

## PEMANFAATAN MIKROORGANISME DALAM PENGEMBANGAN MAKANAN HALAL BERBASIS BIOTEKNOLOGI

### UTILIZATION OF MICROORGANISM ON THE DEVELOPMENT OF HALAL FOOD BASED ON BIOTECHNOLOGY

Hayyun Durrotul Faridah<sup>1</sup>, Silvia Kurnia Sari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Riset dan Pengembangan Produk Halal, Universitas Airlangga

<sup>2</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga  
Kampus C UNAIR, Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115

\*Email: hayyunfarida@gmail.com

#### ABSTRAK

Bioteknologi mengalami perkembangan yang pesat hingga saat ini. Peranan bioteknologi sangat luas dalam aspek pemenuhan kebutuhan manusia salah satunya yaitu dalam industri makanan. Beberapa proses bioteknologi baik konvensional maupun modern tidak terlepas dari peranan mikroorganisme. Sejumlah mikroorganisme tertentu digunakan dalam penyediaan makanan tradisional melalui fermentasi seperti pada pembuatan yoghurt, tape, keju, dan sayur asin. Mikroorganisme juga berperan dalam proses rekombinasi DNA sehingga menghasilkan produk makanan berkualitas seperti GMO (*Genetically Modified Organism*). Indonesia merupakan negara dengan mayoritas penduduk muslim sehingga dalam penyediaan pangan sangat memperhatikan aspek kehalalan. Termasuk pada makanan hasil bioteknologi yang banyak memanfaatkan peran mikroorganisme dan harus memperhatikan titik kritis kehalalan. Hal ini perlu diperhatikan agar setiap proses produksi dapat dipastikan terhindar dari kontaminasi bahan yang tidak halal.

**Kata Kunci:** Mikroorganisme, bioteknologi, makanan halal

#### ABSTRACT

*Biotechnology has rapidly developed until now. The use of biotechnology was very extensive for human needs, including the food industry. Some biotechnological processes, both conventional modern, were inseparable from the use of microorganisms. A number of certain microorganisms were used in traditional food through fermentation such as yogurt, tape, cheese and salted vegetables. In addition, microorganisms also used in the DNA recombination process to produce high quality food products such as GMO (Genetically Modified Organism). Indonesia is a country with a majority of the Muslim population so that in the provision of food was very concerned about aspects of halal. Included in biotechnology foods that utilizing microorganism and have to pay attention of the halal critical point. In this case, needs to be considered so that every production process can be ensured to avoid contamination of non-halal materials*

**Keyword:** Microorganism, biotechnology, halal food

## PENDAHULUAN

Perkembangan bioteknologi mengalami kemajuan pesat dengan diadakannya berbagai penelitian oleh para ilmuwan (Sunarlim dan Sutrisno 2003). Meningkatnya permintaan masyarakat terhadap suatu produk serta ketersediaan makanan, kosmetik, dan obat secara berkelanjutan menjadikan bioteknologi sebagai salah satu solusi pemenuhan kebutuhan tersebut (Pessoa *et al.*, 2019). Saat ini bioteknologi banyak diterapkan dalam berbagai aspek meliputi bidang pangan, pertanian, peternakan, kedokteran, maupun farmasi (Kompang 2009; Nuraida *et al.* 2014; Sunarlim dan Sutrisno 2003; Yoon *et al.* 2016; Zhou *et al.* 2019). Bioteknologi pangan menjadi bahasan yang perlu dikaji lebih mendalam sebagai upaya pemenuhan kebutuhan manusia akan bahan pangan (Bartholomaeus *et al.* 2013).

Bioteknologi dibagi menjadi dua jenis yakni bioteknologi konvensional dan bioteknologi modern. Produk bioteknologi konvensional terdiri dari kecap, keju, yoghurt, kefir, nata, tape dan tempe. Sedangkan produk bioteknologi modern antara lain seperti enzim, glukosa hasil hidrolisis enzimatis, dan beberapa bahan tambahan pangan serta produk hasil rekayasa genetika (*Genetic Modified Organism*) (Pramashinta *et al.* 2014).

Di Indonesia banyak dijumpai berbagai produk makanan tradisional hasil olahan bioteknologi konvensional melalui fermentasi seperti tempe, tapai, dan oncom (Nuraida *et al.*, 2014). Pengolahan makanan tersebut tidak terlepas dari peranan mikroorganisme berupa bakteri, fungi, dan yeast (Barus dan Wijaya 2011; Sarwono 2010). Pemanfaatan mikroorganisme ini berbeda-beda tergantung pada bahan dasar dan hasil akhir yang ingin diperoleh (Pessoa 2019). Manfaat dari penerapan bioteknologi adalah untuk menghasilkan makanan yang bergizi tinggi, menghasilkan produk makanan dan minuman hasil fermentasi, serta menghasilkan produk bahan penyedap. Seiring perkembangan zaman, kebutuhan akan makanan terus meningkat sehingga perlu diadakannya peningkatan dan perbaikan kuantitas serta kualitas pangan. Penelitian dibidang bioteknologi ini diharapkan mampu meningkatkan nilai guna dan manfaat dari berbagai jenis bahan pangan untuk memenuhi kebutuhan manusia (Bartholomaeus *et al.* 2013).

Bioteknologi yang sedang berkembang adalah bioteknologi modern dengan menggunakan teknologi rekombinasi DNA dengan teknik tertentu untuk memotong, menyisipkan, maupun menyusun kembali fragmen-fragmen DNA. Bioteknologi berperan dalam menghasilkan varietas tanaman yang unggul dan memiliki produktivitas tinggi. Peneliti menggunakan mikroorganisme bakteri sebagai agen pembawa gen. Gen tersebut dibawa melalui organel berupa plasmid dalam tubuh bakteri. Transfer gen dapat dilakukan dari binatang ke tanaman, ataupun dari tanaman ke mikroorganisme (Sutarno 2016). Namun beberapa pihak mengkhawatirkan kehalalan produk pangan hasil bioteknologi sehingga perlu diamati dan ditetapkan titik kritis kehalalan produk. Kajian ini menjelaskan mengenai perkembangan bioteknologi, mikroorganisme yang berperan dalam proses bioteknologi, serta mengamati status kehalalan produk hasil bioteknologi.

## PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI

Pada masa lalu bioteknologi banyak dilakukan dengan proses yang sangat sederhana. Perkembangan yang pesat dalam bidang bioteknologi baru dimulai ketika Louis Pasteur berhasil menemukan bahwa mikroorganisme dapat melakukan fermentasi. Konsep fermentasi ini kemudian banyak dimanfaatkan masyarakat untuk memproduksi berbagai macam makanan baru secara konvensional dengan memanfaatkan mikroorganisme.

Sedangkan perkembangan bioteknologi modern baru dimulai ketika terdapat penemuan struktur DNA sekitar tahun 1950. Kemudian diikuti pula oleh penemuan-penemuan lainnya dibidang genetika molekuler seperti enzim pemotong DNA, penemuan ekspresi gen, dan DNA rekombinan. Bioteknologi modern lebih menitikberatkan pada proses manipulasi dan rekayasa genetika dengan didukung oleh peralatan yang modern sehingga dapat menghasilkan produk dalam skala industri yang lebih efektif dan efisien.

## MIKROORGANISME PADA PENGOLAHAN MAKANAN

Aplikasi bioteknologi sangat beragam yang meliputi berbagai aspek yaitu pada bidang pangan, pertanian, peternakan, kesehatan, dan pengobatan. Aplikasi bioteknologi banyak menggunakan bantuan mikroorganisme. Mikroorganisme merupakan makhluk hidup yang memiliki ukuran yang sangat kecil. Mikroorganisme ada yang hanya terdiri dari sel tunggal (*uniseluler*) maupun bersel banyak (*multiseluler*). Setiap sel memiliki kemampuan untuk mengalami pertumbuhan, memperbanyak diri, dan menghasilkan energi (Kumar 2012).

Mikroorganisme berinteraksi dengan sesama mikroorganisme maupun dengan organisme lain yang kemudian akan memberikan efek yang beraneka ragam, baik menguntungkan maupun merugikan. Dalam pembahasan mikrobiologi kedokteran maupun fitopatologi, beberapa mikroorganisme dapat menjadi penyebab adanya suatu penyakit dan menjadi patogen dalam kehidupan. Namun, mayoritas mikroorganisme dapat memberikan manfaat yang sangat beragam dalam dunia bioteknologi.

Mikroorganisme yang digunakan untuk proses pengolahan makanan bisa berasal dari kelompok bakteri maupun fungi. Bakteri yang digunakan bisa berasal dari kelompok Actinobacteriaceae seperti *Bifidobacterium thermophilum* (Xiao *et al.* 2010), Firmicutes seperti *Bacillus* (Schwan dan Wheals 2004; Kubo *et al.* 2011), dan Proteobacteriaceae seperti *Acetobacter* dan *Gluconacetobacter* (Sengun dan Karabiyikli 2011). Sedangkan dari fungi bisa berasal dari yeast maupun *filamentous fungi* (Bourdichon *et al.* 2002).

## BIOTEKNOLOGI TRADISIONAL BERBASIS FERMENTASI

Fermentasi dikenal sebagai salah satu cara pengawetan makanan tertua di dunia. Pengawetan makanan melalui fermentasi pada bahan mentah telah digunakan sejak sekitar zaman Neolitik (sekitar 1000 tahun SM) (Prajapati dan Nair 2003). Pada tahun 1665, Van Leeuwenhoek dan Hooke mulai mengetahui bahwa fermentasi terjadi akibat aktivitas mikroorganisme alkohol (Gest 2004). Pengawetan makanan dengan fermentasi terjadi karena adanya pembentukan metabolit penghambat seperti etanol, asam organik (asam laktat, asam asetat, asam format, dan asam propionat), dan bakteriosin (Ross *et al.* 2002; Gaggia *et al.* 2011). Selain untuk mengawetkan, fermentasi juga dapat menjadikan perubahan aroma, tekstur, dan rasa pada makanan.

Jika ditinjau dari segi kesehatan, produk fermentasi mampu meningkatkan daya cerna dan kualitas nutrisi makanan (Steinkraus 2002), meningkatkan nilai gizi makanan (Van Boekel *et al.* 2010; Poutanen *et al.* 2009), meningkatkan keamanan makanan melalui penghambatan patogen (Adams dan Mitchell 2002; Adams dan Nicolaidis, 2008) serta juga dapat meningkatkan kualitas organoleptik makanan (Marilley dan Casey 2004; Smit *et al.* 2005; Lacroix *et al.* 2010; Sicard dan Legras 2011).

Makanan fermentasi di Indonesia dapat diklasifikasikan menjadi empat kategori berdasarkan prosesnya seperti yang terdapat pada Tabel 1. Fermentasi asam laktat (buah, sayur, susu, singkong, dan daging), fermentasi jamur (kedelai, kacang), fermentasi alkohol (beras, singkong), dan fermentasi kadar garam tinggi (ikan, kecap, dan tauco) (Nuraida *et al.* 2014).

**Tabel 1.** Mikroorganisme dalam pengolahan makanan

Makanan	Bahan baku	Proses fermentasi	Mikroorganisme	Referensi
Tempe	Kedelai	Fermentasi oleh Jamur	<i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Weissella confusa</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. Delbrueckii <i>Rhizopus oligosporus</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Rhizopus formosaensis</i> <i>Fusarium</i> sp. <i>Rhizopus arrhizus</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	Jennessen <i>et al.</i> (2008); Kormin <i>et al.</i> (2001); Sugimoto <i>et al.</i> (2007); Babu <i>et al.</i> (2009); Touw (2014)
Kecap	Kedelai	Fermentasi oleh Jamur diikuti dengan fermentasi garam tinggi	<i>Tetragenococcus halophilus</i> <i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus sojae</i>	Kim <i>et al.</i> (2010); Zhuang <i>et al.</i> (2016)

Makanan	Bahan baku	Proses fermentasi	Mikroorganisme	Referensi
Tabel lanjutan halaman 36				
Dadih	Susu	Fermentasi asam laktat	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Leuconostoc Mesenteroides</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Leuconostoc paramesenteroides</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Leuconostoc lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> <i>Lactococcus Lactis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Prawiroharsono (2007)
Yoghurt	Susu	Fermentasi asam laktat	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus Bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i>	Afriani <i>et al.</i> (2011); Hidayat <i>et al.</i> (2013); Yansyah <i>et al.</i> (2016);
Keju	Susu	fermentasi asam laktat	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactococcus raffinolactis</i> <i>Streptococcus gallolyticus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Georgalaki <i>et al.</i> (2000); Oquadghiri <i>et al.</i> (2005); Zhou <i>et al.</i> (2019)
Sayur Asin	Sawi	Fermentasi asam laktat	<i>Lactobacillus farciminis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus namurensis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus versmoldensis</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus fabifermentans</i> <i>Lactobacillus satsumensis</i>	Sulistiani <i>et al.</i> (2014)

## TITIK KRITIS PRODUK PANGAN BIOTEKNOLOGI

### Yoghurt

Yoghurt terbuat dari susu sapi segar, bakteri starter, pemberi citarasa dan penambahan susu skim sebagai pengental. Bakteri yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah kelompok bakteri asam laktat (BAL) (Buckle *et al.* 2009). *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri asam laktat yang paling banyak digunakan dalam industri makanan, terutama dalam budaya starter untuk industri susu, dicampur dengan mikroba lainnya (Muelas *et al.* 2018). Pada era modern ini, yoghurt dapat dibuat dengan memanfaatkan kombinasi *Lactobacillus acidophilus* dengan starter yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Hidayat *et al.* 2013). Seringkali dalam pembuatannya juga ditambahkan bakteri probiotik lain yang menguntungkan dan berguna untuk membantu proses metabolisme (Yilmaz-Ersan dan Kurdal 2014).

Pembuatan yoghurt dimulai dengan pertumbuhan bakteri *Streptococcus thermophilus* yang memfermentasi laktosa menjadi CO<sub>2</sub> dan asam laktat sehingga menyebabkan suasana menjadi asam (Chotimah 2009). Kondisi ini dapat merangsang pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus acidophilus* (Buckle *et al.* 2009) serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang tidak tahan hidup di lingkungan asam. *Lactobacillus acidophilus* ini dapat memanfaatkan laktosa dan sukrosa untuk aktivitas metabolisme (Nizori *et al.* 2008). *Lactobacillus bulgaricus* berperan untuk menghasilkan aroma yang khas sedangkan *Streptococcus thermophilus* berperan untuk menghasilkan rasa yoghurt (Hadi dan Fardiaz 1990).

Secara umum, proses pembuatan yoghurt diawali dengan penentuan total padatan susu, kemudian pasteurisasi (pemanasan) agar susu steril dari bakteri lain, pendinginan, dan kemudian ditambahkan starter bakteri (Aswal *et al.* 2012). Untuk menetapkan kehalalan makanan, perlu dicermati titik kritis pada semua tahapan proses mulai dari pemilihan bahan baku (input), proses pengolahan, sampai hasil akhir siap dikonsumsi (Ermis 2017; Waharini dan Purwantini 2018).

Pertama, pemilihan bahan baku. Ketika bahan baku (susu) berasal dari hewan yang halal dikonsumsi seperti sapi atau kambing, maka produk susu dari hewan tersebut juga halal. Sedangkan jika susu berasal dari hewan yang tidak halal, maka produk susunya juga menjadi tidak halal. Belakangan ini, terdapat yoghurt yang dibuat dari bahan nabati. Seperti dari kacang kedelai yang biasa disebut dengan "soyghurt", atau dari santan kelapa yang disebut "miyoghurt" (Nirmagustina dan Wirawati 2014). Ketika bahan utama berasal dari nabati, maka yoghurt tersebut bisa dikategorikan halal.

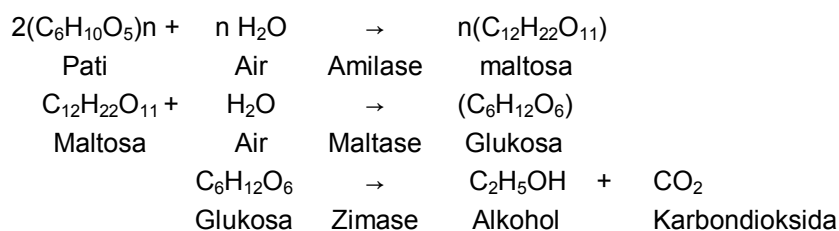
Kedua, penetapan total padatan susu dilakukan dengan menambahkan bubuk skim, kasein, dan whey. Bahan tambahan tersebut bisa jadi berasal dari hewan yang tidak halal sehingga dapat menyebabkan yoghurt menjadi tidak halal pula (Atma *et al.* 2018). Ketiga, penambahan starter bakteri. Pada dasarnya, mikroba merupakan sesuatu yang halal selama tidak membahayakan dan tidak tercampur dengan barang yang najis dan haram. Ketika bakteri ditumbuhkan pada media yang suci, maka bakteri hasil perbanyakannya juga suci. Apabila bakteri ditumbuhkan pada media yang najis, misalnya media *Blood Agar Plate* (BAP) yang berasal dari darah, maka bakteri tersebut bisa tetap halal asalkan dapat dipisahkan antara bakteri dan media yang tercampur benda najis tersebut. Kemudian bakteri harus disucikan. Namun ketika bakteri ditumbuhkan pada media yang tercampur benda haram, misalnya babi, maka hukumnya haram (Fatwa MUI No. 01 Tahun 2010 tentang penggunaan mikroba produk mikrobial dalam produk pangan).

Keempat, penambahan bahan aditif seperti bahan pengemulsi, perasa, penstabil, dan pewarna. Bahan aditif bisa saja berasal dari bahan yang tidak halal (Atma *et al.* 2018). Kelima, dalam proses penggumpalan. Ketika yoghurt mengendap dan memisah dari air, seringkali perlu ditambahkan zat penstabil seperti gelatin agar meningkatkan daya ikat air sehingga mencegah pemisahan dan menjadikan kualitas tampilan yoghurt semakin baik. Pemilihan bahan gelatin ini perlu diwaspadai karena terdapat gelatin yang berasal dari hewan tidak halal seperti babi (Faridah dan Susanti 2018). Namun ketika zat penstabilnya berasal dari bahan nabati seperti pektin yang berasal dari ekstrak tumbuhan maka tidak akan merubah kehalalan produk.

### Tape

Produksi tape dilakukan melalui proses fermentasi dengan bantuan beberapa jenis mikroorganisme seperti kapang dan khamir (yeast). Kapang menghasilkan enzim amilolitik yang berfungsi memecah amilum menjadi gula yang lebih sederhana (disakarida dan monosakarida). Kemudian dilanjutkan oleh khamir yang berfungsi merombak sebagian gula sederhana tadi menjadi alkohol (Berlian dan Ulandari 2016). Proses fermentasi tape memanfaatkan respirasi anaerob.

*Aspergillus* sp. memecah amilum menjadi glukosa kemudian diteruskan oleh *Saccharomyces cereviceae* yang mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida (Rahmawati 2010). Selain itu juga dipengaruhi oleh bakteri *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol menjadi asam asetat sehingga tape terkadang terasa masam. Berikut persamaan reaksinya



Hasil akhir dari fermentasi tape menghasilkan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dan alkohol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) dengan kadar tertentu tergantung jumlah khamir yang digunakan, lama waktu fermentasi dan jumlah glukosa yang terdapat pada bahan (Widiyaningrum 2009; Berlian dan Ulandari 2016).

Menurut komisi fatwa MUI, alkohol ada yang haram dan ada juga yang halal. Alkohol yang haram yaitu alkohol yang terdapat dalam minuman khamr yang memabukkan seperti anggur, tuak, dan sake. Kandungan alkohol dalam minuman keras seperti ini termasuk haram karena mulai awal pengolahan, proses fermentasi, sampai menjadi suatu produk memang dimaksudkan untuk menghasilkan minuman yang memabukkan. Berbeda halnya dengan kandungan alkohol yang terdapat dalam tape. Menurut Fatwa MUI tahun 2003, tape dan air tape tidak termasuk dalam kategori khamr, kecuali apabila memabukkan (Fatwa MUI Nomor 4 tahun 2003 tentang Standardisasi Fatwa Halal).

Dalam islam, yang haram dikonsumsi adalah khamr. Khamr merupakan istilah untuk setiap zat yang memabukkan. Contohnya adalah minuman keras. Minuman dengan kandungan etanol minimal 1 persen termasuk dalam kategori khamr. Khamr mengandung alkohol namun, alkohol belum tentu khamr. Termasuk didalamnya adalah tape, walaupun tape mengandung alkohol namun, alkohol tersebut tidak memabukkan orang yang mengkonsumsinya.

## Keju

Keju merupakan salah satu produk bioteknologi yang berasal dari penggumpalan protein susu. Produk keju dibuat melalui fermentasi dengan bantuan mikroorganisme *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* dan *Leuconostoc mesenteroides* (Geantaresa *et al.*, 2010). Titik kritis kehalalan keju berasal dari bahan baku. Susu bisa berasal dari sumber hewani maupun nabati. Ketika susu bersumber dari nabati seperti kedelai yang halal, maka bisa dipastikan bahwa keju tersebut halal. Namun ketika susu berasal dari sumber hewani, maka perlu diperiksa terlebih dahulu. Jika berasal dari hewan yang halal dikonsumsi seperti susu sapi, kambing, kerbau, unta, atau domba, maka produk susu hewan tersebut halal. Keju menjadi tidak halal ketika diproduksi dari susu hewan yang tidak halal.

Kedua, dalam proses koagulasi (pengendapan) ditambahkan agen pengental seperti rennet, asam laktat, atau ekstrak tanaman. Terdapat dua metode koagulasi yaitu secara enzimatis dan mikrobiologi. Secara enzimatis dilakukan dengan penambahan enzim renin yang berasal dari rennet hewan ruminansia. Rennet adalah ekstrak abomasum anak sapi yang belum disapih atau juga bisa berasal dari mamalia lainnya. Rennet mengandung enzim renin yang berperan menggumpalkan susu. Rennet dikategorikan halal, jika rennet berasal dari hewan halal dan proses penyembelihan sesuai dengan syariat islam. Namun jika tidak memenuhi dua syarat tersebut, maka belum bisa dikategorikan halal. Metode kedua yaitu mikrobiologi dengan menggunakan bakteri asam laktat (Melliawati dan Nuryati 2014). Penggunaan metode secara mikrobiologi ini halal, namun produk keju menjadi tidak halal apabila bakteri asam laktat yang digunakan untuk produksi keju ditumbuhkan pada media yang tercampur bahan haram.

## Sayur Asin

Sayur asin merupakan makanan yang cukup terkenal di Indonesia khususnya di Jawa Tengah (Sulistiani *et al.* 2014). Bahan untuk membuat sayur asin umumnya berasal dari sawi, kubis, dan genjer. Sayur asin dihasilkan melalui proses fermentasi asam laktat yang sebagian besar prosesnya memanfaatkan bakteri asam laktat (BAL) yang secara alami ada pada tumbuhan tanpa penambahan kultur starter (Puspito dan Graham 1985; Chiou 2004). Proses pembuatan dilakukan dengan

perendaman sayuran di dalam larutan garam dengan penambahan air tajin sebagai sumber karbohidrat bagi bakteri yang berperan (Sulistiani *et al.* 2014).

Penambahan garam berfungsi untuk menyeleksi bakteri yang dikehendaki sehingga memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme tertentu dan mengeluarkan kandungan air yang terdapat dalam jaringan sayuran secara osmosis (Steinkraus 1997; Chiou 2004). Sedangkan penambahan air tajin digunakan sebagai substrat tambahan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat yang akan melakukan proses fermentasi. Bakteri tersebut menggunakan komponen karbohidrat sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya dan memanfaatkan komponen vitamin dan mineralnya sebagai koenzim dan kofaktor (Sulistiani *et al.* 2014). Garam dan asam laktat hasil dari fermentasi akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan serta memperlambat pelunakan jaringan sayuran (Axelsson 2004; Widowati *et al.* 2013). Fermentasi ini menghasilkan perubahan karakteristik asam pada sayuran (Chiou 2004).

Fermentasi pada sayur asin memanfaatkan beberapa mikroorganisme diantaranya *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus cerevisiae*, dan *Lactobacillus plantarum*. Pada awal proses fermentasi *Leuconostoc mesenteroides* akan tumbuh dengan cepat dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain serta meningkatkan produksi asam dan CO<sub>2</sub> yang menjadikan pH semakin rendah (Karovicova dan Kohajdova, 2003; Widowati *et al.* 2013). Selanjutnya bakteri *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus cerevisiae*, dan *Lactobacillus plantarum* yang memiliki kemampuan hidup di lingkungan asam akan memproduksi asam laktat, CO<sub>2</sub>, dan asam asetat.

### Genetically Modified Organism (GMO)

Sejak 5000 sampai 10000 tahun yang lalu, manusia sudah memiliki naluri untuk memilih dan menggunakan benih yang unggul dalam bidang pertanian (Sunarlim dan Sutrisno 2003). Sehingga dikembangkan teknologi rekayasa genetika (modifikasi genetik) yang mampu mengubah sistem produksi tanaman, ternak, dan ikan menjadi lebih adaptif terhadap lingkungan. Teknologi genetika ini memicu terjadinya revolusi hijau yang dapat melipatgandakan hasil produksi sehingga mampu mencukupi kebutuhan bahan pokok pada abad ini (Budianto 2000).

Rekayasa genetika merupakan sebuah proses pengubahan DNA suatu organisme yang dilakukan dengan menggabungkan DNA dari dua spesies yang berbeda. Penggabungan antara gen bakteri dengan gen hewan, gen bakteri dengan gen tumbuhan, atau gen hewan dengan gen hewan lain untuk menghasilkan sifat unggul yang tidak bisa didapatkan melalui persilangan secara tradisional. Teknologi ini juga banyak diterapkan dalam berbagai bidang, salah satunya pertanian. Teknologi telah memiliki dampak besar dalam bidang pertanian. Pada tahun 1998, 28 ha tanah ditanami tanaman transgenik di seluruh dunia dimana 74% berada di Amerika, 15% lainnya berada di Argentina, utamanya oleh petani kedelai, dimana sekitar setengah dari kedelai yang ditanam merupakan tanaman transgenik (tahan terhadap glifosat). Kanada memiliki area signifikan yang ditanami tanaman transgenik (10% dari panen dunia), dan di Australia, proporsi terbesar dari tanaman kapas adalah transgenik (Skerritt 2000). Indonesia juga telah mengembangkan produk GMO seperti yang terdapat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Tanaman hasil rekayasa genetika

Tanaman	Karakteristik	Gen
Padi	Tahan hama, penyakit dan kekeringan	Bt, chitinase
Jagung	Tahan hama	Proteinase inhibitor
Tebu	Rendemen tinggi, toleran kekeringan	Bt, Over expression SPS dan PtP, Bet A
Kedelai	Tahan hama dan tinggi nutrisi	Proteinase inhibitor, overexpress gen indigenus
Kelapa sawit	Rendah kandungan asam lemak jenuh	KAS II dan SAD
Ubi jalar	Tahan hama	Proteinase inhibitor
Jeruk	Tahan CVPD	Gen indigenus

Sumber: Bahagiawati *et al.* (2003)

Penggunaan isolat mikroba berguna untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman. Pada tanaman pangan biasanya digunakan Mikoriza, *Rhizobium*, dan *Aspergillus* yang dapat meningkatkan efisiensi pupuk serta meningkatkan hasil produksi padi, kedelai, dan kacang tanah (Moeljopawiro 2000).

Ada tiga kondisi yang cukup mengkhawatirkan produk rekayasa genetika yakni reaksi alergi (alergisitas), transfer gen, dan *outcrossing*. Peraturan perundang-undangan tentang keamanan hayati telah dikeluarkan untuk mengantisipasi masalah yang mungkin terjadi dimasa mendatang. Sebelum dipasarkan, produk bioteknologi pertanian hasil rekayasa genetik (PBPHRG) diuji terlebih dahulu. Pengujian dilakukan secara bertahap di fasilitas uji terbatas (*biosafety containment*) mulai dari tingkat laboratorium, rumah kaca hingga lapangan terbatas (Sunarlim dan Sutrisno 2003).

Menurut islam, melakukan rekayasa genetika terhadap hewan, tumbuhan, dan mikroorganismе diperbolehkan (mubah) asalkan terdapat aspek kebermanfaatannya, tidak membahayakan terhadap manusia maupun lingkungan, serta tidak menggunakan gen atau bagian dari tubuh manusia. Sedangkan pada produk hasil rekayasa genetika, yang biasa disebut *Genetically Modified Food* (GMF), maka berstatus halal asalkan bermanfaat, tidak membahayakan, dan jika berasal dari hewan maka hewan tersebut harus dalam kategori *ma'kul al-lahm* (jenis hewan yang dagingnya halal dikonsumsi). Media pertumbuhan bakteri juga perlu diperhatikan kehalalannya, tidak tercampur oleh bahan yang haram. Begitu pula gen yang disisipkan harus berasal dari yang halal (Fatwa MUI No. 35 Tahun 2013 tentang Rekayasa Genetika dan Produknya).

## KESIMPULAN

Pemanfaatan bioteknologi sudah sangat luas dan mencakup berbagai bidang salah satunya dalam pemenuhan kebutuhan primer terhadap makanan. Jumlah penduduk yang semakin meningkat juga harus diimbangi dengan peningkatan pangan baik secara kuantitas maupun kualitas. Salah satu cara yang dilakukan yaitu dengan mengaplikasikan bioteknologi baik pada makanan maupun pertanian yang dilakukan secara konvensional dan modern. Bioteknologi memadukan teknologi dengan bantuan makhluk hidup misalnya mikroorganismе. Bakteri dan jamur banyak digunakan dalam pengolahan makanan melalui proses fermentasi seperti fermentasi asam laktat, fermentasi jamur, fermentasi alkohol, dan fermentasi kadar garam tinggi. Sedangkan bioteknologi yang menggunakan teknik rekayasa genetika memanfaatkan plasmid bakteri untuk menyisipkan gen yang diinginkan. Untuk menjamin kehalalan produk makanan hasil bioteknologi harus memperhatikan keseluruhan proses produksi baik bahan baku, proses pengolahan, maupun penyimpanan yang harus terbebas dari bahan tidak halal. Lebih ringkasnya yaitu dengan memperhatikan titik kritis kehalalan produk. Hal ini perlu dilakukan terutama oleh para produsen makanan untuk menjamin halalnya produk yang beredar. Selain itu juga sebagai upaya untuk merealisasikan Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (UU JPH).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams M, Mitchell R. 2002. Fermentation and Pathogen Control: A Risk Assessment Approach. *International Journal of Food Microbiology*. 79: 75–83.
- Adams MR, Nicolaidis L. 2008. Review of the Sensitivity of Different Foodborne Pathogens to Fermentation. *Food Control*. 8: 227–239.
- Afriani, Suryono, Lukman H. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Beberapa Starter Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih Asal Kabupaten Kerinci. *Agrinak*. 1(1): 26-42.
- Aswal P, Shukla A, Priyadarshi S. 2012. Yoghurt: Preparation, Characteristic and Recent Advancements. *Cibtech Journal of Bio-Protocols*. 1(2): 32-44.
- Atma Y, Taufik M, Seftiono H. 2018. Identifikasi Resiko Titik Kritis Kehalalan Produk Pangan: Studi Produk Bioteknologi. *Jurnal Teknologi*. 10(1): 59-66.
- Axelsson L. 2004. *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. In: Salminen, S., Atte, V. W. and Arthur, O. 3rd Ed. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Function Aspects*. New York: Marcel Dekker Inc. 19-84 hlm.
- Babu PD, Bhakharaj R, Vidhyalakshmi R. 2009. A Low Cost Nutritious Food “Tempeh”. A Review. *World J. Dairy Food Sci*. 4: 22–27.
- Bahagiawati, Sutrisno BS, Mulya K, Santoso D, Suharsono S, Rijzaani H, Julianti E, Estiati A, Moeljopawiro A, Rahayu A, Saono S. 2003. *Pembangunan Kemampuan di Bidang Bioteknologi Dunaran Keamanan Hayati di Indonesia*. Laporan Proyek National Biosafety Framework GEF-UNEP. Balitbiogen-Deptan dan KLH. Bogor.
- Bartholomaeus A, Parrott W, Bondy, Walker G, Ilsi K. 2013. Committee Task Force on the Use of Mammalian Toxicology Studies in the Safety Assessment of GM Foods. The Use of Whole Food Animal Studies in The Safety Assessment of Genetically Modified Crops: Limitations and Recommendations. *International Food Biotechnology*. 43(2): 1-24.



- Barus T, Wijaya LN. 2011. Mikrobiota dominan dan perannya dalam cita rasa tape singkong. *Journal of Biota*. 16(2): 354-361.
- Berlian Z, Ulandari R. 2016. Uji Kadar Alkohol pada Tapai Ketan Putih dan Singkong melalui Fermentasi dengan Dosis Ragi yang Berbeda. *Jurnal Biota*. 2(1): 106-111.
- Bourdichon F, Casaregola S, Farrokh C, Frisvad JC, Gerds ML, Hammes WP, Harnett J, Huys G, Laulund S, Ouwehand A, Powell IB, Prajapati JB, Seto Y, Schure ET, Boven AV, Vankerckhoven V, Zgoda A., Tuijelaars S, Hansen EB. 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*. 154: 87–97.
- Buckle KA, Edward RA, Fleet GH, Wootton M. 2009. Ilmu Pangan. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta (ID): Penerbit Universitas Indonesia.
- Budianto J. 2000. *Kemajuan, tantangan, dan peluang teknologi genetika dan bioteknologi di Indonesia*. Dalam S. Moeljopawiro *et al.* (Eds.). Prosiding Ekspose: Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian. Jakarta 31 Agustus-1 September 1999.
- Chiou RYY. 2004. *Chinese Pickles: Leaf Mustard and Derived Products*. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. 628-637. New York (US): Marcel Dekker Inc.
- Chotimah SC. 2009. Peranan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* Dalam Proses Pembuatan Yogurt: Suatu Review. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 4 (2): 47-52.
- Ermis E. 2017. Halal status of enzymes used in food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 64: 69-73.
- Faridah HD, Susanti T. 2018. Polisakarida sebagai Material Pengganti Gelatin pada Halal Drug Delivery System. *Journal of Halal Product and Research*. 1(2): 15-22.
- Gaggia F, Gioia DD, Baffoni L, Biavati B. 2011. The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact on food safety. *Trends in Food Science and Technology*. 22: 58-66.
- Geantaresa E, Supriyanti FMT. 2010. Pemanfaatan Ekstrak Kasar Papain sebagai Koagulan pada Pembuatan Keju Cottage menggunakan Bakteri. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 1(1): 38-43.
- Georgalaki MD, Sarantinopoulos P, Ferreira ES, Vuyst LD, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E. 2000. Biochemical properties of *Streptococcus macedonicus* strains Isolated from Greek Kasserli Cheese. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 817-825.
- Gest H. 2004. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of The Royal Society. *Notes and Records of the Royal Society of London*. 58: 187–201.
- Hadi, Fardiaz S. 1990. Bakteri Asam Laktat dan Peranan dalam Pengawetan Makanan. *Media Teknologi Pangan*. 4(4):73-74.
- Hidayat IR, Kusrahayudan SM. 2013. Total bakteri asam laktat, nilai pH dan sifat organoleptik drink yoghurt dari susu sapi yang diperkaya dengan ekstrak buah mangga. *Animal Agriculture Journal*. 2 (1): 160-167.
- Jennessen J, Schnürer J, Olsson J, Samson RA, Dijksterhuis J. 2008. Morphological Characteristics of Sporangiospores of the Tempe Fungus *Rhizopus oligosporus* Differentiate it from Other Taxa of the *R. microsporus* Group. *Mycological research*. 112(5): 547-563.
- Karovicova J, Kohajdova Z. 2003. Lactic Acid Fermented Vegetable Juices. *Horticulture Science (Prague)*. 30(4): 152–158.
- Kim TW, Lee JH, Park MH, Kim HY. 2010. Analysis of Bacterial and Fungal Communities in Japanese-and Chinese-Fermented Soybean Pastes Using Nested PCR–DGGE. *Current microbiology*. 60(5): 315-320.
- Kompiang IP. 2009. Pemanfaatan Mikroorganisme sebagai Probiotik untuk Meningkatkan Produksi Ternak Unggas di Indonesia. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 2(3): 177-191.
- Kormin S, Rusul G, Radu S. *et al.* 2001. Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Fermented Food. *Malays. J. Med. Sci.* 8 (1): 63–68.
- Kubo Y, Rooney AP, Tsukakoshi R, Nakagawa Y, Hasegawa H, Kimura K. 2011. Phylogenetic Analysis of *Bacillus Subtilis* Strains Applicable to Natto (Fermented Soybean) Production. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 6346-6349.
- Kumar S. 2012. *Textbook of Microbiology*. New Delhi (ID): Jaypee brothers medical publisher.
- Lacroix N, St Gelais D, Champagne CP, Fortin J, Vuilleumard JC., 2010. Characterization of aromatic properties of old-style cheese starters. *Journal of Dairy Science*. 93: 3427–3441.
- Marilley L, Casey MG. 2004. Flavors of Cheese Products: Metabolic Pathways, Analytical Tools and Identification of Producing Strains. *International Journal of Food Microbiology*. 90: 139–159.
- Melliawati R, Nuryati. 2014. Studi Awal Proses Pembuatan Keju Menggunakan Bakteri Asam Laktat Terseleksi. Prosiding Seminar Nasional XVI, Kimia dalam Pembangunan: 141-148.

- Moeljopawiro S. 2000. *Kemajuan Bioteknologi Tanaman serta Prospek Pengembangannya. Prosiding Ekspose: Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian. Jakarta 31 Agustus-1 September 1999*. Badan Litbang Pertanian. Deptan. 18-29 hlm.
- Muelas R, de Olives AM, Romero G, Díaz JR, Sayas-Barberá ME, Sendra E. 2018. Evaluation of Individual Lactic Acid Bacteria for the Fermentation of Goat Milk: Quality Parameters. *Food Science and Technology*. 98: 506-514.
- [MUI] Majelis Ulama Indonesia. 2003. Fatwa Majelis Ulama Indonesia No. 04 Tahun 2003 tentang Standarisasi Fatwa Halal. Tersedia pada <https://mui.or.id/wp-content/uploads/2017/02/Standarisasi-Fatwa-Halal.pdf> Diakses pada 21 Januari 2019
- [MUI] Majelis Ulama Indonesia .2010. Fatwa Majelis Ulama Indonesia No. 01 Tahun 2010 tentang Penggunaan Mikroba dan Produk Mikrobial dalam Produk Pangan. Tersedia pada <http://halalmui.org/images/stories/Fatwa/fatwa-mikroba.pdf>. Diakses pada 21 Januari 2019
- [MUI] Majelis Ulama Indonesia. 2013. Fatwa Majelis Ulama Indonesia No. 35 Tahun 2013 tentang Rekayasa Genetika dan Produknya. Tersedia pada <https://mui.or.id/wp-content/uploads/2017/02/No.-35-Rekayasa-Genetika-dan-Produknya.pdf> Diakses pada 21 Januari 2019
- Nirmagustina DE, Wirawati, U. 2014. Potensi Susu Kedelai Asam (Soygurt) Kaya Bioaktif Peptida sebagai Antimikroba. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 14 (3): 158-166.
- Nizori A, Mursalin VS, Melisa TC, Sunarti, Warsiki E. 2008. Pembuatan Soyghurt Sinbiotik Sebagai Makanan Fungsional Dengan Penambahan Kultur Campuran. *J. Tek. Ind. Pert*. 18 (1): 28-33.
- Nuraida L, Owens JD, Bakar JA. 2014. *Lactic Vegetable and Fruit Fermentations*. In: J.D. Owens (Ed.), *Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia*. CRC Press. hlm 185–209.
- Ouadghiri M, Amar M, Vancanneyt M, Swings J. 2005. Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letters*. 251: 267-271.
- Pessoa MG, Vespermann KAC, Paulino BN, Barcelos MCS, Pastore GM, Molina G. 2019. Newly Isolated Microorganisms with Potential Application in Biotechnology. *Biotechnology Advances*. 37(2): 319-339.
- Poutanen K, Flander L, Katina K. 2009. Sourdough and Cereal Fermentation in a Nutritional Perspective. *Food Microbiology*. 7: 693–699.
- Prajapati JB, Nair BM. 2003. The History of Fermented Foods. In: Farnworth, E.R. (Ed.), *Fermented Functional Foods*. Washington DC (US): CRC Press.
- Pramashinta A, Riska L, Hadiyanto. 2014. Bioteknologi Pangan: Sejarah, Manfaat dan Potensi Resiko. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 3 (1): 1-5.
- Prawiroharsono S. 2007. Potensi Pengembangan Industri dan Bioteknologi Berbasis Makanan Fermentasi Tradisional. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(2): 85-91.
- Puspito H, Graham HF. 1985. Microbiology of Sayur Asin Fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 22: 442-445.
- Rahmawati A. 2010. Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima Pohl.*) dan Kulit Nanas (*Ananas comosus L.*) pada Produksi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger*. Universitas Sebelas Maret Institutional Repository.
- Ross RP, Morgan S, Hill C. 2002. Preservation and Fermentation: Past, Present and Future. *International Journal of Food Microbiology*. 79(1-2): 3–16.
- Sarwono B. 2010. *Usaha membuat tempe dan oncom*. Penebar Swadaya.
- Schwan RF, Wheals AE. 2004. The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Food Science and Nutrition*. 44 (4): 205-221.
- Sengun IY, Karabiyikli S. 2011. Importance of Acetic Acid Bacteria in Food Industry. *Food Control*. 22: 647–656.
- Sicard D, Legras JL. 2011. Bread, Beer and Wine: Yeast Domestication in the *Saccharomyces* Sensu Strict Complex. *Comptes Rendus Biologies*. 334 (3): 229–236.
- Skerritt JH. 2000. Genetically Modified Plants: Developing Countries and the Public Acceptance Debate. *AgBiotechNet*. 2: 1-4.
- Smit G, Smit BA, Engels WJ. 2005. Flavor formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*. 29: 591–610.
- Steinkraus KH. 1997. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*, Marcel Dekker: New York.
- Steinkraus KH. 2002. Fermentations in World Food Processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. 1: 24–32.
- Sugimoto S, Fuji T, Morimiya T, Johdo O, Nakamura T. 2007. The Fibrinolytic Activity of a Novel Protease Derived from a Tempeh Producing Fungus, *Fusarium Sp.* BLB. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 71: 2184–2189.

- Sulistiani, Abinawanto, Sukara E, Salamah A, Dinoto A, Mangunwardoyo W. 2014. Identification of lactic acid bacteria in sayur asin from Central Java (Indonesia) based on 16S rDNA sequence. *International Food Research Journal*. 21(2): 527-532.
- Sunarlim N, Sutrisno. 2003. Perkembangan Penelitian Bioteknologi Pertanian di Indonesia. *Buletin AgroBio* 6(1): 1-7.
- Sutarno. 2016. Rekayasa Genetik dan Perkembangan Bioteknologi di Bidang Peternakan. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 23-27.
- Touw K. 2014. Identification of Dominant Lactic Acid Bacteria During Tempeh Fermentation and Evaluation of Their Potential as a Probiotic, Faculty of Agricultural Technology, Bogor Agricultural University.
- Van Boekel M, Fogliano V, Pellegrini N, Stanton C, Scholz G, Lalljie S, Somoza V, Knorr D, Jasti PR, Eisenbrand G. 2010. A Review on the Beneficial Aspects of Food Processing. *Mol Nutr Food Res*. 54(9):1215-47.
- Waharini FM, Purwantini AH. 2018. Model Pengembangan Industri Halal Food di Indonesia. *Jurnal Muqtasid*. 9(1): 1-13.
- Widiyaningrum C. 2009. Pengaruh Bahan Penutup Terhadap Kadar Alkohol pada Proses Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan. Jakarta (ID): PT. Agromedia Pustaka.
- Widowati TW, Hamzah B, Wijaya A, Pambayun R. 2013, Enumeration and Identification of Dominant Lactic Acid Bacteria in Indonesian "Tempoyak" During Low Temperature Fermentation, Paper presented on the 13th ASEAN Food Conference. 9 - 11 September 2013. Food Science & Technology Programme, Department of Chemistry, National University of Singapore, Singapore.
- Xiao JZ, Takahashi S, Nishimoto M, Odamaki T, Yaeshima T, Iwatsuki K, Kitaoka M. 2010. Distribution of in Vitro Fermentation Ability of Lacto-N-Biose I, A Major Building Block of Human Milk Oligosaccharides, in Bifidobacterial Strains. *Applied and Environmental Microbiology*. 76: 54-59.
- Yansyah N, Yusmarini, Rossi E. 2016. Evaluasi Jumlah BAL dan Mutu Sensori dari Yoghurt yang difermentasi dengan Isolat *Lactobacillus plantarum*. *Jom Faperta*. 2: 1-15.
- Yilmaz-Ersan L, Kurda E. 2014. The Production of Set-Type-Bio-Yoghurt with Commercial Probiotic Culture L. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5): 402-408.
- Yoon Y, Lee S, Choi KH. 2016. Microbial Benefits and Risks of Raw Milk Cheese. *Food Control*. 63: 201-215.
- Zhou X, Hua X, Huang L, Xu Y. 2019. Bio-Utilization of Cheese Manufacturing Wastes (Cheese Whey Powder) for Bioethanol and Specific Product (Galactonic Acid) Production Via a Two-Step Bioprocess. *Bioresource Technology*. 272: 70-76.
- Zhuang M, Lin L, Zhao Dong Y, Sun-waterhouse D, Chen H, Qiu C, Su G. 2016, Sequence, Taste and Umami-Enhancing Effect of the Peptides Separated from Soy Sauce, 206: 174-181.