

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Bahan

4.1.1. Bahan untuk Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolostrum sapi yang dihasilkan dari induk sapi setelah 4-5 hari melahirkan anak sapi, susu UHT *full cream* “Ultramilk”, kultur stok *Streptococcus thermophilus* (ST) FNCC 0040 dan *Lactobacillus bulgaricus* (LB) FNCC 0041, susu skim bubuk “Sunlac”, gula pasir putih “Gulaku”, media *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRS Broth) (Pronadisa Cat. 1215.00), agar “*Bacto Agar*”, Pepton *from Meat* (MERCK 1.07224,1000), dan akuades.

Bahan-bahan tersebut diperoleh dari berbagai sumber antara lain kolostrum sapi (dihasilkan dari induk sapi setelah 4-5 hari melahirkan anak sapi) diperoleh dari peternakan sapi perah “RUKMINI” yang beralamat di jalan bendul merisi gang besar selatan 39 Surabaya, Susu UHT dan gula pasir diperoleh dari supermarket “Carrefour”, susu skim diperoleh dari supermarket “Hokky” Surabaya, akuades dari “Biochem Surabaya”, kultur ST dan LB serta semua media diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Spesifikasi untuk bahan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.1.2. Bahan untuk Analisa

Bahan-bahan analisa yang digunakan dalam penelitian ini adalah, MRS Broth (merk “Pronadisa Cat. 1215.00”), Agar “*Bacto Agar*”(merk “MERCK 214010”), Pepton *from meat* (merk “Merck 1.07224”). Spesifikasi MRS Broth, Agar “*Bacto Agar*”, dan Pepton *from meat*

terdapat pada Lampiran 2. Bahan pembantu yang digunakan untuk analisa adalah akuades, alkohol 70%, alkohol 96%, dan spiritus.

4.2. Alat

4.2.1. Alat untuk Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah inkubator “WTC Binder”, *waterbath* “LabTech”, autoklaf, oven “WTC Binder”, timbangan digital “Mettler Toledo”, *refrigerator* “Sharp”, cup plastik “Lionstar” 145mL, gelas ukur 100 mL, pipet ukur 1 mL; 10 mL, erlenmeyer 250 mL, thermometer 100°C, *beaker glass* 600 ml, bunsen, kaki tiga, kassa asbes, panci, penangas air, kawat ose berkolong, sumbat kapas, kertas coklat, plastik pp, dan korek api.

4.2.2. Alat untuk Analisa

Alat-alat yang digunakan untuk analisa adalah pH meter “Trans Instrument TI-2100”, erlemeyer 250 ml “Schoot Duran”, pipet ukur 1 ml; 5 ml, gelas ukur 100 mL “Pyrex”, tabung reaksi “Schoot Duran”, rak tabung reaksi, cawan petri, batang pengaduk, spiritus, dan bunsen.

4.3. Waktu dan Tempat Penelitian

4.3.1. Waktu Penelitian

Penelitian pendahuluan dilaksanakan pada bulan Juli 2013 sampai bulan September 2013. Penelitian utama dilaksanakan pada bulan Desember 2013 sampai Januari 2014.

4.3.2. Tempa Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan, Laboratorium Kimia-Biokimia Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

4.4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan Faktor Tunggal yaitu perbedaan konsentrasi

susu skim pada pembuatan yogurt kolostrum sapi sehingga diperoleh 6 perlakuan. Masing-masing perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga akan diperoleh total 24 unit eksperimen. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.1. Faktor perlakuan dalam penelitian ini adalah :

S_0 : Susu skim 0% (b/v).

S_1 : Susu skim 1% (b/v).

S_2 : Susu skim 2% (b/v).

S_3 : Susu skim 3% (b/v).

S_4 : Susu skim 4% (b/v).

S_5 : Susu skim 5% (b/v).

Tabel 4.1. Rancangan Penelitian

Penambahan susu skim (S)					
S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
$S_0(1)$	$S_1(1)$	$S_3(1)$	$S_3(1)$	$S_4(1)$	$S_5(1)$
$S_0(2)$	$S_1(2)$	$S_3(2)$	$S_3(2)$	$S_4(2)$	$S_5(2)$
$S_0(3)$	$S_1(3)$	$S_3(3)$	$S_3(3)$	$S_4(3)$	$S_5(3)$
$S_0(4)$	$S_1(4)$	$S_3(4)$	$S_3(4)$	$S_4(4)$	$S_5(4)$

Parameter yang akan diuji adalah total bakteri asam laktat, pH dan total asam laktat yogurt kolostrum. Data yang diperoleh dari masing-masing pengujian akan dianalisa dengan statistik menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada $\alpha=5\%$ untuk mengetahui apakah perlakuan memberikan pengaruh nyata pada setiap parameter pengujian. Apabila hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan nyata, maka dilanjutkan dengan uji perbedaan untuk menentukan taraf perlakuan mana yang memberikan perbedaan nyata. Uji perbedaan dilakukan dengan Uji beda jarak nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test/DMRT*) pada $\alpha = 5\%$

4.5. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan melalui dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian lanjutan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan kisaran susu skim yang digunakan terhadap kolostrum sapi pada pembuatan yogurt kolostrum. Penelitian lanjutan menerapkan hasil penelitian sesuai dengan faktor yang ditentukan dan menganalisa perlakuan yang dilaksanakan dalam percobaan.

4.5.1. Pembuatan Yogurt Kolostrum

Proses pembuatan yogurt kolostrum berdasarkan formulasi unit terdapat pada Tabel 4.2 dengan diagram alir penelitian pembuatan yogurt dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Tabel 4.2. Formulasi Pembuatan *Yogurt Kolostrum Sapi*

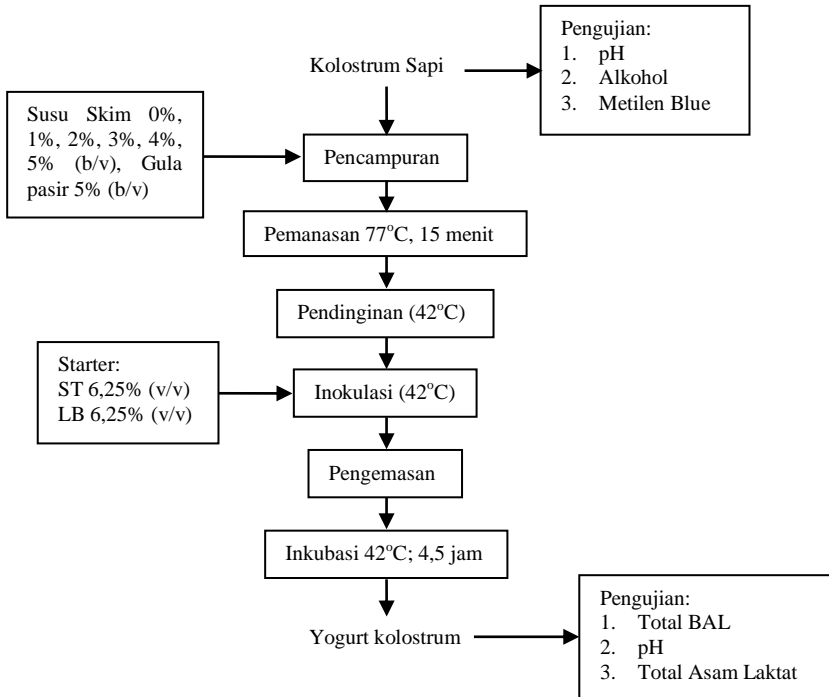
Bahan-bahan	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Kolostrum sapi (mL)	400	400	400	400	400	400
Susu skim (^b / _v) (g)	0	4	8	12	16	20
Gula 5% (^b / _v)* (g)	20	20	20	20	20	20
Starter ST 6,25% (^v / _v)* (mL)	25	25	25	25	25	25
Starter LB 6,25% (^v / _v)* (mL)	25	25	25	25	25	25
Total unit percobaan	470	474	478	482	486	490

Keterangan:

* = dihitung dari kolostrum sebelum dipanaskan (400mL).

Contoh perhitungan (untuk S₁) :

- Kolostrum sapi → 400 mL.
- Susu skim 0% (^b/_v) → $0/100 \times 400 \text{ mL} = 0 \text{ g}$.
- Gula pasir 5% (^b/_v) → $5/100 \times 400 \text{ mL} = 25 \text{ g}$.
- Starter LB 6,25% (^v/_v) → $6,25/100 \times 400 \text{ mL} = 25 \text{ mL}$.
- Starter ST 6,25% (^v/_v) → $6,25/100 \times 400 \text{ mL} = 25 \text{ mL}$.



Gambar 4.1. Diagram Alir Pembuatan Yogurt Kolostrum Sapi
Sumber: Tamime dan Robinson, 2007 dengan modifikasi

Penjelasan dari tahapan pembuatan yogurt kolostrum adalah :

a. Pasteurisasi

Pasteurisasi dilakukan pada suhu 77°C selama 15 menit. Pasteurisasi dilakukan untuk membunuh semua bakteri patogen pada susu sapi segar yang akan digunakan sehingga tidak mempengaruhi pertumbuhan BAL.

Pasteurisasi bertujuan untuk mengurangi kandungan air dan oksigen pada susu selain itu pemanasan juga menyebabkan denaturasi protein whey sehingga dapat diperoleh konsistensi yang baik dan seragam pada produk akhir (Buckle dkk., 2009).

b. Pendinginan

Pendinginan dilakukan hingga mencapai 40-45°C untuk mengondisikan suhu pertumbuhan yang optimum bagi BAL (Hui, 1992).

c. Inokulasi

Inokulasi adalah pemberian *starter* LB dan ST pada susu yang telah bersuhu 42°C. Penambahan masing-masing untuk LB dan ST adalah 6,25% ($\frac{v}{v}$) (perbandingan = 1 : 1).

d. Pengemasan

Pengemasan yogurt dilakukan pada kemasan cup *polipropilene* kapasitas 145 mL yang sebelumnya telah disemprot dengan alkohol dan disterilkan dengan sinar UV selama satu jam. Pelabelan dilakukan untuk membedakan antara satu perlakuan dengan yang lain.

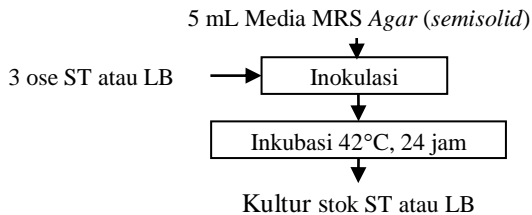
e. Inkubasi

Inkubasi dilakukan selama kurang lebih 4,5 jam untuk memberi kesempatan bagi LB dan ST dalam memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat. Inkubasi dilakukan didalam inkubator pada suhu 42°C yang merupakan suhu pertumbuhan optimum BAL.

4.5.2. Pembuatan Starter Yogurt

4.5.2.1. Peremajaan Kultur Stok

Kultur stok yang digunakan dalam pembuatan yogurt adalah kultur stok LB dan ST. Tahapan peremajaan kultur stok dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Diagram Alir Peremajaan Kultur Stok BAL
Sumber: Fardiaz, 1989

Penjelasan proses:

1. Inokulasi

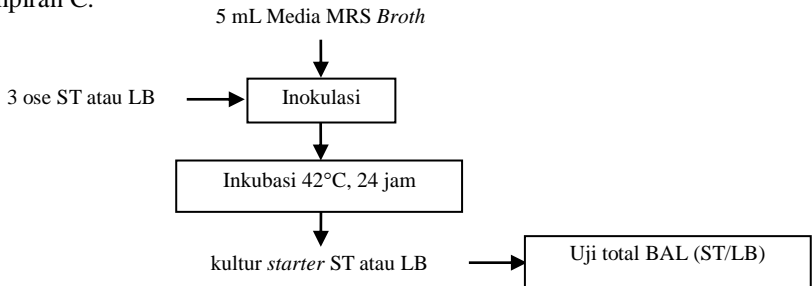
Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan starter ST dan LB ke dalam masing-masing media *de Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) agar dengan menggunakan ose berkolong sebanyak 3 ose. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

2. Inkubasi

Tahap inkubasi bertujuan untuk memberi kesempatan bagi ST dan LB untuk tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi yang ada pada media MRS agar. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

4.5.2.2. Pembuatan Kultur Starter

Tahapan pembuatan kultur *starter* dapat dilihat pada Gambar 4.4. Penghitungan jumlah bakteri pada kultur *starter* terdapat pada Lampiran C.



Gambar 4.3. Diagram Alir Pembuatan Kultur *Starter* BAL

Sumber: Fardiaz, 1989

Penjelasan proses:

1. Inokulasi Starter

Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan starter ST dan LB ke dalam masing-masing media *de Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) *broth*

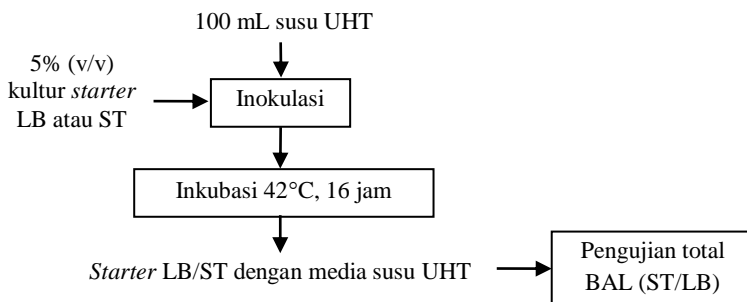
dengan menggunakan ose berkolong sebanyak 3 ose. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

2. Inkubasi

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk memberi kesempatan bagi ST dan LB untuk tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi yang ada pada media MRS *broth*. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

4.5.2.3. Pembuatan Starter LB dan ST pada Susu UHT

Tahapan pembuatan kultur *starter* dapat dilihat pada Gambar 4.4. Penghitungan jumlah bakteri pada kultur *starter* terdapat pada Lampiran C.



Gambar 4.4. Diagram Alir Pembuatan Kultur *Starter* BAL pada susu UHT Sumber: Fardiaz, 1989

Penjelasan proses:

1. Inokulasi Starter

Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan kultur murni LB ke dalam susu UHT sebanyak 5% dari volume larutan susu UHT yang digunakan. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

2. Inkubasi

Tahapan ini bertujuan untuk memberi kesempatan bagi LB untuk memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat dan metabolit lain. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

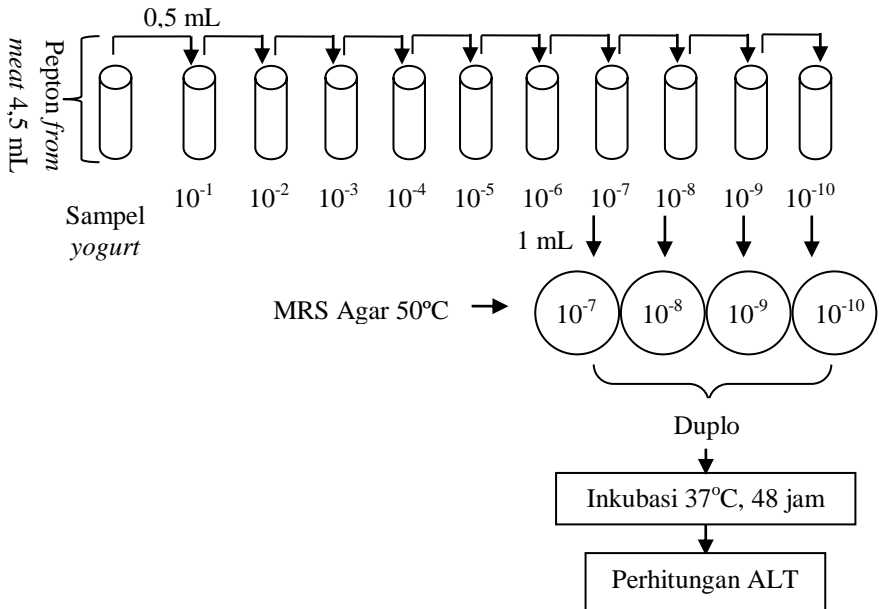
4.6. Metode Penelitian

4.6.1. Pengujian Total Bakteri Asam Laktat pada Yogurt dengan ALT/Angka Lempeng Total (Fardiaz, 1992)

Tahapan pengujian ALT adalah sebagai berikut:

1. Pencairan media MRS Agar (agar 1,2%) dengan cara pemanasan pada penangas air, kemudian dilakukan pendinginan pada suhu 50°C selama 5 menit.
2. Pembuatan *pepton from meat* 0,1% dan dipepet masing-masing 4,5mL ke dalam satu seri tabung reaksi.
3. Yogurt diambil sebanyak 0,5 mL dengan menggunakan pipet steril, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi air pepton 0,1% sebanyak 4,5 mL dan dihomogenkan (pengenceran 10⁻¹).
4. Pemipetan 0,5 mL dari pengenceran 10⁻¹ dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 mL air pepton 0,1% (pengenceran 10⁻²). Ulangi langkah ini sampai pengenceran 10⁻¹⁰. Pada pengenceran 10⁻⁷-10⁻¹⁰ di ambil 1 mL kemudian masukkan cawan petri steril.
5. Menuangkan media MRS agar yang sudah didinginkan ke dalam masing masing cawan petri ± 10mL kemudian dirotasi angka delapan dan didiamkan hingga media memadat.
6. Menginkubasi dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 48 jam
7. Melakukan penghitungan Total BAL.

8. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.
9. Suatu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni



Gambar 4.5. Diagram Alir Pengujian Viabilitas Bakteri *Yogurt* dengan Angka Lempeng Total (ALT)

Ciri-ciri koloni yang dihitung sebagai BAL adalah sebagai berikut:

1. Bentuk koloni: bulat
2. Kenaikan permukaan: rata
3. Tepi koloni: utuh
4. Tekstur: halus, basah, opaque
5. Warna: putih

6. Ukuran: 0,1-0,3 mm

Menurut Hadiwiyoto (1994), beberapa syarat untuk perhitungan hasil ALT adalah :

1. Cawan petri yang dipilih dan dihitung adalah yang terdapat jumlah koloni 30 - 300. Melakukan perbandingan dengan memperhitungkan tingkat pengenceran yaitu jumlah koloni pada pengenceran lebih tinggi dibagi dengan besar tingkat pengenceran lalu dibandingkan dengan jumlah koloni pada pengenceran lebih rendah dibagi dengan besar tingkat pengenceran
2. Apabila hasil perbandingan lebih kecil atau sama dengan 2, maka hitung rata-rata dari kedua jumlah koloni tersebut juga dengan memperhitungkan tingkat pengenceran.
3. Apabila hasil perbandingan lebih besar dari 2, maka yang dilaporkan hanya jumlah koloni pada tingkat pengenceran yang lebih rendah dengan memperhitungkan tingkat pengenceran.
4. Apabila pada semua pengenceran menghasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan dengan cara jumlah koloni pada pengenceran terendah dibagi dengan besarnya tingkat pengenceran.
5. Apabila pada semua pengenceran menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan dengan cara jumlah koloni pada pengenceran tertinggi dibagi dengan besarnya tingkat pengenceran.
6. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) pada setiap pengenceran, maka data yang diambil harus dari kedua cawan.

Rumus perhitungan (Fardiaz, 1989):

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari 2 angka, yaitu angka pertama di depan koma angka kedua di belakang koma. Jika angka ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua.
2. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
3. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 koloni dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
4. Jika cawan petri dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30-300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, tentukan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil terkecil.
5. Jika digunakan 2 cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu meskipun salah satu dari cawan duplo tersebut tidak memenuhi syarat di antara 30 dan 300 koloni.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, M., A. B. Velcirov., M. Scurtu., T. Ahmadi dan L. Olariu. 2011. Benefits of Bovine Colostrum in Nutraceutical Products, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 17 (1): 42-45.
- Aldridge, B. M., F. B. Garry dan R. Adams. 1992. Neonatal septicaemia in calves, *JAVMA*. 203(9): 1324 – 1329.
- Anema, S. G., Y. Li. 2003. Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk, *Journal of Agriculture and Chemistry*. 51(6): 1640-1646.
- Anue, T. M. dan E. L. Thomas. 1978. Oxidation of protein sulfhydryls by products of peroxidase-catalyzed oxidation of thiocyanate ion. *Biochemistry*. 17: 1005-1010.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarmawati dan S. Budiyo. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Arthington, J. 1999. Colostrum Management in newborn calves. *The Florida Cattleman and Livestock Journal*.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Surat Keputusan KA. Badan POM RI No.: HK.00.05.52.4040. Tanggal: 9 Oktober 2006 Tentang Kategori Pangan. http://www2.pom.go.id/public/hukum_perundangan/pdf/COMBINE_03032011.pdf. (16 April 2013)
- Badan Standarisasi Nasional. *SNI 2981:2009: Yogurt*. http://sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/10235. (4 April 2013).
- Badan Standarisasi Nasional. *SNI 3141.1:2011: Susu Segar: Bagian 1- Sapi*. http://sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/11914. (16 April 2013).
- Badan Standardisasi Nasional. 1998. *SNI Susu Segar* (SNI 01-3141-1998). Dewan Standarisasi Nasional : Jakarta.

- Björck, L., C. G. Rosen., V. Marshall dan B. Reiter. 1975. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system in milk against pseudomonads and other Gram-negative bacteria, *Appl. Microbiol.* 30: 199.
- Buchanan, R. E. dan N. E. Gibson. 1974. *Bergeys Manual of Determination Bacteriology 8th edition*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards., G. H. Fleet dan M. Wootton. 2009. *Ilmu Pangan*. Penerjemah: Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: UI Press.
- Blum, J. W. dan H. Hammon. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science.* 66, 151-159
- Bourdy, C., J. P. Dehoux., D. Portetelle dan A. Buldgen. 2008. Bovine colostrum as a natural growth promoter for newly weaned piglets: a review, *Biotechnol Agron Soc Environ.* 12(2):157-170.
- Cesarone, M. R., G. Belcaro., A. Di Renzo., M. Dugall., M. Cacchio., I. Ruffini., L. Pellegrini., G. Del Boccio., F. Fano., A. Ledda., A. Bottari., A. Ricci., S. Stuard dan Vinciguerra. 2007. Prevention of Influenza Episodes With Colostrum Compared With Vaccination in Healthy and High-Risk Cardiovascular Subjects: The Epidemiologic Study in San Valentino, *Clin Appl Thromb Hem.* 13(2):130-136.
- Chandan R. C. dan K. M. Shahani, 1993. Yogurt, (dalam *Dairy Science and Technology Handbook. 2. Product Manufacturing*. Y. H. Hui, Ed.), VCH, Pub., Inc., USA.
- Chandan, R. C., (Ed). 2006. *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Iowa: Balckwell Publishing.
- Codex Alimentarius. 2008. *Codex Standart For Fermented Milk CODEX STAND 243*. Food Agriculture Organization.
- Commission Regulation (EC) No 1662/2006 of 6 November 2006 amending Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules

for food of animal origin. *Official Journal of the European Union* No L 320 18.11.2006

Connely, O. M. 2001. Antiinflammatory Activities of Lactoferrin (review), *J Am Coll Nut* 20 (2): 389S-395S.

Conte, F. dan Scarantino, S. 2013. A Study on The Quality of Bovine Colostrum: Physical, Chemical and Safety Assessment, *Int. Food Research J.* 20 (2): 925-931.

DeMan, J. M. 1997. *Kimia Makanan*. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.

Effendi, H. M. S. 2009. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Bandung: Alfabeta.

Elfstrand, L., H. L. Mansson., M. Paulsson., L. Nyberg dan B. Akesson. 2002. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing, *Int Dairy J.* 12:879-887.

Eniza, S. 2004. "Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak". Universitas Sumatera Utara.

Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan: Penuntun Praktek Laboratorium*. Bogor: IPB Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi.

Farkey, N. Y. 2002. "Other Enzymes," (dalam *Encyclopedia of Dairy Sciences*, H. Roginski, J. W. Fuquay, P. F. Fox Ed.) Amsterdam: Academic Press, vol. 3, pp. 946-947.

Fellows P. 1990. *Food Processing Technology Principles and Practice*. New York : Ellis Hawood.

Foley, J. A. dan D. E. Otterby. 1978. Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum: a Review. *J Dairy Sci*, 61: 1033-1060.

Food Standards Australia New Zealand. *Yogurt, Natural, Regular Fat (3,5%)*. <http://www.foodstandards.gov.au/consumerinformation/nuttab2010/nuttab2010online searchabledatabase/onlineversion.cfm?&action=getFood&foodID=09C10088>. (8 April 2013).

- Fox, P. F. dan A. L. Kelly. 2006. Indigenous enzymes in milk: overview and historical aspects. Part 2., *International Dairy Journal*. **16**, 517–532.
- Georgiev, I. P. 2008, Differences in chemical composition between cow colostrum and Milk. *Bulgarian journal Of Veterinary Medicine*, 11(1): 3-12
- Gopal, P. K. dan H. S. Gill. 2000. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *British Journal of Nutrition*, **84**, *Suppl*!, S69-S74
- Green, L., S. Godden., J. Feirtag. 2003. Effect of batch and high temperature-short time pasteurization on immunoglobulin G concentrations in colostrum (*Abstract*). *J Dairy Sci*. **86** (Suppl. 1):246.
- Hadiwiyoto, S. 1994. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta : Liberty.
- Hekmati, M. dan K. Niromand. 1978. Comparative Study and Variations of Colostral Milk Component in Foreign and Native Breeds in Iran. *Milchwissenschaft*, **33**: 24-27
- Helferich, W. dan D. Westhoff. 1980. *All About Yogurt*. Practice Hall Inc., New Jersey.
- Herawati, D. A. dan D. Andang Arif Wibawa. 2011. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim Dan Waktu Fermentasi Terhadap Hasil Pembuatan Soyghurt. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan* **1** (2).
- Hurley, W. L. *The neonate and colostrums*, ANCSI 308, Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana-Champaign (http://nutriweb.org.my/publications/mjn0010_1/mjn10n1.art1.pdf)
- Hui, Y. H., (Ed.) 1991. *Encyclopedia of Food Science and Technology Vol. 4*. USA: A Wiley-Interscience Publications.
- Hui, Y. H. 1992. *Dairy Science and Technology Handbook volume 1: Principles and Properties*. New York: VCH Publishers, Inc.
- Hui, Y. H. 1993. *Dairy Science and Technology Handbook Volume 2: Product Manufacturing*. New York: VCH Publishers, Inc.

- Houser, B. A., S. C. Donaldson., S. I. Kehoe., A. J. Heinrichs dan B.M. Jayarao. 2008. A Survey of Bacteriological Quality and the Occurrence of *Salmonella* in Raw Bovine Colostrum, *Foodborne Pathogens and Disease*. 5 (6): 853-858.
- Kanyshkova, T. G., S. E. Rabina., D. V. Semenov., N. Isaeva., A. V. Vlassov., K. N. Neustroev., A. A. Kulminskaya., V. N. Buneva., G. A. Wevinsky. 2003. Multiple Enzymatic Activities of Human Milk Lactoferrin, *eur j biochem* 270: 3353-3361.
- Karen, J. L., W. Hong., A. Mueen., S. Zou dan L. H. Walter. 1996. Antimicrobial proteins in milk, *Illinois Dairy Report*. ANSCI 308.
- Kehoe, S. I., B.M. Jayara dan A. J. Heinrichs. 2007. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms, *Journal of Dairy Science*. 90: 4108-4116.
- Kelly, G. S. 2003. Bovine colostrums: A review of clinical uses. *Altern. Med. Rev.*, 8: 378-394.
- Korhonen, H., P. Marnila dan H. S. Gill. 2000a. Bovine milk antibodies for health, *Br J Nutr*. 84:35-46.
- Korhonen, H., P. Marnila dan H. S. Gill. 2000b. Milk immunoglobulins and complements factor, *Br J Nutr*. 84:S75-80.
- Korhonen, H. 2009. Bioactive components in bovine milk. (dalam *Bioactive Components in Milk and Dairy Products* (ed. Y. Park), pp. 15–42). Wiley-Blackwell, Ames, IA.
- Kroger, M. 1975. Quality of Yogurt, *Journal of Dairy Science*. 4868.
- Kulkarni, P. R. dan P. A. Pimpale. 1989. Colostrum a review. *Indian J Dairy Sci*. 42: 216-224
- Kussendrager, K. D. dan A. C. M. Van Hooijdan. 2000. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications, *British J. of Nutrition*. 84 (supplement 1): 19-25.

- Landge, V. L. 2009. Quality of Yogurt Supplemented with Whey Protein Concentrate and Effects of Whey Protein Denaturation *M.Sc. Thesis*. Kansas State University, Kansas
- Larson, B. L. 1992. Immunoglobulins of the mammary secretions, (dalam *Advanced Dairy Chemistry. Proteins*, Volume 2, P.F. Fox, ed), Elsevier Applied Science, London. pp. 231–254.
- Lazzaro, J. 2000. *Colostrum/Supplementing Colostrum*. wichway@saanedoah.com [25 Oktober 2013].
- Limsonwitin, G. 1992. Inhibition of starter cultures, *Aust. J. Dairy Technol.* 47: 100.
- Lissner, R., P. A. Thurmann., G. Merz dan H. Karch. 1998. Antibody reactivity and fecal recovery of bovine immunoglobulins following oral administration of a colostrum concentrate from cows (lactobin) to healthy volunteers, *Int J Clin Pharmacol Ther.* 36: 239-245
- Lee, W. J. dan J. A. Lucey. 2004. Structure and Physical Properties of Yogurt Gels: Effect of Inoculation Rate and Incubation Temperature, *J. Dairy Sci.* 87:3153-3164.
- Losnedahl, K. J., H. Wang., M. Aslam., S. Zou dan W. L. Hurley. 1998. Antimicrobial factor in milk. [terhubung berkala]. <http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairy/paperDisplay.cfm?ContentID=229> [25 Oktober 2013].
- McMartin, S., S. Godden., L. Metzger., J. Feirtaq., R. Bey., J. Stabel., S. Goyal., J. Fetrow., S. Wells dan H. C. Jones. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. I: effect of temperature on viscosity and immunoglobulin G level, *J Dairy Sci* 89(6):2110-2118.
- Mayer, G. 2009. Immunoglobulin-structure and function. <http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/igstruct2000.htm> [25 Oktober 2013].
- Meylan, M., M. Rings., W. P. Shulaw., J. J. Kowalski., S. Bech-Nielsen dan G. F. Hoffsis. 1995. Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrum under experimental conditions simulation pasteurization, *Am J Vet Res* 57:1580–1585.

- Mitoma, M., T. Oho., Y. Shimazaki., T. Koga. 2001. Inhibitory Effect of Bovine Milk Lactoferrin an the Interaction Between a Streptococcal Surface Protein Antigen and Human Salivary Agglutinin, *J Bio chem* 276 (21): 18.060-18.065.
- Moeljanto, R. D. dan B. T. W. Wiryanta. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing: Susu Terbaik dari Hewan Ruminansia*. Tangerang: Agro Media Pustaka.
- Ohiokpehai, O. 2003. Processed Food Products and Nutrient Composition of Goat Milk, *Pakistan. J. Nutr.* 2 (22): 68-71.
- Ong, R. 2007. Penentuan Kadar Kolostrum Optimal bagi Produksi Yogurt Kolostrum Sapi dengan Kultur Campuran: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei strain Shirota*, dan *Bifidobacterium breve*, Thesis S-2, Fakultas Bioteknologi universitas Atma Jaya, Jakarta.
- Ontsouka, C. E., R. M. Bruckmaier dan J. W. Blum. 2003. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk, *Journal of Dairy Science*. 86: 2005–2011.
- Ouwenhand, A. C., B. B. Salvadori., R. Fonden., G. Mogensen., S. Salminem dan R. Sellar,. 2003. Health Effect of Prebiotics and Culture Containing Dairy Products in Human. *Bulletin of the IDF*. 380: 4-16.
- Pakkanen, R. dan J. Aalto.1997. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum – review paper. *Int. Dairy J.7: 285–297*.
- Pandey, N. N., A. A. Dar., D. B. mondal dan L. Nagaraja. 2011. Bovine Colostrum: A Veterinary Nutraceutical: a Review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. Vol 3(3), pp, 33-35
- Parekh, T. S dan R. Subhash. 2008. Molecular and Bacteriological Examination of Milk from Different Milch Animals With Special Reference to Coliform Curr. *Res. Bacteriol.*, 1 (2): 56-63.
- Pellegrini, A., U. Thomas., R. Von Fellenberg dan P. Wild. 1992. Bactericidal Activities of Lysozim and Aprotinin Against Gram-negative and Gram-positive bacteria Related to their Basic Character, *Journal of Applied Bacteriology*. 72: 180-187.

- Pruitt, K. M. dan B. Reiter. 1985. *Biochemistry of Peroxidase system* (dalam *the Lactoperoxidase System Chemistry and Biological Significance..* K. M. Pruitt and J. Tenovuo, Eds). PP.143-178. New York: Marcel Dekker.
- Rahman, A., S. Fardiaz, W. T. Raharju, Suliantari dan C. C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Bogor: Depdikbud dan Dirjen Dikti PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Rice D. N., Rogers D. G. 1990. Colostrum quality and absorption in baby calves, NebGuide, File G987, under BEEF, A-41, *Feeding and Nutrition*, Issued May 1990, Publ. by Cooperative Extension, Institute of Agricultural and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln (pubs@unl.edu).
- Robinson, R. K. 2002. Yoghurt, Role of Starter Cultures, (dalam *Encyclopedia of Dairy Science*, H. Roginski, J. Fuquay dan P. Fox, Ed.) Academic Press, United Kingdom, 1059-1063.
- Rucketbusch, Y., L. P. Phaneuf dan R. Dunlop. 1991. *Physiology of small and Large Animals*. Philadelphia-Hamilton: B.C. Decker, Inc.
- Saputra, F. 2008. Perbandingan Komposisi dan Daya Antimikroba antara Susu Sapi Segar (UHT), Kolostrum Sapi Segar dan Kolostrum Sapi Bubuk, *Skripsi S-1*, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Fakultas Teknobiologi, Jakarta.
- Schanbacher, F. L., R. E. Goodman., R. S. Talhouk. 1993. Bovine Mammary Lactoferrin: Implications from Messenger Ribonucleic Acid (Mrna) Sequence and Regulation Contrary to Other Milk Proteins, *J Dairy Sci* 76: 3812-3831.
- Seifu , E., E. M. Buys dan E. F. Donkin. 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends in Food Science and Technology* 16 : 137 – 154 .
- Seveline. 2005. Pengembangan Produk Probiotik dari Isolat Klinis Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan Teknik Pengeringan Semprot dan Pengeringan Beku, *Thesis*, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Shrinivas, B., P. Rajesh dan S. Manisha. 2010. Colostrum: All in one Medicine, int. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 2, Suppl 1.
- Solomon, N. W. 2002. Modulation of the Immune System and the Response Against Pathogens with Bovine Colostrum Concentrates. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56, Suppl 3, S24-S28.
- Stabel, J. R., S. Hurd., L. Calvente dan R. F. Rosenbusch. 2004. Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. in raw milk by a commercial onfarm high-temperature, short-time pasteurizer, *J Dairy Sci* 87:2177–2183.
- Stelwagen, K., E. Carpenter, B. Haigh, A. Hodgkinson and T. T. Wheeler. 2009. *Immune Components of Bovine colostrum and milk*. *J. anim Sci*, 87:3-9
- Suparno. 1992. *Prinsip Kimia dan Teknologi Susu*. Yogyakarta : UGM Press.
- Surajudin, Fauzi R., dan D. Purnomo. 2004. *Yoghurt Susu Fermentasi yang Menyehatkan*. Jakarta: AgroMedia.
- Tamime, A. Y. 2006. *Fermented Milks*. England: Blackwell Science LTD.
- Tamime, A. Y. dan R. K. Robinson. 1999. *Yogurt Science and Technology second edition*. England: Woodhead Publishing Limited
- Tamime, A. Y. dan R. K. Robinson. 2007. *Yoghurt Science and Technology Third Edition*. England: Woodhead Publishing Limited.
- Tamime, A. Y. dan H. C. Deeth. 1980. Yoghurt: Technology and Biochemistry, *J. Food Protect. Vol 43* (12): 939-977.
- Thapa, B. R. 2005. Therapeutic potentials of bovine colostrums. *Ind J Pediatr*, 72: 849-852.
- Wahyudi, M. 2006. Proses Pembuatan dan Analisis Mutu Yoghurt. *Buletin Teknik Pertanian* 11 (1), 2006.

- Walstra, P., R. Jenness. 1983. *Dairy Chemistry and Physics*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A dan Van Boekel, M.A.J.S. 1999. *Dairy Technology – Principles of Milk Properties and Processes*. New York: Marcel Dekker.
- Walstra, P., Jan T. M. Wouter dan T. J. Geurts. 2006. *Dairy Science and Technology 2nd ed*. USA: CRC press.
- Widodo, W. 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Malang : Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah <http://wahyuwidodo.staff.umm.ac.id/files/2010/01/FERMENTASISUSU.pdf> (20 oktober 2013).
- Winarno, F. G., Ahnan, W. W dan Widjajanto, W. 2003. *Flora Usus dan Yogurt*. Bogor: M-Brio Press.
- Winarno, F. G. dan Fernandez, I. E. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. Bogor: M-Brio Press
- Wolfson, L.M. dan S. S. Sumner., 1993. Antibacterial activity of the laccoperoxidase system: a review, *J. Food Prot.* 56: 887.
- Yamaguchi, Y., M. Semmel., L. Stanislawski., A.D. Strosberg dan M. Stanislawski. 1993. Virucidal Effects of Glucose Oxidase and Peroxidase or Their Protein Conjugates on Human Immunodeficiency VirusType 1, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 37: 26-31.
- Yoguchi, H., T. Goto dan S. Okonagi. 1992. Fermented Milks, Lactic Drinks and Intestinal Microflora. (dalam Nakazawa, Y. dan Hosono, A. (eds). Function of Fermented Milk, Chalange for The Health Science, hlm 247). *Elsevier Applied Science*, New York.
- Vasbinder, A. J., C. G. de Kruif. 2003. Casein-whey protein interactions in heated milk: The influence of pH, *International Dairy Journal.* 13(8): 669–677.