

KAJIAN PENAMBAHAN KHAMIR *Kluyveromyces lactis*, *Candida curiosa* DAN *Brettanomyces custersii* ASAL DADIH TERHADAP KONSENTRASI ASAM-ASAM AMINO, LEMAK, ORGANIK DAN KARBOHIDRAT SUSU KERBAU FERMENTASI (DADIH).

Yurliasni., dan Zakaria, Y.

Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam-Banda Aceh

E-mail: yurliasni62@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan khamir pada komposisi susu kerbau selama fermentasi untuk menghasilkan dadih. Khamir yang digunakan adalah *Candida curiosa*, *Brettanomyces custersii*, dan *Kluyveromyces lactis* asal dadih. Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Sekolah Ilmu Teknologi Hayati ITB dan Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sel khamir dalam pembuatan dadih nyata berpengaruh terhadap komposisi susu kerbau fermentasi (dadih) seperti asam-asam amino, lemak, orgaik dan karbohidrat, masing-masing *Kluyveromyces lactis*, (9,17%, 4,88%, 1,01 ppm dan 85%); *Brettanomyces custersii* (6%, 8,41%, 0,45 ppm dan 73%) dan *Candida curiosa* (1,5%, 3,82%, 0,48 ppm dan 46%). *Kluyveromyces lactis* menggunakan asam amino, asam organik, dan karbohidrat lebih tinggi dibandingkan yang lain, yaitu masing-masing 9,15%, 1,01 ppm, 85% sedangkan penggunaan asam lemak lebih rendah dari *Brett custersii* yaitu 4,88% dibanding 8,41%.

Kata kunci: Dadih, kerbau, khamir, komposisi dan susu.

ABSTRACT

Research was carried out to study the effect of yeast addition on buffalo milk composition during fermentation in bamboo to produce dadih. In related to spontaneous fermentation process yeasts effect product composition directly. The yeast chosen were *Candida curiosa*, *Brettanomyces custersii*, and *Kluyveromyces lactis*. The research was conducted at Microbiology Laboratory school of Bioscience ITB and Animal Production Process Laboratory University Of Syiah Kuala. The results showed that the addition of yeast culture in dadih making is significantly effect milk composition such as amino acids, organic acids and carbohydrate *Kluyveromyces lactis* able to utilize higher in fermentation process consecutively 9,17%, 1.01 ppm and 85% meanwhile fatty acid lower than *Brettanomyces custersii* which is 4,88% compare to 8,41%.

Key words: Dadih, buffalo, yeast, composition, milk.

PENDAHULUAN

Khamir merupakan mikroorganisme kemoorganotrop karena menggunakan senyawa organik sebagai sumber energi dan tidak memerlukan sinar untuk pertumbuhannya. Khamir juga terdapat dan menyebar luas di alam serta sangat sering ditemukan pada produk pangan dengan kadar gula tinggi. Menurut Frazier and Westhoff (1988) ada enam faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas

khamir secara umum di dalam makanan. Faktor-faktor tersebut antara lain kelembaban, konsentrasi oksigen, suhu, nutrien, pH dan ada tidaknya senyawa penghambat. Nutrien yang memadai bagi khamir tergantung pada komposisi makanan dimana khamir itu tumbuh. Setiap khamir mempunyai kemampuan yang berbeda dalam metabolisme protein, karbohidrat dan lemak.

Sebagai medium yang kaya nutrisi, susu menyediakan lingkungan yang sangat disukai untuk pertumbuhan mikroorganisme termasuk khamir. Pertumbuhan mikroorganisme yang tidak dikendalikan dalam susu akan menyebabkan kerusakan. Sudah banyak tulisan tentang keberadaan dan pertumbuhan mikroorganisme dalam susu sapi (Griffith and Phillips 1990) terutama sekali yang berhubungan dengan ekologi dan aktivitas bakteri. Akan tetapi hanya sedikit sekali yang berhubungan dengan khamir (Fleet, 1990).

Susu merupakan sumber makanan yang sangat baik dan sempurna bagi mikroorganisme karena mengandung zat-zat gizi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Nilai pH 6,5 dari susu segar merupakan kondisi yang hampir ideal untuk pertumbuhan kebanyakan mikroorganisme. Salah satunya adalah susu kerbau yang pemanfaatannya masih terbatas pada produk olahan susu secara tradisional yaitu dadih. Dadih adalah produk olahan susu kerbau yang difermentasi secara tradisional di dalam tabung bambu selama 48 jam (Sugita 1995). Penggunaan susu kerbau di Sumatera Barat bertujuan untuk memanfaatkan susu kerbau yang berlimpah, akan tetapi susu kerbau kurang disukai bila dikonsumsi dalam keadaan segar karena adanya bau yang tidak disenangi. Untuk mengatasinya dilakukan fermentasi sehingga citarasanya dapat diterima secara organoleptik oleh masyarakat.

Pembuatan dadih secara tradisional melibatkan beberapa macam mikroorganisme diantaranya bakteri asam laktat (BAL), kapang dan khamir. Hal ini disebabkan karena proses ini terjadi secara spontan. Keberadaan khamir di dalam produk fermentasi tradisional perlu dipertimbangkan, karena dapat memberikan kontribusi positif selama proses fermentasi dan terhadap produk akhir seperti menyediakan faktor pertumbuhan bagi bakteri asam laktat dan meningkatkan citarasa. Selain itu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh khamir seperti asetat, suksinat, propionat, fumarat dan piruvat mempunyai pengaruh yang baik terhadap citarasa (Coghe *et al.* 2004). Pemanfaatan khamir dalam pembuatan

dadih dalam penelitian ini bertujuan untuk melihat perubahan terhadap konsentrasi masing-masing komponen gizi akibat pertumbuhan khamir yang keberadaannya di dalam susu kerbau sebagai mikroorganisme spontan yang ikut dalam proses fermentasi.

Nilai gizi susu hasil fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan susu asalnya karena bentuknya lebih sederhana dan mudah dicerna. Menurut Onilude *et al.*, (1999) dalam proses fermentasi spontan khamir dapat mempengaruhi nilai nutrisi produk. Selanjutnya Verrachert *et al.*, (1990) menjelaskan bahwa penggunaan kultur campuran menghasilkan kecepatan pertumbuhan tinggi, biotransformasi lebih baik dan produksi lebih tinggi. Selain itu peningkatan nilai gizi ditentukan juga oleh interaksi utama antara mikroorganisme berbeda. Selanjutnya bahwa interaksi antara khamir dan bakteri asam laktat didalam susu fermentasi dapat menurunkan kadar lemak (Lavon *et al.*, 1984).

Profil khamir hasil isolasi dan identifikasi asal dadih yang digunakan dalam percobaan ini adalah 1) *Candida curiosa*, termasuk devisi *Deuteromycotina*, famili *Cryptococcaceae* dan genus *Candida*. *Candida curiosa* bersifat proteolitik pada umumnya dan bersifat kaseinolitik terhadap susu. Hal ini menunjukkan bahwa selama pertumbuhannya khamir ini akan memetabolisme protein susu sebagai salah satu sumber carbon dan energi (Roostita and Fleet 1996). Di samping itu didukung oleh kemampuan menggunakan nitrat dan nitrit, memfermentasi glukosa dan sukrosa serta pati menyebabkan perubahan pada berbagai media yang ditumbuhinya (Barnet, 2000). Selanjutnya *Candida curiosa* juga dijelaskan menghasilkan enzim lipase ekstraseluler sehingga dapat menghidrolisis lemak susu sebagai sumber karbon dan energi pertumbuhannya (Fizgerald *et al.*, 1993); 2) *Brettanomyces custersii*, termasuk devisi *Saccharomycotina*, famili *Saccharomycetaceae* dan genus *Brettanomyces*. *Brettanomyces custersii* mampu memfermentasi glukosa, galaktosa, sukrosa, maltosa dan selubiosa, sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Di samping itu khamir ini mampu bertahan dalam etanol sehingga *Brettanomyces custersii* sering terdapat pada produk-produk fermentasi alkohol dan menghasilkan senyawa yang dapat merubah rasa dan aroma produk fermentasi (Thomas, 1993). Kemampuan *Brettanomyces custersii* dalam menggunakan nitrat dan nitrit menunjukkan bahwa selama pertumbuhannya khamir ini akan menggunakan protein susu sebagai salah satu sumber carbon dan energi untuk pertumbuhannya (Roostita and Fleet 1996); 3) *Kluyveromyces lactis*, termasuk devisi *Ascomycotina*, famili *Saccharomycetaceae* dan genus *Kluyveromyces*, mampu memfermentasi laktosa, glukosa dan galaktosa, menggunakan nitrat dan nitrit negatif sehingga protein bukan merupakan sumber karbon dan energi pertumbuhannya akan tetapi khamir ini dapat bertahan dalam media yang mengandung etanol dan gliserol (Barnet and Pankhurst, 2000). Khamir ini juga mampu menghasilkan enzim beta-galaktosidase yang dapat digunakan untuk

menurunkan kandungan laktosa susu (Nahvi and Moheini, 2004) dan dilaporkan menghasilkan enzim lipase ekstraseluler dan intraseluler sehingga mampu menghidrolisis lemak serta memetabolisme dan mendegradasi lemak khususnya pada susu (Fizgerald and Deeth, 1993).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama penelitian ini adalah khamir *Kluyveromyces lactis*, *Candida curiosa* dan *Brettanomyces crustecii* yang diperoleh dari penelitian identifikasi khamir asal susu kerbau fermentasi yang dilakukan di Sekolah Ilmu Teknologi Hayati ITB Badung, susu yang digunakan adalah berasal dari susu kerbau yang sudah dipasturisasi. Medium pertumbuhan khamir adalah PDA (Potatoes Dextrose Agar), PDB (Potatoes Dextrose Broth), dan untuk BAL (Bakteri Asam Laktat) adalah MRS Agar (Man deRagosa Sharp), NaCl fisiologis 0,9%, dan aquades. Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan di laboratorium, dengan mengukur perubahan konsentrasi asam amino, organik menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), lemak dengan GLC (*Gas Liquid Chromatography*) dan karbohidrat dilakukan dengan spektrofotometer.

Penumbuhan Inokulan

Inokulan ditumbuhkan dalam susu kerbau steril yang komposisinya sama dengan susu kerbau segar dan disimpan pada suhu 25 °C selama 48 jam. 100 ml susu kerbau steril dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer dan diinokulasi dengan 2 mL inokulan kultur isolat khamir dan diinkubasi pada suhu 25 °C selama 12 hari. Selanjutnya sampel disiapkan untuk analisis komposisi kimia (Rosenthal, 1991).

Konsentrasi Karbohidrat

Lima ml susu dilarutkan dalam 5mL air murni dan kemudian ditambahkan 20 mL etanol 85% untuk mengendapkan material makromolekul yang didapatkan melalui penyaringan dengan kertas saring Whatman no 54L. Selanjutnya filtrat disaring lagi dengan menggunakan membran filtrasi, 20 mL sampel kemudian disuntikkan ke dalam HPLC (Khopar, 2007)

Konsentrasi Asam Organik

Lima mL susu dicampur dengan 5mL air murni dan 20ml asetonitril dan dikocok selama 1 menit. Material yang tidak larut dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada 7000 rpm selama 5 menit dan supernatan disaring dengan kertas saring Whatman no 541, yang dilanjutkan dengan penyaringan kedua dengan menggunakan membran 0,45 mikroliter. Sepuluh ml supernatan kemudian disuntikkan ke dalam HPLC Bevilacqua and Califano, 1989). Identifikasi asam organik dan perhitungan konsentrasinya dilakukan dengan membandingkan posisi puncak yang tidak diketahui dengan larutan standar kromatografi pada sistim yang sama.

Konsentrasi Asam Amino Bebas

Asam amino bebas diekstrak dari susu dengan menggunakan metode gabungan Lynch dan Wood (1966). Dua puluh ml susu dihomogenasikan selama 2 menit dalam 40ml air deionisasi. Homogenat diencerkan menjadi 100mL yang kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit pada 10 °C didapatkan supernatan. Selanjutnya endapan dilarutkan dalam 40 mL air deionisasi, disentrifugasi pada 4000 rpm dan didapatkan supernatan. Kedua supernatan digabungkan dan selanjutnya disaring dengan kertas saring Whatman. 541, yang kemudian dilanjutkan dengan penyaringan ultra menggunakan membran Amicon YM5. Filtrat yang didapat digunakan untuk mengukur asam amino bebas. Larutan standar dari asam amino bebas ditambahkan ke dalam susu dan diekstrak bersamaan sebagai kontrol normal. Konsentrasi asam amino secara individu ditentukan dengan HPLC dan derivatisasi poskolom dengan ninhidrin. Identifikasi asam amino didapatkan melalui perbandingan posisi puncak yang tidak diketahui dengan jumlah asam amino yang diketahui ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (*Physiological Amino Acid Standard Pierce Chemicals*) kromatograf dalam sistim yang sama. Konsentrasi asam amino secara individu diukur berdasarkan standar dan analisis regresi (Purchades dkk., 1989).

Konsentrasi Asam Lemak Bebas

Konsentrasi asam lemak bebas ditentukan dengan menggunakan metode modifikasi Dejong and Badings (1990). Sepuluh ml etanol, 1mL H_2SO_4 (2,5 mo/L, dan diekstrak dengan mengocoknya dalam 15 ml eter di dalam tabung sentrifugasi. Campuran disentrifugasi pada 2500 rpm selama 2 menit pada suhu kamar. Selanjutnya lapisan pelarut dalam supernatan ditransfer ke dalam tabung erlenmeyer 100 mL yang sudah berisi butiran Na_2SO_4 untuk menyerap sisa air. Prosedur ekstraksi dilakukan dua kali dengan 10 mL eter/heptana(1:1, v/v) dan hasil ekstraksi dikumpulkan. Kolom *aminopropil* (500 mg) dikondisikan dengan 10 mL heptana. Selanjutnya ekstrak lemak ditempatkan pada kolom dan lemak netral dielusi oleh 10 mL kloroform 2-propanol (2:1, v/v). Selanjutnya asam lemak bebas dielusi kembali dengan dietil eter yang mengandung 2% asam format. Konsentrasi asal lemak bebas dan identitasnya di dalam eluen kemudian ditentukan dengan GLC (*Gas Liquid Chromatography*)

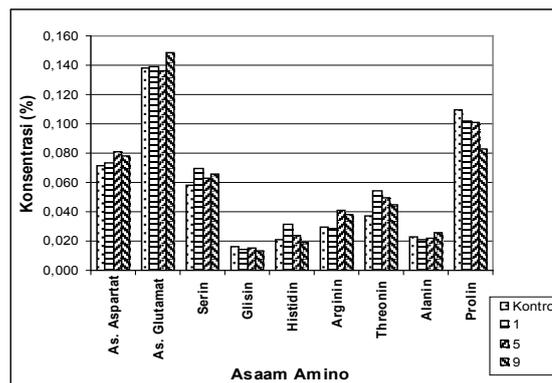
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Penambahan Khamir terhadap Perubahan Komposisi Kimia Susu Kerbau Fermentasi.

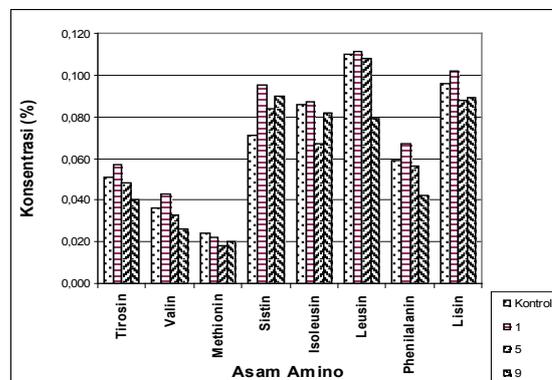
Asam Amino

Analisis konsentrasi asam amino susu yang telah difermentasi dengan *Candida curiosa*, *Brettanomyces custersii* dan *Kluyveromyces lactis* dilakukan dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*

). Gambar 1a dan Gambar 1b menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi antara susu kontrol (tanpa fermentasi) dengan susu yang telah difermentasi oleh khamir. Khamir mampu menggunakan sumber nitrogen organik maupun anorganik untuk digunakan sebagai energi dan untuk sintesis komponen struktur sel yang fungsional di dalam sel. Hal ini erat hubungannya dengan fungsi asam amino yang sangat penting di dalam sel antara lain sebagai substrat untuk sintesis asam amino, menyediakan nitrogen untuk sintesis senyawa lain yang mengandung nitrogen dan sebagai sumber energi melalui proses katabolisme protein (Ostergaard *et al.*, 2000).



Gambar 1a. Grafik konsentrasi asam amino susu kerbau setelah fermentasi 12 hari oleh khamir *Candida curiosa* (1), *Brettanomyces custersii* (5) dan *Kluyveromyces lactis* (9)



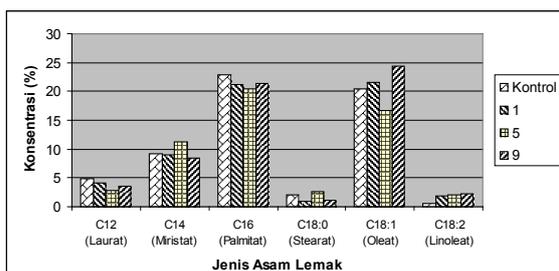
Gambar 1b. Grafik konsentrasi asam amino susu kerbau setelah fermentasi 12 hari oleh khamir *Candida curiosa* (1), *Brettanomyces custersii* (5) dan *Kluyveromyces lactis* (9)

Berdasarkan perubahan konsentrasi asam-asam amino akibat pertumbuhan isolat khamir hasil analisis komposisi kimia menunjukkan bahwa kemampuan *Kluyveromyces lactis* menggunakan asam-asam amino lebih tinggi dibandingkan *Brettanomyces custersii* dan *Candida curiosa* yaitu berturut-turut 9, 17, 6 dan 1,5%. Hal ini disebabkan oleh karena sebagian besar asam amino yang bersifat glukogenik, dipergunakan sebagai sumber karbon dalam pertumbuhannya sehingga konsentrasi asam amino menurun (Gadaga *et al.*, 2001)

Asam lemak

Lemak merupakan sumber energi bagi khamir karena mempunyai peranan penting dalam proses metabolisme secara umum, seperti bagian dari komponen utama membran sel dan berperan dalam mengatur jalannya metabolisme di dalam sel. Metabolisme lemak oleh khamir terjadi melalui proses degradasi dan biosintesis. Asam lemak yang digunakan oleh khamir berasal dari proses lipolisis ekstraseluler atau yang berasal dari medium yang digunakan. Asam lemak dikatabolisme oleh jalur beta-oksidasi di dalam peroksisom yang tahapan-tahapan reaksi diawali dengan reaksi beta-oksidasi yang menghasilkan energi, CO₂ dan H₂O serta reaksi sintesis yang menghasilkan asam-asam lemak yang kemudian digunakan untuk membangun jaringan sel.

Penurunan konsentrasi asam-asam lemak di dalam susu terjadi karena dalam pertumbuhannya khamir menggunakan sebagian besar asam-asam lemak ini sebagai sumber energi melalui reaksi beta-oksidasi, disamping itu sebagian hasil metabolisme asam lemak juga digunakan untuk membangun struktur membran sel. Sebaliknya konsentrasi asam oleat dan linoleat yang lebih tinggi dibandingkan kontrol menunjukkan bahwa khamir tidak menggunakan asam-asam ini sebagai sumber energi, akan tetapi sebaliknya (Gambar 2).



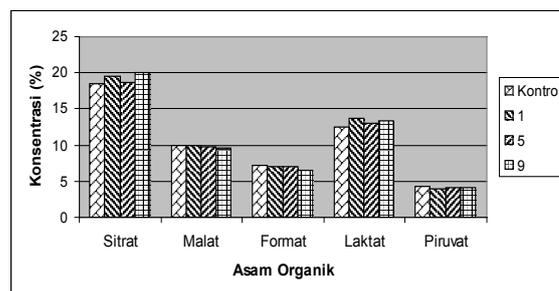
Gambar 2. Grafik konsentrasi asam lemak susu kerbau setelah fermentasi 12 hari oleh khamir *Candida curiosa* (1), *Brettanomyces custersii* (5) dan *Kluyveromyces lactis* (9)

Akibat persediaan zat antara yang berlebih di dalam sistem menyebabkan proses metabolisme berlangsung ke arah sintesis asam lemak tak jenuh. Hasil analisis menunjukkan bahwa *Brettanomyces custersii* menggunakan asam-asam lemak lebih tinggi dibanding *Kluyveromyces lactis* dan *Candida curiosa* yaitu berturut-turut 13, 8 dan 5%. Penggunaan asam lemak sebagai sumber energi melalui reaksi beta-oksidasi, selain itu hasil metabolisme asam lemak juga digunakan untuk membangun struktur sel khamir itu sendiri

Asam Organik

Berbagai asam organik dapat digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon dan energi. Sebagian besar asam-asam organik yang terdapat di dalam susu berasal dari beberapa jalur dalam metabolisme antara lain jalur glikolisis, siklus asam

sitrat, degradasi protein dan produk fermentasi seperti asam sitrat, malat, fumarat, format, laktat dan piruvat yang mempunyai peranan penting dalam proses biokimia sel.



Gambar 3. Grafik konsentrasi asam organik susu kerbau setelah fermentasi 12 hari oleh khamir *Candida curiosa* (1), *Brettanomyces custersii* (5) dan *Kluyveromyces lactis* (9)

Gambar 3 menunjukkan telah terjadi perubahan konsentrasi asam-asam organik pada susu yang telah difermentasi dengan khamir *Candida curiosa*, *Brettanomyces custersii* dan *Kluyveromyces lactis* yaitu terdiri dari asam sitrat, malat, format, laktat, dan piruvat. Perubahan konsentrasi asam-asam organik ini menggambarkan bahwa khamir dapat dengan bebas menggunakan asam organik sebagai sumber energi maupun menyediakan asam-asam organik sebagai senyawa antara dalam metabolisme sel. Berdasarkan perubahan konsentrasi asam-asam organik susu setelah pertumbuhan khamir menunjukkan bahwa *Kluyveromyces lactis* menggunakan asam-asam organik lebih banyak yaitu 1,01 ppm dibanding *Candida curiosa* 0,9 ppm dan *Brettanomyces custersii* 0,47 ppm. Konsentrasi asam organik yang lebih tinggi disebabkan oleh karena meningkatnya konsentrasi asam sitrat dalam hal ini asam sitrat merupakan produk siklus asam sitrat yang selalu harus tersedia untuk menghasilkan energi bagi pertumbuhan khamir, sehingga pada saat asetil-Ko A tersedia melebihi kebutuhan maka metabolisme bergerak ke arah produksi energi dan sintesis asam amino, asam lemak dan glukosa.

Karbohidrat

Pertumbuhan isolat khamir di dalam susu kerbau akan menyebabkan penurunan konsentrasi karbohidrat susu khususnya laktosa seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan Konsentrasi Karbohidrat Susu Kerbau setelah Pertumbuhan Khamir (%)

Nama Sampel	Konsentrasi Karbohidrat
Kontrol	7,82
<i>Candida curiosa</i>	4,22
<i>Brettanomyces custersii</i>	2,11
<i>Kluyveromyces lactis</i>	1,11

Keterangan: Kontrol (susu tanpa fermentasi), suhu fermentasi 25°C Selama 12 hari masa fermentasi

Perubahan konsentrasi karbohidrat susu kerbau oleh khamir menunjukkan bahwa konsentrasi karbohidrat susu yang telah difermentasi oleh ketiga khamir *Candida curiosa* (4,22%), *Brettanomyces custersii* (2,11%) dan *Kluyveromyces lactis* (1,11%) lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol (susu tanpa fermentasi) yaitu 7,82%. Penurunan konsentrasi karbohidrat yang sangat besar pada pertumbuhan *Kluyveromyces lactis* sesuai dengan sifatnya yang mampu memfermentasi laktosa, glukosa dan galaktosa sebagai sumber karbon utama untuk produksi energi yang digunakan untuk pertumbuhan, reproduksi dan membangun struktur sel. Selanjutnya jalur utama yang digunakan dalam memanfaatkan karbohidrat adalah glikolisis, dan siklus asam sitrat yang tujuan akhirnya adalah produksi energi, CO₂ dan H₂O serta proses biosintesis molekul-molekul yang digunakan untuk pemeliharaan sel. Konsentrasi karbohidrat susu yang rendah setelah fermentasi sejalan dengan pendapat Nahvi dan Moeini (2004) yang menyatakan bahwa rendahnya konsentrasi karbohidrat berhubungan dengan kemampuan *Kluyveromyces lactis* dalam memfermentasi laktosa susu. Selanjutnya dijelaskan bahwa khamir ini menghasilkan enzim beta-galaktosidase yang berperan dalam proses degradasi laktosa. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa *Kluyveromyces lactis* menggunakan karbohidrat terbanyak selama proses fermentasi yaitu 85% dibanding *Brettanomyces custersii* 73% dan *Candida curiosa* 46%.

SIMPULAN

Penambahan khamir dalam fermentasi susu kerbau berpengaruh terhadap perubahan komposisi kimia dadih. Kemampuan *Kluyveromyces lactis* menggunakan asam amino, asam organik, dan karbohidrat lebih tinggi dibandingkan yang lain, yaitu masing-masing 9,15%, 1,01 ppm, 85% sedangkan penggunaan asam lemak lebih rendah dari *Brett custersii* yaitu 4,88% dibanding 8,41% dan lebih tinggi dari *Candida curiosa* yaitu 3,82%. Sebaliknya *Brett custersii* dan *Candida curiosa* di dalam proses fermentasi susu kerbau menggunakan asam amino, asam organik, dan karbohidrat lebih rendah dibandingkan dengan *Kluyveromyces lactis* yaitu masing-masing 6%, 0,47 ppm, 73% dan 1,5%, 0,48 ppm, dan 46%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amparo, Q., & Fleet, G.H. 2006. Yeast in Food and Beverages In: The yeast Hand Book. Springer-Verlag Germany.
- Barnett, J.A. & Pankhurst, R.J. 2000. The Yeast. North- Holland. Publishing Company.
- Bevilacqua, A.E. & Califano, A.N. 1989. Determination of organic acid in dairy products by high performance liquid chromatography. *J. Food Science* 54 (4),1076-1079.
- Coghe, S.K., Benoot, F., Delvaux, B. & Vanderhaegen. 2004. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation. *J Agric Food Chem* 52 (3): 602-608.
- De Jong, C. & H.T. Badings. 1990. Determination of free fatty acids in milk and cheese; Procedure for extraction, clean up and capillary gas chromatographic analysis. *J. High Resolution Chromatograph*. 13: 94-98.
- Fitz-Gerald, C.H., Deeth, H.C. & Snow, A.J. 1993. A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acid in milk product. *New Zealand: J. Dairy Sci. and Technology*.
- Flores, C.L., Rodriguez, T., Petit, T. & Gancedo, C. 2000. Carbohydrate and energy yielding metabolism in non-conventional yeast. *FEMS Microbiol Rev* 24: 507-529.
- Frazier, W.C. & Westhoff, D.C. 1988. Food Microbiology. Fourth Edition. McGraw-Hill Book
- Gadaga, T.H., Mutikamira, A.N. & Narvus, J.A. 2001. The growth and interaction of yeast and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT milk. *Int J food Microbiology*, 68: 21-23.
- Hohmann, S., 2000. Osmotic stress signaling and osmoadaptation in Yeast. *Microbiol. Mol., Biol. Rev*, 66: 300-372.
- Khopar, S.M. 2007. Konsep Dasar Kimia Analitik, Penerbit Universitas Indonesia Press.
- Nahvi, I., & Moeini, H. 2004. Isolation and Identification of Yeast Strains with High Beta-galactosidase Activity from Dairy Products. *Biotechnology*, 3(1): 34-50.
- Onilude, A.A., Sanni, A.I. & Ighalo, M.I. 1999. Effect of process improvement on the physicochemical properties of infant weaning food from fermented composite blends of cereals and soybeans. *Plant foods Hum. Nutr.*, 54:239-250.
- Osling, C.E., & Lindgren, S.E. 1990. Inhibition of enterobacteria and lysteria growth by lactic, acetic and formic acid. *J. Appl. Bacteriol.*, 73: 18-24.
- Ostergaard, S., Olsson, L. & Nielsen, J. 2000. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol. Biol. Rev.*, 64: 34-50.

- Rosenthal, I. 1991. *Milk and Dairy Product: Properties and Processing*. Weinheim, New York: Basel Cambridge: VCH Publisher. Inc.
- Roostita, L.B, & Fleet, G.H. 1996. The Occurance and Growth of Yeast in Camembert and Blueveined Cheese. *Int. J. Food Microbiol* 28: 393-404.
- Saito, H.K. & Tatebayashi. 2004. Regulation of osmoregulatory HOG MAPK cascade in yeast. *J. Biochem.*, 136: 267-272.
- Sugita, M. 1995. Dadih olahan susu kerbau tradisional Minang, manfaat, kendala, dan prospek dalam era industrialisasi Sumatra Barat. Di dalam Penerapan teknologi hasil ternak untuk peningkatan gizi masyarakat. Universitas Andalas. Padang.
- Verachter, H. & Dawoud, E. 1990. Yeast in Mixed Cultures. *Louvaine Brew. Lett.*, 3: 15-40.