

Sifat Kimia dan Mikrobiologi Keju *Tomme* Probiotik dengan Variasi Perbandingan Kultur Starter Lokal

Chemical and Microbiological Properties of Probiotic Tomme Cheese with Variations in Comparison of Local Starter Cultures

Made Justin Satria Wira Buana¹⁾, Komang Ayu Nocianitri*¹⁾, Ni Nyoman Puspawati¹⁾,
Endang Sutriswati Rahayu²⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana Kampus Bukit Jimbaran, Badung Bali

²⁾Pusat Studi Pangan & Gizi dan PUI PT Probiotik UGM, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta

*Penulis korespondensi : Komang Ayu Nocianitri, e-mail : nocianitri@unud.ac.id

Diterima: 21 Juni 2024/ Disetujui: 5 Juli 2024

Abstract

Tomme cheese is a type of semi-hard cheese with characteristics of a yellowish rind, elastic texture, dense structure, earthy aroma, and a dominant salty taste among other flavors. This cheese is suitable to be used as a carrier for probiotics because its according to the tastes of the Indonesian people. However, the use of *Streptococcus thermophilus* Dad-11 as a pH-lowering bacteria can interfere with the growth of *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13 on tomme cheese. This research aims to determine the effect of starter culture comparisons on the chemical and microbiological properties of tomme cheese and to determine the comparison of starter cultures that are capable of producing the best quality of tomme cheese. A Randomized Complete Block Design (RCBD) were used, with 3 treatments, namely a comparison of *L. plantarum subs plantarum* Dad-13 and *S. thermophilus* Dad-11 (1:1), (1:2), and (1:3). The treatment was repeated 3 times, so 9 experimental units were obtained. The obtained data were analyzed by Kruskal Wallis which was followed by Least Significant Difference (LSD) test on SPSS. The research results showed that the comparison of local starter cultures had a significant effect on the reducing the pH, probiotic cell viability, moisture content of lean material, fat content, protein content of tomme cheese. Probiotic tomme cheese with a comparison of *L. plantarum subs plantarum* Dad-13 and *S. thermophilus* Dad-11 (1:1) had the best chemical and microbiological characteristics with a decrease in coagulation pH of 5-4-5.5 for 925 minutes (15 hours 25 minutes), final pH of 5.25, viability probiotic cells at the end of aging 10.3 logCFU/g, moisture content of lean material 47.23%, fat content 47.37%, and protein content 43.06%.

Keywords: comparison of starters cultur, probiotic tomme cheese, *Streptococcus thermophilus* Dad-11, and *Lactiplantibacillus plantarum subs. plantarum* Dad-13.

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dengan jumlah cukup yang mampu berkembang biak di dalam saluran pencernaan manusia serta mampu memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh dengan jumlah minimum yang terkandung di dalam usus besar yaitu sebesar

10^6 - 10^8 CFU/ml (FAO/WHO, 2001, 2002).

Agar diakui dapat memberikan manfaat kesehatan secara umum, maka dosis atau jumlah sel probiotik pada produk pangan haruslah berkisar antara 10^7 - 10^9 CFU (Rahayu dan Utami, 2019). Fungsi utama dari mengkonsumsi bakteri probiotik yaitu mengurangi berkembangnya bakteri yang

merugikan, menekan kemunculan metabolit berbahaya, menjaga kondisi saluran pencernaan tetap baik, dan meningkatkan daya tahan tubuh (Rahayu dan Utami, 2019).

Pada saat ini, pangan dengan penambahan probiotik menempati peringkat kedua pada industri pangan dikarenakan produk ini tidak hanya digunakan sebagai obat, melainkan sebagian besar produknya dipasarkan dalam bentuk suplemen diet dan bahan makanan (Rahayu dan Utami, 2019). Produk pangan fermentasi merupakan salah satu produk yang paling tepat untuk digunakan sebagai pembawa probiotik. Hal tersebut dikarenakan produk tersebut telah melibatkan mikroorganisme dari sejak awal pembuatannya (Rahayu dan Utami, 2019). Salah satu contoh produk fermentasi yang dapat digunakan sebagai pembawa probiotik adalah keju.

Keju merupakan salah satu produk olahan susu yang diperoleh dari hasil penggumpalan protein atau denaturasi protein dengan bantuan *rennet* (Usmiati dan Abubakar, 2009). Selain itu, denaturasi protein susu dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti kultur mikroba, pengasaman, pengasinan, pengemasan dan pendinginan (Everett dan Auty, 2008). Keju sendiri memiliki jenis yang beragam, salah satu jenis keju yang cukup populer adalah keju *tomme*. Keju *tomme* merupakan jenis keju semi-keras dengan karakteristik kulit keju berwarna kekuningan, tekstur elastis, struktur padat, aroma *earthy*, dan rasa asin

yang dominan diantara rasa-rasa lainnya (susu, pahit, serta memiliki rasa asam seperti makanan fermentasi) (Hae, 2020). Jenis keju ini cocok untuk dijadikan pembawa probiotik dikarenakan citarasanya cocok dengan lidah masyarakat Indonesia (Shiddieqy, 2022). Namun terdapat beberapa tantangan yang dihadapi produk probiotik yaitu lama waktu pembuatan serta viabilitas sel bakteri probiotik yang terdapat di dalamnya.

Pada tahap awal pengembangan produk keju dengan probiotik lokal, kultur starter yang digunakan hanya *Lactobacillus plantarum* Dad-13 (dengan penamaan kultur baru menjadi *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum* Dad-13). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa keju yang dihasilkan mengandung bakteri probiotik, akan tetapi memiliki kelemahan yaitu untuk mencapai pH koagulasi 5,4-5,6 memerlukan waktu \pm 24 jam (Puspitasari, 2021). Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mempersingkat waktu koagulasi keju yang lama yaitu dengan menggunakan bantuan bakteri lain yang mampu menurunkan pH susu menjadi lebih cepat. Berdasarkan penelitian lanjutan yang telah dilakukan, keju *tomme* yang diproduksi menggunakan kombinasi kultur starter lokal dengan campuran *L. plantarum* Dad-13 dan *Streptococcus thermophilus* Dad-11 dengan perbandingan 1:3 menghasilkan waktu koagulasi kurang lebih 15 jam 45 menit dengan total viabilitas sel probiotik sebesar

$6,6 \times 10^7$ logCFU/g (Shiddieqy, 2022). Menurut Gobetti dan Callaso (2014), penambahan kultur starter *S. thermophilus* mampu membantu penurunan pH saat pembuatan keju dan pembentukan rasa selama pemeraman keju. Namun penggunaan *S. thermophilus* Dad-11 sebagai bakteri penurun pH dapat mengganggu pertumbuhan *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 pada keju *tomme*. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbandingan kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 yang tepat untuk menghasilkan keju *tomme* probiotik dengan sifat kimia dan mikrobiologi terbaik.

METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan keju *tomme* probiotik ini antara lain susu sapi segar yang diperoleh dari Koperasi SAMESTA (Dusun Plosokerep, Desa Umbulharjo, Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta), kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 dalam bentuk kultur kering yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM, garam laut (PT Sabu Rajjua) dari PT Mazaraat Lokanatura Indonesia, dan enzim *rennet* (RENCO) dari PT Mazaraat Lokanatura Indonesia. Bahan yang digunakan dalam pengujian sifat kimia dan mikrobiologi keju *tomme* probiotik antara lain larutan standar HCl 0,015 N

(Mallinckrodt), katalis (HgO.K₂SO₄), asam borat 4%, indikator BCG-MR (Merck), larutan pekat H₂SO₄ (Mallinckrodt), larutan NaOH, Na₂S₂O₃, N-heksana (PT Brataco), aquadest, agar bacteriological (Oxoid), bacteriological pepton (Oxoid), *lab lemcow powder* (Oxoid), D-sorbitol (Millipore), yeast extract (Oxoid), sodium asetat trihidrat (Millipre), ammonium hydrogen sitrat (Supelco), potasium dihidrogen fosfat (Supelco), cyproplaxacin (PT Finusolprima Farma International), MgSO₄ (Merck), BCP, dan MnSO₄ (Merck).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pembuatan keju *tomme* probiotik ini antara lain panci stainless steel, kain saring, kompor, curd cutter, gelas ukur 2 liter, pH meter digital, termometer digital, sendok, timbangan, stopwatch, cheese press, container box untuk proses penggaraman (brining), pisau, dan rak kayu untuk proses pemeraman. Alat yang digunakan dalam pengujian karakteristik kimia dan mikrobiologi antara lain oven analisis (Glotech), soxhlet (Behr), labu didih, gelas kimia 100 mL, gelas ukur 25 mL, timbangan analitik (Radwag AS 220.R2 plus), desikator, spatula, erlenmeyer 250 mL, propipet, buret dan statif, corong, gelas ukur 250 mL, penetes, labu kjeldahl (Pyrex), desikator (Behrotest), penjepit, bunsen, spatula *drigalski*, timbangan digital (Mettlet PM4699 DeltaRange), vortex (Dlab mx-s), *stomacher* (Seward), blue tip 1 mL, rak

tabung reaksi, *conicle tubes* ukuran 15 mL (Biologix), autoklaf (Hirayama), waterbath 37°C (GFL), erlenmeyer 500 mL (TAT), gelas kimia 250 mL (TAT), cawan petri (Pyrex), dan inkubator.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktor tunggal perbandingan kultur starter bakteri yaitu : P1 = Kultur starter *L. plantarum subs. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 (1:1), P2 = Kultur starter *L. plantarum subs. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 (1:2), dan P3 = Kultur starter *L. plantarum subs. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 (1:3). Penelitian ini diulang 3 kali sehingga diperoleh 9 unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Keju *Tomme Probiotik*

Proses pembuatan keju *tomme* probiotik diawali dengan penyaringan susu sapi segar menggunakan kain saring untuk menghilangkan kontaminan fisik yang masih terdapat pada susu. Proses dilanjutkan dengan pengadukan dan pemanasan susu dengan menerapkan pemanasan termisasi. Pemanasan termisasi adalah proses pemanasan menggunakan suhu yang tidak terlalu tinggi yang berkisar pada suhu 63-65°C selama 15 detik. Pada penelitian ini, pemanasan termisasi dilakukan pada suhu 64°C selama 15 detik. Susu yang telah dipanaskan, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 35-38°C. Proses pendinginan

bertujuan untuk memberikan kondisi optimum untuk pertumbuhan kultur starter serta mencegah kematian kultur starter akibat suhu yang terlalu tinggi. Kultur starter kemudian ditambahkan saat suhu susu telah mencapai 38°C, kemudian didiamkan selama 45 menit.

Sebanyak 0,54 g enzim *rennet* dilarutkan menggunakan air sebanyak 5 mL, kemudian didiamkan selama 30 menit sebelum digunakan. Enzim *rennet* dimasukkan ke dalam susu dan didiamkan hingga susu mengalami koagulasi membentuk curd. Proses dilanjutkan dengan pemotongan curd menjadi bagian-bagian kecil menggunakan *curd cutter* secara vertikal sebanyak dua kali dan horizontal sebanyak satu kali. Curd yang telah terpotong, kemudian melewati proses pendiaman (*healing*) selama ± 10 menit untuk menguatkan kembali struktur curd sehingga curd yang terbentuk memiliki matriks yang lebih kompak.

Curd yang telah melewati proses pendiaman (*healing*), kemudian diaduk dan dihangatkan hingga mencapai suhu 38°C selama ± 60 menit di dalam *cheese tank*. Pengadukan dilakukan perlahan 5-10 menit pertama dan berangsur-angsur dipercepat saat *curd* keju mulai kompak. Kemudian, curd dipisahkan dengan whey dan dimasukkan ke dalam cetakan yang sudah dilapisi dengan kain saring atau *cheese cloth*. Whey yang sudah dipisahkan, dimasukkan ke dalam tempat penampungan limbah.

Tabel 1. Komposisi Bahan Pembuatan Keju *Tomme* Probiotik

Bahan	Jumlah
Susu sapi segar (L)	20
Jumlah kultur starter (g)*	20
Enzim <i>rennet</i> (g)**	0,54

Keterangan: * Jumlah kultur starter berdasarkan logCFU/g yang ingin dicapai

**Enzim *rennet* berdasarkan jumlah susu sapi segar yang digunakan

Curd selanjutnya dilakukan pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*). Curd dimasukkan ke dalam wadah pencetak, kemudian dilakukan proses penekanan (*press*) menggunakan pemberat sebesar 10 kg. Selanjutnya dilakukan pengecekan pH curd, kemudian dilakukan proses pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*) kembali. Proses pengecekan pH, pembalikan, pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*) curd dilakukan secara berulang dengan interval waktu 15, 30, 60, 60, 120, 240, 480 menit hingga mencapai pH 5,4 - 5,5.

Pada saat pH curd telah mencapai 5,4-5,5, maka proses penekanan (*press*) dihentikan dan dilanjutkan dengan proses penggaraman (*brining*) menggunakan larutan garam $\pm 23-24\%$ selama 3 jam/kg curd. Setelah proses penggaraman (*brining*), keju *tomme* kemudian diperam pada ruangan dengan suhu 14°C dan RH 85-90% selama 1 hari, kemudian pemeraman (*aging*) dilanjutkan menggunakan suhu 11-13°C dengan RH 80-84% selama 2 bulan sebelum dipanen. Keju *tomme* yang telah dipanen kemudian disimpan pada suhu 4°C.

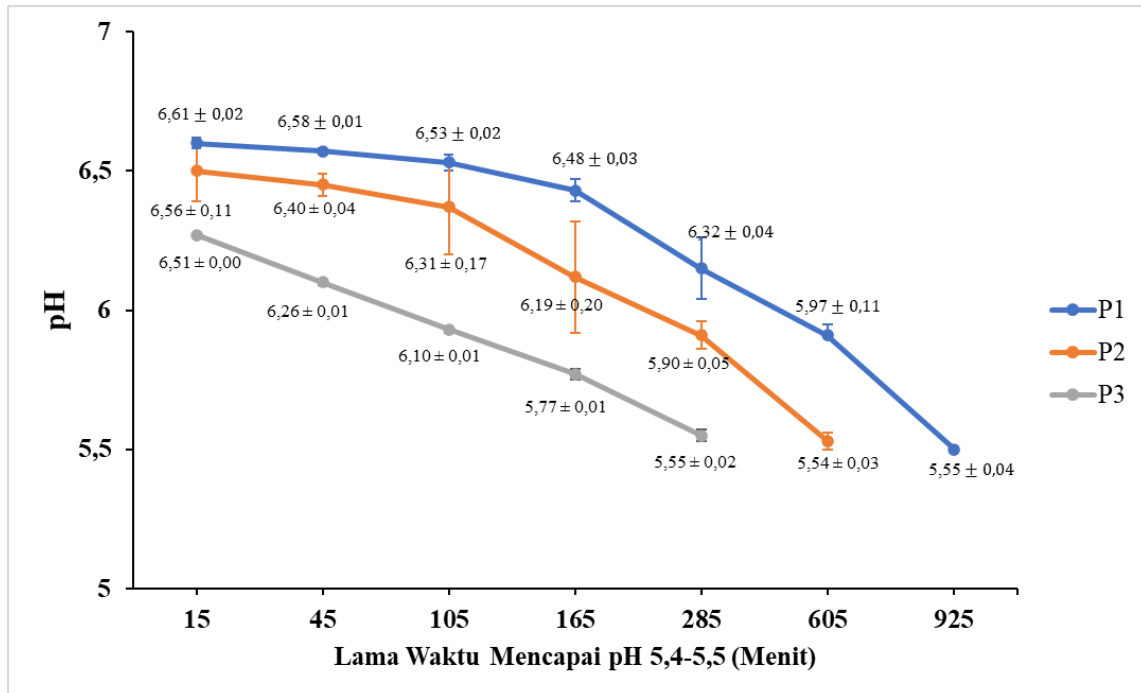
Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu penurunan pH, viabilitas sel selama pemeraman (*aging*) (Maturin dan Peeler, 2001), kadar air tanpa lemak (AOAC, 2005), kadar lemak (AOAC, 2005), serta kadar protein (AOAC, 2012) keju *tomme* probiotik. Data hasil pegujian kemudian dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dengan taraf signifikansi 5% dan jika terdapat pengaruh, maka akan dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada aplikasi SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penurunan pH

Selama proses pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*) terjadi perbedaan aktivitas mikroba pada masing-masing perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan waktu penurunan pH keju selama proses pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*). Penurunan pH keju *tomme* probiotik selama dapat dilihat pada Gambar 1.

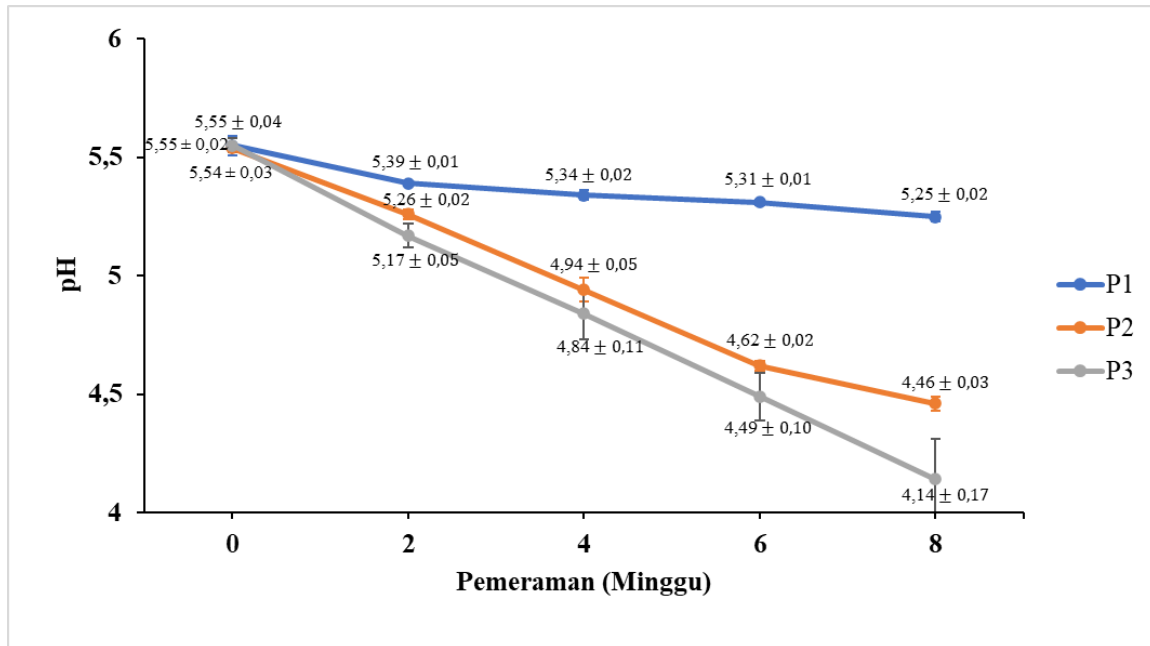


Gambar 1. Penurunan pH Keju *Tomme* Probiotik Selama Pencetakan (*Molding*) dan Penekanan (*Press*)

Waktu penurunan pH keju *tomme* probiotik selama pencetakan (*molding*) dan penekanan (*press*) untuk mencapai pH 5,4-5,5 berkisar antara 285 menit (4 jam 45 menit) sampai 925 menit (15 jam 25 menit). Penurunan pH keju *tomme* probiotik tercepat terdapat pada perlakuan P3 yaitu selama ± 285 menit (4 jam 45 menit), sedangkan penurunan pH terlama terdapat pada perlakuan P1 yaitu selama ± 925 menit (15 jam 25 menit). Terjadi peningkatan laju penurunan pH seiring bertambahnya kultur starter *S. thermophilus* Dad-11.

Perbedaan kecepatan penurunan pH diakibatkan oleh adanya perbedaan konsentrasi kultur starter *S. thermophilus* Dad-11. *S. thermophilus* Dad-11 umumnya digunakan sebagai starter produk susu dan

memiliki kemampuan untuk mengubah laktosa menjadi asam laktat secara cepat, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan pH yang cepat (Sun et al., 2011). Gobetti dan Calasso (2014) menyatakan fungsi utama bakteri ini yaitu membantu menurunkan pH serta membantu pembentukan citarasa pada keju. Semakin tinggi konsentrasi kultur starter *S. thermophilus* Dad-11, maka semakin banyak laktosa yang diubah menjadi asam laktat, sehingga penurunan pH pada keju *tomme* probiotik yang diproduksi akan semakin cepat. Hal ini membuktikan bahwa semakin tinggi penambahan kultur starter *S. thermophilus* Dad-11, maka laju koagulasi keju *tomme* akan semakin cepat.



Gambar 2. Perubahan pH Keju *Tomme* Probiotik Selama Pemeraman (*Aging*)

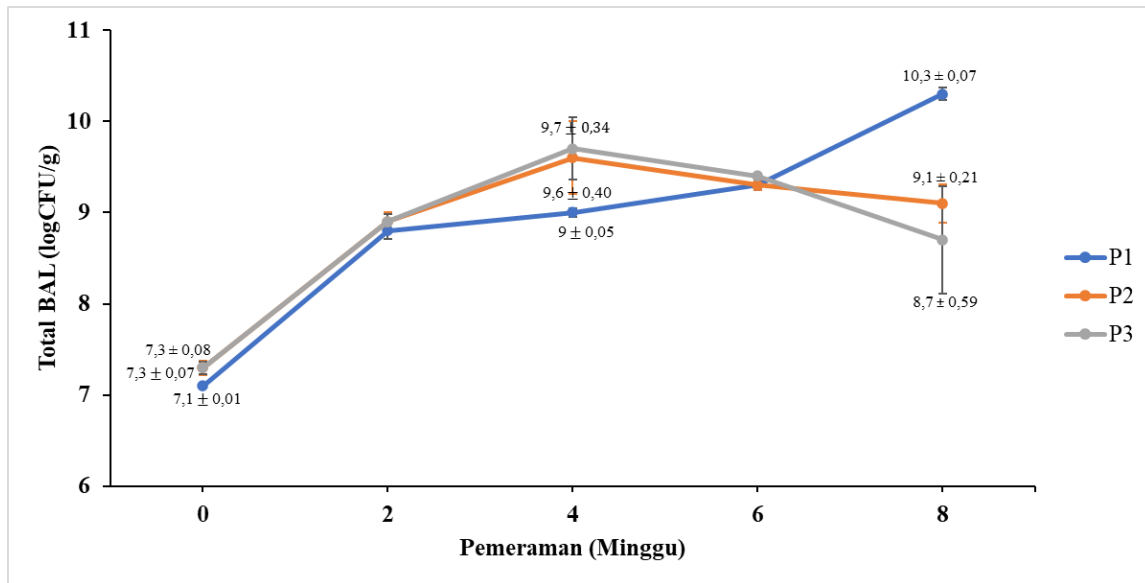
Selama proses pemeraman (*aging*) aktivitas mikroba masih tetap berjalan. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan pH keju selama proses pemeraman (*aging*). Perubahan pH keju *tomme* probiotik selama pemeraman (*aging*) dapat dilihat pada Gambar 2.

Penurunan pH pada keju *tomme* probiotik masih berlanjut selama pemeraman (*aging*). Adanya penurunan pH yang berlanjut disebabkan karena kultur starter yang masih hidup sehingga proses fermentasi laktosa masih terjadi. *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dapat tumbuh dengan pH optimum produksi asam laktat berada pada kisaran pH 5,3-5,6, sedangkan *S. thermophilus* Dad-11 dapat tumbuh pada pH 4-7 (Julio, 2019). Hal tersebut berpengaruh terhadap profil viabilitas sel probiotik keju *tomme*.

Viabilitas Sel Selama Pemeraman (*Aging*)

Selama proses pemeraman (*aging*) keju, aktivitas sel probiotik masih berlanjut. Hal ini dapat dilihat dari viabilitas sel probiotik selama pemeraman (*aging*). Perubahan viabilitas sel probiotik keju *tomme* probiotik selama pemeraman (*aging*) dapat dilihat pada Gambar 3.

Viabilitas sel probiotik dihitung pada masa pemeraman (*aging*) mulai dari 0 minggu (sebelum pemeraman) hingga 8 minggu. Keju ini sudah dapat dikonsumsi pada pemeraman (*aging*) mulai dari 0 minggu, namun citarasa keju *tomme* belum terbentuk secara sempurna. Pada proses pemeraman (*aging*), keju *tomme* probiotik diletakkan dengan kondisi tanpa dikemas serta disimpan di ruang *aging* dengan suhu 11°C sampai 13 °C dan kelembaban relatif (RH) 80-84%.



Gambar 3 .Perubahan Viabilitas Sel Probiotik Keju *Tomme* Probiotik Selama Pemeraman (Aging)

Perhitungan viabilitas sel probiotik, menggunakan media selektif sehingga kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 sebagai bakteri probiotik yang dapat hidup atau dihitung di dalam media tersebut.

Pada 0 minggu pemeraman (sebelum pemeraman), viabilitas sel probiotik tertinggi terdapat pada perlakuan P2 dan P3 yaitu 7,3 logCFU/g, sedangkan viabilitas sel probiotik terendah terdapat pada perlakuan P1 yaitu 7,1 logCFU/g. Pada pemeraman (*aging*) minggu kedua, viabilitas sel tertinggi terdapat pada perlakuan P2 dan P3 yaitu 8,9 logCFU/g, sedangkan viabilitas sel probiotik terendah terdapat pada perlakuan P1 yaitu 8,8 logCFU/g. Pada pemeraman (*aging*) minggu keempat, viabilitas sel tertinggi terdapat pada perlakuan P3 yaitu 9,7 logCFU/g, sedangkan viabilitas sel probiotik terendah terdapat pada perlakuan P1 yaitu 9

logCFU/g. Pada pemeraman (*aging*) minggu keenam, jumlah viabilitas sel tertinggi terdapat pada perlakuan P3 yaitu 9,4 logCFU/g, sedangkan viabilitas sel probiotik terendah terdapat pada perlakuan P1 dan P2 yaitu 9,3 logCFU/g. Pada pemeraman (*aging*) minggu kedelapan, viabilitas sel probiotik tertinggi terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 10,3 logCFU/g, sedangkan viabilitas sel probiotik terendah terdapat pada perlakuan P3 yaitu sebesar 8,7 logCFU/g. Setelah pemeraman (*aging*) minggu keenam dan kedelapan, *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 pada keju *tomme* probiotik perlakuan P2 dan P3 sudah memasuki fase kematian yang ditandai dengan adanya penurunan viabilitas sel probiotik. Keju *tomme* probiotik yang diproduksi menggunakan perbandingan *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dengan

S. thermophilus Dad-11 (1:3), memiliki viabilitas sel probiotik pada pemeraman (*aging*) kedelapan sebesar 8,9 logCFU/g (Shiddieqy, 2022).

Adanya penurunan viabilitas sel probiotik dapat disebabkan oleh penurunan pH keju *tomme* probiotik. Derajat keasaman (pH) berdampak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri dikarenakan berhubungan erat dengan kerusakan membran sel bakteri dan hilangnya komponen intraseluler bakteri serta berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang diperlukan untuk mengkatalis reaksi yang terkait dengan pertumbuhannya (Fajar et al., 2022). Lingkungan yang sangat asam akan mengakibatkan kerusakan membran sel serta menyebabkan hilangnya komponen-komponen intraseluler bakteri, sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri (Kimoto et al., 1999). Semakin tinggi penambahan kultur starter *S. thermophilus* Dad-11, maka semakin rendah pula pH yang dihasilkan sehingga kerusakan membran sel serta hilangnya komponen-komponen intraseluler yang terdapat pada bakteri akan semakin tinggi. Derajat keasaman (pH) di dalam suatu media atau lingkungan tidak sesuai juga akan mengganggu kerja enzim serta akan mengganggu pertumbuhan bakteri (Suriani et al., 2013). Kondisi asam akan menyebabkan terjadinya pengasaman sitoplasma, sehingga terjadi penghambatan aktivitas enzim. Penghambatan aktivitas berpengaruh terhadap penurunan laju

sintesis energi biokimia akibat fluks katabolitik. Penurunan laju sintesis energi diikuti dengan peningkatan penggunaan energi untuk mencegah keberlangsungan pengasaman sitoplasma, sehingga terjadi penurunan energi untuk melakukan sintesis biomassa. Kondisi tersebut akan menyebabkan penurunan laju pertumbuhan bakteri secara spesifik serta dapat mengakibatkan terhenting pertumbuhan bakteri (Subagiyo et al., 2015).

Penurunan viabilitas sel *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 juga dapat disebabkan oleh adanya senyawa antibakteri dari *Mucor. sp* serta ketersediaan nutrisi. *Mucor. sp* merupakan jamur yang membantu pembentukan citarasa keju *tomme*, sehingga keju ini memiliki rasa *mushroomy*, *earthy*, dan pahit (Haryadi, 2023). *Mucor.sp* memproduksi metabolit sekunder berupa mikosin yang bersifat sebagai antibakteri (Arianti, 2020). Jamur ini tumbuh secara alami pada keju *tomme* dikarenakan kondisi lingkungan penyimpanan keju yang cocok dengan pertumbuhannya. *Mucor.sp* dapat tumbuh pada pH 3-8, akan tetapi pertumbuhan optimalnya berada pada pH 5 (Arifiansyah et al., 2015.; Hakim et al., 2020). Secara makroskopis, koloni jamur ini dapat tumbuh pada suhu 25-30°C, memiliki struktur yang halus, menyerupai tekstur permen kapas, serta berwarna putih dan akan berubah warna menjadi coklat pada saat tua (Alviolita et al., 2014). Pada *aging* minggu keempat, pH keju *tomme* probiotik

perlakuan P1 sebesar 5,34, sehingga menyebabkan jamur ini dapat berkembang dengan baik. Pada kasus ini, terjadi simbiosis parasitisme antara *Mucor. sp* terhadap *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13, yang ditandai dengan terhambatnya peningkatan viabilitas sel probiotik pada keju *tomme* perlakuan P1 jika dibandingkan dengan perlakuan P2 dan P3 akibat senyawa antibakteri dari *Mucor. sp*. Namun, pada *aging* minggu keenam dan kedelapan, jamur ini telah mengalami kematian yang ditandai dengan peningkatan viabilitas sel probiotik bakteri keju *tomme* probiotik perlakuan P1 serta perubahan penampilan dan warnanya akibat kondisi lingkungan yang tidak mendukung serta adanya aktivitas antimikroba kultur starter lokal yang digunakan. *Mucor. sp* hidup pada bagian luar keju *tomme*, sehingga rentan akan perubahan suhu. Perubahan suhu tersebut menyebabkan jamur yang awalnya berwarna putih segar menjadi mengering dan berwarna coklat tua kehitaman. Selain itu kematian *Mucor. sp* juga dapat disebabkan oleh mekanisme antimikroba dari kultur starter yang digunakan. Magnusson et al (2003) menjelaskan tiga mekanisme antimikroba oleh BAL yaitu asam organik yang diproduksi, kompetisi nutrisi, serta produksi senyawa antagonis. Adanya perbedaan konsentrasi kultur starter *S. thermophilus* Dad-11 terhadap *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 juga mempengaruhi viabilitas sel probiotik di

dalam keju dikarenakan semakin tingginya konsentrasi bakteri, maka semakin banyak pula nutrisi yang diperlukan. Adanya penurunan viabilitas sel *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 keju *tomme* perlakuan P2 dan P3 disebabkan oleh nutrisi di dalam media dan cadangan energi yang sudah mulai berkurang (Mardalena, 2016).

Sifat Kimia

Hasil pengujian kadar air tanpa lemak, kadar lemak, dan kadar protein keju *tomme* probiotik dapat dilihat pada Tabel 2.

Kadar Air Tanpa Lemak

Penggolongan suatu produk keju didasarkan oleh kandungan kadar air bahan tanpa lemak yang terkandung di dalamnya (Codex Alimentarius, 1978). Kadar air tanpa lemak merupakan jumlah total padatan keju setelah kandungan air dan lemak dihilangkan. Kadar air tanpa lemak diperoleh dari persentase kadar air keju dibagi dengan persentase fraksi bahan tanpa lemak.

Berdasarkan analisis ragam, perlakuan perbandingan kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 berpengaruh nyata terhadap kadar air tanpa lemak keju *tomme* probiotik. Nilai rata rata kadar air tanpa lemak keju *tomme* probiotik yaitu berada pada kisaran 43,32 - 47,23%. Kadar air tanpa lemak tertinggi terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 47,23%, sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan P3 yaitu sebesar 43,32%.

Tabel 2. Hasil Uji Kimia Keju *Tomme* Probiotik

Perlakuan	Kadar Air (bk%)	Kadar Air Tanpa Lemak (bk%)	Kadar Lemak (bk%)	Kadar Protein (bk%)
P1 (1:1)	32,02 ± 0,01 ^c	47,23 ± 0,11 ^c	47,37 ± 0,19 ^a	43,06 ± 0,20 ^c
P2 (1:2)	29,62 ± 0,01 ^b	45,02 ± 0,00 ^b	48,60 ± 0,05 ^b	36,82 ± 0,14 ^b
P3 (1:3)	27,81 ± 0,02 ^a	43,32 ± 0,02 ^a	49,62 ± 0,00 ^c	27,42 ± 0,14 ^a

Keterangan: Nilai rata-rata diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan kadar air tanpa lemak, keju *tomme* yang dihasilkan tergolong ke dalam keju semi-keras berjamur. Terjadi penurunan kadar air tanpa lemak seiring dengan penambahan kultur starter *S. thermophilus* Dad-11.

Kadar air tanpa lemak keju *tomme* probiotik dipengaruhi oleh nilai pH keju. Penggunaan kultur starter *S. thermophilus* Dad-11 dengan konsentrasi yang tinggi menyebabkan adanya peningkatan fermentasi laktosa serta peningkatan penurunan pH. Adanya kondisi asam akibat penggunaan kultur starter *S. thermophilus* akan membantu proses penyusutan partikel keju sehingga jumlah air yang keluar akan semakin banyak (Scoot,1981). Selain itu, nilai pH yang semakin rendah dapat menyebabkan *whey* keju akan semakin mudah untuk keluar, sehingga air yang tertahan semakin sedikit. Begitu juga sebaliknya, nilai pH keju yang semakin tinggi akan menyebabkan *whey* keju akan semakin sulit untuk keluar, sehingga air yang tertahan pada keju akan semakin banyak (Arifiansyah et al., 2015).

Kadar Lemak

Berdasarkan analisis ragam, perlakuan perbandingan kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 berpengaruh nyata terhadap kadar lemak keju *tomme* probiotik. Nilai rata-rata kadar lemak keju *tomme* probiotik yaitu berada pada kisaran 47,37 - 49,62%. Kadar lemak tertinggi terdapat pada perlakuan P3 yaitu sebesar 49,62%, sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 47,37 %. Berdasarkan kadar lemaknya, keju *tomme* yang dihasilkan tergolong ke dalam keju penuh lemak (*full fat cheese*). Keju penuh lemak (*full fat cheese*) merupakan jenis keju yang memiliki kandungan lemak kering lebih dari atau sama dengan 45% dan kurang dari 60% (Codex Alimentarius, 1978).

Penambahan *S. thermophilus* Dad-11 yang semakin tinggi, akan menyebabkan produksi asam laktat dan aktivitas enzim proteolitik yang semakin tinggi. Adanya asam dan aktivitas proteolitik selama proses koagulasi susu dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan fosfolipid protein,

sehingga globula lemak akan keluar dan terperangkap di dalam gumpalan protein, yang pada akhirnya menyatu dengan curd (Daulay, 1991). Selain itu kondisi asam dan aktivitas proteolitik dari kultur starter *S. thermophilus* Dad-11 akan membantu proses penyusutan jumlah air, sehingga menyebabkan peningkatan kadar bahan kering keju *tomme*. Peningkatan kadar bahan kering yang semakin tinggi dapat menyebabkan peningkatan komponen lemak yang terperangkap di dalam *curd* (Gunawan, 2012). Hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan lemak keju serta penurunan kadar protein keju.

Kadar Protein

Berdasarkan analisis ragam, perlakuan perbandingan kultur starter *L. plantarum subsp. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 berpengaruh nyata terhadap kadar protein keju *tomme* probiotik. Nilai rata rata kadar protein *tomme* probiotik yaitu berada pada kisaran 27,42-43,06%. Kadar protein tertinggi terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 43,06%, sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan P3 yaitu sebesar 27,42 %.

Kadar protein mengalami penurunan seiring dengan penambahan kultur starter *S. thermophilus* Dad-11. Penurunan kadar protein dapat disebabkan oleh adanya peningkatan produksi asam dan peningkatan aktivitas enzim proteolitik. Kondisi susu yang semakin asam pada saat proses koagulasi menyebabkan kerusakan pada

protein susu (Nugroho et al., 2018). Adanya penurunan pH yang terlalu rendah serta adanya aktivitas proteolitik yang tinggi pada pengasaman awal dapat menyebabkan peningkatan kerusakan lapisan fosfolipid protein. Hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi kasein terlarut di dalam fase cair, sehingga semakin banyak kasein yang terlarut di dalam cairan whey (Arifiansyah et al., 2015). Bakteri asam laktat memiliki metabolisme intraseluler yang cepat, sehingga memerlukan sumber energi tertentu untuk pertumbuhan dan perkembangannya, terutama karbohidrat dan protein (Kieliszek et al., 2021). Akibat tidak cukupnya jumlah asam amino bebas yang terdapat pada susu, maka bakteri ini harus memperoleh bahan tersebut dengan cara menguraikan protein susu, terutama kasein (Tagliazucchi et al., 2019).

KESIMPULAN

Perbandingan kultur starter lokal berpengaruh nyata terhadap penurunan pH, viabilitas sel probiotik, kadar air tanpa lemak, kadar lemak, serta kadar protein keju *tomme*. Keju *tomme* probiotik dengan perbandingan kultur starter *L. plantarum subs. plantarum* Dad-13 dan *S. thermophilus* Dad-11 (1:1) memiliki karakteristik kimia dan mikrobiologi terbaik dengan penurunan pH koagulasi 5-4-5,5 selama 925 menit (15 jam 25 menit), pH akhir 5,25, viabilitas sel probiotik pada akhir pemeraman 10,3 logCFU/g, kadar air tanpa lemak 47,23%,

kadar lemak 47,37%, serta kadar protein 43,06%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ini disampaikan kepada Kemdikbud melalui Program PKK M DIKTI Tahun Anggaran 2023, Program Studi Teknologi Pangan serta Pusat Studi Pangan & Gizi dan PUI-PT Probiotik UGM yang telah memfasilitasi penelitian serta mendanai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Alviolita, Z., Oramahi, H. A., dan Diba, F. (2014). Pengendalian Jamur Penyebab Busuk Benih Tusam (*Pinus merkusii* Jungh et de Vriese) dengan Asap Cair Kayu Laban (*Vitex pubescens* Vahl).
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International.
- AOAC. 2012. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist*. 19th ed. Washington D C: AOAC International.
- Arianti, N, K, J. (2020). Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Pada Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) (Doctoral dissertation, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis).
- Arifiansyah, M., Wulandari, E., dan Chairunnisa, H. (2015). Karakteristik Kimia (Kadar Air dan Protein) dan Nilai Kesukaan Keju Segar Dengan Penambahan Koagulan Jus Jeruk Nipis, Jeruk Lemon dan Asam Sitrat.
- Shiddieqy, M. W. A. (2022). Karakteristik Kimia, Fisik, Sensoris, dan Mikrobiologis Keju Tomme Probiotik Dengan Kultur Starter Lokal.
- Daulay, D. 1991. Fermentasi Keju. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi-PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Everett, D. W., dan Auty, M. A. E. (2008). *Cheese structure and current methods of analysis*. In *International Dairy Journal*. 18(7). 759–773. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.012>
- Fajar, I., Yudha P, I., dan Ernawati, N, M. (2022). Pengaruh Derajat Keasaman (pH) terhadap Pertumbuhan Bakteri Toleran Kromium Heksavalen dari Sedimen Mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. In *Current Trends in Aquatic Science*. 5(1).
- FAO/WHO. (2001). *Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Acid Bacteria*
- FAO/WHO. (2002). *Guidelines for The Evaluation of Probiotics in Food. Canada, Food London Ontario*.
- Gobetti, M. dan Calasso, M. (2014). *Streptococcus*. Encyclopedia of Food Microbiology, pp. 535-553.
- Gunawan, D. (2012). Kualitas Fisik dan Komposisi Kimia Keju Hasil Koagulasi Getah Biduri (*Calotropis gigantea*).
- Hae, C. R. O., (2020). Karakteristik Fisik dan Sensoris serta Analisis Pasar Keju Tomme Probiotik dengan Kultur Starter Lokal, Yogyakarta: Departemen Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, FTP, UGM.
- Hakim, L., Kurniatuhadi, R., Biologi, J., F., Hadari Nawawi, J., dan Barat, K. (2020). Karakteristik Fisiologis Jamur Halofilik Berdasarkan Faktor Lingkungan dari Sumur Air Asin di Desa Suak, Sintang, Kalimantan Barat. 5(2).
- Haryadi, P., Ardawulan, N., dan Elissa, H. (2023). Tantangan Indonesia Mencapai Industri Persusuan Tangguh 2025. 18(6). Baranansiang, Bogor Timur, Indonesia:PT Media Pangan Indonesia. Available at: https://issuu.com/pustakapangan01/docs/fri_edisi_6_2023. Accessed : March 15, 2024.
- Julio, A. (2019). Fermentasi Sari Kedelai Hitam (*Glycine max* (L) Merrit) menggunakan *Streptococcus thermophilus* Dad 11 dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dengan Variasi

Penambahan Campuran Sukrosa dan Susu Skim (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., dan Kot, A. M. (2021). *Characteristics of The Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. Molecules*,

26(7).
<https://doi.org/10.3390/molecules>
Kimoto H, Kurisaki J, Tsuji Mn, Ohmomo S, dan Okamoto T. (1999). *Lactococci asprobiotic Strains: Adhesion to Human Enterocyte- Like Caco-2 Cells and Tolerans to Low Ph and Bile. Lett in Appl Microbiol*, 29, 313- 316