

## PENGEMBANGAN STARTER DARI *Lactobacillus* spp. ISOLAT SUSU KUDA SUMBAWA UNTUK PEMBUATAN SUSU TERFERMENTASI

I Gusti Ayu Kusuma Dewi<sup>1</sup>, I Gusti Ngurah Agung Dewantara Putra<sup>1</sup>, I Nengah Sujaya<sup>2</sup>  
<sup>1)</sup>Jurusen Farmasi FMIPA, <sup>2)</sup> PS Ilmu Kesehatan Masyarakat, FK Unud

### ABSTRAK

Susu terfermentasi yang beredar di pasaran menggunakan bakteri probiotik yang bukan berasal dari strain lokal Indonesia. Beberapa strain yang diisolasi dari susu kuda sumbawa menunjukkan potensi untuk dikembangkan menjadi probiotik potensial. Namun, sebagian besar strain-strain belum diuji kemampuannya dalam proses karakterisasi susu untuk membuat susu terfermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi *Lactobacillus* spp. isolat susu kuda Sumbawa sebagai starter susu terfermentasi.

Sebanyak 32 isolat *Lactobacillus* spp. isolat susu kuda Sumbawa yang berpotensi sebagai probiotik diseleksi kemampuannya untuk dikembangkan sebagai starter susu fermentasi yang didasarkan pada produksi massa sel, pH dan karakteristik organoleptik susu terfermentasi. Dari 32 isolat *Lactobacillus* spp. yang dipergunakan diperoleh 2 isolat potensial yaitu *Lactobacillus* sp. SMM37 dan *Lactobacillus* sp. SMM42. Kedua isolat ini dapat memproduksi massa sel yang cepat, menghasilkan susu terfermentasi dengan pH yang baik yaitu *Lactobacillus* sp. SMM37 sebesar 3,68 dan *Lactobacillus* sp. SMM42 sebesar 4,19, serta karakteristik organoleptik yang baik yang meliputi rasa, kekentalan (tekstur), ada tidaknya butiran (curd).

Kata kunci: Susu terfermentasi, *Lactobacillus*, Probiotik

### 1. PENDAHULUAN

Probiotik merupakan salah satu pilihan untuk terapi penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan, seperti alergi (Kalliomaki et al., 2004), diare (Van Neil et al., 2002) dan penyakit saluran cerna lainnya. Probiotik didefinisikan sebagai bakteri hidup suplemen bahan makanan yang memberikan efek menguntungkan bagi manusia dengan menjaga keseimbangan bakteri menguntungkan di dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989).

Secara umum, probiotik digunakan untuk mencegah diare (*Lactobacillus acidophilus* dikombinasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Enterococcus faecium* SF68i dan *Bifidobacterium longum*, *Saccharomyces boulardii*); untuk Gastroenteritis akut (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* strain Shirota, *E. faecium* SF68 dan *Sacc. boulardii*); dan untuk mengatasi Traveller's diarrhoea (*L. acidophilus* dikombinasi dengan *L. bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum* strain KLD, *L. rhamnosus* GG dan *Sacc. boulardii*) (Martau et al., 2001).

Probiotik yang termasuk golongan bakteri asam laktat (BAL) khususnya *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* sering digunakan sebagai starter dalam pembuatan susu terfermentasi (Collins and

Gibson, 1999). BAL yang digunakan dalam pembuatan susu terfermentasi seperti bioyogurt adalah genus *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus* (Tamime and Robinson, 2002).

Susu terfermentasi yang beredar di pasaran menggunakan bakteri probiotik yang bukan berasal dari strain lokal Indonesia. Sujaya et al., (2008) melaporkan bahwa beberapa strain yang diisolasi dari susu kuda sumbawa menunjukkan potensi untuk dikembangkan menjadi probiotik potensial. Namun, sebagian besar strain-strain belum diuji kemampuannya dalam proses karakterisasi susu untuk membuat susu terfermentasi. Oleh karena itu, pada penelitian ini dipilih sebanyak 32 isolat untuk produksi starter dalam pembuatan susu terfermentasi dengan tujuan untuk menggali potensi *Lactobacillus* spp. isolat susu kuda Sumbawa sebagai starter susu terfermentasi.

### 2. METODE PENELITIAN

#### 2.1 Bahan Penelitian

Sebanyak 32 strain isolat *Lactobacillus* spp. yang merupakan hasil isolasi dari susu kuda Sumbawa koleksi Udayana Culture Collection di UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi dipakai dalam penelitian ini. Selain itu, strain komersial yang dipakai oleh Diamond

yogurt juga di uji pada penelitian ini sebagai control (pembanding). Semua strain isolat ditumbuhkan kepada media MRS broth (pronadisa).

## 2.2 Penyegaran Materi Hidup

Stok isolat *Lactobacillus* spp. yang disimpan dalam gliserol 30 % pada suhu -20°C diambil sebanyak satu loop ose dan diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media MRS broth. Tabung reaksi diinkubasi secara aerob selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan timbulnya kekeruhan pada tabung. Untuk memastikan bahwa isolat yang dipakai tidak mengalami perubahan, maka dilakukan beberapa uji konfirmasi seperti uji gas dari produksi metabolisme glukosa, uji katalase, uji pewarnaan gram dan bentuk morfologi sel bakteri (Suryani dkk, 2010)

## 2.3 Uji Konfirmasi

### 2.3.1 Pewarnaan Gram dan Bentuk Morfologi Sel Bakteri

Isolat *Lactobacillus* dihapuskan pada gelas objek kemudian ditunggu hingga mengering sambil difiksasi diatas Bunsen (kira-kira 20 cm di atas bunsen) dan diwarnai dengan gentian violet selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, kemudian ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya hapusan tersebut dicuci dengan alkohol 96 % selama 10 detik, dicuci dengan air dan diwarnai dengan pewarna safranin selama 15 detik, cuci kembali dengan air mengalir. Sel bakteri yang telah diwarnai, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan diamati dibawah mikroskop (Olympus BX-51) dengan menggunakan minyak emersi (pembesaran 1000 X). BAL (*Lactobacillus*) akan berwarna biru keunguan (Lay, 1994) dan berbentuk batang memanjang (Hammes and Vogel, 1995).

### 2.3.2 Uji katalase

Isolat yang akan diuji, dibuat apusannya pada kaca objek, ditetesi dengan dua tetes larutan  $H_2O_2$ , dan diamati gelembung yang timbul. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya gelembung udara ( $O_2$ ) yang dihasilkan dari degradasi  $H_2O_2$  oleh enzim-enzim katalase (Suryani dkk, 2010).

### 2.3.3 Uji produksi gas dari hasil metabolisme glukosa

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode hot loop (Sperber and Janice, 1976), dengan cara memasukkan jarum ose panas ke dalam suspense biakan BAL. Hasil positif

ditandai oleh terbentuknya gas  $CO_2$  dari hasil metabolism glukosa (Suryani dkk, 2010).

## 2.4 Pembuatan Starter Susu Terfermentasi

### 2.4.1 Penyiapan Kultur Starter *Lactobacillus* spp. (Inokulum)

Biakan bakteri *Lactobacillus* spp. yang telah tumbuh pada media MRS Broth divortex, kemudian diambil menggunakan pipet mikro sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan massa sel dan supernatan. Supernatan yang diperoleh dibuang dan massa sel yang diperoleh dicuci sebanyak 2 kali dengan menggunakan larutan normal salin (NaCl 0,85%) untuk menghilangkan sisa-sisa media. Pencucian dilakukan dengan menambahkan 2 mL normal salin pada massa sel, divortex hingga homogen, disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit (Hitachi). Kemudian massa sel yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dengan 2 mL susu.

### 2.4.2 Prosedur Pembuatan Starter Susu Terfermentasi

Susu segar dipasterurasi pada suhu 80°C selama 30 menit, didinginkan sampai suhu mencapai 45°C, diinokulasi dengan 2,5 % v/v kultur aktif *Lactobacillus* spp., dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C sebelum digunakan.

### 2.4.3 Uji pH Starter Susu Terfermentasi

Pengukuran pH susu terfermentasi dilakukan dengan menggunakan pH meter digital (TOA, ION Meter IM-40S) yang sudah dikalibrasi dengan menggunakan buffer pH 4 dan 7 (Sudarmadji et al., 1997). Sampel ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker, ditambahkan 10 mL aquades, dan diukur pHnya sesuai dengan prosedur yang dilakukan oleh (Sudarmadji et al., 1997).

### 2.4.4 Uji organoleptik

Uji organoleptik ini dilakukan oleh panelis ahli makanan fungsional dengan cara memberikan penilaian terhadap 32 starter yang telah dibuat. Penilaian ini dilakukan pada beberapa parameter starter, seperti warna, tekstur, rasa dan aroma, dengan mengisi kuisioner yang diberikan kepada panelis.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Konfirmasi Isolat Bakteri

Uji konfirmasi ini dilakukan terhadap 32 isolat *Lactobacillus* spp. susu kuda Sumbawa kandidat probiotik dengan tujuan untuk

memastikan strain bakteri digunakan dalam penelitian merupakan strain yang benar dan dalam keadaan murni atau tidak terkontaminasi. Tabel A.1, menunjukkan bahwa morfologi sel bakteri *Lactobacillus* spp. isolat susu kuda Sumbawa memiliki beberapa karakteristik, seperti selnya berbentuk basil atau batang, Gram positif, katalase negatif, dan homofermentatif. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh beberapa peneliti, seperti Sujaya et al., (2008), Wahyudi (2006), dan Suskovic et al., (2001), yang juga melakukan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL). Hasil ini memberikan keyakinan pada peneliti bahwa identitas strain bakteri yang dipakai pada penelitian ini adalah benar atau sesuai dengan yang tertera pada stock culture.

### 3.2 Skrining Starter Susu Terfermentasi

Dari 32 strain isolat yang diskirining untuk pengembangan starter susu terfermentasi pada penelitian ini (Tabel A.2), diperoleh dua kandidat isolat *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus* sp. SMM37 dan *Lactobacillus* sp. SMM42) yang menunjukkan sifat-sifat unggul untuk starter dalam produksi susu terfermentasi. Kedua isolat ini mempunyai kemampuan tumbuh yang lebih baik jika dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya yang diuji, menghasilkan produk dengan pH 3.68 (isolat *Lactobacillus* sp. SMM37) dan pH 4.19 (isolat *Lactobacillus* sp. SMM42), dan menghasilkan produk dengan cita rasa yang disukai oleh para panelis dalam uji organoleptik. Hasil ini, terutama dalam hal pH produk yang dihasilkan, sesuai dengan yang disarankan oleh Askar dan Sugiarto (2005) yang menyatakan bahwa pH produk susu terfermentasi seharusnya berkisar antara pH 3,68 sampai pH 4,2. Tingkat keasaman yang cukup tinggi pada susu terfermentasi akibat produksi asam laktat yang semakin meningkat diduga akan menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat yang terkandung di dalamnya (negative feed back effect) (Koroleva, 1991). Selain itu nilai pH dari susu terfermentasi akan berpengaruh terhadap kerusakan susu terfermentasi. Kerusakan ini diakibatkan karena adanya pertumbuhan bakteri pathogen, kapang dan khamir yang akan timbul jika pH susu terfermentasi berada diluar rentang 3,68 sampai 4,2 (Askar dan Sugiarto, 2005).

### 4. KESIMPULAN

Dalam penelitian ini ditemukan dua isolat (*Lactobacillus* sp. SMM37 dan *Lactobacillus* sp. SMM42) yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi starter potensial dalam produksi susu terfermentasi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Dr. Drs. Yan Ramona, M.App.Sc., dan Bapak Putu Sanna Yustiantara, S.Farm., M.Si. sebagai reviewer. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini. Terimakasih juga kepada Lab Biosain dan Bioteknologi yang telah memberikan strain *Lactobacillus* spp. untuk diteliti, Bapak KaPS Farmasi Dr. rer. nat. I Made Agus Gelgel Wirasuta, M.si., Apt., Ibu Ni Wayan Nursini, MP., serta pihak lain yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu.

### DAFTAR PUSTAKA

- Askar, S., dan Sugiarto. 2005. Uji Kimiawi dan Organoleptik Sebagai Uji Mutu Yogurt. Prosiding Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian 2005. hal: 108-113.
- Buckle. K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan, H. Purnomo dan Adiono. Jakarta: UI-Press. hal: 294-295.
- Collins, M.D. and G.R. Gibson. 1999. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: Approaches for Modulating the Microbial Ecology of the Gut. Am J. Clin Nutr. 69: 1525-1575.
- Fuller, R. 1989. A Review: Probiotics In Man And Animals. J. Appl Bacteriol. 66: 365-378.
- Hammes, W.P. and R.F. Vogel. 1995. The Genus of *Lactobacillus* In B.J.B. wood, and W.H. Holzafel Ed.The Genera of Lactic Acid Bacteria. London. Blackie Academic and Profesional. p: 18-124.
- Kalliomaki, M., Salminem S., Pussa T., Arvilommi H., Isolauri E. 2004. Probiotics And Prevention of Atopic Disease: A Randomised Placebo Controlled Trial. The Lancet 361: 1869-1871.
- Koroleva, N.S. 1991. Products Prepared With Lactic Acid Bacteria and Yeast. In: Robinson (Ed). Therapeutics of Fermented Milks. Elsevier Applied Science, England
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada. hal: 33-35.

- Marteau, PR., de Vrese M., Cellier CS., Schrezenmeir J. 2001. Protection From Gastrointestinal Diseases With The Use of Probiotics. Am J Clin Nutr. 73: 430-436.
- Sperber, W., H., and Janice S. 1976. Hot Loop Test for Determination of Carbon Dioxide Production from Glucose by Lactic Acid Bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 31: (6) 990-991.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Liberti. hal: 21-30.
- Sujaya, N., N.M. U. Dwipayanti, N.L.P. Suariani, N.P. Widarini, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini. 2008. Potensi Lactobacillus spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa sebagai Probiotik. J. Vet. 9 (1): 33-40.
- Suryani, Yoni, A.B. Oktavia dan S. Umniyati. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidik Biologi. Biota. 12 (3): 177-185.
- Suskovic, J., B. Kos, J. Goreta, and S. Matosic. 2001. Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Symbiotic Effect. J. Food Technol. Biotechnol. 39 (3): 227-235.
- Tamime, A.Y. dan R.K. Robinson. 2002. Yogurt Science and Technology. New York. CRC Press. p: 1-9.
- Van Neil CW., Fewundter, Garrison MM., Christakis DA. 2002. Lactobacillus Therapy for Acute Infectious Diarrhea Children: Meta-Analysis. Pediatrics 109: 678-784.
- Wahyudi, Marman. 2006. Proses Pembuatan Dan Analisis Mutu Yogurt. Buletin Tehnik Pertanian. 11 (1): 12-15.

## APENDIKS A

Tabel A.1 Konfirmasi Lactobacillus spp. isolat Susu Kuda Sumbawa

Strain	Hasil Uji Konfirmasi			
	Bentuk	Pewarnaan Gram	Katalase	Produksi Gas
Lactobacillus sp. SKG44, SKG49, SMM5, SMM33, SMM34, SMM35, SMM36, SMM37, SMM38, SMM39, SMM40, SMM41, SMM42, SMM43, SMM44, SMM45, SMM46, SMM49, SMM50, SMM51, SMM53, SMM55, SMM56, SMM57, SMM58, SMM59, SMM61, SMM63, SMM67, SMM68, SMM72, SMM84	Batang	Warna ungu (Gram Positif)	Negatif	Negatif

Tabel A.2 Skrining Karakteristik Susu Terfermentasi Yang Dibuat Dari Strain Lactobacillus spp.

No	Isolat	Hasil skrining					
		Produksi massa sel	pH stater	Panelis	Organoleptik		
					Warna	Rasa&aroma	Tekstur
1	Lactobacillus sp. SKG44	48 jam	3,47	Panelis 1	++	++++	++++
				Panelis 2	+++	+++	+++++
				Panelis 3	++	++++	++++
2	Lactobacillus sp. SKG49	24 jam	3,56	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	++++	+++
3	Lactobacillus sp. SMM5	48 jam	3,61	Panelis 1	++	+++	++++
				Panelis 2	++	+++	+++
				Panelis 3	+++	++++	+++
4	Lactobacillus sp. SMM33	24 jam	4,36	Panelis 1	++	++	+++
				Panelis 2	+++	+	+++
				Panelis 3	+++	++	++
5	Lactobacillus sp. SMM34	24 jam	3,51	Panelis 1	++	++++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	++	++++	++++
6	Lactobacillus sp. SMM35	48 jam	3,69	Panelis 1	+++	++++	++++
				Panelis 2	++	++++	+++
				Panelis 3	+++	+++	++
7	Lactobacillus sp. SMM36	48 jam	3,99	Panelis 1	++	+	+
				Panelis 2	++	+	+
				Panelis 3	++	+	+
8	Lactobacillus sp. SMM37 ***	24 jam	3,68	Panelis 1	+++	+++	+++++
				Panelis 2	+++	+++	++++
				Panelis 3	+++	+++	+++++
9	Lactobacillus sp. SMM38	48 jam	5,61	Panelis 1	++	+	+
				Panelis 2	+++	+	+
				Panelis 3	+++	+	+
10	Lactobacillus sp. SMM39	24 jam	3,59	Panelis 1	++	++++	++++

				Panelis 2	+++	++++	+++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
11	Lactobacillus sp. SMM40	24 jam	4,27	Panelis 1	++	++	++++
				Panelis 2	++	++	++++
				Panelis 3	+++	+++	+++++
12	Lactobacillus sp. SMM41	24 jam	4,20	Panelis 1	++	++	++++
				Panelis 2	+++	++	++++
				Panelis 3	+++	+++	+++++
13	Lactobacillus sp. SMM42 ***	24 jam	4,19	Panelis 1	+++	+++	+++++
				Panelis 2	+++	+++	+++++
				Panelis 3	+++	+++	+++++
14	Lactobacillus sp. SMM43	24 jam	3,55	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	++	+++	++++
15	Lactobacillus sp. SMM44	24 jam	3,56	Panelis 1	++	++++	+++
				Panelis 2	++	++++	+++
				Panelis 3	++	+++	++++
16	Lactobacillus sp. SMM45	24 jam	3,58	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
17	Lactobacillus sp. SMM46	48 jam	3,68	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
18	Lactobacillus sp. SMM49	24 jam	3,63	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
19	Lactobacillus sp. SMM50	48 jam	3,97	Panelis 1	+++	++	+++
				Panelis 2	+++	++	++++
				Panelis 3	++	++	+++
20	Lactobacillus sp. SMM51	48 jam	4,03	Panelis 1	+++	++	++
				Panelis 2	++	++	+
				Panelis 3	++	+++	++

21	Lactobacillus sp. SMM53	24 jam	3,62	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	++	+++	++++
22	Lactobacillus sp. SMM55	24 jam	3,56	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
23	Lactobacillus sp. SMM56	24 jam	4,02	Panelis 1	+++	++++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
24	Lactobacillus sp. SMM57	24 jam	4,31	Panelis 1	+++	++++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	+++
25	Lactobacillus sp. SMM58	48 jam	3,93	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
26	Lactobacillus sp. SMM59	48 jam	4,43	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++
27	Lactobacillus sp. SMM61	24 jam	3,55	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	+++
28	Lactobacillus sp. SMM63	48 jam	3,52	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++
				Panelis 3	++	++++	++++
29	Lactobacillus sp. SMM67	48 jam	3,55	Panelis 1	+++	+++	+++
				Panelis 2	+++	++++	+++
				Panelis 3	++	+++	++++
30	Lactobacillus sp. SMM68	48 jam	3,55	Panelis 1	+++	++++	+++
				Panelis 2	++	++++	+++
				Panelis 3	+++	+++	++++
31	Lactobacillus sp. SMM72	48 jam	3,50	Panelis 1	++	+++	+++
				Panelis 2	++	++++	++++

				Panelis 3	+++	+++	++++
32	Lactobacillus sp. SMM84	48 jam	4,03	Panelis 1	++	++++	+++
				Panelis 2	+++	++++	++++
				Panelis 3	+++	+++	++++

Keterangan:

\*\*\* : Isolat Lactobacillus spp. yang dipilih sebagai starter susu terfermentasi

Arti skor warna :

+++ : Putih

++ : Putih agak kekuningan

+ : Kuning

Arti skor rasa dan aroma

- ++++ : Sangat asam
- +++ : Asam
- ++ : Agak asam
- + : Tidak asam/netral

Arti skor tekstur

- +++++ : Kental, roopy dan homogen
- ++++ : Agak kental dan kurang roopy
- +++ : Netral sedikit butiran protein susu (curd)
- ++ : Agak cair dan ada butiran endapan protein susu (curd)
- + : Cair (terjadi pemisahan antara endapan susu (curd) dan cairan (whey))