



Profil Pendugaan Senyawa Volatil Hasil Fermentasi Whey Keju yang Berpotensi sebagai Flavor

[Profile of Estimated Volatile Compounds from Cheese Whey Fermentation Results as Potential Flavors]

Firda Dimawarnita^{1)*}, Azzakiyya Salsabila Syifa Kusuma²⁾, Urip Perwitasari³⁾,
Elok Zubaidah²⁾, Yora Faramitha¹⁾, dan Ario Betha Juanssilfero³⁾

¹⁾ Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Bogor, Bogor, Indonesia

²⁾ Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³⁾ Badan Riset dan Inovasi Nasional, Bogor, Indonesia

Received October 1st 2024 / Revised June 3rd 2025 / Accepted July 14th 2025

ABSTRACT

Cheese whey, as a by product of cheese processing, contains high levels of protein and lactose, which can be utilized as a substitute medium for the growth of lactic acid bacteria (LAB) to produce flavor compounds, thereby enhancing its economic value. This study aims to identify the volatile flavor compounds present in the product resulting from *de Man Rogosa and Sharpe Broth (MRSB)* media with partial substitution of cheese whey (5, 15, and 30% v/v) as a source of carbon and nitrogen. The analysis was carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) while other observed parameters included pH, total acid, and carbon nitrogen content. The results of the study showed that the substitution of cheese whey at 5% showed the best results, and produced bioflavor compounds such as 2(5H)-furanone (almond) and benzenacetaldehyde (rose) with pH 4.57 ± 0.012 , total acid 0.88%, total carbon $15.86 \pm 0.292\%$, and total nitrogen $1.39 \pm 0.177\%$. These findings indicate that cheese whey can serve as an effective substitute for carbon and nitrogen sources in growth media to produce volatile compounds with potential flavor properties by *Lactobacillus* sp.

Keywords: cheese whey, flavor, LAB, *Lactobacillus*, microorganism

ABSTRAK

Whey keju sebagai hasil samping pengolahan keju mengandung protein dan laktosa yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai media pengganti pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) untuk menghasilkan senyawa flavor. Pemanfaatan kandungan nutrisinya sebagai media pengganti bakteri asam laktat dapat meningkatkan nilai ekonomis whey keju. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil senyawa volatil yang berpotensi sebagai senyawa flavor yang dihasilkan dari media *de Man Rogosa and Sharpe Broth (MRSB)* yang disubstitusi dengan whey keju (5, 15, dan 30% v/v) sebagai pengganti sumber karbon dan nitrogen. Analisis dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS), sedangkan parameter lain yang diamati meliputi pH, total asam, dan kadar karbon nitrogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase substitusi whey keju sebesar 5% menunjukkan hasil terbaik, serta menghasilkan senyawa bioflavor berupa 2(5H)-furanon (*almond*) dan benzenacetaldehyde (*rose*) dengan pH $4,57 \pm 0,012$; total asam 0,88%; total karbon $15,86 \pm 0,292\%$; dan total nitrogen $1,39 \pm 0,177\%$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa whey keju dapat digunakan sebagai substitusi sumber karbon dan nitrogen pada media pertumbuhan untuk menghasilkan senyawa volatil yang berpotensi sebagai flavor oleh *Lactobacillus* sp.

Kata kunci: BAL, flavor, *Lactobacillus*, mikroorganisme, whey keju

*Penulis Korespondensi: E-mail: firda.dimawarnita@gmail.com

PENDAHULUAN

Whey merupakan produk limbah utama dari industri susu, terutama dalam produksi keju. *Whey* merupakan campuran kompleks dari banyak komponen seperti protein, laktosa, lemak, kalsium, fosfor, asam organik, dan vitamin. Oleh karena kandungan nutrisinya yang lengkap, *whey* dapat menjadi media yang sangat baik bagi bakteri (Khem *et al.*, 2016). Di sisi lain, sebagai bahan baku, *whey* memiliki sifat cepat rusak akibat mikroflora yang ada. Kegunaan *whey* dalam proses bioteknologi bergantung pada kandungan laktosa, asam laktat, mineral, dan vitamin. Laktosa merupakan sumber energi yang baik bagi berbagai kelompok mikroorganisme, termasuk bakteri asam laktat (BAL).

Whey keju menjadi produk samping pengolahan keju yang dihasilkan sebanyak 85–95% dan mengandung 50% nutrisi dari susu yang digunakan (Lestari *et al.*, 2020). Menurut data Badan Pusat Statistik Nasional, produksi susu segar di Indonesia tercatat mencapai 968,9 ribu ton pada tahun 2022. Oleh sebab itu, potensi *whey* dapat dimanfaatkan menjadi alternatif sumber karbon (C) dan nitrogen (N) pada media kultur BAL, seperti *Lactobacillus* sp. Mikroflora *whey* yang dominan adalah mikroorganisme Gram-positif yang dapat diisolasi sebagai suatu populasi untuk produksi keju, kasein, dan asam laktat (Zain *et al.*, 2016). Kultur starter adalah organisme terpilih (bakteri, jamur, atau ragi) yang mengandung sejumlah besar mikroorganisme hidup yang terkonsentrasi, yang ditambahkan ke makanan untuk meningkatkan penampilan, bau, rasa, atau memperpanjang daya tahannya (Wibisana dan Mustika, 2015).

Rasa merupakan faktor penting dalam penerimaan banyak produk makanan. Pada umumnya molekul-molekul perasa ini diproduksi melalui sintesis kimia atau diekstraksi langsung dari tanaman. Selama beberapa dekade terakhir, kesadaran konsumen akan bahan makanan alami semakin meningkat, sehingga mendorong penelitian untuk produksi perasa alami berdasarkan bioteknologi. Perasa alami mencakup produk yang berasal dari bioteknologi menggunakan mikroorganisme, kultur sel tanaman, dan reaksi yang dikatalisis enzim (Davila dan Du, 2024). Pemanfaatan mikroba dalam skala industri untuk produksi *bioflavor* terhambat oleh tingginya biaya produksi, pembentukan produk samping yang tidak diinginkan akibat jalur yang rumit, dan toksisitas substrat yang digunakan atau senyawa aroma yang dihasilkan. Dalam proses pengembangan mikroba yang kompetitif secara ekonomi, penggunaan substrat yang mahal, hasil produk yang rendah, dan biaya perolehan produk yang tinggi masih menjadi permasalahan dan harus diatasi. Beberapa residu agroindustri dengan biaya yang dapat ditekan atau bahkan tanpa biaya seperti *whey* keju dapat menjadi

alternatif yang sangat baik untuk digunakan sebagai substrat produksi *bioflavor* oleh mikroorganisme. *Whey* keju mengandung laktosa >5% yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan *Lactobacillus* sp. (Yasmin *et al.*, 2013).

Penelitian mengenai perisa alami/*bioflavor* sedang banyak dikembangkan. Penggunaan kultur starter baru dengan sifat fungsional tertentu dapat meningkatkan nilai gizi, rasa, dan penerimaan produk. Fermentasi *whey* oleh kapang *Galactomyces geotrichum* dan bakteri *Lactobacillus* sp. dilaporkan mampu menghasilkan aroma flavor yang dapat menambah citarasa pada produk pangan (Abduh *et al.*, 2024; Szudera-Kończal *et al.*, 2020). *Lactobacillus* menawarkan keuntungan tambahan dalam hal pengawetan, namun penelitian evaluasi senyawa volatil masih terbatas. Hal tersebut dikarenakan asam laktat dari BAL dapat membantu mengawetkan produk, memberikan rasa asam yang khas, dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (Zeng *et al.*, 2023). Lebih lanjut, beberapa subspecies *L. lactis* dilaporkan mengubah lemak dan protein susu yang ditambah dengan ampas apel menjadi senyawa flavor (Mileriene *et al.*, 2023; Karwowska *et al.*, 2014). Akan tetapi, penggunaan limbah *whey* keju sebagai sumber karbon belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil senyawa volatil yang terbentuk dari hasil substitusi sumber karbon dan nitrogen berupa limbah *whey* keju pada media fermentasi bakteri *Lactobacillus* sp. Senyawa volatil yang teridentifikasi berpotensi menjadi *bioflavor* diharapkan dapat digunakan sebagai senyawa flavor alami bernilai ekonomi tinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kultur bakteri *Lactobacillus* sp. yang digunakan dalam penelitian ini merupakan stok kultur milik Pusat Penelitian Kelapa Sawit (Unit Bogor). Bahan substitusi yaitu *whey* keju diperoleh dari Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Bahan lain yang digunakan yaitu MRSB (HiMedia, India), de Man Rogosa and Sharpe Agar atau MRSA (HiMedia, India), aluminium foil, kain monel, H₂SO₄ 97% (Merck, Jerman), glisin (Merck, Jerman), indikator fenoltalein, 3,5 dinitrosalisilat (Sigma Aldrich, Amerika Serikat), ninhidrin (Merck, Jerman), fruktosa, KH₂PO₄ (Merck, Jerman), *Disodium hydrogen phosphate dihydrate* (Merck, Jerman), KIO₃ (Merck, Jerman), etanol 99% (Merck, Jerman), NaOH (Merck, Jerman), kloroform (Merck, Jerman), natrium sulfat (Merck, Jerman), dan kloroform (Merck, Jerman).

Persiapan kultur *Lactobacillus* sp.

Stok kultur *Lactobacillus* sp. yang tumbuh pada media MRSA disegarkan pada media MRSA steril baru di cawan petri yang berbeda. Tahap ini dilakukan untuk mengaktifkan kembali proses metabolisme bakteri setelah masa penyimpanan (Wijayanti *et al.*, 2015; Yoo *et al.*, 2018). Proses inkubasi dilakukan selama 72 jam dan kemudian kultur bakteri dapat disimpan kembali pada *refrigerator* dengan suhu 0–10 °C.

Produksi senyawa volatil dalam media tersubstitusi

Metode yang digunakan dalam memproduksi senyawa volatil yang berpotensi sebagai *flavor* pada media tersubstitusi ini merupakan modifikasi dari penelitian Güneşer *et al.* (2015) yaitu pada masing-masing Erlenmeyer berisi MRSB sebagai media standar pertumbuhan *Lactobacillus* sp. disubstitusi dengan *whey* keju steril sebanyak 5, 15, dan 30% (v/v) dan diinokulasikan dengan *Lactobacillus* sp. sebanyak 1 ose. Dalam setiap media tersubstitusi terdapat MRSB sebanyak 95, 85, dan 70% (v/v) secara berturut-turut. *Whey* keju berperan sebagai alternatif sumber karbon dan nitrogen yang disubstitusikan sesuai dengan persentase yang telah ditentukan. Proses inkubasi dilakukan selama 72 jam di atas *shaker* pada suhu ruang. Selama proses inkubasi, jumlah sel yang dimiliki oleh bakteri akan mengalami peningkatan dan dapat diukur menggunakan analisis *optical density* (OD). Nilai OD menunjukkan kepadatan sel yang berhubungan dengan pertumbuhan *Lactobacillus* sp. pada media tersubstitusi dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific, Amerika Serikat) dengan panjang gelombang 600 nm yang diukur setiap 24 jam (Nguyen-Sy *et al.*, 2020).

Pengukuran pH dan total asam tertitiasi

Proses fermentasi pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp. mengakibatkan terjadinya penurunan pH pada media pertumbuhan akibat dari asam-asam organik yang dihasilkan. Asam laktat adalah salah satu senyawa asam organik hasil dari perombakan karbohidrat oleh bakteri. pH media diukur menggunakan pH meter (Thermo Scientific, Amerika Serikat). Pengukuran total asam juga dilakukan untuk mengetahui jumlah asam-asam organik yang dihasilkan setelah proses fermentasi. Berdasarkan penelitian Suhaeni (2018), sebanyak 10 mL sampel dilarutkan dengan akuades dalam Erlenmeyer. Setelah itu, ditambahkan tiga tetes 1% indikator fenolftalein. Kemudian, larutan sampel ditambahkan dengan 0,1 N NaOH hingga warna menjadi merah muda. Jumlah volume NaOH yang tertitiasi dimasukkan ke dalam perhitungan seperti Persamaan 1.

Total Acid (%)=

$$\frac{\text{volume NaOH (mL)} \times \text{normalitas NaOH} \times \text{berat molekul asam laktat}}{\text{volume sampel (mL)} \times 1000} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

Total gula (karbon) dan nitrogen

Glukosa adalah sumber karbon bagi pertumbuhan *Lactobacillus* sp. yang akan dikonsumsi dan diubah menjadi asam-asam organik selama proses fermentasi. Selain itu, jumlah glukosa pada media pertumbuhan mengalami penurunan (Wang *et al.*, 2021). Analisis total gula dilakukan untuk mengetahui jumlah glukosa (karbon) yang dikonsumsi dengan menggunakan reagen DNS. Reaksi DNS merupakan reaksi redoks grup aldehid dengan reagen DNS, grup aldehid dari gula pereduksi akan mengalami oksidasi menjadi karboksil dan DNS akan tereduksi menciptakan warna merah kejinggaan yang ditunjukkan oleh *3-amino-5-nitrosalicylic* sebagai hasil dari tereduksinya reagen DNS. Semakin banyak grup aldehid yang mereduksi reagen DNS, semakin pekat warna yang dihasilkan. Warna tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific, Amerika Serikat) pada panjang gelombang 575 nm. Analisis ini dilakukan menggunakan metode Habibah *et al.* (2018) dengan modifikasi. Sebanyak 1 mL sampel dilarutkan pada 1 mL akuades dan kemudian ditambahkan 3 mL reagen DNS. Setelah itu, dilakukan homogenisasi dengan vortex dan dipanaskan selama 15 menit. Setelah didinginkan selama 20 menit dapat dilakukan pengukuran absorbansi pada spektrofotometer.

Nitrogen juga menjadi sumber nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroorganisme. Analisis pengukuran jumlah nitrogen yang dikonsumsi menggunakan metode menurut Zaini *et al.* (2019) dengan modifikasi. Sebanyak 2 mL sampel yang telah diencerkan di dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1 mL *color reagent* yang mengandung 0,3 g fruktosa, 4,971 g *Disodium hydrogen phosphate dihydrate*, 4 g KH₂PO₄, dan 0,5 g ninhidrin yang dilarutkan pada 100 mL akuades. Kemudian, sampel ditutup dan dipanaskan selama 16 menit pada suhu 100 °C. Setelah itu, didinginkan selama 20 menit, dan ditambahkan 5 mL larutan pengencer (sebanyak 2 g *potassium iodate* yang dilarutkan pada 616 mL akuades dan 348 mL etanol 96%). Ninhidrin berperan untuk mengoksidasi dan menyebabkan dekarboksilasi oksidatif pada α-asam amino serta menghasilkan CO₂, NH₃, dan aldehid. Pada sisi lainnya, fruktosa mereduksi ninhidrin, dan ninhidrin yang tereduksi bereaksi dengan ninhidrin yang belum tereduksi serta NH₃ membentuk senyawa kompleks berwarna ungu kebiruan dan nilai absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm.

Analisis GC-MS

Senyawa-senyawa volatil yang berpotensi sebagai *flavor* dihasilkan dari proses fermentasi dianalisis menggunakan *gas chromatography mass spectrometry* (GC-MS) dengan spesifikasi GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Jepang) menggunakan kolom RTx-5MS (25 m×0,2 mm ID, ketebalan 0,33 μ m). Sampel yang diidentifikasi senyawa volatilnya adalah sampel dari semua perlakuan (media pertumbuhan *Lactobacillus* sp. disubstitusi dengan whey keju steril 5, 10, dan 15%). Identifikasi senyawa volatil dilakukan dengan membandingkan spektrum massa yang diperoleh dengan data dari National Institute of Standard and Technology (NIST) dan *Wiley Registry of Mass Spectral Data*. Hasil dari GC-MS juga menunjukkan luas area senyawa-senyawa yang didapatkan dan luas area tersebut, dapat diartikan juga sebagai banyaknya jumlah senyawa dalam sampel (Dimawarnita *et al.*, 2024).

Analisis statistik

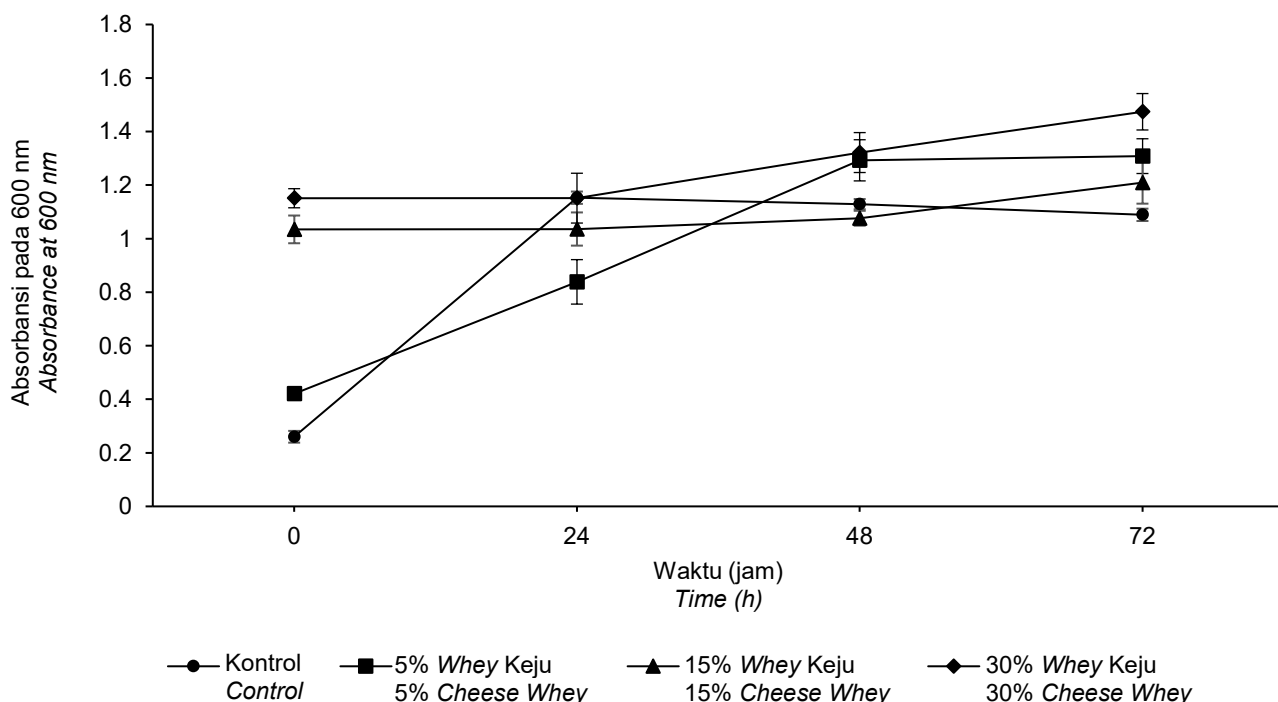
Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan faktor yaitu jumlah persentase media tersubstitusi. Media MRSB disubstitusi dengan whey keju dengan 3 level persentase substitusi yaitu 5, 15, dan 30% (v/v) dari total media pertumbuhan. Setiap sampel dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Semua data dilakukan analisis statistika

menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 95%, apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Tukey. Uji analisis statistika ini dilakukan menggunakan *software* Minitab versi 19.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Lactobacillus* sp.

Informasi mengenai kepadatan populasi bakteri dapat disebut dengan jumlah sel, peningkatan jumlah sel menunjukkan terjadinya proses pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Jumlah sel pada media cair dapat diperoleh dengan mengukur nilai OD (Ram *et al.*, 2019) dan lingkungan pertumbuhan bakteri juga dapat memengaruhi peningkatan jumlah sel bakteri selama pertumbuhan. Media tumbuh bakteri menjadi salah satu hal penting dalam pertumbuhan bakteri. Media tumbuh dengan jumlah dan sumber nutrisi yang berbeda akan memberikan pengaruh terhadap kemampuan bakteri untuk tumbuh sehingga kepadatan sel juga akan berbeda (Ukalska dan Jastrzębowski, 2019). Pada penelitian ini, media MRSB disubstitusi dengan whey keju dengan tiga level substitusi: 5, 15, dan 30%. Hasil pertumbuhan *Lactobacillus* sp. dengan pengukuran OD dengan tiga level substitusi media ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan nilai OD pada media tersubstitusi
Figure 1. The changes of OD values in substituted media

Hasil pengukuran nilai OD setelah proses inkubasi selama 72 jam terdapat pada Gambar 1. Setelah proses inkubasi, peningkatan nilai OD paling tinggi terdapat pada media tersubstitusi *whey* keju sebanyak 5% dengan peningkatan sebesar 0,89. Akan tetapi nilai ini tidak berbeda signifikan dengan peningkatan yang dimiliki oleh media kontrol (0% *whey* keju) dengan peningkatan sebesar 0,83. Gambar 1 menunjukkan bahwa media dengan substitusi *whey* keju sebanyak 5% dapat membantu peningkatan jumlah sel pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp. Hal tersebut dikarenakan *whey* keju mengandung L-glisin, L-lanin, L-leusin, dan L-isoleusin yang mampu meningkatkan pertumbuhan sel dan berakibat pada kepadatan sel bakteri (Subagiyo *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Kusmiyati *et al.* (2022), pertumbuhan *Lactobacillus casei* pada media pertumbuhan *whey* keju menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan media MRSB sehingga *whey* keju dapat menjadi media pertumbuhan alternatif.

Media yang disubstitusi dengan 15% dan 30% *whey* keju menunjukkan nilai *optical density* (OD) yang tinggi pada jam ke-0 akibat peningkatan kekeruhan media sebagai hasil dari substitusi tersebut. Kekeruhan pada media akan meningkatkan hasil pengukuran OD (Sardella *et al.*, 2018). Akan tetapi, rendahnya pH yang dimiliki oleh *whey* keju juga memengaruhi pertumbuhan *Lactobacillus* pada kedua level substitusi tersebut. *Whey* keju memiliki pH 3,87 sehingga semakin banyak *whey* keju yang disubstitusi, akan meningkatkan keasaman media dan mengganggu pertumbuhan bakteri. Terlihat pada Gambar 1 bahwa peningkatan nilai OD pada substitusi 15% dan 30% dari jam ke-0 hingga jam ke-72 tidak mengalami banyak peningkatan dibandingkan dengan media tersubstitusi 5% *whey* keju dan media kontrol. Media MRSB (kontrol) memiliki pH optimal untuk pertumbuhan *Lactobacillus* sp yaitu 6,5. De Man Rogosa and Sharpe (MRS) merupakan media standar untuk media pertumbuhan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* sp. (Pangestika *et al.*, 2018; Pratiwi *et al.*, 2020).

Kadar keasaman media

Penurunan pH media paling baik setelah proses inkubasi yaitu pada media kontrol MRSB dari 6,04 menjadi 4,38. Asam-asam organik yang dihasilkan selama berlangsungnya proses fermentasi dapat menurunkan nilai pH pada media. Pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp., produksi asam laktat yang terus meningkat membuat pH media menurun selama proses fermentasi (Aliya *et al.*, 2015). Rendahnya pH yang dimiliki oleh *whey* keju memengaruhi pH awal media. Semakin banyak *whey* keju yang disubstitusi, semakin rendah pula pH awal media dan memberikan pengaruh pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp. yang ditunjukkan pada Tabel 1. Tingkat keasaman

media pertumbuhan memiliki peran penting dalam proses fermentasi karena setiap mikroorganisme memiliki pH optimal untuk tumbuh dan *Lactobacillus* sp. dapat tumbuh pada media dengan pH 4–7 dan optimal pada pH 6,5. Proses fermentasi yang berkelanjutan akan membuat pH media semakin rendah akibat dari asam organik yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* sp. Penurunan pH akan terus berlanjut hingga berhenti pada titik pH yang terlalu asam dan menghambat pertumbuhan bakteri (Fadilah *et al.*, 2018).

Hasil uji ANOVA menyatakan bahwa persentase substitusi media memberikan pengaruh nyata pada proses fermentasi *Lactobacillus* sp. ($p\text{-value} < 0,05$). Berdasarkan hasil uji Tukey, persentase substitusi *whey* keju yang menghasilkan penurunan pH media pertumbuhan terbaik dimiliki oleh substitusi *whey* keju sebanyak 0% (media kontrol) dengan rata-rata penurunan pH sebesar 1,66. Akan tetapi, hasil tersebut tidak berbeda signifikan dengan penurunan pH pada media tersubstitusi *whey* keju sebanyak 5% dengan rata-rata penurunan sebesar 1,58. Hasil negatif yang ditunjukkan pada media tersubstitusi *whey* keju sebanyak 30% diduga terjadi karena banyaknya kandungan asam amino yang tersubstitusi melalui *whey* keju membuat hasil perombakan berupa amonia juga lebih tinggi. Keberadaan amonia ini dapat memengaruhi nilai pH karena amonia merupakan senyawa yang apabila terlarut dalam air menyebabkan terjadinya peningkatan nilai pH pada media (Pasini *et al.*, 2023). Nilai pH pada media juga berhubungan dengan nilai total asam yang merupakan persentase banyaknya asam laktat yang dimiliki.

Gambar 2 menunjukkan peningkatan total asam setelah 72 jam proses fermentasi pada media tersubstitusi *whey* keju. Peningkatan total asam yang terjadi menandakan bahwa terdapat pertumbuhan *Lactobacillus* sp. yang memproduksi asam laktat pada media tersubstitusi (Adisa *et al.*, 2019). Hasil uji ANOVA menyatakan bahwa persentase substitusi memberikan pengaruh nyata pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp. ($p\text{-value} < 0,05$). Menurut Santoso (2020), total asam mencakup asam yang dimiliki oleh bahan yang digunakan secara alami, asam yang ditambahkan, dan asam yang dihasilkan oleh proses metabolisme mikroorganisme. Kandungan total asam selama proses fermentasi akan semakin tinggi dan pada titik tertentu akan berpengaruh terhadap pertumbuhan *Lactobacillus* sp. serta dapat menyebabkan kematian. Penurunan pH juga dapat menyebabkan denaturasi protein pada sel-sel hidup bakteri dan dapat mengganggu aktivitas pertumbuhan, serta berpotensi untuk menyebabkan kematian pada bakteri (Pranidhani *et al.*, 2022). Rendahnya peningkatan total asam pada media tersubstitusi 15% dan 30% *whey* keju menunjukkan bahwa rendahnya pH media memengaruhi aktivitas pertumbuhan bakteri.

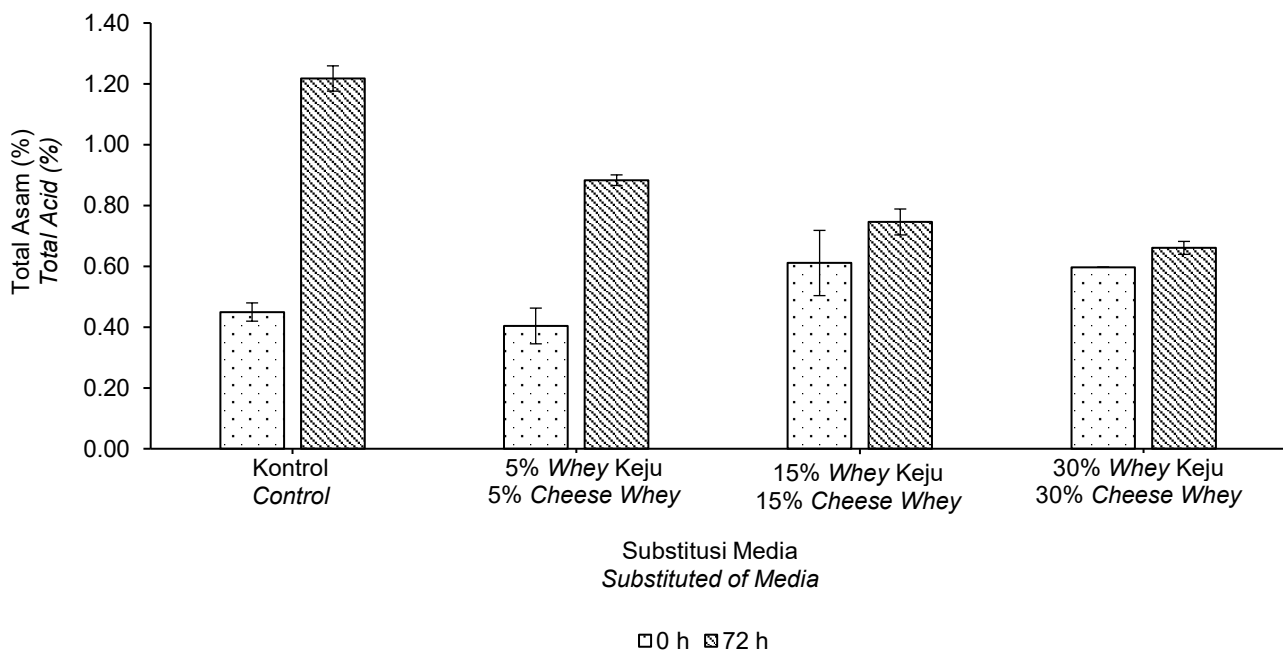
Tabel 1. Perubahan nilai pH pada media tersubstitusi whey keju

Table 1. Value of pH changes in cheese whey substituted media

Substitusi Media (Substituted of Media)	pH Media (pH of Media)		
	0 jam (0 h)	72 jam (72 h)	Δ^1
Kontrol MRSB (Control MRSB)	6.04±0.020	4.38±0.080	1.66 ^a
5% Whey keju (5% Cheese whey)	6.15±0.010	4.57±0.012	1.58 ^a
15% Whey keju (15% Cheese whey)	5.31±0.006	4.77±0.176	0.54 ^b
30% Whey keju (30% Cheese whey)	4.88±0.010	4.90±0.012	-0.02 ^c

Keterangan: Data adalah rerata nilai pH media ± standar deviasi. Huruf kecil menunjukkan signifikansi perbedaan antar faktor. Simbol Δ^1 merupakan selisih data pH pada 0 dan 72 jam

Note: Data are mean pH values of media ± standard deviation. Lower case letters indicate significant differences between factors. Δ^1 symbol is difference between pH data at 0 and 72 h



Gambar 2. Konsentrasi total asam pada media
Figure 2. Concentration of total acid in the media

Konsumsi karbon

Keberadaan sumber karbon merupakan hal penting dalam proses fermentasi, dan sumber karbon yang dimanfaatkan oleh *Lactobacillus* sp. dalam proses fermentasi adalah glukosa. Glukosa membantu untuk mengoptimalkan proses fermentasi sehingga mikroorganisme dapat menghasilkan asam-asam organik. Selama proses fermentasi, mikroorganisme akan mengubah glukosa menjadi asam organik dan menyebabkan penurunan kadar gula dalam media pertumbuhan. Penurunan total gula setelah proses inkubasi selama 72 jam terdapat pada Tabel 2. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa persentase substitusi whey keju memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan total gula dalam media pertumbuhan. Berdasarkan hasil Uji Tukey, penurunan total gula paling tinggi dimiliki oleh media tersubstitusi whey keju sebanyak 5% dengan rata-rata penurunan sejumlah 9,64%.

Penurunan total gula yang terjadi menunjukkan bahwa sumber karbon yang terdapat pada media dikonsumsi sebagai sumber energi untuk menghasilkan asam laktat. Substitusi whey keju pada media pertumbuhan dapat dimanfaatkan dengan baik oleh *Lactobacillus* sp. yang juga mampu meningkatkan nilai OD seperti yang terdapat pada Gambar 1. Bakteri dapat memanfaatkan banyak jenis sumber karbon dalam proses metabolismenya dan keberagaman sumber karbon akan membantu meningkatkan pertumbuhan sel bakteri (Cheng *et al.*, 2019).

Konsumsi nitrogen

Kebutuhan sumber nitrogen dalam media pertumbuhan juga memberikan pengaruh penting dalam proses metabolisme bakteri. Asam amino dalam media pertumbuhan dikonsumsi sebagai sumber nutrisi untuk proses metabolisme dan proses tersebut menyebabkan penurunan kandungan asam amino dalam media pertumbuhan (Khan *et al.*, 2018). Untuk

mengetahui jumlah kandungan asam amino bebas sebelum dan setelah inkubasi dilakukan pengujian menggunakan ninhidrin. Hasil konsumsi nitrogen pada media pertumbuhan dilihat pada Tabel 3.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa persentase substitusi whey keju memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kandungan nitrogen dalam media pertumbuhan *Lactobacillus* sp. Berdasarkan hasil uji Tukey, penurunan kandungan nitrogen tertinggi dimiliki oleh media tersubstitusi whey keju sebanyak 5% dengan penurunan kandungan nitrogen sebesar 0,67 g/L. Whey keju memiliki kandungan protein sebanyak 0,76% yang dapat meningkatkan sumber kebutuhan nitrogen pada media pertumbuhan bakteri (Kachrimanidou *et al.*, 2022). Semakin tinggi persentase substitusi whey keju, semakin banyak pula kandungan nitrogen yang disediakan dalam media pertumbuhan bakteri (Nursiwi *et al.*, 2015). Akan tetapi, kandungan asam yang dimiliki oleh whey keju dapat mengganggu pertumbuhan bakteri apabila disubstitusikan lebih banyak lagi dan hal tersebut membuat asam amino bebas juga tidak dapat dimanfaatkan dengan baik oleh *Lactobacillus* sp. Hal tersebut dikarenakan pH yang dimiliki oleh whey keju lebih rendah dari pH optimal *Lactobacillus* sp. untuk tumbuh. Ketersediaan sumber nitrogen membantu pembentukan dinding sel bakteri yaitu peptidoglikan yang terdiri dari asam amino. Pada saat proses pertumbuhan, *Lactobacillus* sp. terbatas dalam mensintesis asam amino terutama asam-asam amino esensial seperti leusin dan

isoleusin, sehingga sumber nitrogen dibutuhkan dalam media pertumbuhannya (Cheng *et al.*, 2019). Penggunaan residu agroindustri sangat mungkin dikombinasikan untuk mendapatkan nutrisi media terbaik, seperti limbah buah bit (Mladenović *et al.*, 2017) dan molases (Mladenović *et al.*, 2018).

Profiling senyawa volatil

Berdasarkan penelitian Szudera-Kończal *et al.* (2020), beberapa senyawa volatil flavor yang teridentifikasi dalam bahan baku whey meliputi asam asetat, 2,3-butanedione, 3—propanal. Ketiga aroma tersebut berasosiasi dengan aroma vinegar, aroma buttery, dan aroma kentang rebus secara berturut-turut. Fermentasi whey oleh mikroba dilaporkan mampu menghasilkan aroma campuran yang lebih baik. Mikroba yang biasa digunakan untuk fermentasi whey di antaranya adalah *Galactomyces geotrichum* (Szudera-Kończal *et al.*, 2020) dan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus casei* (Rosa *et al.*, 2023).

Pada penelitian ini, senyawa volatil hasil proses pertumbuhan *Lactobacillus* sp. dengan dan tanpa substitusi sumber karbon dan nitrogen dari whey keju ditunjukkan pada Gambar 3. Jumlah senyawa yang didapatkan yaitu sebanyak 24 senyawa dengan 14 senyawa ditemukan pada media kontrol dan 12 senyawa ditemukan pada media tersubstitusi whey keju. Senyawa-senyawa tersebut di antaranya yaitu pyrazine, pyridine, pyrrole, furan, dan senyawa-senyawa lainnya.

Tabel 2. Jumlah karbon yang dikonsumsi pada media tersubstitusi

Table 2. The quantity of carbon utilized in the substituted media

Media Tersubstitusi (Substituted Media)	Gula Total (%) (Total Sugar (%))		
	0 jam (0 h)	72 jam (72 h)	Δ^1
Kontrol MRSB (Control MRSB)	15.50±0.653	11.70±0.653	3.81 ^b
5% Whey keju (5% Cheese whey)	25.50±0.779	15.86±0.292	9.64 ^a
15% Whey keju (15% Cheese whey)	33.39±1.982	27.63±1.210	5.77 ^b
30% Whey keju (30% Cheese whey)	38.63±0.157	32.15±0.184	6.48 ^{ab}

Keterangan: Data adalah rerata jumlah karbon media ± standar deviasi. Huruf kecil menunjukkan signifikansi perbedaan antar faktor. Simbol Δ^1 merupakan selisih data gula total pada 0 dan 72 jam

Note: Data are mean carbon content of media ± standard deviation. Lowercase letters indicate significant differences between factors. Δ^1 symbol is difference between total sugar data at 0 and 72 h

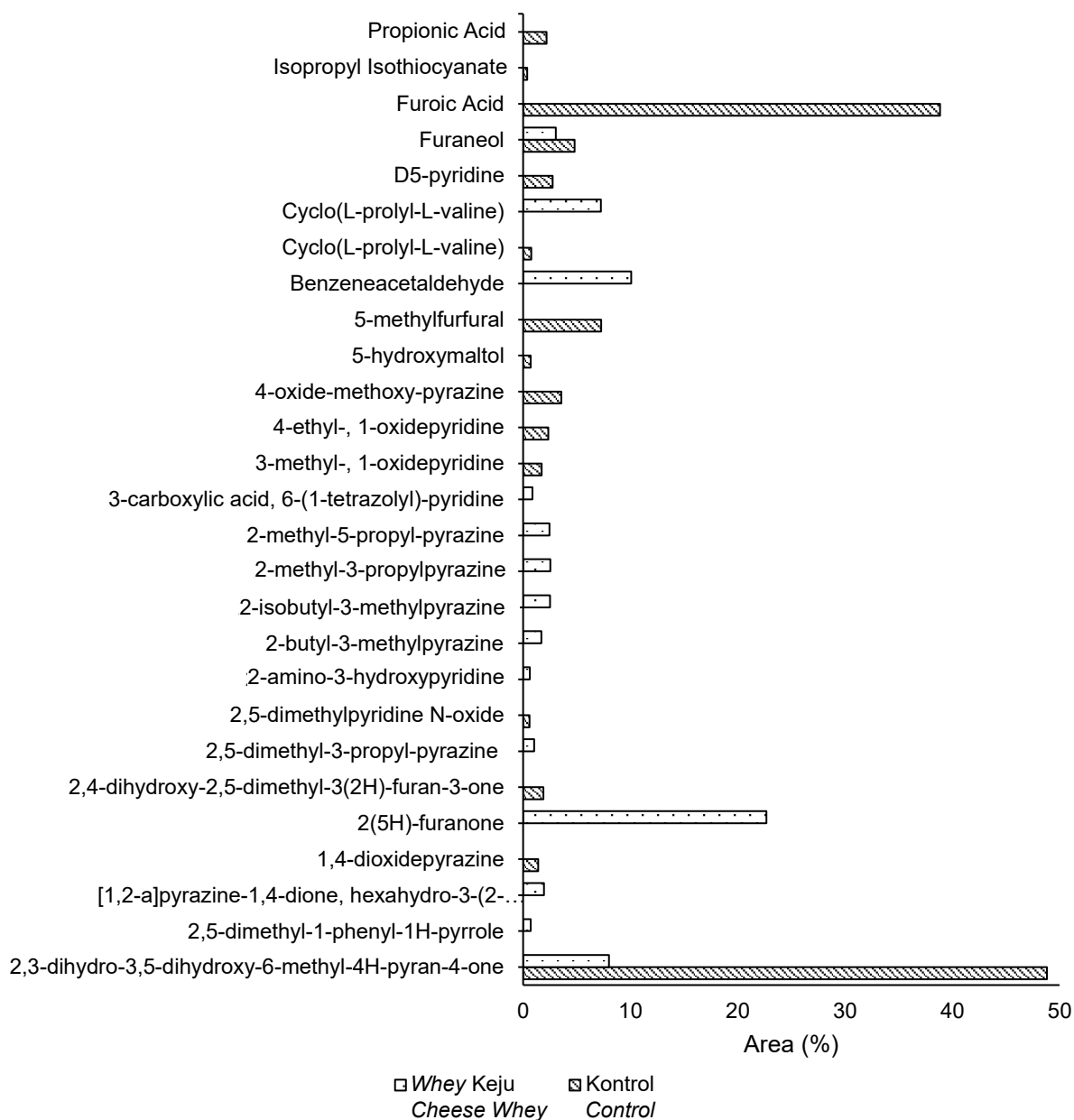
Tabel 3. Jumlah nitrogen yang dikonsumsi pada media tersubstitusi

Table 3. The amount of nitrogen consumed in substituted media

Media Tersubstitusi (Substituted Media)	Asam Amino Bebas (g L ⁻¹) (Free Amino Acids (g L ⁻¹))		
	0 jam (0 h)	72 jam (72 h)	Δ^1
Kontrol MRSB (Control MRSB)	1.38±0.043	1.34±0.043	0.05 ^b
5% Whey keju (5% Cheese whey)	2.00±0.003	1.39±0.177	0.67 ^a
15% Whey keju (15% Cheese whey)	1.72±0.156	1.70±0.040	0.17 ^b
30% Whey keju (30% Cheese whey)	1.44±0.071	1.40±0.057	0.05 ^b

Keterangan: Data adalah rerata jumlah nitrogen media ± standar deviasi. Huruf kecil menunjukkan signifikansi perbedaan antar faktor. Simbol Δ^1 merupakan selisih data asam amino bebas pada 0 dan 72 jam

Note: Data are mean nitrogen content of media ± standard deviation. Lower case letters indicate significant differences between factors. Δ^1 symbol is difference between free amino acids data at 0 and 72 h



Gambar 3. Hasil senyawa volatil yang berpotensi sebagai *flavor*
 Figure 3. The results of volatile compounds potential to be *flavors*

Persentase area pada gambar menunjukkan luas area hasil GC-MS yang juga menunjukkan konsentrasi relatif senyawa-senyawa tersebut pada sampel. Senyawa yang terdeteksi dengan konsentrasi yang tertinggi pada media kontrol (tanpa whey keju) yaitu 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one. Sedangkan, pada media tersubstitusi whey keju senyawa yang terdeteksi dengan konsentrasi tertinggi yaitu 2(5H)-furanone atau dengan istilah lain 4-hydroxy-2-butenic acid gamma-lactone. Senyawa ini dikenal sebagai *flavoring agent* untuk bahan pangan. Senyawa ini dilaporkan aman digunakan sebagai zat tambahan pada produk pangan (WHO, 2011). Senyawa cair tak

berwarna ini memiliki titik didih 52–53 °C, sehingga mudah menguap dan aromanya berasosiasi dengan aroma *wine* dan *meaty flavor* (FAO, 2025).

Senyawa-senyawa *pyrazine* merupakan senyawa yang mengandung nitrogen dan berbentuk heterosiklik serta terbentuk dari hasil reaksi gula dan asam amino. Hasil perombakan glukosa yang berupa *pyruvate* diubah menjadi senyawa *acetoin* dan bereaksi dengan ammonium membentuk senyawa *pyrazine*. Selain itu, asam amino seperti *valine*, *leucine*, *isoleucine*, dan *L-threonine* juga dapat menjadi prekursor dalam proses sintesis senyawa-senyawa *pyrazine* (Verma *et al.*, 2022). Proses fermentasi mikroba juga dapat memproduksi

senyawa-senyawa alkil-pyrazine, seperti *Bacillus subtilis* dengan prekursor *L-threonine* dan *D-glucose* menghasilkan senyawa 2-ethyl-3,5(3,6)-dimethyl pyrazine (Mortzfeld et al., 2020).

Salah satu senyawa pyrazine yaitu 4-oxid-methoxy-pyrazine yang memiliki luas area terbesar terdapat pada media kontrol dengan luas area sebesar 3,57%. Pyrazine merepresentasikan cita rasa *hazelnut*, *nutty*, kentang, dan jagung. Cita rasa yang dihasilkan bergantung pada senyawa yang akan berikatan dengan cincin pyrazine (Dippong et al., 2022). Selain itu, beberapa senyawa pyrazine juga memiliki cita rasa yang khas seperti kopi panggang yang juga dimiliki oleh senyawa-senyawa pyridine dan pyrroles. Senyawa pyridine juga dapat merepresentasikan cita rasa asam dan *fishy*, sedangkan senyawa pyrrole merepresentasikan cita rasa kacang-kacangan (De Vivo et al., 2022). Penambahan senyawa ini sebagai *flavoring agent* akan menghasilkan aroma *nutty*, *roasty*, dan *toasty* (Guo et al., 2024).

Furan juga merupakan senyawa potensi *bio-flavor* hasil dari proses fermentasi *Lactobacillus* sp. Furan terbentuk dari proses degradasi gula yang bereaksi dengan asam amino serta proses degradasi asam amino yang berubah menjadi *acetaldehyde* dan *glycoaldehyde* serta kemudian *glycoaldehyde* akan membentuk senyawa-senyawa furan. Furan berperan sebagai *flavoring agent* dan memberikan beberapa cita rasa seperti buah-buahan, *sweet*, dan *caramel* (De Vivo et al., 2022).

Pada hasil penelitian ini, senyawa furan yang dihasilkan terdapat pada media kontrol dan memiliki luas area terbesar (*furoic acid*) dengan luas area sebesar 38,86%. *Furoic acid* mewakili cita rasa manis dan *oily* (Escobar et al., 2015; Saerens et al., 2010). Sedangkan, pada media tersubstitusi *whey* keju, senyawa furan yang memiliki luas area paling besar dimiliki oleh 2(5H)-furanone dengan luas area sebesar 22,6%. Selain itu, senyawa-senyawa furan lainnya seperti 5-methylfurfural merepresentasikan cita rasa seperti *caramel*, *almond*, kopi, *burned sugar*, dan senyawa furaneol merepresentasikan cita rasa stroberi dan nanas sehingga membuat senyawa ini dikenal sebagai *strawberry furaneol* dan *pineapple furaneol* (De Vivo et al., 2022; Weerawatanakorn et al., 2015). Senyawa-senyawa furan juga dapat terbentuk dari proses hidrolisis dan degradasi prekursor gula dengan atau tanpa asam amino. Asam amino seperti *serine* dan *cysteine* dapat membantu proses pembentukan senyawa furan. Selain itu, senyawa 4-hydroxy-2-alkenals juga merupakan prekursor senyawa furan yang didapatkan dari hasil dekomposisi asam lemak tidak jenuh (Guo et al., 2019). Senyawa-senyawa *bioflavor* lainnya yang mewakili berbagai cita rasa terdapat pada Tabel 4. Produk fermentasi *whey* oleh *G. geotrichum* menghasilkan senyawa aroma seperti *phenylacetaldehyde*, *2-phenylethanol*, dan *phenylacetic acid*. Senyawa tersebut berasosiasi dengan aroma madu, mawar, dan *buttery* (Szudera-Kończal et al., 2020).

Tabel 4. Senyawa volatil dan potensi flavornya
Table 4. Volatile compounds and their flavor potential

	Senyawa-Senyawa Volatil (Volatile Compounds)	Aroma (Flavor)
Pyrazine	• 2-methyl- 5-propylpyrazine • 2-methyl-3-propylpyrazine • 4-oxid-methoxy-pyrazine, • 2,5-dimethyl-3-propyl-pyrazine • Pyrazine, 1,4-dioxide	Aroma kopi panggang, dan kacang-kacangan (De Vivo et al., 2022)
Pyridine	• 2-amino-3-hydroxypyridine • P3-methyl-1-oxide-pyridine • 4-ethyl-1-oxide-pyridine • D5-pyridine	Asam, ikan, aroma panggang (De Vivo et al., 2022)
Pyrrole	• [1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-pyrrolo • 2,5-dimethyl-1-phenyl-1H-pyrrole	Manis, kopi panggang, kacang-kacangan (De Vivo et al., 2022)
Furan	• Furaneol • 5-methylfurfural • 2(5H)-furanone • Furoic acid • 2,4-dihidroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	Manis, buah-buahan, caramel, nanas, stroberi, kopi, <i>burned sugar</i> , dan <i>almond</i> (De Vivo et al., 2022)
Isothiocyante	• Isopropyl isothiocyante	Bitterness (Bell et al., 2018)
Cyclo(l-propyl-l-valine)		Pahit cokelat (Andruszkiewicz et al., 2019)
5-Hydroxymaltol		Karamel (De Vivo et al., 2022)
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one		Teh mawar (Chen et al., 2021)
Propionicacid		Manis, kekacang-kacangan (Bücher et al., 2021)
Benzeneacetaldehyde		Roti, mawar, manis (Fan et al., 2020)

Sebuah studi tentang jaringan metabolisme mikroba melaporkan bahwa aroma *wine* yang dihasilkan dari fermentasi *whey* dipengaruhi oleh *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Klebsiella* (Yang *et al.*, 2024). Lebih lanjut, pada penelitian ini senyawa flavor tertinggi yang dihasilkan oleh fermentasi limbah *whey* oleh *Lactobacillus* menghasilkan *furanone* (aroma *wine*). Sedangkan pada media kontrol dengan sumber karbon dari gula, senyawa volatil yang dihasilkan sebagai *flavor agent* adalah asam furoat. Produk ini merupakan produk turunan gula yang terhidrolisis menjadi furfural (He *et al.*, 2022). Asam furoat memberikan aroma manis dan sweet *aftertaste* pada produk pangan (Che *et al.*, 2022). Deskripsi aroma komponen volatil yang dilaporkan pada penelitian masih bersifat dugaan berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya. Ke depannya, untuk memperoleh hasil yang lebih akurat dan komprehensif, deskripsi aroma komponen volatil yang dihasilkan dapat diverifikasi menggunakan *Gas Chromatography Olfactometry* (GC-O). Analisis GC-O menggabungkan pemisahan senyawa melalui kromatografi gas dan deteksi menggunakan indera penciuman manusia (olfaktometri). Analisis ini memberikan penilaian yang lebih definitif dengan menghubungkan langsung puncak kromatografi dengan atribut sensorik, sehingga memvalidasi dampak *odoriferous* dari senyawa-senyawa ini (Szudera-Kończal *et al.*, 2020).

KESIMPULAN

Hasil substitusi media pertumbuhan *Lactobacillus* sp. dengan *whey* keju menunjukkan hasil yang baik terutama pada persentase sebanyak 5%. Hasil positif pada substitusi *whey* keju sebanyak 5% menunjukkan bahwa sumber karbon dan nitrogen pada media pertumbuhan *Lactobacillus* sp. dapat diganti dengan *whey* keju. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa volatil berpotensi sebagai *flavor* yang dihasilkan selama pertumbuhan pada media kontrol dan media yang disubstitusi dengan *whey* keju berbeda. Pada media kontrol, senyawa dengan konsentrasi tertinggi adalah 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, yang memberikan rasa teh mawar. Sedangkan pada media yang disubstitusi *whey* keju, senyawa dominan adalah 2(5H)-furanone, yang memberikan rasa manis dan almond serta benzeacetaldehyde yang memberikan rasa mawar. Hasil studi ini menunjukkan bahwa *whey* keju dapat dimanfaatkan sebagai bahan substitusi pengganti sumber karbon dan nitrogen pada media pertumbuhan untuk memproduksi senyawa-senyawa volatil yang berpotensi sebagai *flavor* oleh *Lactobacillus* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Abduh, S. B. M., Rizqiaty, H., Al-Baarri, A. N., Hintono, A., Bintoro, V. P., Putra, H. B. P., Susetya, A. E., Setyani, M., Gilkar, K. R., & Retnowati, A. P. (2024). Sensorial attributes of fermented whey drinks with either natural or artificial flavoring agents. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 012075. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1364/1/012075>
- Adisa, A. M., Adepeju, A. B., & Yusuf, A. K. (2019). Influence of pH and acidity on the fermentation of finger millet spiced ogi. *Food and Environment Safety – Journal of Faculty of Food Engineering*, 18(3), 214–222.
- Aliya, H., Maslakah, N., Numrapi, T., Buana, A. P., & Hasri, Y. N. (2015). Pemanfaatan asam laktat hasil fermentasi limbah kubis sebagai pengawet anggur dan stroberi. *Bioedukasi*, 9(1), 23–28. <https://doi.org/10.20961/bioedukasi-uns.v9i1.3878>
- Andruszkiewicz, P. J., D'Souza, R. N., Altun, I., Corno, M., & Kuhnert, N. (2019). Thermally-induced formation of taste-active 2,5-diketopiperazines from short-chain peptide precursors in cocoa. *Food Research International*, 121, 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.015>
- Bell, L., Oloyede, O. O., Lignou, S., Wagstaff, C., & Methven, L. (2018). Taste and flavor perceptions of glucosinolates, isothiocyanates, and related compounds. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(18), 1700990. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700990>
- Bücher, C., Burtcher, J., & Domig, K. J. (2021). Propionic acid bacteria in the food industry: An update on essential traits and detection methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), 4299–4323. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12804>
- Che, T., Yang, M., Li, Z., & Hu, X. (2022). Isolation and identification of sweet substances and sweet aftertaste substances in the fruit of *Phyllanthus emblica*. *European Food Research and Technology*, 248, 3003–3013. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04107-7>
- Chen, Z., Liu, Q., Zhao, Z., Bai, B., Sun, Z., Cai, L., Fu, Y., Ma, Y., Wang, Q., & Xi, G. (2021). Effect of hydroxyl on antioxidant properties of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one to scavenge free radicals. *RSC Advances*, 11, 34456–34461. <https://doi.org/10.1039/D1RA06317K>
- Cheng, F., Chen, H., Lei, N., Zhang, M., & Wan, H. (2019). Effects of carbon and nitrogen sources

- on activity of cell envelope proteinase produced by *Lactobacillus plantarum* LP69. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*, 23(1), 11–18. <https://doi.org/10.2478/auft-2019-0002>
- Davila, M., & Du, X. (2024). Flavor Ingredient Sustainability and Biotechnology. In *Flavor-Associated Applications in Health and Wellness Food Products* (pp. 91–112). Springer International Publishing.
- De Vivo, A., Genovese, A., Tricarico, M. C., Aprea, A., Sacchi, R., & Sarghini, F. (2022). Volatile compounds in espresso resulting from a refined selection of particle size of coffee powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 114, 104779. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104779>
- Dimawarnita, F., Kusuma, A. S. S., Perwitasari, U., Zubaidah, E., Faramitha, Y., Religia, P., & Juanssilfero, A. B. (2024). Production and profiling bioflavor compound from fermentation OPEFB hydrolysate and CPO by *Lactobacillus* sp. *Menara Perkebunan*, 92(1), 56–69. <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v92i1.564>
- Dippong, T., Dan, M., Kovacs, M. H., Kovacs, E. D., Levei, E. A., & Cadar, O. (2022). Analysis of volatile compound, composition, and thermal behavior of coffee beans according to variety and roasting intensity. *Foods*, 11(19), 3146. <https://doi.org/10.3390/foods11193146>
- Escobar, A., Sathicq, Á., Pizzio, L., Blanco, M., & Romanelli, G. (2015). Biomass valorization derivatives: Clean esterification of 2-furoic acid using tungstophosphoric acid/zirconia composites as recyclable catalyst. *Process Safety and Environmental Protection*, 98, 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2015.07.008>
- Fadilah, U., Wijaya, I. M. M., & Antara, N. S. (2018). Studi pengaruh pH awal media dan lama fermentasi pada proses produksi etanol dari hidrolisat tepung biji nangka dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(2), 92–102. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2018.v06.i02.p01>
- Fan, G., Du, Y., Fu, Z., Chen, M., Wang, Z., Liu, P., & Li, X. (2020). Characterisation of physicochemical properties, flavour components and microbial community in Chinese Guojing roasted sesame-like flavour *Daqu*. *Journal of the Institute of Brewing*, 126(1), 105–115. <https://doi.org/10.1002/jib.583>
- [FAO] Food and Agriculture Organization. (2025). Specifications for Flavourings. FAO
- Güneşer, O., Demirkol, A., Yüceer, Y. K., Toğay, S. Ö., Hoşoğlu, M. İ., & Elibol, M. (2015). Bioflavour production from tomato and pepper pomaces by *Kluyveromyces marxianus* and *Debaryomyces hansenii*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38, 1142–1155. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1356-0>
- Guo, J., Zhao, R., Li, J., Wu, D., Yang, Q., Zhang, Y., & Wang, S. (2019). Furan formation from ingredient interaction and furan mitigation by sugar alcohols and antioxidant of bamboo leaves in milk beverage model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(11), 4993–4999. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9739>
- Guo, Y., Gong, Q., Sun, F., Cheng, T., Fan, Z., Huang, Z., Liu, J., Guo, Z., & Wang, Z. (2024). Interaction mechanism of pea proteins with selected pyrazine flavors: Differences in alkyl numbers and flavor concentration. *Food Hydrocolloids*, 147(Part A), 109314. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109314>
- Habibah, F., Yasni, S., & Yuliani, S. (2018). Karakteristik fisikokimia dan fungsional pati hidrotermal ubi jalar ungu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 29(1), 69–76. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.1.69>
- He, W., He, Y., & Ye, J. (2022). Efficient synthesis of biobased furoic acid from corncob via chemoenzymatic approach. *Processes*, 10(4), 677. <https://doi.org/10.3390/pr10040677>
- Kachrimanidou, V., Alimpoumpa, D., Papadaki, A., Lappa, I., Alexopoulos, K., & Kopsahelis, N. (2022). Cheese whey utilization for biosurfactant production: evaluation of bioprocessing strategies using novel *Lactobacillus* strains. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12, 4621–4635. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02767-9>
- Karwowska, M., Wójciak, K. M., & Dolatowski, Z. J. (2014). Comparative studies on lipid oxidation of organic model sausage without nitrite produced with the addition of native or autoclaved mustard seed and acid whey. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(12), 2563–2570. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12586>
- Khan, S. A., Liu, L., Lai, T., Zhang, R., Wei, Z., Xiao, J., Deng, Y., & Zhang, M. (2018). Phenolic profile, free amino acids composition and antioxidant potential of dried longan fermented by lactic acid bacteria. *Journal Food Science and Technology*, 55(12), 4782–4791. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3411-8>
- Khem, S., Small, D. M., & May, B. K. (2016). The behaviour of whey protein isolate in protecting

- Lactobacillus plantarum*. *Food Chemistry*, 190, 717–723. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.020>
- Kusmiyati, N., Massora, M., & Wicaksono, S. T. (2022). Potential analysis of cheese whey as an alternative media growth for *Lactobacillus casei* group. 8(4), 136–147. <https://doi.org/10.18860/elha.v8i4.15800>
- Lestari, D., Yurliasni, Y., & Dzarnisa, D. (2020). Kualitas whey keju yang dihasilkan dengan teknik yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 5(1), 265–271.
- Milieriene, J., Serniene, L., Kasparaviciene, B., Lauciene, L., Kasetiene, N., Zakariene, G., Kersiene, M., Leskauskaitė, D., Viskelis, J., Kourskoutas, Y., & Malakauskas, M. (2023). Exploring the potential of sustainable acid whey cheese supplemented with apple pomace and GABA-producing indigenous *Lactococcus lactis* strain. *Microorganisms*, 11(2), 436. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020436>
- Mladenović, D., Đukić-Vuković, A., Radosavljević, M., Pejin, J., Kocić-Tanackov, S., & Mojović, L. (2017). Sugar beet pulp as a carrier for *Lactobacillus paracasei* in lactic acid fermentation of agro-industrial waste. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(1), 41–45. <https://doi.org/10.5937/JPEA1701041M>
- Mladenović, D., Pejin, J., Kocić-Tanackov, S., Radovanović, Ž., Djukić-Vuković, A., & Mojović, L. (2018). Lactic acid production on molasses enriched potato stillage by *Lactobacillus paracasei* immobilized onto agro-industrial waste supports. *Industrial Crops and Products*, 124, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.081>
- Mortzfeld, F. B., Hashem, C., Vranková, K., Winkler, M., & Rudroff, F. (2020). Pyrazines: Synthesis and industrial application of these valuable flavor and fragrance compounds. *Biotechnology Journal*, 15(11), 2000064. <https://doi.org/10.1002/biot.202000064>
- Nguyen-Sy, T., Yew, G. Y., Chew, K. W., Nguyen, T. D. P., Tran, T. N. T., Le, T. D. H., Vo, C. T., Tran, H. K. P., Mubashir, M., & Show, P. L. (2020). Potential cultivation of *Lactobacillus pentosus* from human breastmilk with rapid monitoring through the spectrophotometer method. *Processes*, 8(8), 902. <https://doi.org/10.3390/pr8080902>
- Nursiwi, A., Utami, R., Andriani, M., & Sari, A. P. (2015). Fermentasi whey limbah keju untuk produksi kefir oleh kefir grains. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 8(1), 37–45. <https://doi.org/10.20961/jthp.v0i0.12794>
- Pangestika, W., Al-Baarri, A. N., & Legowo, A. M. (2018). The change in pH on *Lactobacillus acidophilus* medium containing D-fructose. *Journal of Applied Food Technology*, 5(2), 37–38. <https://doi.org/10.17728/jaft.4870>
- Pasini, E., Corsetti, G., & Dioguardi, F. S. (2023). Behind protein synthesis: Amino acids—metabokine regulators of both systemic and cellular metabolism. *Nutrients*, 15(13), 2892. <https://doi.org/10.3390/nu15132892>
- Pratiwi, R. D., Zanjabila, S., Fairuza, D., Aminah, A., Praharyawan, S., & Fuad, A. M. (2020). Evaluation of alternative components in growth media of *Lactobacillus brevis* for halal probiotic preparation. *Annales Bogorienses*, 24(1), 11–17. <https://doi.org/10.14203/ann.bogor.2020.v24.n1.11-17>
- Pranidhani, I. A. S. I., Wijaya, I. M. M., & Suwariani, N. P. (2022). Determination of fermentation length and initial pH of media in producing ethanol by BM1-CP14. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 10(4), 513–521. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2022.v10.i04.p12>
- Ram, Y., Dellus-Gus, E., Bibi, M., Karkare, K., Obolski, U., Feldman, M. W., Cooper, T. F., Berman, J., & Hadany, L. (2019). Predicting microbial growth in a mixed culture from growth curve data. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(29), 14698–14707. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902217116>
- Rosa, L. S., Santos, M. L., Abreu, J. P., Rocha, R. S., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Mársico, E. T., Campelo, P. H., Pimentel, T. C., Silva, M. C., Souza, A. A., Nogueira, F. C. S., Cruz, A. G., & Teodoro, A. J. (2023). Probiotic fermented whey-milk beverages: Effect of different probiotic strains on the physicochemical characteristics, biological activity, and bioactive peptides. *Food Research International*, 164, 112396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112396>
- Saerens, S. M. G., Delvaux, F. R., Verstrepen, K. J., & Thevelein, J. M. (2010). Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*, 3(2), 165–177. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00106.x>
- Santoso, K. A. (2020). The effects of milk age on the titratable acidity of raw milk. *International Journal of Science and Research*, 9(7), 1041–1049.
- Sardella, D., Gatt, R., & Valdramidis, V. P. (2018). Turbidimetric assessment of the growth of

- filamentous fungi and the antifungal activity of zinc oxide nanoparticles. *Journal of Food Protection*, 81(6), 934–941. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-448>
- Subagiyo, Margino, S., & Triyanto. (2015). Pengaruh penambahan berbagai jenis sumber karbon, nitrogen, dan fosfor pada medium *de Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat terpilih yang diisolasi dari intestinum udang penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(3), 127–132.
- Suhaeni. (2018). Uji total asam dan organoleptik yoghurt katuk. *Jurnal Dinamika*, 9(2), 21–28.
- Szudera-Kończal, K., Myszk, K., Kubiak, P., & Majcher, M. A. (2020). The use of sour and sweet whey in producing compositions with pleasant aromas using the mold *Galactomyces geotrichum*: Identification of key odorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), 10799–10807. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03979>
- Ukalska, J., & Jastrzębowski, S. (2019). Sigmoid growth curves, a new approach to study the dynamics of the epicotyl emergence of oak. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 61(1), 30–41. <https://doi.org/10.2478/ffp-2019-0003>
- Verma, D. K., Al-Sahlany, S. T. G., Niamah, A. K., Thakur, M., Shah, N., Singh, S., Baranwal, D., Patel, A. R., Utama, G. L., & Aguilar, C. N. (2022). Recent trends in microbial flavour compounds: A review on chemistry, synthesis mechanism and their application in food. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1565–1576. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.010>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristic of lactic acid bacteria and the expanding application in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Weerawatanakorn, M., Wu, J.-C., Pan, M.-H., & Ho, C.-T. (2015). Reactivity and stability of selected flavor compounds. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 176–190. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.001>
- [WHO] World Health Organization. (2011). Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert ommittee on Food Additives. WHO.
- Wibisana, A., & Mustika, I. P. (2015). D-Asam amino oksidase dari mikroba: Produksi dan aplikasi. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 2(2), 88–96.
- Wijayanti, W., Mahfud, T., & Djati, B. (2015). Acceptance test oatmeal cookies dengan substitusi dedak padi. *Teknobuga*, 2(2), 9–17.
- Yang, Y., Wang, H., Shuang, Q., & Xia, Y. (2024). Novel insights into flavor formation in whey fermented wine: A study of microbial metabolic networks. *LWT*, 197, 115911. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115911>
- Yasmin, A., Butt, M. S., Sameen, A., & Shahid, M. (2013). Physicochemical and amino acid profiling of cheese whey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 12(5), 455–459. <https://doi.org/10.3923/pjn.2013.455.459>
- Yoo, H., Rheem, I., Rheem, S., & Oh, S. (2018). Optimizing medium components for the maximum growth of *Lactobacillus plantarum* JNU 2116 using response surface methodology. *Korean Journal for Food Sciences of Animal Resources*, 38(2), 240–250. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.2.240>
- Zain, S. N. M., Flint, S. H., Benneth, R., & Tay, H. S. (2016). Characterisation and biofilm screening of the predominant bacteria isolated from whey protein concentrate 80. *Dairy Science & Technology*, 96, 285–295. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0264-z>
- Zaini, N. A. B. M., Chatzifragkou, A., & Charalampopoulos, D. (2019). Microbial production of D-lactic acid from dried distiller's grains with solubles. *Engineering in Life Sciences*, 19, 21–30. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800077>
- Zeng, X., Wang, Y., Yang, S., Liu, Y., Li, X., & Liu, D. (2023). The functionalities and applications of whey/whey protein in fermented foods: a review. *Food Science and Biotechnology*, 33, 769–790. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01460-5>
- Zhang, L., Cao, Y., Tong, J., & Xu, Y. (2019). An alkylpyrazine synthesis mechanism involving L-threonine-3-dehydrogenase describes the production of 2,5-dimethylpyrazine and 2,3,5-trimethylpyrazine by *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(24), e01807-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01807-19>