

PROFIL KOLESTEROL, KADAR PROTEIN, DAN TEKSTUR KEJU MENGUNAKAN *Mucor miehei* SEBAGAI SUMBER KOAGULAN

(*The Profile of Cholesterol, Protein Content and Texture of Cheese Using *Mucor miehei* as a Coagulant Source*)

S. Mulyani, A. Azizah dan A.M. Legowo

Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro
Telp. 0274-7478348 e-mail :ully_tht@yahoo.com

ABSTRAK

This research was carried out to investigate the profile of cholesterol, protein content and texture of cheese using *Mucor miehei* as coagulant during ripening 30 days. This Research used quantitative description method to describe the cholesterol changes of cheese with different concentration of *Mucor miehei* during ripening 30 days. The *protein content and texture was analyzed by ANOVA based on Randomized Completely Block Design (RCBD)* of factorial pattern (4x2). The first factor was concentration *Mucor miehei* (A1=0,5%, A2=1,0% and A3=1,5%). The second factor was ripening time (B= one day and B2 = 30 days. The interaction of concentration *Mucor miehei* and ripening time didn't affect on protein content and texture. The lowest cholesterol was reached on 0,5% concentration of *Mucor miehei* and ripening times 30 days (27,87 mg/100 g). The concentration of *Mucor miehei* affected significantly ($P<0,05$) on protein content. The mean of protein content was 12,84 – 24,63 %. The ripening time and concentration of *Mucor miehei* affected significantly on texture (1,599 – 7,31 N/mm²). The conclusion of the research was cholesterol content tended to increase during ripening time, so did the protein content with more concentration of *Mucor miehei*. The ripening time didn't affect on protein content. The texture tended to decreased (soft) with more concentration of *Mucor miehei*, but increased (hard) with more long ripening time.

Key words : cheese, *Mucor. miehei*, ripening time, cholesterol, protein, texture

PENDAHULUAN

Keju merupakan salah satu produk olahan susu yang memiliki kandungan protein yang tinggi serta dapat dikonsumsi bersama bahan pangan yang lain, misalnya roti. Hingga saat ini Indonesia belum memproduksi *rennet* secara komersial yang digunakan sebagai bahan penggumpal keju. Selama ini tablet *rennet* diimpor dari negara-negara di benua Eropa. Oleh sebab itu, perlu dicari alternatif pengganti penggunaan *rennet* untuk pembuatan keju. Salah satunya dengan

menggunakan enzim proteolitik yang dihasilkan oleh *Mucor miehei* sebagai bahan penggumpal keju.

Penggunaan *M. miehei* dalam pembuatan keju dimaksudkan sebagai pengganti *rennet* yang berasal dari abomasum ruminansia yang digunakan sebagai penggumpal dalam pembuatan keju. Hal ini mengingat *rennet* yang berasal dari abomasum ruminansia yang digunakan dalam pembuatan keju harganya mahal dan tersedia dalam jumlah terbatas. *M. miehei* mampu menghasilkan enzim protease dan enzim

lipase dengan aktifitas yang rendah sehingga dapat digunakan sebagai pengganti chymosin pada pembuatan keju. Enzim protease *M. miehei* bekerja dengan memutuskan ikatan peptida dari asam amino aromatik yaitu fenilalanin/valin, leusin/tirosin, fenilalanin/fenilalanin atau pada ikatan fenilalanin/tirosin (Daulay, 1991). Flavor pahit sedikit sekali dihasilkan namun tidak sama dengan flavor pahit yang dihasilkan oleh enzim protease nabati seperti papain dan bromelin. Sementara enzim lipase berperan dalam pembebasan lemak susu sehingga akan memberikan flavor khas pada keju. Aktivitas proteolisis dan lipolisis yang rendah dari *M. miehei* sangat cocok untuk pembuatan keju. Selama pemeraman atau pematangan keju kedua enzim akan memecah lemak ataupun protein keju secara lambat sehingga akan membentuk aroma, flavor, tekstur maupun komposisi kimia keju seperti asam lemak dan asam amino keju. Hal ini dapat terukur melalui kadar protein ataupun kolesterol keju. Pemeraman merupakan salah satu tahapan dalam proses pembuatan keju. Selama pemeraman terjadi berbagai macam proses, diantaranya pemecahan protein dan lemak menjadi asam-asam lemak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kolesterol, kadar protein, tekstur dan kesukaan keju dengan lama pemeraman berbeda menggunakan *M. miehei*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2008 sampai dengan Desember 2008 di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang serta Laboratorium Ilmu Pangan Universitas Katolik Soegijapranata. Materi yang digunakan adalah 36 liter susu sapi segar, kultur murni *Mucor miehei* strain 6102, kultur murni *Lactobacillus acidophilus* FNC 0051, Penelitian terdiri atas pembuatan starter, persiapan bahan pengumpul, pembuatan keju

dan pengujian variable penelitian.

Pembuatan *bulk starter* atau starter kerja sesuai dengan petunjuk Gandhi (2006). Pembuatan bahan penggumpal *M. miehei* sesuai dengan petunjuk (Silveira *et al.*, 2005). Biakan murni *M. miehei* ditumbuhkan dalam medium Potato Dextrose Agar (PDA) yang diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 72 jam, setelah 72 jam biakan kemudian dimasukkan dalam *refrigerator*. Setelah dibiakkan dalam medium PDA biakan *M. miehei* diencerkan dalam air steril. 3 cawan biakan *M. miehei* diencerkan menggunakan labu ukur hingga 500 mL. Sebanyak 1500 mL susu sapi segar sebagai bahan dasar untuk membuat keju dipasteurisasi pada suhu 72 °C selama 15 detik. Susu yang telah dipasteurisasi diturunkan suhunya sampai mencapai 37 °C, kemudian ditambahkan CaCl₂ 0,02% (w/v) dan starter kultur *L. acidophilus* 1% (v/v). Setelah itu susu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit kemudian ditambahkan *M. miehei* ketika pH susu mencapai 6. Tahap selanjutnya adalah penambahan *M. miehei* sebanyak 0,1%; 0,5%; 1% dan 1,5% (v/v). Pembentukan *curd* dilakukan pada suhu 37 °C selama 13 jam. Selanjutnya dilakukan pengaliran *whey* dan penyaringan *curd* menggunakan kain mori dan dilakukan pengepresan selama 2 hari. Setelah dilakukan pengepresan berat *curd* ditimbang dan ditaburi garam sebanyak 3% (w/w). Pemeraman dilakukan pada suhu 8 °C dan kelembaban 70 % pemeraman dibagi menjadi 2 perlakuan, yaitu 0 hari dan 30 hari (Hadiwiyoto, 1983)

Pengujian profil kolesterol menggunakan spektrofotometer (Tranggono, 1989). Pengujian kadar protein kasar menurut Legowo *et al.* (2005) adalah dengan menggunakan metode Kjeldahl dan kadar N yang diperoleh dikalikan dengan faktor konversi yaitu 6,26 (Daulay, 1991). Tekstur atau kekerasan keju, ditentukan dengan menggunakan alat Lloyd (Zulaikhah, 2001).

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial A x B (4 x 3) dengan 3 ulangan

(Gomez dan Gomez, 1995). Faktor perlakuan yang diberikan adalah: (A) penggunaan kapang dengan konsentrasi berbeda dan (B) lama pemeraman keju. Faktor A meliputi konsentrasi penggunaan kapang 0,1% (a1), 0,5% (a2), 1% (a3) dan 1,5% (a4). Sedangkan Faktor B meliputi pemeraman 1 hari (b1) dan lama pemeraman 30 hari (b2). Data pengujian kadar protein dan tekstur dianalisis ragam, apabila ada pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Ganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

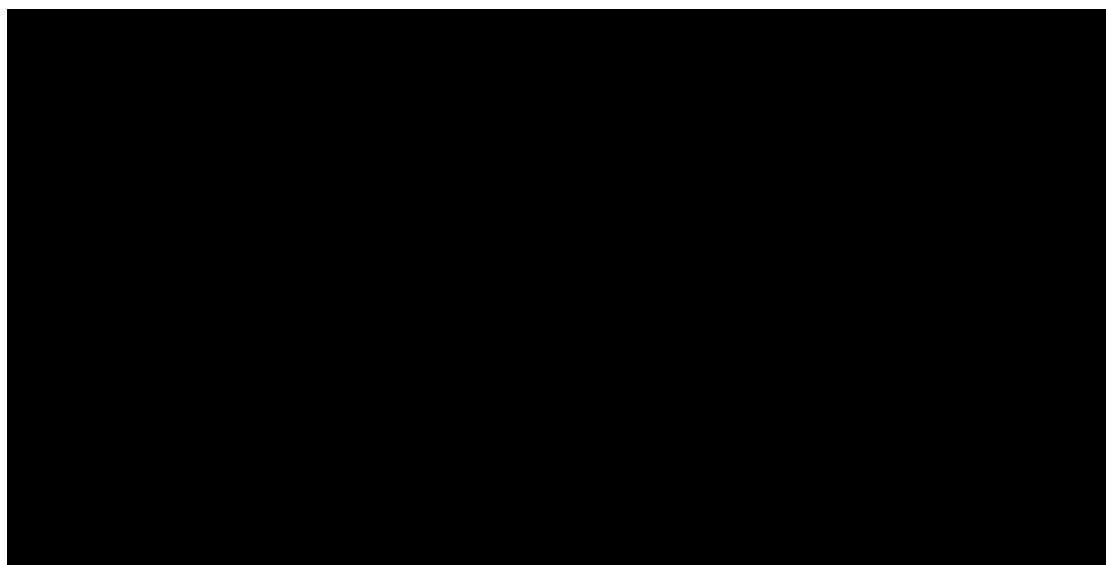
Profil Kolesterol

Terdapat kecenderungan penurunan kadar kolesterol keju seiring penambahan konsentrasi *M. miehei* yang semakin tinggi (Ilustrasi 1). Hal ini terjadi pada pemeraman 0 hari maupun 30 hari. *M. miehei* menghasilkan enzim lipase yang menyebabkan aktifitas lipolisis selama pembentukan *curd* maupun lama pemeraman. Aktifitas lipolisis akan memecah lemak sehingga mempengaruhi komposisi asam lemak pada keju. Semakin tinggi *M. miehei* yang ditambahkan semakin banyak jumlah enzim lipase yang mempengaruhi aktifitas lipolisis. *M. miehei*

merupakan salah satu mikroorganisme yang menghasilkan enzim lipase yang mampu memecah lemak (Roosheroe dan Wellyzar, 2006). Lemak keju yang berupa trigliserida selama pemeraman diubah menjadi komponen penyusunnya yaitu asam lemak dan gliserol.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Moskowitz *et al.* (1976) mengenai sifat esterase yang dihasilkan oleh *M. miehei* untuk meningkatkan flavor pada produk olahan hasil ternak. Sintesis trigliserida termasuk didalamnya asam lemak dari berbagai rantai panjang menunjukkan bahwa pada pH 5,3, enzim yang dihasilkan *M. miehei* secara khusus memecah asam lemak yang memiliki berat molekul yang rendah yang terdapat dalam trigliserida. Selain itu asam laktat yang dihasilkan mampu mendegradasi kolesterol menjadi coprostanol, yaitu suatu sterol yang tidak dapat diserap. Menurut Legowo (2002) senyawa coprostanol yang dihasilkan dari degradasi kolesterol bersama sisa kolesterol akan dibuang, sehingga kadar kolesterol akan turun.

Ilustrasi 1. Grafik Rerata Kadar Kolesterol Keju yang Dibuat dengan Menggunakan *M. miehei* dengan Lama Pemeraman Berbeda



Ilustrasi 1. Grafik Rerata Kadar Kolesterol Keju yang Dibuat dengan Menggunakan *M. miehei* dengan Lama Pemeraman Berbeda

Jika dilihat dari perlakuan lama pemeraman, maka terdapat kecenderungan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol keju. Setelah lama pemeraman 30 hari, aktifitas lipolisis dari *M. miehei* maupun starter dalam hal ini *L. acidophilus* akan semakin berlanjut pada proses pemeraman. Aktifitas lipolisis selama pemeraman akan merubah komposisi asam lemak di dalam keju. Terdapat kemungkinan bahwa semakin lanjut lipolisis akan meningkatkan proporsi asam lemak jenuh yang berperan dapat meningkatkan kadar kolesterol.

Aktifitas lipolisis dari *M. miehei* selama pemeraman mampu mengubah trigliserida menjadi komponen penyusunnya yaitu asam lemak dan gliserol. Komponen lemak yang mempengaruhi kandungan kolesterol adalah asam lemak yang terbentuk dari adanya aktifitas lipolisis. Menurut Adnan (1995) yang disitasi oleh Zulaikhah (2001) menyatakan bahwa asam laurat ($C_{12:0}$), asam palmitat ($C_{16:0}$) dan asam miristat ($C_{14:0}$) mempunyai pengaruh dapat menaikkan kandungan kolesterol serum. Asam lemak tidak jenuh tunggal yaitu asam oleat ($C_{18:1}$) berpengaruh menurunkan kadar kolesterol dalam serum dan asam lemak tidak jenuh majemuk asam linoleat ($C_{18:2}$) dan alfa linoleat ($C_{18:3}$) juga berpengaruh menurunkan kadar kolesterol dalam serum. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh O'Mahony *et al.* (2004) mengenai lipolisis dan karakteristik sensoris dari keju Cheddar yang diperam dengan menggunakan suhu yang berbeda. Kandungan asam lemak bebas (*Free Fatty Acids*) meningkat dengan penambahan suhu 4 °C, dari 8 °C menjadi 12 °C. Seiring dengan peningkatan suhu pemeraman diikuti dengan peningkatan jumlah asam lemak bebas rantai pendek ($C_{4:0}$ – $C_{8:0}$), asam lemak rantai sedang ($C_{10:0}$ – $C_{14:0}$) dan asam lemak rantai panjang ($C_{16:0}$ - $C_{18:3}$).

Penguraian lemak serta dekomposisi asam lemak dan gliserol terjadi pada keju yang diperam. Enzim lipase yang berperan pada pemecahan lemak berasal dari mikroba

yang berperan dalam pemeraman keju (Daulay, 1991). Menurut Medina *et al.* (2004) bakteri asam laktat (BAL) dianggap memiliki aktifitas lipolisis yang lebih rendah dibandingkan dengan banyak kelompok bakteri yang lain (seperti *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Achromobacter*). Bakteri asam laktat mampu menghidrolisis trigliserida, melepaskan sebagian besar asam lemak berantai pendek dan sedang serta asam lemak esensial. Pemeraman keju yang semakin lama memberikan kesempatan bakteri asam laktat, dalam hal ini *L. acidophilus* untuk tumbuh dan menghasilkan lebih banyak lipase. Peningkatan jumlah lipase yang dihasilkan *L. acidophilus* menyebabkan lebih banyak lemak yang terhidrolisis dan dengan sendirinya akan mempengaruhi kadar kolesterol keju.

Kadar Protein

Berdasarkan hasil analisis kadar protein pada keju untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Konsentrasi bahan penggumpal *M. miehei* memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar protein keju, lama pemeraman dan interaksi antara konsentrasi *M. miehei* dan lama pemeraman memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil pengujian kadar protein dari berbagai konsentrasi *M. miehei* yang digunakan masih berada pada kandungan normal keju pada umumnya. Keju yang dibuat dengan pemeraman 0 hari disebut dengan keju Cottage, kadar protein keju Cottage berkisar antara 12,7-21% dan keju Cheddar yang dibuat dengan pemeraman mempunyai kandungan protein 20,8-26,11% (Eckles *et al.*, 1986).

Kadar protein keju semakin tinggi dengan bertambahnya konsentrasi *M. miehei* yang digunakan. Berdasarkan hasil pengujian bahan kering keju, terdapat kecenderungan bahan kering keju meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi *M. miehei*. Hal ini dapat dilihat dari rendemen keju yang cenderung meningkat seiring penambahan *M.*

Tabel 1. Rerata Kadar Protein Keju Menggunakan Bahan Penggumpal *M. miehei* dengan Lama Pemeraman Berbeda

Konsentrasi <i>Mucor miehei</i> (%)	Lama Pemeraman (hari)		Rerata
	0	30	
	----- % -----		
			14,0306 ^a
0,1	12,8403	15,2209	22,1021 ^b
0,5	23,0925	21,1117	22,3187 ^c
1	24,1607	20,4767	24,2450 ^d
1,5	24,6303	23,8597	
Rerata ^{ns}	21,1809	20,1672	

Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang nyata ($P < 0,05$)

^{ns} menunjukkan tidak ada pengaruh perlakuan yang nyata ($P > 0,05$)

meiehi kedalam susu dilakukan ketika pH susu mencapai 6, karena pH yang optimum untuk *M. miehei* menghasilkan enzim protease adalah 5,5-7,5. Menurut Daulay (1991) enzim protease yang dihasilkan oleh *M. miehei* aktif pada kisaran pH 5,5-7,5. Penambahan *M. miehei* pada pH 6 berkaitan dengan kemampuan *M. meiehi* untuk menggumpalkan susu yang optimum pada pH 5,6. Pembentukan *curd* dihentikan pada pH 4,1 sehingga dimungkinkan protein belum mengalami hidrolisis lebih lanjut oleh enzim protease yang dihasilkan oleh *M. miehei*. Menurut Preetha and Boopathy (1991) pH optimal untuk aktifitas proteolisis adalah 4,1 dan pH optimum untuk menggumpalkan susu adalah 5,6.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Awad *et al.* (1999) mengenai aktivitas proteolisis dari *Endothia parasitica* dan *M. miehei* pada total kasein dan β -kasein susu kerbau, sapi dan kambing. Aktifitas proteolisis dari *M. miehei* menghidrolisis kasein dari ketiga spesies tersebut dilihat dari sifatnya hampir sama dengan chymosin, menghasilkan formasi dari α_{s1} -I dan β -I, -II, -III sebagai hasil penguraian yang utama dari α_{s1} - dan β -kasein.

Menurut Shammet *et al.* (1992) dalam penelitiannya mengenai aktifitas proteolisis dari beberapa enzim penggumpal susu terhadap κ -kasein. *M. miehei* mengakibatkan tingkat hidrolisis yang tidak spesifik diantara κ -kasein dan para- κ -kasein.

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada pengaruh nyata karena yang terukur sebagai protein adalah jumlah N total. Aktifitas proteolisis menyebabkan pecahnya protein menjadi komponen penyusunnya, hasil pemecahan protein tersebut terdeteksi sebagai N-kasar yang diukur dengan metode Kjeldahl. Lama pemeraman tidak berpengaruh terhadap kadar protein keju, karena lama pemeraman keju yang relatif singkat menyebabkan proses hidrolisis protein belum berjalan optimal. Aktifitas proteolisis selama pemeraman berjalan lambat dan menyebabkan pemecahan protein menjadi nitrogen terlarut dan non-protein nitrogen. Menurut Dahlberg dan Kosikowsky (1946) biasanya pemeraman keju diikuti dengan meningkatnya asam lemak mudah menguap dan nitrogen terlarut. Diantara kedua reaksi kimia tersebut digunakan untuk menunjukkan lama pemeraman yang berhubungan dengan

perkembangan dari flavor dan meningkatkan nitrogen terlarut dengan perkembangan badan keju yang bertambah besar dan empuk.

Tekstur Keju

Hasil pengujian tekstur keju untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil analisis ragam konsentrasi *Mucor miehei* memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap tekstur keju. Semakin tinggi konsentrasi *Mucor miehei*, semakin rendah nilai tekstur keju. Menurut Lawrence *et al.* (1987) faktor yang mempengaruhi tekstur keju terdiri dari beberapa komponen, antara lain: *rennet* keju, enzim alami susu, kasein, kelembaban, asam laktat, sodium klorida, lemak dan kalsium.

Semakin tinggi konsentrasi *Mucor miehei* semakin rendah nilai tekstur keju. Hal ini dimungkinkan karena aktifitas proteolisis yang dihasilkan oleh *Mucor miehei* yang tinggi dan mengakibatkan pemecahan ikatan peptida semakin banyak sehingga tekstur semakin lunak. Menurut Lawrence *et al.* (1987) yang menyatakan bahwa tekstur keju yang dibuat dengan menggunakan bahan penggumpal yang berasal dari

mikroorganisme, cenderung lebih buruk, setidaknya berbeda dengan keju yang dibuat dengan menggunakan *rennet*. Hal ini berkaitan dengan aktifitas proteolisis bahan penggumpal yang berasal dari mikroorganisme, yang mana lebih tidak spesifik dari chymosin terhadap kasein, tidak seperti chymosin, yang dengan cepat menghidrolisa α_{s2} - dan β -kasein

Setelah dilakukan pemeraman keju selama 30 hari, tekstur keju menjadi lebih keras. Selama pemeraman terjadi proses pemecahan protein oleh enzim protease yang dihasilkan oleh *Mucor miehei*, pemecahan protein juga disertai dengan peningkatan pH *curd*. Menurut Lawrence *et al.* (1987) tekstur keju terutama ditentukan oleh pH dan rasio keutuhan kasein menjadi lembab. Tekstur pada umumnya berubah nyata pada minggu pertama hingga minggu kedua pemeraman sebagai proses hidrolisa sebagian kecil fraksi dari α_{s1} -kasein oleh *rennet* menjadi peptida α_{s1-I} yang mengakibatkan ketidakstabilan kasein. Semakin lama berangsur-angsur terjadi perubahan setelah beberapa minggu yang ditentukan oleh tingkat proteolisis dan peningkatan pH.

Tabel 2. Rerata Tekstur Keju Menggunakan Bahan Penggumpal *M. miehei* dengan Lama Pemeraman Berbeda

Konsentrasi <i>Mucor miehei</i> (%)	Lama Pemeraman (hari)		Rerata
	0	30	
	----- % -----		
0,1	5,5858	7,3131	6,4494 ^a
0,5	2,2276	6,1744	4,2009 ^b
1	2,1497	5,9988	4,0743 ^b
1,5	1,5998	5,034	3,3169 ^c
Rerata ^{ns}	2,8907 ^d	6,1301 ^e	

Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang nyata ($P < 0,05$)

KESIMPULAN

Interaksi antara konsentrasi *M. miehei* dan lama pemeraman tidak berpengaruh terhadap kadar protein dan tekstur keju. Kadar kolesterol keju cenderung mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi *Mucor miehei* dan kadar kolesterol keju cenderung meningkat setelah dilakukan pemeraman. Kadar protein keju meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi *M. miehei* dan lama pemeraman tidak berpengaruh terhadap kadar protein keju. Tekstur keju semakin lunak seiring dengan penambahan konsentrasi *M. miehei* dan semakin keras setelah dilakukan pemeraman..

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1995. Lemak Pangan dan Permasalahannya. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Dalam Zulaikhah, S. R. 2001. Sifat Keju yang Dihasilkan dari Berbagai Konsentrasi Starter dan Lama Pemeraman Menggunakan Ekstrak Abomasum Domba. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. (Tesis Magister Peternakan).
- Awad, S., Qiao-Qian Lüthi-Peng and Z. Puha. 1999. Aktivitas Proteolisis dari *Endothia parasitica* dan *Mucor miehei* pada Total Casein dan β -casein Susu Kerbau, Sapi dan Kambing. J. Agric. Food Chem. **47 (9)**: 3632-3639.
- da Silveira, G. G., G. M. de Oliveira, E. J. Ribeiro, R. Monti and J. Contiero. 2005. Microbial Rennet Produced by *Mucor miehei* in Solid-State and Submerged Fermentation. J. Dairy Sci. **48**: 931-937.
- Dahlberg, A. C. and F. V. Kosikowsky. 1946. The Flavour, Volatile Acidity and Soluble Protein of Cheddar and Other Cheese. J. Dairy Sci.: 165-174.
- Daulay, D. 1991. Monograf Fermentasi Keju. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- de Lima, C. J. B., Mariana, C. Roberta, B. L. E. J. Robeiro, J. Contiero and E. H. De Araújo. 2008. Production of Rennet in Submerged Fermentation with the Filamentous Fungus *Mucor miehei* NRRL 3420. World Applied Science Journal **4 (4)**: 578-585.
- Eckles, C. H., W. B. Combs and H. Macy. 1986. Milk and Milk Product. Tata McGraw-Hill Publishing Company, New Delhi.
- Gandhi, D. N. 2006. Food and Industrial Microbiology: Microbiology of Fermented Dairy Products. Principal Scientist dairy Microbiology Division National Dairy Research Institute, Karnal.
- Gomez, K.A dan A.A. Gomez. 1995. Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian. Edisi ke-2. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Hadiwiyoto, S. 1983. Hasil-hasil Olahan Susu, Ikan, Daging dan Telur. Liberty, Yogyakarta.
- Lawrence, R. C., L. K. Creamer and J. Gilles. 1987. Texture Development During Cheese Ripening. J. Dairy Sci. **70**: 1748-1760.
- Legowo, A. M. 2002. Yoghurt untuk Kesehatan. Harian Kompas. Edisi 13 September 2002.
- Legowo, A. M., Nurwantoro dan Sutaryo. 2005. Analisis Pangan. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.

- Medina, R. B., Katz, M. B., Gonzales S. And Oliver G. 2004. Determination of Esterolytic and Lipolytic Activities of Lactic Acid Bacteria. *Methods. Mol. Biol.* **268**: 465-470.
- Moskowitz, G. J., T. Shen, I. R. West, R. Cassaigne and L. I. Feldman. 1976. Properties of esterase Produced by *Mucor miehei* to Develop Flavour in Dairy Products. *J. Dairy Sci* **60**: 160-1265.
- O'Mahony, J. A. Elizabeth, M. S. Conor, M. D. And Paul L. H. McSweeney. 2005. Lypolysis and Sensory Characteristic of Cheddar Cheeses Ripened Using Different TemperatureTime Treatments. *Le Lait.* **86**: 59-72.
- Preetha, S. And R. Boopathy. 1997. Purification and Characterization of A Milk Clotting Protease from *Rhizomucor miehei*. *World J. Of Microbiology and Biotechnology.* **13**: 573-578.
- Roosheroe, I. G. Dan Wellyzar, S. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Shammet, K. M., R. J. Brown, and D. J. McMahon. (1992). Dairy Food: Proteolytic Activity of Some Milk-Clotting Enzyme on κ -Casein. *J. Dairy Sci.* **75**: 1371-1379.
- Tranggono, B. Setiaji, Suhardi, Sudarmanto, Y. Marsono, A, Murdiati, I. S. Utami dan Suparno. 1989. Petunjuk Laboratorium Biokimia Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Zulaikhah, S. R. 2001. Sifat Keju yang Dihasilkan dari Berbagai Konsentrasi Starter dan Lama Pemeraman Menggunakan Ekstrak Abomasum Domba. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. (Tesis Magister Peternakan).