

PERUBAHAN KARAKTERISTIK MUTU FISIK, KIMIA, DAN MIKROBIOLOGI PRODUK PROBIOTIK BERBASIS SANTAN (COCOGURT) SELAMA PENYIMPANAN

Faradilla RHF, Mujiono, Ertanto T, Widarso TD.

Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

*Cocogurt adalah produk probiotik yang diperoleh dari santan kelapa dan susu skim dengan bakteri *L. casei* sebagai starter. Selama penyimpanan terjadi perubahan mutu cocogurt, baik mutu fisik, mutu kimia, maupun mutu mikrobiologi. Untuk mengetahui perubahan yang terjadi dibutuhkan analisa beberapa parameter. Parameter mutu kimia yang dianalisa adalah pH dan total asam tertitrasi (TAT). Perubahan mutu fisik cocogurt yang diuji adalah viskositas. Viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan total kapang dan khamir merupakan parameter mutu mikrobiologi. Selama 10 hari penyimpanan terjadi penurunan nilai pH dan viabilitas bakteri asam laktat (BAL), peningkatan total asam tertitrasi (TAT) dan viskositas, serta tidak ditemukan adanya kontaminasi kapang dan khamir pada cocogurt selama penyimpanan.*

Kata kunci : cocogurt, mutu, penyimpanan.

PENDAHULUAN

Cocogurt adalah produk yang diperoleh dari santan kelapa dan susu skim yang telah dipasteurisasi, kemudian difermentasi dengan bakteri sampai diperoleh keasaman, bau, dan rasa yang khas, dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diinginkan. Bakteri asam laktat akan menghasilkan asam laktat, yang berinteraksi dengan protein susu sehingga menghasilkan tekstur seperti gel. Bakteri yang digunakan dalam pembuatan cocogurt adalah *Lactobacillus casei*. Bakteri yang terkandung di dalam cocogurt merupakan probiotik yang sangat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan manusia. Probiotik merupakan mikroba hidup yang menempel pada dinding usus dan bersifat menguntungkan bagi kehidupan inangnya (Salminen *et al.*, 1999).

Cocogurt mengandung gizi yang relatif lengkap sehingga besar kemungkinan terjadinya kerusakan selama penyimpanan. Kerusakan pada produk yogurt biasanya terjadi karena kontaminasi mikroba, khususnya kapang dan khamir yang relatif tahan terhadap suasana asam (dengan kisaran pH pertumbuhan yang luas yaitu 2.5 sampai 8.5) dan senang hidup pada produk dengan kadar gula tinggi. Selain itu, kandungan lemak cocogurt cukup tinggi sekitar 9.09% sehingga besar kemungkinan akan terjadi proses oksidasi lemak yang menyebabkan cocogurt menjadi tengik (Ertanto *et al.*, 2007). Oleh karena itu, diperlukan suatu proses pengolahan yang aseptis dan metode pengemasan yang tepat sehingga kerusakan-kerusakan di atas diminimalkan. Kerusakan-kerusakan ini akan mengakibatkan perubahan mutu produk.

Mutu merupakan gabungan karakteristik atau atribut organoleptik yang memberikan identitas khusus suatu produk (warna, tekstur, rasa, flavor) yang memiliki kemampuan dalam memenuhi kebutuhan yang ditentukan. Mutu suatu produk perlu diperhatikan oleh para produsen karena berkaitan erat dengan penerimaan konsumen dan siklus produk di pasar. Ukuran dari mutu pada produk pangan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok besar yaitu sifat fisik, sifat kimia, dan sifat mikrobiologi.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perubahan-perubahan mutu yang mungkin dapat terjadi selama penyimpanan cocogurt. Perubahan mutu tersebut ditentukan melalui penentuan perubahan pada nilai pH, total asam tertitrasi (TAT), viskositas, viabilitas bakteri asam laktat, dan total kapang dan khamir.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah santan kelapa yang didapat dari Toko Agro Mandiri Bogor. Bahan tambahan lain yaitu air suling, susu skim, kultur bakteri *L. casei* subsp *Rhamnosus* dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor, gula, dan karagenan. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain indikator fenolphtalein, NaOH, asam oksalat, larutan garam fisiologis, media MRSA agar, media *Acidified Potato Dextrose Agar* (APDA), serta bahan-bahan kimia untuk uji proksimat.

Alat-alat yang dipakai adalah *laminar hood*, kulkas, inkubator, otoklaf, oven, tanur, kompor, soxhlet, *rotational viscometer*, pH meter, homogenizer (Ultra Thorax T25 Basic), neraca, panci, gelas kaca, erlenmeyer, cawan petri, termometer, pipet mohr 1 ml, pengaduk, saringan santan.

Metode

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan inti. Penelitian pendahuluan meliputi pembuatan cocogurt dan analisa proksimat. Penelitian inti dilakukan dengan tujuan menganalisa perubahan sifat fisik, kimia, dan mikrobiologi yang terjadi pada cocogurt selama penyimpanan.

Pembuatan Cocogurt

Cocogurt dibuat menggunakan metode Palungkun (1993) yang dimodifikasi. Formula dalam pembuatan cocogurt mengacu pada hasil penelitian Ertanto *et al.* (2008) yaitu menggunakan susu skim 5% dan kultur starter *Lactobacillus casei*. Pembuatan cocogurt dimulai dari pembuatan santan dengan mencampurkan 400 gram kelapa tua parut dengan 0.8 liter air suling. Air suling yang digunakan sebelumnya dipanaskan dan didinginkan hingga suhu 40°C. Santan yang diperoleh merupakan santan yang relatif encer dengan total padatan terlarut (TPT) sebesar 3.5%. Santan kemudian dicampur dengan susu skim (5%),

karagenan (0.5%), dan gula pasir halus (5%). Campuran kemudian dihomogenisasi menggunakan homogenizer dengan kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit. Larutan yang telah dihomogenisasi kemudian dipanaskan pada suhu 85°C selama 15 menit, lalu didinginkan hingga 37°C. Selanjutnya dilakukan inokulasi kultur starter (*Lactobacillus casei*) sebanyak 5% dari larutan di *laminar hood*. Setelah inokulasi, campuran diinkubasi pada suhu 43°C selama 6 jam, hingga tahap ini didapat produk santan probiotik yang disebut cocogurt. Cocogurt disimpan di *refrigerator*.

Analisa Proksimat

Analisa proksimat untuk cocogurt terdiri dari analisa kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat. Analisa kadar air dilakukan dengan metode oven (AOAC, 1995). Pengukuran kadar abu dilakukan dengan menggunakan metode gravimetrik (AOAC, 1995). Kadar protein ditentukan dengan metode Kjeldahl (Sediaoetama, 1996). Metode soxhlet digunakan untuk menentukan kadar lemak. Kadar karbohidrat dihitung dengan metode *by Difference*, yaitu selisih berat bahan total dengan jumlah air, abu, protein, dan lemak (Sediaoetama, 1996).

Perubahan Mutu Kimia (pH dan TAT)

Perubahan mutu kimia cocogurt selama penyimpanan dianalisa selama 10 hari penyimpanan setiap 2 hari sekali. Parameter kimia yang dianalisa terdiri dari derajat keasaman (pH) dan total asam tertitrasi (TAT). Pengukuran derajat keasaman dilakukan dengan menggunakan alat pH meter.

Total asam tertitrasi ditentukan dengan prinsip titrasi asam basa (AOAC, 1995). Sebanyak 10 ml contoh (cocogurt) dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambah dengan tiga tetes indikator fenolphthalein 1%. Campuran kemudian dikocok dengan NaOH 0.1 N yang telah distandardisasi menggunakan asam oksalat. Titrasi dihentikan jika warna berubah menjadi merah muda.

Perubahan Mutu Fisik (Viskositas)

Perubahan mutu fisik cocogurt selama penyimpanan dianalisa selama 10 hari penyimpanan setiap 2 hari sekali. Perubahan mutu fisik cocogurt yang dianalisa adalah viskositas. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat *Rotational Viscometer*. Rotor dipasang pada alat kemudian dicelupkan ke dalam 300 ml contoh yang ditempatkan di dalam wadah gelas kaca. Rotor akan berputar dan jarum akan bergerak sampai diperoleh nilai viskositas produk. Pembacaan dilakukan saat jarum tidak bergerak lagi atau stabil selama tiga menit (Apriyantono *et al.*, 1988).

Perubahan Mutu Mikrobiologi (Viabilitas BAL dan Total Kapang dan Khamir)

Perubahan mutu mikrobiologi cocogurt selama penyimpanan dianalisa selama 10 hari penyimpanan setiap 2 hari sekali. Viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan total kapang dan khamir merupakan parameter mutu mikrobiologi yang dianalisa. Penentuan viabilitas BAL selama penyimpanan dilakukan dengan

merujuk pada Fardiaz (1987), yaitu sebanyak 1 ml sampel diencerkan dalam 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0.85%) hingga pengenceran 10^{-8} . Kemudian dipipet sebanyak 1 ml atau 0.1 ml sampel yang telah diencerkan ke dalam cawan petri steril (pempukan dari tingkat pengenceran 10^{-7} dilakukan duplo), ditambahkan dengan 15-20 ml MRSA cair steril. Kemudian cawan petri digoyangkan secara mendatar agar sampel menyebar rata. Setelah agar membeku, diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 2-3 hari. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode SPC dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml.

Total kapang-khamir ditentukan dengan cara mengencerkan 1 ml contoh dalam 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0.85%) hingga pengenceran 10^{-3} . Contoh yang telah diencerkan dipipet sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan dengan ± 15 ml APDA, dan digoyangkan secara mendatar agar contoh menyebar merata. Pempukan dilakukan duplo untuk setiap pengenceran. Setelah agar membeku diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 30°C selama 3-5 hari. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode SPC dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml (Fardiaz, 1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

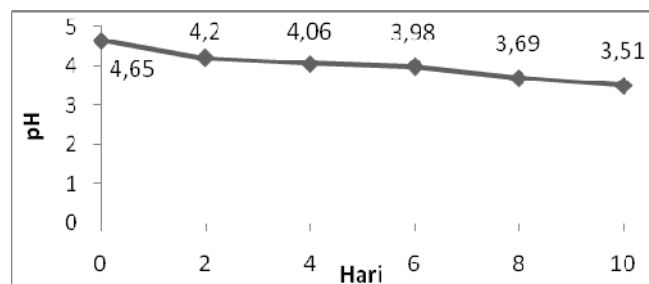
Hasil

Hasil analisa kandungan air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat cocogurt disajikan pada Tabel 1.

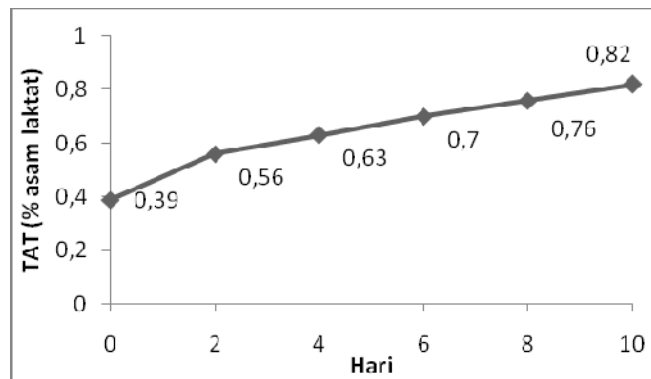
Tabel 1. Hasil analisa proksimat cocogurt

No	Komponen	Kadar (%)
1	Air	20.14
2	Abu	0.38
3	Protein	1.51
4	Lemak	9.09
5	Karbohidrat	72.97

Selama penyimpanan terjadi perubahan nilai pH dan total asam tertitrasi (TAT). Nilai pH cocogurt selama penyimpanan cenderung menurun (Gambar 1). Sebaliknya total asam tertitrasi cocogurt cenderung meningkat selama penyimpanan (Gambar 2).

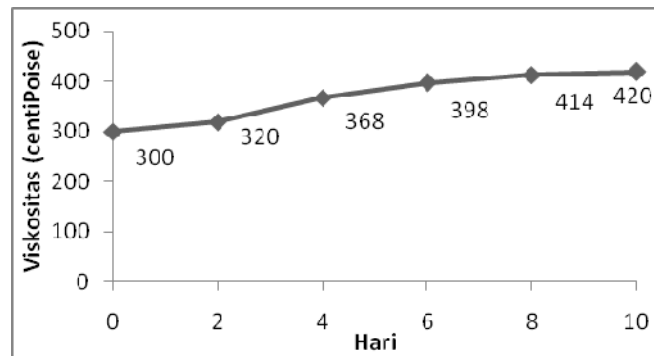


Gambar 1. Perubahan pH cocogurt selama penyimpanan.



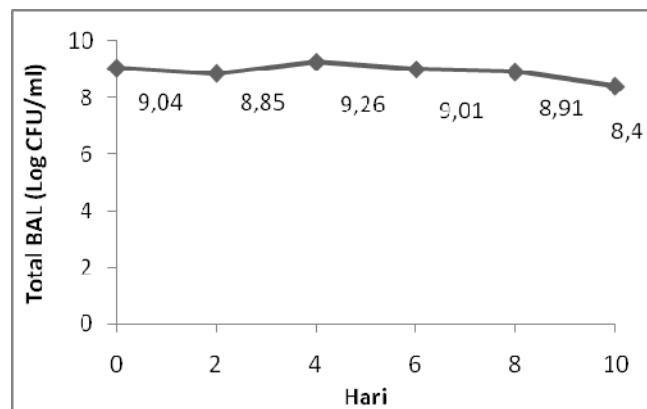
Gambar 2. Perubahan total asam tertitiasi (TAT) cocogurt selama penyimpanan

Parameter mutu fisik yang dianalisa adalah viskositas. Selama penyimpanan viskositas cocogurt menunjukkan tren yang meningkat (Gambar 3).

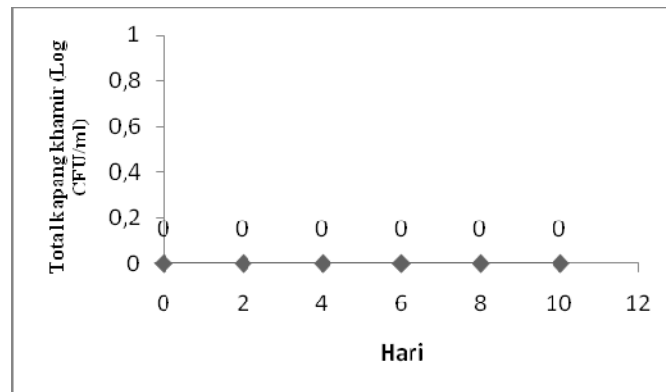


Gambar 3. Perubahan viskositas cocogurt selama penyimpanan.

Mutu mikrobiologi cocogurt ditentukan dari viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan total kapang khamir. Viabilitas BAL selama penyimpanan mengalami penurunan, seperti terlihat pada Gambar 4. Selama penyimpanan tidak terdeteksi adanya kontaminasi kapang dan khamir (Gambar 5).



Gambar 4. Perubahan viabilitas BAL cocogurt selama penyimpanan.



Gambar 5. Perubahan total kapang dan khamir cocogurt selama penyimpanan.

Pembahasan

Pembuatan cocogurt probotik terdiri dari 5 tahap, yaitu tahap pembuatan santan, pencampuran dan homogenisasi bahan, pasteurisasi, inokulasi santan dengan kultur starter, inkubasi, dan pendinginan. Cocogurt dibuat dengan penambahan susu skim sebesar 5% dan menggunakan kultur *L. casei*. Penambahan gula 5% bertujuan agar tercipta sifat organoleptik yang diinginkan, yaitu memiliki kemanisan yang tidak terlalu tinggi. Menurut Robinson *et al.* (2006), penambahan gula dapat menutupi keasaman dan menghasilkan tekstur yang lebih lembut. Penambahan karagenan 0.5% berguna untuk meningkatkan kekentalan dan mencegah sineresis pada produk cocogurt. Selain itu, karagenan juga dapat bersifat sebagai stabilizer (Tamime dan Robinson, 1989) agar emulsi cocogurt yang terbentuk tidak mengalami sineresis.

Analisa proksimat dilakukan pada cocogurt yang telah dibuat untuk melihat kandungan protein, lemak, karbohidrat, air, dan abu produk. Hasil analisa proksimat dapat dilihat pada Tabel 1.

Perubahan Mutu Kimia Selama Penyimpanan

Derajat keasaman (pH) cocogurt dipengaruhi oleh aktivitas starter untuk memfermentasi gula menjadi sebagian besar asam laktat dan sejumlah kecil asam lainnya (Tamime dan Robinson, 1989). Selama penyimpanan, terjadi penurunan nilai pH cocogurt seperti terlihat pada Gambar 1. Penurunan nilai pH terjadi akibat aktivitas BAL yang masih terus bekerja memecah gula menjadi asam laktat, walaupun berlangsung lebih lambat, yang disebut dengan postadifikasi (Kneifel *et al.*, 1993). Hal ini sesuai dengan penelitian Beal *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa yogurt akan mengalami penurunan pH selama penyimpanan pada suhu refrigerasi. Penurunan tersebut disebabkan aktivitas BAL pada suhu 4°C. Lebih lanjut menurut Beal *et al.* (1999), bahwa postadifikasi dipengaruhi oleh jenis strain BAL yang digunakan dan pH produk akhir.

Penurunan pH produk sejak penyimpanan 0 hingga 4 hari berlangsung relatif cukup cepat. Pada saat awal (hari ke 0), pH produk sebesar 4.65 dan menurun menjadi 3.51 pada hari ke 10. Menurut Beal *et al.* (1999), penurunan pH terbesar dari yogurt yang disimpan pada suhu *refrigerator* terjadi pada hari ke 0

hingga ke 7. Hal tersebut dikarenakan adanya konsumsi laktosa serta tingginya aktivitas metabolik BAL pada saat pH yang relatif tinggi. Setelah itu, penurunan pH akan cenderung lebih lambat karena banyaknya hasil metabolisme BAL yang mempengaruhi aktivitas metabolik dari BAL itu sendiri (Fardiaz, 1992).

Meningkatnya jumlah asam laktat, selain menurunkan nilai pH juga akan mempengaruhi nilai total asam tertitrasi (TAT). Perubahan nilai TAT tersebut dapat dilihat pada Gambar 2. Pada hari ke 0, cocogurt memiliki nilai TAT sebesar 0.39 dan terus meningkat hingga 0.82 pada hari ke 10. Peningkatan nilai TAT tersebut menunjukkan bahwa pada cocogurt jumlah asam laktat terus bertambah akibat aktivitas BAL. Hal ini sesuai dengan penelitian Beal *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa keasaman yogurt akan terus meningkat selama penyimpanan.

Menurut SNI 01-2981-1992 mengenai mutu yogurt, nilai TAT yogurt adalah 0.5-2.0%, dengan demikian diketahui bahwa pada awalnya TAT cocogurt belum memenuhi standar. Namun setelah disimpan selama 2 hari, TAT yogurt mencapai standar yang telah ditetapkan. Rendahnya nilai TAT pada awal penyimpanan disebabkan perhitungan nilai TAT yang didasarkan pada berat asam laktat. Terdapat kemungkinan adanya asam-asam lain yang terdapat pada cocogurt yang merupakan hasil fermentasi starter *L. casei*. Hal ini karena sebagai starter, *L. casei* memiliki kemampuan memfermentasi gula yang luas sehingga selama fermentasi diproduksi juga asam-asam selain asam laktat (Robinson, 1981).

Perubahan Mutu Fisik Selama Penyimpanan

Seperti halnya TAT, nilai viskositas mengalami peningkatan selama penyimpanan. Perubahan viskositas cocogurt dapat dilihat pada Gambar 3. Peningkatan viskositas tersebut diakibatkan oleh meningkatnya jumlah asam laktat. Dengan terbentuknya asam laktat, maka pH akan turun dan menyebabkan misela kasein menjadi tidak stabil oleh perubahan koloidal kompleks kalsium-fosfat dan menjadi fraksi kalsium-fosfat yang larut (Tamime dan Robinson, 1989). Selain itu, peningkatan viskositas diakibatkan oleh pembentukan EPS oleh kultur starter selama penyimpanan (Cerning, 1995).

Perubahan Mutu Mikrobiologi Selama Penyimpanan

Viabilitas bakteri asam laktat (BAL) selama penyimpanan menunjukkan kemampuan BAL tersebut untuk tetap hidup dan bertahan sebelum dikonsumsi oleh konsumen. Viabilitas BAL merupakan hal yang fundamental dalam produksi yogurt (Con *et al.*, 1995). Selama penyimpanan, terjadi perubahan viabilitas seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 4. Viabilitas BAL pada hari ke-0 sebesar 9.04 log CFU/ml kemudian turun hingga 8.85 log CFU/ml. Namun, pada hari ke-4, viabilitas BAL meningkat hingga 9.26 log CFU/ml lalu relatif menurun secara perlahan hingga 8.40 log CFU/ml pada hari ke-10. Viabilitas BAL cocogurt selama penyimpanan masih di atas batas minimum BAL menurut Tannock (1999) dan Charteris *et al.* (1998) yaitu 6-8 log CFU/ml.

Hasil penelitian ini sesuai dengan Con *et al.* (1995) serta Hamman dan Marth (1984) yang menyebutkan bahwa terjadi penurunan viabilitas BAL pada yogurt selama penyimpanan. Menurut Con *et al.* (1995) terjadi penurunan viabilitas BAL dari 8.90 log CFU/ml pada hari ke-1 dan menjadi 8.42 log CFU/ml

pada hari ke-13. Penurunan viabilitas BAL selama penyimpanan diakibatkan oleh terakumulasinya hasil metabolisme starter, terutama asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri itu sendiri.

Kerusakan pada yogurt yang biasanya terjadi adalah karena kontaminasi mikroba, khususnya kapang dan khamir yang relatif tahan terhadap suasana asam (dengan kisaran pH pertumbuhan yang luas yaitu 2.5 sampai 8.5) dan senang hidup pada produk dengan kadar gula tinggi (Elisabeth, 2003). Jika produk yogurt sampai ditumbuhi kapang, kemungkinan berasal dari peralatan atau wadah yang tidak steril (Rahman *et al.*, 1992). Penyimpanan memiliki efek yang sangat besar dalam pertumbuhan kapang dan khamir (Con *et al.*, 1995). Gambar 5 menunjukkan jumlah kapang dan khamir selama penyimpanan.

Selama penyimpanan tidak terjadi pertumbuhan kapang dan khamir. Hal tersebut dikarenakan terjaganya sanitasi dan keaseptisan selama proses pembuatan. Perlakuan sterilisasi alat menggunakan otoklaf, penggunaan laminar hood, serta penyemprotan alkohol terhadap alat-alat yang digunakan mampu menjamin keaseptisan dari produksi cocogurt.

Menurut penelitian Con *et al.* (1995), hampir semua yogurt komersial dipasaran tercemar kapang dan khamir rata-rata sebesar 4 log CFU/ml. Lebih lanjut lagi, Con *et al.* (1995) menyatakan selama penyimpanan terjadi peningkatan jumlah kapang khamir sebesar 2.74 log CFU/ml pada hari ke-1 menjadi 5.39 log CFU/ml.

KESIMPULAN

Selama penyimpanan terjadi penurunan nilai pH dan viabilitas bakteri asam laktat (BAL). Terjadi pula peningkatan total asam tertitrisasi (TAT) dan viskositas. Tidak ditemukan adanya kontaminasi kapang dan khamir pada cocogurt selama penyimpanan. Selain itu diketahui pula cocogurt mengandung air sebesar 20.14%, abu 0.38%, protein 1.51%, lemak 9.09% dan karbohidrat sebesar 72.97%.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemistry. 1995. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemistry*. Washington D.C. : AOAC Intl.
- Apriyantono A *et al.* 1988. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Beal C, Skokanova J, Latrille E, Martin N, Corrieu G. 1999. Combined effect of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. *Journal Dairy Science* 82:673-681.
- Charterist WP *et al.* 1998. Ingredient selection criteria for probiotic microorganism in functional dairy foods. *Intl. J. Dairy Tech* 51(4): 123-135.
- Cerning J. 1995. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Lait* 75:463-4572.

- Con AH, Cakmakci S, Caglar A, Gokalp HY. 1995. Effects of different fruits and storage periods on microbiological qualities of fruit-flavored yogurt produced in Turkey. *Journal of Food Production* 59(4):402-406.
- Elisabeth DAA. 2003. Pembuatan yogurt sinbiotik dengan menggunakan kultur campuran : *Sterptococcus thermophillus*, *Lactobacillus casei* strain Shirota, dan *Bifidobacterium breve* [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Ertanto T, Widarso TD, Mujiono, Ekafitri R, Faradilla RHF. 2008. Pengembangan Cocogurt Probiotik Sebagai Inovasi Pangan Fungsional Indigenous Kaya *Medium Chain Triglyseride*. Laporan Akhir Program Kreativitas Mahasiswa Bidang Penelitian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz S. 1987. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Pr.
- . 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Hamman WAT, Marth EH. 1984. Survival of *Streptococcus thermophillus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yogurt. *Journal of Food Prot* 47:781-786.
- Kneifel W, Ulberth F, Erhard F, Jaros D. 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal Food Microbiology* 18:179-189.
- Palungkun R. 1993. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahman A *et al.* 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Robinson RK. 1981. *Dairy Microbiology*. Volume ke-1. London: Applied science Publisher.
- Robinson RK, Lucey JA, Tamime AY. 2006. Manufacture of yogurt. Di dalam: Tamime AY, editor. *Fermented Milks*. Singapore: Blackwell Science.
- Sediaoetama AD. 1996. *Ilmu Gizi Jilid I*. 3rd Edition. Jakarta: Dian Rakyat.
- Tamime AY, Robinson RK. 1989. *Yogurt Science and Technology*. London: Pergamon Pr.
- Tannock GW. 1999. *Probiotic: A Critical Review*. England: Horizon Scientific Pr.