

PENGARUH NaCl DAN CH₃COOH SEBAGAI PENGEKSTRAK RENNET ABOMASUM KAMBING TERHADAP AKTIVITAS KOAGULASI SUSU

Atang & Wisnu Wardhono

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian
Universitas Bandung Raya dpm Universitas Insan Cendekia Mandiri
Email: wisnutehape@gmail.com

Abstrak

Enzim protease yang terdapat dalam ekstrak rennet abomasum disebut rennin, kelarutan rennin dipengaruhi kadar elektrolit yang tinggi, oleh sebab itu larutan garam NaCl sering digunakan untuk mengekstrak protein. Rennin bersifat amfolitik dan mempunyai tatapan desosiasi pada gugus basanya, terutama pada gugus terminal karboksil dan gugus terminal aminonya. Aktivitas maksimum enzim berada pada suasana pH asam, stabil pada pH 5 sedangkan pada pH 3 – 5 rennin mengalami autokatalis dan di atas pH 6 mengalami denaturasi. Fungsi asam asetat (CH₃COOH) dalam larutan pengestrak adalah memberikan suasana yang cocok, sehingga ekstrak rennet serta aktifitas enzim rennin optimum. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi garam NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) dalam larutan pengestrak yang tepat, sehingga diperoleh ekstrak rennet yang mempunyai aktifitas optimal. Metode statistik yang digunakan dalam percobaan ini adalah rancangan acak lengkap dengan pola faktorial dan diulang sebanyak 3 kali. Adapun perlakuannya adalah konsentrasi asam asetat: 1,00 %; 1,50 % dan 2,00 % sedangkan konsentrasi NaCl 4%, 5%, 6% dan 7%. Berdasarkan hasil pengamatan kombinasi perlakuan NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) menunjukkan interaksi antara konsentrasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) terhadap derajat keasaman (pH), waktu koagulasi dan aktivitas ekstrak rennet. kombinasi terbaik untuk mengekstrak rennet dari abomasum kambing yaitu asam asetat dengan konsentrasi 1,0% dan NaCl 5,0 % .

Kata Kunci: Abomasum, Rennet, enzim rennin, NaCl , asam asetat, keju

PENDAHULUAN

Rennet adalah ekstrak abomasum anak sapi atau ternak ruminansia lainnya yang belum disapih. Rennin adalah enzim yang terdapat dalam rennet. Rennin termasuk enzim protease asam, yakni enzim yang pada lokasi aktif terdapat dua gugus karboksil. Keaktifan rennin dapat dihambat oleh *p-bromofenasilbromida*. Enzim rennin pada dasarnya aktif pada derajat keasaman (pH) rendah. (Winarno, 1995). Dalam industri makanan (*dairy product*), rennet banyak digunakan untuk menggumpalkan susu menjadi keju. Penggunaan rennet memberikan hasil lebih optimal, *curd* kasein lebih kompak, elastis dan rendemennya lebih besar, bila dibandingkan dengan menggunakan bahan penggumpal lain, seperti garam, asam, alkohol dan pemanasan serta kombinasi bahan tersebut. Enzim rennin sementara ini masih harus didatangkan dari luar negeri karena belum ada industri yang membuat enzim rennin di Indonesia.

Enzim rennin stabil pada derajat keasaman (pH) 3-5. Pada derajat keasaman (pH) ini rennin mengalami autokatalisis, dan pada derajat keasaman (pH) di atas 6 rennin mengalami denaturasi dengan cepat. Rennet hasil ekstraksi abomasum anak sapi paling aktif pada derajat keasaman (pH) 6,2 - 6,4. Oleh karena itu, kedua aktifitas tersebut lebih bersifat komplementer dari pada aditif. Ekstraksi abomasum ruminansia

untuk memperoleh ekstrak rennet dilakukan menggunakan garam NaCl. Garam ini berfungsi mempermudah melarutkan protein enzim karena sifat elektrolitnya (Richardson, 1976), sedangkan untuk mengaktifkan enzim menggunakan larutan CH₃COOH (Scott, 1981; Cheesemen, 1981).

Rennin terbentuk melalui proses hidrolisis zymogen prorennin yang mempunyai berat molekul 36.000 menjadi rennin yang mempunyai berat molekul 31.000. Pada suasana asam (derajat keasaman 5), proses hidrolisis berlangsung secara autokatalisis, sedangkan pada derajat keasaman 2 proses menjadi lebih cepat (Winarno, 1995). Oleh sebab itu, untuk memperoleh aktifitas enzim yang optimum, maka larutan pengeskrak diusahakan mendekati derajat keasaman (pH) isi perut abomasum ruminansia yaitu derajat keasaman (pH) asam (derajat keasaman 3), karena suasana asam bisa mengaktifkan enzim (Scott, 1981). Berdasarkan uraian tersebut, penggunaan NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) pada imbangan tertentu dapat menghasilkan aktifitas yang optimum dari rennet.

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) dalam larutan pengesttrak yang tepat, sehingga diperoleh ekstrak rennet yang mempunyai aktifitas optimal.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Percobaan dilakukan di Lab Biologi Fakultas Pertanian Universitas Bandung Raya, Ciumbuleuit Bandung. Bahan yang digunakan: abomasum kambing muda berumur 3-4 bulan, susu segar, NaCl, asam asetat (CH₃COOH), aquades, alkohol.

Percobaan dibagi dua tahap: percobaan pendahuluan dan percobaan utama. Percobaan pendahuluan bertujuan memilih beberapa kombinasi konsentrasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) sebagai larutan pengekrak, yang mampu mengkoagulasi 100 ml susu pada suhu 35°C selama 10 menit. Larutan pengekrak diukur derajat keasaman (pH) nya. Berdasarkan hasil percobaan pendahuluan kombinasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH), adapun kombinasinya dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Ukuran larutan Pengekrak

No	Larutan Pengekrak		Nilai derajat keasaman (pH)
	Asam Asetat (%)	NaCl (%)	Rata-rata
1	1,00	5	2,88
2	1,00	10	2,68
3	1,00	15	2,60
4	1,00	20	2,42
5	1,50	20	2,32
6	2,00	20	2,26

Kombinasi konsentrasi asam asetat 1,00% dan NaCl 5% mempunyai derajat keasaman (pH) yang mendekati derajat keasaman (pH) abomasum (derajat keasaman 3), sehingga dalam penelitian selanjutnya digunakan imbangan asam asetat dan NaCl sebagai berikut: asam asetat terdiri atas 3 taraf, yaitu 1,00%, 1,50%, 2,00%. Adapun NaCl terdiri atas 4 taraf yaitu 4%, 5%, 6%, dan 7%. Pada Tabel 5 tampak bahwa pada kadar asam asetat yang sama (1,00%) makin tinggi konsentrasi NaCl menyebabkan makin rendahnya derajat keasaman (pH) yang dihasilkan. Hal ini dikhawatirkan akan

mengakibatkan berkurangnya kestabilan enzim dalam ekstrak rennet, sehingga konsentrasi garam yang digunakan pada penelitian ini adalah sekitar 4% sampai 7%.

Percobaan utama bertujuan menentukan imbangan konsentrasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) larutan pengekstrak yang terbaik. Adapun tahapan pembuatan ekstrak rennet adalah sebagai berikut:

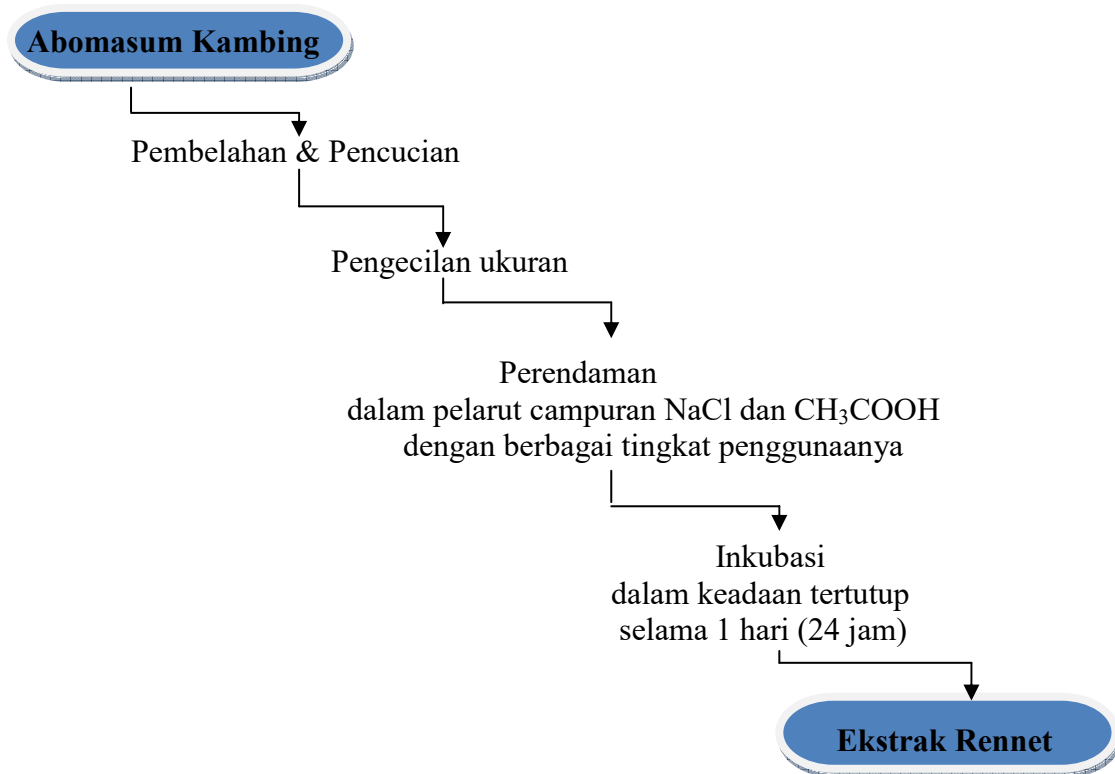


Diagram Alir: Pembuatan ekstrak rennet dari abomasum kambing

Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut :

k_1n_1 k_1n_2 k_1n_3 k_1n_4

k_2n_1 k_2n_2 k_2n_3 k_2n_4

k_3n_1 k_3n_2 k_3n_3 k_3n_4

Ket. k_1 = Konsentrasi asam asetat 1,00 %

K_2 = Konsentrasi asam asetat 1,50 %

K_3 = Konsentrasi asam asetat 2,00 %

n_1 = Konsentrasi NaCl 4%

n_2 = Konsentrasi NaCl 5%

n_3 = Konsentrasi NaCl 6%

n_4 = Konsentrasi NaCl 7%

Metode statistik yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap pola faktorial, dan diulang sebanyak 3 kali. Jumlah kombinasi perlakuan seluruhnya adalah 12 satuan percobaan. Pengamatan dilakukan mulai hari ke 2 sampai ke 7, terhadap derajat keasaman (pH) larutan pengekstrak, waktu koagulasi, dan aktifitas rennet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Derajat Keasaman (pH) Larutan Pengekstrak

Meningkatnya konsentrasi asam asetat dari 1,00%, 1,50%, dan 2,00% diikuti penurunan derajat keasaman (pH) larutan ekstrak rennet pada berbagai tingkat penggunaan NaCl. Demikian pula dengan peningkatan penambahan NaCl 4%, 5%, 6%, dan 7%. Perlakuan yang menghasilkan derajat keasaman (pH) tertinggi (3,77) terdapat pada perlakuan k₁n₁, sedangkan derajat keasaman (pH) larutan ekstrak terendah (3,35) terdapat pada perlakuan k₃n₄. Data hasil pengamatan yang diuji statistik dapat dibaca pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Interaksi konsentrasi NaCl dan Asam Asetat (CH₃COOH) terhadap Derajat Keasaman (pH) Ekstrak Rennet

NaCl	Asam Asetat (CH ₃ COOH)		
	k ₁	k ₂	k ₃
n ₁	3,77 c C	3,57 c B	3,51 d A
n ₂	3,70 a B	3,70 d B	3,42 b A
n ₃	3,73 b C	3,54 b B	3,44 c A
n ₄	3,70 a C	3,50 a B	3,35 a A

Menurut Yamamoto (1975), proses pembentukan rennin dipengaruhi derajat keasaman (pH) dan konsentrasi garam larutan pengekstrak. Bila dikaitkan dengan pendapat Utama (1988), derajat keasaman (pH) larutan pengekstrak rennet yang baik dibuat mendekati derajat keasaman (pH) isi perut abomasum ruminansia, yaitu sekitar derajat keasaman (pH) 3. Data pada Tabel 1 yang paling mendekati derajat keasaman (pH) abomasum adalah perlakuan k₃n₄ (perlakuan Asam Asetat (CH₃COOH) 2% dan perlakuan NaCl 7%). Pada perlakuan tersebut dihasilkan derajat keasaman (pH) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Demikian pula semua kombinasi perlakuan asam asetat 1,00%, 1,50%, dan 2,00% dengan 4%, 5%, 6%, dan 7% dapat digunakan sebagai ekstrak rennet. Hal ini sesuai dengan pernyataan Richardson (1976) bahwa kerja rennin pada kasein akan berjalan lebih cepat pada derajat keasaman (pH) rendah sekitar (pH) 2 – 4.

Pengamatan Waktu Koagulasi

Tahap awal koagulasi kasein oleh ekstrak rennet abomasum adalah reaksi enzimatis, yaitu enzim rennet memutus ikatan peptida. Derajat keasaman (pH) Phe₁₀₅-Met₁₀₆ rantai k-kasein menghasilkan para k-kasein dan sebuah makropeptida. Putusnya ikatan ini menyebabkan kasein tidak stabil lagi, kemampuannya menstabilkan misella kasein hilang sehingga koagulasi terjadi. Bila rennin ditambahkan ke dalam susu dalam jumlah cukup, maka kecepatan koagulasi maksimum akan diperoleh pada suhu 40 - 42 ° C. Koagulasi akan berhenti pada suhu di bawah 10 ° C atau di atas 65° C. Kelembutan koagulum maksimum diperoleh pada suhu yang bertepatan dengan terjadinya koagulasi

maksimun (Jennins and Patton, 1979). Data hasil pengamatan waktu koagulasi yang diuji statistik dapat dibaca pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NaCl dan Asam Asetat (CH₃COOH) terhadap Waktu Koagulasi (Menit) Ekstrak Rennet

NaCl	Asam Asetat (CH ₃ COOH)		
	k ₁	k ₂	k ₃
n ₁	1,97 a A	2,16 a A	3,21 b B
n ₂	1,82 a B	3,07 a AB	2,11 a A
n ₃	5,34 b B	2,66 a A	14,55 c C
n ₄	4,38 b A	2,09 a A	2,57 ab B

Waktu koagulasi tercepat diperoleh pada kombinasi perlakuan NaCl 4%, 5% dengan asam asetat 1,00%. Keduanya berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan dengan konsentrasi NaCl 4% dan 5% diperoleh derajat keasaman (pH) optimum, sehingga mempermudah melarutkan protein enzim karena sifat elektrolitnya, sedangkan suasana asam berfungsi mengaktifkan enzim rennin (Scott, 1981).

Menurut Magdalena (1976), kadar elektrolit umumnya mempengaruhi kelarutan protein. Peningkatan konsentrasi garam NaCl meningkatkan muatan listrik partikel protein sehingga kelarutannya akan meningkat, tetapi larutan garam yang terlalu pekat akan mengakibatkan turunnya aktifitas enzim yang dihasilkan.

Pengamatan Aktifitas Ekstraksi Rennet

Susu adalah senyawa koloidal. Di dalam susu terdapat bagian yang terdispersi dalam air yaitu kalsium pospat (kalsium fosfokaseinat) dan protein. Dispersi koloidal kalsium fosfokaseinat dapat dirusak oleh enzim rennin. Kerja rennin menyebabkan terbentuknya gel (garam Kalsium Kaseinat). Pengamatan aktifitas ekstraksi rennet yang diuji statistik, dapat dibaca pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Interaksi NaCl dan Asam Asetat terhadap Aktivitas Ekstrak Rennet (ml susu/ml rennet/10 menit)

NaCl	CH ₃ COOH		
	k ₁	k ₂	k ₃
n ₁	549,16 c A	536,74 a A	318,94 b A
n ₂	590,97 c A	357,36 a A	530,89 b A
n ₃	186,47 a A	371,08 a B	72,92 a A
n ₄	236,10 b A	500,62 a B	447,05 b B

Pada Tabel 4 tampak, pada konsentrasi asam asetat 1,0% menghasilkan aktivitas ekstrak rennet tertinggi pada NaCl 4% dan 5%, nyata berbeda dengan perlakuan NaCl 6% dan 7%. Pada konsentrasi asam asetat 1,5% tidak diperoleh perbedaan aktivitas ekstrak rennet yang nyata pada berbagai tingkat penggunaan NaCl (4%, 5%, 6% dan 7%). Pada konsentrasi asam asetat 2,0% aktivitas ekstrak rennet tertinggi diperoleh pada NaCl 4%, 5% dan 7% berbeda nyata dengan NaCl 6%.

Konsentrasi NaCl 4% dan 5% pada asam asetat 1,0%, 1,5% dan 2% tidak nyata berbeda sebagai aktivitas rennet, sedangkan konsentrasi NaCl 6% dan 7% memberikan perbedaan nyata pada semua tingkat penggunaan asam asetat (1,0%, 1,5%, 2,0%).

Aktivitas ekstrak rennet tertinggi diperoleh pada NaCl 4% dan 5% dengan asam asetat 1,0%, 1,5%, dan 2,0%, sedangkan penggunaan NaCl yang lebih tinggi (6% dan 7%) aktivitas tertinggi diperoleh pada asam asetat 1,5%, sementara pada konsentrasi NaCl 7% aktivitas ekstrak tertinggi diperoleh pada asam asetat 1,5% dan 2,0%. Secara keseluruhan, aktivitas ekstrak rennet tertinggi (590,97) diperoleh pada asam asetat 1,0% dengan NaCl 5%.

Berdasarkan uraian di atas, aktivitas ekstrak rennet tertinggi dihasilkan oleh kombinasi konsentrasi yang menghasilkan waktu koagulasi tercepat. Hal ini berarti faktor-faktor yang mempengaruhi cepat atau lambatnya waktu koagulasi yang dihasilkan berperan pula untuk aktivitas ekstrak rennet. Pada pembahasan sebelumnya telah dikemukakan bahwa larutan garam yang terlalu pekat akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim, karena peningkatan konsentrasi garam menyebabkan meningkatnya muatan listrik partikel protein sehingga larutannya meningkat. Hal ini menyebabkan viskositas larutan menjadi lebih, sehingga difusi enzim pada substrat menjadi terhalang dan aktivitas enzim menjadi terhambat.

Enzim bersifat amfolitik, artinya enzim mempunyai tetapan disosiasi pada gugus asam dan gugus basa, terutama pada gugus terminal karboksil dan gugus terminal amino. Adanya perubahan derajat keasaman (pH) lingkungan menyebabkan kelarutan, tekanan osmotik dan suasana kelistrikan enzim berubah sehingga aktifitas enzim dan substrat atau antara kompleks enzim - substrat.

Kadar elektrolit yang tinggi umumnya mempengaruhi kelarutan protein, karena itu larutan garam sering digunakan untuk melarutkan beberapa jenis protein. Garam amonium sulfat dan natrium chlorida sering digunakan untuk fraksinasi dan isolasi enzim, karena sifat kelarutannya dalam air yang tinggi dan tidak mengganggu bentuk dan fungsi enzim (Winarno, 1995).

KESIMPULAN DAN SARAN

- Terdapat interaksi antara konsentrasi NaCl dan asam asetat (CH₃COOH) terhadap derajat keasaman (pH), waktu koagulasi dan aktivitas ekstrak rennet.
- Kombinasi terbaik untuk mengekstrak rennet dari abomasum kambing yaitu asam asetat 1,00% dengan NaCl 5%

Diharapkan penelitian ini dapat diteruskan pada tahap penggunaan ekstrak rennet dalam pengelolaan susu menjadi keju.

DAFTAR PUSTAKA

Buckle, KA, Edward R.A., Wotton M., 1987. *Ilmu Pangan* Penerjemah: Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia, Jakarta.

- Cheeseman, GO., 1981. *Rennet and Cheesemaking* di dalam Birch, GG. Dan Parker, KJ. Enzyme and Proccesing, Aplaid Science Pubhliser Ltd. London.
- Jennes, R. Patton, S. 1959. *Principle of Dairy Chemistry*. John Wiley Dan Sons, inc. New york.
- Karya Utama I. 1988. *Mempelajari Pengaruh Ekstrak Rennet dari Berbagai Jenis Ternak Ruminansia terhadap Keju yang Dihasilkan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Sugiarto, Magdalena. 1987. *Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Lambung Anak Kelinci sebagai Koagulasi Susu*. Institut Petanian Bogor. Bogor.
- Suradi, Kusmayadi. 1993. *Teknologi Pengolahan Susu*. Fakultas Pertanian Universitas Bandung Raya. Bandung
- Richardson, GH. 1979. *Dairy Industry*, di dalam, G. Reed (ed) *Enzymes in Food Proccesing*. Academic Press, New York
- Scott, R. 1981. *Rennet and Cheese*. Di dalam Wiseman Topic in Enzym and Fermentation Biotechnology . Ellis Horwood Ltd., Chichester.
- Winarno, FG. 1995. *Enzim Pangan*. PT. Gramedia, Jakarta
- Yamamoto, A. 1975. *Proteolitic Enzym in Food Proccesing*. Academic Press, New York.

