
Pemanfaatan *Lactobacillus plantarum* sebagai Starter dalam Produk Olahan Keju Halal

Sucitra*, Assyifa Junitasari, Vina Amalia

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung, Indonesia

*e-mail korespondensi:
sucicitra0210@gmail.com;
assyifajunitasari@uinsgd.ac.id;
vinaamalia@uinsgd.ac.id

Abstrak. Produk halal merupakan produk yang dalam proses produksinya tidak diperbolehkan mengandung unsur atau bahan yang diharamkan untuk dikonsumsi umat Islam, serta tahap pengolahannya harus sesuai dengan prinsip syariat Islam. Salah satu produk halal terutama di bidang pangan yang banyak dijumpai adalah keju yang dibuat melalui fermentasi dengan bantuan enzim rennet. Namun, enzim rennet tersebut dapat menyebabkan produk keju olahan menjadi tidak halal, dikarenakan asal muasal hewannya tidak diketahui secara pasti. Salah satu alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti enzim rennet tersebut adalah starter dari mikroorganisme Bakteri Asam Laktat (BAL). Starter yang digunakan dalam pembuatan keju olahan ini adalah *Lactobacillus plantarum* dengan tiga variasi konsentrasi yaitu 1; 2,5; dan 5%. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kualitas mutu keju olahan berdasarkan SNI No. 2980 Tahun 2018 dengan penambahan starter *Lactobacillus plantarum*, serta menentukan kadar alkohol menggunakan instrumentasi Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Metode yang digunakan adalah inokulasi starter *Lactobacillus plantarum* ke dalam susu pasteurisasi, kemudian difermentasi selama 72 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada uji kualitas mutu (kadar lemak dalam berat kering, total padatan, cemaran logam berat timbal (Pb), dan cemaran mikroba (*Escherichiacoli*), penambahan starter *Lactobacillus plantarum* sebanyak 5% menghasilkan kualitas keju olahan yang baik, ditandai dengan nilai kadar yang konsisten memenuhi standar SNI. Selain itu, penambahan konsentrasi starter 5% ini memiliki kandungan alkohol sebesar 0,0057%. Dapat disimpulkan bahwa starter *Lactobacillus plantarum* dengan konsentrasi 5% merupakan starter dengan kualitas yang baik untuk produksi keju olahan karena telah memenuhi standar SNI Keju Olahan, serta diinokulasikan dalam media yang halal.

Kata kunci: fermentasi, halal, keju, *Lactobacillus plantarum*, pangan

Abstract. Halal products are products whose production process is not allowed to contain elements or ingredients that are forbidden for consumption by Muslims, and the processing stage must be in accordance with the principles of Islamic law. One of the halal products, especially in the food sector, is cheese made through fermentation with the help of the rennet enzyme. However, the rennet enzyme can cause processed cheese products to become non-halal, because the origin of the animal is not known with certainty. One alternative that can be used as a substitute for the rennet enzyme is a starter from Lactic Acid Bacteria (LAB) microorganisms. The

starter used in the production of processed cheese was Lactobacillus plantarum with three concentration variations, namely 1; 2.5; and 5%. This study aims to analyse the quality of processed cheese based on SNI No. 2980/2018 with the addition of Lactobacillus plantarum starter, and determine the alcohol content using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) instrumentation. The method used was inoculation of Lactobacillus plantarum starter into pasteurised milk, then fermented for 72 hours. The results showed that in the quality test (fat content in dry weight, total solids, heavy metal contamination of lead (Pb), and microbial contamination (Escherichia coli), the addition of Lactobacillus plantarum starter as much as 5% produced good processed cheese quality, indicated by the value of levels that consistently met SNI standards. In addition, the addition of 5% starter concentration has an alcohol content of 0.0057%. It can be concluded that Lactobacillus plantarum starter with a concentration of 5% is a good quality starter for processed cheese production because it meets the SNI standard for Processed Cheese, and is inoculated in halal media.

Keywords: *cheese, fermentation, food, halal, Lactobacillus plantarum.*

PENDAHULUAN

Selama beberapa tahun terakhir, sektor makanan halal telah mengalami perkembangan yang signifikan dan menarik perhatian khusus terhadap produk olahan yang memenuhi persyaratan halal. Permintaan konsumen terus meningkat, baik dari kalangan muslim maupun non-muslim yang mencari produk sesuai dengan standar kehalalan. Hal tersebut telah menjadikan olahan pangan halal menjadi bagian yang tidak terpisahkan dari *trend* pasar global, termasuk di Indonesia. Salah satu produk olahan pangan yang sering dijumpai saat ini adalah keju yang dihasilkan dari proses fermentasi susu (Adinugraha *et al.*, 2019).

Susu murni merupakan jenis bahan pangan dengan kandungan nutrisi yang lengkap dan seimbang secara proporsional. Kandungan nutrisi yang tinggi pada susu membuatnya rentan terhadap kerusakan, maka diperlukan pengolahan susu untuk memperpanjang masa simpan, salah satunya

adalah keju. Keju dibuat melalui fermentasi dengan bantuan enzim rennet yang biasanya berasal dari tubuh hewan ruminansia muda. Enzim rennet berfungsi untuk menggumpalkan susu menjadi keju (Hutagalung *et al.*, 2017). Namun, penggunaan enzim rennet tersebut dapat menyebabkan produk keju olahan menjadi tidak halal, dikarenakan asal muasal hewannya yang tidak diketahui secara pasti. Sebagai pengganti enzim rennet tersebut, terdapat beberapa alternatif lain yang dapat digunakan diantaranya asam seperti asam sitrat, asam laktat, atau cuka, koagulan tumbuhan seperti enzim dari daun pepaya (Musra *et al.*, 2021), serta starter yang merupakan mikroorganisme dari kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL). Berdasarkan alternatif tersebut, dalam pembuatan keju olahan ini digunakan mikroorganisme dari BAL yaitu starter sebagai pengganti enzim rennet yang mampu menghasilkan rasa asam dan dapat menggumpalkan kasein pada susu (Aryati *et al.*, 2018). Beberapa starter yang dapat digunakan diantaranya *Streptococcus*

thermophilus, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lauconostoc mesenteroides*.

Mikroorganisme yang dipilih sebagai starter dalam pembuatan keju olahan ini adalah *Lactobacillus plantarum* yang biasa digunakan untuk memproduksi yoghurt, keju, dan produk hasil susu lainnya. Starter bakteri *Lactobacillus plantarum* dapat mempengaruhi proses fermentasi keju dengan kemampuannya yaitu menggumpalkan kasein pada susu dan memberikan rasa asam (Mufidah *et al.*, 2023). Starter ini telah diinokulasikan pada media pertumbuhan yang suci dan bersifat halal, serta tidak membahayakan bagi kesehatan tubuh dan tidak terkena barang najis. Selain itu, bakteri ini dapat bermanfaat untuk meredakan gejala intoleransi laktosa, menurunkan asam lambung, dan mengatasi gangguan pencernaan lainnya.

Aspek kehalalan yang lainnya adalah keberadaan senyawa tertentu yang menunjukkan adanya bahan non halal salah satunya yaitu alkohol. Alkohol dapat dihasilkan pada proses fermentasi laktosa oleh bakteri sebagai produk samping beserta dengan karbon dioksida. Kandungan alkohol dari kebanyakan keju yang dihasilkan secara tradisional biasanya sangat rendah dan tidak menciptakan dampak pada rasa atau sifat organoleptik keju. Proses fermentasi yang terkontrol dan pemilihan starter bakteri yang tepat, dapat membantu mencegah produksi alkohol yang berlebihan (Márcia *et al.*, 2022).

Produk keju olahan yang dibuat dilakukan uji kualitas mutu untuk memastikan bahwa produk yang dihasilkan memenuhi standar kualitas yang telah ditetapkan. Beberapa pengujian kualitas mutu yang dilakukan diantaranya uji kadar lemak dalam berat kering, total padatan, cemaran logam timbal, dan cemaran

mikroba (*E. coli*) dengan bersumber pada SNI No. 2980 Tahun 2018 tentang Keju Olahan.

Riset sebelumnya dari Ana (2020) dimana starter yang digunakan dalam pembuatan keju adalah *Rhizopus oryzae* dengan variasi konsentrasi 25; 50; dan 100%. Starter dengan ketiga formulasi tersebut mampu mengkoagulasikan protein pada susu yang berpotensi sebagai pengganti enzim rennet (Stephanie & Rahmawati, 2020). Selain itu, berdasarkan Ismiarti (2023) bahwa penambahan starter *Pediococcus pentosaceus* dengan konsentrasi starter 5% memiliki kemampuan yang efektif untuk menghasilkan keju dengan mengkoagulasikan susu sebagai pengganti dari enzim rennet (Ismiarti *et al.*, 2023).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan *Lactobacillus plantarum* sebagai starter dalam produk olahan keju halal dengan beberapa pengujian berdasarkan pada SNI No. 2980 Tahun 2018 tentang Keju Olahan yang dihasilkan dengan variasi konsentrasi starter yaitu 1; 2,5; dan 5%. Selain itu, produk keju olahan halal ini dilakukan pula analisis kadar alkohol menggunakan instrumentasi *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) dan analisis organoleptik kepada panelis non ahli sebanyak 30 orang.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya susu sapi murni 4,5 liter, starter komersial *Lactobacillus plantarum*, 5 mL HCl pekat, 10 mL HNO₃ pekat, 10 mL HCl 6N, 3 lembar kertas saring tidak berabu, 1,9125 gram media *Broth Pepton Water* (BPW), 5,34 gram media *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB), dan aquades secukupnya.

Untuk pengujian cemaran logam berat timbal (Pb) digunakan instrumentasi *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS), sedangkan untuk pengujian titik kritis halal (kadar alkohol) digunakan instrumentasi *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

Prosedur Penelitian Pembuatan Keju

Susu sapi murni 4,5 liter dihomogenkan dan dipasteurisasi selama 20-30 menit dalam api sedang. Selanjutnya, dipindahkan ke dalam wadah steril dan disimpan hingga dingin. Setelah dingin, susu murni ditambahkan dengan starter *Lactobacillus plantarum* dengan konsentrasi 1; 2,5; dan 5%. Kemudian wadah ditutup dengan *cling wrap* dan diberi lubang kecil. Setelah itu, difermentasi pada suhu ruang selama 72 jam sampai terbentuk endapan (*curd*) dan cairan (*whey*). *Curd* dan *whey* yang terbentuk disaring dan dipisahkan, lalu ditambahkan susu UHT pada *curd* dengan perbandingan 1:2, serta dibagian akhir ditambahkan dengan bahan tambahan pangan yaitu garam dan gula. Keju yang telah terbentuk kemudian dilakukan uji kualitas mutu berdasarkan SNI No. 2980 Tahun 2018. Selain itu, dilakukan pula pengujian kadar alkohol menggunakan instrumentasi *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), serta pengujian organoleptik yang meliputi aroma, rasa, dan warna (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

Uji Kualitas Mutu

a. Uji Kadar Lemak dalam Berat Kering

Sampel keju yang telah terbentuk ditimbang sebanyak 5 gram di dalam gelas kimia, lalu ditambahkan dengan 10 mL HCl dan diaduk sampai larut. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan 30 mL n-heksana, lalu dikocok selama 2 menit dan

dibiarkan sampai terbentuk dua fasa. Lapisan bawah dikeluarkan ke dalam gelas kimia yang lain, sedangkan lapisan atas (n-heksana) dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya lapisan n-heksana didestilasi dan hasilnya diuapkan ke dalam cawan porselen yang telah diketahui massanya. Cawan porselen didinginkan di dalam desikator, lalu ditimbang sampai konstan, sehingga kadar lemak dari masing-masing sampel dapat dihitung (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

b. Uji Total Padatan

Mula-mula cawan krus kosong beserta tutupnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam, kemudian disimpan pada suhu ruang selama 5 menit. Setelah itu, dimasukkan ke dalam desikator dan didiamkan selama 30 menit, lalu ditimbang dengan ketelitian 0,1 mg. Keju olahan yang telah terbentuk sekitar \pm 20 gram dihangatkan dengan dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 35°C-40°C sambil diaduk secara perlahan, lalu didinginkan pada suhu 20°C-25°C. Keju olahan yang telah dipreparasi, kemudian dimasukkan ke dalam cawan porselen sebanyak 5 gram dan posisi cawan dimiringkan agar keju menyebar ke dasar cawan. Cawan krus tanpa penutup tersebut ditempatkan pada air mendidih di dalam penangas air selama 30 menit. Cawan yang telah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam, kemudian cawan ditutup dan didinginkan di dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang. Cawan krus yang telah ditimbang dipanaskan kembali dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam, kemudian didinginkan di dalam desikator dengan posisi cawan porselen tertutup selama 30 menit dan ditimbang sampai konstan (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

c. Uji Cemaran Logam Berat Timbal (Pb)

Keju olahan yang telah terbentuk ditimbang sebanyak 5 gram di dalam cawan krus, lalu dipanaskan di atas *hotplate* secara bertahap sampai tidak berasap lagi kemudian dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 455 °C sampai abu berwarna putih dan bebas dari karbon. Apabila abu belum terbebas dari karbon, maka ditambahkan 1,5 mL aqua DM dan 3 mL HNO₃ pekat secara bertahap. Cawan dikeringkan kembali di atas *hotplate*, lalu dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 455 °C sampai abu menjadi putih. Setelah terbentuk abu berwarna putih, lalu dilarutkan dengan 2,5 mL HCl 6N sambil dipanaskan di atas *hotplate* dan dilarutkan kembali dengan HNO₃ 0,1 N serta dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas dengan aqua DM.

Setelah semua sampel dipreparasi, larutan standar Pb dibuat dari larutan induk Pb 1000 ppm yang diencerkan menjadi 100 ppm. Larutan standar Pb 100 ppm tersebut, kemudian diencerkan kembali menjadi 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm di dalam labu ukur 100 mL yang ditandabatkan dengan aqua DM. Setelah itu, larutan standar beserta sampel dibaca absorbansinya menggunakan instrumentasi AAS pada panjang gelombang 283,3 nm. Kemudian kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan absorbansi terbentuk, sehingga kandungan logam Pb yang terdapat dalam masing-masing sampel dapat dihitung (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

d. Uji Cemaran Mikroba (*Escherichia coli*)

Prosedur cemaran mikroba bakteri *E.coli* dilakukan dengan dua pengujian, yakni uji pendugaan dan uji konfirmasi. Pada uji pendugaan, keju olahan disimpan di dalam wadah yang steril sebanyak 25 gram. Setelah itu, disiapkan 3 tabung reaksi untuk uji pendugaan, 1 mL dari pengenceran sampel 10⁻¹ dimasukkan ke dalam 9 mL media *Buffered Pepton Water* (BPW) yang

telah dibuat untuk mendapatkan pengenceran sampel 10⁻². Kemudian 1 mL dari pengenceran sampel 10⁻² dipipet dan dimasukkan ke dalam 9 mL media BPW untuk mendapatkan pengenceran sampel 10⁻³. Setelah itu, 1 mL dari masing-masing pengenceran dipipet dan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi berbeda yang berisi media *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB) dan tabung durham. Lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24–48 jam.

Pada uji konfirmasi digunakan kontrol positif yaitu biakan yang sudah terbentuk dengan hasil positif dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media ECB (*Escherichia Coli Broth*) dan tabung durham menggunakan jarum ose. Kemudian diinkubasi pada suhu 45,5°C selama 24 jam ± 2 jam. Setelah itu, digunakan label MPN (*Most Probable Number*) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung ECB positif yang berisi gas sebagai jumlah *E. coli* per milliliter atau per gram (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

Uji Organoleptik

Uji organoleptic meliputi uji terhadap aroma, rasa, dan warna yang melibatkan panelis non ahli sebanyak 30 orang pada keju yang telah dibuat.

Uji Kadar Alkohol

Sampel keju olahan yang telah terbentuk ditimbang sebanyak 0,1 gram, lalu ditambahkan 0,4 mL asetonitril dan dicampur menggunakan vortex selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasil sentrifugasi yaitu fasa atas berisi cairan asetonitril yang menarik etanol diinjeksikan sebanyak 1µL ke GC-MS. Kadar alkohol/etanol dihasilkan pada kromatogram dari perbandingan antara sampel dengan larutan standarnya (SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitas Mutu

Pengujian kualitas mutu terdiri dari uji kadar lemak dalam berat kering, total padatan, cemaran logam timbal, dan cemaran mikroba (*E. coli*). Masing-masing pengujian tersebut didasarkan pada SNI No. 2980 Tahun 2018 tentang Keju Olahan dengan hasil perbandingannya tersaji pada tabel 1.

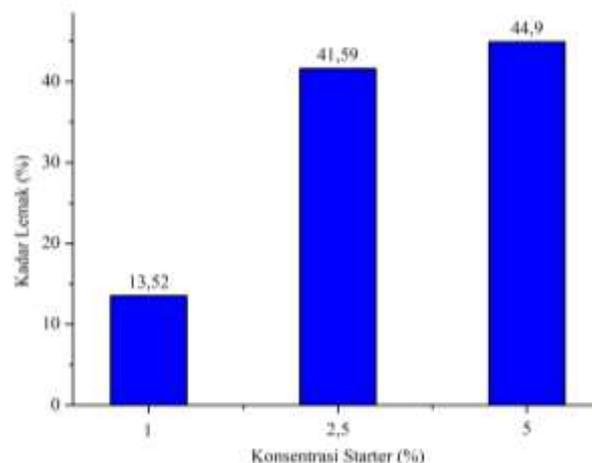
a. Kadar Lemak dalam Berat Kering

Pada proses preparasi, setiap sampel direaksikan dengan HCl untuk membantu menghidrolisis protein serta memecah ikatan peptida, sehingga protein dapat terdenaturasi dan terpresipitasi. Hal tersebut dilakukan agar lemak terpisah dari protein

atau dari komponen lainnya, sehingga proses ekstraksi dapat lebih efektif. Setelah protein terdenaturasi, lemak menjadi lebih mudah dipisahkan dan mengapung ke permukaan karena tidak lagi terikat dengan komponen lainnya pada keju. Kemudian, setelah protein dipecah, lemak dapat diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti n-heksana yang merupakan pelarut non polar, sehingga sangat efektif untuk melarutkan senyawa non polar lainnya seperti lemak dan minyak. Berikut hasil pengujian kadar lemak dari semua sampel ditunjukkan pada Gambar 1.

Tabel 1. Perbanding nilai uji kualitas mutu dengan SNI

| Konsentrasi Starter | Lemak dalam Berat Kering (%) | Total Padatan (%) | Logam Timbal (Pb) (mg/kg) | Mikroba (<i>E.coli</i>) (koloni/g) |
|---------------------|------------------------------|-------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| 1% | 13,52 | 28,47 | 0,008 | - |
| 2,5% | 41,59 | 35,49 | 0,0167 | - |
| 5% | 44,9 | 36,25 | 0,02 | - |
| SNI | <30; 40 ≤ X < 50 | 25 ≤ X < 40 | 0,02 | 10 |



Gambar 1. Hasil pengujian kadar lemak

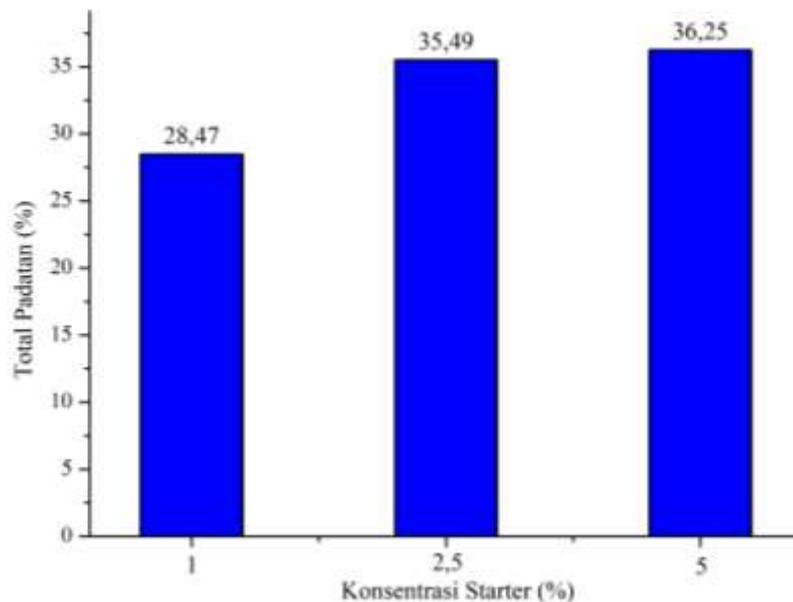
Berdasarkan Gambar 1. hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sampel dengan konsentrasi starter 1% nilai kadar lemaknya adalah 13,52% dengan nilai total padatan 28,465%. Sedangkan sampel dengan konsentrasi starter 2,5% kadar lemaknya 41,59% dan nilai total padatan 35,485%, serta sampel dengan konsentrasi starter 5% kadar lemak yang didapatkan adalah 44,90% dan nilai total padatan 36,245%. Nilai-nilai tersebut telah sesuai dengan SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018 yaitu jika kadar lemak dalam berat kering <30% maka nilai total padatan juga harus berada minimum 25%. Sedangkan jika nilai lemak dalam berat kering antara $40 \leq X < 50\%$, maka nilai total padatan minimumnya adalah 35%.

Semakin banyak starter yang ditambahkan, maka tekstur keju yang dihasilkan menjadi semakin padat. Hal

tersebut dikarenakan tekstur yang lebih padat memiliki nilai total padatan yang lebih besar, sehingga lemak yang terdapat di dalamnya memungkinkan dapat larut dalam n-heksana dan n-heksana yang diuapkan meninggalkan kadar lemak lebih banyak dibandingkan dengan kadar lemak dari sampel yang lainnya (Hamzah, WIjaya, & Widowati, 2022).

a. Total Padatan

Pengujian total padatan dilakukan untuk mengetahui total kandungan bahan yang tersisa setelah melewati proses penguapan dan pengeringan sampel, namun tidak dapat larut. Pada dasarnya semakin banyak starter yang ditambahkan, maka nilai total padatan akan semakin tinggi. Hal tersebut dikarenakan starter dapat menggumpalkan kasein pada susu, maka Gambar 2. Hasil pengujian total padatan



Gambar 3. Hasil pengujian total padatan

sangat berpengaruh terhadap tekstur keju yang menjadi lebih padat (Li *et al.*, 2023).

Pada produk olahan susu seperti keju, total padatan mencakup berbagai komponen penting yang berkontribusi terhadap nilai gizi, rasa, tekstur, dan kualitas keseluruhan keju. Beberapa komponen penting tersebut diantaranya protein, lemak, karbohidrat, mineral (abu), vitamin, asam organik, enzim, pigmen, senyawa volatil dan non volatil.

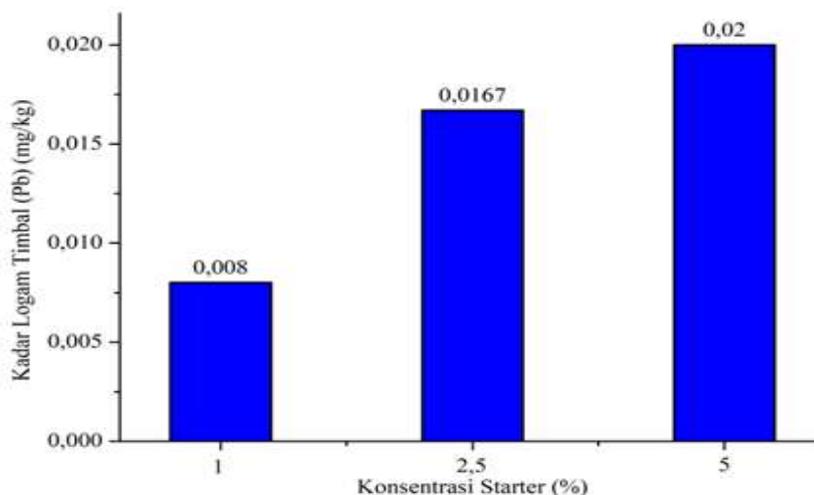
Berdasarkan Gambar 2. hasil pengujian total padatan menunjukkan bahwa pada sampel dengan konsentrasi starter 1% adalah 28,465%. Sedangkan kandungan total padatan pada sampel dengan konsentrasi starter 2,5% adalah 35,485% dan pada sampel dengan konsentrasi starter 5% adalah 36,245%. Nilai-nilai tersebut telah memenuhi rentang standar SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018 bahwa antara kandungan total padatan dengan kadar lemak dalam berat kering saling berkesinambungan.

b. Cemar Logam Berat Timbal (Pb)

Logam timbal (Pb) sering dianalisis pada produk makanan dikarenakan dampaknya pada kesehatan yang signifikan. Toksisitas dari logam ini

sangat tinggi sehingga menyebabkan keracunan meskipun konsentrasinya rendah. Paparan dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan yang serius pada sistem saraf, ginjal, dan sistem reproduksi. Selain itu, logam ini dapat masuk ke dalam rantai makanan melalui tanah yang terkontaminasi, air, dan udara yang akhirnya terakumulasi dalam tanaman dan hewan (Agustina, 2014).

Pada proses preparasi sampel, abu yang dihasilkan dari *furnace* diekstraksi menggunakan HCl dan HNO₃ pekat agar logam Pb terpisah dari matriks organik yang terdapat dalam sampel. Selanjutnya ekstrak diencerkan dengan aqua DM sampai volume tertentu. Berdasarkan Gambar 3. di atas, hasil pengukuran yang didapatkan dari persamaan regresi kurva larutan standar dengan nilai regresi 0,999 bahwa kadar logam timbal (Pb) pada semua sampel berada pada ambang batas yang telah ditetapkan oleh SNI No. 2980 Tahun 2018 yaitu 0,02 mg/kg. Jika dalam bahan-bahan yang digunakan terindikasi logam timbal (Pb) yang tinggi, maka makanan tersebut sebaiknya tidak boleh dikonsumsi karena dapat menyebabkan penyakit sehingga tidak baik untuk kesehatan tubuh (Sidawi *et al.*, 2021).



Gambar 4. Hasil pengujian kadar logam timbal (Pb)

Logam berat ini dapat masuk ke dalam susu mentah dan produk olahan susu melalui rantai makanan. Tetapi tidak dapat terurai secara biologis dan akumulasinya di lingkungan sangat berbahaya bagi pertanian dan kesehatan tubuh (Sarsembayeva *et al.*, 2020). Logam timbal yang masuk ke dalam tubuh sapi dikarenakan sapi tersebut mengonsumsi pakan yang mengandung logam timbal tidak disertai dengan terdeteksinya logam tersebut dalam susu yang dihasilkan. Hal ini dapat disebabkan

karena logam timbal yang didistribusikan dan diekskresikan melalui susu jumlahnya sangat kecil, akan tetapi pendistribusiannya lebih banyak pada jaringan atau organ lain seperti hati, ginjal, dan daging yang jumlahnya lebih tinggi dibandingkan yang terdeteksi dalam susu. Logam timbal yang termakan oleh sapi terutama disimpan dalam hati dan ginjal, dan dalam kedua organ ini logam timbal akan terakumulasi (Salundik *et al.*, 2012).

c. Cemaran Mikroba (*Escherichia coli*)



Gambar 5. Hasil pengujian mikroba (*Escherichia coli*)

Metode yang digunakan pada uji cemaran mikroba ini adalah *Most Probable Number* (MPN) yaitu metode untuk memperkirakan konsentrasi mikroba dalam sampel dengan hasil positif yaitu adanya gas dalam tabung Durham. Proses pengujian dilakukan secara triplo yaitu setiap sampel diencerkan sebanyak tiga kali menggunakan media cair BPW dan masing-masing pengenceran tersebut diuji ke dalam tiga tabung reaksi yang berisi media cair LSTB dan tabung Durham. Hasil pengujian dari ketiga sampel menunjukkan bahwa tidak adanya perubahan yang terjadi dan tidak ada gas yang terbentuk atau dengan

kata lain adalah negatif *E. coli*. Tidak ditemukannya koloni *E. coli* menunjukkan bahwa sampel kemungkinan aman dan tidak terkontaminasi oleh *E. coli*, serta tidak berisiko bagi kesehatan tubuh. Namun, pengawasan dan pemeliharaan keamanan pangan harus tetap dilakukan agar kualitas produk dapat bertahan secara konsisten. (Fatimah *et al.*, 2022). Rendahnya total mikroba atau bahkan tidak ada sama sekali menunjukkan bahwa dalam proses pengolahan produk tepat sesuai dengan pengolahan susu yang dipasteurisasi dan difermentasi menjadi keju. Menurut FAO/WHO proses pasteurisasi ini

merupakan perlakuan panas untuk mengurangi jumlah mikroorganisme patogen dalam susu maupun produk olahan susu salah satunya keju. Semakin rendah total mikroba yang didapatkan, maka semakin baik kualitas produk yang dihasilkan (Puspitarini & Mubarakati, 2019).

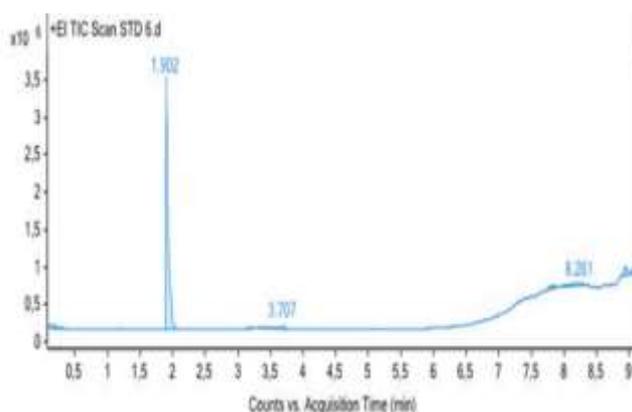
Kadar Alkohol

Pada pengujian kadar alkohol, GC-MS digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa-senyawa tertentu dalam sampel yang menunjukkan adanya bahan non-halal. Semakin tinggi konsentrasi starter, maka asam laktat dan alkohol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi (Li *et al.*, 2023).

Alkohol dalam produk makanan hasil fermentasi diperoleh sebagai produk

samping beserta dengan gas CO₂ dari peragian karbohidrat dengan katalis enzim/starter. Sampel yang dianalisis hanya sampel dengan penambahan konsentrasi starter 5%. Hal ini dikarenakan sampel tersebut memiliki hasil pengujian kualitas mutu terbaik secara konsisten diantara kedua sampel lainnya. Proses preparasi digunakan metode ekstraksi dan derivatisasi dikarenakan hasil yang diperoleh berpengaruh terutama pada perolehan kembali dari analit tersebut (Diva *et al.*, 2021)

Sampel diekstraksi dengan pelarut organik kloroform yang bersifat non polar, kemudian sampel diubah menjadi bentuk yang lebih *volatile* melalui proses derivatisasi supaya lebih mudah dideteksi oleh instrumentasi GC-MS.

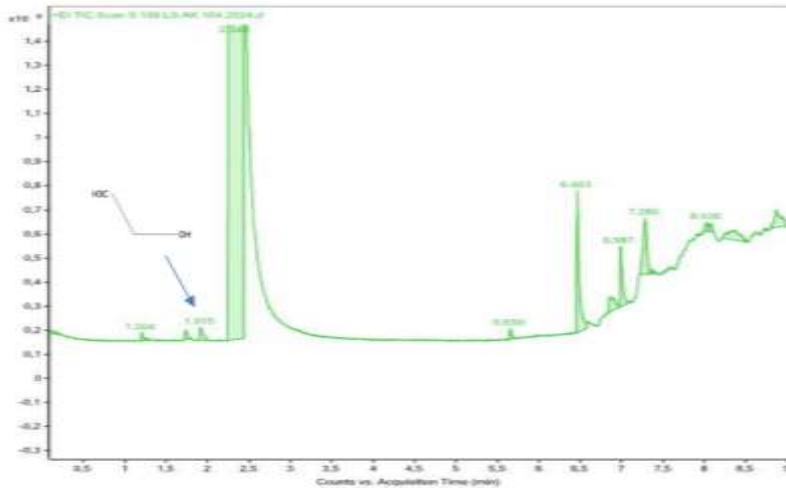


Gambar 6. Kromatogram larutan standar etanol

Berdasarkan Gambar 5. larutan standar etanol yang dihasilkan oleh instrumentasi kromatografi gas diperoleh 3 puncak (peak). Puncak larutan standar etanol terletak pada puncak pertama dengan waktu retensi 1,902 menit. Angka tersebut merupakan angka spesifik dari massa interaksi antara molekul senyawa dalam

kolom kromatografi. Kromatogram standar ini digunakan sebagai referensi untuk mengonfirmasi identifikasi etanol dan mencocokkan puncak kromatogram dalam sampel keju (Ramayanti, Harmawan, & Fajri, 2021). Kromatogram sampel didapatkan dari penginjeksikan 1 μ L fasa atas yang berisi cairan asetonitril yang dapat

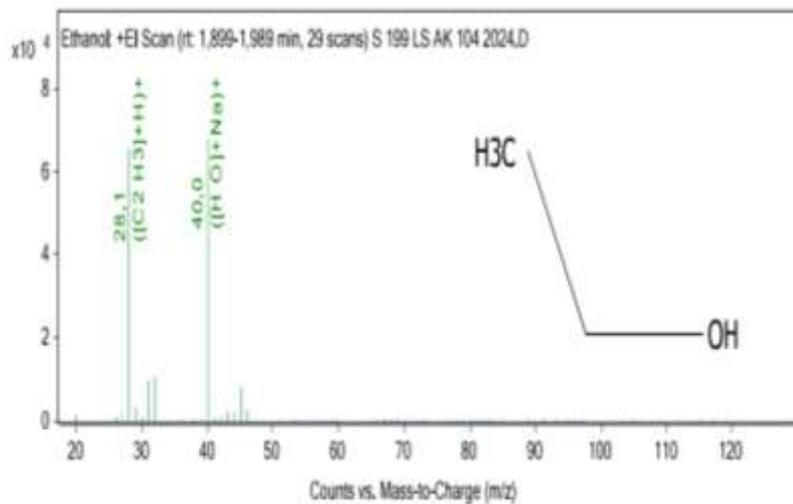
menarik etanol dari hasil preparasi *sampel* ke dalam GC-MS



Gambar 7. Kromatogram sampel keju

Berdasarkan Gambar 6. puncak kadar etanol pada keju diperoleh 13 puncak. Puncak kadar alkohol sampel keju terletak pada puncak ke-3 dengan waktu retensi 1,915 menit dan luas area 146970,7. Hal tersebut menunjukkan bahwa waktu retensi

dari sampel tidak jauh berbeda dengan waktu retensi pada standar. Kromatogram yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer massa untuk mengetahui struktur senyawa dan berat molekul dari sampel.



Gambar 8. Spektrum MS

Gambar 7. menunjukkan spektrum MS dari sampel keju olahan yang diperoleh

sebanyak 2 puncak. Spektrum massa puncak pertama merupakan senyawa yang

memiliki berat molekul (m/z) 40,0 yang teridentifikasi adalah etilenil. Senyawa ini memiliki puncak dasar pada berat molekul (m/z) 28,1 yang merupakan hasil fragmentasi (Yuhana, 2019). Berdasarkan hasil analisis dan perhitungan luas area pada kromatogram sampel, didapatkan bahwa kadar alkohol/etanol dalam sampel keju olahan dengan penambahan starter 5% adalah 0,0057%.

Analisis Organoleptik

Analisis organoleptik dilakukan kepada panelis non ahli sebanyak 30 orang untuk mengetahui tingkat kesukaan keju yang dilihat dari parameter aroma, warna, dan rasa. Hasil dari semua parameter berdasarkan tingkat kesukaan panelis pada uji hedonik dengan skor 1-5 dapat dilihat pada Tabel 2.

| Konsentrasi Starter | Aroma | Warna | Rasa |
|---------------------|-------|-------|------|
| 1% | 2,9 | 3,63 | 2,83 |
| 2,5% | 3,57 | 3,73 | 3,43 |
| 5% | 3,83 | 3,8 | 3,8 |

Tabel 1. Hasil uji hedonik secara keseluruhan

Penambahan starter *Lactobacillus plantarum* berpengaruh terhadap aroma khas keju yang dihasilkan yaitu dari proses produksi asam laktat yang juga berpengaruh terhadap pembentukan tekstur selama pembentukan *curd* (Hutagalung *et al.*, 2017). Hasil uji hedonik yang menentukan tingkat kesukaan panelis ditampilkan di Tabel 2. Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 2. bahwa nilai signifikansi dari sampel adalah 0,0003 sehingga nilai signifikansi dari sampel adalah $<0,05$ artinya pada sampel yang diuji hedonik ini memiliki perbedaan signifikan. Setelah diketahui bahwa hasil sampelnya adalah berbeda signifikan, maka sampel yang berbeda signifikan tersebut diuji kelanjutannya dengan *Post Hoc* menggunakan Duncan. Uji kelanjutan Duncan ini dilihat dari

kolom subset yaitu jika formula menempati kolom subset yang sama, artinya antara sampel tersebut tidak berbeda signifikan. Tetapi jika sampel menempati kolom subset yang berbeda artinya antara sampel tersebut berbeda signifikan.

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 2. maka diketahui sampel dengan formula ke-3 paling disukai aromanya oleh panelis yang dibuktikan dengan penilaian uji hedonik skala 1-5.

Menurut Buckle *et al.* (1987) keju yang dibuat dengan bahan baku susu sapi tanpa pewarna akan menghasilkan keju yang berwarna putih ke kuning-kuningan. Hal tersebut dikarenakan adanya pigmen karoten yang larut dalam lemak susu. Selain itu, sejalan juga

dengan pendapat dari Rahman *et al.* (1992) bahwa bakteri asam laktat mempunyai kemampuan dalam penguraian lemak, protein, zat-zat organik, serta memberikan pengaruh terhadap karakteristik fisika dan kimia keju (Hutagalung *et al.*, 2017).

Rasa pada keju diperoleh dari bahan baku produk itu sendiri, bahan tambahan pangan dan dari proses pengolahan yang digunakan. Rasa dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya waktu pematangan, senyawa kimia, suhu, konsentrasi, dan lain-lain. Semakin lama waktu pematangan keju, maka berpengaruh terhadap proses perkembangbiakan dan metabolisme mikroorganisme, sehingga dapat mendorong pelepasan zat perisa/rasa dari keju itu sendiri (Zheng, *et al.*, 2018). Selain itu, starter *Lactobacillus plantarum* juga berpengaruh terhadap rasa keju yang dihasilkan, karena selain menghasilkan asam laktat, starter ini juga menghasilkan asam asetat, asam butirat, dan asam propionat (Yelnetty *et al.*, 2014).

Zat perisa atau rasa pada keju umumnya melibatkan tiga reaksi biokimia diantaranya glikolisis, proteolisis, dan lipolisis. Metabolisme zat-zat ini menghasilkan senyawa organik yang mudah menguap seperti aldehida, alkohol, keton, dan ester yang memberikan rasa unik pada keju dan simbol kematangan keju (Chen *et al.*, 2022). Diketahui bahwa aseton, 3-metil butirat, dan asam isobutirat adalah sub-standar rasa utama dalam keju. Sedangkan asam asetat, asam butirat, asam kaproat, dan benzaldehida merupakan zat penyedap utama dalam keju krim (Zheng *et al.*, 2024).

SIMPULAN

Penambahan starter *Lactobacillus plantarum* dengan konsentrasi 5% dapat mengkoagulasikan protein pada susu dengan baik dibuktikan dari pengujian kualitas mutu bahwa penambahan konsentrasi starter *Lactobacillus plantarum* sebanyak 5% menghasilkan keju dengan kualitas baik yang didukung hasil organoleptic. Selain itu, berdasarkan hasil analisis dan perhitungan bahwa keju dengan penambahan konsentrasi starter 5% ini memiliki kandungan alkohol sebanyak 0,0057%.

DAFTAR PUSTAKA

- A Yelnetty, H Purnomo, Puwardi, & A Mirah. (2014). Biochemical Characteristics of Lactic Acid Bacteria with Proteolytic Activity and Capability as Starter Culture Isolated From Spontaneous Fermented Local Goat Milk. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(10), 137-147.
- Adinugraha, H. H., Andrean, R., Ikhrom, W. A., Sibyani, H., Mukarromah, F., & Fauzi, U. H. (2019). *Perkembangan Industri Halal di Indonesia*. Pekalongan: Scientist Publishing.
- Agustina, T. (2014). Kontaminasi Logam Berat Pada Makanan dan Dampaknya Pada Kesehatan. *Jurnal Teknobuga*, 1(1), 53-65.
- Aryati, A., Kumaji, S., & Faisal, D. (2018). Pengaruh Penambahan Susu Sapi Terhadap Kadar Asam Laktat Pada Pembuatan Yoghurt Jagung Manis

- oleh *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. *Jurnal Biologi Makassar*, 3(2), 1-9.
- Bayu, M. K., Rizqiyati, H., & Nurwantoro. (2017). Analisis Total Padatan Terlarut, Keasaman, Kadar Lemak, dan Tingkat Viskositas pada Kefir Optima dengan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1(2), 33-38.
- Chen, Yuan, J., Yu, H., Wang, B., Huang, J., Yuan, H., . . . Tian, H. (2022). Characterization of Metabolic Pathways for Biosynthesis of the Flavor Compound 3-Methylbutanal by *Lactococcus lactis*. *Journal of Dairy Science*, 105(1), 97-108.
- Csom, G., Reiss, T., Feher, S., & Czifrus, S. (2012). Thorium as an Alternative Fuel of SCWRs. *Annals of Nuclear Energy*, 41, 67-78.
- Hutagalung, T. M., Yelnetty, A., Tamasoleng, T., & Ponto, J. W. (2017). Penggunaan Enzim Rennet dan Bakteri *Lactobacillus plantarum* YN 1.3 Terhadap Sifat Sensoris Keju. *Jurnal Zootek*, 37(2), 286 - 293.
- Ismiarti, Luthfi, N., & Putri, B. N. (2023). Karakteristik Keju Lunak dengan Kultur Tunggal dan Campuran *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* Pada Penyimpanan Dingin. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 4(1), 340-349.
- Li, L., Zhang, L., Zhang, T., Liu, Y., Lu, X., & Kuipers, O. (2023). (Meta)genomics -assisted screening of novel antibacterial lactic acid bacteria strains from traditional fermented milk from Western China and their bioprotective effects on cheese. *Lwt-Elsevier*, 175, 114507.
- Márcia, C., Fransisco, X. M., & Célia, G. (2022). *Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions* (Vol. 11). Portugal: Foods.
- Mathews, J. H. (1992). *Numerical Methods for Mathematics, Science and Engineering*. New Jersey: Prentice Hall.
- Mufidah, I., Hidayat, K., & Muflahah, I. (2023). Analisis Titik Kritis Keharaman Proses Produksi Keju Mozzarella di CV ABC. *Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam dan Sains*, 5(2013), 69-74.
- Musra, N. I., Yasni, S., & Syamsir, E. (2021). Karakterisasi Keju Dangka Menggunakan Enzim Papain Komersial dan Perubahan Fisik Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 32(1), 27-35.
- Nadia, A., Titis Penggalih, M. S., & Huriyati, E. (2019). Pengembangan Produk Susu yang Mengandung Kalsium, Inulin, dan Teripang sebagai Susu Kaya Prebiotik dan Kolagen. *Agritech*, 38(4), 442.
- Ramayanti, D., Harmawan, T., & Fajri, R. (2021). Analisis Kadar Patchouli

- Alcohol Menggunakan Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) pada Pemurnian Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* B.) Aceh Tamiang dengan Nanomontmorillonite. *Al-Kimiya*, 8(2), 68-74.
- Salundik, Suryahadi, Manjsoer, S., Sopandie, D., & Ridwan, W. (2012). Cemaran Timbal (Pb) dan Arsen (As) pada Susu Sapi Perah yang Diberi Pakan Limbah Organik Pasar di Peternakan Sapi Perah Kebon Pedes Bogor Heavy Metals Pb and As In Fresh Milk from Cows fed by in Different Roughages Kebon. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 14(1), 308-317.
- Sari, E. P., Nazaruddin, & Ariyana, M. D. (2023). Pengaruh Konsentrasi Sari Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Karakteristik Keju Segar dengan Starter *Rhizopus oryzae* [The Effect of Lime Juice (*Citrus aurantifolia*) Concentration on The Characteristics of Fresh Cheese with *Rhizopus oryzae* as a Sta. *EduFood*, 1(1), 22-32.
- Sarsembayeva, N., Abdigaliyeva, T., Utepova, Z., Biltebay, A., & Zhumagulova, S. (2020). Heavy Metal Levels in Milk and Fermented Milk Products Produced in the Almaty Region, Kazakhstan. *Veterinary World*, 13(4), 609-6013.
- Setyawardani, T., Sumarmono, J., & Widayaka, K. (2019). Effect of Cold and Frozen Temperatures on Artisanal Goat Cheese Containing Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolates (*Lactobacillus plantarum* TW14 and *Lactobacillus rhamnosus* TW2). *Veterinary World*, 12(3), 409-417.
- Sidawi, R. A., Ghambashidze, G., Urushadze, T., & Ploeger, A. (2021). Heavy Metal Levels in Milk and Cheese Produced in the Kvemo Kartli Region, Georgia. *Jurnal Foods*, 10(9), 1-20.
- (2018). *SNI Keju Olahan No.2980 Tahun 2018*. Jakarta: Badan Standar Nasional.
- Stephanie, E., & Rahmawati, S. I. (2020). Identifikasi Risiko Titik Kritis Kehalalan Pada Produk Kopi Bubuk. *Jurnal Ilmiah Pangan*, 2(2), 61-66.
- Subandi, & Sukiyadi. (2020). Pengujian Efisiensi dan Efektifitas Penggunaan Pelarut Lemak Untuk Aplikasi Pelaksanaan Praktikum dan Penelitian Pengujian Kadar Lemak Minyak. *Prosiding Seminar Nasional Penerapan IPTEKS II*. Lampung.
- Sudjarwo, T. (2014). *Fitoremediasi Air Limbah Domestik*. Bandung, Jawa Barat, Indonesia: International Journal of Environmental Biology.
- Yuhana, L. (2019). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Asam Palmitat pada Keju yang Dianalisis dengan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM). Tulungagung.



Zemansky, M. W., & Dittman, R. H. (1986). *Kalor dan Termodinamika*. Bandung: Penerbit ITB.

Zheng, A.-R., Wei, C.-K., Wang, M.-S., Ju, N., & Fan, M. (2024). Current Research in Food Science Characterization of the Key Flavor Compounds in Cream Cheese by GC-MS , GC-IMS , Sensory Analysis and Multivariable Statistics. *Current Research in Food Science*, 8(100772), 1-10.

Zheng, X., Liu, F., Shi, X., Wang, B., Li, K., Li, B., & Zhuge, B. (2018). Dynamic Correlations Between Microbiota Succession and Flavor Development Involved in the Ripening of Kazak Artisanal Cheese. *Food Research International*, 105, 733-742.