilakukan dengan mempelajari pengaruh metode dan lama pemeraman terhadap sifat-sifat keju yang dibuat dengan enzim protease tanaman biduri.

## 1.2 Perumusan Masalah

Untuk mendapatkan keju dengan kualitas yang baik, maka keju perlu dilakukan pemeraman dengan metode dan lama tertentu. Sehingga perlu dikaji beberapa permasalahan yang ada yaitu :

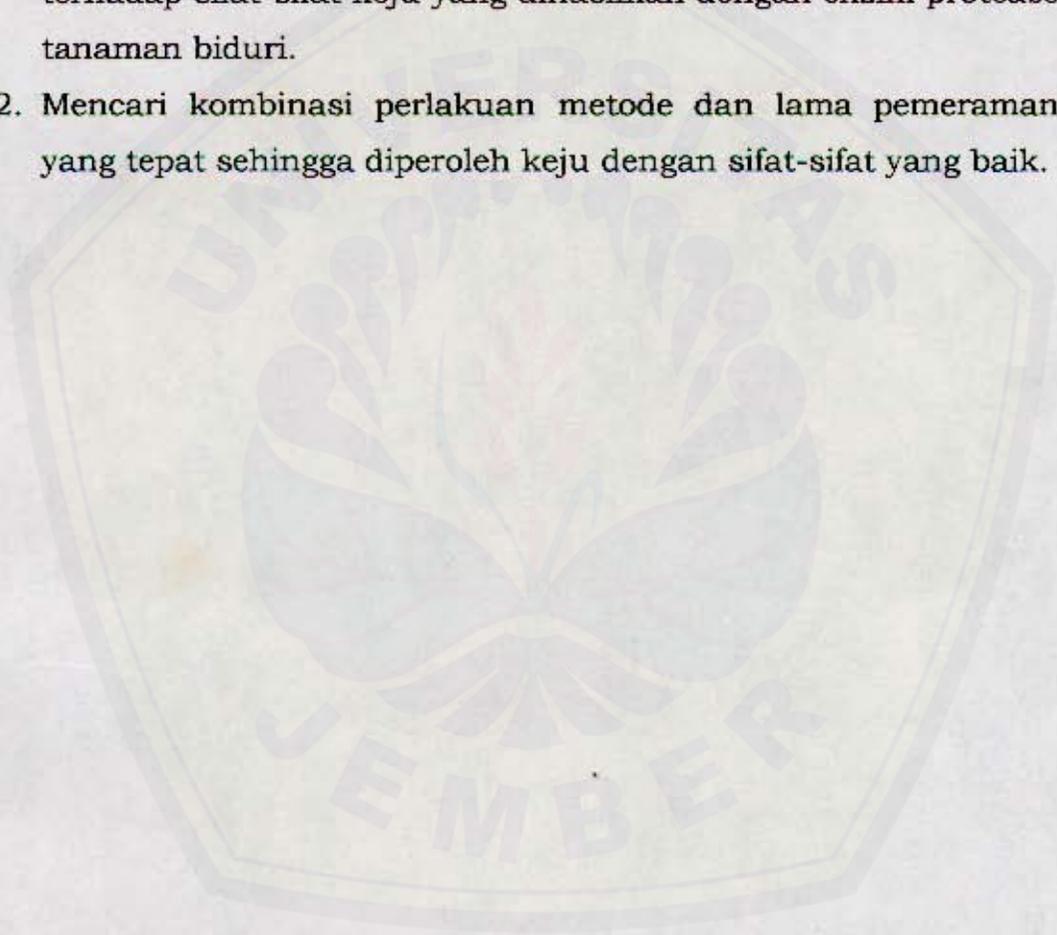
1. Bagaimana pengaruh metode dan lama pemeraman terhadap sifat-sifat keju yang dibuat dengan enzim protease dari tanaman biduri.

2. Pada metode dan lama pemeraman berapa hari keju yang dibuat dengan enzim protease tanaman biduri dapat menghasilkan keju dengan kualitas yang baik.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mempelajari pengaruh metode dan lama pemeraman terhadap sifat-sifat keju yang dihasilkan dengan enzim protease tanaman biduri.
2. Mencari kombinasi perlakuan metode dan lama pemeraman yang tepat sehingga diperoleh keju dengan sifat-sifat yang baik.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Keju

Keju merupakan makanan yang dibuat dari dadih susu yang dilakukan dengan penggumpalan kasein dari susu dan susu skim. Penggumpalan ini terjadi dengan adanya enzim protease atau melalui fermentasi asam laktat, atau dengan kombinasi keduanya (Sausa dan Malcata, 1997).

Pada pembuatan keju, susu diubah menjadi bahan pangan yang lebih padat, bergizi dan tidak mudah rusak. Pada dasarnya pembuatan keju terdiri dari penggumpalan susu untuk membentuk dadih susu (tahu susu), pemotongan, pengeringan whey dari tahu keju dan pengemasan. Berbagai jenis keju tergantung pada bagaimana tahu susu itu diperlakukan dalam arti lamanya tahu itu dikenakan suasana asam, panas dan kondisi-kondisi pematangan. Terdapat berbagai macam dan jenis keju tergantung dimana keju itu dibuat, jenis susu yang dipakai, metode pembuatannya dan perlakuan yang digunakan untuk pematangannya. Dua cara umum untuk mengklasifikasikan keju didasarkan pada sifat-sifat teksturnya atau pada cara-cara pembuatannya. Keju dapat dianggap sebagai "lunak" dengan kadar air lebih besar dari 40%, atau sebagai setengah lunak atau setengah keras dengan kadar air 36-40% atau sebagai "keras" dengan kadar air 25-36%, dan sangat keras kalau kadar airnya kurang dari 25%. Keju dapat dimatangkan dengan bakteri, jamur, berbagai gabungan antara bakteri dan jamur, atau dapat dibiarkan tanpa dimatangkan (Buckle *et al.* 1987).

Bila diinginkan keju dengan warna-warna tertentu, maka pemberian zat pewarna sangat perlu. Tanpa pemberian zat warna,

keju yang dihasilkan hanya akan berwarna putih sedikit kekuning-kuningan. Biasanya zat pewarna yang digunakan adalah zat pewarna kuning (Hadiwiyoto, 1983).

Garam kering ditaburkan pada dadih yang belum kompak seperti pada pembuatan keju Cheddar atau digosokkan pada permukaan keju yang baru dibuat. Penambahan garam ikut menentukan kesedapan, tekstur dan penampilan keju (Marth dalam Prescott dan Dunn, 1992).

## 2.2 Pembuatan Keju Dengan Enzim Protease

Protein dalam susu dapat dibagi menjadi dua fraksi, yaitu kasein dan protein serum. Kasein merupakan 80% dari seluruh protein dalam susu. Kasein dapat dipisahkan menjadi tiga fraksi utama yaitu *alfa*-kasein, *beta*-kasein, dan *kappa*-kasein. *Alfa*-kasein terdiri lebih dari 50%, *beta*-kasein sekitar sepertiga, dan *kappa*-kasein sekitar 15% dari senyawa kompleks kasein. Baik *alfa*-kasein maupun *beta*-kasein dapat diendapkan oleh ion-ion kalsium yang terdapat dalam susu asal tidak ada senyawa lain yang disebut *calcium-insentive kappa*-kasein. Adanya *calcium insentive kappa*-kasein menyebabkan kompleks menjadi stabil (Winarno, 1995).

Renin adalah enzim pembentuk tahu susu, yang diperoleh dari pemisahan perut anak sapi yang masih menyusu dan bersifat proteolitik. Bila ditambahkan ke dalam susu yang telah dimatangkan dan mendapatkan keasaman yang dikehendaki, renin akan menimbulkan denaturasi kasein. Kasein mengendap dan membentuk agar-agar atau campuran tahu dan krim. Proses pemberian renin biasanya selesai dalam 30 menit (Buckle *et al*, 1987).

Dispersi koloid kalsium fosfokaseinat dapat dirusak oleh enzim renin. Oleh kerja enzim renin terbentuklah suatu gel. Dalam hal ini terjadinya gel bukan karena molekul-molekul kasein menjadi netral, tetapi karena terbentuknya garam kalsium kaseinat. Teori mekanisme terbentuknya endapan kalsium kaseinat adalah sebagai berikut : renin mempengaruhi konfigurasi dari calcium insentive *kappa*-kasein menjadi lebih sensitif terhadap ion-ion kalsium. Dengan demikian renin mampu mengubah kasein yang dulu disebut *para*-kasein yang kemudian bereaksi dengan ion kalsium membentuk gel atau gumpalan yang kemudian menjadi tahu susu. Jadi tahu susu yang terjadi oleh renin lebih banyak mengandung kalsium dari pada yang digumpalkan oleh asam (Winarno,1995).

### 2.3 Enzim Protease Biduri

Sistematika biduri (*Calotropis gigantea*) dalam khasanah botani adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1994) :

Devisio	: Spermatophyta
Klas	: Dicotyledone
Sub Klas	: Monochlamydae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Calotropis
Spesies	: <i>Calotropis gigantea</i>

Tanaman biduri merupakan tanaman bergetah, sedangkan getahnya memungkinkan untuk dimanfaatkan dari seluruh tanaman biduri akan mengalir getah pada tempat yang dilukai atau dipotong. Getahnya berwarna putih, kelat tetapi tidak tajam. Beberapa tetes getah dapat mengentalkan susu sapi. Dalam ilmu

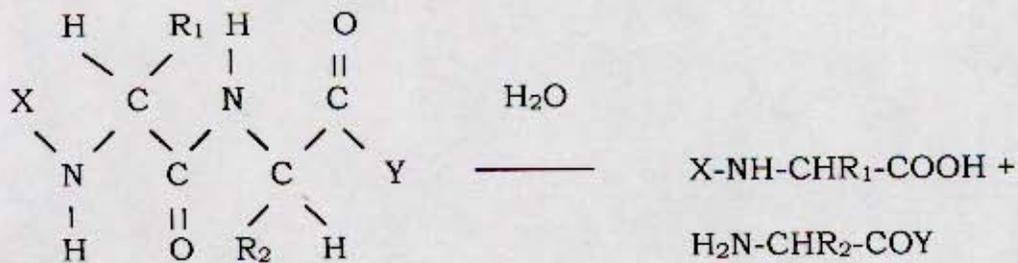
kedokteran, cairan getah ini mempunyai kegunaan, seperti menstimulir pematangan bisul, untuk menanggalkan gigi geraham, bahkan di beberapa daerah telah digunakan untuk penyembuhan luka (Heyne, 1987).

Menurut *Enzyme commission*, enzim protease diberi kode 3 pada nomor EC-nya, hal ini berarti enzim protease termasuk golongan enzim hidrolase. Enzim protease, seperti halnya enzim hidrolase yang lain dapat memecah substratnya dengan adanya molekul air. Enzim protease mempunyai tingkat spesifitas yang berbeda-beda dalam menghidrolisa ikatan peptida di dalam molekul protein (Fox, 1991).

Enzim protease yang sudah diisolasi dari jaringan, baik dari mikroorganisme, jaringan hewan maupun tumbuhan, mempunyai peranan besar dalam berbagai industri. Kemampuan proteolisa dari sejenis enzim ini telah banyak diaplikasikan pada industri-industri pembuatan roti, penjernih bir, pengempukan daging, produksi keju dan sebagainya (Smith, 1995).

Getah dari sejenis tanaman biduri yakni *Calotropis procera* telah berhasil digunakan untuk pembuatan keju (Eskin, 1990). Penggunaan protease dari tanaman ini menghasilkan komposisi yang tidak berbeda, dibandingkan dengan keju yang dihasilkan dari enzim renin komersial (Sausa dan Malcata, 1997).

Reaksi katalisa protease secara umum adalah menghidrolisa ikatan peptida protein seperti pada Gambar 1. Namun demikian berbagai jenis enzim protease mempunyai spesifitas hidrolisa yang berbeda-beda. Beberapa enzim protease mempunyai syarat khusus untuk aktivitas proteasenya. Semakin spesifik suatu enzim, semakin sedikit jumlah ikatan peptida yang mampu dihidrolisa (Whitaker, 1994).



X = rantai peptida sebelumnya

Y = rantai peptida sesudahnya

**Gambar 1. Reaksi katalisa protease dalam menghidrolisa ikatan peptida protein.**

#### 2.4 Pemeraman Keju

Sesudah tahu susu diolah untuk memperoleh sifat-sifat yang dikehendaki, keju kemudian diperam atau dimatangkan, keju Cheddar dan Swiss termasuk kategori ini, sedang keju krem tidak. Pematangan dilakukan dengan menempatkan keju dalam ruang dan suhu terkendali. Menurut Mangunwidjaja (1994), bahwa pematangan dilakukan dengan menempatkan keju didalam ruangan suhu terkendali yang bervariasi antara 2-16 °C, tergantung dari jenis keju.

Pematangan memungkinkan mikroorganisme atau enzim dalam dadih untuk menghidrolisa lemak, protein, dan senyawa lain yang terdapat dalam keju. Penguraian bahan-bahan ini menimbulkan cita rasa keju yang khas. Mengingat lamanya waktu untuk pematangan, penghematan dapat dilakukan dengan memperpendek waktu ini. Kebanyakan metode untuk mempercepat pematangan keju didasarkan pada kenaikan laju penguraian enzimatik protein atau lemak keju. Keju dengan cita rasa yang tajam, lebih mudah dikerjakan daripada yang rasanya halus. Untuk menjamin keseimbangan alami senyawa pembentuk cita rasa dalam produk, enzim dipilih dengan hati-hati. Produksi

peptida oleh bakteri starter telah dipacu lebih dahulu. Peptida dapat menimbulkan rasa pahit yang tidak menyenangkan dan merusak cita rasa keju. Penggunaan protease tambahan hanya akan menguntungkan selama aktivitasnya tidak berlebihan, sehingga tidak mengarah terjadinya rasa yang tidak menyenangkan (Sardjoko, 1991).

Protease ini juga berperan dalam *ripening* keju (Creamer and Olson, 1982), *ripening* menentukan rasa, aroma dan tekstur keju. Pengendalian aktivitas protease dalam keju diperlukan untuk memperbaiki kualitasnya (Chin and Rosenberg, 1997).

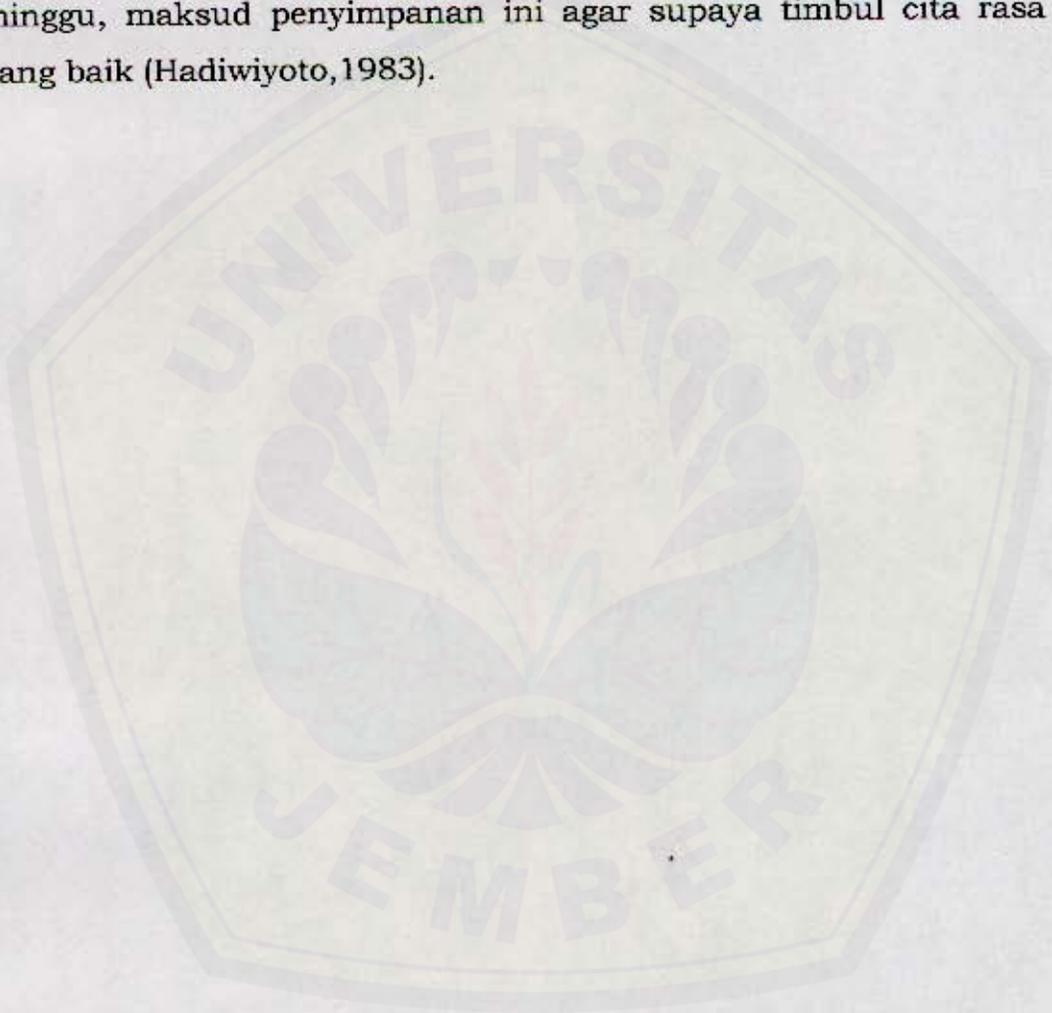
Menurut Schwimmer (1981), hampir semua enzim mempunyai aktivitas optimal pada suhu sekitar 30 °C dan denaturasi mulai terjadi pada suhu 45 °C. Menurut Otsuki *et al.* (1978) dalam Lee *et al.* (1986), suhu optimal untuk aktivitas protease sulfidril adalah 60 °C. Denaturasi akan terjadi dengan cepat apabila suhu mencapai 70 °C.

Menurut Buckle *et al.* (1987) bahwa perubahan-perubahan selama pematangan dan curing disebabkan oleh bermacam-macam enzim yang ada dalam renin, dan oleh bakteri, jamur dan ragi yang tumbuh pada keju. Perlakuan yang diberikan pada tahu susu sebelum pematangan dan lingkungan dimana keju itu disimpan, mempengaruhi atau menentukan perubahan-perubahan yang terjadi. Beberapa jenis keju diinokulasikan dengan mikroorganisme lain sebelum atau pada waktu curing untuk mengembangkan flavour dan sifat-sifat lain yang khas. Perubahan-perubahan ini disebabkan oleh :

1. Hidrolisa protein menjadi peptida dan asam amino yang lebih sederhana.
2. Hidrolisa lemak menjadi berbagai asam lemak yang mudah menguap seperti asam asetat dan propionat.

3. Fermentasi laktosa, sitrat dan senyawa-senyawa organik lainnya menjadi bermacam-macam asam, ester, alkohol dan senyawa-senyawa pembentuk flavour dan aroma yang mudah menguap.

Penyimpanan keju sebaiknya pada suhu rendah selama 3-4 minggu, maksud penyimpanan ini agar supaya timbul cita rasa yang baik (Hadiwiyoto,1983).





### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember dilakukan pada bulan November 2001 sampai Januari 2002.

#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

##### 3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Susu sapi segar yang diambil dari peternak di Jl. Imam Bonjol, Jember, enzim protease tanaman biduri (0,3%), NaOH, reagen Folin, reagen Mix, Alkohol, Aquadest, media PCA (*Plate Count Agar*).

##### 3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rheotex, Botol timbang, Neraca analitis (Ohaus GT 410, USA), Stirer magnetik (STUART Scientific SM 24, UK), Penangas (Branstead/Thermolyne 0-26, USA), Oven, Colony Counter (STUART Scientific), Petridish, Refrigerator (kulkas Toshiba), Eksikator, Tabung reaksi, Pipet ukur, Termometer, Sentrifuge Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, Spectronic 21D Melton Roy dan kuvetnya, Stirer, Colour reader (Minolta, Jepang), Waterbath dan alat-alat lain yang terkait.

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Rancangan Penelitian dan Analisa Data**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sembilan kombinasi perlakuan. Adapun kombinasi perlakuan tersebut dilakukan dengan cara sebagai berikut : setiap bahan dilakukan pemeraman dengan menggunakan metode freezer ( $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), kulkas atau cooling ( $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu ruangan (sekitar  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Masing-masing bahan yang disimpan pada berbagai metode tersebut selanjutnya diamati sifat-sifatnya pada penyimpanan selama 4; 8 dan 12 hari.

Pengolahan data yang dilakukan menggunakan metode deskriptif (Suryabrata, 1989). Hasil penelitian disusun dalam tabel, dianalisa dan dirata-rata dari seluruh ulangan dan dimuat dalam grafik untuk kemudian diinterpretasikan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada.

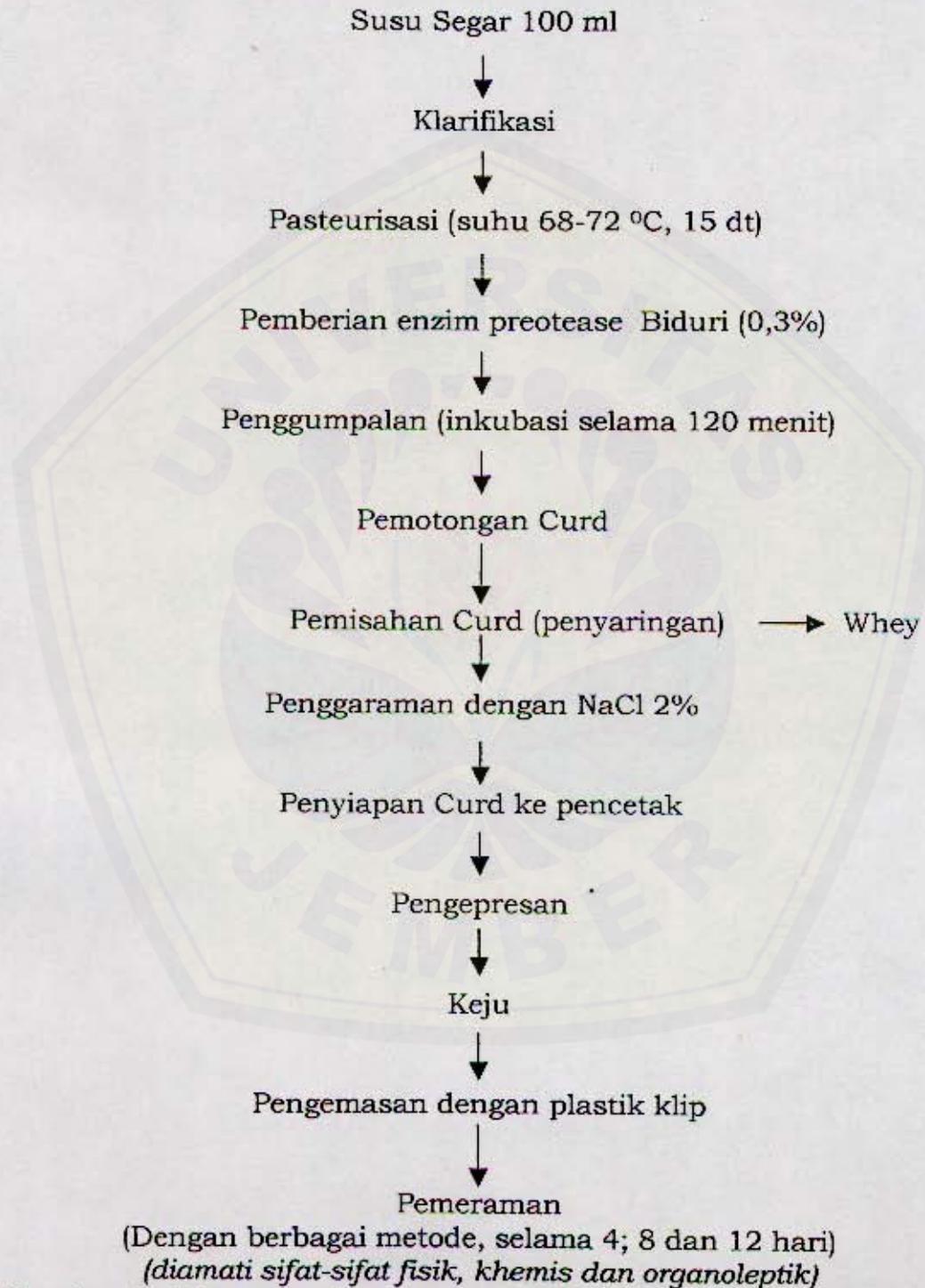
#### **3.3.2 Parameter Pengamatan**

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi :

1. Tekstur (Dengan Rheotex)
2. Warna (Colour Reader)
3. Kadar Air (Metode Oven)
4. Kadar Protein terlarut dalam berat kering (Metode Lowry)
5. Total Mikroba (Plate Count Agar/ PCA)
6. Uji Organoleptik (Metode deskriptif meliputi : kenampakan, tekstur, aroma dan rasa).

### 3.3.3 Prosedur Kerja

Prosedur pembuatan keju dengan enzim protease dari tanaman biduri sebagaimana terdapat pada Gambar 2. berikut ini



**Gambar 2. Diagram alir proses pembuatan keju dengan enzim protease Biduri.**

### 3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter

Pengamatan parameter dalam penelitian ini dilakukan dengan cara sebagai berikut :

#### a. Pengukuran Tekstur (Metode Rheotex)

Power dinyalakan, jarum penekan diletakkan tepat diatas tempat test. Kemudian, menekan tombol distance dengan besaran 0,5 gram dan ditekan juga tombol Hold. Selanjutnya meletakkan keju tepat dibawah jarum Reotex dan menekan tombol start, kemudian membaca hasil pengukuran tekstur keju.

*Keterangan:* tekanan pengukuran tekstur = mm/gr

#### b. Pengukuran Warna (Metode Colour Reader)

Penentuan warna dilakukan dengan menggunakan *colour reader* dimana dilakukan 5 kali ulangan tiap sampel dan dirata-rata. Caranya yaitu sepotong keju diletakkan diatas kertas putih. Selanjutnya warna keju diukur dengan *colour reader* langsung pada lima titik yang berbeda. Dari alat akan didapatkan nilai  $dL$ ,  $da$  dan  $db$ , Kemudian nilai warna dapat ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$W = 100 - \left( (100 - L^*)^2 + (a^{*2} + b^{*2}) \right)^{0,5}$$

Nilai dari  $L^*$  menunjukkan kecerahan dan jarak dari gelap = 0 sampai terang = 100. Nilai  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$  menunjukkan warna abu-abu. Pada sumbu horisontal (+)  $a^*$  menunjukkan warna merah keunguan dan (-)  $a^*$  menunjukkan warna hijau kebiruan. Pada sumbu vertikal (+)  $b^*$  menunjukkan warna kuning dan (-)  $b^*$  menunjukkan warna biru. Kemudian nilai dari sudut warna,  $H = \text{tg}^{-1} b^*/a^*$  menunjukkan warna sampel dimana sudut warna  $0^\circ$  tepat untuk warna merah,  $90^\circ$  warna kuning,  $180^\circ$  warna hijau dan  $270^\circ$  warna biru. Kemudian  $C^*$  adalah untuk metrik warna dimana  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  dan menunjukkan nilai intensitas warna.

### 3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter

Pengamatan parameter dalam penelitian ini dilakukan dengan cara sebagai berikut :

#### a. Pengukuran Tekstur (Metode Rheotex)

Power dinyalakan, jarum penekan diletakkan tepat diatas tempat test. Kemudian, menekan tombol distance dengan besaran 0,5 gram dan ditekan juga tombol Hold. Selanjutnya meletakkan keju tepat dibawah jarum Reotex dan menekan tombol start, kemudian membaca hasil pengukuran tekstur keju.

*Keterangan:* tekanan pengukuiran tekstur = mm/gr

#### b. Pengukuran Warna (Metode Colour Reader)

Penentuan warna dilakukan dengan menggunakan *colour reader* dimana dilakukan 5 kali ulangan tiap sampel dan dirata-rata. Caranya yaitu sepotong keju diletakkan diatas kertas putih. Selanjutnya warna keju diukur dengan *colour reader* langsung pada lima titik yang berbeda. Dari alat akan didapatkan nilai  $dL$ ,  $da$  dan  $db$ , Kemudian nilai warna dapat ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$W = 100 - \left( (100 - L^*)^2 + (a^{*2} + b^{*2}) \right)^{0.5}$$

Nilai dari  $L^*$  menunjukkan kecerahan dan jarak dari gelap = 0 sampai terang = 100. Nilai  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$  menunjukkan warna abu-abu. Pada sumbu horisontal (+)  $a^*$  menunjukkan warna merah keunguan dan (-)  $a^*$  menunjukkan warna hijau kebiruan. Pada sumbu vertikal (+)  $b^*$  menunjukkan warna kuning dan (-)  $b^*$  menunjukkan warna biru. Kemudian nilai dari sudut warna,  $H = \text{tg}^{-1} b^*/a^*$  menunjukkan warna sampel dimana sudut warna  $0^\circ$  tepat untuk warna merah,  $90^\circ$  warna kuning,  $180^\circ$  warna hijau dan  $270^\circ$  warna biru. Kemudian  $C^*$  adalah untuk metrik warna dimana  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  dan menunjukkan nilai intensitas warna.

Nilai  $W = 100\%$  diasumsikan warna putih sempurna. Sebelum digunakan alat ini dikalibrasi dengan menggunakan standar Barium nitrit yang mempunyai nilai  $L^* = 100$ ,  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$ .

**c. Pengukuran Kadar Air (Metode Oven, Winarno, 1992).**

Mengeringkan botol timbang dalam oven dan selanjutnya didinginkan dalam eksikator dan ditimbang (*A*). Memasukkan bahan dalam botol timbang sebanyak 1–2 gram (*B*) dan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu  $100\text{ }^{\circ}\text{C} - 105\text{ }^{\circ}\text{C}$ , selama 3-5 jam. Selanjutnya didinginkan dalam eksikator dan kemudian ditimbang (*C*). Dipanaskan lagi dalam oven 30 menit, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan, pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$\text{Kadar air (\%)} = ((B-A) - (C-A)) / (B-A) \times 100\%$$

$$\text{Kadar air (\%)} = (D / E) \times 100\%$$

*Keterangan :*

D = Berat air yang diuapkan ((*B-A*) – (*C-A*))

E = Berat bahan awal (*B-A*)

**d. Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry, Whitaker, 1994)**

Menimbang kurang lebih 1 gram keju untuk masing-masing kombinasi perlakuan, kemudian digerus/dihaluskan dengan ditambahkan aquadest 4 ml. Larutan disentrifuge selama 6-10 menit. Kemudian air larutan diambil sebanyak 0,1 ml (dalam 3 kali ulangan) dan masing-masing ditambahkan NaOH 0,2 N sebanyak 0,1 ml (vortex). Selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit dan didinginkan. Kemudian ditambah reagent mix sebanyak 1 ml (vortex) dan inkubasi selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan larutan folin 0,1 ml (vortex) dan

diinkubasi selama 10 menit. Kemudian ditambah aquadest sampai volume mencapai 5 ml (vortex) dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya dihitung absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm.

Selanjutnya penghitungan kadar protein terlarut dilakukan dengan menggunakan persamaan garis lurus pada kurva standart. Dengan menghitung nilai  $a$  dan  $b$  menggunakan regresi linier dari absorbansi larutan standar yang terdapat pada Lampiran 1. Sehingga diperoleh nilai  $a = -2,373$  dan nilai  $b = 17,105$  dan ditunjukkan pada lampiran, Gambar 11. Kemudian kadar protein dihitung dengan cara berikut :

1. Kadar Protein Terlarut per Berat Basah (%)

$$Y = 17.105 (A) - 2.373$$

$$KP = (Y (10) / G_{ban} \times 1000) \times 100\%$$

2. Kadar Protein Terlarut per Berat Bahan Kering (%)

$$Y = 17.105 (A) - 2.373$$

$$KP = (Y (10) / G_{bk} \times 1000) \times 100\%$$

$$G_{bk} = G_{ban} (1 - K_a)$$

*Keterangan :*

Y = Persamaan garis lurus pada kurva standart

A = Absorbansi

K<sub>a</sub> = Kadar Air

KP = Kadar Protein

G<sub>ban</sub> = Berat Bahan Awal

G<sub>bk</sub> = Berat Bahan Kering

**e. Total mikroba (Metode PCA)**

Membuat pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dari suspensi sampel dengan menggunakan aquadest steril. Mengambil 1 ml sampel dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan kedalam cawan petridish kemudian ditambahkan media "Plate Count Agar (PCA)" yang telah didinginkan ( $47-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) sebanyak 10 ml dan digoyang-goyangkan supaya sampel menyebar merata. Diinkubasikan pada suhu ruang selama 24 - 48 jam. Mengamati dan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari pengenceran dan memilih cawan petridish yang memenuhi syarat untuk perhitungan TPC (Total Plate Count). Menentukan jumlah mikroba per 1 ml sampel. Perhitungan jumlah mikroba berdasarkan jumlah koloni :

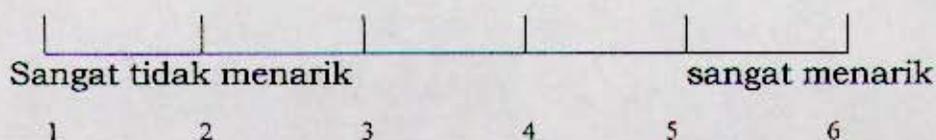
$$\text{Koloni per ml} = \text{Jml koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{F Pengenceran}}$$

**f. Uji Organoleptik**

Uji organoleptik pada penelitian ini menggunakan metode diskriptif dengan skala garis (line scoring), yang selanjutnya panelis akan memberikan tanda silang pada garis yang sesuai dengan penilaian. Disajikan sejumlah sampel sesuai dengan perlakuan, selanjutnya diberi kode 3 angka pada masing-masing sampel secara acak dan diamati :

**1. Kenampakan**

Warna keju yang diuji adalah warna kuning dengan tingkat sangat putih sampai sangat kuning range angka mulai dari 1 - 6

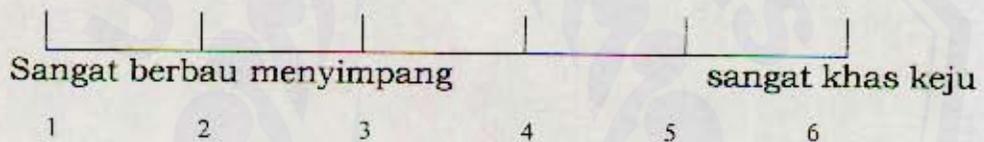


**2. Tekstur**

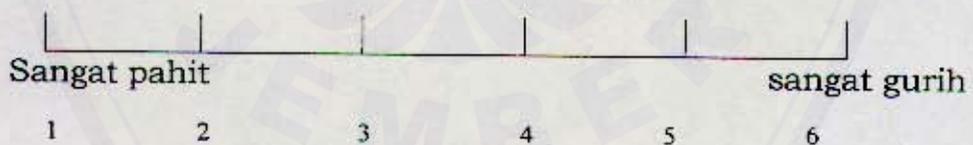
Tekstur keju yang diuji adalah mulai dari sangat lunak sampai sangat keras dengan range angka mulai dari 1 - 6

**3. Aroma**

Aroma keju yang diuji adalah mulai dari sangat menyimpang sampai sangat berbau khas keju dengan range angka mulai 1 - 6

**4. Rasa**

Rasa keju yang diuji adalah mulai dari sangat pahit sampai sangat gurih dengan range angka mulai dari 1 - 6





## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

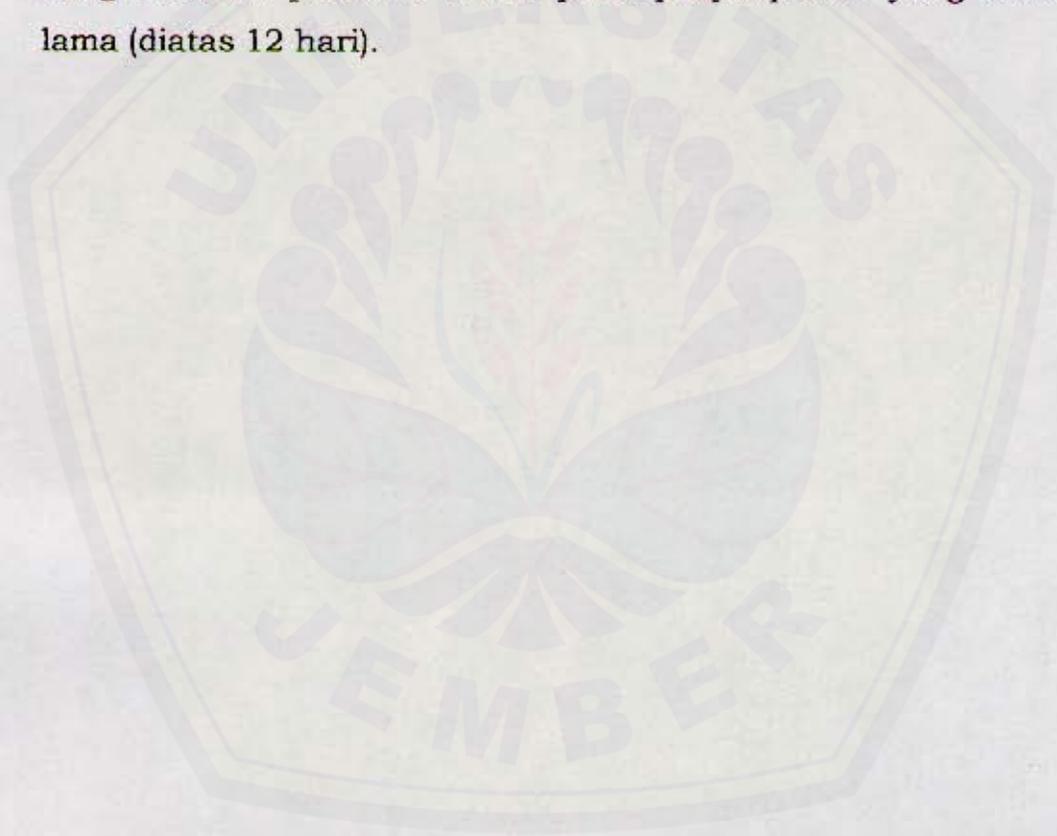
Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Metode dan lama pemeraman keju yang dibuat dengan enzim protease biduri berpengaruh pada tekstur, warna, nilai organoleptik dan kurang berpengaruh pada kadar air. Keju yang diperam dengan metode freezing dan cooling mempunyai sifat-sifat yang lebih konsisten selama pemeraman (4, 8 dan 12 hari). Sedangkan pada metode pemeraman suhu ruang mengalami penurunan sifat-sifat keju, kecuali pada kadar protein terlarut dan total mikroba mengalami peningkatan dengan semakin lama pemeraman.
2. Kombinasi metode dan lama pemeraman keju yang dibuat dengan enzim protease biduri yang paling baik adalah dengan metode freezing (-5 °C) jika diperam dalam waktu yang lama (sampai 12 hari), dimana nilai tekstur dan organoleptik paling baik, warna dan kadar protein terlarut cenderung meningkat dengan semakin lama penyimpanan, Sedangkan total mikrobaanya paling kecil.

## 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan sebagai berikut :

1. Keju yang dibuat dengan enzim protease biduri apabila dikehendaki diperam sampai 12 hari disarankan agar menggunakan metode freezing ( $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), sedangkan pada jangka pendek (8 hari) lebih baik menggunakan metode cooling ( $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
2. Perlu dikaji lebih lanjut pengaruh penambahan garam dengan konsentrasi yang berbeda terhadap sifat-sifat keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada penyimpanan yang lebih lama (diatas 12 hari).



**DAFTAR PUSTAKA**

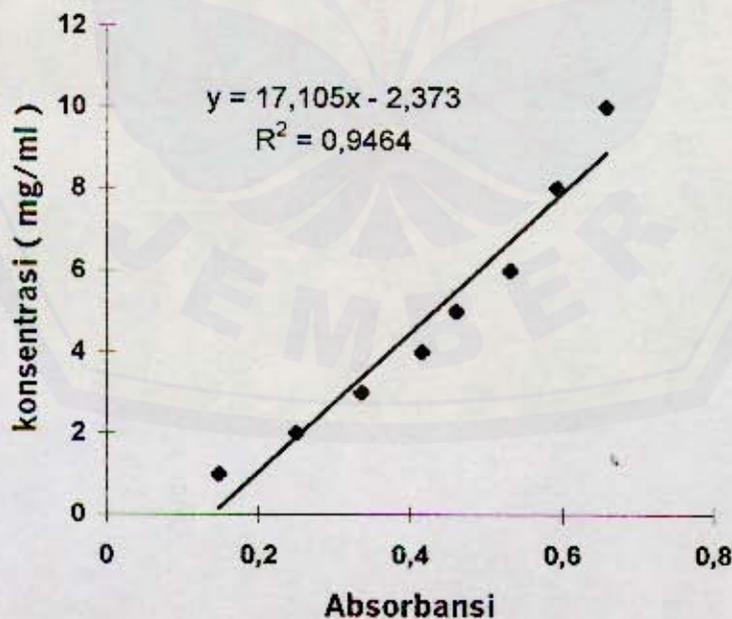
- Apriliasari, L. (2002). *Aplikasi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (Calotropis gigantea) pada Pembuatan Keju*. Skripsi. Universitas Jember.
- Buckle. K.A., Edwards R.A., Fleet G.H., Wooton M. (1987). *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Chinas, F.A.I. and Canales, A.L.M. (1986) Proteolytic Enzyme from *Cnidoscopus chayamansa* "chaya". *J. Food Sci.*, 61 (1), 142-144.
- Chin, H.W. and Rosenberg, M. (1997) Accumulation of Some Flavour Compound in Full and Reduced Fat Ceddar Cheese under Different Ripening Condition. *J. Food Sci.*, 62 (3), 468-474.
- Creamer, L.K. and Olson, L.F. (1982) Rheological Evaluation of Matury Ceddar Chees. *J. Food Sci.*, 47 (3), 631-634.
- Demand, J.W. (1997). *Kimia Makanan*, Institut Teknologi Bandung Press. Bandung
- Eskin, N.A.M. (1990) *Biochemistry of Food*. Second Edition. Academic Press. Inc. New York.
- Fox, P.F. (1991) *Food Enzymology*. Elsevier Applied Science. New York.
- Gaman and Sherrington. (1994). *Ilmu Pangan*. Yogyakarta.
- Girindra, A. (1993). *Biokimia I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Hadiwiyoto. (1983). *Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging, Telur*. Liberty. Yogyakarta.
- Mangunwidjaja, D. (1994). *Teknologi Bioproses*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nurwantoro dan Djarajah, A.S. (1994). *Mikrobiologi Pangan Hewani-Nabati*. Kanisius. Yogyakarta.

- Rahayu, K. (1988) *Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim*. P.A.U. Pangan dan Gizi. U.G.M. Yogyakarta.
- Sardjoko, (1991). *Bioteknologi (Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya)*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Schwimmer, S. (1981) *Source Book of Food Enzymology*, The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, U.S.A.
- Smith, J.E. (1995) *Bioteknologi*. Terjemahan. Hartono, EGC. Jakarta.
- Sousa, M.S. and Malcata, F.X. (1997) Comparison of Plant and Animal Rennet in Term of Microbiological, Chemical and Proteolysis Characteristic of Ovine Cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (1), 74-81.
- Suryabrata, S. (1989), *Metodologi Penelitian*. Rajawali Press. Jakarta.
- Suhartono, M.T. (1992) *Protease*. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor.
- Tjitrosoepomo. (1994). *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Gajah Mada University Pres. Jakarta.
- Whitaker, J.R. (1994) *Principle of Enzymology for The Food Science*. Second Edition. Marcel Decker. New York.
- Winarno, F. G. ( 1995). *Enzim Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, F. G. (1992). *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- Winarno, F.G. (1977). *Pengantar Teknologi Pangan*. Institut Pertanian Bogor Press. Bogor.
- Witono, Y, 2000, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Biduri (Calotropis gigantea Dryand)*, Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya, Malang.

**Lampiran 1. Kurva Standard Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry**

Data absorbansi larutan standar analisa kadar protein terlarut dengan metode lowry adalah sebagai berikut:

Blanko =	0,025	
Konsentrasi (Y)	Absorbansi (X)	(X-0,025)
1	0,173	0,148
2	0,275	0,25
3	0,361	0,336
4	0,44	0,415
5	0,485	0,46
6	0,556	0,531
8	0,618	0,593
10	0,682	0,657
10 mg/ml		



**Gambar 11. Grafik kurva standar analisa kadar protein dengan metode lowry**

**Lampiran 2. Rata-rata tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	132,20	227,40	186,20	181,93
	8	178,20	88,50	76,86	114,54
	12	78,75	93,62	87,80	86,72
Cooling	4	192,75	57,50	168,20	139,48
	8	117,80	117,00	129,50	121,43
	12	109,00	89,00	126,00	108,00
Suhu kamar	4	60,67	83,40	118,40	87,49
	8	nd	nd	nd	nd
	12	nd	nd	nd	nd

Keterangan : nd = no detection

**Lampiran 3. Rata-rata nilai warna (L; C; dan H) keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

**Tabel nilai warna L**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	95,98	94,84	96,95	95,92
	8	96,38	93,90	96,10	95,46
	12	93,96	93,98	93,70	93,88
Cooling	4	96,90	97,46	96,94	97,10
	8	96,00	97,25	95,34	96,19
	12	91,42	90,54	91,29	91,08
Suhu kamar	4	95,14	96,13	95,22	95,49
	8	93,24	93,68	92,98	93,30
	12	91,84	91,52	90,88	91,41

**Tabel nilai warna C**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	5,22	5,64	5,46	5,44
	8	5,25	5,74	5,78	5,59
	12	5,45	5,94	5,93	5,77
Cooling	4	5,72	5,20	5,60	5,51
	8	5,76	5,94	5,68	5,79
	12	6,77	6,01	6,42	6,40
Suhu kamar	4	8,70	8,42	8,97	8,70
	8	8,85	8,51	9,12	8,83
	12	9,01	8,64	10,51	9,39

**Tabel nilai warna H**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	84,50	86,64	84,01	85,05
	8	82,70	86,70	86,73	85,38
	12	85,47	87,39	87,78	86,88
Cooling	4	82,66	84,15	83,85	83,55
	8	82,01	86,81	85,96	84,93
	12	83,47	86,85	85,80	85,37
Suhu kamar	4	82,93	80,22	82,76	81,97
	8	83,71	84,40	83,90	84,00
	12	84,46	84,49	84,92	84,62

Keterangan : L = Derajat kecerahan  
 C = Intensitas warna  
 H = perubahan warna pada keju

**Lampiran 4. Rata-rata kadar air (%) keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	56,948	54,722	54,476	55,835
	8	59,983	53,895	56,952	56,943
	12	53,497	61,081	53,592	56,057
Cooling	4	54,321	56,766	57,472	56,186
	8	57,574	57,857	55,037	56,823
	12	55,599	62,388	55,376	57,788
Suhu kamar	4	42,737	49,793	44,421	45,650
	8	47,000	48,228	47,218	47,614
	12	54,787	53,589	54,118	54,165

**Lampiran 5. Rata-rata kadar protein terlarut (%) keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	15,982	14,926	15,025	15,311
	8	40,186	31,911	39,118	37,072
	12	35,345	46,202	32,634	38,060
Cooling	4	22,807	9,434	9,798	14,013
	8	53,995	46,666	47,574	49,412
	12	38,316	74,417	42,918	51,884
Suhu kamar	4	28,770	31,123	33,037	30,977
	8	74,005	75,373	76,345	75,241
	12	83,226	85,301	79,745	82,757

**Lampiran 6. Rata-rata total mikroba pada keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	51 . 10 <sup>6</sup>	52 . 10 <sup>6</sup>	54 . 10 <sup>6</sup>	52,3 . 10 <sup>6</sup>
	8	57 . 10 <sup>6</sup>	67 . 10 <sup>6</sup>	47 . 10 <sup>6</sup>	57 . 10 <sup>6</sup>
	12	87 . 10 <sup>6</sup>	75 . 10 <sup>6</sup>	71 . 10 <sup>6</sup>	77,6 . 10 <sup>6</sup>
Cooling	4	84 . 10 <sup>6</sup>	76 . 10 <sup>6</sup>	73 . 10 <sup>6</sup>	77,6 . 10 <sup>6</sup>
	8	95 . 10 <sup>6</sup>	74 . 10 <sup>6</sup>	90 . 10 <sup>6</sup>	86,3 . 10 <sup>6</sup>
	12	152 . 10 <sup>6</sup>	111 . 10 <sup>6</sup>	91 . 10 <sup>6</sup>	118 . 10 <sup>6</sup>
Suhu kamar	4	92 . 10 <sup>6</sup>	98 . 10 <sup>6</sup>	76 . 10 <sup>6</sup>	88,6 . 10 <sup>6</sup>
	8	150 . 10 <sup>6</sup>	137 . 10 <sup>6</sup>	106 . 10 <sup>6</sup>	131 . 10 <sup>6</sup>
	12	210 . 10 <sup>6</sup>	240 . 10 <sup>6</sup>	203 . 10 <sup>6</sup>	217 . 10 <sup>6</sup>

**Lampiran 7. Rata-rata organoleptik kenampakan keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	4,00	3,00	4,50	3,83
	8	4,50	3,50	4,00	4,00
	12	5,00	4,00	4,25	4,42
Cooling	4	5,00	5,00	3,50	4,50
	8	4,50	4,50	4,25	4,42
	12	4,00	2,50	3,00	3,16
Suhu kamar	4	3,50	2,00	3,25	2,92
	8	2,50	1,50	2,25	2,08
	12	nd	nd	nd	nd

Keterangan : nd = no detection

**Lampiran 8. Rata-rata organoleptik tekstur keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	4,00	3,50	4,00	3,83
	8	3,50	3,50	4,30	3,76
	12	4,50	5,00	4,70	4,73
Cooling	4	4,00	4,50	3,30	3,93
	8	4,50	4,50	3,30	4,10
	12	4,50	4,50	3,30	4,10
Suhu kamar	4	3,50	2,50	2,30	2,76
	8	2,00	1,50	1,30	1,60
	12	nd	nd	nd	nd

Keterangan : *nd = no detection*

**Lampiran 9. Rata-rata organoleptik aroma keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	2,50	3,00	2,50	2,66
	8	3,00	3,50	2,50	3,00
	12	4,00	3,00	3,50	3,50
Cooling	4	4,00	3,00	3,50	3,50
	8	3,50	4,00	4,00	3,83
	12	3,50	2,50	3,50	3,16
Suhu kamar	4	3,50	2,50	3,50	3,16
	8	4,00	2,50	3,50	3,33
	12	nd	nd	nd	nd

Keterangan : *nd = no detection*

**Lampiran 10. Rata-rata organoleptik rasa keju yang dibuat dengan enzim protease biduri pada berbagai metode dan lama pemeraman**

Perlakuan pemeraman		Ulangan			Rata-Rata
Metode	Lama (hari)	I	II	III	
Freezing	4	3,00	3,50	5,00	3,83
	8	3,50	5,00	4,50	4,33
	12	3,50	5,00	4,50	4,33
Cooling	4	4,50	4,00	4,00	4,16
	8	4,00	4,50	4,50	4,33
	12	3,50	4,00	4,00	3,83
Suhu kamar	4	3,50	3,00	2,50	3,00
	8	1,50	2,00	1,50	1,66
	12	nd	nd	nd	nd

*Keterangan : nd = no detection*

