

## STABILITAS VITAMIN D3 PADA DADIH (SUSU KERBAU FERMENTASI)

Sari Bema Ramdika<sup>1,2\*</sup>, Diana Nur Afifah<sup>3</sup>, Anang Mohamad Legowo<sup>4</sup>, Muflihatul Muniroh<sup>5</sup>, Yora Nindita<sup>6</sup>, Endang Mahati<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Gizi, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sriwijaya, Palembang

<sup>2</sup>Magister Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>3</sup>Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>4</sup>Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>5</sup>Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>6</sup>Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang

\*Korespondensi dengan penulis (saribemaramdika@fkm.unsri.ac.id)

### Abstract

Vitamin D deficiency and inadequacy is a worldwide problem that can cause serious health problems. Vitamin D reduce the risk of osteoporosis, cancer, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. Vitamin D is obtained from four sources such as sun exposure, food, supplements and fortification food. The research was conducted in October 2019. The purpose of this study was to see the stability of vitamin D3 in dadih during storage. The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method was used to calculate vitamin D3 levels in fortified dadih. Quantification of vitamin D3 was done on day 0, day 3, day 9, day 16, day 23 and day 30. Statistical analysis showed that there was no significant difference in the level of vitamin D3 in dadih for 30 days of storage although there was a decrease in the level of vitamin D3 in dadih on the fourth week but it was not significantly ( $p > 0.05$ ). In conclusion, Vitamin D3 in the dadih was stable for 30 days of storage although there was a decrease in vitamin D3 levels on the 16th and 30th days of storage due to the undetectable vitamin D3 in some samples. The addition of vitamin D3 to dadih is suggested using encapsulation techniques to increase solubility, longer shelf life, prevention of chemical degradation, better dispersibility, higher bioavailability and effectiveness.

**Keywords:** fortification; vitamin D3; dadih; HPLC; stability

### Abstrak

Kekurangan dan ketidakcukupan vitamin D merupakan masalah di seluruh dunia yang dapat menyebabkan masalah kesehatan serius. Vitamin D dapat menurunkan risiko terkena osteoporosis, penyakit kanker, diabetes melitus, dan penyakit jantung. Vitamin D Vitamin D didapatkan dari empat sumber yaitu paparan sinar matahari, makanan, suplemen dan makanan fortifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah melihat kestabilan penambahan vitamin D3 pada dadih selama penyimpanan. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2019. Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) digunakan untuk menghitung kadar vitamin D3 di dadih fortifikasi. Kuantifikasi vitamin D3 didadih dilakukan pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-9, hari ke-16, hari ke-23 dan hari ke-30. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar vitamin D3 di dadih selama penyimpanan selama 30 hari walaupun ada penurunan kadar vitamin D3 di dadih di minggu keempat tetapi tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Kesimpulannya, vitamin D3 di dalam dadih stabil selama 30 hari penyimpanan walaupun ada penurunan kadar vitamin D3 pada penyimpanan hari ke-16 dan ke-30 akibat dari tidak terdeteksinya vitamin D3 pada beberapa sampel.

Penambahan vitamin D3 ke dadih disarankan menggunakan teknik enkapsulasi agar meningkatkan kelarutan, umur simpan yang lama, pencegahan degradasi kimia, dispersibilitas yang lebih baik, bioavailabilitas dan efektivitas yang lebih baik.

**Kata kunci:** fortifikasi; vitamin D3; dadih; HPLC; stabilitas

## PENDAHULUAN

Kekurangan dan ketidakcukupan vitamin D merupakan masalah di seluruh dunia yang dapat menyebabkan masalah kesehatan serius.<sup>1</sup> Vitamin D memiliki efek terhadap sistem muskuloskeletal, kekebalan tubuh, saraf, dan kardiovaskular serta sebagai anti inflamasi.<sup>1,2</sup> Banyak penelitian membuktikan pengaruh vitamin D pada beberapa penyakit seperti penyakit kardiovaskular, obesitas, diabetes melitus, sindrom metabolik, dan penyakit autoimun.<sup>3-7</sup>

Rekomendasi asupan vitamin D berbeda antara orang yang menderita penyakit tertentu dengan orang sehat. *The Central Europe Guidelines* merekomendasikan dosis 1600-4000 IU/hari pada orang dewasa dan lansia yang kelebihan berat badan, yaitu dua kali lipat dosis pada populasi umum. *International Osteoporosis Foundation* (IOF) merekomendasikan 2000 IU/hari untuk individu yang obesitas dan pasien dengan osteoporosis, sedangkan dosis pada orang dewasa yang sehat adalah 800-1000 IU/hari.<sup>8</sup> Secara klinis, serum 25(OH)D3 digunakan untuk pengukuran status vitamin D karena waktu paruh 25(OH)D3 yang lama dalam sirkulasi yaitu antara 15 dan 50 hari. Kekurangan vitamin D terjadi jika kadar 25(OH)D3 disirkulasi sebanyak 20 ng/ml atau 50 nmol/l.<sup>9</sup>

Vitamin D didapatkan dari empat sumber yaitu paparan sinar matahari, makanan, suplemen dan makanan fortifikasi.<sup>1</sup> Makanan yang mengandung vitamin D adalah minyak ikan, telur, margarin, hati, ikan salmon, sarden dan tuna.<sup>10</sup> Namun, makanan yang secara alami kaya akan vitamin D tidak banyak dikonsumsi.<sup>11</sup> Yogurt fortifikasi vitamin D merupakan salah satu minuman yang dapat meningkatkan kadar 25(OH)D3 pada beberapa penelitian.<sup>12-14</sup> Yogurt fortifikasi vitamin D juga dapat mencegah osteoporosis, menurunkan HOMA-IR, rasio lingkar pinggang panggul, massa lemak tubuh dan persentase lemak tubuh.<sup>15-18</sup>

Dadih adalah fermentasi susu kerbau yang merupakan makanan tradisional Indonesia yang berasal dari Sumatera Barat.<sup>19</sup> Dadih dibuat secara tradisional dengan menyimpan susu kerbau segar dalam tabung bambu betung (*Dendrocalamus asper*) yang ditutup dengan daun pisang. Susu dibiarkan berfermentasi secara spontan pada suhu kamar selama dua hari (48 jam).<sup>20,21</sup> Proses fermentasi dalam pembuatan dadih terjadi secara alami dengan melibatkan berbagai jenis mikroba yang terdapat pada permukaan tabung bambu bagian dalam, permukaan daun penutup, dan dari susu kerbau yang digunakan.<sup>22</sup> Kandungan gizi dadih susu kerbau sangat bervariasi tergantung pada daerah produksi dan

jenis kerbau.<sup>23</sup> Menurut penelitian Harahap *et. al*, kadar protein pada dadih susu kerbau adalah 5.7815%, lemak 8.1610% dan pH 5.6781.<sup>23</sup>

Beberapa bakteri asam laktat ditemukan di dalam dadih seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* subsp. *Casei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *S. lactis* supsp. *lactis*, *S. cremoris*, *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus*, *Streptococcus faecalis* dan *Lactococcus*.<sup>19,24</sup> Bakteri asam laktat mempunyai manfaat seperti anti obesitas, anti diabetes, dan anti inflamasi.<sup>25-28</sup> Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas vitamin D3 di dadih.

## METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kerbau segar, tabung bambu betung (*Dendrocalamus asper*), daun pisang, vitamin D3, metanol, etanol 95%, asam pirogalat, asam asetat, aquabidest, PTFE 0,45 µm dan HPLC. Susu kerbau didapatkan dari kelompok pembuat dadih di Gadut, Kabupaten Lima Puluh Kota. Langkah pertama proses pembuatan dadih adalah memanaskan susu kerbau hingga mencapai suhu 72°C, kemudian tetap dipanaskan selama 15 detik.<sup>29</sup> Selanjutnya, susu kerbau didinginkan hingga mencapai suhu 30°C. Langkah kedua proses pembuatan dadih yaitu menambahkan vitamin D<sub>3</sub> ke susu kerbau yang telah didinginkan sebanyak 900 IU. Proses selanjutnya yaitu memasukkan susu kerbau yang telah ditambahkan vitamin D3 ke dalam bambu betung kemudian menutup bambu betung dengan daun pisang. Bambu betung yang berisi susu kerbau disimpan pada suhu ruang selama 2 hari untuk berfermentasi secara spontan. Dadih disimpan dalam botol amber pada suhu -18°C (dibekukan) selama penyimpanan.

Pengujian stabilitas vitamin D3 dilakukan di PT. Saraswanti Indo Genetech dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan nomor instruksi kerja 18-5-1/MU/SMM-SIG.<sup>30</sup> *Cholecalcipherol* dimasukan ke dalam labu ukur 25 mL sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol hingga mencapai 25 mL lalu dihomogenkan untuk mendapatkan larutan standar vitamin D3 1000 mg/L. Larutan standar vitamin D3 1000 mg/L dipipet ke dalam labu ukur 10 mL sebanyak 1 mL kemudian diencerkan dengan pelarut hingga mencapai tanda 10 mL lalu dihomogenkan untuk mendapatkan larutan standar 100 mg/L. Selanjutnya, larutan standar vitamin D3 100 mg/L dipipet ke dalam labu ukur 10 mL sebanyak 1 mL kemudian diencerkan dengan pelarut hingga mencapai tanda 10 mL lalu dihomogenkan untuk mendapatkan larutan standar 10 mg/L.

Sebanyak 10 g dadih ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas piala 100 mL, kemudian ditambahkan etanol 95% sebanyak 40 mL dan asam pirogalat sebanyak 50 mg dan dilewatkan gas nitrogen sebelum dipanaskan. Larutan dikocok dan dipanaskan dalam waterbath pada suhu ± 80°C selama 45 menit dan dikocok setiap 10 menit setelah menambahkan KOH 50 % sebanyak 10 mL kemudian larutan didinginkan. Selanjutnya, 10

mL asam asetat glasial ditambahkan kemudian larutan didinginkan kembali hingga suhu ruang. Larutan dipindahkan kedalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan dengan THF-etanol 95% dengan perbandingan 1:1, lalu dihomogenkan. Larutan didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang atau selama 24 jam dalam lemari pendingin. Larutan sampel disaring dengan PTFE 0,45 µm ke dalam vial dan diinjeksikan ke sistem HPLC.

Vitamin D3 dikuantifikasi dengan menggunakan HPLC dengan panjang gelombang absorbansi 264 nm. Pemisahan kromatografi dilakukan pada kolom analitik C18 fase reverse. Fase gerak HPLC adalah campuran aquabidest dan metanol pada laju aliran 1,5 ml/menit. Volume injeksi sampel atau larutan standar adalah 20 µl. Kuantifikasi vitamin D3 pada dadih dianalisis pada waktu penyimpanan tertentu selama empat minggu setelah proses fermentasi. Kuantifikasi vitamin D3 pada hari ke 0 dilakukan pada saat penambahan vitamin D3 ke susu kerbau sedangkan kuantifikasi vitamin D3 selanjutnya dilakukan setelah proses fermentasi selesai yaitu pada hari ke-3 setelah pembuatan dadih. Kuantifikasi vitamin D3 pada penyimpanan satu minggu hingga empat minggu dilakukan pada hari ke-9, ke-16, ke-23 dan ke-30 setelah pembuatan dadih. Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal menggunakan SPSS 16.0 *Statistic Software*. Level signifikan yang ditetapkan sebesar  $\alpha = 0,05$ .

## **HASIL PENELITIAN**

Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada median kadar vitamin D3 di dadih selama penyimpanan ( $p>0,05$ ; Tabel 1). Pada hari ke-30 terjadi penurunan median kadar vitamin D3 dari hari ke-23, namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara median kadar vitamin D3 pada penyimpanan hari ke-23 dan ke-30.

**Tabel 1. Hasil Analisa Vitamin D3 Selama Penyimpanan**

Penyimpanan	Kadar (Median (Min-Max)) mcg/100 gr	$p^1$					
		0 hari	3 hari	9 hari	16 hari	23 hari	30 hari
0 hari	22,05 (19,16-22,19)	-	0,513	0,513	0,513	0,513	0,507
3 hari	24,79 (14,97-46,12)	-	-	0,513	0,513	0,827	0,121
9 hari	12,59 (7,48-54,47)	-	-	-	0,827	0,513	0,268
16 hari	22,59 (0,00-29,25)	-	-	-	-	0,275	0,487
23 hari	44,11 (12,09-58,83)	-	-	-	-	-	0,121
30 hari	0,00 (0,00-24,63)	-	-	-	-	-	-
$p$		0,603					

$p$  = uji *Kruskal Wallis*

$p^1$  = uji *Mann Whitney*

Kadar vitamin D3 mengalami penurunan pada hari ke-9, namun mengalami kenaikan pada hari ke-16 dan ke-23. Penurunan yang terjadi pada hari ke-9 tidak signifikan secara statistik. Pada penyimpanan hari ke-16, vitamin D3 tidak terdeteksi pada salah satu

sampel. Namun, tidak ada perbedaan median kadar vitamin D3 yang signifikan dari penyimpanan hari ke-9 sampai penyimpanan hari ke-16. Kadar vitamin D3 juga mengalami kenaikan di penyimpanan hari ke-16. Selain itu, ada dua sampel yang tidak terdeteksi vitamin D3-nya pada penyimpanan hari ke-30. Kadar vitamin D3 pada penyimpanan hari ke-23 juga tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan penyimpanan hari ke-30.

## PEMBAHASAN

Produk probiotik yang difortifikasi dengan vitamin D memberikan banyak manfaat bagi penderita obesitas, *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD), obesitas.<sup>17,31,32</sup> Serum 25-hidroksivitamin D yang rendah merupakan faktor risiko osteoporosis, penyakit kardiovaskular, diabetes, dan kanker.<sup>33</sup> Pemberian yogurt fortifikasi vitamin D dapat bermanfaat dalam meningkatkan 25OHD serum, profil lipid, metabolisme glukosa, dan parameter antropometri dan menurunkan kadar hormon paratiroid pada wanita hamil, subjek dewasa dan lanjut usia dengan atau tanpa diabetes, pradiabetes, atau sindrom metabolik.<sup>16,34</sup>

Pada penelitian ini tidak ada perbedaan yang signifikan pada median kadar vitamin D3 di dadih selama penyimpanan ( $p>0,05$ ; Tabel 1). Pada hari ke-30 terjadi penurunan median kadar vitamin D3 dari hari ke-23, namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara median kadar vitamin D3 pada penyimpanan hari ke-23 dan ke-30. Hasil ini sama dengan penelitian tentang stabilitas vitamin D3 pada yogurt, dimana vitamin D3 stabil selama penyimpanan sampai 3 minggu dan 2 minggu.<sup>1,35</sup> Penambahan vitamin D3 pada susu yang di pasteurisasi juga tidak mempengaruhi kadar vitamin D3. Penelitian tentang penambahan D ke susu UHT menunjukkan bahwa vitamin D stabil selama 60 hari penyimpanan.<sup>36</sup>

Vitamin D rentan terhadap sinar UV, udara (oksigen), asam dan protein terhidrolisis.<sup>37-</sup><sup>39</sup> Selain itu, pH, kekuatan ionik, dan perubahan suhu juga merupakan parameter kritis kestabilan vitamin D pada minuman.<sup>40</sup> Penyimpanan dadih pada penelitian ini menggunakan botol amber untuk menghindari dadih fortifikasi vitamin D3 terkena cahaya. Vitamin D3 pada sampel susu dapat berkurang apabila terpapar cahaya.<sup>1</sup> Penelitian tentang stabilitas vitamin D3 pada yogurt yang disimpan di botol gelap dan botol transparan menunjukkan hasil bahwa vitamin D3 stabil pada yogurt yang disimpan di botol gelap selama 3 minggu.<sup>1</sup>

Keberhasilan fortifikasi vitamin D dalam minuman sangat tergantung pada homogenisasi, stabilitas, dan bioavailabilitas vitamin D dalam matriks. Ketiga aspek ini harus diperhatikan dalam membuat minuman fortifikasi. Kehilangan vitamin D terutama disebabkan oleh oksidasi dan isomerisasi selama pemrosesan dan penyimpanan telah diamati dalam berbagai sistem yang diperkaya dengan vitamin D. Selain itu, pengendapan

vitamin D di dalam bahan pengemas dan degradasinya dalam matriks makanan berair merupakan penyebab utama ketidakstabilan vitamin D di minuman. Perubahan ini mempengaruhi penampilan dan rasa dari minuman yang diformulasikan, sehingga mempengaruhi penerimaan pelanggan.<sup>41</sup> Beberapa teknik telah diadopsi untuk meningkatkan kestabilan penambahan vitamin D dalam minuman, termasuk penambahan langsung, emulsifikasi, dan strategi mikroenkapsulasi. Teknik enkapsulasi untuk penambahan vitamin D pada produk minuman seperti *spray drying*, koaservasi, emulsifikasi, *nanostructured lipid carriers*, liposom, kompleksasi untuk polimer dapat meningkatkan kelarutan, umur simpan yang lama, pencegahan degradasi kimia, dispersibilitas yang lebih baik, bioavailabilitas dan efektivitas yang lebih baik.<sup>40</sup> Penerapan teknik enkapsulasi dapat lebih efektif dalam meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas vitamin D dalam minuman fortifikasi.<sup>40</sup> Penggunaan teknik penambahan langsung vitamin D3 pada dadih fortifikasi mengakibatkan vitamin D3 pada beberapa sampel di penyimpanan hari ke-16 dan ke-30 tidak terdeteksi. Hal ini mungkin disebabkan oleh kelarutan vitamin D3 yang tidak merata pada dadih.

Selain teknik penambahan vitamin D dan wadah penyimpanan, jenis minuman juga mempengaruhi kestabilan vitamin D. Ada beberapa produk minuman fermentasi yang difortifikasi vitamin D3 diantaranya adalah yogurt dan kefir.<sup>1,42</sup> Vitamin D3 pada yogurt stabil selama penyimpanan sampai 3 minggu sedangkan vitamin D3 pada kefir mengalami penurunan antara hari ke-9 dan ke-15.<sup>1,42</sup> Perbedaan antara dadih, yogurt dan kefir terdapat pada proses fermentasinya. Proses fermentasi dalam pembuatan dadih terjadi secara alami dengan melibatkan berbagai jenis mikroba yang terdapat pada permukaan tabung bambu bagian dalam, permukaan daun penutup, dan dari susu kerbau yang digunakan.<sup>43</sup> Kefir dibuat dengan menambahkan kefir grain ke dalam susu. Kefir grain mempunyai komposisi spesies mikroba yang kompleks seperti bakteri asam laktat, bakteri asetat, kamir, dan fungi.<sup>44</sup>

Spesies bakteri yang teridentifikasi dalam dadih tergantung pada kondisi daerah pembuatannya terutama suhu. Bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi BAL termofilik dan mesofilik berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya. BAL termofilik dengan suhu optimum pertumbuhan 30-45°C dan BAL mesofilik dengan suhu optimum pertumbuhan 20-30°C. Hal ini menyebabkan BAL termofilik, yaitu genus *Lactobacillus* dan *Streptococcus* sebagian besar mendominasi mikroflora produk susu fermentasi tradisional yang berasal dari daerah tropis dan subtropis.<sup>45</sup> Bakteri asam laktat yang telah teridentifikasi di dadih daerah Gadut, Kabupaten Lima Puluh Kota adalah *L. Plantarum* dan *Lactococcus lactis*.<sup>46</sup> Beberapa bakteri asam laktat telah teridentifikasi pada dadih dari berbagai daerah. *Lactobacillus plantarum* terdapat pada dadih yang berasal dari daerah Bukittinggi, Sijunjung, Kabupaten Lima Puluh Kota, Payakumbuh, Padang dan Solok

sedangkan *Lactobacillus sp*, *Lactococcus sp*, dan *Leuconostoc sp* juga terdapat pada dadih dari daerah Bukittinggi dan Padang Panjang.<sup>45,46</sup> Komposisi mikroba di kefir juga dapat bervariasi sesuai dengan substrat yang digunakan dalam proses fermentasi dan metode pemeliharaan kultur.<sup>44</sup> Perbedaan dadih, yogurt, dan kefir terdapat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Perbedaan antara Dadih, Yogurt dan Kefir<sup>1,36,42,44,46,47</sup>**

	Dadih	Yogurt	Kefir
Ph	4,57	4-4,6	4,13-4,38
Strain	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> ssp. <i>Plantarum</i> <i>L. lactis</i> ssp. <i>Cremoris</i>	<i>Lactobacillus Bulgaricus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Bifidobacterium sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i> 23 spesies Kamir
Total BAL	8.56 cfu/g	8,8 cfu/g	8 cfu/g
Prosedur Pembuatan	Susu kerbau dipasteurisasi sampai suhu 72 °C, kemudian didinginkan sampai suhu 30 °C dan dimasukkan ke dalam tabung bambu dan ditutup dengan daun pisang. Tabung bambu yang berisi susu diletakkan di suhu ruang selama 2 hari agar terfermentasi secara spontan	Susu pasteurisasi sampai suhu 25 °C dan ditambahkan starter pada suhu 40-42 °C. Susu yang telah diberi starter dibiarkan selama 7 jam	Susu kambing sampai suhu 72°C, kemudian didinginkan sampai suhu 25 °C dan tambahkan kefir grain dan dibiarkan selama 24 jam

### SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar vitamin D3 di dadih selama penyimpanan selama 30 hari walaupun ada penurunan kadar vitamin D3 di dadih di minggu keempat tetapi tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Kesimpulannya, vitamin D3 di dalam dadih stabil selama 30 hari penyimpanan walaupun ada penurunan kadar vitamin D3 pada penyimpanan hari ke-16 dan ke-30 akibat dari tidak terdeteksinya vitamin D3 pada beberapa sampel. Penambahan vitamin D3 ke dadih disarankan menggunakan teknik enkapsulasi agar meningkatkan kelarutan, umur simpan yang lama, pencegahan degradasi kimia, dispersibilitas yang lebih baik, bioavailabilitas dan efektivitas yang lebih baik.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Jafari, T., Askari, G., Mirlohi, M., Javanmard, S. H., Faghihimani, E., and Fallah, A. A., 2016. Stability of Vitamin D3 in fortified yoghurt and yoghurt drink (Doogh). *Advanced biomedical research*, 5 pp. 52.
2. Zmijewski, M. A., 2019, January. Vitamin D and Human Health. *International journal of molecular sciences*. Switzerland.

3. Khosravi, Z. S., Kafeshani, M., Tavasoli, P., Zadeh, A. H., and Entezari, M. H., 2018. Effect of Vitamin D Supplementation on Weight Loss, Glycemic Indices, and Lipid Profile in Obese and Overweight Women: A Clinical Trial Study. *International journal of preventive medicine*, **9** pp. 63.
4. Kienreich, K., Tomaschitz, A., Verheyen, N., et al., 2013. Vitamin D and cardiovascular disease. *Nutrients*, **5** (8), pp. 3005–21.
5. Hu, Z., Chen, J., Sun, X., Wang, L., and Wang, A., 2019. Efficacy of vitamin D supplementation on glycemic control in type 2 diabetes patients: A meta-analysis of interventional studies. *Medicine*, **98** (14), pp. e14970.
6. Ferreira, P. P., Cangussu, L., Bueloni-Dias, F. N., et al., 2020. Vitamin D supplementation improves the metabolic syndrome risk profile in postmenopausal women. *Climacteric : the journal of the International Menopause Society*, **23** (1), pp. 24–31.
7. Konijeti, G. G., Arora, P., Boylan, M. R., et al., 2016. Vitamin D Supplementation Modulates T Cell-Mediated Immunity in Humans: Results from a Randomized Control Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, **101** (2), pp. 533–8.
8. Bassatne, A., Chakhtoura, M., Saad, R., and Fuleihan, G. E.-H., 2019. Vitamin D supplementation in obesity and during weight loss: A review of randomized controlled trials. *Metabolism: clinical and experimental*, **92** pp. 193–205.
9. Ding, C., Gao, D., Wilding, J., Trayhurn, P., and Bing, C., 2012. Vitamin D signalling in adipose tissue. *The British journal of nutrition*, **108** (11), pp. 1915–23.
10. Yosephin, B., Anwar, F., Riyadi, H., Khomsan, A., and Elly, N., 2016. Food sources of vitamin d and its deficiency in worker women *4th Asian Academic Society International Conference (AASIC) 2016*, pp. 488–98.
11. O'Mahony, L., Stepien, M., Gibney, M. J., Nugent, A. P., and Brennan, L., 2011. The potential role of vitamin D enhanced foods in improving vitamin D status. *Nutrients*, **3** (12), pp. 1023–41.
12. Nikooyeh, B., and Neyestani, T., 2018. Efficacy of Food Fortification with Vitamin D in Iranian Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrition and Food Sciences Research*, **5** (4).
13. Bonjour, J.-P., Dontot-Payen, F., Rouy, E., Walrand, S., and Rousseau, B., 2018. Evolution of Serum 25OHD in Response to Vitamin D(3)-Fortified Yogurts Consumed by Healthy Menopausal Women: A 6-Month Randomized Controlled Trial Assessing the Interactions between Doses, Baseline Vitamin D Status, and Seasonality. *Journal of the American College of Nutrition*, **37** (1), pp. 34–43.
14. Shab-Bidar, S., Neyestani, T. R., Djazayery, A., et al., 2011. Regular consumption of vitamin D-fortified yogurt drink (Doogh) improved endothelial biomarkers in subjects

- with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *BMC medicine*, **9** pp. 125.
15. Bonjour, J.-P., Benoit, V., Atkin, S., and Walrand, S., 2015. Fortification of Yogurts with Vitamin D and Calcium Enhances the Inhibition of Serum Parathyroid Hormone and Bone Resorption Markers: A Double Blind Randomized Controlled Trial in Women over 60 Living in a Community Dwelling Home. *The journal of nutrition, health & aging*, **19** (5), pp. 563–9.
  16. Jafari, T., Faghihimani, E., Feizi, A., et al., 2016. Effects of vitamin D-fortified low fat yogurt on glycemic status, anthropometric indexes, inflammation, and bone turnover in diabetic postmenopausal women: A randomised controlled clinical trial. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, **35** (1), pp. 67–76.
  17. Morvaridzadeh, M., Nachvak, S. M., Mohammadi, R., et al., 2021. Probiotic Yogurt Fortified with Vitamin D Can Improve Glycemic Status in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients: a Randomized Clinical Trial. *Clinical nutrition research*, **10** (1), pp. 36–47.
  18. Mohammadi-Sartang, M., Bellissimo, N., Totosy de Zepetnek, J. O., et al., 2018. The effect of daily fortified yogurt consumption on weight loss in adults with metabolic syndrome: A 10-week randomized controlled trial. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, **28** (6), pp. 565–74.
  19. Venema, K., and Surono, I. S., 2019. Microbiota composition of dadih - a traditional fermented buffalo milk of West Sumatra. *Letters in applied microbiology*, **68** (3), pp. 234–40.
  20. Pinem, S., and Damayanti, E., 2021. Kualitas Dadih Susu Sapi Dan Susu Kambing Dengan Fermenter Tabung Bambu. *Jurnal Jeumpa*, **7** (1), pp. 371–8.
  21. Hasim, Mustopa, A., Andrianto, N., and Nur Faridah, D., 2017. Antioxidant Production Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Indonesian Traditional Fermented Buffalo Milk (Dadid). *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, **12** (5), pp. 76–82.
  22. Usmiati, S., and Risfaheri., 2013. Pengembangan Dadih Sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *J. Litbang Pert.*, **32** (1), pp. 20–9.
  23. Harahap, F. C., Ginting, N., Hamdan, H., DaulaY, A. H., and Hasnudi, H., 2018. Uji Nutrisi Dadih Susu Kerbau dan Susu Kambing dengan Menggunakan Bambu Ampel (*Bambusa vulgaris*) dan Bambu Gombong (*Gigantochloa verticillata*). *Talenta Conference Series: Agricultural and Natural Resources (ANR)*, **1** (2), pp. 186–91.
  24. Sunaryanto, R., and Marwoto, B., 2012. Isolasi, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, **14** (3).
  25. Cabello-Olmo, M., Oneca, M., Torre, P., et al., 2019. A Fermented Food Product Containing Lactic Acid Bacteria Protects ZDF Rats from the Development of Type 2

- Diabetes. *Nutrients*, **11** (10),.
26. Choi, W. J., Dong, H. J., Jeong, H. U., Jung, H. H., Kim, Y.-H., and Kim, T. H., 2019. Antiobesity Effects of Lactobacillus plantarum LMT1-48 Accompanied by Inhibition of Enterobacter cloacae in the Intestine of Diet-Induced Obese Mice. *Journal of medicinal food*, **22** (6), pp. 560–6.
27. Liao, P.-H., Kuo, W.-W., Hsieh, D. J.-Y., et al., 2016. Heat-killed Lactobacillus Reuteri GMNL-263 Prevents Epididymal Fat Accumulation and Cardiac Injury in High-Calorie Diet-Fed Rats. *International journal of medical sciences*, **13** (8), pp. 569–77.
28. Park, J.-E., Oh, S.-H., and Cha, Y.-S., 2013. Lactobacillus plantarum LG42 isolated from gajami sik-hae inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocyte. *BioMed research international*, **2013** pp. 460927.
29. Ranieri, M. L., Huck, J. R., Sonnen, M., Barbano, D. M., and Boor, K. J., 2009. High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized fluid milk. *Journal of dairy science*, **92** (10), pp. 4823–32.
30. Genetech, P. S. I., 2015. *Diagram Alir Pengujian Vitamin Larut Lemak Secara HPLC*. Bogor.
31. Nikooyeh, B., Hollis, B. W., and Neyestani, T. R., 2021. The effect of daily intake of vitamin D-fortified yogurt drink, with and without added calcium, on serum adiponectin and sirtuins 1 and 6 in adult subjects with type 2 diabetes. *Nutrition & diabetes*, **11** (1), pp. 26.
32. Mostafai, R., Nachvakc, S. M., Mohammadi, R., et al., 2019. Effects of vitamin D-fortified yogurt in comparison to oral vitamin D supplement on hyperlipidemia in pre-diabetic patients: A randomized clinical trial. *Journal of Functional Foods*, **52** pp. 116–20.
33. Jones, M. L., Martoni, C. J., and Prakash, S., 2013. Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: A post hoc analysis of a randomized controlled trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **98** (7), pp. 2944–51.
34. Gasparri, C., Perna, S., Spadaccini, D., et al., 2019. Is vitamin D-fortified yogurt a value-added strategy for improving human health? A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Journal of dairy science*, **102** (10), pp. 8587–603.
35. Leskauskaite, D., Jasutiene, I., Malinauskelyte, E., Kersiene, M., and Matusevicius, P., 2016. Fortification of dairy products with vitamin D3. *International Journal of Dairy Technology*, **69** (2), pp. 177–83.
36. Hanson, A. L., and Metzger, L. E., 2010. Evaluation of increased vitamin D fortification in high-temperature, short-time-processed 2% milk, UHT-processed 2% fat chocolate milk, and low-fat strawberry yogurt. *Journal of dairy science*, **93** (2), pp. 801–7.

37. G, R., and Gupta, A., 2014. Fortification of foods with vitamin D in India. *Nutrients*, **6** (9), pp. 3601–23.
38. Yeh, E. B., Barbano, D. M., and Drake, M., 2017. Vitamin Fortification of Fluid Milk. *Journal of food science*, **82** (4), pp. 856–64.
39. Lavelli, V., D'Incecco, P., and Pellegrino, L., 2021. Vitamin D Incorporation in Foods: Formulation Strategies, Stability, and Bioaccessibility as Affected by the Food Matrix. *Foods (Basel, Switzerland)*, **10** (9),.
40. Vieira, E. F., and Souza, S., 2022. Formulation Strategies for Improving the Stability and Bioavailability of Vitamin D-Fortified Beverages: A Review. *Foods (Basel, Switzerland)*, **11** (6),.
41. Maurya, V. K., Bashir, K., and Aggarwal, M., 2020. Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, **196** pp. 105489.
42. Dianti, E. P., Anjani, G., Afifah, D. N., Rustanti, N., and Panunggal, B., 2018. Nutrition Quality and Microbiology of Goat Milk Kefir Fortified with Vitamin B12 and Vitamin D3 during Storage. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **116** (1), pp. 12032.
43. Usmiati, S., and Risfaheri, R., 2013. Pengembangan Dadih sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, **32** (1),.
44. Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., et al., 2015. Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, **6**.
45. Wirawati, C. U., Sudarwanto, M., Lukman, D., and Wientarsih, I., 2017. Karakteristik dan Pengembangan Dadih dari Susu Sapi sebagai Alternatif Dadih Susu Kerbau (Characteristic and Development of Cow's Milk Dadih as an Alternate of Buffalo's Milk Dadih). *Wartazoa*, **27** (2), pp. 95–103.
46. Wirawati, C. U., Sudarwanto, M. B., Lukman, D. W., Wientarsih, I., and Srihanto, E. A., 2019. Diversity of lactic acid bacteria in dadih produced by either back-slopping or spontaneous fermentation from two different regions of West Sumatra, Indonesia. *Veterinary world*, **12** (6), pp. 823–9.
47. Tirloni, E., Bernardi, C., Colombo, F., and Stella, S., 2015. Microbiological shelf life at different temperatures and fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* inoculated in unflavored and strawberry yogurts. *Journal of Dairy Science*, **98** (7), pp. 4318–27.