

**IMOBILISASI ENZIM RENIN *Mucor pusillus* DENGAN MATRIKS ALGINAT  
DAN APLIKASINYA DALAM PEMBUATAN KEJU**  
[*Immobilization Of Rennin Enzyme From Mucor pusillus  
With Alginate And Its Application In Cheese Making*]

**K. U. Al Awwaly**

*Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang*

*Received July 24, 2007; Accepted November 13, 2007*

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan matriks alginat untuk imobilisasi enzim renin *Mucor pusillus* dan mengetahui kondisi suhu dan pH yang baik pada pembuatan keju dengan menggunakan enzim renin *M. pusillus* amobil. Renin *M. pusillus* diproduksi dengan media dasar tepung jagung, diinkubasi pada suhu 37°C selama 116 jam. Amobilisasi dilakukan dengan metode penjebakan menggunakan matriks alginat. Aktivitas proteolitik dan koagulasi enzim diuji. Selanjutnya enzim amobil digunakan dalam pembuatan keju dengan perlakuan suhu (32, 37 dan 42°C) dan pH (5,0; 5,5 dan 6,0) menggunakan Rancangan Petak Terbagi. Dilakukan pengujian kadar air, protein dan lemak keju yang dihasilkan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim renin *M. pusillus* yang diamobilkan menggunakan matriks alginat memiliki aktivitas proteolitik sebesar 0,1395 unit/ml/menit dan aktivitas koagulasi sebesar 6090 unit/mg protein/menit. Terjadi penurunan aktivitas proteolitik dan koagulasi masing-masing sebesar 22,5% dan 78,445% dibanding enzim renin tidak amobil. Perlakuan suhu dan pH yang digunakan pada pembuatan keju segar menggunakan enzim renin *M. pusillus* amobil tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air (45,55±0,4 – 46,75±0,86%) dan kadar protein (20,49±0,15 – 24,15±0,45%) tetapi berpengaruh sangat nyata meningkatkan kadar lemak (29,86±0,35 – 31,33±0,57%). Disimpulkan bahwa matriks alginat dapat digunakan untuk amobilisasi enzim renin *M. pusillus*. Perlakuan suhu 37°C dan pH 6,0 dalam pembuatan keju segar menggunakan enzim renin *M. pusillus* amobil dapat menghasilkan keju berkualitas baik.

*Kata kunci: enzim amobil, renin mikrobial, alginat, keju.*

**ABSTRACT**

This study was aimed to understand the usage of alginate to immobilize rennin enzyme from *Mucor pusillus* and to know the good condition of temperature and pH in the cheese making with immobilized rennin enzyme from *M. pusillus*. Rennin from *M. pusillus* was produced using corn starch as substrate, incubated at 37°C for 116 hours. Immobilization was conducted with entrapment method using alginate. Proteolytic and milk-clotting activities of enzyme was measured. Furthermore, the immobilized enzyme was used in the cheese production with different temperatures (32, 37 and 42°C) and pH (5,0; 5,5 and 6,0) using Split Plot Design. It was conducted a test of moisture content, protein and fat for produced cheese.

The result showed that the alginate matrix can be used to immobilize rennin enzyme from *M. pusillus*. Immobilization of rennin enzyme from *M. pusillus* has proteolytic activity value 0.1395 unit/ml/minute and milk-clotting activity value 6090 unit/mg protein/minute. The temperatures (32, 37 and 42°C) and pH (5,0; 5,5 and 6,0) in the fresh cheese making using immobilized rennin enzyme *M. pusillus* did not give significant effect ( $P>0.05$ ) on moisture and protein content, but gave a highly significant effect ( $P<0.01$ ) to increase fat content. It is concluded that alginate can be used in the rennin enzyme immobilization. The temperature of 37°C and pH 6.0 can be used to make a good quality cheese with immobilized rennin enzyme from *M. pusillus* using alginate.

*Keywords: immobilized enzyme, microbial rennin, alginate, cheese.*

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan enzim saat ini berkembang sangat pesat terutama pada industri pengolahan pangan, misalnya penggunaan enzim renin untuk menggumpalkan susu pada industri keju. Menurut Sardinas (1972), penggunaan enzim renin dari lambung anak sapi sangat mahal, sehingga meningkatkan biaya produksi keju. Penggantian renin dari lambung anak sapi yang masih menyusu dengan renin mikrobia sebagai enzim penggumpal susu dalam pembuatan keju saat ini dirasa sangat diperlukan.

Beberapa mikrobia penghasil renin adalah kapang dan bakteri, seperti species *Mucor* yaitu *Mucor pusillus*, *Mucor miehei*, *Mucor heimalis*, *Mucor rouxii* (Muchtadi *et al.*, 1992). Pada penelitian ini digunakan kapang *M. pusillus* yang bersifat termofilik. Kapang ini mudah tumbuh dan memproduksi protease pada berbagai medium dengan waktu generasi yang pendek. Pemiakan pada medium cair bekatul, inkubasi pada suhu 30°C selama tiga hari menghasilkan enzim dengan keaktifan 800 Soxhlet unit per ml (Winarno, 1984). Enzim proteinase asam yang dihasilkan oleh *M. pusillus* memiliki sifat yang lebih stabil terhadap panas dan pH dibandingkan dengan renin hewani. Dapat menggumpalkan susu secara optimal pada pH 4,5 dan mampu mempertahankan keaktifan secara maksimal pada pH 5,0. Aktivitas renin ini lebih dipengaruhi oleh keberadaan ion Ca dan sangat erat dengan keberadaan histidin sebagai asam amino pada lokasi aktif enzim tersebut (Sardinas, 1972). Namun demikian, penggunaan enzim dalam proses fermentasi hanya dapat dilakukan sekali saja.

Dewasa ini telah dilakukan upaya untuk dapat menggunakan enzim dalam proses fermentasi secara berulang-ulang. Salah satu cara yang ditempuh adalah amobilisasi enzim. Amobilisasi enzim adalah “enzim” yang secara fisik terlokalisasi dalam ruang dengan aktifitas katalitik yang dapat digunakan secara cepat dan kontinyu (Sasmito, 1990). Metode yang digunakan dalam amobilisasi enzim ini adalah penjebakan enzim di dalam matriks. Menurut Bucke (1982), penjebakan adalah metode yang telah terbukti sangat memuaskan untuk amobilisasi enzim. Terutama karena kesederhanaan dan penahanan enzim yang cukup baik sehingga metode penjebakan untuk amobilisasi enzim banyak digunakan untuk penelitian.

Dalam penelitian ini digunakan alginat karena memiliki banyak keuntungan di antaranya bersifat aman pada bahan pangan, kekuatan gelnya baik, tidak memerlukan panas dalam pembentukan gel sehingga risiko kerusakan enzim dapat dihindari, dan dapat mempertahankan stabilitas enzim selama dalam keadaan amobil. Menurut Sheu dan Marshall (1993), amobilisasi dengan gel alginat bersifat aman, cepat, murah, ringan, sederhana dan dapat digunakan untuk hampir semua jenis biokatalisator.

Suhu dan pH termasuk faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim renin mikrobia. Oleh karena itu, perlu dikaji penggunaan enzim amobil dengan matriks alginat terhadap lingkungan suhu dan pH yang berbeda sehingga diperoleh kondisi yang optimum untuk reaksi katalitik. Menurut Radiati dan Fardiaz (1991), enzim renin stabil pada pH 4 – 6.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan matriks alginat untuk amobilisasi enzim renin *M. pusillus* dan mengetahui kondisi suhu dan pH yang baik pada pembuatan keju dengan enzim renin *M. pusillus* amobil. Diduga perbedaan perlakuan suhu dan pH pada pembuatan keju menggunakan enzim renin *M. pusillus* amobil akan memberikan pengaruh terhadap kualitas keju yang dihasilkan. Diharapkan dapat menggunakan secara berulang-ulang enzim renin *Mucor pusillus* amobil dalam pembuatan keju dengan suhu dan pH yang sesuai dapat menghasilkan keju berstandar kualitas baik.

## MATERI DAN METODE

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah susu segar dari KUD DAU Malang; alginat (*alginate acid sodium salt medium viscosity*) (MP Biomedicals Inc, Perancis); jagung *pop corn* (FINNA, PT Sekar Alam, Surabaya); *potato dextrosa agar* (PDA) (Becton Dickinson and Company, USA); kalsium klorida, kalium klorida dan magnesium sulfat (Merck KgaA Darmstadt, Jerman); kasein, bufer fosfat, *Trichloro Acetic Acid* (TCA) dan akuades (PT Panadia Corporation, Indonesia); pepton (Oxoid LTD Basingstoke, Hampshire, Inggris) dan susu skim dari toko AVIA Malang. Starter yang digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dari PT IMDI Pasuruan dan *M.*

*pusillus*. Bahan untuk analisis kualitas keju menggunakan bahan kimia dengan *grade* pro analisis.

### Metode Penelitian

Metode penelitian adalah Rancangan Petak Terbagi yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor suhu yang terdiri tiga level (sebagai petak utama): 32, 37 dan 42°C. Faktor pH yang terdiri tiga level (sebagai anak petak): 5,0; 5,5 dan 6,0. Kedua faktor yang terlibat adalah faktor tetap, sehingga model yang dipilih adalah model tetap. Anak petak dipilih perlakuan pH. Rancangan dasarnya adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok) dengan tiga kelompok yang didasarkan pada kualitas bahan baku susu yang digunakan karena perbedaan hari pembuatan keju.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Penyiapan kultur spora (Purnomo *et al.*, 1996)

*Potato Dextrose Agar* (PDA) sebanyak 3,9 g dilarutkan dengan 100 ml akuades. Setelah larutan homogen, 7 ml larutan PDA dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung reaksi yang berisi PDA steril kemudian dimiringkan dan ditunggu hingga padat. Kultur *M. pusillus* dibiakkan pada PDA miring yang telah padat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari.

#### Produksi enzim renin (Purnomo *et al.*, 1996)

Renin *M. pusillus* disiapkan dengan cara menginokulasikan spora *M. pusillus* ke dalam media fermentasi tepung jagung (*pop corn*) dengan perbandingan tepung jagung : larutan mineral (1:1), dengan pH media 4,0. Larutan mineral terdiri dari akuades, 0,1 % urea; 2,0% pepton; 0,05% CaCl<sub>2</sub>; 0,02% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,05% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,05% KCl. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya pada suhu kamar, media fermentasi diinokulasi spora sebanyak 5 ml, diinkubasi suhu 37°C selama 116 jam. Media fermentasi yang berwarna abu-abu, kemudian diekstraksi menggunakan blender dengan pengenceran akuades steril 1000 ml per 100 g dan ditambah tween 80 sebanyak 0,05 %. Supernatan disaring dan kemudian disentrifugasi berkecepatan 4000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C sehingga diperoleh filtrat ekstrak kasar enzim renin *M. pusillus*.

#### Pembuatan enzim renin *M. pusillus* amobil (Wang, 2006)

Matriks Ca-alginat dengan perbandingan Na-alginat 1% dan enzim yaitu 4:1 yakni 4 ml Na-alginat dan 1 ml filtrat enzim (perbandingan ini dianggap 1 bagian), diteteskan dalam CaCl<sub>2</sub> 2%. Enzim amobil disimpan dalam media pepton 0,1% pada suhu ± 4°C.

#### Aplikasi Enzim Renin *M. pusillus* Amobil dalam Pembuatan keju

Proses pembuatan keju menurut Radiati dan Fardiaz (1991) sebagai berikut: susu dipasteurisasi pada suhu 72-73°C selama 15 menit, didinginkan sampai 40°C dan diberi starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (2:1) sebanyak 5% (v/v), diinkubasi 43°C selama 1-2 jam dalam *waterbath*. Suhu diatur sesuai perlakuan (32, 37 dan 42°C) dan dibiarkan hingga tercapai pH sesuai perlakuan (5; 5,5 dan 6). Larutan CaCl<sub>2</sub> 25% kemudian ditambahkan sebanyak 0,1% (v/v) dan enzim renin amobil sebanyak 2,5% (b/v), dibiarkan hingga susu membentuk *curd*. *Curd* dipotong kecil-kecil dan ditiriskan untuk memisahkan whey, kemudian *curd* dipanaskan pada suhu 50°C, dan dipres selama 2-3 jam. Tidak lupa pada tahap ini, enzim amobil dipisahkan dengan penyaringan. Koagulum direndam dalam larutan garam 2% selama 2 jam, ditiriskan selama 1 jam dan dibungkus dengan *aluminium foil* serta disimpan dalam lemari pendingin sampai digunakan untuk tahap selanjutnya.

#### Pengamatan dan Analisis

##### Uji aktivitas proteolitik (Khan *et al.*, 1979)

Uji aktivitas proteolitik dilakukan dengan mencampur 2 ml kasein 0,5%; 0,5 ml bufer fosfat (pH 4,0) dan 1ml enzim, diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Larutan TCA 5% kemudian ditambahkan sebanyak 2,5 ml dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, disentrifugasi berkecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diambil 1 ml dan ditambah akuades sebanyak 5 ml kemudian diukur nilai serapannya pada panjang gelombang 275 nm. Blanko dibuat dengan cara sama seperti di atas, tetapi enzimnya diinaktifkan terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 10 menit.

Pengukuran aktivitas proteolitik enzim dilakukan

dengan mengubah nilai serapan menjadi konsentrasi tirosin ( $\mu\text{g/ml}$ ) dengan kurva standar tirosin. Aktivitas proteolitik enzim dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas proteolitik} = [\text{tirosin}] \times v / (p \times q) \times fp$$

Dimana:

[tirosin] = konsentrasi tirosin yang terbentuk

v = volume total sampel pada tiap tabung

q = waktu inkubasi

p = jumlah enzim (ml)

fp = faktor pengenceran

### Uji aktivitas koagulasi (Khan *et al.*, 1979)

Aktivitas koagulasi ditentukan dengan metode Berridge yang ditulis kembali oleh Khan *et al.* (1979), yaitu berdasarkan pada waktu yang diperlukan untuk membentuk koagulum tahap awal. Substrat uji digunakan 10 ml susu skim 12% dalam  $\text{CaCl}_2$  0,05 M. Susu skim diinkubasi  $40^\circ\text{C}$  selama 30 menit. Kemudian ditambah 1 ml enzim yang telah diaktifkan pada suhu  $40^\circ\text{C}$  selama 5 menit. Waktu yang dicapai untuk membentuk koagulum tahap awal digunakan untuk memperkirakan aktivitas koagulasi. Unit aktivitas koagulasi didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang mampu mengkoagulasi 10 ml susu skim selama 1 menit memiliki aktivitas  $10^4$  unit.

### Kualitas kimia keju

Pengamatan terhadap kualitas keju yang dihasilkan meliputi kadar air (AOAC, 1990), kadar lemak dengan metode Babcock (AOAC, 1990) dan kadar protein dengan Metode Makro Kjeldahl yang dimodifikasi (Sudarmadji *et al.*, 1997).

### Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan bantuan *software* SPSS 11.0 dan bila ada perbedaan pengaruh di antara perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Pramoedyo, 2004).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Produksi Renin *M. pusillus*

Produksi renin *M. pusillus* dilakukan pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Pemilihan suhu fermentasi berpedoman pada suhu optimum pertumbuhan kapang *M. pusillus*. Menurut Somkuti and Babel (1968), fermentasi pada suhu  $28^\circ\text{C}$  dan  $45^\circ\text{C}$  pada media yang sama *M. pusillus* menghasilkan karakteristik enzim yang sama.

Enzim ekstraseluler umumnya disintesis di membran sel dalam bentuk prekursor (Ward, 1983), akan menjadi bentuk proteinase aktif, jika peptida tersedia dalam media dan mendukung enzim keluar membran.

Suhu lingkungan merupakan faktor penting bagi pertumbuhan mikroba dan sintesis produk metabolisme. Pada suhu optimum, mikroba dapat tumbuh dan melakukan metabolisme sebaik-baiknya. Suhu optimum pertumbuhan belum tentu merupakan suhu optimum untuk pembentukan enzim. Suhu menjadi salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan produksi metabolit, mengingat suhu mempengaruhi kecepatan reaksi kimia, konfigurasi tiga dimensi protein dan kecepatan aktivitas enzim. Optimal produksi enzim didefinisikan sebagai maksimum produk, pada kondisi ini enzim diproduksi terus-menerus.

### Amobilisasi Enzim Renin *M. pusillus*

Amobilisasi enzim renin yang diproduksi dari *M. pusillus* dengan menggunakan matriks alginat berhasil dengan baik. Manik-manik yang terbentuk mempunyai bentuk dan kekenyalan yang baik serta cukup stabil selama penyimpanan dalam pepton 0,1 %. Manik-manik yang terbentuk dalam 4 ml alginat 1% dan 1 ml enzim memiliki berat 3,5 g. Kekuatan gel meningkat dengan meningkatnya konsentrasi alginat dan  $\text{CaCl}_2$ .

Metode penjebakan dengan alginat merupakan penjebakan enzim di dalam kapsul (mikrokapsul), yang memiliki diameter berukuran mulai dari satu mikron sampai beberapa mikron. Menurut Sasmito (1990), model mikrokapsul adalah pemasukan enzim dalam membran semipermeabel dengan prinsip bahwa monomer-monomer dari polimer terpolimerisasi pada antar permukaan sehingga memiliki diameter 1-100 mikron. Kondisi ini dapat mencegah enzim keluar dari kapsul, sedangkan substrat dengan berat molekul kecil dapat mencapai enzim (Bucke, 1982) dan faktor yang harus diperhatikan dalam amobilisasi enzim adalah matriks yang digunakan dan interaksi antara enzim dengan matriks.

Na-alginat termasuk bahan makanan, memiliki kekuatan gel yang baik, mampu mempertahankan aktivitas enzim dan mampu menjaga stabilitas aktivitas biokimia (Bucke, 1982). Secara kimia, alginat sangat stabil pada pH 5–10. Pada konsentrasi asam dan suhu tinggi dapat menyebabkan proses dekarboksilat alginat (Rahayu, 1990; Chaves *et al.*, 1994). Terbentuknya

matriks Ca-alginat disebabkan oleh Ca bivalen bereaksi dengan monovalen anion karboksilat alginat membentuk jaringan tiga dimensi (Bucke,1982).

### Aktivitas Proteolitik dan Koagulasi Enzim Renin *M. pusillus*

Aktivitas enzim menurut Winarno (1984), adalah jumlah mol substrat yang diubah oleh enzim per menit per gram protein enzim. Aktivitas enzim spesifik dapat didefinisikan sebagai jumlah mol substrat yang diubah per menit per mg protein enzim. Pengujian aktivitas proteolitik ekstrak kasar enzim renin *M. pusillus* dan enzim renin *M. pusillus* amobil memperoleh 0,18 dan 0,1395 unit/ml/menit. Terjadi penurunan aktivitas proteolitik sebesar 22,5%. Aktivitas koagulasi ditentukan sebagai waktu yang diperlukan untuk memperlihatkan mulai adanya koagulasi susu setelah penambahan enzim. Aktivitas koagulasi ekstrak kasar enzim renin *M. pusillus* dan enzim renin *M. pusillus* amobil adalah 28250 dan 6090 unit/mg protein/menit. Terjadi penurunan aktivitas koagulasi sebesar 78,445%.

Penurunan aktivitas ekstrak kasar enzim dengan enzim amobil karena kemampuan enzim yang terjebak dalam matriks membutuhkan waktu yang lebih lama untuk kontak dengan substrat dalam menghasilkan produk. Menurut Sasmito (1990), efek dari pembatasan difusi memberikan pengaruh yang besar terhadap kerja enzim dalam berikatan dengan substrat. Enzim terjebak dalam matriks sehingga pori-pori dari matriks akan mempengaruhi substrat berdifusi ke dalam matriks untuk berikatan dengan enzim.

Menurut Fardiaz (1988), enzim yang amobil dapat kehilangan aktivitasnya karena: 1) beberapa enzim mungkin diamobil pada matriks dengan konfigurasi sedemikian rupa sehingga menghambat kontak antara

substrat dengan sisi aktif enzim, 2) gugus reaktif pada sisi aktif enzim mungkin ikut terikat pada matriks, 3) molekul enzim selama pengikatan mungkin berubah menjadi konfigurasi inaktif, dan 4) kondisi reaksi selama pengikatan mungkin menyebabkan denaturasi atau inaktivasi enzim.

Menurut Radiati dan Fardiaz (1991), standarisasi aktivitas enzim renin *M. pusillus* dalam pembuatan keju memiliki aktivitas proteolitik 12 unit/ml/menit dan aktivitas koagulasi 3020 unit/mg protein/menit. Aktivitas enzim renin *M. pusillus* amobil yang menurun ternyata masih dalam kisaran standar. Brock (1984) menyatakan bahwa renin dari kapang memenuhi syarat untuk pembuatan keju yaitu: (1) baik untuk koagulasi, tanpa adanya hidrolisis lanjut dari kasein, (2) menghasilkan keju dengan bau dan struktur yang baik, (3) tidak beracun, dan (4) daya proteolitiknya rendah, sehingga produk yang dihasilkan tidak pahit.

### Pengaruh Enzim Renin Amobil terhadap Kadar Air Keju

Perlakuan suhu, pH dan interaksi antara kedua perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar air keju segar yang dihasilkan dengan enzim renin *M. pusillus* amobil. Kisaran suhu (32°, 37° dan 42°C) dan pH (5,0; 5,5 dan 6,0) yang digunakan merupakan suhu dan pH optimum kerja enzim renin *M. pusillus*. Menurut Radiati dan Fardiaz (1991), pada suhu 30-40°C enzim renin mampu menghasilkan koagulum yang optimal dan enzim renin stabil pada pH 4,0 – 6,0. Kadar air keju yang dihasilkan menggunakan renin *M. pusillus* amobil seperti pada Tabel 1.

Kadar air terendah diperoleh dari perlakuan suhu 42°C dan pH 5,5 sebesar 45,55±0,4% sedangkan

Tabel 1. Nilai rata-rata kadar air keju segar

Perlakuan		Rata-rata kadar air (%) keju
Suhu (°C)	pH	
32	5,0	45,78±0,11
	5,5	46,44±0,25
	6,0	46,44±0,21
37	5,0	46,75±0,86
	5,5	46,38±0,97
	6,0	46,49±0,35
42	5,0	45,79±0,38
	5,5	45,55±0,4
	6,0	45,68±0,7

kadar air tertinggi diperoleh dari perlakuan suhu 37°C dan pH 5,0 sebesar 46,75±0,86%. Tinggi rendahnya perlakuan suhu dan pH yang digunakan mampu mempengaruhi aktivitas enzim renin *M. pusillus* amobil dalam mengkoagulasi susu. Pada proses pembuatan keju, kondisi suhu tinggi dan pH rendah akan membantu proses terjadinya koagulasi susu sehingga whey banyak yang keluar dan air yang terikat dalam curd lebih sedikit sehingga kadar airnya lebih rendah. Menurut Muchtadi *et al.* (1992), pada suhu yang terlalu rendah kestabilan enzim tinggi tetapi aktivitasnya rendah, sedangkan pada suhu yang terlalu tinggi, aktivitasnya tinggi tetapi kestabilannya rendah. Radiati dan Fardiaz (1991) menambahkan bahwa enzim renin *M. pusillus* merupakan enzim protease asam yang mampu mempertahankan aktivitasnya secara maksimal pada pH sekitar 5,0. Kemampuan koagulasi enzim renin *M. pusillus* amobil yang lebih tinggi dari standar yaitu sebesar 6090 unit/mg protein/menit juga dapat menyebabkan pengeluaran whey lebih besar dan air yang terikat dalam curd lebih sedikit, karena cenderung keluar bersama whey.

### Pengaruh Enzim Renin Amobil terhadap Kadar Protein Keju

Perlakuan suhu, pH dan interaksi antara kedua perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar protein keju segar yang dihasilkan dengan enzim renin *M. pusillus* amobil. Kadar protein keju segar yang dihasilkan seperti terlihat pada Tabel 2. Kadar protein keju segar terendah diperoleh dari perlakuan suhu 42°C dan pH 6,0 sebesar 19,92±0,44%. Rendahnya kadar protein disebabkan oleh perlakuan suhu 42°C merupakan suhu optimum aktivitas enzim renin *M. pusillus* dan aktivitas starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus*

*thermophilus*. Menurut Nurhidayati (2003), suhu 41-45°C merupakan suhu optimum pertumbuhan starter, sehingga akan meningkatkan aktivitas starter dalam merubah laktosa menjadi asam laktat sehingga mampu menurunkan pH. Menurut Scott (1986), aktivitas starter yang berlebihan sehingga sampai menurunkan pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan denaturasi protein.

Muchtadi *et al.* (1992) menyatakan bahwa enzim renin merupakan enzim protease yang mempunyai aktivitas proteolitik, yaitu mampu memecah protein menjadi peptida-peptida. Menurut Radiati dan Fardiaz (1991), kemampuan enzim renin *M. pusillus* yang memiliki aktivitas proteolitik dapat mengakibatkan protein pecah dan banyak yang terikat di dalam whey. Meskipun enzim renin *M. pusillus* amobil lebih tahan terhadap kondisi lingkungan, menurunnya kadar protein keju tidak hanya disebabkan oleh aktivitas proteolitik dari enzim renin saja tapi juga dari starter yang digunakan.

Kadar protein keju segar tertinggi didapat dari perlakuan suhu 32°C dan pH 6,0 sebesar 20,49±0,15%. Tingginya kadar protein disebabkan oleh suhu 32°C mengakibatkan aktivitas enzim renin *M. pusillus* lebih rendah dan aktivitas starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* lebih lambat. Menurut Muchtadi *et al.* (1992), pada suhu yang terlalu rendah kestabilan enzim tinggi tetapi aktivitasnya rendah. Rendahnya aktivitas enzim dan lambatnya pertumbuhan starter dapat menghambat penurunan nilai pH sehingga menurunkan aktivitas proteolitik dan mampu menghambat denaturasi protein. Kadar protein yang tinggi pada produk susu mempunyai nilai tersendiri untuk meningkatkan kualitas produk pangan.

Tabel 2. Nilai rata-rata kadar protein keju

Perlakuan		Rata-rata kadar protein (%) keju
Suhu (°C)	pH	
32	5,0	20,14±0,18
	5,5	20,42±0,25
	6,0	20,49±0,15
37	5,0	20,14±0,32
	5,5	20,04±0,47
	6,0	20,11±0,14
42	5,0	20,14±0,17
	5,5	20,03±0,33
	6,0	19,92±0,44

## Pengaruh Enzim Renin Amobil terhadap Kadar Lemak Keju

Perlakuan suhu dan pH memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar lemak keju segar yang dihasilkan dengan enzim renin *M. pusillus* amobil. Hasil analisis lanjutan menggunakan BNT 1% menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap variasi suhu. Pengaruh perlakuan suhu terhadap kadar lemak keju segar dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Suhu terhadap Kadar Lemak Keju Segar

Suhu	Rata-rata kadar lemak (%)	Notasi
32°C	29,86±0,35	v
37°C	31,25±0,5	w
42°C	31,33±0,57	w

Notasi v dan w pada kolom yang sama dari rata-rata kadar lemak keju segar dengan menggunakan perlakuan suhu yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar lemak keju segar

Tingginya kadar lemak pada suhu 37°C dan 42°C daripada suhu 32°C disebabkan oleh aktivitas koagulasi yang lebih tinggi pada suhu yang lebih tinggi. Menurut Lehninger (1995), peningkatan suhu menyebabkan bertambahnya energi kinetik dari enzim maupun substrat. Peningkatan energi kinetik berarti mempercepat gerakan enzim dan substrat sehingga peluang terjadinya tumbukan antara keduanya semakin besar. Makin besar frekuensi tumbukan molekul enzim dengan substrat maka makin besar pula peluang terbentuknya produk. Menurut Scott (1986), tingginya aktivitas koagulasi menyebabkan *curd* yang terbentuk menjadi keras dan padat. Kondisi ini menyebabkan kandungan bahan kering terutama lemak akan meningkat ketika *curd* dipres dalam cetakan.

Perlakuan pH juga memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kadar lemak. Nilai rata-rata kadar lemak keju segar yang dipengaruhi pH dapat dilihat pada Tabel 4. Semakin rendah perlakuan pH, kadar lemak yang dihasilkan juga semakin menurun.

Kadar lemak yang semakin rendah kemungkinan disebabkan oleh aktivitas starter dalam pencapaian perlakuan pH dan aktivitas enzim yang digunakan dalam pembuatan keju. Enzim dan starter yang digunakan juga memiliki aktivitas proteolitik yang dapat merusak struktur lemak. Aktivitas proteolitik mengakibatkan globula lemak yang bagian dalamnya cair, dapat terperas keluar akibat kerusakan membran lipoprotein dan fosfoprotein. Hal ini berkaitan dengan protein dan lemak yang sama-sama mempunyai

ikatan hidrofobik yang mengikat lemak, protein dan bahan kering lainnya. Rendahnya pH juga dapat meningkatkan koagulasi susu dalam pembuatan keju.

Menurut Daulay (1991), tingginya aktivitas koagulasi menyebabkan banyaknya kerusakan pada membran lipoprotein, sehingga lemak susu akan keluar, sehingga banyak lemak yang terikut dalam *whey*. Ridwan (2006) menambahkan bahwa komposisi keju yang berbeda-beda tergantung di mana keju itu dibuat, jenis susu yang dipakai, metode pembuatan dan perlakuan yang digunakan.

## KESIMPULAN

Alginate dapat digunakan untuk amobilisasi enzim renin *Mucor pusillus*. Perlakuan suhu mulai 37°C dan pH 5,0 pada pembuatan keju dengan menggunakan enzim renin *Mucor pusillus* amobil memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) meningkatkan kadar lemak sedangkan terhadap kadar air dan kadar protein tidak memberikan pengaruh.

Tabel 4. Pengaruh pH terhadap Kadar Lemak Keju Segar

pH	Rata-rata kadar lemak (%)	Notasi
5,0	30,29±0,68	x
5,5	30,89±0,69	y
6,0	31,26±0,86	z

Notasi x, y dan z pada kolom yang sama dari rata-rata kadar lemak keju segar dengan menggunakan perlakuan pH yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar lemak keju segar.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ditjen Dikti melalui DP2M yang telah memberikan dana untuk penelitian melalui program Penelitian Dosen Muda tahun 2005.

## DAFTAR PUSTAKA

- A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis of Chemist. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C.
- Brock, T.D. 1984. Biotechnology : A Textbook of Industrial Microbiology. Science Tech. Inc. Madison.
- Bucke, C. 1982. Industrial Use of Immobilized Enzymes and Cells. In: Immobilized Microbial Enzymes and Cells. T.W. Flegel, V. Meevootisom, A. Bhumiratana, and P. Matangkasombut [eds]. Department of Microbiology, Faculty of Science Mahidol University. Bangkok. p. 8-17.
- Chavez, M.S., A.L. Julia, and R.L. Garrote. 1994. Crosslinking Kinetics of Thermally Preset Alginat Gels. J. Food Sci. 59 (5): 1108.
- Daulay, D. 1991. Fermentasi Keju. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1988. Fisiologi Fermentasi. PAU IPB. Bogor.
- Khan, M.R., Blain, J.A and Patterson, J.D.E. 1979. Extracellular Protease of *Mucor pusillus*. J. Applied and Env. Microbiology. 17 (4):719-724.
- Lehninger, A.L. 1995. Dasar-dasar Biokimia. Jilid 1. Erlangga. Jakarta.
- Muchtadi, D., Palupi S.R dan Astawan, M. 1992. Enzim dalam Industri Pangan. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Nurhidayati, P. 2003. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Suhu Fermentasi Terhadap Kualitas Keju *Cottage*. Jurnal KAPPA. Vol. 4, No. 1, 13-17.
- Pramoedyo, H. 2004. Biometri Lanjutan. Program Study Statistika. Jurusan Matematika. Fakultas MIPA. UNIBRAW. Malang.
- Purnomo, H., Indratiningsih, Sugitha, I.M dan Rihastuti, R.A., 1996. Rekayasa Paket Teknologi Produksi Starter dan Enzim Mikroba dan Paket Aplikasinya pada Pengolahan Susu. UMM Press. Malang.
- Radiati, L.E. dan Fardiaz, D.1991. Produksi Renin *Mucor pusillus* pada Substrat Sisa Industri Minyak Jagung. Laporan Penelitian. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Rahayu, K. 1990. Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim. PAU UGM. Yogyakarta.
- Ridwan, M. 2006. Strategi Pengembangan “Dangke” Sebagai Produk Unggulan Lokal di Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. <http://www.damandiri.or.id/file/muhridwanipbbab2.pdf>. Diakses tanggal 8 Mei 2006.
- Sardinas, J.I.1972. Microbial Rennet. J. Applied Microbiol. 15: 39-66.
- Sasmito. 1990. Enzim Amobil. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta.
- Scott, R.M. 1986. Cheese Making Practice. 2<sup>nd</sup> Ed. Elsevier Applied Sci. Publ. London.
- Sheu T.Y. and Marshall, R.T. 1993. Microentrapment of *Lactobacilli* in Ca-Alginat Gel. J. Food Sci. 54 : 557-561
- Somkuti, G. A. and Babel, F.J. 1968. Acid Protease Synthetis by *Mucor pusillus* in Chemically Defined Media. J. Bact. 95:1415-1418.
- Sudarmadji, S., Haryono, B dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Wang, N.S. 2006. Enzyme Immobilization Protocol Entrapment in Alginate Gel. <http://www.glue.umd.edu/~nsw/ench485/lab7b.htm>. Diakses tanggal 12 Desember 2005.
- Ward, O.P. 1983. Proteinase. In Forgoty, W. M. (ed). Microbial Enzyme and Biotechnology. Appl. Sci. Publisher. London.
- Winarno, F.G. 1984. Enzim Pangan. Gramedia. Jakarta.