

Pengaruh Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Karakteristik Keju Lunak dengan *Milk Clotting Enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34

The Effect of Lime Extract (Citrus aurantifolia) on The Characteristics of Soft Cheese with Milk Clotting Enzyme Lactobacillus rhamnosus SKG 34

Kadek Listia Liantania, I Dewa Gde Mayun Permana*, Komang Ayu Nocianitri

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

*Penulis korespondensi: I Dewa Gde Mayun Permana, Email: mayun_dev@yahoo.com

Abstract

Cheese production involves coagulating milk proteins through the use of coagulating agents such as enzymes and acids. The Milk Clotting Enzyme (MCE) from *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 can serve as an alternative to rennet in cheese manufacturing processes, although the resulting soft cheese exhibits low yield and protein content. The addition of acid can assist the coagulation process, thereby improving the quality of the resulting cheese. Lime extract is expected to lower the pH of milk and optimize the activity of the enzyme, thus enhancing the characteristics of the soft cheese produced. This study was conducted to evaluate how lime extract influences the properties of soft cheese made using milk clotting enzyme derived from *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34, as well as to identify the most effective concentration of lime extract for achieving optimal soft cheese quality. This study used a Randomized Block Design (RBD) with five concentrations of lime extract (0%, 2%, 4%, 6%, and 8%) repeated three times, creating 15 experimental units. Yield, pH, moisture content, protein content, hardness, and sensory evaluation were observed as research variables. ANOVA was used for data analysis, with Duncan's test as a follow-up analysis when treatments showed significant effects ($P < 0.05$). The results showed that adding 4% lime extract produced the best soft cheese using MCE *L. rhamnosus* SKG 34 with pH 4,19, moisture content 57,77%, protein content 16,44%, yield 21,52%, hardness 3,15N, and hedonic values for color, aroma, taste, texture, and overall acceptance preferred by panelists.

Keywords: *lime extract, soft cheese, Lactobacillus rhamnosus SKG 34, milk clotting enzyme*

Abstrak

Proses pembuatan keju dilakukan melalui koagulasi protein susu menggunakan agen penggumpal seperti enzim dan asam. *Milk Clotting Enzyme* (MCE) dari bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dapat digunakan sebagai alternatif pengganti rennet dalam produksi keju, akan tetapi keju lunak yang dihasilkan memiliki rendemen dan kadar protein yang rendah. Penambahan asam dapat membantu dalam koagulasi susu sehingga keju yang dihasilkan lebih optimal. Penambahan ekstrak jeruk nipis diharapkan dapat menurunkan pH susu dan mengoptimalkan aktivitas enzim sehingga meningkatkan karakteristik keju lunak yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak jeruk nipis terhadap karakteristik keju lunak dengan MCE *L. rhamnosus* SKG 34 serta mengetahui konsentrasi ekstrak jeruk nipis paling tepat sehingga menghasilkan keju lunak dengan karakteristik terbaik. Penelitian ini menerapkan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan lima taraf konsentrasi ekstrak jeruk nipis (0%, 2%, 4%, 6%, dan 8%) yang diulang sebanyak tiga kali menghasilkan 15 unit percobaan. Rendemen, pH, kadar air, kadar protein, kekerasan, dan evaluasi sensoris diamati sebagai variabel penelitian. ANOVA digunakan untuk analisis data, dengan uji Duncan sebagai analisis lanjutan ketika perlakuan memberikan pengaruh signifikan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan penambahan ekstrak jeruk nipis 4% menghasilkan keju lunak terbaik menggunakan MCE *L. rhamnosus* SKG 34 dengan pH 4,19, kadar air 57,77%, protein 16,44%, rendemen 21,52%, kekerasan 3,15N, serta nilai hedonik warna, aroma, rasa, tekstur, dan penerimaan keseluruhan yang disukai panelis.

Kata kunci: *ekstrak jeruk nipis, keju lunak, Lactobacillus rhamnosus SKG 34, milk clotting enzyme*

PENDAHULUAN

Keju merupakan produk olahan susu yang berfungsi sebagai alternatif pengawetan agar susu tidak mengalami kerusakan dengan cepat serta memiliki durasi penyimpanan yang relatif panjang. Produk ini menyediakan sumber protein hewani bagi konsumen (Hadju et al., 2017). Pembuatan keju melibatkan koagulasi protein susu menggunakan agen koagulan berupa enzim dan asam. Produksi keju umumnya menggunakan susu sapi yang dikombinasikan dengan rennet dan asam sitrat. Beberapa jenis keju memerlukan proses pematangan, sementara yang lain dapat dikonsumsi langsung tanpa pematangan (Sumarmono & Suhartati, 2012). Keju lunak dapat dikonsumsi tanpa pematangan dengan kadar air 55-80% (Daulay, 1991) dan protein 12-16% sesuai standar *fresh cheese* (Renner, 1988). USDA, (2001) mengklasifikasikan keju *cottage* sebagai keju lunak dengan pH <5,2.

Milk Clotting Enzyme (MCE) adalah salah satu agen penggumpal susu yang dapat digunakan dalam proses pembuatan keju selain rennet, dimana MCE merupakan supernatan yang dianggap sebagai enzim kasar atau *crude enzyme* yang diproduksi oleh mikroba atau bakteri asam laktat (BAL) (Rohmatussolihat et al., 2015). MCE mengandung protease yang bekerja secara spesifik dengan memecah ikatan kappa-kasein pada rantai Phe105-Met106 yang menyebabkan kappa-kasein tidak stabil dan

menggumpal (Macendo et al., 1993). Beberapa keunggulan penggunaan enzim yang berasal dari mikroorganisme adalah aktivitas enzim yang lebih stabil daripada enzim yang berasal dari hewan, dapat diproduksi dengan lebih mudah pada skala besar, dan biaya produksi yang lebih rendah (Permatasari, 2018).

Lactobacillus rhamnosus SKG 34 merupakan spesies bakteri yang diisolasi dari susu kuda sumbawa dengan karakteristik sel berbentuk panjang dan tidak memproduksi gas dalam proses fermentasi (*homofermentatif lactobacillus*) (Sujaya et al., 2008). Bakteri asam laktat penghasil MCE ini adalah *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 yang memiliki kemampuan mengkoagulasi susu dengan tingkat aktivitas mencapai 595,06 SU setelah diinkubasi selama 12 jam (Setiadarma et al., 2019). MCE yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dapat digunakan dalam pembuatan keju. Adisurya (2022) melaporkan bahwa konsentrasi MCE dari *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 sebanyak 24% dapat menghasilkan keju lunak yang memiliki kadar air sebesar 58,01%, rendemen sebanyak 9,34%, kadar protein 2,68% dengan rasa yang agak disukai, aroma, tekstur, dan penerimaan keseluruhan yang disukai. Penelitian tersebut menghasilkan keju lunak dengan rendemen dan kadar protein yang rendah, karena koagulasi tidak terjadi dengan sempurna. Keju segar yang merupakan salah

satu jenis keju lunak mengandung protein berkisar 12-16% (Renner, 1981). Penambahan asam dapat membantu dalam koagulasi susu sehingga rendemen dan kadar protein yang dihasilkan lebih optimal.

Pembuatan keju umumnya melibatkan penambahan asam sitrat bersama rennet ke dalam susu. Fungsi asam sitrat adalah menurunkan pH susu mendekati titik isoelektrik untuk mempercepat pembentukan keju dan mengoptimalkan aktivitas enzim (Sari et al., 2023). *Citrus aurantifolia* (jeruk nipis) dapat dimanfaatkan sebagai pengasam alami yang menyediakan asam sitrat dalam produksi keju. Keunggulan jeruk nipis meliputi aksesibilitas mudah, harga yang ekonomis, karakteristik rasa dan aroma khas, serta kandungan asam organik tinggi seperti asam sitrat dan askorbat (Viranty et al., 2024). Jeruk nipis mengandung 7,75% asam sitrat dengan pH 2,48-2,5 (Hilmi et al., 2017; Rochmah et al., 2014). Berbagai penelitian telah dilakukan pada penggunaan jeruk nipis dengan konsentrasi bervariasi untuk produksi keju. Patahanny (2019) melaporkan bahwa keju mozzarella yang diproduksi dengan kombinasi enzim papain 0,2% dan ekstrak jeruk nipis 4% mencapai rendemen total 15,6% dengan preferensi panelis pada tingkat 3 (agak suka). Penelitian Sari et al. (2023) menunjukkan keju segar menggunakan starter *Rhizopus oryzae* 10% dan sari jeruk nipis 2% menghasilkan rendemen total 22,96%, kadar

air 48,21%, pH 5,25, dan protein 21,48% dengan karakteristik sensoris yang disukai. Sari et al. (2023) menjelaskan bahwa penambahan sari jeruk nipis hingga 10% menurunkan kandungan air dan meningkatkan rendemen, namun menurunkan kadar protein akibat penurunan pH susu yang menghasilkan *curd* rapuh sehingga protein lebih banyak terlarut dalam *whey*.

Karakteristik produk keju yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan, oleh karena itu diperlukan studi mengenai level konsentrasi ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang digunakan dalam proses pembuatan keju lunak dengan memanfaatkan MCE dari *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 guna memperoleh produk keju lunak yang memiliki sifat-sifat optimal. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak jeruk nipis terhadap karakteristik keju lunak dengan MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 serta mengetahui konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang paling sesuai sehingga menghasilkan keju lunak dengan karakteristik terbaik.

METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian meliputi susu sapi murni asal Malang dan jeruk nipis berwarna hijau yang dipasarkan di Pasar Taman Griya Jl. Danau

Beratan Timur, Perum Taman Griya, Kuta Selatan Badung, MRS Broth (Oxoid, Inggris), isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 (koleksi dari UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana), aquades (Bratachem), alkohol 70%, MRS Broth (Oxoid, Inggris), aquades (Bratachem), gliserol, kristal violet, larutan H_2O_2 (Merck), larutan lugol, pewarna safranin, tablet kjeldahl (Merck), asam borat (Merck), phenophthalen (PP) 1%, H_2SO_4 pekat, indikator PP, HCl 0.1 M (Merck), $CaCl_2$ 0.01 M (Merck), H_2SO_4 (Merck), dan NaOH 50% (Merck).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi autoclave (ES-513, Tomy Kogyo CO., LTD), inkubator (Mettler BE 400), laminar air flow (JCSB-900SB), texture analyzer (TA.XT.plus), sentrifuse (HITACHI), oven (ESCO Isotherm), timbangan analitik, pH meter, waterbath, vortex, magnetic stirrer, buret (Hirschmann), erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex) 5ml, pipet mikro (Finnipipette) 1000 μ L, tabung falcon 50ml, gelas ukur (Pyrex), gelas beaker (Pyrex), tip 100 μ L, tip 1000 μ L, thermometer, alat perasan jeruk, bunsen, desikator, gelas objek, pipet tetes, pinset, kompor, kain kasa, tisu, toples kaca, plastik wrap, dan aluminium foil.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah

Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang terdiri dari 5 taraf perlakuan, yaitu:

K0 = Konsentrasi ekstrak jeruk nipis sebanyak 0%

K1 = Konsentrasi ekstrak jeruk nipis sebanyak 2%

K2 = Konsentrasi ekstrak jeruk nipis sebanyak 4%

K3 = Konsentrasi ekstrak jeruk nipis sebanyak 6%

K4 = Konsentrasi ekstrak jeruk nipis sebanyak 8%

Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 15 unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu penyegaran dan konfirmasi isolat, ekstraksi MCE, proses pembuatan ekstrak jeruk nipis dan proses pembuatan keju.

Penyegaran dan Konfirmasi Isolat

Penyegaran isolat diawali dengan pengambilan 100 μ L isolat dari stok gliserol 30% yang disimpan pada suhu $-20^{\circ}C$, lalu dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 10 ml media MRSB. Campuran tersebut diinkubasi secara aerob pada temperatur $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Indikasi keberhasilan proses ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media. Konfirmasi isolat dilakukan melalui pewarnaan gram, uji katalase, dan uji produksi gas (Cappuccino & Welsh, 2017).

Uji katalase metode Cappuccino dan Welsh (2017), dengan cara diteteskan pada isolat, di atas kaca objek larutan H_2O_2 lalu diamati pembentukan gelembungnya. Terdapatnya gelembung udara menunjukkan hasil positif. Uji gas metode Cappuccino dan Welsh (2017) dengan *hot loop*, dimana dimasukkan jarum ose yang dipanaskan pada suspensi biakan bakteri. Terbentuknya gas CO_2 menunjukkan hasil positif sebagai hasil metabolisme glukosa.

Prosedur pewarnaan gram berdasarkan metode Cappuccino dan Welsh (2017) dimulai dengan meneteskan isolat di atas kaca objek dan melakukan fiksasi menggunakan bunsen, kemudian sampel diberi pewarna kristal violet dengan durasi 1 menit dan selanjutnya dibilas menggunakan air mengalir. Larutan lugol diteteskan pada gelas objek selama 1 menit, dibilas air mengalir, diberi alkohol 96% selama 30 detik, dicuci air, dan diwarnai safranin 5 detik. Bakteri yang diwarnai dikeringkan lalu diamati dengan mikroskop. Warna biru keunguan menandakan gram positif, warna merah menunjukkan gram negatif. Setelah konfirmasi isolat selesai, langkah berikutnya adalah pembuatan stok kerja. Bakteri yang telah dikonfirmasi dimasukkan ke dalam microtube dan dicampur dengan gliserol pada rasio 1:1 untuk membuat stok kerja, kemudian disimpan dalam *freezer* pada temperatur $-20^{\circ}C$ (Widiastiti *et al.*, 2019).

Produksi *Milk Clotting Enzyme*

Produksi MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 menggunakan metode Setiadarma *et al.*, 2019. Stok isolat 100 μl diinokulasi ke media MRS Broth 5ml, diinkubasi 24 jam pada $37^{\circ}C$. Inokulum 100 μl selanjutnya dibiakan dalam MRSB 240 ml dan diinkubasi 12 jam pada $37^{\circ}C$. Aktivitas mikroorganisme ditandai dengan endapan putih dan kekeruhan media sebagai hasil positif. Pemisahan supernatan dari pelet dilakukan dengan sentrifugasi 7800 rpm, 10 menit pada $4^{\circ}C$. Supernatan ini yang dianggap sebagai *crude enzyme* yang kemudian disebut dengan MCE (Rohmatussolihat *et al.*, 2015).

MCE selanjutnya diuji aktivitas *Milk Clotting Enzyme*-nya dengan metode Mazorra-Manzano *et al.*, (2013). Disiapkan susu sapi sebanyak 10 ml, kemudian ditambahkan $CaCl_2$ sebanyak 0,2 ml. Panaskan susu dalam *waterbath* dengan suhu $35-40^{\circ}C$. Ditambahkan 1 ml MCE dan hitung waktu yang dibutuhkan hingga susu mulai menggumpal, menggunakan stopwatch. Aktivitas MCE dihitung dalam satuan *Soxhlet Units* (SU) berdasarkan waktu yang diperlukan untuk menggumpalkan susu dan volume enzim yang digunakan. Selanjutnya MCE yang telah diuji digunakan untuk pembuatan keju lunak.

Proses Pembuatan Ekstrak Jeruk Nipis

Ekstrak jeruk nipis dibuat berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Putri et al. (2019). Proses dimulai dengan pencucian jeruk nipis menggunakan air bersih, dilanjutkan dengan pemotongan buah menjadi dua bagian dan pemerasan menggunakan alat peras jeruk. Cairan jeruk nipis yang dihasilkan selanjutnya melalui penyaringan untuk memperoleh ekstrak yang akan digunakan dalam proses produksi keju lunak.

Proses Pembuatan Keju Lunak

Proses pembuatan keju lunak dengan MCE bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dan ekstrak jeruk nipis mengacu pada metode Adisurya et al. (2022) yang telah dimodifikasi. Susu sapi segar dibagi ke dalam lima wadah dengan masing-masing volume susu 200 ml. Proses pasteurisasi susu dilakukan pada temperatur 80°C selama 10 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang sampai mencapai temperatur 37°C. Susu yang telah mengalami pendinginan ditambahkan ekstrak jeruk nipis berdasarkan perlakuan masing-masing dengan konsentrasi 0%, 2%, 4%, 6%, dan 8% (v/v) dari volume susu, selanjutnya MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 ditambahkan sebanyak 24% (v/v) dari volume susu ke dalam setiap wadah. Diaduk selama 1 menit sampai merata lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam hingga menjendal. Gumpalan yang terbentuk disebut dengan *curd* sedangkan

cairannya disebut dengan *whey*. Kemudian dilakukan penyaringan dengan kain belacu untuk memisahkan *curd* dan *whey* yang terbentuk. *Curd* dipress menggunakan beban 1 kg selama 2 jam untuk mengoptimalkan pengurangan *whey* dari *curd*. Setelah 2 jam, *curd* direndam dalam larutan garam 6% (6g/100 ml air) selama 30 menit. Keju yang dihasilkan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan dianalisis.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini mencakup rendemen (Nugroho et al., 2018), pH keju (Sudarmadji et al., 1997), kandungan air (Sudarmadji et al., 1997), kandungan protein (AOAC, 2005), tingkat kekerasan keju (Untoro et al., 2012) dan penilaian sensoris (Stone & Joel, 2004) yang meliputi uji preferensi panelis terhadap aroma, rasa, tekstur dan penerimaan keseluruhan keju.

Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Sidik ragam digunakan untuk mengidentifikasi pengaruh perbedaan signifikan pada variabel uji dalam sampel, jika perlakuan memberikan pengaruh ($P < 0,05$) maka analisis akan dilanjutkan menggunakan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Nilai pH dari susu, MCE dan jeruk nipis beserta nilai *milk clotting activity*

(MCA) merupakan faktor yang berperan dalam menentukan sifat-sifat produk keju. Data rata-rata pH dari bahan baku susu, MCE, dan jeruk nipis yang diaplikasikan tersaji dalam Tabel 1, sementara data rata-rata MCA ditampilkan dalam Tabel 2. Nilai rata-rata rendemen, pH, kadar air, kadar protein, dan kekerasan keju lunak ekstrak jeruk nipis dengan MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dapat dilihat pada Tabel 3.

Rendemen

Sidik ragam menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi ekstrak jeruk nipis memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) pada rendemen keju lunak yang diproduksi menggunakan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rendemen keju lunak berada dalam rentang 17,30% sampai 21,92%. Nilai rendemen paling tinggi dicapai oleh perlakuan K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%) yaitu 21,92%, sementara nilai rendemen paling rendah diperoleh dari perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) yaitu 17,30%. Aplikasi ekstrak jeruk nipis dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% menghasilkan peningkatan rendemen yang progresif. Namun, kondisi yang terlalu asam yaitu pada penambahan ekstrak jeruk nipis 8%, menyebabkan struktur protein menjadi rusak dan larut dalam *whey* yang dapat menyebabkan rendemennya menjadi rendah. Total rendemen yang dihasilkan sejalan

dengan kadar protein yang dihasilkan keju lunak. Proses *curding* yang tidak optimal dapat terjadi akibat penambahan asam dalam jumlah yang terlalu sedikit atau berlebihan (Fasale et al., 2017). Pemberian asam secara berlebihan dapat menghambat aktivitas enzim dalam proses koagulasi sehingga rendemen yang diperoleh menjadi tidak maksimal, sebaliknya aplikasi asam dalam jumlah optimal akan menghasilkan *curd* yang lebih banyak dan padat. Menurut Widarta et al. (2016), kondisi keasaman yang optimum dalam proses koagulasi mampu mengoptimalkan aktivitas enzim sehingga dapat memproduksi *curd* yang padat dan kuat dengan rendemen lebih tinggi.

pH

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi ekstrak jeruk nipis memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) pada pH keju lunak yang diproduksi dengan MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Data Tabel 3 menunjukkan pH keju lunak rata-rata berada dalam kisaran 4,00 sampai 4,26. Nilai pH paling tinggi dicapai oleh perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) yaitu 4,26, sementara pH paling rendah diperoleh dari perlakuan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%) dengan nilai 4,00. Aplikasi ekstrak jeruk nipis dalam proses produksi keju lunak menyebabkan penurunan pH pada produk akhir.

Tabel 1. Nilai pH susu, MCE, dan jeruk nipis yang digunakan

Komponen	pH
Susu	6,68
MCE <i>L. rhamnosus</i> SKG 34	3,93
Jeruk nipis	2,25

Tabel 2. Nilai MCA

Komponen	MCA (SU)
MCE <i>L. rhamnosus</i> SKG 34	1452,20

Tabel 3. Nilai rata-rata pH, kadar air, dan kadar protein keju lunak

Perlakuan	Rendemen (%)	pH	Kadar Air (%)	Kadar Protein (%)	Kekerasan (N)
K0	17.30 ± 0.40 ^a	4.26 ± 0.01 ^d	65.04 ± 0.89 ^d	13.45 ± 0.76 ^a	0.95 ± 0.16 ^a
K1	20.27 ± 0.67 ^b	4.22 ± 0.02 ^c	60.54 ± 1.38 ^c	14.91 ± 0.66 ^{ab}	1.99 ± 0.72 ^b
K2	21.52 ± 0.65 ^c	4.19 ± 0.01 ^c	57.77 ± 1.21 ^b	16.44 ± 1.18 ^b	3.15 ± 0.99 ^c
K3	21.92 ± 0.19 ^c	4.13 ± 0.03 ^b	56.77 ± 0.30 ^b	16.22 ± 0.85 ^b	3.17 ± 0.08 ^c
K4	20.03 ± 1.41 ^b	4.00 ± 0.05 ^a	54.04 ± 1.47 ^a	14.88 ± 0.99 ^{ab}	4.09 ± 0.35 ^c

Keterangan: Nilai rata-rata ± standar deviasi. Perbedaan signifikan ($P < 0,05$) ditunjukkan oleh nilai rata-rata yang memiliki notasi berbeda dalam kolom yang sama.

Peningkatan konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang diaplikasikan dalam keju lunak mengakibatkan pH keju yang dihasilkan menjadi semakin rendah. USDA (2001) menyatakan bahwa keju *cottage* yang termasuk kategori keju lunak memiliki pH di bawah 5,2.

pH keju lunak yang rendah disebabkan oleh tingginya kandungan asam organik dalam jeruk nipis, seperti asam sitrat dan asam askorbat, yang berfungsi menurunkan pH susu. Lestari et al. (2018) menyatakan bahwa jeruk nipis memiliki kandungan asam sitrat berkisar 7,0-7,6%. Hilmi et al. (2017) melaporkan bahwa jeruk nipis merupakan bahan pangan dengan kandungan asam sitrat tinggi yaitu 7,75%..

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan, menyebabkan susu memiliki suasana yang semakin asam sehingga keju yang dihasilkan memiliki pH yang rendah (Sari et al., 2023). Aktivitas MCE dalam proses koagulasi akan dipengaruhi oleh tingkat keasaman susu dan juga berpengaruh pada kekuatan curd yang terbentuk sehingga berdampak pada rendemen dan kandungan air keju yang diproduksi (Nugroho et al., 2018).

Kadar Air

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar air pada kandungan air keju lunak yang diproduksi

menggunakan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Data pada Tabel 3 menunjukkan kandungan air keju lunak berada dalam rentang 54,04% sampai 65,04%. Nilai kandungan air paling tinggi dicapai oleh perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) yaitu 65,04%, sementara kandungan air paling rendah diperoleh dari perlakuan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%) dengan nilai 54,04%.

Penambahan ekstrak jeruk nipis pada pembuatan keju lunak dengan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 menghasilkan kadar air yang lebih rendah daripada keju lunak tanpa penambahan ekstrak jeruk nipis. Menurut Daulay (1991), keju lunak mengandung kadar air berkisar 55-80%. USDA (2001) menyatakan bahwa keju *cottage* yang termasuk kategori keju lunak memiliki kandungan air maksimal 80%. Pada penelitian memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang diaplikasikan dalam proses produksi keju lunak mengakibatkan penurunan kandungan air pada produk yang dihasilkan.

Korelasi positif terjadi antara penurunan kadar air dengan menurunnya nilai pH keju. Menurut Arifiansyah et al. (2015), pH rendah menciptakan kondisi asam yang memfasilitasi pelepasan *whey* pada proses penyaringan sehingga kadar air yang diperoleh menjadi rendah, sedangkan keju dengan pH tinggi cenderung menahan

air dalam jumlah yang lebih banyak yang menghasilkan kandungan air lebih tinggi. Dengan kondisi yang asam, aktivitas MCE dapat bekerja lebih optimal untuk menghidrolisis kasein, sehingga *curd* yang dihasilkan memiliki struktur protein yang lebih rapat dan menghasilkan kadar air yang rendah (Lemes et al., 2016).

Kadar Protein

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa ekstrak jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) pada kadar protein keju lunak yang menggunakan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Berdasarkan Tabel 3, kadar protein keju lunak yang dihasilkan berada dalam rentang 13,45% sampai 16,44%. Perlakuan K2 dengan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4% menghasilkan kadar protein tertinggi yaitu 16,44%, sementara kadar protein terendah sebesar 13,45% diperoleh dari perlakuan K0 tanpa penambahan ekstrak jeruk nipis (0%).

Protein dalam keju segar yang termasuk kategori keju lunak berada pada kisaran 12 - 16% yang sesuai dengan standar kandungan protein *fresh cheese* (Renner, 1988). Susu akan mencapai titik isoelektriknya pada pH 4,6-4,7 akibat penambahan asam, dimana titik isoelektrik protein didefinisikan sebagai nilai pH ketika molekul protein memiliki muatan netral atau nol (Muryanto, 2021). Penurunan pH mendekati titik isoelektrik kasein menyebabkan muatan negatif pada misel

kasein menurun dan mendekati muatan netral, dimana daya tolak menolak antar partikel kasein semakin melemah yang dapat menyebabkan partikel kasein bergabung dan membentuk agregat yang rapat serta mendorong *whey* keluar (Laursen et al., 2023).

Kadar protein keju dapat dipengaruhi oleh penambahan asam yang terlalu rendah ataupun berlebihan. Menurut Nugroho et al. (2018), suasana terlalu asam menyebabkan protein susu larut dalam *whey*, yang menyebabkan kadar proteinnya menjadi rendah dan tekstur keju menjadi lebih mudah rapuh. Kondisi yang terlalu asam mengakibatkan aktivitas MCE yang kurang optimal untuk menggumpalkan susu sehingga menjauhi titik isoelektriknya dan protein pada susu menjadi ikut larut ke dalam *whey*. Hasil penelitian oleh Kumaunang & Kamu (2011), juga melaporkan bahwa penambahan asam dapat mempengaruhi rendemen yang dihasilkan, apabila terlalu asam keju yang dihasilkan memiliki tekstur yang mudah patah dan berbentuk gumpalan kecil sehingga protein lebih mudah larut.

Kekerasan Keju

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kekerasan keju lunak dengan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Tabel 3. menunjukkan kekerasan keju lunak rata-rata berkisar antara 0,95N hingga 4,09N.

Kekerasan keju tertinggi diperoleh pada perlakuan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%) sebesar 4,09N, tidak berbeda nyata dengan K2 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%) sebesar 3,15 dan K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%) sebesar 3,17, sedangkan kekerasan keju terendah diperoleh pada perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) yakni sebesar 0,95N. Kadar air yang terkandung mempengaruhi tekstur keju lunak yang diproduksi, dimana keju lunak memiliki karakteristik tekstur lembut dan bergranula (Codex STAN 221-2011). Pada penelitian Sulmiyati et al., (2022), didapatkan bahwa keju lunak dengan koagulan 3-5% sari daun biduri memiliki tingkat kekerasan antara 0,1-3N, dengan tekstur lembut hingga sedang. Umumnya tekstur keju lunak yang cenderung lembek disebabkan oleh tingginya kadar air pada keju lunak sedangkan tekstur keju lunak yang cenderung lebih rapuh, kering, dan keras disebabkan oleh rendahnya kadar air pada keju lunak.

Secara statistik pada penelitian ini perlakuan K2 memiliki kandungan kadar air yang tidak berbeda nyata dengan K3 yakni sebesar 57,77% dan 56,77%, sedangkan K4 memiliki kadar air yang lebih rendah dan berbeda nyata, meskipun demikian perlakuan keju pada K2, K3, dan K4 menghasilkan kekerasan yang tidak berbeda secara nyata. Hasil penelitian Alfianti et al. (2022) mengindikasikan bahwa tekstur keju lunak yang lebih lembek dihasilkan oleh

kandungan air yang tinggi, sedangkan kandungan air rendah akan menghasilkan tekstur keju yang keras dan rapuh. Nugroho et al. (2018) juga menyatakan bahwa dalam keju, *curd* yang menahan air dalam jumlah besar atau memiliki kandungan air tinggi akan memproduksi keju dengan tekstur yang lembek.

Evaluasi Sensoris

Penilaian sensoris keju lunak dilakukan dengan uji hedonik meliputi warna, aroma, rasa, tekstur, dan penerimaan keseluruhan. Rata-rata data uji hedonik untuk seluruh parameter sensoris keju lunak disajikan pada Tabel 4.

Warna

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi ekstrak jeruk nipis tidak memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) pada warna keju lunak yang diproduksi dengan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Data pada Tabel 4 menunjukkan nilai hedonik warna rata-rata dari perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) sampai K4 (konsentrasi jeruk nipis 8%) berada dalam rentang 3,80 sampai 4,03 dengan kriteria yang disukai panelis. Hal ini mengindikasikan bahwa panelis memberikan persepsi yang serupa terhadap nilai hedonik warna pada seluruh perlakuan. Penambahan konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang relatif rendah tidak mampu mengubah

warna keju yang diproduksi, sehingga warna keju lunak yang dihasilkan dari setiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Keju lunak yang dihasilkan memiliki warna putih sedikit kekuningan. Hal ini sesuai dengan USDA (2001), dimana keju *cottage* yang merupakan keju lunak memiliki warna putih krem atau putih kekuningan.

Aroma

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aroma keju lunak yang dibuat dengan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Tabel 4 menampilkan skor hedonik aroma rata-rata dalam kisaran 2,70-4,10 (kriteria biasa-suka). Skor paling rendah pada K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) sebesar 2,70 (biasa), sedangkan skor tertinggi pada K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%) mencapai 4,10 (suka) yang tidak berbeda nyata dengan K2 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%) dan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%). Penambahan ekstrak jeruk nipis hingga konsentrasi 6% meningkatkan tingkat kesukaan panelis terhadap aroma keju, namun pada konsentrasi 8% tingkat kesukaan mengalami penurunan. Hal ini disebabkan penambahan ekstrak jeruk nipis yang berlebihan menghasilkan aroma asam yang terlalu menyengat pada keju.

Tabel 4. Nilai rata-rata uji hedonik keju lunak

Perlakuan	Nilai Rata-Rata Uji Hedonik				
	Warna	Aroma	Rasa	Tekstur	Penerimaan Keseluruhan
K0	3,80 ± 1,06 ^a	2,70 ± 0,88 ^a	2,83 ± 0,83 ^a	3,27 ± 0,78 ^a	3,10 ± 0,71 ^a
K1	3,87 ± 0,82 ^a	3,53 ± 0,94 ^b	3,67 ± 0,88 ^b	3,97 ± 0,89 ^b	3,70 ± 0,88 ^b
K2	3,90 ± 0,96 ^a	3,97 ± 0,76 ^{bc}	4,07 ± 0,87 ^b	3,90 ± 0,76 ^b	4,00 ± 0,69 ^b
K3	4,03 ± 0,93 ^a	4,10 ± 0,80 ^c	3,93 ± 0,87 ^b	3,80 ± 0,76 ^b	3,93 ± 0,74 ^b
K4	3,97 ± 0,81 ^a	3,90 ± 0,80 ^{bc}	3,03 ± 1,03 ^a	3,67 ± 0,99 ^a	3,57 ± 1,04 ^b

Keterangan: Nilai rata-rata ± standar deviasi. Nilai rata-rata yang diikuti oleh notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P<0,05$). Kriteria hedonik: 1(sangat tidak suka); 2(tidak suka); 3(netral); 4(suka); 5(sangat suka).

Konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang semakin tinggi mengakibatkan intensitas aroma asam khas jeruk nipis pada keju menjadi lebih tajam. Senyawa limonene yang terkandung dalam jeruk menghasilkan aroma asam karakteristik tersebut, dimana limonene merupakan senyawa hidrokarbon beraroma jeruk yang sangat kuat (Assalam et al., 2023).

Rasa

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P<0,05$) pada rasa keju lunak yang dibuat menggunakan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Tabel 4 menampilkan skor hedonik rasa rata-rata dalam rentang 2,83-4,07 (kriteria biasa-suka). Skor terendah pada K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) sebesar 2,83 (biasa) yang tidak berbeda nyata dengan K4, sementara skor tertinggi pada K2 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%) mencapai 4,10 (suka) yang tidak berbeda nyata dengan K1 (konsentrasi ekstrak jeruk

nipis 2%) dan K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%).

Konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang berlebihan menghasilkan rasa asam pekat pada keju. Rasa asam karakteristik jeruk nipis semakin pekat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Asam organik seperti asam sitrat dan askorbat dalam jeruk nipis menjadi penyebab cita rasa asam tersebut (Viranty et al., 2024). Sari et al. (2023) menyatakan bahwa konsentrasi sari jeruk nipis yang tinggi menciptakan keju dengan rasa asam hingga pahit, menurunkan penerimaan panelis. Senyawa limonin dalam jeruk nipis menyebabkan rasa pahit (Assalam et al., 2023).

Tekstur

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P<0,05$) pada tekstur keju lunak yang diproduksi dengan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Tabel 4 menampilkan skor hedonik tekstur rata-rata dalam kisaran 3,27-3,97

(kriteria biasa-suka). Nilai terendah diperoleh pada perlakuan K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) dengan 3,27 (biasa), tidak berbeda nyata dengan perlakuan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%), sedangkan nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan K1 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 2%) dengan 3,97 (suka), tidak berbeda nyata dengan perlakuan K2 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%) dan K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%).

Kandungan air dalam keju mempengaruhi karakteristik tekstur keju lunak. Tingginya persentase air pada keju lunak menyebabkan tekstur produk menjadi lembek, sedangkan rendahnya persentase air pada keju lunak mengakibatkan tekstur produk cenderung rapuh, kering, dan keras yang tidak disukai panelis. Nugroho et al. (2018) menjelaskan bahwa selama pembuatan keju, *curd* yang memiliki kemampuan menahan air yang tinggi atau kandungan air yang besar akan menghasilkan produk keju dengan karakteristik tekstur yang memiliki level kekerasan rendah atau bersifat lembek.

Penerimaan Keseluruhan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada penerimaan keseluruhan keju lunak yang diproduksi menggunakan *milk clotting enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34. Tabel 4 menampilkan skor penerimaan

keseluruhan rata-rata dalam rentang 3,10-4,00 (kriteria biasa-suka). Skor terendah pada K0 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%) sebesar 3,10 (biasa), sementara skor tertinggi pada K2 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%) mencapai 4,00 (suka) yang tidak berbeda nyata dengan K1 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 2%), K3 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%), dan K4 (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 8%). Faktor-faktor seperti warna, aroma, rasa, dan tekstur keju lunak yang dihasilkan mempengaruhi penerimaan keseluruhan oleh panelis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak jeruk nipis hingga 8% berpengaruh nyata terhadap karakteristik keju lunak dengan MCE *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34, yaitu menurunkan pH dan kadar air, meningkatkan kadar protein (namun menurun pada konsentrasi 8%), meningkatkan rendemen dan kekerasan, serta memengaruhi aroma, rasa, tekstur, dan penerimaan keseluruhan, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap warna. Penambahan ekstrak jeruk nipis 4% menghasilkan keju lunak dengan *Milk Clotting Enzyme Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 kualitas terbaik, yaitu pH 4,19, kadar air 57,77%, kadar protein 16,44%, rendemen 21,52%, dan kekerasan keju 3,15N serta aspek sensoris berupa nilai hedonik, aroma, rasa, tekstur, dan

penerimaan keseluruhan disukai.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisurya, J., Permana, I. D. G. M., Nocianitri, K. A. (2022). Pengaruh Konsentrasi Milk Clotting Enzyme dari *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 Terhadap Kualitas Keju Lunak. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 11(3), 483. <https://doi.org/10.24843/itepa.2022.v11.i03.p09>.
- Alfianti, P., Rokhana, E., & Afyah, D. N. (2022). Karakteristik Kimia dan Organoleptik Keju Lunak dengan Penggunaan Koagulan Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). In *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1). DOI: <https://doi.org/10.32503/senacenter.v1i1.34DOI>: <https://doi.org/10.32503/senacenter.v1i1.34>.
- Arifiansyah, M., Wulandari, E., Chairunnisa, H. (2015). Karakteristik Kimia (Kadar Air dan Protein) dan Nilai Kesukaan Keju Segar dengan Penggunaan Koagulan Jus Jeruk Nipis, Jeruk Lemon dan Asam Sitrat. *Students e-journal*. 4(1), 1-14. <https://jurnal.unpad.ac.id/ejournal/article/view/5816>.
- Arima, K., Yu, J., & Iwasaki, S. (1970). Milk-clotting enzyme from *Mucor pusillus* var. Lindt. In G. Perlmann & L. Lorand (Eds.), *Methods in enzymology* (Vol. 19, pp. 446–459). Academic Press.
- Assalam, S., Gozali, T., Ikrawan, Y., & Nurfalia, I. (2023). Optimalisasi formula minuman olahan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan parameter karakteristik produk. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 23(2), 288-301. DOI: <http://dx.doi.org/10.25181/jppt.v23i2.2923>.
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11th ed.). Pearson Education.
- Codex Alimentarius. (2011). *Milk and Milk Products* (2nd ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization.
- Daulay, D. (1991). Fermentasi keju. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Fasale, A. B., Patil, V. S., & Bornare, D. T. (2017). Process Optimization for Mozzarella Cheese from Cow and Buffalo Milk. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 7(1), 165. <https://doi.org/10.5958/2277-9396.2017.00018.6>.
- Hadju, R., Budiman, S., Siswosubroto, S. E., Rembet, G. D. G. (2017). Pemanfaatan Enzim Rennet dan *Lactobacillus plantarum* YN 1.3 Terhadap pH, Curd, dan Total Padatan Keju. *Jurnal Zootek*. 37(2), 321-328. <https://doi.org/10.35792/zot.37.2.2017.16139>.
- Hartono, W., & Purwadi. (2012). Penggunaan jus buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) pada pembuatan keju mozzarella. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 7(1), 24–32. <https://www.academia.edu/download/61089508/193-406-2-PB20191101-39899-konx3m.pdf>.
- Hilmi, M. Z., Swastawati, F., Anggo, A. D. (2017). Pengaruh perendaman berbagai jenis jeruk terhadap kandungan logam berat timbal (Pb) dan kromium (Cr) pada kerang hijau (*perna viridis* Linn). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 6(2), 7-16. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>.
- Ismanto, Adrian, E. and Wilianto, R. (2010). Perencanaan Pabrik Limonene Dari Limbah Kulit Jeruk Kapasitas 15 Ton/Hari. Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Kasi, P. D. (2015). Pemanfaatan ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Insektisida Nabati Terhadap Hama Walang Sangit (*Leptocoris oratorius*) pada tanaman padi. *Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 3(1). <https://api.core.ac.uk/oai/oai:ojournal.uncp.ac.id:article/17>.
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). Aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kulit nenas (*Ananas comosus*). *Jurnal ilmiah sains*, 198-201. DOI: <https://doi.org/10.35799/jis.11.2.2011.207>.
- Laursen, A. K., Czaja, T. P., Rovers, T. A. M., Ipsen, R., Barone, G., & Ahmé, L. (2023). The Effect of Acidification Temperature and pH on Intermolecular Protein Bonds

- and Water Mobility in Heat and Acid-Induced Milk Gels. *International Dairy Journal*, 141, 105611. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105611>.
- Lestari, R. K., Amalia, E., & Yuwono. (2018). Efektivitas jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) sebagai zat antiseptik pada cuci tangan. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan (JKK)*, 5(2), 55–65. <https://jkk-fk.ejournal.unsri.ac.id/index.php/jkk/article/download/96/96>.
- Muryanto, S. (2021). Variasi Jenis Dan Konsentrasi Penggumpal Terhadap Kualitas Tahu Susu. *Jurnal Ekonomi, Sosial & Humaniora*, 3(2): 84–92. <https://www.jurnalintelektiva.com/index.php/jurnal/article/view/679>.
- Nugroho, P., Dwiloka, B., Rizqiati, H. (2018). Rendemen, Nilai PH, Tekstur, dan Aktivitas Antioksidan Keju Segar dengan Bahan Pengasam Ekstrak Bunga Rosella Ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1): 33-39. DOI: <https://doi.org/10.14710/jtp.2018.19722>.
- Patahanny, T., Hendrawati, L. A., Nurlaili, N. (2019). Pembuatan Keju Mozzarella Dengan Enzim Papain dan Ekstrak Jeruk Nipis. *AGRIEKSTENSIA: Jurnal Penelitian Terapan Bidang Pertanian*, 18(2), 135-141. DOI: <https://doi.org/10.34145/agriekstensia.v18i2.421>.
- Permatasari, M. (2018). *Peningkatan stabilitas enzim selulase dari bakteri Bacillus subtilis ITBCCB148 dengan amobilisasi menggunakan zeolit* (Skripsi Sarjana, Universitas Lampung). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Purwadi. (2007). Uji Coba Penggunaan Jus Jeruk Nipis dalam Pembuatan Keju Mozzarella. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. 2(2), 28-34. Putri, A.R., Sulityowati, E., Harismah, K., (2019). Uji Antibakteri Daun Stevia dalam Formulasi Sabun Padat Jeruk Nipis. *Seminar Nasional Edusaintek*. ISBN: 2685-5852. 667-672.
- Renner E. (1988). Milk in Human Nutrition dalam World Animal Science B3. Meat Science, Milk Science and Technology. Edited by H.R. Cross and A. J. Overby. Elsevier Science Publisher B.V. Amsterdam. Oxford. New York. Tokyo. 393-420.
- Rochmah, N., Merry, D., Lestari, S. (2014). Potensi Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) dalam Memutihkan Email Gigi yang Mengalami Diskolorasi. *Insisiva Dental Journal*, 3(1), 78-83. <https://journal.unram.ac.id/index.php/edufood/article/view/3638>.
- Rohmatussolihat., M. Nurindah Sari, P. Lusdayanti, Y. Widyastuti, dan E. Sukara. 2015. Pemanfaatan Milk Clotting Enzyme dari *Lactobacillus casei* D11 Untuk Pembuatan Keju Mozzarella. *J. Teknologi dan Industri Pangan*, 26(1), 63-71.
- Sari, E. P., & Ariyana, M. D. (2023). Pengaruh Konsentrasi Sari Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Karakteristik Keju Segar dengan Starter *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Edukasi Pangan*, 1(1), 22-32.
- Setiadarma, W., Permana, D. G. M., & Nocianitri, K. A. (2020). Optimasi Waktu Inkubasi *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 Dalam Produksi Enzim Penggumpal Susu. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(2), 108-116. <https://doi.org/10.24843/itepa.2020.v09.i02.p01>.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, (1997). Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Stone, H dan Joel, L. (2004). Sensory Evaluation Practices, Edisi Ketiga. Elsevier Academic Press, California, USA.
- Sujaya, I. N., Y. Ramona, N. M. Utami D, N. P. Suariani, N. P. Widarini, K. A. Nocianitri, dan N. W. Nursini. (2008). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Sumbawa Mare Milk. *J Vet*, 9, 52-59. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2024.25.1>.
- Sumarmono, J., F. M. Suhartati. 2012. Yield dan Komposisi Keju Lunak (Soft Cheese) Dari Susu Sapi yang Dibuat Dengan Teknik Direct Acidification Menggunakan Ekstrak Buah Lokal. Universitas Jendral Sudirman. Purwokerto.
- Sunarya, H. (2016). Kadar Air, Kadar Lemak dan Tekstur Keju Mozzarella Dari Susu Kerbau, Susu Sapi dan Kombinasinya. *Animal Agriculture Journal*, 5(3), 17-22. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/aaj>.

- United States Department of Agriculture. (2001). Specifications for cottage cheese and dry curd cottage cheese. *U.S. Department of Agriculture*.
- Untoro, N.S., Kusrahayu, dan Setiani, B. E. (2012). Kadar Air, Kekenyalan, Kadar Lemak dan Citarasa Bakso Daging Sapi dengan Penambahan Ikan Bandeng Presto (*Channos Channos* Forsk). *Animal Agriculture Journal*. 1(1), 567 – 583.
- Viranty, N. K. A., Sugitha, I. M., & Wisaniyasa, N. W. (2024). Pengaruh penambahan sari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap karakteristik loloh don cemcem (*Spondias pinnata* L.F Kurz.). *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 13(1), 193–205.
- Widarta, I. W. R., Wisaniyasa, N. W. & Prayekti, H. (2016). Pengaruh Penambahan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Karakteristik Fisikokimia Keju Mozarella. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*. 1(1), 37-45.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/agrotechno/article/view/22022>.
- Widiastiti, I G. A. A. M., Putra, I W. W. P., Duniaji, A. S. dan Darmayanti, N. L. (2019). Analisis Potensi Beberapa Larutan Pengencer Pada Uji Antibakteri Teh Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap *Escherichia coli*. *Scientific Journal of Food Technology*. 6(2), 117 – 125. ISSN: 2477-2739.