

Kajian Potensi Whey Yogurt Sebagai Bahan Alami Pencegah Jerawat

Study of Fermented Whey as Natural Treatment for Acne Prevention

Rahman, A¹, E. Taufik², S. Purwantiningasih³, B.P. Purwanto⁴

¹Sekolah Pascasarjana, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

³Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, IPB, Bogor, 16610, Indonesia

⁴Program Diploma, Institut Pertanian Bogor

E-mail : awliarahman.sanusi@gmail.com

ABSTRACT

Cheese processing always produce a liquid by product, called as whey. Whey contains 50% of milk nutrients, but currently in Indonesia whey is not used optimally. Whey contained some lactose, and can be used as fermented media. This study used cheese whey as a fermented media for *Streptococcus thermophilus* (St-RRM01) and *Lactobacillus bulgaricus* (Lb-RRM01) called as Whey Yogurt (WY). WY compared to fresh whey (control) on this study for skin care, include of acne treatment. Data were analyzed by T-test on SPSS statistical program. The research showed that WY inhibited the growth of bacteria *Propionibacterium acnes* 4.35 mm, while there was no inhibition on control ($P < 0.05$). Fermentation process increased the antioxidant activity for 27.7%. WY had the good potential for the acne treatment. This study showed that whey had a value-added, furthermore in the future might be used to develop into a natural ingredient cosmetics for skin care.

Keywords : Whey, acne, *Propionibacterium acnes*, antioxidant

PENDAHULUAN

Konsumsi bahan baku susu di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Indonesia mengonsumsi bahan baku susu pada tahun 2008 sebanyak 11 kg/kapita/tahun. Nilai ini naik sebesar 18,27 % jika dibandingkan dengan konsumsi bahan baku susu tahun 2004 (Departemen Perindustrian, 2009). Susu banyak dikonsumsi tidak hanya dalam bentuk segar, tetapi juga dalam bentuk olahannya, seperti keju. Keju merupakan produk olahan susu hasil proses penggumpalan susu, yang menghasilkan produk sampingan berupa whey. Satu kg keju dihasilkan dari penggumpalan susu sebanyak 10 liter dan menghasilkan whey sebanyak 8-9 liter. Pada umumnya whey dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan sebagai tambahan dalam pembuatan beberapa produk pangan (de Witt, 2001). Di Indonesia, whey belum banyak dimanfaatkan karena industri pengolahan keju saat ini masih fokus pada produk utamanya yaitu keju, padahal komposisi whey masih mengandung 50% nutrisi susu. Komponen terbesar whey adalah laktosa (4,5-5%) (de Witt, 2001; Magalhaes, 2010). Laktosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat untuk menghasilkan berbagai senyawa metabolit seperti asam laktat dan antimikroba melalui proses fermentasi. Antimikroba pada fermentasi asam laktat dimanfaatkan sebagai bahan terapeutik karena menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Rolfe, 2000).

Whey mengandung laktoferin yang berfungsi sebagai antioksidan (Coimbra dan Teixeira, 2009). Bahan dengan kandungan antioksidan dapat dimanfaatkan untuk mengurangi stres oksidatif pemicu pertumbuhan jerawat (Sarici *et al.*, 2010; Batubara dan Mitsunaga, 2013). Kombinasi antara

senyawa antimikroba dan kandungan antioksidan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pencegah jerawat. Dalam hal pencegahan jerawat, senyawa antimikroba dapat dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dominan penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*. Batubara *et al.* (2009) menjelaskan bahwa senyawa dengan target jerawat harus mampu menghambat pertumbuhan *P. acnes*, menghambat aktivitas lipase *P. acnes* dan menghambat stres oksidatif. Dalam kata lain, senyawa atau bahan yang dianjurkan untuk mengontrol jerawat harus memiliki antibakteri, penghambat lipase, dan aktivitas antioksidan (Batubara *et al.*, 2009).

Fokus penelitian ini yaitu kajian pemanfaatan whey sebagai bahan fermentasi bakteri asam laktat *Streptococcus thermophilus* (St-RRM01) dan *Lactobacillus bulgaricus* (Lb-RRM01) yang disebut sebagai Whey Yogurt (WY) untuk diamati potensinya sebagai bahan pencegah jerawat. Penelitian terdahulu mengenai kemampuan whey sebagai bahan perawatan kulit telah dilakukan oleh Chen *et al.* (2006) yang menyebutkan bahwa asam laktat whey kefir pada level lebih dari 60 mg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat menambah nilai guna whey, dan menunjukkan potensi non-pangan whey sebagai bahan alami kosmetik perawatan kulit.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati proses fermentasi pada whey serta menjelaskan potensi whey yang difermentasi oleh bakteri *Staphylococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* (WY) dalam menghambat pertumbuhan jerawat.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat

Media fermentasi yang digunakan adalah *whey* hasil samping pembuatan keju (*cheese whey*) yang diperoleh dari *home industry* pembuatan keju “Trie’s Cheese”, Depok. Bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Streptococcus thermophilus* (St RRM-01) dan *Lactobacillus bulgaricus* (Lb RRM-01) koleksi dari laboratorium pengolahan susu bagian Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bakteri patogen yang digunakan sebagai bakteri uji pada uji penghambatan pertumbuhan bakteri penyebab jerawat adalah bakteri *Propionibacterium acnes* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI) dalam bentuk biakan agar miring.

Bahan-bahan untuk analisis aktivitas antioksidan, diantaranya: etanol p.a, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Bahan mikrobiologi yang digunakan, antara lain: *Tryptone Soya Broth* (TSB), *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *deMan’s Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), *Bacteriological Agar* (BA), dan *Buffer Peptone Water* (BPW).

Alat-alat yang digunakan, antara lain: mikropipet, labu Erlenmeyer, cawan Petri, tabung reaksi, *bunsen*, *vortex*, inkubator, *autoclave*, oven, timbangan digital, *waterbath*, *burret*, pH meter, *microplate 98-well*, sentrifuge dan *multi-well plate reader* ELISA.

Prosedur

Persiapan Kultur Bakteri Starter

Sebelum digunakan, kultur bakteri St-RRM01 dan Lb-RRM01 disegarkan dan diperiksa kemurniaannya dari kontaminasi dengan bantuan pewarnaan Gram (Fardiaz, 1992), kemudian diperbanyak menjadi kultur induk, kultur antara, dan kultur kerja di dalam susu skim steril.

Persiapan Kultur Bakteri Uji

Sebelum digunakan, bakteri *P.acnes* diperiksa kemurniannya dari kontaminasi dengan bantuan pewarnaan Gram (Fardiaz, 1992), kemudian diambil 1 ose dari biakan agar miring ke dalam ke dalam *Nutrient Broth* (NB), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur dari NB kemudian digoreskan pada NA, setelah itu diinkubasi selama 24 jam dan disimpan sebagai kultur stok.

Pembuatan Whey Yogurt

Pembuatan WY mengacu pada Tamime (2006) dengan modifikasi pada lama inkubasi. *Whey* dipasteurisasi pada suhu 83 – 85°C selama 30 menit, kemudian didiamkan sampai suhunya turun menjadi ± 40°C, dan dipindahkan ke dalam wadah. *Whey* pasteurisasi dalam wadah diinokulasikan kultur starter *Streptococcus thermophilus* (St-RRM01) dan *Lactobacillus bulgaricus* (Lb-RRM01) masing-masing sebanyak 2,5%. Diaduk hingga homogen, kemudian diinkubasi 37°C sampai mencapai pH 4,5 (pH isoelektrik). Setelah mencapai pH 4,5. WY disimpan pada suhu 4°C. Selanjutnya digunakan untuk penghitungan total BAL, persen asam laktat, uji penghambatan pertumbuhan bakteri *P.acnes*, dan pembuatan ekstrak.

Pembuatan Ekstrak Sampel

Mengacu pada Shori dan Baba (2031) dengan modifikasi pada penyaringan tahap akhir. Sampel kontrol dan WY masing-masing dihomogenkan dengan aquades (1:4) dan diturunkan pH nya sampai 4,0 dengan HCl 0,1 M, kemudian diinkubasi dalam *water bath* 45°C selama 10 menit, dilanjutkan dengan sentrifugasi (5.000 ppm, 10 menit, 4°C) untuk menghilangkan protein. Supernatan kemudian dipanen dan dinaikkan pH nya sampai 7,0 menggunakan NaOH 0,1 M, dilanjutkan dengan sentrifugasi kedua (5.000 ppm, 10 menit, 4°C) untuk menghilangkan sisa protein dan garam. Supernatan kemudian disaring menggunakan *syringe wathman* 0,45 µm untuk mendapatkan ekstrak yang benar-benar jernih. Supernatan dipanen dan disimpan pada suhu -20 °C hingga dibutuhkan untuk analisis aktivitas antioksidan.

Pengukuran pH dan Total Asam Tertitrasi (TAT)

WY difermentasi dan diukur pH nya setiap jam sampai pH mencapai 4,5. Pengukuran pH mengacu pada AOAC (2005). Pengukuran TAT menggunakan metode titrasi.

$$\text{Asam laktat (\%)} = \left\{ \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times 0,09}{\text{berat sampel (gram)}} \right\} \times 100\%$$

Penghitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat

Sampel dan BPW dihomogenkan hingga didapat pengenceran sepersepuluh (P-1). Selanjutnya dari P-1 dipipet 1 ml dan dilarutkan ke dalam larutan pengencer BPW 9 ml untuk memperoleh P-2, demikian seterusnya dengan cara yang sama dilakukan sampai dengan P-7. Pemupukan dilakukan pada P-5 sampai P-7 dengan media *deMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) yang ditambahkan dengan *Bacteriological Agar* (BA) pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Jumlah bakteri dihitung dengan metode BAM (2011).

Pengujian Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Propionibacterium acnes

Uji penghambatan pertumbuhan *P.acnes* menggunakan metode difusi sumur dengan diameter 25 mm (Taufik, 2004). Populasi *P.acnes* yang digunakan adalah 5 log₁₀ cfu/ml. Zona penghambatan ditunjukkan dengan area bening di sekitar sumur. Setiap area bening diukur diameternya sebanyak 3-4 kali dan dirata-ratakan.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode penghambatan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dalam etanol (Shori dan Baba 2013) dengan modifikasi konsentrasi DPPH dan perbandingan sampel dengan DPPH, yaitu 1:1 dengan konsentrasi DPPH 0,1 mM. Pengujian dilakukan dalam *microplate 96-well*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji-T, tingkat kepercayaan 95%, melalui program statistik SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai pH dan TAT

Nilai pH control dan *Whey* Yogurt (WY) pada jam ke-0

berturut-turut adalah $5,38 \pm 0,02^a$, dan $5,25 \pm 0,002^b$. *Whey* memiliki pH asam meski tidak difermentasi karena berasal dari hasil samping pembuatan keju mozzarella. Pada proses pembuatan keju dilakukan penambahan asam sitrat pada susu untuk mendapatkan *curd* (padatan) saat proses pembuatan keju. *WY* memiliki asam yang lebih rendah dibanding kontrol karena adanya penambahan bakteri starter.

WY mencapai pH 4,5 pada jam ke-13. Penurunan pH pada *whey* disebabkan oleh pembentukan asam laktat sebagai hasil metabolisme laktosa oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). *Whey* mengandung 4,5 – 5% laktosa (Magalhaes *et al.*, 2010). Laktosa ini digunakan oleh BAL sebagai sumber metabolit untuk menghasilkan energi dan memproduksi asam laktat.

Penurunan pH menunjukkan terjadinya peningkatan asam yang dihitung sebagai % asam laktat. Persen asam laktat meningkat seiring dengan terjadinya penurunan pH. Hasil uji-T menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) total asam laktat antara kontrol dengan *WY* (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa laktosa pada *whey* berhasil difermentasi dengan baik oleh bakteri asam laktat. Rahman *et al.* (1992) menjelaskan bahwa pertumbuhan mikroba pada proses fermentasi dapat menimbulkan berbagai perubahan karakteristik salah satunya adalah pembentukan asam.

Jumlah Bakteri Asam Laktat dan Penghambatan Bakteri *Propionibacterium acnes*

Jumlah BAL *Whey* Yogurt (*WY*) pada penelitian ini memenuhi persyaratan minimal jumlah sel hidup pada susu fermentasi menurut CODEX STAN 243-200, yaitu $6 \log_{10}$ cfu/ml. Kontrol mengandung jumlah bakteri asam laktat lebih rendah ($P < 0,05$) dengan *WY* (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena kontrol merupakan *whey* yang tidak mengalami proses fermentasi. Selama proses fermentasi berlangsung, bakteri asam laktat mempunyai kesempatan lebih lama untuk memanfaatkan nutrisi dalam metabolismenya sehingga terjadi kenaikan jumlah sel (Wright, 1998). Perbedaan jumlah bakteri asam laktat pada *WD*, *WY*, dan *WK* dimungkinkan karena adanya variasi karakteristik bakteri asam laktat. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri asam laktat sangat beragam, namun yang paling mempengaruhi adalah komposisi kimia dan kandungan nutrisi pada media. Bakteri asam laktat memerlukan nutrisi yang sangat kompleks. *Streptococcus thermophilus* memerlukan asam panthotenat, niasin dan vitamin sedangkan *Lactobacillus* memerlukan asam pantothenat, niasin dan vitamin lainnya (Surono, 2004).

Tabel 1. Total Asam Laktat, Jumlah Bakteri Asam Laktat, Daya Hambat *P. acnes* dan Aktivitas Antioksidan dalam Sampel Peubah

Sampel	Asam Laktat (%)	Jumlah Bakteri Asam Laktat (\log_{10} cfu/ml)	Penghambatan <i>P.acnes</i> (mm)	Aktivitas Antioksidan (%)
Kontrol	$0.28 \pm 0.011a$	$4.84 \pm 0.26a$	$0 \pm 0a$	$38.89 \pm 0.67a$
Whey Yogurt	$0.62 \pm 0.018b$	$7.18 \pm 0.29b$	$4.35 \pm 0.477b$	$49.66 \pm 2.06b$

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

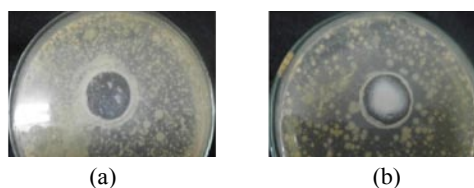
Streptococcus thermophilus dan *Lactobacillus bulgaricus* pada *WY* sebagai bakteri asam laktat berfermentasi menghasilkan senyawa metabolit primer berupa asam laktat (metabolit utama), asam asetat, dan hidrogen peroksida; juga metabolit sekunder (bakteriosin, senyawa flavor, dan Eksopolisakarida atau EPS). Hasil metabolit sekunder bakteriosin merupakan suatu peptida yang bersifat antibakteri yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri sejenis (Surono, 2004). Bakteriosin dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan (*therapeutic*) pada susu fermentasi (Rolfe, 2000).

Propionibacterium acnes merupakan bakteri yang lazim ditemukan pada jerawat klinis, dan merupakan bakteri anaerob obligat, Gram positif. *P. acnes* mengeluarkan produk yang berperan penting dalam peradangan jerawat, yaitu lipase, protease, hialurodinase, dan faktor chemotactic (Heyman, 2006). Lipase *P. acnes* merupakan faktor penting dalam pathogenesis jerawat karena membentuk asam lemak bebas karena efek lipase *P.acne* pada trigliserida kelenjar subaceous menginduksi peradangan (Higaki 2003).

Penghambatan pertumbuhan bakteri *P. acnes* dilihat dari ada dan tidak adanya pertumbuhan bakteri *P. acnes* di sekitar sumur yang diisi dengan masing-masing sampel kontrol dan *whey* yogurt (Gambar 1). Menurut hasil pengujian (Tabel 1), tidak terdapat penghambatan bakteri *P.acnes* pada kontrol (diameter sumur 25 mm) ($P < 0,05$), dan terdapat penghambatan bakteri *P.acnes* pada *WY* sebesar 4.35 mm ($P < 0,05$). Pan *et al* (2009) mengategorikan zona

hambat diantara 0-3 mm adalah lemah, 3-6 mm sebagai sedang, dan lebih dari 6 mm sebagai kuat. Berdasarkan hal tersebut, maka penghambatan *P. acnes* oleh *WY* tergolong sebagai penghambatan sedang

Kontrol tidak memiliki penghambatan terhadap bakteri *P. acnes*, mungkin disebabkan karena jumlah BAL pada *whey* ($4,84 \log_{10}$ cfu/ml) lebih rendah dari *P. acnes* ($5 \log_{10}$ cfu/ml), sehingga antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat pada *whey* tidak cukup menghambat pertumbuhan *P. acnes*. Selain itu, kondisi pH kontrol (5,38) tidak cukup asam untuk menghambat lipase *P. acnes*. Higaki (2003) menjelaskan, lipase yang dihasilkan *Propionibacterium acnes* stabil dan aktif pada pH diantara 5-8 dan apabila pH lebih rendah dari 5 aktivitas lipase *P.acnes* menjadi lemah. Menurut Surono (2004), pada pH rendah sejumlah besar asam laktat dalam bentuk tidak terdisosiasi dan menjadi racun bagi banyak bakteri, kapang dan khamir. Nilai pH rendah mengakibatkan asidifikasi sel sitoplasma sehingga mengubah permeabilitas sel membran dan mengganggu sistem transport substrat.



Gambar 1 Penghambatan *P. acnes* oleh (a) kontrol, (b) *Whey* Yogurt

Penghambatan yang tidak kuat pada WY ini mungkin disebabkan karena *P.acnes* termasuk kelompok bakteri Gram positif, dimana bakteri Gram positif memiliki dinding sel dan lapisan peptidoglikan yang tebal. Menurut Prescott *et al.* (2002), penghambatan BAL terhadap bakteri patogen dipengaruhi oleh perbedaan dinding sel dan lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel.

Aktivitas Antioksidan

Antioksidan berperan dalam menangkal radikal bebas sehingga membantu pencegahan pembentukan melanin. Fungsi lainnya yaitu membantu mengurangi stres oksidatif sebagai pemicu peradangan jerawat (Batubara, 2010; Batubara dan Mitsunaga, 2013). Whey Yogurt (WY) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1). Aktivitas antioksidan WY lebih tinggi yogurt berbahan baku susu sapi pada penelitian Shori dan Baba (2013), yaitu sebesar 23,5%. Hal ini dikarenakan kandungan antioksidan kontrol sudah cukup tinggi.

Fungsi antioksidan pada whey diperkirakan karena kandungan laktoferin. Laktoferin merupakan antioksidan nonenzimatik yang ditemukan pada fraksi whey susu sebaik pada kolostrum (Coimbra dan Teixeira, 2009). Konsentrasi ion laktoferin dalam susu sapi dan kolostrum berturut-turut sekitar 0,2 mg/mL dan 1,5 mg/mL, sedangkan konsentrasi laktoferin pada kebanyakan whey protein bubuk komersial adalah 0,35-2% dari total kandungan protein (Coimbra dan Teixeira, 2009). Mekanisme laktoferin sebagai antioksidan adalah dengan menangkal ion besi. Laktoferin memiliki kemampuan mengikat membran sel, meningkatkan kemampuannya mencegah peroksidasi lipid (Konishi *et al.* 2006 dan Larkins, 2005). Efek antioksidan pada whey juga terdapat pada kandungan glutathione. Glutathione merupakan senyawa antioksidan dan detoksifying alami yang sangat potensial, hasil sintesis asam amino cystein dan methionin yang terkandung pada protein whey (Hidayat *et al.* 2006).

Aktivitas antioksidan meningkat dengan adanya proses fermentasi yang ditunjukkan dari persentase aktivitas antioksidan WY yang lebih tinggi (Tabel 1). Antioksidan pada WY selain berasal dari laktoferin dan glutathion diduga juga berasal dari bioaktif peptida yang dihasilkan selama fermentasi laktat. Peptida ini dienkripsi dalam protein susu dan dilepaskan selama fermentasi karena kegiatan proteolitik dari organisme yang digunakan (Aloğlu dan Öner, 2011).

Antioksidan merupakan suatu senyawa kimia yang dalam kadar tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan lemak dan minyak akibat proses oksidasi (Winarti, 2010). Antioksidan dapat digunakan untuk mengurangi stress oksidatif yang dapat menyebabkan jerawat (Sarici *et al.* 2010; Batubara dan Mitsunaga 2013). Stres oksidatif dihasilkan dari kenaikan produksi oksidan dalam sel, menyebabkan proses degeneratif sehingga mengakibatkan peradangan pada kulit. Stres oksidatif merupakan sebuah istilah untuk mengindikasikan ketidakseimbangan antara konsentrasi radikal bebas dan konsentrasi mekanisme pertahanan antioksidan dalam tubuh (Sezer *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Proses fermentasi menaikkan jumlah bakteri asam laktat whey hingga 48%, dan aktivitas antioksidan hingga 27,7%. Whey Yogurt berpotensi sebagai bahan alami pencegah jerawat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan untuk Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), Kementerian Keuangan Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aloğlu, H.S. dan Z. Öner. 2011. Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *J. Dairy Sci.* 94 : 5305-5314.
- [AOAC]. 2005. Official method of analysis 962.09 (18th Edition) Volume I. Maryland (US): Association of Official Analytical Chemists Inc
- [BAM] **Bacteriological Analytical Manual**. 2011. Quantitative Analysis of Bacteria in Foods as Sanitary Indicators.
- Batubara, I., Tohru M., dan Hideo O. 2009. Screening antiacne potency of Indonesian medicinal plants: antibacterial, lipase inhibition, and antioxidant activities. *J. Wood Sci.* 55: 230-235.
- Batubara I. dan T. Mitsunaga. 2013. Use of Indonesian medicinal plants products against acne. *Reviews in Agricultural Science* 1: 11-30.
- CODEX. 2003. Codex Standard for Fermented Milks: Codex STAN 243. FAO/WHO Food Standards; Codex Alimentarius Commission.
- Chen, M.J., J.R. Liu, J.F. Sheu, C.W. Lin, dan C.L. Chuang. 2006. Study on skin care properties of milk kefir whey. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 6 (19): 905-908.
- Coimbra, J.S. dan Teixeira J.A. 2009. Engineering Aspects of Milk and Dairy Product. New York: CRC Press.
- De Witt, J.N. 2001. Lecture's Handbook on Whey and Whey Product. European Whey Products Association. Brussels, Belgium.
- Departemen Perindustrian. 2006. Roadmap Industri Susu. Direktorat Jenderal Industri Agro dan Kimia Departemen Perindustrian, Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gaspersz, V. 1991. Metode Perancangan Percobaan. CV. Armico, Bandung.
- Heyman, W.R. 2006. Use Of Indonesian medicinal plants products against acne. *Reviews in Agricultural Science.* 1:11-30
- Hidayat, N., Masdiana C.P. dan S.Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit ANDI Yogyakarta.
- Higaki, S. 2003. Lipase inhibitors for the treatment of acne. *J. Mol. Catal. B.* 22:377-384.
- Konishi M, Iwasa M, Yamauchi K, Sugimoto R, Fujita N, Kobayashi Y, Watanabe S, Teragouchi S, Adachi Y, Kaito M. 2006. Lactoferrin inhibits lipid peroxidation in patient with chronic hepatitis C. *Hepatology Res.* 36: 27-32.
- Larkin N. 2005. Potencial implications of lactoferrin as

- therapeutic agent. *Am J Vet Res.* 66: 739-742.
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., and Zhao, Z.** 2009. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *J. Food Control* 20 : 598-602.
- Prescott. L. M., Horley. J. P., and Klein. D. A.** 2002. *Microbiology* 5th ed. Boston: Mc Graw-Hill.
- Rahman, A., S. Fardiaz, W.P. Rahaju, Suliantari, dan C.C. Sawitri.** 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rolfe, R.D.** 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Symposium: Probiotic Bacteria: Implications for Human Health*. American Society for Nutritional Science.
- Sarici, G. S. Cinar, F. Armutcu, C. Altinyazar, R. Koca, dan N.S. Tekin.** Oxidative stress in acne vulgaris. *JEADV.* 24: 763-767.
- Sezer E, Ozugurlu F, Ozyurt H, Sahin S, Etikan I.** Lipid peroxidation and antioxidant status in lichen planus. *Clin Exp Dermatol.* 32: 430-434.
- Shori, A.B., dan A.S. Baba.** 2013. Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by *Azadirachta indica*-Yogurt. *Journal of Saudi Chemical Society.* 17: 295-301.
- Surono, I.S.** 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta:Tri Cipta Karya.
- Susilorini, T. E. dan M. E. Sawitri.** 2006. *Produk Olahan Susu*. Cetakan I, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tamime, A.Y.** 2006. *Fermented Milks*. Blackwell Publishing Company.
- Taufik, E.** 2004. Aktivitas antimikroba dadih susu sapi yang difermentasi dengan berbagai starter bakteri probiotik. Penelitian Dosen Muda Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarti, S.** 2010. *Makanan Fungsional*. Graha Ilmu, Yogyakarta.