

PRODUKSI DAN UJI BIOLOGIS *RENNET* DARI ABOMASUM DOMBA LOKAL SEBAGAI BAHAN BIOAKTIF DALAM PEMBUATAN KEJU
(Extraction and Biological Assay of the Abomasal Rennet of the Local Sheep as a Bioactive Starter in Cheese Making Process)

Chairun Nisa¹⁾, Trioso Purnawarman²⁾, Ita Djuwita¹⁾, Chusnul Choliq³⁾
¹⁾Dep. Anatomi Fisiologi & Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, ²⁾Dep. Ilmu Penyakit Hewan & Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, ³⁾Departemen Klinik, Reproduksi & Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB

ABSTRAK

Ekstraksi dan uji biologis *rennet* dari mukosa abomasum domba lokal umur 5-12 bulan telah dilakukan dan digunakan sebagai bahan bioaktif dalam pembuatan keju. Hasil identifikasi dengan *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) didapatkan dua band protein yang memiliki berat molekul sekitar 40 kDa (pepsin) dan 30 kDa (kimosin) dengan proporsi yang relatif seimbang. Hasil pengujian dalam mengkoagulasikan susu pada konsentrasi ekstrak *rennet* 3% memberikan hasil koagulan yang baik dan lembut dengan waktu relatif cepat yaitu $3,08 \pm 0,49$ (menit, detik) untuk sampel segar, dan $4,93 \pm 1,74$ (menit, detik) untuk sampel yang disimpan beku. Adapun pengujian dalam pembuatan keju, menggunakan susu sapi dan 2% starter mikroba *Streptococcus stearothermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* serta 3% ekstrak *rennet* memberikan hasil keju dengan tekstur relatif lunak.

Kata kunci: Rennet, abomasum, domba, keju.

ABSTRACT

Extraction and biological assay of the abomasal rennet of local sheep ages 5-12 months were engaged and used as a bioactive starter in cheese making process. Identification using *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) showed two band of protein with mollecular weight around 40 kDa (pepsin) and 30 kDa (chymosin). Milk coagulation test using 3% abomasal rennet resulted smooth and soft coagulant in relatively short time i.e. $3,08 \pm 0,49$ (minute, second) for fresh sample and $4,93 \pm 1,74$ (minute, second) for frozen storage samples. In making cheese using 2% microbial starter of *Streptococcus stearothermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, added with 3% abomasal rennet resulted a relatively soft texture cheese.

Keywords : Rennet, abomasum, sheep, cheese.

PENDAHULUAN

Rennet merupakan bahan bioaktif hasil ekstraksi mukosa abomasum anak sapi yang digunakan sebagai starter dalam proses pembuatan keju, karena mengandung enzim kimosin dengan kadar tinggi. Selain dari anak sapi, sejauh ini *rennet* diketahui telah dikembangkan dari kambing muda (Parvin, 1975; Bolen

et al., 2003), babi, tanaman dan bahkan *rennet* sintesis hasil rekayasa r-DNA dari mikroorganisme (Andren, 1991; Daulay 1991), yang lazim disebut *rennet* GMO (*genetically-modified organism*). Penggunaan *rennet* sintesis memberikan cita rasa yang berbeda pada keju yang dihasilkan. Akan tetapi pemanfaatan *rennet* dari anak sapi dalam skala besar dan terus menerus, tentunya akan berakibat secara signifikan pada penurunan populasi sapi.

Keju merupakan salah satu produk hasil olahan susu yang memiliki nilai gizi tinggi dan semakin digemari oleh masyarakat Indonesia, karena cita rasanya yang khas. Sampai saat ini *rennet* yang digunakan dalam industri pembuatan keju di Indonesia umumnya menggunakan *Rennet* GMO impor. Selain itu konsumen yang mayoritas muslim seringkali dihadapkan pada persoalan kehalalan produk-produk makanan atau bahan campuran makanan yang berasal dari produk impor. Dalam menjawab permasalahan tersebut, maka perlu dicari alternatif bahan biologis yang dapat digunakan sebagai pengganti *rennet* anak sapi yang secara ekonomis murah dan dari segi kehalalannya dapat dipertanggungjawabkan. Pemilihan domba lokal untuk menghasilkan *rennet* merupakan alternatif yang tepat, mengingat: (1) domba adalah hewan ruminansia seperti halnya sapi, sehingga diharapkan dapat memberikan hasil *rennet* yang berpotensi sama, (2) secara nasional, maupun secara lokal di daerah Jawa Barat, populasi ternak domba lokal relatif tinggi dan dari tahun ke tahun menunjukkan adanya peningkatan (Ditjen Peternakan, 2010). Begitu pula pematangan domba muda dewasa ini juga menunjukkan indikasi peningkatan, sejalan dengan meningkatnya selera masyarakat terhadap masakan yang menggunakan daging domba muda, seperti sate, kambing guling, *lamb chop* (steak daging domba) dsb., serta (3) sejauh ini pemanfaatan potensi jeroan domba tersebut, khususnya bagian lambung abomasum yang sebenarnya memiliki potensi untuk dimanfaatkan bagi kepentingan industri yang lebih luas, seperti untuk pembuatan *rennet*, belum banyak dilaporkan.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan 12 sampel abomasum domba lokal umur dewasa muda (5-12 bulan) yang dikelompokkan dalam dua kelompok sampel. Kelompok sampel I digunakan empat buah abomasum yang diambil dari domba

muda yang langsung dibeli dari peternak dengan ketentuan memenuhi persyaratan umur dan kesehatan (sekaligus sebagai kontrol). Kelompok sampel II digunakan delapan buah abomasum yang diperoleh dengan memanfaatkan jeroan hewan yang disembelih untuk kepentingan konsumsi, langsung dari Tempat Pemotongan Hewan (TPH) Ciampea Bogor. Hewan dipilih yang berumur 5-12 bulan berdasarkan susunan gigi geliginya dan diperiksa kesehatannya sebelum dipotong.

Sampel organ abomasum diambil segera setelah hewan disembelih. Abomasum disayat pada bagian kurvatura mayor dan kotoran yang ada di dalamnya dibersihkan. Selanjutnya mukosa dicuci dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis dan ditimbang. Untuk sampel yang diambil dari TPH, organ dibawa ke laboratorium dengan termos dingin berisi es batu untuk mencegah dari kerusakan. Selanjutnya daerah kelenjar fundus yang akan digunakan sebagai bahan penelitian dipisahkan dari daerah kelenjar pilorus dan ditimbang.

Pembuatan Ekstrak *Rennet*

Dalam penelitian ini telah dilakukan modifikasi dalam ekstraksi *rennet* dari metode yang digunakan sebelumnya (Nisa' *et al.*, 2005 & 2007). Ekstraksi dilakukan secara steril pada meja kerja yang dibuat steril dengan penempatan bunsen disekitarnya. Daerah kelenjar fundus yang telah dipisahkan, mukosanya dikelupas untuk memisahkan dari jaringan dinding luarnya. Selanjutnya kelupasan mukosa dicincang dengan pisau sampai halus, ditimbang lalu dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan larutan asam asetat 10% dengan perbandingan 1 : 2 (gram/ml). Untuk mempercepat proses ekstraksi, campuran asam asetat dan mukosa diblender 5 menit pada suhu ruang. Sentrifugasi dilakukan pada kecepatan 11 000 g selama 20 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang terbentuk dipisahkan dari endapan menggunakan pipet mikro dan dipindahkan ke botol steril yang lain dan disimpan beku untuk pengujian berikutnya. Beberapa ekstrak telah mengalami penyimpanan selama kurang lebih sepuluh bulan, sebelum proses pengujian selanjutnya.

Isolasi dan Identifikasi

Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi, diidentifikasi kandungan enzim khimosin dan pepsin dengan SDS-PAGE, menggunakan berat molekul

protein standar (Biorad® SDS-PAGE standards low range). Protein standar dan sampel *rennet* masing-masing sebanyak 6 µl diteteskan pada tatakan plastik lalu ditambahkan *loading dye* sebanyak 6 µl. Selanjutnya sampel di *running* dengan SDS-PAGE. Gel diwarnai dengan pewarnaan Coomassie brilliant blue dan silver nitrat untuk identifikasi enzim khimosin dan pepsin berdasarkan berat molekulnya, dari band-band yang terbentuk.

Uji Aktivitas Ekstrak *Rennet* dalam Mengkoagulasikan Susu

Uji aktivitas dilakukan dengan metode Scott (1981) terhadap supernatan hasil ekstraksi dalam mengkoagulasikan susu. Konsentrasi supernatan yang digunakan adalah 3% untuk memperoleh *curd* yang cukup baik (Nisa' *et al.*, 2007). Supernatan dengan volume 3 ml ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 97 ml susu pasteurisasi bersuhu 35 hingga 37 °C. Campuran antara susu dan supernatan diaduk terus secara rotasi sampai terlihat terjadinya penggumpalan susu. Waktu koagulasi diukur sampai proses koagulasi terjadi sempurna dengan menggunakan pengukur waktu (stop watch).

Pengujian dalam Proses Pembuatan Keju

Prosedur pembuatan keju dimulai dengan mempasteurisasi susu pada suhu 75 °C selama 15 detik. Susu kemudian didinginkan sampai suhu mencapai sekitar 40 °C. Derajat keasaman susu dites dengan metode Dornic untuk mengetahui pH awal susu. Starter mikroba berupa campuran *Streptococcus stearothermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebanyak 2% ditambahkan, diinkubasi pada suhu 42 hingga 45 °C selama 30 menit dan dites kembali pH susunya. Selanjutnya ditambahkan *rennet* 3% sambil terus diaduk perlahan secara rotasi pada suhu sekitar 35 °C sampai terbentuk tahu keju. Tahu keju dihangatkan di dalam *waterbath* dan dipotong-potong untuk memisahkan koagulan (*curd*) dari cairannya (*whey*) kemudian disaring selama ± 30 menit. Terakhir adalah penambahan 0,5% NaCl pada *curd* sambil diaduk sampai rata, lalu dipres dan dicetak. Hasil cetakan keju dibungkus rapat dengan aluminium foil. Keju mentah siap untuk dimatangkan melalui pemeraman pada suhu 10 hingga 15 °C selama satu hingga dua bulan.

Uji Tekstur Keju

Keju yang sudah matang selanjutnya diuji teksturnya dengan menggunakan alat Instron.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa ukuran berat abomasum bertambah sejalan dengan bertambahnya umur (Tabel 1). Begitu juga dengan berat fundus dan berat mukosa fundus sebagai akibat perkembangan dan bertambahnya tinggi lipatan mukosa (Gambar 1). Hal ini sejalan dengan perkembangan fungsi sistem pencernaan, akibat bertambahnya volume pakan sesuai dengan pertambahan umur. Pada kelompok sampel yang diambil secara acak tergantung pemotongan hewan pada TPH, hasil yang diperoleh memberikan variasi data yang lebih beragam (Tabel 2).

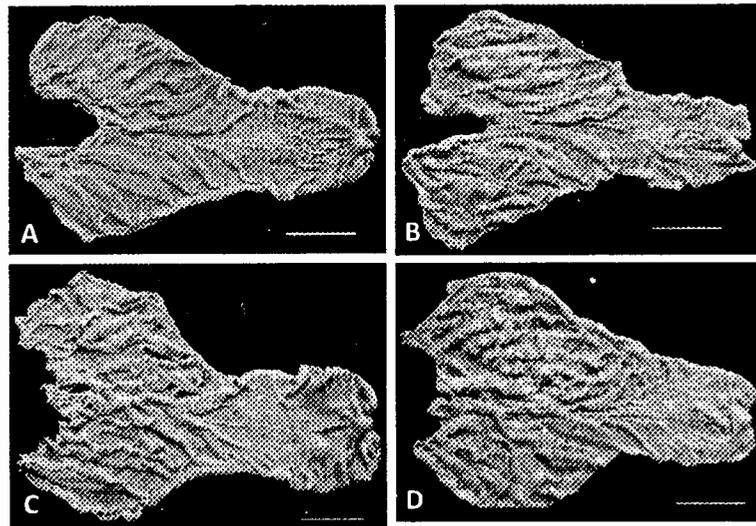
Tabel 1. Proporsi berat fundus terhadap berat abomasum dan proporsi berat mukosa fundus terhadap berat fundus dari sampel kelompok I

Domba	Berat (gr)		%	Berat (gr)		%
	Abomasum	Fundus		Mukosa Fundus		
I	76.53	53.60	70.04	46.83	87.37	
II	78.82	62.18	78.89	53.15	85.48	
III	96.48	63.18	65.49	53.66	84.93	
IV	96.50	78.85	81.71	65.69	83.31	
Rerata	87.08	64.45	74.03	54.83	85.27	

Catatan: Domba I (5-6 bulan), II (7-8 bulan), III (9-10 bulan), IV (11-12 bulan)

Tabel 2. Proporsi berat fundus terhadap berat abomasum dan proporsi berat mukosa fundus terhadap berat fundus dari sampel kelompok II

Domba	Berat (gr)		%	Berat (gr)		%
	Abomasum	Fundus		Mukosa Fundus		
A	88.18	67.27	76.29	61.02	90.71	
B	91.38	75.83	82.98	64.89	85.57	
C	78.94	57.37	72.68	45.48	79.28	
D	58.24	40.50	69.54	32.12	79.31	
E	60.93	42.07	69.05	33.14	78.77	
F	52.66	34.37	65.27	30.32	88.22	
G	90.74	68.47	75.46	53.56	78.22	
H	86.94	63.54	73.09	44.33	69.77	
Rerata	76.00	56.18	73.05	45.61	81.23	



Gambar 1. Mukosa abomasum domba umur 5-6 bulan (A), 7-8 bulan (B), 9-10 bulan (C) dan 11-12 bulan (D) memperlihatkan perkembangan tinggi lipatan mukosa (*plica spiralis*), Bar = 5 cm.

Rangkaian lambung majemuk ruminansia yang terdiri dari rumen, retikulum, omasum dan abomasum. Abomasum adalah bagian lambung yang pada umumnya memiliki tiga daerah kelenjar, seperti halnya lambung monogastrik, yaitu: kardia, fundus dan pilorus (Stevens dan Hume, 1995). Beberapa penelitian melaporkan bahwa domba tidak memiliki kelenjar kardia (Bensley, 1902-03 dalam Stevens dan Hume, 1995; Nisa' *et al.*, 2005 & 2008). Sedangkan fundus merupakan daerah kelenjar yang terluas dan diketahui serta dibuktikan memiliki sel-sel penghasil enzim-enzim protease khususnya pepsin, dan khimosin pada hewan yang masih muda (Nisa' *et al.*, 2005). Enzim-enzim tersebut bersifat asam dan termasuk golongan endopeptidase yang disekresikan dalam bentuk inaktif, masing-masing pepsinogen dan prokhimosin. Enzim akan diubah menjadi bentuk aktif oleh asam klorida (HCl) yang diproduksi oleh sel-sel parietal pada bagian fundus (Dellman dan Brown, 1993).

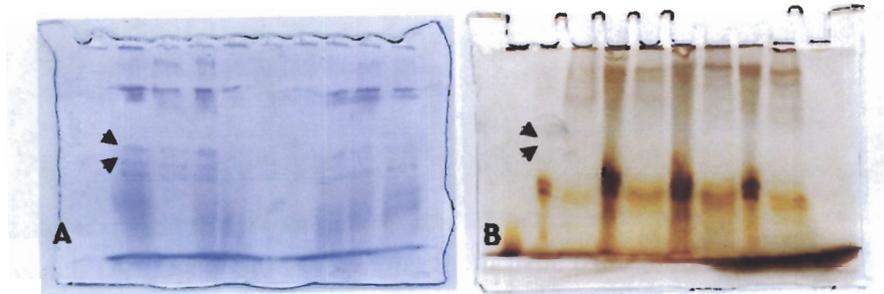
Abomasum domba umur 5-12 bulan memiliki berat hanya sekitar 50-100 gram. Organ yang seringkali dianggap sebagai limbah hasil sampingan pemotongan domba ini ternyata memiliki potensi untuk menghasilkan *rennet*. Pada hewan dewasa, sel-sel penghasil enzim-enzim protease penyusun *rennet*, hanya terdapat di bagian fundus. Oleh karena itu untuk memperoleh hasil maksimal, ekstraksi hanya dilakukan pada mukosa bagian fundus (Nisa' *et al.*, 2007).

Dari kedua data pada Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa proporsi berat fundus terhadap abomasum domba umur 5-12 bulan, adalah sekitar 65 hingga 82% dengan rerata $\pm 73,5\%$. Sedangkan proporsi berat mukosa fundus terhadap berat total fundus adalah sekitar 70 hingga 90% dengan rerata $\pm 83\%$. Artinya jika berat fundus sekitar 35 hingga 80 gram, diperoleh mukosa sekitar 30 hingga 65 gram. Jika dalam ekstraksi digunakan asam asetat : mukosa = 2 : 1, akan diperoleh supernatan 70 hingga 150 ml. Dengan konsentrasi 3%, maka dapat dibuat keju dari 2 hingga 5 liter susu.

Metode ekstraksi enzim menurut Qadri *et al.* (1962) merupakan metode yang sederhana dan sering digunakan dalam pembuatan *rennet*. Dalam penelitian ini metode ekstraksi Qadri *et al.* (1962) telah sedikit dimodifikasi, dari semula menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam, diganti dengan blender daging yang membutuhkan waktu hanya 5 menit. Selanjutnya sentrifugasi yang sebelumnya menggunakan sentrifuse dengan kecepatan 2 750 rpm selama 15 menit pada suhu ruangan dengan dua kali ulangan, diganti dengan sentrifuse dingin kecepatan 11 000 g selama 20 menit pada suhu 4°C . Penghancuran mukosa dengan blender memungkinkan pemecahan sel-sel mukosa fundus terjadi lebih sempurna, sehingga enzim dapat keluar dari sel. Begitu pula sentrifugasi yang digunakan dengan kecepatan tinggi dan waktu yang lebih lama, memungkinkan lebih banyak enzim terlepas ke supernatan. Modifikasi metode ekstraksi ini membuat waktu ekstraksi lebih singkat dan memungkinkan ekstraksi mukosa dalam jumlah lebih besar, jika diperlukan produksi massal. Netralisasi sampai pH= 5,4 juga sangat penting, karena pada sampel yang tidak dinetralisasi, aktivitas enzim turun atau hilang. Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh pH. Perubahan pH pada skala kecil dapat menyebabkan turunnya aktivitas enzim akibat perubahan ionisasi gugus-gugus fungsionalnya. Gugus ionik berperan penting dalam menjaga konformasi sisi aktif enzim untuk mengikat dan mengubah substrat menjadi produk. Pada perubahan skala besar, perubahan pH akan mengakibatkan enzim mengalami denaturasi karena adanya gangguan terhadap berbagai interaksi nonkovalen yang menjaga kestabilan struktur tiga dimensi enzim (Hames & Hooper, 2000)

Dari hasil *running* dengan gel elektroforesis menggunakan marker Biorad SDS-PAGE standards low range (14.400 hingga 97.400 kDa), teridentifikasi dua

band protein pada kisaran BM 40 kDa (pepsin) dan 30 kDa (khimosin) (Gambar 2). Meskipun dari hasil tersebut juga teridentifikasi band-band protein lain yang belum diketahui. Hal ini dapat difahami mengingat hasil ekstraksi yang digunakan adalah *crude extract* dan belum dipurifikasi.



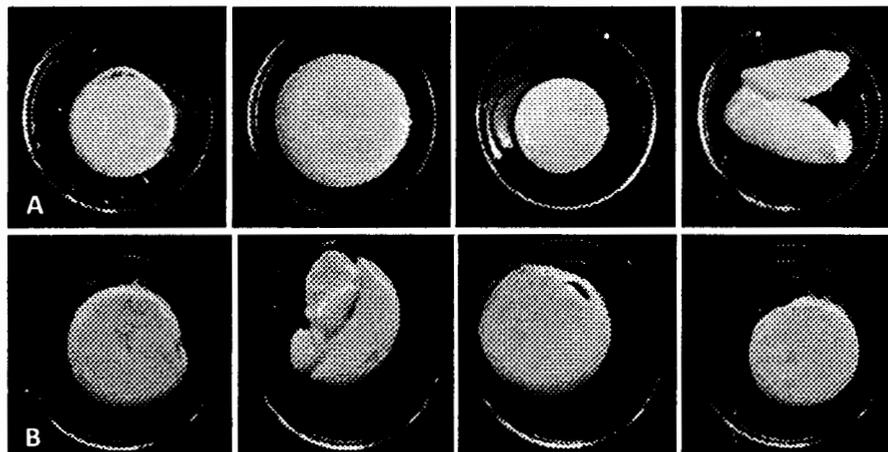
Gambar 2. Hasil pewarnaan SDS-PAGE dengan Coomassie brilliant blue (A) dan silver nitrat (B). Lajur paling kiri adalah marker protein, sedang lajur lainnya adalah sampel dengan gambaran adanya band-band protein pada kisaran berat molekul 30-40 kDa (anak panah) secara konsisten.

Aktivitas *rennet* diujikan untuk mengkoagulasikan susu yang telah dipasteurisasi. Penambahan *rennet* akan menyebabkan terbentuknya *curd* (koagulan) yang terpisah dari *whey*. Akibat berbagai kendala dalam pelaksanaan penelitian, beberapa sampel hasil ekstraksi harus disimpan beku pada suhu -20°C , sebelum proses pengujian selanjutnya. Hasil pengujian aktivitas *rennet*, baik pada ekstrak segar maupun ekstrak yang sudah disimpan beku, menghasilkan *curd* dengan kepadatan yang baik dengan waktu relatif cepat, pada konsentrasi supernatan 3% (Tabel 3; Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan beku terhadap ekstrak mukosa abomasum, tidak menyebabkan aktivitas enzim *rennet* berkurang.

Tabel 3 Perbandingan antara waktu koagulasi susu dari sampel tanpa disimpan dan sampel yang disimpan 10 bulan.

No Sampel Tanpa Disimpan	Waktu Koagulasi (menit.detik)	No Sampel yang Disimpan	Waktu Koagulasi (menit.detik)
A	5,26	E	3,18
B	5,56	F	2,38
C	2,44	G	3,26
D	6,47	H	3,50
Rata-rata \pm St. Dev	4,93 \pm 1,74 ^a	Rata-rata \pm St. Dev	3,08 \pm 0,49 ^a

Keterangan: Huruf superskrip pada kolom yang berbeda menunjukkan uji berbeda nyata ($p < 0,05$).



Gambar 3. Hasil uji koagulasi susu menggunakan *rennet* segar (A) dan *rennet* yang telah disimpan beku (B) dari sampling sebelumnya.

Enzim-enzim protease dihasilkan terutama oleh sel-sel utama yang terdapat di kelenjar fundus, dan hanya sedikit oleh sel-sel leher maupun epitel permukaan (Andren *et al.*, 1982; Andren dan Bjorck, 1986). Enzim protease yang lazim digunakan dalam proses pembuatan keju adalah khimosin yang dihasilkan oleh hewan muda, karena bersifat spesifik dalam mengkatalisa reaksi hidrolisis κ -kasein susu sehingga menyebabkan koagulasi susu yang spesifik pula dan memberikan cita rasa keju yang khas (Andren, 1991; Spreer, 1998). Sedangkan pepsin yang diekstraksi dari hewan dewasa memberikan efek koagulasi yang lebih lemah dan proteolisis yang nonspesifik. Proteolisis nonspesifik merupakan pemutusan rantai peptida tertentu pada kasein di luar yang terjadi pada koagulasi normal dan terkadang menimbulkan rasa pahit yang tidak diharapkan. Ekstrak enzim pepsin biasanya digunakan untuk memproduksi keju segar (Spreer, 1998).

Bahan utama di dalam susu yang akan mengalami koagulasi adalah protein. Komponen utama protein susu adalah kasein, albumin, globulin dan protein membran. Kasein merupakan protein utama yang menyusun sekitar 80% dari kandungan protein susu (Widodo, 2003). Kasein susu terdapat dalam empat bentuk yaitu α -, β -, γ - dan κ -kasein (kappa-kasein). Pada κ -kasein seluruh gugus prostetik berikatan dengan O-glikosida dan fosfopeptidanya dapat mengikat ion Ca^{2+} (Fiat dan Joles, 1989). Fraksi κ -kasein yang menyusun struktur terluar dari misel kasein sangat mudah berinteraksi dengan enzim yang akan bekerja memutus rantai ikatannya sehingga misel kasein pecah. Pemecahan ini akan menyebabkan terpisahnya komponen yang bersifat hidrofilik (glikomakropeptida) dari para-

kasein. Pada suhu (35 hingga 37 °C) dan pH (5.2 hingga 5.8) optimum, akan terbentuk ikatan dengan ion Ca^{2+} secara cepat yang menyebabkan presipitasi kasein (Spreer, 1998) dan melakukan penggabungan dengan komponen susu lain membentuk *curd* (Kloosterman, 1991).

Pengujian lanjut *rennet* dalam pembuatan keju menghasilkan keju dengan tekstur relatif lunak. Penambahan starter mikroba *S. Stearothermophilus* dan *L. bulgaricus* 2% dimaksudkan untuk menguji kualitas susu dari residu antibiotik dan sebagai pemberi cita rasa. Terbentuknya *curd* dilanjutkan dengan hasil keju yang cukup baik, menunjukkan bahwa ekstrak mengandung enzim protease, khususnya khimosin dan pepsin, seperti yang diharapkan. Hal ini sejalan dengan hasil identifikasi dengan SDS-PAGE yang memperlihatkan kedua band protein khimosin dan pepsin memiliki ketebalan dan intensitas yang hampir sama.

Secara tidak langsung hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dari domba umur 5-12 bulan, diperoleh ekstrak *rennet* dengan kandungan enzim khimosin dan pepsin yang relatif seimbang. Hal ini juga telah dibuktikan dari hasil pewarnaan imunohistokimia yang memperlihatkan adanya sel-sel penghasil enzim khimosin dengan frekuensi yang relatif masih tinggi, proporsional dengan sel-sel penghasil enzim pepsin (Nisa' *et al.*, 2008).

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak mukosa abomasum domba umur 5-12 bulan dapat digunakan untuk membuat keju dari 2-3 liter susu dengan tekstur lunak. Modifikasi metode ekstraksi dengan blender memungkinkan ekstraksi mukosa dalam jumlah lebih besar dengan waktu yang lebih singkat. Netralisasi sampai pH 5,4 sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim, namun penyimpanan beku sampai sepuluh bulan tidak menyebabkan turunnya aktivitas enzim.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI DEPDIKNAS cq LPPM IPB yang telah memberikan dana penelitian melalui Program Penelitian Desentralisasi Hibah Bersaing Batch XVI selama dua tahun (2008-2009). Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para mahasiswa yang membantu dalam pelaksanaan penelitian ini sebagai bahan skripsinya, yaitu :

Meka Dian Putra, Fathona Aulia Sari, Khairun Nisa', Karunia Maghfiroh dan Novi Tandria, serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebut satu-persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Andren A., L. Bjork, and O. Claesson. 1982. Immunohistochemical studies on the development of prokimosin- and pepsinogen-containing cells in bovine abomasal mucosa. *J. Physiol.* 327: 247-254.
- _____. and L. Bjork. 1986. Milk feeding maintains the prokimosin production in the cells of bovine abomasal mucosa. *Acta Physiol. Scand.* 126: 419-427.
- _____. 1991. Milk protein, casein micelles, milk-clotting and milk-clotting enzymes. Oral presentation at Obihiro Univ. of Agriculture & Vet. Medicine, October 7th.
- Bolen PL., PL. Cihak, and LG. Scharpf Jr. 2003. Goat pregastric esterase and its use in the production of cheese. United State Patent No. WO 03045156
- Daulay D. 1991. Fermentasi Keju. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dellman, H.D. and E.M. Brown. 1993. Textbook of Veterinary Histology 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Ditjen Peternakan. 2010. <http://www.ditjennak.go.id/t-bank2.asp?id=4&ket=POPULASI/22> Februari 2010.
- Hames BD, and NM Hooper. 2000, *Biochemistry*. The instant Notes. Ed ke-2. Hongkong: Spinger, Verlag. Pp 83-84.
- Kloosterman, 1991. The role of Biotechnology in the manufacturing of wholesome natural ripened cheese. *Food Biotechnology* 5(3):207-215
- Nisa', C., S. Agungpriyono dan R.R.A. Maheswari. 2005. Deteksi dan Karakterisasi Enzim Protease Penyusun Bahan Bioaktif *Rennet* pada Abomasum Domba Lokal secara Imunohistokimia serta Uji Aktivitasnya dalam Mengkoagulasikan Susu. Laporan Penelitian Hibah Penelitian Program Penelitian A3 FKH-IPB.
- Nisa', C., S. Agungpriyono dan R.R.A. Maheswari. 2007. Uji aktivitas ekstrak mukosa abomasum domba lokal dalam mengkoagulasikan susu. *Jurnal Medis Veteriner Indonesia II (2) : 58-63*
- Nisa', C., S. Agungpriyono dan R.R.A. Maheswari, Nurhidayat, S. Novelina dan Supratikno. 2008. Deteksi secara imunohistokimia sel-sel penghasil enzim

pepsin dan khimosin pada abomasums domba local. Pertemuan Ilmiah Nasional, Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia (PAAI), Jakarta 21-22 Juni

Parvin, JA. 1975. Goat's milk cheese the andaluz way. www.Motherearthnews.com/menarch/achieve/issues/034/034-062-01.html.

Qadri R.B., M.A. Ansari, S. Mahdihassan. 1962. A Revised Method of Preparing Rennet. *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* 5:196

Scott, R. 1981. *Cheese Making Practice*. Applied Science Publishers Ltd., London.

Spreer, E. 1998. *Milk and Dairy Product Technology*. Penerjemah : Axel Mixa. Technologie der Milchverarbeitung. Marcel Dekker Inc., New York. Pp 258-263

Steven C.E. and I.D. Hume. 1995. *Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System* 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, New York.

Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Laticia Press. Depok.