



POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT *INDIGENOUS* PENGHIDROLISIS GLUTEN SEBAGAI BAKTERI PROBIOTIK PADA PRODUK YOGHURT

[*The Potential of Indigenous Lactic Acid Bacteria for Gluten Hydrolysis as Probiotic Bacteria in Yogurt Products*]

Hadi Yusuf Faturochman^{1*}, Maerani¹, Rini Harningsih¹

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi dan Bisnis, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya

*Email: hadiyusuf@universitas-bth.ac.id (Telp: +6282214892617)

Diterima tanggal 30 September 2024

Disetujui tanggal 16 Oktober 2024

ABSTRACT

*This study aimed to evaluate the potential of indigenous lactic acid bacteria (LAB) as probiotic bacteria in yogurt products with the ability to hydrolyze gluten. The research used a completely randomized design (CRD) method with three treatments and four replications. The results of identifying indigenous LAB for gluten hydrolysis show that *Lactobacillus plantarum* TW02 had higher gluten-hydrolyzing enzyme activity compared to other LAB types used, with an activity of 5.312 U/mg protein. The addition of *L. plantarum* TW02 to wheat flour dough produced a total free amino acid content of 4309 ppm and increased proline amino acid levels to 698.70 ppm compared to other treatments. The resulting yogurt product had good organoleptic quality in terms of color, taste, aroma, and texture.*

Keywords: lactic acid bacteria, gluten hydrolysis, probiotic, yoghurt

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi bakteri asam laktat indigenous sebagai bakteri probiotik pada produk yoghurt yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis gluten. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 4 kali ulangan. Hasil identifikasi BAL indigenous dalam menghidrolisis gluten diketahui bahwa BAL *L. plantarum* TW02 memiliki aktivitas enzim penghidrolisis gluten yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis BAL lainnya yang digunakan yaitu 5,312 U/mg protein. Penambahan *L. plantarum* TW02 pada adonan tepung terigu mampu menghasilkan total kadar asam amino bebas sebesar 4309 ppm serta peningkatan asam amino prolin 698,70 ppm dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Produk yoghurt yang dihasilkan memiliki kualitas organoleptik yang baik dari segi warna, rasa, aroma serta tekstur.

Kata kunci: bakteri asam laktat, hidrolisis gluten, probiotik, yoghur

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) banyak digunakan dalam proses fermentasi produk pangan. Disamping kemampuannya dalam fermentasi asam laktat, sistem proteolitik oleh BAL selama proses fermentasi juga memiliki peran penting yang dapat mempengaruhi rasa, tekstur dan nilai gizi dari beberapa makanan fermentasi. BAL memiliki sifat proteolitik yang cukup kompleks terdiri dari proteinase yang terikat pada dinding sel, sistem transportasi khusus untuk asam amino, di-, tri- dan oligopeptida, dan sejumlah peptidase intraseluler (Ojennus *et al.*, 2019).

Baru-baru ini, sifat proteolitik BAL telah diteliti lebih mendalam dari sudut pandang gizi dan teknologi. Salah satu enzim BAL intraseluler yang penting adalah enzim amino peptidase, enzim tersebut dapat menghidrolisis peptida yang memiliki asam amino prolin yang tinggi dengan cara memecah dipeptida (X-prolin) dari N-terminal



peptida (Kieliszek and Pobiega, 2021). Tingginya kandungan asam amino prolin pada peptida pada suatu bahan makanan, menyebabkan peptida tersebut akan tahan terhadap proteolisis enzim pencernaan sehingga aktif terhadap sistem imunologis dan menyebabkan beberapa gangguan sistem pencernaan seperti penyakit *celiac disease* (Sawhani, Masood and Saahil, 2024). Penyakit *celiac disease* dapat memberikan ancaman yang besar terhadap kesehatan, seperti menyebabkan kekurangan gizi, serta mengakibatkan peningkatan risiko penyakit autoimun (Rubio-Tapia and Murray, 2010). Pada tahun 2010 ada sekitar 2,2 juta anak di bawah usia 5 tahun telah diketahui terkena penyakit *celiac disease* dengan jumlah kematian mencapai 42.000 setiap tahunnya (Sawhani, Masood and Saahil, 2024). Di Indonesia sendiri data tentang prevalensi penyakit *celiac disease* belum diketahui dengan pasti, namun prevalensi penyakit *celiac disease* di negara - negara Asia termasuk Indonesia menunjukkan angka 0,33 % (Mohta *et al.*, 2021).

Salah satu bahan pangan yang mengandung rantai peptida dengan kandungan asam amino prolin yang tinggi yaitu tepung terigu. Hal tersebut dikarenakan fraksi gliadin pada gluten yang memiliki residu prolin sebesar 14,2 % (Gerez and Rolla, 2008). Oleh karena itu, konsumsi bahan yang mengandung gluten dapat menyebabkan alergi pada beberapa orang dengan riwayat penyakit *celiac disease*. Reaksi terhadap konsumsi gluten adalah peradangan pada usus kecil yang mengarah kepada malabsorpsi beberapa nutrisi penting, seperti zat besi, asam folat, kalsium dan vitamin yang larut dalam lemak (Risnes *et al.*, 2024).

Permasalahan utama saat ini yaitu banyaknya produk pangan yang menggunakan bahan baku tepung terigu dalam proses pengolahannya, seperti roti, biskuit, kukis, sereal instan, dan lain-lain, sehingga paparan gluten sangat sulit sekali untuk dihindari. Kondisi tersebut tentunya dapat beresiko terhadap peningkatan jumlah penderita penyakit *celiac disease*, sehingga urgensi dari penelitian ini yaitu untuk mengembangkan produk pangan fungsional yang dapat digunakan untuk mencegah peningkatan penyakit *celiac disease* di Indonesia. Berdasarkan pada uraian permasalahan di atas maka salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu dengan memberikan suplemen berupa produk yang mengandung BAL penghidrolisis gluten yang diharapkan mampu membantu mengurangi toksisitas gluten di dalam tubuh dan mencegah penyakit *celiac disease*. Inovasi yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan BAL penghidrolisis gluten tersebut sebagai bakteri probiotik produk pangan fermentasi seperti halnya produk yoghurt sehingga dapat menghasilkan produk yoghurt yang memiliki sifat fungsional khusus yaitu sebagai pencegah penyakit *celiac disease*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kultur BAL indigenous yaitu *L. plantarum B110*, *L. fermentum EN17*, *L. plantarum TW02*, tepung terigu, dan susu sapi. Bahan - bahan yang digunakan untuk media kultur adalah media MRSB (de Mann Rogosa Sharpe Broth) (Oxoid, UK). Bahan untuk pengujian aktivitas PepX



adalah substrat gly-pro p-nitroanilin (Sigma Aldrich, Jerman), buffer fosfat 0,05 M pH 7,5, dan standar 4-nitroanilin (Sigma Aldrich, Jerman).

Tahapan Penelitian

Identifikasi aktivitas enzim aminopeptidase dari BAL Indigenous

Tiga isolat BAL indigenous yaitu *L. plantarum* B110, *L. fermentum* EN17, dan *L. plantarum* TW02 dipilih untuk kemudian dilakukan seleksi terhadap kemampuannya dalam menghasilkan enzim aminopeptidase yang tinggi. Persiapan kultur dilakukan dalam erlenmeyer dengan menginokulasikan kultur murni masing-masing BAL ke dalam 50 mL media MRSB. Selanjutnya erlenmeyer tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Produksi suspensi sel dari kultur aktif (akhir fase eksponensial melalui pengujian optical density (OD) pada λ 620 nm hingga mencapai nilai OD 2.5) dilakukan dengan cara menginokulasikan kultur bakteri sebanyak 2 % pada 250 mL media MRSB dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C. Sel dipanen dengan sentrifugasi (10.000 rpm selama 15 menit pada 4 °C). Sel bakteri kemudian dicuci dua kali dengan buffer fosfat 0.05 M pH 7.0 dan dresuspensi dengan buffer fosfat pH 7.0 (tiap 1 g sel dresuspensi dengan 5 mL buffer) sehingga didapatkan suspensi sel BAL (Gerez and Rolla, 2008).

Produksi enzim PepX intraseluler dilakukan dengan cara sonikasi suspensi sel BAL menggunakan homogenizer ultrasonik (Bandelin Sonopuls HD 2070, Berlin, Jerman). Frekuensi sonikasi dilakukan pada 20 kHz, 100 W, dengan cycle duty 50 %, selama 15 menit (interval 3 menit). Suspensi sel ditempatkan dalam tabung sampel dengan probe ditempatkan di tengah sampel, dan sampel disonikasi sesuai dengan jumlah siklus, waktu dan nilai daya. Sampel ditempatkan dalam es selama proses sonikasi untuk mencegah denaturasi protein karena panas yang dihasilkan oleh ujung sonikator. Setelah sonikasi, pellet sel dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C dan dilakukan pengujian aktivitas enzim PepX (Degraeve, 2003). Bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas enzim yang tinggi dipilih untuk tahap selanjutnya.

Hidrolisis Gluten pada Tepung

Proses hidrolisis gluten pada tepung dilakukan melalui pembuatan adonan dengan mencampur 100 g tepung terigu komersial ditambahkan dengan 45 mL air. Adonan ditambahkan sel BAL (S_{BAL}) sebanyak 15 mL yang mengandung sejumlah 10^9 CFU/g sel bakteri. Sebagai kontrol, adonan difermentasi dengan penambahan asam laktat : asam asetat 4:1 pH 4.0 (S_a) dan tanpa penambahan suspensi bakteri (S_k). Masing - masing adonan difermentasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Karakteristik adonan diamati selama waktu fermentasi 0, 4, 8, dan 24 jam yaitu kandungan asam amino bebas dengan menggunakan HPLC (Luciana *et al.*, 2012).

Alpikasi BAL Sebagai Starter Produk Yoghurt

Susu sapi dipasteurisasi pada suhu 85°C selama 15 menit. Setelah itu, suhu diturunkan hingga mencapai 45°C, dan kemudian tambahkan starter Bakteri Asam Laktat (BAL) sesuai perlakuan sebanyak 2%. Susu di inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang (Nurdini, Herawati and Nurhayatin, 2023). Produk yoghurt



kemudian disimpan di dalam lemari pendingin untuk selanjutnya dilakukan uji hedonik untuk mengukur tingkat kesukaan oleh panelis.

Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptik terhadap produk yoghurt yang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan uji hedonik dengan parameter mutu yang dinilai meliputi warna, rasa, aroma, dan tekkstur untuk menentukan produk yoghurt yang paling disukai oleh panelis. Pengujian menggunakan 30 orang panelis tidak terlatih dan menggunakan skala penilaian dari 1 sampai 5 (1= sangat tidak suka, 2= tidak suka, 3= agak suka, 4= suka, 5= sangat suka) (Nurdini, Herawati and Nurhayatin, 2023).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 3 perlakuan yaitu fermentasi adonan tepung terigu dengan menggunakan sel BAL *indigenous* (S_{BAL}), sebagai kontrol, adonan difermentasi dengan penambahan asam laktat : asam asetat 4:1 pH 4,0 (S_a) dan tanpa penambahan suspensi bakteri (S_k), masing-masing perlakuan di ulang sebanyak 4 kali ulangan. Sedangkan untuk alpikasi BAL pada produk yoghurt terdapat 2 perlakuan yaitu dengan produk yoghurt dengan penambahan BAL penghidrolisis gluten (Y_{BAL}) dan produk yoghurt dengan penambahan startet yoghurt komersial (Y_k) masing-masing perlakuan di ulang sebanyak 4 kali ulangan.

Analisis Data

Data hasil pengujian dari 4 ulangan diolah secara statistik menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan taraf signifikansi 0,05. Jika terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji Duncan. *Software* yang digunakan adalah IBM SPSS Statistics.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis Gluten oleh BAL *Indigenous*

Sebanyak 3 isolat BAL *indigenous* digunakan untuk mengetahui kemampuannya dalam menghidrolisis gluten pada tepung terigu. Pengujian hidrolisis gluten pada tepung terigu dilakukan dengan menggunakan parameter yaitu berupa aktivitas enzim PepX pada substrat prolin sintesis. Aktivitas spesifik enzim PepX yang tinggi mengindikasikan kemampuan isolat BAL dalam menghidrolisis substrat yang memiliki kandungan polipeptida yang kaya akan asam amino prolin seperti gliadin (Gerez and Rolla, 2008).

Berdasarkan hasil uji aktivitas PepX menggunakan substrat 4-nitroanilin terlihat bahwa 3 isolat BAL memiliki kemampuan untuk menghidrolisis substrat 4-nitroanilin yang menunjukkan adanya aktivitas enzim PepX (Tabel 1). Aktivitas spesifik enzim PepX dari 3 isolat BAL tersebut berada pada kisaran 0,116 – 5,321 U/mg protein. Berdasarkan aktivitas PepX tertinggi maka terpilih isolat *L. plantarum* TW02 yang memiliki aktivitas spesifik enzim PepX yaitu $5,321 \pm 0,021$ U/mg protein.

Tabel 1. Hasil seleksi BAL *indigenous* penghasil enzim PepX

Jenis BAL	Aktivitas spesifik enzim PepX (U/mg protein) \pm SD
<i>Lactobacillus plantarum</i> B110	0,221 \pm 0,042 ^c
<i>Lactobacillus fermentum</i> EN17	0,116 \pm 0,117 ^c
<i>Lactobacillus plantarum</i> TW02	5,312 \pm 0,021 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5$ %), setelah dilakukan uji statistik dengan DUNCAN pada SPSS 22.0

Terdapat perbedaan yang nyata pada aktivitas PepX dari masing-masing isolat yang ditunjukkan dengan hasil analisis ANOVA, hal tersebut dikarenakan perbedaan sumber bakteri. Bakteri *L. plantarum* TW02 merupakan bakteri yang diisolasi dari susu kambing, sehingga memiliki aktivitas enzim PepX yang lebih tinggi karena pada susu mengandung kasein yang juga memiliki kandungan asam amino prolin yang tinggi. Seperti yang dilaporkan oleh García-Cano *et al.*, (2019) yang menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus spp* yang diisolasi dari produk susu memiliki aktivitas spesifik yang tinggi pada substrat p-nitroanilin (Pro-p-NA). Beberapa penelitian juga telah melaporkan kemampuan BAL khususnya strain *L. plantarum* dalam menghasilkan enzim PepX. Gerez *et al.* (2012) melaporkan bahwa *L. plantarum* CRL 775 mampu menghasilkan enzim peptidase intraseluler seperti prolyl iminopeptidase (PepI), gluteryl aminopeptidase (PepA), prolidase (PepQ), dan juga X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase (PepX). Menurut De Angelis *et al.* (2006), beberapa jenis BAL juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim PepX, seperti *L. sanfranciscensis*, *L. brevis*, *L. alimentarius*, dan *L. hilgardii* yang diisolasi dari *sourdough*.

Pengukuran Kadar Asam Amino Bebas

Aktivitas proteolisis selama fermentasi akan mengakibatkan terbentuknya beberapa asam amino bebas. Konsentrasi asam amino bebas meningkat pada adonan tepung terigu yang telah difermentasi selama 24 jam. Konsentrasi total asam amino bebas dalam adonan tepung terigu dapat dilihat pada Tabel 2. Adonan S_{BAL} menghasilkan asam amino bebas sebesar 4309 mg/kg secara signifikan ($P < 0,05$) lebih tinggi dari adonan S_k yaitu 2030,38 mg/kg, dan S_a 2461,23 mg/kg. Hampir semua asam amino bebas meningkat pada adonan S_{BAL} terutama pada asam amino prolin yang menunjukkan peningkatan yang sangat tinggi. Tingginya asam amino prolin dapat diakibatkan oleh adanya kombinasi antara enzim PepX dengan enzim intraseluler lainnya seperti prolinase, karena secara umum enzim PepX hanya memecah peptida kaya asam amino prolin menjadi dipeptida X-Pro lalu enzim intraseluler lain akan memecah X-Pro menjadi asam amino prolin bebas. Seperti yang dinyatakan oleh Nandan *et al.* (2020) yaitu enzim PepX dapat melepaskan N-terminal X-Pro yang kemudian menghasilkan dipeptida X-Pro baru dalam jumlah yang banyak, adanya enzim prolidase kemudian akan memecah asam dipeptida X-Pro menjadi prolin bebas. Hasil analisis kadar asam amino bebas pada adonan tepung hasil fermentasi selama 24 jam ditampilkan pada Tabel 2.



Selama proses fermentasi adonan tepung BAL akan menghasilkan berbagai jenis metabolit seperti asam amino, asam - asam organik, komponen bioaktif, asam lemak, komponen volatil, dan komponen anti bakteri. Hasil aktivitas BAL dalam produksi asam lemak rantai pendek akan menurunkan pH adonan yang pada gilirannya menginduksi aktivasi protease sereal yang terlibat dalam proteolisis gluten. Peptida yang terbentuk kemudian dihidrolisis menjadi asam amino oleh peptidase intraseluler dari BAL, sehingga menghasilkan asam amino, dan menyebabkan terbentuknya senyawa prekursor rasa. Oleh karena itu, fermentasi sourdough akan menyebabkan peningkatan jumlah asam amino (Caballero *et al.* 2016).

Tabel 2. Hasil analisis kadar asam amino bebas pada adonan tepung hasil fermentasi selama 24 jam

Jenis Asam Amino	Kadar Asam Amino Bebas (mg/kg)		
	S _k	S _a	S _{BAL}
L-Histidin	ND	ND	ND
L-Threonin	ND	239,36	239,36
L-Prolin	ND	336,01	698,70
L-Tirosin	ND	ND	ND
L-Leusin	ND	225,81	234,93
L-Asam Aspartat	ND	ND	ND
L-Lisin HCl	156,34	156,34	156,34
Glisin	ND	ND	402,00
L-Arginin	ND	ND	199,86
L-Alanin	393,57	338,66	338,66
L-Valin	155,64	155,64	155,64
L-Isoleusin	ND	ND	125,94
L-Fenilalanin	ND	ND	117,28
L-Asam Glutamat	1324,83	1009,41	810,12
L-serin	ND	ND	830,17
Total	2030,38	2461,23	4309

Keterangan :

ND = *Not detected* / tidak terdeteksi

S_k = Adonan kontrol

S_a = Adonan yang diasamkan dengan bahan kimia

S_{BAL} = Adonan yang difermentasi dengan sel *L. plantarum* TW02

Aplikasi BAL Indigenous pada Produk Yoghurt

BAL indigenous terpilih yaitu *L. plantarum* TW02 selanjutnya digunakan sebagai starter dalam pembuatan produk yoghurt probiotik. Berdasarkan hasil pengujian diperoleh kualitas yoghurt secara organoleptik yoghurt yang baik seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil pengujian organoleptik terhadap produk yoghurt dapat diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang nyata antara yoghurt Y_k dengan yoghurt Y_{BAL} dalam hal warna, rasa, dan aroma. Secara keseluruhan panelis menilai bahwa kedua produk yoghurt memiliki warna, rasa dan aroma yang disukai.



Sedangkan pada indikator tekstur terdapat perbedaan yang nyata antara yoghurt yang dibuat dengan starter komersial (Y_K) dibandingkan dengan yoghurt yang dibuat dengan starter BAL indigenous *L. plantarum* TW02 (Y_{BAL}) dimana panelis lebih menyukai yoghurt Y_{BAL} . Hal tersebut dikarenakan sampel yoghurt Y_{BAL} memiliki konsistensi tekstur yang lebih kental dibandingkan dengan sampel yoghurt Y_K yang tidak terlalu kental. Adanya perbedaan pada kekentalan produk yoghurt dapat diakibatkan oleh adanya perbedaan jenis bakteri yang digunakan dalam pembuatan yoghurt (Kusumaningtyas *et al.* 2019).

Tabel 3. Hasil Uji Hedonik Yoghurt

Indikator	Perlakuan	
	Y_K	Y_{BAL}
Warna	3,85 ^a ±0,22	3,36 ^a ±0,15
Rasa	3,40 ^a ±0,21	3,12 ^a ±0,12
Aroma	3,55 ^a ±0,17	3,05 ^a ±0,09
Tekstur	2,60 ^b ±0,25	3,25 ^a ±0,14

Keterangan: (Y_K : Kontrol yoghurt dengan starter komersil Y_{BAL} : Yoghurt dengan starter *L. plantarum* TW02. Huruf yang sama pada kolom menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5$ %), setelah dilakukan uji statistik dengan DUNCAN pada SPSS 22.0)

KESIMPULAN

Bakteri asam laktat *L. plantarum* TW02 mempunyai aktivitas spesifik PepX yang lebih tinggi (5,312 U/mg protein) dibandingkan dengan kedua isolat lainnya yaitu *L. plantarum* B110, *L. fermentum* EN17. Penambahan *L. plantarum* TW02 pada adonan tepung terigu mampu menyebabkan terjadinya peningkatan kadar asam amino bebas (4309 ppm) dibandingkan dengan perlakuan lainnya, terutama kadar asam amino prolin yang meningkat menjadi 698,70 ppm yang menunjukkan adanya aktivitas enzim penghidrolisis gluten pada tepung terigu. Produk yoghurt yang dihasilkan memiliki kualitas organoleptik yang baik dari segi warna, rasa, aroma serta tekstur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah memberikan bantuan dana Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2024. dengan nomor kontrak 005/KP/U-BTH/LPPM/VI/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- De Angelis M, Coda R, Silano M, Minervini F, Rizzello CG, Di Cagno R. 2006. Fermentation by selected sourdough lactic acid bacteria to decrease coeliac intolerance to rye flour. *J Cereal Sci.* 43(3):301–14.
- Degraeve P. 2003. Purification and partial characterisation of X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase of *Lactobacillus helveticus* ITG LH1. *International Dairy Journal.* 13:497–507. <https://doi.org/10.1016/S0958->



[6946\(03\)00057-8](https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6).

- García-Cano I, Rocha-Mendoza D, Ortega-Anaya J, Wang K, Kosmerl E, Jiménez-Flores R. 2019. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103:5243–5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>.
- Gerez CL, Rolla GC. 2008. Functionality of lactic acid bacteria peptidase activities in the hydrolysis of gliadin-like fragments. *Lett Appl Microbiol*. 1:427–32. 10.1111/j.1472-765X.2008.02448.x.
- Kieliszek M, Pobiega K. 2021. Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*. 26:1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.
- Kusumaningtyas AA, Handayani CB, Hartati S. 2019. Sifat Fisika dan Kimia Yogurt Sinbiotik Kering Beku pada Penggunaan Cryoprotectant dengan Variasi Penambahan Sukrosa yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*. 3(2):114–22. <http://doi.org/10.26877/jiphp.v3i2.4535>.
- Luciana C, Dallagnol A, Rollán G, Font G, Valdez D. 2012. Short communication A combination of two lactic acid bacteria improves the hydrolysis of gliadin during wheat dough fermentation. *Food Microbiol*. 32(2):427–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2012.06.007>.
- Mohta S, Rajput MS, Ahuja V, Makharia GK, Words K. 2021. Emergence of Celiac Disease and Gluten-related Disorders in Asia. *J Neurogastroenterol Motil*. 27(3). <https://doi.org/10.5056/jnm20140>
- Nandan A, Nampoothiri KM. 2020. Therapeutic and biotechnological applications of substrate specific microbial aminopeptidases. *Appl Microbiol Biotechnol*. 5243–57. 10.1007/s00253-020-10641-9
- Nurdini D, Herawati E, Nurhayatin T. 2023. Pengaruh Dosis Starter Terhadap Nilai Ph Dan Tingkat Kesukaan Pada Yoghurt Susu Sapi. *Journal of Animal Husbandry Science*. 8 (1): 9-17.
- Ojennus DD, Bratt NJ, Jones L, Juers DH. 2019. Structural characterization of a prolyl aminodipeptidase (PepX) from *Lactobacillus helveticus*. *Research Communications*. 625–33. <https://doi.org/10.1107/S2053230X19011774>.
- Risnes LF, Reims HM, Doyle RM, Qiao S, Sollid LM, Lundin KEA. 2024. *Gastroenterology*. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2024.03.027>
- Rubio-Tapia A, Murray JA. 2010. Celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 26(2):116–22. 10.1097/MOG.0b013e3283365263.
- Sawhani A, Masood R, Saahil K. 2024. *Gastroenterology & Endoscopy* Celiac disease : A rare cause of cirrhotic portal hypertension - A case report. *Gastroenterol Endosc*. 2(2):74–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gande.2024.03.004>.