

Karakter Biokimia dan Profil Protein Yogurt Kambing PE Difermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Lulus Khafidhotul Khoiriyah dan Fatchiyah*

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Abstrak

Yogurt merupakan salah satu makanan fermentasi dari susu dengan penambahan Bakteri Asam Laktat (BAL). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui karakter biokimia dan profil protein yogurt kambing PE difermentasi BAL. Susu kambing dan sapi di perah pada pagi hari dan dibagi menjadi 5 golongan: susu segar (sapi dan kambing), susu fermentasi kultur tunggal dengan starter bakteri *L. acidophilus*, kultur ganda dengan starter bakteri *L. acidophilus+S. thermophilus*, dan kultur campuran dengan starter komersial (yogurt *mix*). Protein susu dan yogurt diisolasi dan dimurnikan dengan 5x volume ekstrak buffer lisis (4mM PMSF, 1x PBS, 0,05% Tween 20) dan diekstraksi dengan sonikasi amplitudo 20%. Separasi pita protein dengan SDS-PAGE *discontinuous separating gel* 15% dan analisis hasil elektroforesis dihitung berat molekulnya berdasarkan protein standar menggunakan Rf. Analisis densitas profil protein menggunakan *software Quantity One* dan SPSS 15.0. Hasil menunjukkan bahwa pada susu sapi dan kambing segar, kultur tunggal dan ganda, serta yogurt *mix* ditemukan K-casein, β -casein, dan α -S1 casein pada berat molekul antara 30-38 kDa. Sedangkan pada susu kambing segar dan yogurt *mix* pada berat molekul 36 kDa yaitu α -S2 casein. Secara umum komposisi protein antara susu sapi dan susu kambing adalah sama, tetapi masing-masing memiliki pita protein yang berbeda, sehingga diduga memiliki fungsi yang berbeda pula.

Kata kunci: BAL, kasein, SDS-PAGE, susu kambing Etawah

Abstract

*Yogurt is one of functional food which fermented from milk by using Lactic Acid Bacteria (LAB). The aim of this study is to detect biochemistry characterization and protein profiles of Etawah goat milk yoghurt fermentation of LAB. Goat and bovine milk were squeezed in early morning and immediately divided into six-group: fresh milk, milk fermented by single bacteria starter *L. acidophilus*, double bacteria starter *L. acidophilus+S. thermophilus*, and commercial starter as yoghurt mix. To isolated and purified, protein milk and yoghurt were digested by 5x volume of lysis buffer (4mM PMSF+PBS-T) and extracted by sonication with 20% amplitude. The protein bands were separated by 15% discontinuous SDS-PAGE and then analysis Rf molecule weight protein each band by using Rf standard, and density of each band analyzed by Quantity One software. The result our study are found that K-casein, β -casein, and α -S1 casein were found in fresh bovine and goat milk, single and double culture, and yoghurt mix in molecule weight between 30-38 kDa. While in fresh goat milk and yoghurt in 36 kDa molecule weight are α -S2 casein. In general, the protein composition of bovine milk and goat milk is the similar, but each has different protein bands, therefore they presumed to have different function as well.*

Key words: Etawah goat milk, LAB, casein, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Kambing perah yang banyak dikembangkan di Indonesia umumnya kambing Peranakan Etawa yang menjadi salah satu ternak *indigenous* dan memiliki potensi genetik yang tinggi sebagai penghasil dwiguna (daging dan susu). Akan tetapi, masih lebih dominan sebagai sumber daging jika dibandingkan dengan sumber susu, karena susu kambing belum banyak dikonsumsi secara luas oleh masyarakat seperti susu sapi [1]. Meskipun masyarakat Indonesia masih belum banyak mengonsumsi susu kambing, diduga alasan utama karena aroma dari susu kambing itu sendiri.

Namun sebagian masyarakat yang beranggapan bahwa susu kambing dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, seperti: asma, TBC, alergi, dan kanker sudah mulai berpindah untuk lebih memilih mengonsumsi susu kambing [2, 3]. Walaupun belum terbukti secara ilmiah anggapan yang berkembang di sebagian masyarakat tersebut, namun Padaga *dkk.* (2010) melaporkan diduga ada satu polipeptida aktif yang menjadikan susu kambing berkhasiat dan dapat digunakan sebagai terapi penyakit-penyakit tersebut [4].

Untuk itu, susu kambing dapat dijadikan berbagai bentuk macam olahan, seperti: yogurt yang merupakan salah satu makanan fermentasi dengan penambahan BAL, seperti: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Streptococcus thermophilus*. Selama proses fermentasi, terjadi perubahan secara fisik, perubahan komponen zat gizi, dan adanya

* Alamat Korespondensi
Fatchiyah

Email : fatchiya@ub.ac.id

Alamat : Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang 65154

produksi metabolit primer dan sekunder. Pada proses fermentasi dengan adanya aktivitas enzim dari mikroba, komponen-komponen seperti pati, lemak, protein, zat toksik, dan senyawa-senyawa lain dapat dipecah. Teknik fermentasi ini banyak diaplikasikan pada bahan pangan terutama susu, karena adanya efek peningkatan zat gizi dan pengaruh positif bagi kesehatan [5]. Selain itu, pada proses fermentasi terutama pada yogurt, akan terjadi pemecahan gula laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Sehingga masalah *intolerance* dapat teratasi [6, 3].

Akan tetapi, pembuatan yogurt dengan bahan baku susu kambing masih jarang dilakukan dan belum banyak di eksplorasi. Oleh karena sebagian masyarakat menganggap bahwa susu kambing berkhasiat, maka diduga ada suatu biopeptida aktif yang dapat digunakan untuk terapi penyakit. Sehingga dilakukan penelitian ini untuk mengetahui karakter biokimia dan profil protein yogurt kambing PE difermentasi (BAL) yang berpotensi terhadap peningkatan nilai gizi sebagai pangan fungsional dengan kandungan senyawa biopeptida aktif.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini tersertifikasi Kelaiakan Etik No. 90-KEP-UB tertanggal 29 Maret 2012.

Aktivasi kultur BAL

Digunakan isolat bakteri *S. thermophilus* strain FNCC 0040 dan *L. acidophilus* strain FNCC 0051 berasal dari Laboratorium Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Kultur bakteri diremajakan pada media *MRS Agar* untuk mengaktifkan pertumbuhan bakteri. Starter bakteri diinkubasi pada suhu optimal pertumbuhan *S. thermophilus* suhu 38°C dan *L. acidophilus* suhu 45°C masing-masing selama 24-48 jam. Kemudian diinokulasikan pada media *MRS Broth* sebanyak 1 oose dan diinkubasi selama 24-48 jam pada masing-masing suhu optimum. Sentrifuse dengan kecepatan 12000 rpm pada suhu 4°C selama 5 menit. Pelet ditambahkan NaCl fisiologis 0,85% dengan perbandingan (1:1) dan divorteks. Dilakukan sentrifugasi kembali, kemudian diinokulasikan pada susu masing-masing kultur bakteri sesuai dengan densitas sel.

Persiapan susu fermentasi

Penelitian ini menggunakan susu kambing Etawah segar yang diperah pada pagi hari, berasal dari Unit Pelaksana Teknis Ternak Daerah I Singosari. Susu dipasteurisasi suhu mencapai 80°C-90°C. Didinginkan hingga mencapai suhu ±43°C didalam LAF dan diukur pH awal. Kultur tunggal dengan starter *L. acidophilus* (La), kultur ganda dengan kombinasi starter *S. thermophilus*

(St) masing-masing dengan CFU 10⁶/ml, dan kultur campuran dengan starter komersial yogurt *mix* (YM) sebanyak 5%, kemudian diinkubasi pada suhu 45°C selama 4-6 jam dan diukur pH akhir [7].

Isolasi protein

Sampel sebanyak 1 ml ditambah 4mM PMSF+PBS-T sebanyak 5 kali volume. Campuran larutan di sonikasi dengan amplitudo 20% selama 10 menit, lalu disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan ditambahkan larutan etanol dingin (1:1), kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 12 jam. Sampel disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm suhu 4°C selama 15 menit. Pelet dikeringkan hingga etanol hilang. Ditambahkan dengan Tris-HCl pH 6,8 (1:1), disimpan pada suhu -20°C.

Analisis SDS-PAGE

SDS-PAGE yang digunakan dengan sistem *discontinuous* pada *separating gel* 15%. Metode elektroforesis ini berdasarkan metode Laemmli. Sampel protein yang telah diukur kadar proteinya dengan Nanospektro ditambah Tris-Cl pH 6,8 dan *Reducing Sample Buffer* (1:1). Sampel dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit, *Running* elektroforesis dilakukan pada *constant current* 200 mA. Distribusi pita diketahui dengan pewarnaan gel *Coomasie Brilliant Blue* (CBBR-250). Pita protein hasil elektroforesis dihitung berat molekulnya. Ditentukan dengan mengukur mobilitas molekul protein dalam gel poliakrilamid berdasarkan kurva standar berat molekul dari protein standar. Analisis profil protein dilakukan dengan menghitung densitas pita protein yang terlihat dalam gel dengan *software Quantity One*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat induk pada media *MRS Agar* berupa *Agar slants* di aktivasi menggunakan media *MRS Broth* agar pertumbuhannya optimum pada suhu yang sesuai. Sehingga dapat dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing isolat. Pada (Tabel 1.) menunjukkan bahwa bakteri *L. acidophilus* memiliki jumlah koloni yang lebih banyak dibandingkan dengan *S. thermophilus*. Hal ini menunjukkan bahwa penempatan pada suhu optimum masing-masing bakteri masih memiliki aktivitas pertumbuhan yang berbeda-beda. Karakter morfologi dari kedua isolat menunjukkan bahwa BAL memiliki bentuk *bacil* pada *L. acidophilus* dan berbentuk *coccus* pada *S. thermophilus*. Gram positif berwarna ungu yang disebabkan karena zat warna kristal violet-iodin yang tetap dipertahankan meskipun dicuci larutan alkohol. Hal ini dikarenakan adanya dinding sel bakteri berupa peptidoglikan tebal, sehingga warna akan tetap dapat dipertahankan.

Jumlah koloni starter yang digunakan dari kedua BAL tersebut adalah 10^6 CFU/ml pada (Tabel 1.). Jumlah tersebut sudah memenuhi untuk digunakan sebagai starter yogurt. Menurut Li et al. (2012) kedua BAL tersebut merupakan probiotik yang memiliki manfaat jika ditambahkan pada bahan makanan berjumlah minimum 10^6 CFU/ml yang diperlukan dalam setiap produk makanan [8]. Shah (1999) juga menyarankan jumlah tersebut, agar viabilitas jumlah probiotik masih dapat dipertahankan [9]. Elizabeth et al. (2006); Kailasapathy and James (2000) juga menyatakan jumlah tertinggi BAL yang diperlukan untuk manfaat kesehatan antara 10^8 - 10^{11} CFU/ml. Akan tetapi, untuk makanan yang mengandung probiotik seperti yogurt jumlah minimal yang diperlukan adalah 10^6 CFU/ml [10,11].

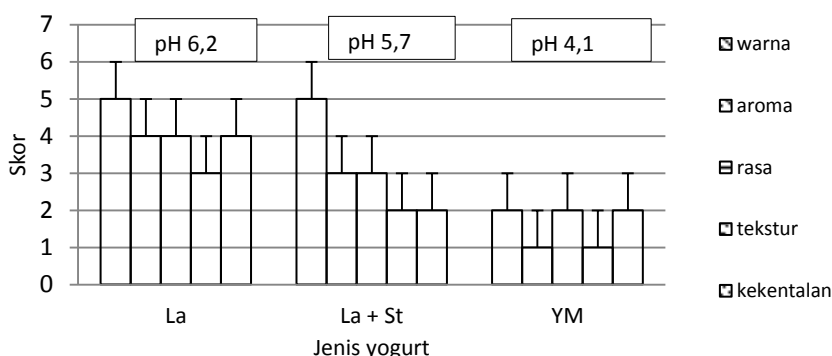
Pengamatan viabilitas pertumbuhan mikroba diikuti dengan pengukuran terhadap nilai pH (Gambar 1.). Nilai pH terendah terdapat pada susu yang difermentasi dengan starter komersial,

sedangkan pada kultur tunggal *L. acidophilus*, dan ganda *S. thermophilus* dengan kombinasinya masih berkisar antara pH 5-6. Menurut Li et al. (2012) starter *L. acidophilus* membutuhkan waktu minimal 12 jam inkubasi untuk menghasilkan metabolit primer berupa asam laktat, sedangkan untuk starter *S. thermophilus* menurut Ramadzanti (2006) memiliki sifat menyukai suasana mendekati pH 6,5. Starter ini dapat menstimulasi pertumbuhan dari starter lain dengan mensintesis asam format [8, 12].

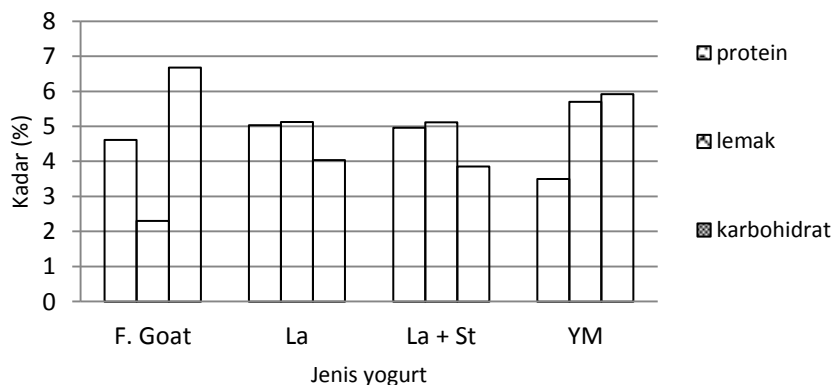
Dengan meningkatnya jumlah populasi mikroba maka aktivitas metabolismenya juga akan meningkat. Hasil metabolisme sebagian besar berupa asam laktat yang diikuti oleh adanya penurunan nilai pH yang terjadi akibat koagulasi protein dari proses fermentasi susu [8, 13]. Asam laktat merupakan produk metabolit primer sehingga produksinya akan semakin tinggi dengan semakin meningkatnya pertumbuhan sel.

Tabel 1. Karakter morfologi dan jumlah koloni kultur BAL

Kultur	Suhu optimum	Karakter morfologi	Jumlah koloni (CFU/ml)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> strain FNCC 0051	45°C	Berbentuk <i>bacil</i> , Gram positif, katalase negatif	$5,74 \times 10^6$
<i>Sterptococcus thermophilus</i> strain FNCC 0040	38°C	Berbentuk <i>coccus</i> , Gram positif, katalase negatif	$1,51 \times 10^6$



Gambar 1. Karakter susu yang difermentasi BAL. (La = *L. acidophilus*, St = *S. thermophilus*, YM = Yogurt mix)



Gambar 2. Uji proximat susu kambing dan susu yang difermentasi BAL. (F.Goat = *Fresh Goat*, La = *L. acidophilus*, St = *S. thermophilus*, YM = *Yogurt mix*)

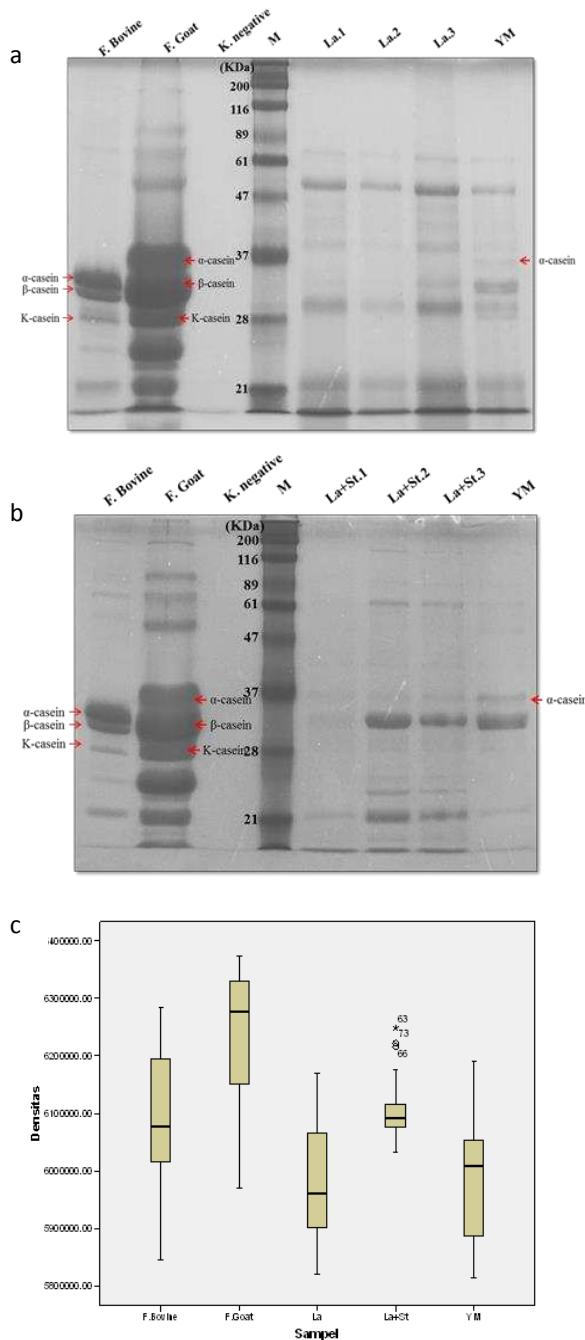
Uji organoleptik pada (Gambar 1) yang digunakan yaitu uji rangking, untuk mengetahui kondisi organoleptik masing-masing yogurt sesuai dengan kondisinya. Meliputi: warna, aroma, rasa, tekstur, dan kekentalan. Warna putih disebabkan karena kandungan kasein dan tidak adanya kandungan karoten, sedangkan warna yang agak kekuning-kuningan disebabkan oleh butiran lemak yang terdapat didalam susu kambing. Proses fermentasi susu akan menghasilkan produk dengan cita rasa tinggi serta tekstur yang lembut. Menurut Legowo (2007) komponen susu yang paling berperan selama proses fermentasi yaitu: laktosa dan kasein. Laktosa digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon dan energi dengan hasil metabolisemenya berupa asam laktat dan menyebabkan pH susu turun menjadi asam. Suasana asam menyebabkan keseimbangan kasein terganggu dan pada titik isoelektrik \pm pH = 4,6. Kasein akan menggumpal membentuk koagulan dan terbentuk susu semi padat [14]. Sehingga sesuai dengan pernyataan Ramadzanti (2006) bahwa asam-asam lemak berantai pada susu kambing, seperti: kaproat, kaprilat, dan kaprat dapat menimbulkan bau yang khas. Hasil metabolisme dari BAL juga akan membentuk asam laktat berupa senyawa diasetil dan asetoin yang memberikan bau dan rasa yogurt yang khas. Tekstur pada yogurt pada umumnya lembut karena adanya pemecahan molekul protein menjadi peptida-peptida sehingga butiran-butiran pada susu akan berubah menjadi molekul yang lebih kecil yang disebabkan karena aktivitas dari BAL pada saat fermentasi. Hasil dari fermentasi susu akan berpengaruh pada kekentalan susu, karena molekul yang telah dipecah tersebut akan mengalami homogenitas, sehingga kekentalan dari susu yang difermentasi akan semakin meningkat [15].

Hasil uji proksimat (Gambar 2) terjadi penurunan kadar protein yang disebabkan adanya aktivitas katabolisme BAL yang memecah protein menjadi peptida-peptida. Pada (Gambar 2) menunjukkan bahwa kadar protein berbanding terbalik dengan kadar karbohidrat. Kadar protein susu kambing sebesar 4,62%, mengalami penurunan pada susu yang difermentasi dengan kombinasi BAL kultur tinggal *L. acidophilus*, dan ganda *S. thermophilus* dengan kombinasinya dan yogurt *mix* sebesar 1,54%. Sedangkan kadar karbohidrat susu kambing sebesar 6,68%, mengalami peningkatan pada susu fermentasi sebesar 2,24%. Menurut Sunarlim dan Setiyanto (2001) kandungan kadar lemak yogurt menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) sebesar 3,5% [15], berdasarkan (Gambar 2) kadar protein sebesar 3,5%. Sodiq dan Abidin (2008)

melaporkan bahwa kandungan protein pada yogurt merupakan jumlah total dari protein bahan dasar yang digunakan (susu) dan protein dari BAL. Selama proses fermentasi, protein akan dihidrolisis menjadi komponen-komponen terlarut untuk keperluan pembentukan protein sel BAL. Hanya 20% dari komponen nitrogen terlarut yang digunakan untuk pertumbuhannya [1].

Pada (Gambar 2) juga menunjukkan peningkatan kadar lemak dari susu kambing segar sebesar 2,13% dan meningkat sebesar 3,41%. Hal ini disebabkan karena jumlah butiran lemak dalam susu kambing memiliki diameter yang lebih kecil dan homogen dibandingkan dengan susu sapi, sehingga selama proses fermentasi akan meningkatkan jumlah kadar lemak. Akan tetapi pada susu yang difermentasi terjadi penurunan. Menurut Sunarlim dan Setiyanto (2008) hal ini terjadi karena adanya peningkatan asam laktat akibat proses fermentasi oleh BAL yang memiliki aktifitas lipolitik untuk mereduksi lemak susu, sehingga kadar lemak menurun karena proses lipolysis [15]. Sunarlim dan Setiyanto (2001) menyatakan bahwa kandungan kadar lemak yogurt menurut SNI maksimal 3,8% [16]. Sedangkan berdasarkan (Gambar 2) yogurt dari susu kambing memiliki kandungan lemak sebesar 5,7%. Sehingga kurang memenuhi syarat SNI untuk yogurt berbahan dasar susu ini.

Hasil separasi menggunakan SDS-PAGE ditampilkan pada Gambar 3a dan 3b. Penentuan berat molekul pada penelitian ini dilakukan dengan bantuan marka atau penanda. Menurut Cavalli *et al.* (2006) untuk menentukan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung Rf dari masing-masing pita, dari marka yang sudah diketahui berat molekulnya dengan menggunakan rumus Rf [17]. Analisis profil protein pada (Gambar 3a, 3b) terlihat pita protein dengan mobilitas terendah sampai tertinggi yang terletak antara berat molekul 30-38 KDa, yaitu: K-casein, β -casein, α -S1, dan α -S2 casein yang terdapat pada susu sapi segar, susu kambing segar, susu fermentasi dan yogurt *mix*. Akan tetapi, pada susu kambing segar dan yogurt *mix* terdapat protein spesifik pada berat molekul 36 KDa, yaitu: α -S2 casein. Jenis protein α -S2 casein ini yang secara spesifik membedakan antara protein-protein yang terkandung dalam susu kambing dan susu sapi. Menurut Bonizzi *et al.* (2009); Haenlein (2004); Greppi *et al.* (2008); Zevchak (2007) secara keseluruhan komposisi dari protein susu terdiri dari dua fraksi utama yaitu: kasein yang berjumlah 80%, terdiri dari: α -S1casein dan α -S2 casein, β -casein, K-casein. Sedangkan whey berjumlah 20%, terdiri dari: α -laktoalbumin, β -laktoglobulin, dan laktalbumin [3,18-20].



Gambar 3. Profil protein yogurt *separating gel* 15% SDS-PAGE, (a) susu yang difermentasi La konsentrasi 1,20 mg/ml; (b) susu yang difermentasi La+St konsentrasi 1,11 mg/ml; (c) Nilai densitas ((F.Bovine = *Fresh Bovine*, F.Goat = *Fresh Goat*, K.negative = Kontrol negatif, M = Marker, La = *L. acidophilus*, St = *S. thermophilus*, YM = *Yogurt mix*)

Hasil analisis densitas pita protein pada (Gambar 3c) menunjukkan bahwa rata-rata nilai densitas tertinggi ada pada susu kambing segar dengan nilai sebesar 6234300,29 INT/mm² dan nilai median sebesar 6277223 INT/mm². Akan tetapi nilai densitas dari susu sapi dan susu yang difermentasi tidak berbeda, artinya bahwa

dengan perhitungan konsentrasi yang sama, maka distribusi pita protein hasil SDS-PAGE juga memiliki nilai densitas yang tidak berbeda nyata.

KESIMPULAN

Profil protein yang terletak pada BM 30-38 KDa, yaitu: K-casein, β-casein, α-S1 casein, dan α-S2 casein. Sedangkan profil protein spesifik yang hanya ditemukan pada susu kambing segar dan yogurt mix teletak pada berat molekul 36 KDa, yaitu: α-S2 casein. Komposisi protein secara umum antar susu sapi dan susu kambing adalah sama, tetapi masing-masing memiliki pita protein yang berbeda. Sehingga diduga memiliki fungsi yang berbeda pula.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Program RISTEK Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2012-2014, Program Desentralisasi DIKTI KEMENDIKBUD. Laboratorium BioSains dan Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sodiq, A. dan Z. Abidin. 2008. Meningkatkan Produksi Susu Kambing Peranakan Etawa. PT. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- [2] Susilorini, T.E., M.E. Sawitri, Muharliem. 2009. Budidaya 22 Ternak Potensial. Penebar Swadaya. Jakarta.
- [3] Greppi, G.F., P. Roncada, R. Fortin. 2008. Protein Components of Goat's Milk. Dairy Goats Feeding and Nutrition. Italy. pp.71-94.
- [4] Padaga, M., Savitry M. E., Murwani S. 2010. Potensi Protein Spesifik Susu Kambing sebagai Immunomodulator dan Immunogen: Upaya Pengembangan Pangan Nutrasetika. Laporan Penelitian Universitas Brawijaya. Malang.
- [5] Khalil, A.A., 2006. Nutritional improvement of an Egyptian breed of mung bean by probiotic lactobacilli. J. Biotechnology. Egypt. pp.206-212.
- [6] Effendi, M.H., S. Hartini, A.M. Lusiastuti. 2009. Peningkatan kualitas yogurt dari susu kambing dengan penambahan bubuk susu skim dan pengaturan suhu pemeraman. J. Penelit. Med. Eksakta. pp. 185-192.
- [7] Garbut J. 1997. Essensial of Food Microbiology Chapter 10. London: Arroll a Member of Hodder Headline. P: 190-193.
- [8] Li, S., H. Walsh, S. Gokavi, M. Guo. 2012. Interactions between *Lactobacillus acidophilus* strains and the starter cultures, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during fermentation of goats'

- milk. J. Biotechnology. USA. pp.11271–11279.
- [9] Shah, N.P. 1999. Symposium: Probiotic Bacteria, Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. Australia.
- [10] Elizabeth, Ng W., M. Yeung, P.S. Thong. 2006. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. California.
- [11] Kailasapathy, K. & J. Chin. 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. J. Immunology and CellBiology. Australia. pp.80-88.
- [12] Ramadzanti, A. 2006. Aktivitas Protease dan Kandungan Asam Laktat pada Yoghurt yang Dimodifikasi *Bifidobacterium bifidum*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [13] Kunaepah, U. 2009. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total. J. Media Gizi Pangan. Makassar. pp.13-20.
- [14] Legowo, A. M. 2006. Teknik Pengolahan Susu. Program Studi Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro: Semarang.
- [15] Sunarlim, R. dan H. Setiyanto. 2001. Penggunaan Berbagai Tingkat Kadar Lemak Susu Kambing dan Susu Sapi Terhadap Mutu dan Cita Rasa Yoghurt. BPT. Bogor. pp.371-378.
- [16] Sunarlim, R. dan H. Setiyanto. 2008. Pengaruh Kombinasi *Lactobacillus acidophilus* dengan Starter Yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) Terhadap Mutu Susu Fermentasi. BPT. Bogor. pp.317-326.
- [17] Cavalli S.V., S.V. Silva, C. Cimino, F.X. Malcata, N. Priolo. 2006. Hydrolysis of caprine and ovine milk proteins, brought about by aspartic peptidases from *Silybum marianum* flowers: Argentina-Portugal. pp.1-7.
- [18] Bonizzi, I., J.N. Buffoni, M Feligini. 2009. Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. J. Chromatography. Italy. pp.165-168.
- [19] Haenlein, G.F.W. 2004. Goat milk in human nutrition. J. SmallRumres. United States of America. pp.155-163.
- [20] ZEVCHAK, S.E. 2007. The Impact of Agglomeration on Flavor and Flavor Stability of Whey Proteins. The Thesis. The Graduate

Faculty of North California States University.
United States of America.