



APLIKASI ENZIM PROTEASE
DARI TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
PADA PEMBUATAN KEJU

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk
Menyelesaikan Studi Strata Satu
di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

Luci Apriliasari

NIM. 971710101071

Asal:	Hasil	Klasifikasi
	Strata I	637.3
Surma Tgl :	25 FEB 2002	APR
No. Induk	0324	a
KLASIR / PENYALIN	ldaw	C-1

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER

2002



DOSEN PEMBIMBING :

DPU : Dr.Ir. Achmad Subagio, M.Agr.

DPA : 1. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.

2. Yuli Witono, S.TP, MP.

MOTTO :

Dengan keindahan
anugerah dan cobaan yang ada,
kupasutkan serangkaian kata pada hidupku

**" Ilmu adalah senjata, sabar adalah pakaian,
yakîn adalah kekuatan, kejujuran adalah penolong,
taat adalah kecintaan dan sholat adalah kebahagiaan "**
(sari tauladan Rosulullah, SAW).

**Sabar yang utama adalah
dikala musibah mulai menimpa
(HR, Bukhari)**

Katakanlah :
"Tiap-tiap orang berbuat menurut keadaannya masing-masing"
Maka, Tuhanmu lebih mengetahui siapa yang lebih benar jalannya
(Al Isra : 84)

Skripsi ini kupersembahkan untuk :

*Ibuku tercinta Umi Septinah dan Ayahanda Suyud Prayitno
atas pengorbanan dan kasih sayang tak ternilai,
do'a dan restu dalam segala langkah dan hidupku.
Semua itu adalah kado terindah
yang akan mewarnai seluruh jiwa ragaku
dimanapun dan sampai kapanpun.*

*Adik-adikku tercinta
Arifin Kurniawan, Agri Putra Yudhantara, Ade Putra Septian
atas kemanisan yang tercipta dalam hari-hariku.
Hanya itu yang memotivasiku untuk selalu jadi yang terbaik,*

*Danu Sukendro,
atas ketulusan pengorbanan dan kesetiaanmu.
Kehadiranmu selalu memberikan nuansa indah dihatiku.*

Bapak-ibu guruku yang senantiasa membimbingku.

*HMI Komisariat Teknologi Pertanian
"Yakin Usaha Sampai"*

Almamaterku yang kubanggakan

Terima kasih tak ternilai untuk:

Alloh SWT atas rahmat dan hidayah yang selalu terlimpahkan, beserta Nabi besar Muhammad SAW atas segala tauladan yang diberikan.

Eyang kakung Suwito, nenekku Murtinem, kakekku (Alm) dan nenekku Sudarno, terima kasih atas untaian do'a yang selalu mengiringiku selalu.

Mbak Lies atas dorongan yang selalu diberikan

Keluarga patrang-Jember, Pak Imam, Mbak Erna, Ika dan Desy, terima-kasih atas bantuan dan segalanya..

Pak Yuli Witono sekeluarga, Ibu Yuli dan di Irdan, Terima-kasih atas bimbingan dan kepercayaan yang tiada terkira ini.

Saudara-saudaraku tercinta Mas Rudy, Mbak Naning, Mbak Nanik, Ketut, Yanti.

Sahabat-sahabatku Rosita Rahayu, Dian Anggraeni, Nanik Kusumawati, atas motivasi yang selalu kunikmati dalam keadaan apapun. Kesetiaan kita semoga akan selalu terjaga.

Teman-temanku dalam satu karya Muffik, Nafi, Triyanto dan Ernada. Kerjasama kita selama ini adalah sebuah kisah yang sangat cemerlang..

Sobat-sobatku G-7 (+): Dian, Zidni, Narto, Nafi, Fazni, Nurhayati dan Ito, tiada kenangan terindah saat kita berada di Double W, saat itu.

Dian, Nining, Zidni, Nafi, Narto, Desy, Nofi Sulis, Nofi Agus, Jack, Atiek, Yeni, Priyadi... dan semua teman-teman angkatan '97 yang lain, tanpa terkecuali

Rekan-rekanku di Borneo '72 (Sita, Heni, Iis, Menok, Erna) terima-kasih atas senyum dan semangatmu selama ini.

Semua warga HMI Komisariat Teknologi Pertanian (Adi, Dian-Diana, Ismaul, Ambar.....dan yang lainnya tanpa terkecuali) persaudaraan kita amatlah berarti..... "thank's for your support".

Teman-teman bidang III BEM, Nafi, Dwi Ari, Yoanna, Anam, Orien, Beny, Ayutri. Terima-kasih atas kerjasamanya selama ini, UKKM menjadi saksi kita.

Rekan-rekan UKKM Dwi Ari, Eko, Yoyok..... Selamat menunaikan tanggung-jawab baru

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



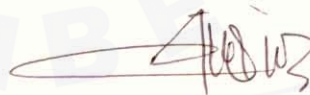
Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr.
NIP. 131 975 306

Anggota I



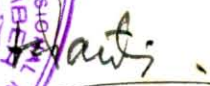
Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.
NIP. 130 787 732

Anggota II



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

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS
NIP. 130 350 763

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT. Tuhan semesta alam. Atas segala karunia dan rahmat yang telah diberikan sehingga penulisan karya ilmiah tertulis yang berjudul “Aplikasi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) pada Pembuatan Keju” dapat terselesaikan dengan baik.

Penulisan karya ilmiah ini dimaksudkan 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 banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku dekan Fakultas Teknoogi Pertanian Universitas jember yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan S1;
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember atas ijin penelitian yang diberikan;
3. Bapak Dr.Ir. Achmad Subagio, M.Agr., selaku Dosen pembimbing utama yang telah bersedia membimbing dan memberikan saran dalam proses penyelesaian karya tulis ini;
4. Ibu Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., 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 (terutama mbak Sari dan mbak Ketut) 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. Segenap 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, Desember 2001

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
RINGKASAN.....	xv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Keju.....	4
2.2 Proses Pembuatan Keju	6
2.3 Pembuatan Keju Secara Enzimatis	8
2.4 Enzim Protease Biduri	9
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	13
3.3.2.1 Sifat Fisik	13
3.3.2.2 Sifat Khemis	13
3.3.2.3 Sifat Organoleptik.....	13
3.3.3 Prosedur Kerja.....	14
3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter.....	15
3.3.4.1 Rendemen	15
3.3.4.2 Tekstur.....	15
3.3.4.3 Kadar Air.....	15
3.3.4.5 Kadar Protein Terlarut.....	16
3.3.4.6 Kadar Lemak	17
3.3.4.7 Warna	18
3.3.4.8 Uji Organoleptik	19

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Rendemen	21
4.2 Kadar Air.....	24
4.3 Tekstur	25
4.4 Kadar Protein Terlarut.....	28
4.5 Kadar Lemak	30
4.6 Warna (Colour Reader)	31
4.7 Organoleptik Warna.....	34
4.8 Organoleptik Tekstur.....	35
4.9 Organoleptik Aroma.....	36
4.10 Organoleptik Rasa	37

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	43



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Keju Cheddar	6
2. Nilai Warna Keju (Colour Reader)	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir pembuatan keju secara enzimatis	14
2. Rendemen keju pada berbagai kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya	21
3. Kadar air keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasinya	24
4. Tekstur keju pada berbagai kombinasi perlakuan konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasinya	26
5. Kadar protein terlarut keju pada kombinasi perlakuan enzim biduri dan lama inkubasinya	28
6. Kadar lemak keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya	30
7. Organoleptik warna keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya.	34
8. Organoleptik tekstur keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya	35
9. Organoleptik aroma keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya	36
10. Organoleptik rasa keju pada kombinasi perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kurva Standart Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry	43
2. Data Rendemen pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Basah (%)	44
Data Rendemen pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Kering.....	44
3. Data Kadar Air Keju pada Berbagai Perlakuan	45
4. Data Tekstur Keju pada Berbagai Perlakuan	45
5. Data Kadar Protein Terlarut dalam Berat Kering	46
6. Data Kadar Lemak Kering Keju pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Kering (%).....	46
7. Data Warna Keju (L, C, H dengan Metode Colour Reader) pada Berbagai Perlakuan.....	47
8. Data Organoleptik Warna Keju pada Berbagai Perlakuan .	48
9. Data Organoleptik Tekstur Keju pada Berbagai Perlakuan	49
10. Data Organoleptik Aroma Keju pada Berbagai Perlakuan .	49
11. Data Organoleptik Rasa Keju pada Berbagai Perlakuan....	50
12. Foto-foto Keju yang Dihasilkan dari Enzim Protease Biduri (<i>Calotropis gigantea</i>)	51

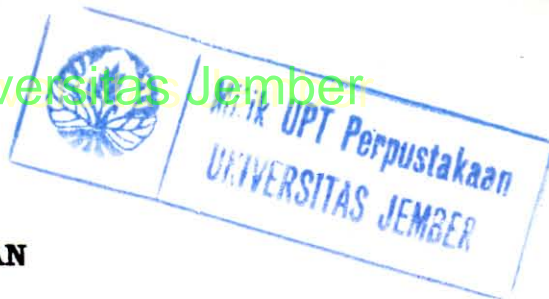
Luci Apriliasari (971710101071), Aplikasi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) pada Pembuatan Keju, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Dosen Pembimbing ; Dr.Ir.Achmad Subagio,M.Agr. (DPU), Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA I), Yuli Witono, S.TP, MP. (DPA II)

RINGKASAN

Keju adalah makanan yang dibuat dari dadih susu yang dipisahkan, yang diperoleh dengan penggumpalan bagian kasein susu skim. Penggumpalan ini terjadi dengan adanya enzim rennet (enzim yang berasal dari lambung anak sapi) atau enzim lain yang cocok. Hingga sekarang kebutuhan keju semakin melonjak. Namun keberadaan rennet justru semakin jarang dan semakin langka. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain yang lebih efisien, murah, mudah didapat bahkan dapat menghasilkan kualitas keju yang baik. Salah satunya adalah enzim protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Agar memberikan hasil yang lebih nyata, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi enzim protease dari tanaman biduri pada pembuatan keju ini.

Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan bahwa enzim protease biduri mampu menggumpalkan susu menjadi keju. Mempelajari sifat-sifat keju yang dihasilkan dengan menggunakan enzim protease biduri, dan menentukan konsentrasi dan waktu inkubasi yang tepat sehingga diperoleh kualitas keju yang paling baik. Penelitian menggunakan faktor konsentrasi enzim protease biduri (0,2%; 0,3%; 0,4%) dan lama inkubasi (60, 90 dan 120 menit) pada masing-masing konsentrasi. Analisa hasil penelitian menggunakan metode statistik deskriptif dengan histogram.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease biduri (*Calotropis gigantea*) mampu menggumpalkan susu menjadi keju, dimana dengan penambahan konsentrasi dan lama inkubasinya memberikan pengaruh terhadap parameter rendemen, tekstur, kadar protein terlarut, sifat organoleptik tekstur, aroma dan rasa, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap parameter kadar air, kadar lemak, warna dan organoleptik warna. Kombinasi perlakuan terbaik diperoleh pada konsentrasi enzim biduri 0,3% dan lama inkubasi 120 menit berdasarkan parameter rendemen yang paling tinggi yaitu 4,44% dalam berat kering, tekstur 94,18 gr/mm, kadar protein terlarut 14,18% dalam berat kering, organoleptik tekstur 3,80, organoleptik aroma 3,41, dan organoleptik rasa 3,88.



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keju sebagai salah satu bentuk produk fermentasi tertua, merupakan produk susu yang cukup potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Selain meningkatnya volume impor keju sejak tahun 1989 sebesar 2.286,2 ton sampai tahun 1993 menjadi 4.340,3 ton, hingga sekarang memang belum ada produksi keju nasional yang menggunakan seluruh bahan bakunya dari dalam negeri. Ditinjau dari ketersediaan bahan baku susu dan bahan penolong (enzim dari abomasum ruminansia) Indonesia sebenarnya telah memiliki potensi untuk pengembangan produk keju tersebut (Ismail, 1996).

Di masa lampau, pembuatan keju hanya tergantung pada bakteri yang secara alami terdapat dalam susu. Namun, hal ini menimbulkan permasalahan karena adanya organisme yang dikehendaki maupun organisme yang tidak dikehendaki tumbuh jadi satu dalam keju yang dihasilkan.

Oleh karena itu, pembuatan keju modern memilih menggunakan susu dengan kandungan mikroba yang paling rendah dengan menggunakan biakan starter yang mengandung bakteri dalam keseimbangan yang diinginkan untuk menghasilkan mutu yang mantap (Sardjoko, 1991). Tetapi dengan metode fermentasi waktu yang dibutuhkan relatif lama.

Pembuatan keju secara enzimatik hanya menggunakan enzim renin yang diambil dari renet (lambung anak sapi). Tetapi selama dua puluh tahun terakhir ini terjadi kekurangan renet. Hal ini mendorong orang untuk mencari pengganti renet. Di Amerika Serikat, renet ini semakin berkurang jumlahnya dan semakin

langka seiring dengan kebutuhan keju yang semakin melonjak (Suhartono, 1992). Menurut Suhartono pula, telah diusahakan renin mikroba untuk substitusi renet yang semakin mahal dan jarang. Meskipun demikian masih banyak kelemahan, salah satunya ialah enzim yang dihasilkan kurang spesifik dalam mengendapkan kasein susu.

Oleh karena itu perlu dicari bahan alternatif lain yang lebih efisien, murah, mudah didapat bahkan dapat menghasilkan kualitas keju yang baik. Hasil penelitian terhadap sejenis biduri yaitu *Calotropis procera* dapat digunakan sebagai sumber protease (Eskin, 1990). Peneliti lain yaitu Chinas dan Caneles (1986) melaporkan bahwa *Calotropis procera* telah sukses digunakan sebagai sumber enzim protease untuk pembuatan keju. yang menghasilkan sumber enzim protease. Hasil penelitian sebelumnya telah menunjukkan adanya aktivitas enzim protease dari getah tanaman biduri (Witono, 2000). Agar memberikan hasil yang lebih nyata, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak enzim tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) pada pengolahan makanan khususnya untuk pembuatan keju.

1.2 Perumusan Masalah

Enzim protease dari getah biduri telah menunjukkan aktivitas hidrolisisnya pada substrat kasein, lalu apakah enzim ini juga dapat diaplikasikan untuk proses pembuatan keju dengan menghidrolisis kasein susu ? Beberapa permasalahan yang perlu dikaji adalah:

1. Bagaimana sifat-sifat keju yang dihasilkan dengan menggunakan perlakuan enzim protease biduri ?
2. Pada konsentrasi enzim biduri berapa persen dan waktu inkubasi berapa menit dapat diperoleh keju dengan sifat-sifat paling baik ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menjelaskan bahwa enzim protease biduri mampu menggumpalkan susu menjadi keju.
2. Mempelajari sifat-sifat keju yang dihasilkan dengan menggunakan perlakuan enzim protease biduri.
3. Menentukan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasi yang tepat sehingga diperoleh kualitas keju yang paling baik.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi mengenai :

1. Aplikasi enzim protease dari tanaman biduri pada proses pembuatan keju.
2. Pendayagunaan tanaman biduri yang selama ini masih belum banyak dimanfaatkan.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keju

Keju adalah makanan yang dibuat dari dadih susu yang dipisahkan, yang diperoleh dengan penggumpalan bagian kasein susu skim. Penggumpalan ini terjadi dengan adanya enzim renet (atau enzim lain yang cocok) atau dengan meningkatkan keasaman susu melalui fermentasi asam laktat, atau dengan kombinasi kedua teknik ini (Buckle *et al*, 1987).

Dalam pembuatan keju, susu diubah menjadi bahan pangan yang lebih bergizi dan tidak mudah rusak (Buckle *et al*, 1987). Keju dapat dibuat dengan susu penuh atau susu krim. Bahan-bahan ini harus bebas dari benda-benda asing yang tidak dikehendaki, misalnya debu, bulu, butir-butir darah merah. Tahap selanjutnya yang terpenting dalam pembuatan keju adalah pasteurisasi, penjendalan, pemisahan whey dan pengepakan. Namun dalam prakteknya, tahap-tahap terperinci sangat bervariasi sehingga akhirnya juga dikenal berbagai jenis keju (Hadiwiyoto, 1983).

Terdapat berbagai jenis dan macam keju, tergantung dimana keju itu dibuat, jenis susu yang dipakai, metode pembuatannya, dan perlakuan yang dipergunakan untuk pematangannya. Keju dianggap sebagai keju lunak dengan kadar air lebih besar dari 40 %, atau sebagai keju setengah lunak atau keju setengah keras dengan kadar air 36 - 40 %, atau sebagai keju keras dengan kadar air 25 - 36%, dan sebagai keju sangat keras dengan kadar air kurang dari 25% (Buckle *et al*, 1987).

Keju yang kurang matang mempunyai flavour yang hambar dan agak masam dan massanya agak lentur. Selama pematangan,

dan curing, keju mengalami perubahan dalam hal flavor, masa (body), tekstur dan kadang-kadang bau (Buckle *et al*, 1987).

Aktifitas proteolitik yang berlebihan dapat menurunkan hasil keju dan retensi lemak, selain itu mungkin menimbulkan efek yang tidak diinginkan pada bau keju. Akibatnya, terbentuk produk-produk proteolisis. Diketahui bahwa timbulnya rasa pahit pada keju merupakan akibat adanya peptida tertentu yang akan terbentuk bila pematangan keju memerlukan waktu yang terlalu lama (Sardjoko, 1991).

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).

Renet ditambahkan dan dalam suasana asam enzim ini akan mengkoagulasikan protein dengan cepat membentuk dadih atau "koagulum", yang selain kasein, mengandung pula lemak, vitamin yang larut dalam lemak kalsium dan sebagian besar vitamin yang larut dalam air (Gaman and Sherrington, 1994).

Berhubung berkadar air lebih rendah dari pada susu, keju merupakan sumber nutrien yang lebih pekat. Keju terutama kaya akan kalsium dan merupakan sumber penting protein, vitamin A, dan riboflavin. Keju juga mengandung vitamin B lain dan vitamin D dalam jumlah yang memadai, namun tidak mengandung vitamin C dan relatif miskin akan zat besi. Berikut merupakan komposisi salah satu macam keju yang sering dibuat (keju *Cheddar*).

Tabel 1. Komposisi Keju Cheddar

Komponen	%
Protein	26,0
Lemak	33,0
Karbohidrat	0,0
Air	37,0
Vitamin dan mineral	2,5

(Gaman and Sherrington, 1994).

2.2 Proses Pembuatan Keju

Pada dasarnya, pembuatan keju terdiri dari pembuatan susu untuk membuat dadih susu (tahu susu), pemotongan padatan menjadi potongan kecil, pengeringan whey dari tahu keju dan pengemasan. Berbagai jenis keju tergantung dari bagaimana tahu susu itu diperlakukan dalam arti lamanya tahu itu dikenakan suasana asam, panas dan kondisi pemotongan (Buckle *et al*, 1987).

Meskipun sifat keju sangat berbeda-beda, sejumlah langkah produksinya umumnya adalah sama. Pertama adalah penyiapan dan inokulasi susu dengan bakteri asam laktat. Ini disusul dengan pembentukan dadih susu (penggumpalan) yang biasanya memerlukan enzim renin. Setelah dipisahkan bagian cairnya (air dadih = "whey"), dadih yang terbentuk dimasak dan dibentuk dalam cetakan, kemudian diberi garam dan dibiarkan sampai matang (Sardjoko, 1991).

Sebagian besar keju dibuat dengan menggunakan susu yang telah dipasteurisasi, karena hal ini akan menghasilkan produk yang lebih konsisten dan seragam. Sesudah susu dipasteurisasi, langkah pertama dalam pembuatan keju adalah pematangan atau pengembangan asam di dalam susu. Langkah selanjutnya dalam

pembuatan keju meliputi penyempurnaan pembentukan tahu susu dengan pemberian renin. Cara penanganan tahu susu beraneka ragam menurut jenis keju yang akan dibuat. Bila dikehendaki keju yang lunak dengan kadar air yang tinggi seperti *cottage cheese*, whey dipisahkan dengan cepat dari tahu susu dan kemudian dikemas dan siap dijual. Untuk bentuk-bentuk keju yang lain, tahu susu dipotong menjadi potongan-potongan kecil atau berbentuk kubus dengan serangkaian kawat yang dipasang pada bingkai-bingkai, kemudian wheynya dipisahkan. Bagi jenis-jenis yang lain, seperti keju yang terkenal *cheddar cheese*, tahu itu dipotong-potong dan diaduk dalam whey yang dipanaskan selama kira-kira 30 menit pada suhu 40°C. Selama pemanasan, kubus-kubus tahu susu itu mengerut dan selanjutnya kehilangan air, beralih ke whey yang akhirnya habis. Suhu pemanasan yang lebih tinggi menghasilkan tahu susu yang lebih keras dan kering yang mempunyai mutu simpan yang lebih lama (Buckle *et al*, 1987).

Proses penggumpalan keju dapat dilakukan melalui fermentasi dan pemberian Enzim. Untuk keju yang diolah di bawah 37°C, yang digunakan sebagai inokular adalah kultur *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*, sedangkan untuk keju yang diolah pada suhu 37°C, digunakan kultur *Streptococcus thermophilus* dan jenis *Lactobacillus*. Keasaman yang diproduksi oleh fermentasi laktosa menjadi asam laktat mencegah tumbuhnya mikroorganisme yang tidak dikehendaki, dan mempengaruhi kecepatan penggumpalan kasein. Tahu susu yang dibentuk dengan cappa ini bersifat lunak dan tidak dapat diolah dan pengembangan tahu susu selanjutnya memerlukan tambahan renet. Banyak proteinase mampu menggumpalkan susu, dan sejumlah besar proteinase yang berasal dari tumbuhan, hewan,

bakteri, dan jamur telah diselidiki sebagai pengganti renin yang potensial (Sardjoko, 1991).

2.3 Pembuatan Keju Secara Enzimatis

Renin adalah enzim pembentuk tahu susu, yang diperoleh dari pemisahan perut anak sapi yang masih menyusui, dan bersifat proteolitik. Bila ditambahkan ke dalam susu yang telah dimatangkan seperti di atas setelah mendapatkan keasaman yang dikehendaki renin akan menyebabkan denaturasi kasein.

Kasein mengendap dan membentuk agar-agar ataupun campuran tahu dan krim. Proses pemberian renin biasanya selesai dalam waktu 30 menit (Buckle *et al*, 1987).

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

Renet ditambahkan dan dalam suasana asam enzim ini akan mengkoagulasikan protein dengan cepat membentuk dadih atau "koagulum", yang selain kasein, mengandung pula lemak, vitamin yang larut dalam lemak kalsium dan sebagian besar vitamin yang larut dalam air (Gaman and Sherrington, 1994).

Enzim penggumpal susu terutama bekerja pada substrat *cappa casein*, yang berfungsi sebagai koloid yang merupakan lapisan luar kasein, sehingga dengan hidrolisis *cappa casein*, kasein lebih mudah tergumpalkan secara sempurna dengan syarat ion kalsium tersedia dalam larutan tersebut (Winarno, 1995).

2.4 Enzim Protease Biduri

Biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman lahan kering yang banyak ditemukan pada lahan-lahan kosong dengan periode kering yang lama. Biduri sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Stenis, 1992).

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

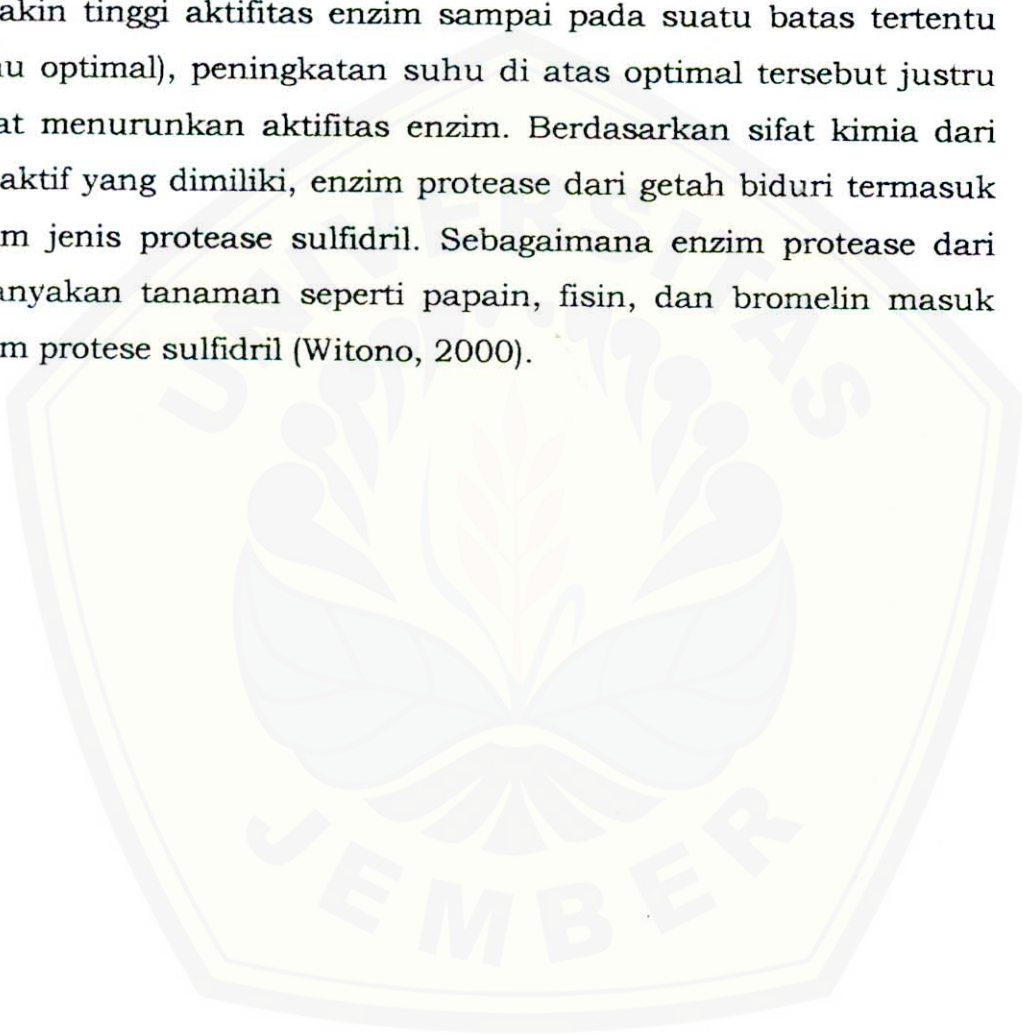
- Devisio : Spermatophyta
- Klas : Dicotyledoneae
- Sub Klas : Monochlamydae
- Ordo : Euphorbiales
- Famili : Euphorbiaceae
- Genus : *Calotropis*
- Species : *Calotropis gigantea* (Tjitrosoepomo, 1994)

Biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman lahan kering yang banyak ditemukan pada lahan-lahan kosong dengan periode kering yang lama. Biduri sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Stenis, 1992)

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 memiliki kegunaan, seperti menstimulir pematangan bisul, untuk menanggalkan gigi geraham, bahkan di beberapa daerah telah digunakan untuk menyembuhkan luka (Heyne, 1987). Getah dari sejenis tanaman biduri yakni *Callotropis procera* telah berhasil digunakan untuk

pembuatan keju (Eskin, 1990). Hasil penelitian Witono (2000) mengindikasikan adanya aktivitas enzim protease dalam getah tanaman biduri.

Enzim protease yang diekstrak dari getah biduri mempunyai suhu optimal antara 45-50°C. Semakin tinggi suhu maka akan semakin tinggi aktifitas enzim sampai pada suatu batas tertentu (suhu optimal), peningkatan suhu di atas optimal tersebut justru dapat menurunkan aktifitas enzim. Berdasarkan sifat kimia dari sisi aktif yang dimiliki, enzim protease dari getah biduri termasuk dalam jenis protease sulfidril. Sebagaimana enzim protease dari kebanyakan tanaman seperti papain, fisin, dan bromelin masuk dalam protease sulfidril (Witono, 2000).





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 pada bulan September sampai Oktober 2001.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi : Ekstrak enzim protease dari getah biduri dengan total aktivitas $3.91E-04$ unit enzim/gram bahan, susu sapi segar, aquadest, NaOH, NaCl, reagen mix, folin, benzene, dan bahan-bahan lain yang diperlukan dalam analisis.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan meliputi : beaker glass, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, pemanas, pengaduk (stirer), magnetic stirer, spatula, kertas saring, kain saring, water bath, freezer, spektronic 21D Melton Roy dan kuvetnya, lemari pendingin, centrifuge Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, freeze drying Snijder Scientific tipe 2040 (Belanda), Colour Reader, thermometer, oven, penetrometer, alat titrasi, labu ekstraksi, alat ekstraksi (soxhlet), eksikator, dan alat-alat lain yang terkait.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian menggunakan 9 (sembilan) kombinasi perlakuan. Adapun kesembilan perlakuan tersebut meliputi :

- E1T1 = konsentrasi enzim protease biduri 0,2% dan lama inkubasi 60 menit
- E1T2 = konsentrasi enzim protease biduri 0,2% dan lama inkubasi 90 menit
- E1T3 = konsentrasi enzim protease biduri 0,2% dan lama inkubasi 120 menit
- E2T1 = konsentrasi enzim protease biduri 0,3% dan lama inkubasi 60 menit
- E2T2 = konsentrasi enzim protease biduri 0,3% dan lama inkubasi 90 menit
- E2T3 = konsentrasi enzim protease biduri 0,3% dan lama inkubasi 120 menit
- E3T1 = konsentrasi enzim protease biduri 0,4% dan lama inkubasi 60 menit
- E3T2 = konsentrasi enzim protease biduri 0,4% dan lama inkubasi 90 menit
- E3T3 = konsentrasi enzim protease biduri 0,4% dan lama inkubasi 120 menit

Penunjukan dengan Histogram akan memperlihatkan perbedaan yang sangat jelas pada masing-masing kombinasi perlakuan.

3.3.2 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

3.3.2.1. Sifat Fisik :

1. Rendemen (dalam berat kering)
2. Tekstur (metode reotex)

3.3.2.2. Sifat Khemis :

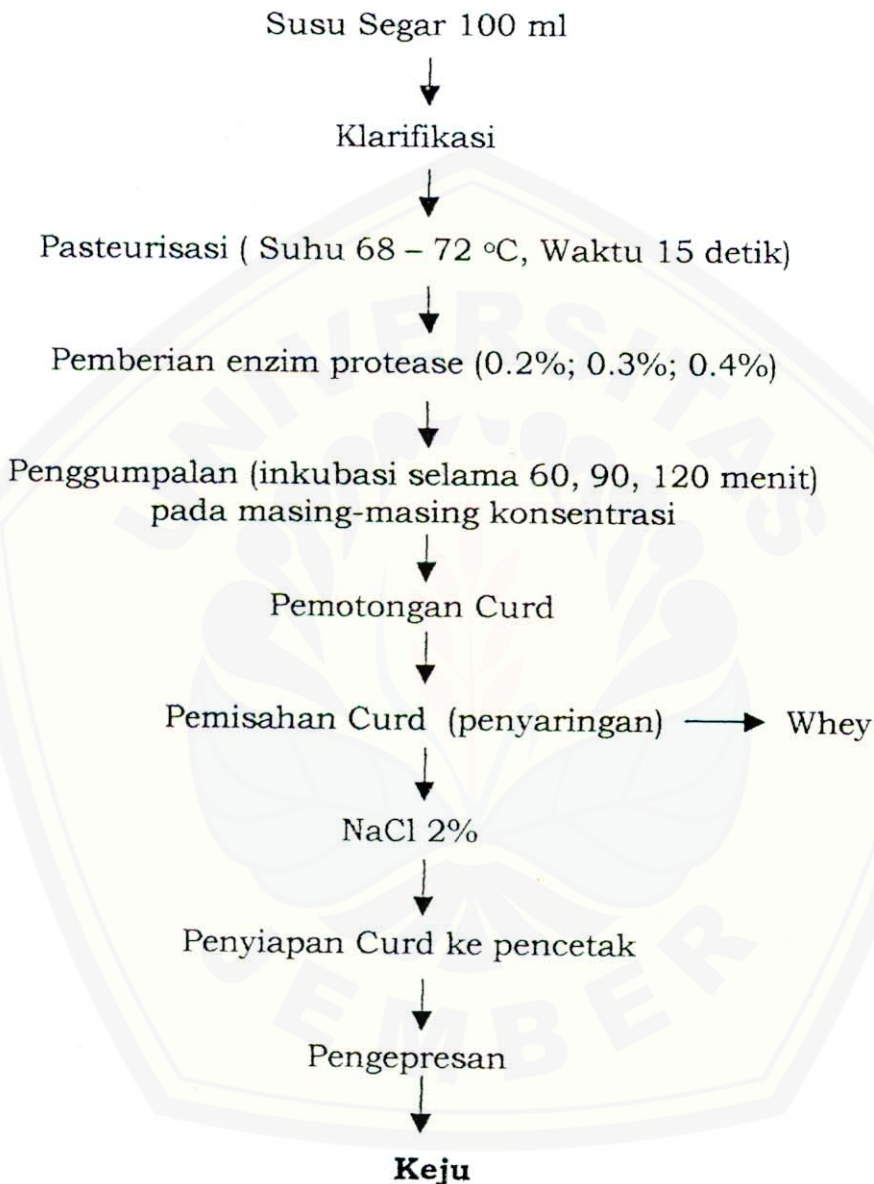
1. kadar air (metode oven)
2. kadar protein terlarut (metode lowry)
3. kadar lemak (metode soxhlet)

3.3.2.3 Sifat Organoleptik :

1. Warna
2. Tekstur
3. Aroma
4. Rasa

3.3.3 Prosedur Kerja

Adapun skema kerja pembuatan keju adalah sebagai berikut :



(diamati sifat fisik, khemis, organoleptik)

Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan keju secara enzimatis

3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter

3.3.4.1 Rendemen (%)

Rendemen keju dihitung berdasarkan 2 cara, yaitu :

1. Rendemen keju dalam berat basah

$$R = (G / S) \times 100\%$$

2. Rendemen keju dalam berat kering

$$R = ((G (1 - Ka) / S) \times 100\%$$

Keterangan :

R = Berat rendemen (%)

G = Gumpalan keju yang terbentuk

Ka = Kandungan air (%)

S = Volume sampel bahan yang digunakan (ml)

3.3.4.2 Tekstur (Metode Reotex)

Power dinyalakan, jarum penekan diletakkan tepat diatas tempat test. Kemudian, menekan tombol distance dengan besaran 5 mm dan ditekan juga tombol Hold. Selanjutnya meletakkan keju tepat di atas jarum reotex dan menekan tombol start. Kemudian membaca hasil pengukuran tekstur keju dalam satuan gram permilimeter.

3.3.4.3 Kadar Air (Metode Oven)

Menimbang botol timbang (A) dan memasukkan keju dalam berbagai perlakuan ke dalam botol timbang (B). Kemudian diletakkan pada oven dengan suhu 100° C selama 24 jam. Menimbang bahan kering dan botol (C) sampai berat konstan. Selanjutnya menghitung kadar air keju dengan rumus :

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

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

Keterangan :

D = Berat air yang diuapkan (gram)

E = Berat bahan bahan awal (gram)

3.3.4.4 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 0,2N 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 spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Selanjutnya data absorbansi diplotkan dengan standart untuk dihitung kadar proteinnya (kurva standart dapat dilihat pada lampiran 1).

Penghitungan kadar protein terlarut dengan menggunakan 2 cara, yaitu :

1. Kadar Protein Terlarut per Berat Basah (%)

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

$$KP = (Y (10) / Gb \times 1000) \times 100\%$$

X= absorbansi , nilai a = -2,373 dan b = 17,105 diperoleh dari kurva standard.

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

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

$$KP = (Y (10) / Gbk \times 1000) \times 100\%$$

$$Gbk = Gb (1 - Ka)$$

Keterangan :

X = Absorbansi

Y = Konsentrasi

Gb = Berat Bahan Awal (gram)

KP = Kadar Protein (%)

Gbk = Berat Bahan Kering (gram)

Ka = Kandungan Air bahan (%)

3.3.4.5 Kadar Lemak (Metode Soxhlet)

Menimbang keju pada berbagai kondisi perlakuan, masing-masing sebanyak 2 gram dan dioven pada suhu 100° C atau dapat juga menggunakan sisa keju yang telah diukur kadar airnya. Menimbang juga kertas saring dan dioven pada suhu yang sama selama 24 jam. Kemudian keju kering dibungkus dengan kertas saring yang sudah dioven dan diikat dengan tali hingga rapat. Selanjutnya dioven bersama-sama pada suhu 60°C selama 24 jam. Menimbang bahan kering dengan kertas saring yang telah dioven dengan melepas tali terlebih dahulu. Selanjutnya sampel diekstraksi menggunakan soxhlet dengan penambahan petroleum ether sebanyak 60% dari volume labu ekstraksi, selama 5 jam. Hasil ekstraksi dikeringkan dalam oven pada suhu (102-105)°C. Selanjutnya didinginkan pada eksikator yang telah diisi dengan kalsium. Menimbang sampel (residu) hasil ekstraksi sampai berat konstan. Selanjutnya dihitung kadar lemaknya menggunakan 2 cara, dengan rumus sebagai berikut :

1. Kadar Lemak basah (%)

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

$$\text{Kadar Lemak} = (\text{lemak yang diuapkan} / \text{berat bahan awal}) \times 100\%$$

2. Kadar Lemak basah (%)

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

$$G_k = G_b (1 - K_a)$$

$$\text{Kadar Lemak} = (\text{lemak yang diuapkan} / \text{berat bahan kering}) \times 100\%$$

Keterangan :

- A = berat kertas saring (gr)
- B = berat bahan awal + kertas saring (gr)
- C = berat bahan kering + kertas saring (gr)
- G_b = berat bahan awal (gr)
- G_k = berat bahan kering (gr)
- K_a = Kandungan air pada bahan (%)

3.3.4.6 Pengukuran Warna (Metode Colour Reader)

Penentuan warna dilakukan dengan menggunakan *color reader* dimana dilakukan 5 kali ulangan tiap sampel dan dirata-rata. Caranya yaitu sepotong keju diletakkan diatas kertas putih. Selanjutnya warna keju diukur dengan *color 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 :

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

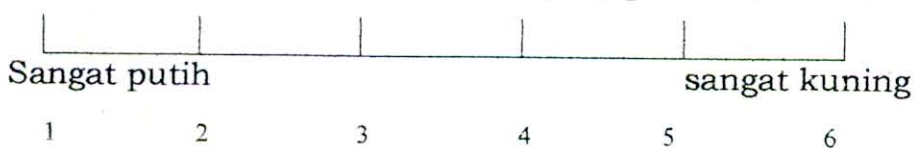
Nilai dari L^* menunjukkan kecerahan dan jarak dari gelap = 0 sampai terang = 100. Nilai $a^* = 0$ dan $b^* = 0$ menunjukkan warna abu-abu. Pada sumbu horisontal (+) a^* menunjukkan warna merah keunguan dan (-) a^* menunjukkan warna hijau kebiruan. Pada sumbu vertikal (+) b^* menunjukkan warna kuning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

3.3.4.7 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.

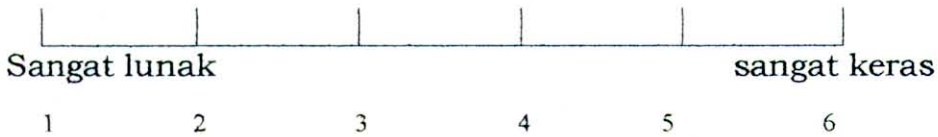
a. Warna

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



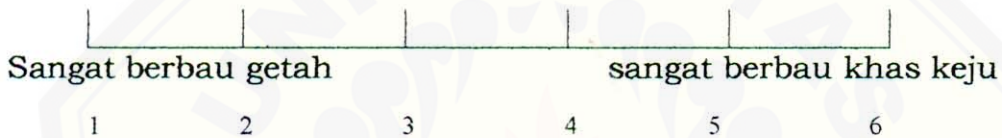
b. Tekstur

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



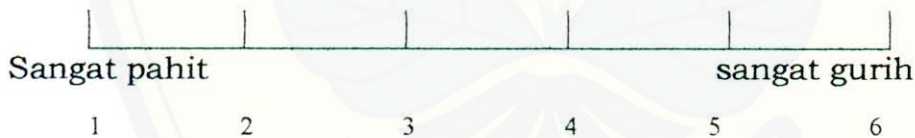
c. Aroma

Aroma keju yang diuji adalah mulai dari Sangat berbau getah hingga sangat berbau khas keju dengan range angka mulai dari 1 - 6



d. 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

1. Enzim protease biduri dapat menggumpalkan susu menjadi keju.
2. Konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasinya berpengaruh terhadap parameter rendemen, tekstur, kadar protein terlarut, sifat organoleptik tekstur, aroma dan rasa.
3. Konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasi ternyata tidak berpengaruh nyata terhadap : parameter kadar air, kadar lemak, warna dan organoleptik warna.
4. Kombinasi perlakuan terbaik diperoleh pada konsentrasi enzim biduri 0,3% dan lama inkubasi 120 menit berdasarkan parameter rendemen paling tinggi. 4,44%, tekstur 94,18 gr/mm, kadar protein terlarut 14,18% dalam berat kering, organoleptik tekstur 3,80, organoleptik aroma 3,41, dan organoleptik rasa 3,88.

5.2 Saran

Perlu dikaji lebih lanjut pengaruh penyimpanan terhadap sifat-sifat keju yang telah dihasilkan dengan menggunakan enzim protease biduri.

DAFTAR PUSTAKA

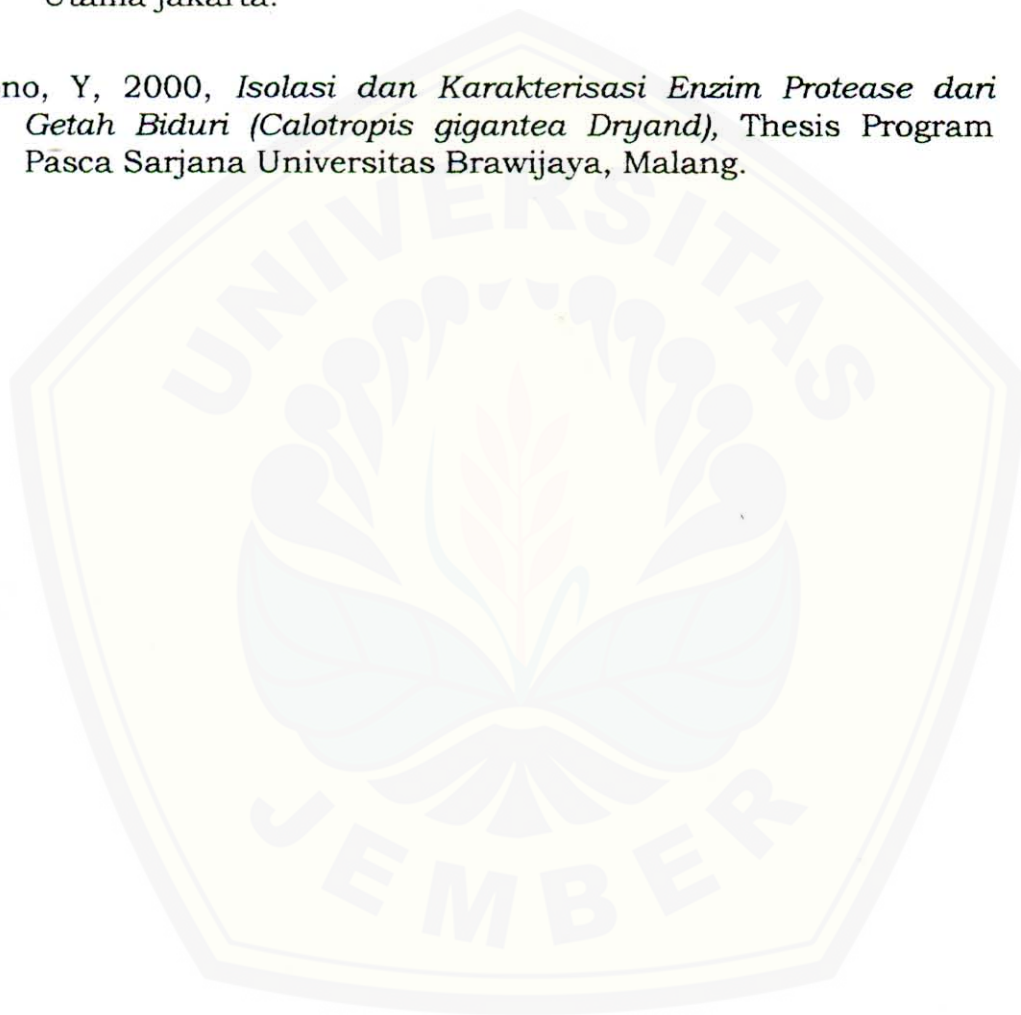
- Anwar, C (1994). *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Depdikbud Dirjen. Jakarta.
- Bourne, M.C. 1968. *Effect of water activity on texture profile parameters of apple flesh*. *J. Texture Studies*
- Buckle. (1987). *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Chinas, F.A.I. and Canales, A.L.M. (1986) Proteolytic Enzyme from *Cnidocolus chayamansa* "chaya". *J. Food Sci.*, 61 (1), 142-144.
- 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.
- 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.
- Nafi, A. (2002). *Ekstraksi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (Calotropis gigantea) dengan Pelarut Etanol*. Skripsi Sarjana Universitas Jember. Jember.
- Ismail, M.N.(1996) *Majalah BPP Teknologi*. Deputi PIDT. Jakarta.
- Suhartono, M.T. (1992) *Protease*. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor.
- Sardjoko, (1991). *Bioteknologi (Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya)*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Smith, J.E. (1995) *Bioteknologi*. Terjemahan. Hartono, EGC. Jakarta.

Tjitrosoepomo. (1994). *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Gajah Mada University Pres. Jakarta.

Winarno, F. G. (1995). *Enzim Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Winarno, F. G. (1992). *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama jakarta.

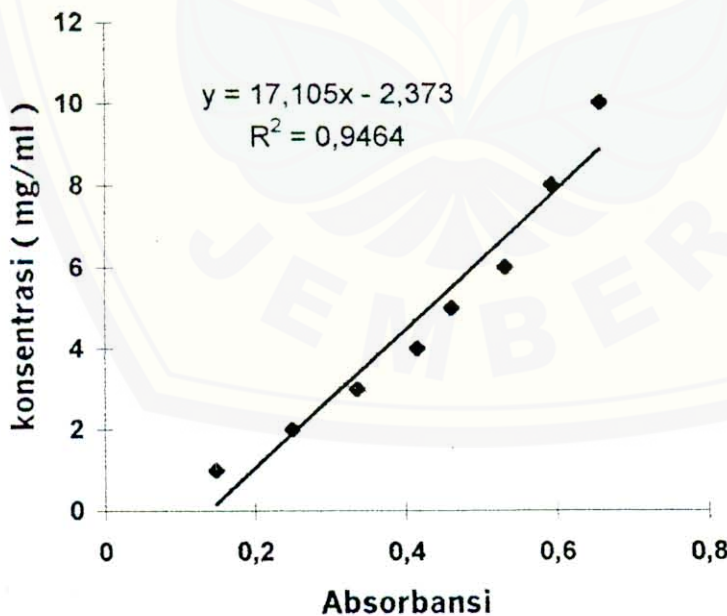
Witono, Y, 2000, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Biduri (Calotropis gigantea Dryand)*, Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya, Malang.



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 9. Grafik Kurva Standar Analisa Kadar Protein Dengan Metode Lowry

Lampiran 2. Data Rendemen Keju pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Basah (%)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	7,40	7,40	7,40
E1T3	10,42	8,89	7,64	26,95	8,98
E2T1	nd	nd	11,01	11,01	11,01
E2T2	7,92	9,91	8,40	26,22	8,74
E2T3	9,72	11,75	8,62	30,09	10,03
E3T1	7,46	11,50	5,76	24,72	8,24
E3T2	9,72	10,68	4,69	25,09	8,36
E3T3	8,92	9,04	4,36	22,32	7,44
Jumlah	54,16	61,77	57,88	173,80	
Rata-rata	9,03	10,29	7,24		8,78

Data Rendemen Keju pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Kering (%)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	3,53	3,53	3,53
E1T3	4,63	3,84	3,17	11,64	3,88
E2T1	nd	nd	3,87	3,87	3,87
E2T2	3,81	4,09	4,70	12,60	4,20
E2T3	4,00	4,55	4,76	13,31	4,44
E3T1	3,24	5,03	3,81	12,08	4,03
E3T2	4,14	4,40	3,71	12,25	4,08
E3T3	3,47	3,96	2,79	10,21	3,40
Jumlah	23,30	25,86	30,32	79,48	
Rata-rata	3,88	4,31	3,79		3,93

Lampiran 3. Data Kadar Air Keju pada Berbagai Perlakuan (%)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	52,32	52,32	52,32
E1T3	55,55	56,84	58,55	170,93	56,98
E2T1	nd	nd	52,41	52,41	52,41
E2T2	51,86	58,70	44,05	154,61	51,54
E2T3	58,82	61,29	55,18	175,28	58,43
E3T1	56,56	56,26	50,96	163,79	54,60
E3T2	57,38	58,84	55,42	171,63	57,21
E3T3	61,12	56,21	56,16	173,49	57,83
Jumlah	341,29	348,13	425,04	1114,46	
Rata-rata	56,88	58,02	53,13		55,16

Lampiran 4. Data Tekstur Keju pada Berbagai Perlakuan (mm/gr)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	109,73	109,73	109,73
E1T3	163,80	234,60	136,07	534,47	178,16
E2T1	nd	nd	126,80	126,80	126,80
E2T2	243,80	144,93	280,40	669,13	223,04
E2T3	93,80	90,87	97,87	282,53	94,18
E3T1	137,67	107,67	72,87	318,20	106,07
E3T2	94,67	154,07	36,53	285,27	95,09
E3T3	65,40	117,73	24,73	207,87	69,29
Jumlah	799,13	849,87	885,00	2534,00	
Rata-rata	133,19	141,65	110,63		125,29

Lampiran 5. Data Kadar Protein Terlarut pada Berbagai Perlakuan dalam Berat Kering (%)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	8,67	8,67	8,67
E1T3	11,76	7,45	12,15	31,36	10,45
E2T1	nd	nd	7,92	7,96	7,92
E2T2	8,94	10,25	7,47	26,65	8,89
E2T3	14,76	13,99	13,78	42,53	14,18
E3T1	11,85	9,27	12,93	34,05	11,35
E3T2	9,34	8,89	11,10	29,34	9,78
E3T3	13,70	10,65	12,93	37,28	12,43
Jumlah	70,33	60,51	96,97	227,82	
Rata-rata	11,72	10,09	12,12		11,71

Lampiran 6. Data Kadar Lemak Kering Keju pada Berbagai Perlakuan (%)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	32,78	32,78	32,78
E1T3	31,40	31,81	22,94	86,15	28,72
E2T1	nd	nd	37,41	37,41	37,41
E2T2	34,58	18,40	26,15	79,14	26,38
E2T3	20,38	35,58	35,70	91,65	30,55
E3T1	31,76	38,75	38,25	108,77	36,26
E3T2	30,05	37,18	36,07	103,30	34,43
E3T3	29,22	39,12	36,58	104,92	34,97
Jumlah	177,38	200,85	265,88	644,11	
Rata-rata	29,56	33,48	33,24		32,69

Lampiran 7. Data Warna Keju (L, H, C dengan Metode Colour Reader) pada Berbagai Perlakuan.

1. L (Derajat Keputihan)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	95.52	95.52	95.52
E1T3	96.72	95.30	95.66	287.68	95.89
E2T1	nd	nd	96.06	96.06	96.06
E2T2	94.50	97.62	93.90	286.02	95.34
E2T3	96.86	95.84	94.88	287.58	95.86
E3T1	94.44	94.08	95.36	283.88	94.63
E3T2	97.18	96.10	96.04	289.32	96.44
E3T4	97.08	97.30	96.72	291.10	97.03
Jumlah	576.78	576.24	764.14	1917.16	
Rata-rata	96.13	96.04	95.52		95.85

2. H (ada tidaknya perubahan warna pada keju)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	85.91	85.91	85.91
E1T3	86.72	87.13	84.74	258.59	86.20
E2T1	nd	nd	80.67	80.67	80.67
E2T2	87.11	86.51	78.16	251.78	83.93
E2T3	83.80	83.44	74.79	242.03	80.68
E3T1	87.63	82.11	81.11	250.85	83.62
E3T2	83.95	84.72	82.69	251.36	83.79
E3T3	86.65	82.09	79.09	247.83	82.61
Jumlah	515.86	506.00	647.16	1669.02	
Rata-rata	85.98	84.33	80.90		83.42

3. C (intensitas warna pada keju)

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	5.05	5.05	5.05
E1T3	6.29	5.99	4.57	16.85	5.62
E2T1	nd	nd	5.80	5.80	5.80
E2T2	5.95	5.91	5.07	16.93	5.64
E2T3	6.30	6.30	4.95	17.55	5.85
E3T1	5.81	5.98	6.08	17.87	5.96
E3T2	6.46	6.09	4.72	17.27	5.76
E3T3	5.81	5.96	4.54	16.31	5.44
Jumlah	36.62	36.23	40.78	113.63	
Rata-rata	6.10	6.04	5.10		5.64

Lampiran 8. Data Organoleptik Warna Keju pada Berbagai Perlakuan.

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	4.13	4.13	4.13
E1T3	1.50	4.57	3.13	9.20	3.07
E2T1	nd	nd	3.25	3.25	3.25
E2T2	3.33	4.14	2.50	9.98	3.33
E2T3	3.00	2.14	4.25	9.39	3.13
E3T1	3.83	2.00	3.88	9.71	3.24
E3T2	3.00	3.00	3.13	9.14	3.04
E3T3	3.00	3.14	1.25	7.39	2.46
Jumlah	17.67	19.00	25.50	62.17	
Rata-rata	2.94	3.17	3.19		3.21

Lampiran 9. Data Organoleptik Tekstur Keju pada Berbagai Perlakuan.

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	3,38	3,38	3,38
E1T3	4,83	5,29	4,00	14,12	4,71
E2T1	nd	nd	3,50	3,50	3,50
E2T2	5,50	4,86	4,63	14,98	4,99
E2T3	3,67	3,86	3,88	11,40	3,80
E3T1	3,17	2,14	2,38	7,69	2,56
E3T2	2,33	3,43	2,38	8,14	2,71
E3T3	1,67	2,57	2,25	6,49	2,16
Jumlah	21,17	22,14	26,38	69,69	
Rata-rata	3,53	3,69	3,30		3,48

Lampiran 10. Data Organoleptik Aroma Keju pada Berbagai Perlakuan.

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	2,75	2,75	2,75
E1T3	5,17	5,00	3,75	13,92	4,64
E2T1	nd	nd	3,50	3,50	3,50
E2T2	4,67	5,71	3,00	13,38	4,46
E2T3	3,83	3,14	3,25	10,23	3,41
E3T1	3,17	2,29	4,00	9,45	3,15
E3T2	2,50	2,43	3,88	8,80	2,94
E3T3	1,83	2,14	4,75	8,73	2,91
Jumlah	21,17	20,72	28,88	70,76	
Rata-rata	3,53	3,45	3,61		3,47

Lampiran 11. Data Organoleptik Rasa Keju pada Berbagai Perlakuan.

Perlakuan	Blok			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
E1T1	nd	nd	nd	nd	nd
E1T2	nd	nd	2,75	2,75	2,75
E1T3	3,83	3,71	3,88	11,42	3,81
E2T1	nd	nd	3,50	3,50	3,50
E2T2	3,33	3,86	4,63	11,82	3,94
E2T3	4,00	4,00	3,63	11,63	3,88
E3T1	3,17	3,00	3,75	9,92	3,31
E3T2	3,50	3,00	4,00	10,50	3,50
E3T3	3,17	2,86	5,38	11,40	3,80
Jumlah	21,00	20,43	31,50	72,93	
Rata-rata	3,50	3,41	3,94		3,56

Lampiran 12. Foto-foto Keju yang Dihasilkan dari Enzim Protease Biduri (*Calotropis gigantea*)



Foto 1. Keju dalam Konsentrasi Sama (0,2%) dan Lama Inkubasi Berbeda (60, 90, 120 menit)

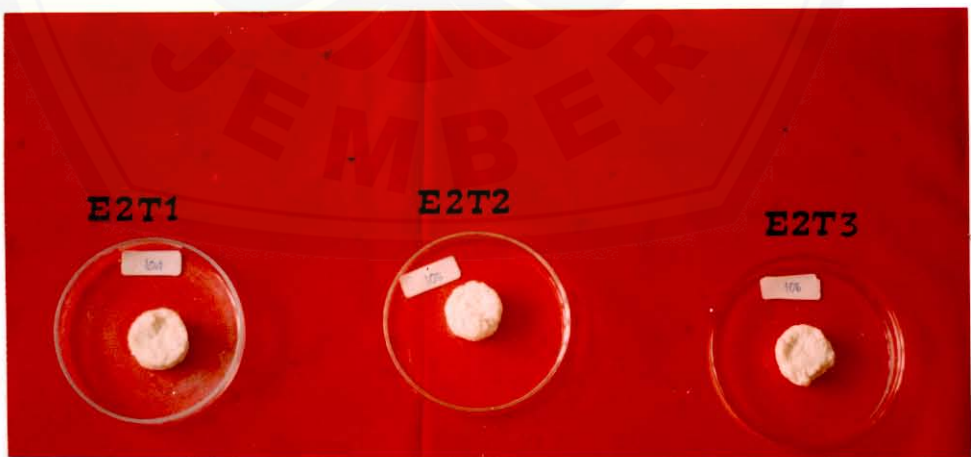


Foto 2. Keju dalam Konsentrasi Sama (0,2%) dan Lama Inkubasi Berbeda (60, 90, 120 menit)

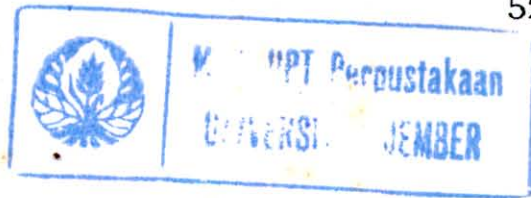


Foto 3. Keju dalam Konsentrasi Sama (0,4%) dan Lama Inkubasi Berbeda (60, 90, 120 menit)