

Artikel Penelitian

Perbandingan Pertumbuhan Isolat Probiotik pada Media Alami dengan Berbagai Jenis Sumber Karbon

Sitti Nur Ilmiah^{1*)}, Zaraswati Dwyana², Asadi Abdullah²

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Billfath, Siman, Sekaran Lamongan, Indonesia

² Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

*) E-mail: (sittinur_ilmiah@yahoo.com)

ABSTRAK

Probiotik merupakan mikroba hidup yang memberikan pengaruh menguntungkan pada inang karena dapat menyeimbangkan mikroba yang ada dalam saluran pencernaan menjadi meningkat. Pemanfaatan tersebut dapat memberikan pengaruh positif dan kesehatan bagi inang sehingga sangat baik untuk diaplikasikan. Pemanfaatan bahan alami dapat menekan biaya media tumbuh sehingga perlu penggantian media sintetik dengan media alami karena memiliki harga yang relatif lebih murah tetapi mengandung nutrisi penting bagi pertumbuhan mikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan isolat probiotik berdasarkan lama waktu kultur dalam media alami yang mengandung sumber karbon berbeda. Pertumbuhan isolat probiotik dalam berbagai sumber karbon dilakukan melalui metode *Standard Plate Count* (SPC). Melalui metode SPC didapatkan jumlah koloni isolat G dari masing-masing media berupa kanji, sagu, dan dedak yaitu $2,3 \times 10^8$ Cfu/mL, $6,4 \times 10^6$ Cfu/mL, dan $4,3 \times 10^6$ Cfu/mL selama 48 jam; $2,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,6 \times 10^8$ Cfu/mL, dan $1,0 \times 10^8$ Cfu/mL selama 96 jam; $4,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,8 \times 10^8$ Cfu/mL, dan $1,2 \times 10^8$ Cfu/mL selama 144 jam. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa isolat G mampu ditumbuhkan dalam media alami berupa kanji, sagu dan dedak.

Kata kunci : Probiotik, Mikroba, Media alami, Sumber Karbon, Metode SPC.

Comparison of Probiotic Isolate Growth in Natural Culture with Various Carbon Sources

ABSTRACT

Probiotic is living microbe has giving influence profitable host because can balancing microbe in digestive tract so can be increasing. The utilization can give positive effect and healthy to host so very good for application. Utilization of natural sources can press cost of growth media so need substitution synthetic media with natural media because more cheaper but contain important nutrient to grow microbe. This research was aimed growth probiotic in natural culture based on culture duration in natural culture with contain various carbon sources. Growth of probiotic isolate in various carbon sources was carried out by Standard Plate Count (SPC) method. Through SPC method obtained number of isolate G colony from starch, sago, and bran respectively was $2,3 \times 10^8$ Cfu/mL, $6,4 \times 10^6$ Cfu/mL, and $4,3 \times 10^6$ Cfu/mL for 48 hour; $2,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,6 \times 10^8$ Cfu/mL, and $1,0 \times 10^8$ Cfu/mL for 96 hour; $4,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,8 \times 10^8$ Cfu/mL, and $1,2 \times 10^8$ Cfu/mL for 144 hour. The result obtained showed that isolate G can growth in natural culture such as from starch, sago, and bran.

Keywords: Probiotic, Microbe, Natural culture, Carbon sources, SPC method.

1. PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroba hidup yang jika dikonsumsi akan menimbulkan efek terapeutik dan manfaat kesehatan bagi penjamu. Agen antibakteri, seperti asam laktat dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Senyawa tersebut dapat dihasilkan oleh bakteri probiotik. Hal ini didasari oleh kemampuan agen antibakteri untuk menurunkan pH sekitar menjadi

rendah sehingga menyebabkan bakteri patogen sulit tumbuh [1].

Ditegaskan oleh [2] bahwa probiotik dapat merupakan kultur hidup dari satu macam mikroba atau lebih yang diberikan pada manusia atau hewan untuk mikroflora pencernaan. Jenis mikroba tersebut harus sudah dinyatakan aman untuk digunakan sebagai bahan pakan atau pangan.

Probiotik memberikan efek fisiologis seperti antikolestrol, antihipertensi, intoleran laktosa, antikarsinogenik, gangguan saluran pencernaan serta alergi. Dengan memperhatikan kesehatan inangnya, penambahan probiotik harus memperhatikan konsentrasi antara 10^7 - 10^{11} Cfu/g per hari untuk manusia dan 10^7 - 10^9 /g per hari untuk binatang sehingga dapat berperan untuk menurunkan kadar kolesterol.

Biaya yang sangat tinggi terhadap penggunaan media kultur telah mengurangi penggunaan media kultur yang siap pakai. Tingginya biaya media untuk membuat media alternatif menggunakan bahan baku lokal dengan harga yang murah. Media alami yang dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroorganisme harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan [3].

Penggunaan sejumlah bahan sebagai alternatif media kultur telah memungkinkan untuk dilakukan. Sebagai alternatif, sagu dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri. Media kultur alternatif seperti beras, buncis, jagung, dan tepung kedelai alami mengandung bahan nutrisi berbeda. Beberapa penelitian difokuskan pada bahan alternatif dari media kultur. Penggantian media sintetik, seperti NA telah dilakukan untuk pertumbuhan bakteri dari bahan berbeda. Penelitian lain pada pertumbuhan dan karakteristik kultur dari bakteri selektif dalam agar kacang tunggak telah dilakukan. Biji kacang-kacangan juga digunakan sebagai alternatif media kultur [4].

Berdasarkan tinjauan tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan isolat probiotik berdasarkan lama waktu kultur dalam media alami yang mengandung sumber karbon berbeda. Sumber karbon yang digunakan sebagai media kultur berupa kanji, sagu, dan dedak. Dengan demikian, maka adanya probiotik dalam saluran pencernaan dapat berperan aktif dalam meningkatkan pencernaan pakan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), batang pengaduk, korek api, rak tabung, spoid, pipet tetes, bunsen, ose, otoklaf (All American), spektrofotometer, *Laminary Air Flow* (LAF), timbangan digital, shaker (Health Shaker Rotator), *hot plate* (Cole Parmer Instrumen Company),

sendok tanduk, vortex, inkubator (Memmert), dan oven (Heraeus).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat G yang merupakan bakteri probiotik, dari isolasi saluran pencernaan usus itik pedaging, media *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) (Merck), media *deMann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) (Merck), media alami, tisu, kapas, *cling wrap*, kertas label, aluminium foil, dan aquades steril.

2.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang tahan pada pemanasan tinggi disterilkan dengan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat yang tidak tahan panas dan medium, disterilkan di otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm. Alat yang terbuat dari logam, seperti ose disterilkan dengan perendaman dalam alkohol 70% dan dipijarkan langsung di atas api bunsen.

2.3 Pembuatan Media

2.3.1. Media *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA)

Media MRSA sebanyak 26 gr dan bakto agar 1,5 gr dilarutkan ke dalam 50 mL aquades, selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dalam proses pemanasan tersebut ditambahkan pula CaCO_3 secukupnya. Media tersebut kemudian disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C , tekanan 2 atm.

2.3.2. Media *deMann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB)

Media MRSB sebanyak 5,2 gr dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, selanjutnya dipanaskan hingga larut. Media tersebut kemudian disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C , tekanan 2 atm.

2.3.3. Media Alami dengan Sumber Karbon Kanji

Tepung ikan ditimbang sebanyak 0,5 gr dan molase sebanyak 0,25 gr. Bahan tersebut dicampurkan kedalam larutan aquades dengan takaran 50 mL. Selanjutnya bahan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berukuran 250 mL. Sterilkan pada otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C , tekanan 2 atm. Kanji ditimbang sebanyak 1 gr dan dibungkus dengan kertas selanjutnya disterilkan kedalam otoklaf bersama bahan yang lain. Bahan yang sudah disterilkan didiamkan hingga suhu mencapai 35°C dan ditambahkan kanji hingga tercampur dengan media pada gelas erlenmeyer.

2.3.4. Media Alami dengan Sumber Karbon Sagu

Tepung ikan ditimbang sebanyak 0,5 gr dan molase sebanyak 0,25 gr. Bahan tersebut dicampurkan kedalam larutan aquades dengan takaran 50 mL. Selanjutnya bahan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berukuran 250 mL. Sterilkan pada otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, tekanan 2 atm. Sagu ditimbang sebanyak 1 gr dan dibungkus dengan kertas selanjutnya disterilkan kedalam otoklaf bersama bahan yang lain. Bahan yang sudah disterilkan didiamkan hingga suhu mencapai 35°C dan ditambahkan sagu hingga tercampur dengan media pada gelas erlenmeyer.

2.3.5. Media Alami dengan Sumber Karbon Dedak

Tepung ikan ditimbang sebanyak 0,5 gr, dedak sebanyak 1 gr dan molase 0,25 gr. Bahan tersebut dicampurkan kedalam larutan aquades dengan takaran 50 mL. Selanjutnya bahan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berukuran 250 mL. Sterilkan pada otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, tekanan 2 atm. Bahan yang sudah disterilkan didiamkan hingga hangat suhu menjadi 35°C.

2.4. Sampel Bakteri Probiotik

Sampel probiotik yang digunakan berasal dari koleksi kampus, yakni laboratorium Mikrobiologi, jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin. Satu sampel isolat probiotik tersebut merupakan hasil isolasi dari penelitian sebelumnya yang berasal dari saluran usus itik pedaging *Anas domesticus*.

2.5. Prakultur Bakteri Probiotik

Probiotik hasil dari peremajaan pada media MRSA selanjutnya dilakukan prakultur kedalam media MRSB. Koloni terpisah dari hasil peremajaan pada MRSA miring diambil satu ose dan ditumbuhkan pada MRSB. Shaker selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan bakteri probiotik tersebut. Penghitungan jumlah koloni dilakukan berdasarkan standar SPC selama inkubasi 24 jam.

2.6. Inokulasi Probiotik pada Berbagai Sumber Karbon

Masing-masing bahan alami dan campuran molase dan tepung ikan hasil sterilisasi yang sebelumnya telah dihangatkan pada suhu 35°C dicampurkan dengan ragi sebanyak 0,25 gr. Media alami yang sudah siap kemudian ditambahkan dengan bakteri probiotik sebanyak 3 mL. Untuk

menunjang pertumbuhan bakteri tersebut, maka diberikan perlakuan agitasi menggunakan shaker dalam proses fermentasinya.

2.7. Kultur Probiotik pada Media Alami

Probiotik yang berasal dari hasil prakultur selama 24 jam diambil sebanyak 3 mL kedalam media alami dengan berbagai sumber karbon yang berbeda yaitu sagu, kanji dan dedak. Kultur dilakukan pada media alami agar bakteri probiotik tersebut dapat memperbanyak diri dan melakukan penyesuaian terhadap lingkungan atau kondisi yang baru. Kondisi kultur selama 48 jam, 96 jam dan 144 jam dihitung jumlah koloninya.

2.8. Perhitungan Jumlah Koloni Probiotik

Kondisi kultur probiotik pada masing-masing media alami dengan sumber karbon berbeda diamati pertumbuhannya selama 48 jam, 96 jam dan 144 jam. Masing-masing kultur probiotik dari media alami diambil sebanyak 1 mL dan dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} . Pengenceran seri 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} di tanam pada media MRSA dengan metode tuang. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dihitung jumlah koloni pada cawan petri berdasarkan rumus *Standard Plate Count* (SPC).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat G merupakan bakteri probiotik hasil dari isolasi dan karakterisasi yang menunjukkan adanya kemampuan sebagai antimikroba. Kemampuan yang dimiliki tersebut dapat diaplikasikan sebagai pakan pada hewan. Untuk itu, sangat perlu dilakukan pencampuran bakteri probiotik dalam pakan ternak yang mengandung sumber karbon penting sebagai pakan. Hasil pertumbuhan probiotik dalam berbagai jenis sumber karbon dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Populasi Isolat G pada Berbagai Jenis Sumber Karbon

Kondisi Kultur (Jam)	Kanji (Cfu/mL)	Sagu (Cfu/mL)	Dedak (Cfu/mL)
48	$2,3 \times 10^8$	$6,4 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$
96	$2,6 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$
144	$4,6 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa pada media alami yang mengandung sumber karbon berbeda yakni kanji, sagu dan dedak ternyata dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bagi bakteri probiotik uji. Dengan mengubah media pertumbuhan, tidak

mempengaruhi proses pertumbuhan dari isolat G tersebut. Media dengan sumber bahan alami dapat digunakan dalam perbanyakan populasi isolat G tanpa mempengaruhi berkurangnya jumlah dari populasi. Kondisi ini dapat diketahui dari jumlah koloni yang didapatkan dari perlakuan prakultur isolat G dalam media sintetik berupa MRSB dengan hasil $6,0 \times 10^9$ Cfu/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan media tumbuh dengan sumber bahan alami tidak menghambat pertumbuhan isolat G. Bahan alami yang digunakan sebagai media tumbuh berperan sebagai nutrisi penting bagi sel untuk memperbanyak diri. Hal ini dipertegas oleh [3] bahwa nutrisi menjadi kebutuhan penting bagi mikroorganisme. Nutrisi digunakan untuk pertumbuhan. Nutrisi tersebut terdiri atas karbon, nitrogen, unsur non logam (sulfur, fosfor), unsur logam (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^{2+} , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , dan Fe^{3+}), vitamin, air, dan energi. Nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk memperbanyak sel harus mengandung sumber karbon dan nitrogen. Karbon merupakan substrat penting yang menjadi sumber utama. Karbon digunakan dalam melakukan proses metabolisme bakteri untuk memperoleh nutrisi bagi sel. Sumber karbon tersebut dapat diperoleh dari karbohidrat, protein, dan lemak.

Koloni isolat G dengan waktu kultur 48 jam menunjukkan jumlah sebesar $2,3 \times 10^8$ Cfu/mL dalam media dengan sumber karbon kanji, dalam media dengan sumber karbon sagu diperoleh jumlah koloni sebanyak $6,4 \times 10^6$ Cfu/mL, sedangkan pada sumber karbon dedak diperoleh jumlah koloni $4,3 \times 10^6$ Cfu/mL. Pada kondisi kultur ini, isolat G mengalami awal pertumbuhan sehingga jumlahnya populasi dari isolat tersebut masih rendah dibandingkan waktu kultur selanjutnya. Namun hasil telah menunjukkan bahwa sel isolat G melakukan pertumbuhan melalui pembelahan sel sehingga terjadi peningkatan jumlah koloni. Hasil koloni pada waktu kultur 96 jam rendah karena isolat G mengalami proses penyesuaian terhadap media (substrat) bahan alami tersebut. Ditegaskan oleh [5] jika dalam tahapan pertumbuhan bakteri, dibutuhkan adaptasi bagi sel untuk memulai menggunakan kondisi lingkungan yang baru. Proses ini termasuk perbaikan kerusakan makromolekuler dan sintesis komponen penting seluler untuk pertumbuhan. Tahapan ini didefinisikan sebagai periode awal dalam kehidupan populasi bakteri ketika sel menyesuaikan lingkungan baru. Banyak faktor

mempengaruhi durasi tahap pertumbuhan tersebut, termasuk jumlah inokulum, asal usul fisiologi sel, lingkungan fisiokimia keduanya pada media asli dan media pertumbuhan baru. Hal ini mendukung hasil yang didapatkan bahwa dalam kondisi awal, jumlah koloni isolat G masih rendah. Berdasarkan data yang ditampilkan juga menunjukkan bahwa sumber karbon kanji mampu menjadi media pertumbuhan isolat G dengan jumlah koloni tertinggi.

Pada kondisi kultur 96 jam diperoleh jumlah koloni isolat G sebanyak $2,6 \times 10^8$ Cfu/mL pada media dengan sumber karbon kanji, sebanyak $1,6 \times 10^8$ Cfu/mL untuk media sagu, dan $1,0 \times 10^8$ Cfu/mL dalam media dedak. Terdapatnya peningkatan jumlah populasi bakteri isolat G menunjukkan terjadinya pertumbuhan selama berada pada media alami dengan ditunjukkan meningkatnya populasi isolat G secara drastis. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa selama pertumbuhan 96 jam sel isolat G telah memperbanyak diri melalui pembelahan sel sehingga jumlah koloni mengalami penambahan. Menurut [6] pada proses pertumbuhan, bakteri akan membelah dengan cepat dan konstan melalui reproduksi seluler. Dalam proses pertumbuhan tersebut, kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya.

Pada kondisi kultur 144 jam menunjukkan peningkatan kembali jumlah koloni yang diperoleh. Pada media yang mengandung sumber karbon kanji didapatkan jumlah koloni $4,6 \times 10^8$ Cfu/mL, pada media sagu yaitu $1,8 \times 10^8$ Cfu/mL, dan pada sumber karbon dedak adalah $1,2 \times 10^8$ Cfu/mL. Ketersediaan nutrisi yang memadai dalam substrat akan dimanfaatkan oleh isolat G untuk tumbuh dan berkembang sehingga total bakteri terus meningkat hingga mencapai total tertinggi. Tetapnya terjadi pertumbuhan menunjukkan adanya kondisi konstan dalam pembelahan sel sehingga proses penambahan biomassa sel tetap terjadi [6].

Ketersediaan nutrisi yang memadai dalam substrat akan dimanfaatkan oleh isolat G untuk tumbuh dan berkembang sehingga total bakteri terus meningkat hingga mencapai total tertinggi. Total tertinggi populasi isolat G masih tetap berlangsung hingga kondisi kultur 144 jam. [7] menyatakan jika secara umum substrat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan sel, dan menghasilkan produk.

Populasi isolat G dari tertinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah pada media dengan sumber karbon kanji, selanjutnya sagu dan terakhir adalah dedak. Kompleksnya senyawa yang terkandung pada media pertumbuhan menyebabkan semakin panjangnya waktu yang dibutuhkan oleh isolat G dalam menghidrolisis sumber karbon yang terkandung dalam media alami tersebut. [7] menyatakan bahwa tingginya jumlah bakteri yang diperoleh dapat disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi media pertumbuhan. Hal ini mendukung data yang diperoleh bahwa komposisi media antara kanji, sagu dan dedak berbeda sehingga menyebabkan perbedaan jumlah koloni

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang dikemukakan maka dapat disimpulkan bahwa isolat G mampu tumbuh dalam bahan alami menggunakan sumber karbon berupa kanji, sagu, dan dedak dengan lama waktu kultur yang berbeda. Kemampuan ini didukung oleh jumlah koloni pada masing-masing bahan alami adalah $2,3 \times 10^8$ Cfu/mL, $6,4 \times 10^6$ Cfu/mL, dan $4,3 \times 10^6$ Cfu/mL pada kondisi kultur 48 jam. Pada kondisi kultur 96 jam diperoleh jumlah koloni masing-masing $2,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,6 \times 10^8$ Cfu/mL, dan $1,0 \times 10^8$ Cfu/mL. Untuk kultur 144 jam diperoleh masing-masing jumlah koloni adalah $4,6 \times 10^8$ Cfu/mL, $1,8 \times 10^8$ Cfu/mL, dan $1,2 \times 10^8$ Cfu/mL.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak terkait di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Universitas Hasanuddin yang memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan stok isolat probiotik G sebagai bahan untuk dilakukan pengujian.

6. PENDANAAN

Penelitian ini mendapatkan pendanaan dari dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fauziah PN, Nurhajati J, Crysanti. Daya antibakteri filtrat asam laktat dan bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* dalam soygurt terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. *Bionatura J Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. 2013;15(2):132 – 8.
2. Anastiawan. Isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik yang berasal dari usus itik pedaging *Anas domestica* (skripsi). Makassar: Universitas Hasanuddin; 2014
3. Rizki Z, Syahnita H. Pemanfaatan bengkuang (*Pachyrrhizus erosus*) dan tauge (*Vigna radiata*) sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *SEL J Pendidikan Kesehatan*. 2019;6(1):1 – 9.
4. Uthayasooriyan M, Pathmanathan S, Ravimannan. Formulation of alternative culture media for bacterial and fungal growth. *Der Pharmacia Lettre*. 2016;8(1):431 – 6.
5. Rolfe MD, Rice CJ, Lucchini S, Pin C, Thompson A, Cameron ADS, et al. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *J of Bacteriol*. 2021;194(3):686 – 1.
6. Safitri N, Sunarti TC, Meryandini A. Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu. *J Sumberdaya Hayati*. 2016;2(2):31 – 8.
7. Yeni, Meryandini A, Sunarti TC. Penggunaan substrat whey tahu untuk produksi biomassa oleh *Pediococcus pentosaceus* E.1222. *J Teknol Indust Pert*. 2016;26(3):284 – 3.