

Growth of Bacteria *Bacillus cereus* in Liquid Media with Different Protein Sources

Pranata Rangga Mukti^{1*}, Feliatra², Irwan Effendi²

¹Student of The Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru

²Lecturer at the Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru

Corresponding Author: ranggamukti9@gmail.com

Diterima/Received: 6 Juli 2020; Disetujui/Accepted: 05 Agustus 2020

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the optimal media composition and incubation time for the growth of *Bacillus cereus* and *B. cereus* isolate consortium with other strains isolate. Using an experimental method, which was testing 2 groups of bacterial isolates; *B. cereus* strain SN7 (isolate N) and bacterial consortium (combination of 5 isolates of *B. cereus* with different strains). Each group of isolates was grown in sago waste media added with two different protein sources (egg whites and skim milk) and 3 different concentrations in each protein source (8%, 10%, and 12%) with 3 replications in each treatment. Bacterial culture was measured every 6 hours for 24 hours using three methods; total agar plate count, spectrophotometric methods, and bacterial cell biomass methods. There was no significant difference between the growth of these two groups of bacterial isolates. Optimal growth of each isolate was in the sago waste media which was added with egg white but with different concentrations, namely 10% in *B. cereus* SN7 and 12% in the consortium. *B. cereus* consortium showed higher growth than *B. cereus* SN7. The optimal time for bacteria to grow was in the range of 12 to 24 hours.

Keywords: *Bacillus cereus*, optimal growth, protein, media, incubation time.

1. PENDAHULUAN

Seiring perkembangan di bidang bioteknologi, bakteri dapat menghasilkan produk yang memiliki nilai guna tinggi, contohnya pemanfaatan bakteri probiotik yang sudah banyak dijadikan sebagai produk untuk keuntungan manusia. Supriatna *et al.* (2016) menyatakan, bakteri probiotik menjadi preparasi sel mikroba atau komponen sel mikroba yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi kesehatan dan kehidupan inang yang menjadi tempat pertumbuhannya. Salah satu manfaat dari bakteri probiotik yaitu menjadi sumber protein yang dapat dijadikan produk dalam bidang bioteknologi dengan nilai guna yang tinggi.

Umumnya protein yang bersumber dari bakteri lebih banyak dimanfaatkan dibandingkan dengan hewan dan fungi. Hal tersebut didasarkan dari pernyataan Inuhan *et al.* (2016) pertumbuhan dari bakteri sangat cepat, tidak membutuhkan media atau ruangan yang besar dan proses regenerasinya sangat cepat. Protein yang dihasilkan oleh bakteri ini disebut juga protein sel tunggal (PST), yang mempunyai kandungan protein yang tinggi

yaitu mencapai 50% - 65%, hal ini menunjukkan dimana protein sel tunggal berpotensi sebagai bahan pakan sumber protein (Purwaningtyas, 2019). Pemanfaatan dari protein ini dapat menjadi pengganti protein dari sumber konvensional dalam bidang pertanian, perikanan, dan peternakan. Bakteri yang dapat menjadi sumber protein harus memiliki kriteria yaitu tidak bersifat patogen (probiotik), memiliki nilai nutrisi yang baik, dapat digunakan sebagai makanan atau pakan, tidak mengandung senyawa yang beracun, dan biaya produksinya murah.

Salah satu bakteri dengan genus *Bacillus* yang berpotensi sebagai sumber produksi protein yaitu *Bacillus cereus*, hal ini terbukti dari beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan *B. cereus* menjadi probiotik yang dapat menghambat beberapa bakteri patogen dan juga merupakan bakteri heterotrofik yang dapat mendegradasi bahan organik yang bersifat toksik di lingkungan terutama perairan (Nainggolan, 2019; Siregar, 2019). Selain itu *B. cereus* merupakan bakteri probiotik yang masih jarang diaplikasikan sebagai produk yang bermanfaat dalam bioteknologi.

Melimpahnya sumber alam dapat digunakan sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri dari bahan-bahan yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Pertumbuhan dan perkembangan bakteri dipengaruhi oleh faktor nutrisi dan faktor lingkungan (Fitria & Zualika, 2018). Mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang memiliki unsur karbon dan nitrogen yang menjadi komponen utama dari karbohidrat dan protein sebagai media pertumbuhannya (Inuhan *et al.*, 2016).

Salah satu media yang dapat diasumsikan cocok untuk pertumbuhan bakteri *B. cereus* yaitu limbah sagu. Pernyataan ini didasari oleh pendapat dari Ahmad *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa, limbah cair sagu yang mengandung karbohidrat cukup tinggi dan bersifat asam mempunyai prospek untuk dimanfaatkan sebagai media fermentasi bakteri.

Protein berfungsi sebagai sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh sel sebagai penyusun struktural sel itu sendiri (Azhar, 2016). Dalam pertumbuhan bakteri, protein berguna dalam proses pembentukan sel bakteri. Selain itu, Hindersah *et al.* (2014) menyatakan, kadar nitrogen yang rendah pada limbah cair sagu dapat menghambat proliferasi bakteri, sesampai diperlukan penambahan protein sebagai sumber nitrogen untuk memperkecil C/N. Oleh karena itu, media dari *B. cereus* harus mengandung protein yang baik untuk dimanfaatkan secara optimal bagi pertumbuhan bakteri ini. Terdapat dua sumber protein yang diasumsikan berpotensi dalam mengoptimalkan pertumbuhan bakteri *B. cereus*, yaitu susu dan telur.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret s/d April 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang menggunakan 2 isolat bakteri *B. cereus* yaitu bakteri *B. cereus* strain SN7 (isolat N) dan isolat bakteri konsorsium (gabungan dari beberapa isolat *B. cereus* dengan strain yang

berbeda). Metode ini menggunakan enam perlakuan pada setiap isolat *B. cereus*, yaitu penambahan sumber protein yang berbeda (putih telur dan susu skim) dan tiga konsentrasi yang berbeda pada setiap sumber protein dengan 3 kali ulangan pada setiap perlakuan.

Media yang digunakan pada kultur bakteri *B. cereus* ini adalah media pertumbuhan dengan cara memodifikasi limbah cair menjadi media pertumbuhan bagi *B. cereus*. Limbah cair sagu yang telah didapatkan dicampurkan dengan mikronutrien lain seperti Vitamin B12, larutan buffer seperti larutan K_2HPO_4 dan KH_2PO_4 , dan juga garam mineral seperti NaCl yang dilarutkan akuades. Sebanyak 1,5 ml limbah cair sagu ditambahkan dengan 0,1 g K_2HPO_4 , 0,15 g KH_2PO_4 , 5 mg Vitamin B12 dan 0,9 g NaCl, kemudian dilarutkan dalam akuades sampai volumenya 100 ml. Media limbah cari modifikasi kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm.

Media limbah cair modifikasi yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan susu skim dan putih telur sebagai sumber protein yang telah dipasteurisasi sebelumnya pada suhu 63 – 66 °C selama 30 menit sesuai dengan SNI 01-3951-1995 (Wulandari *et al.*, 2017). Penambahan protein pada media limbah cair dilakukan dengan konsentrasi 8%, 10%, dan 12%.

Isolat bakteri *B. cereus* strain SN7 dan bakteri konsorsium disuspensikan ke dalam 10 ml larutan fisiologis 0,9% NaCl secara aseptis dan dihomogenkan menggunakan *vortex* sampai kekeruhan suspensi bakteri setarakan dengan larutan standar 0,5 McFarland. Kedua suspensi bakteri *B. cereus* 10 ml kemudian dimasukkan ke dalam media pertumbuhan limbah cair sagu yang telah ditambahkan perlakuan sumber protein. Media kultur yang telah berisi bakteri diletakkan diatas *Watter Bath Shaker* yang diatur dalam suhu 37 °C dengan kecepatan 90 rpm selama 24 jam.

Pengukuran pertumbuhan kultur bakteri dilakukan setiap 6 jam selama 24 jam dengan menggunakan tiga cara yaitu metode TPC, metode spektrofotometri, dan mengukur pengukuran biomassa sel bakteri. Teknik yang digunakan pada metode TPC dalam penelitian ini yaitu teknik cawan sebar (*spread plate*). Sampel bakteri pada media pertumbuhan diencerkan terlebih dahulu sampai pengenceran 10-5, kemudian 0,1 ml diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam cawan

petri yang berisi media PCA. Sampel bakteri pada media kemudian disebar dan diratakan menggunakan batang drigalski secara aseptis didekat bunsen, setelah itu sampel bakteri diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator kemudian koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA dihitung menggunakan *colony counter*. Hasil jumlah koloni yang didapat kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan bakteri sebagai berikut (Effendi, 2020; Yoswaty & Effendi, 2020).

$$CFU = \frac{1}{Volume \times \sum Faktor Pengenceran} \times \sum Koloni$$

Metode spektrofotometri dilakukan untuk menentukan jumlah sel bakteri dengan cara melihat kekeruhan suspensi sampel bakteri menggunakan spektrofotometer. Sampel bakteri pada media diambil kemudian dan dimasukkan kedalam kuvet, kemudian kuvet diletakkan dalam spektrofotometer dan diukur nilai absorbansinya dengan panjang gelombang 630 nm. Nilai absorbansi kemudian dikonversikan kedalam rumus regresi linear dari data kurva standar McFarland, maka didapat nilai kepadatan sel bakteri.

Pengukuran biomassa bakteri dilakukan dengan cara menentukan berat kering pada sel bakteri. *Microtube* yang menjadi wadah sel bakteri ditimbang terlebih dahulu dengan timbangan analitik, dicatat, dan dimasukkan 1 ml bakteri yang diambil pada media kultur. *Microtube* yang berisi isolat bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit (Setyati, 2015). Supernatan yang telah terbentuk dibuang menggunakan pipet tetes yang sudah disterilkan dengan alkohol sampai hanya endapan sel bakteri yang tersisa. *Microtube* yang berisi sel bakteri kemudian di oven dengan suhu 100 °C selama 15 menit. Setelah di oven, mikrotube didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang berat keringnya. Berat kering yang telah didapatkan dikurang dengan berat *microtube* sebelumnya sesampai didapatkan berat kering yang sebenarnya dari bakteri

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Jumlah Koloni Bakteri *B. cereus*

Hasil pengukuran metode TPC dirata-ratakan berdasarkan 3 ulangan pada setiap perlakuan, yang kemudian disajikan dalam bentuk Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Pengukuran TPC bakteri *B. cereus* SN7

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)				
	(x10 ⁸ CFU's/ml)				
	0	6	12	18	24
8	1,32	2,22	2,08	1,70	1,20
SS 10	1,35	2,33	2,17	1,51	1,08
12	1,30	2,25	1,96	1,38	1,10
8	1,64	2,43	2,54	2,70	2,45
ST 10	2,31	2,43	2,64	2,80	2,82
12	1,71	2,10	2,46	2,72	2,30
K (+)	2,10	2,68	2,78	2,86	2,95
K (-)	0,73	1,12	1,26	1,03	0,57

Tabel 2. Hasil Pengukuran TPC bakteri *B. cereus* Konsorsium

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)				
	(x10 ⁸ CFU's/ml)				
	0	6	12	18	24
8	2,30	2,59	2,45	1,43	1,26
SS 10	2,57	2,87	2,72	2,31	1,90
12	2,69	2,95	2,61	2,36	1,80
8	1,77	2,65	2,75	2,95	2,43
ST 10	2,29	2,46	2,77	2,80	2,40
12	2,57	2,70	2,88	2,94	2,90
K (+)	1,85	2,41	2,33	2,35	2,21
K (-)	0,87	1,06	1,21	1,18	0,76

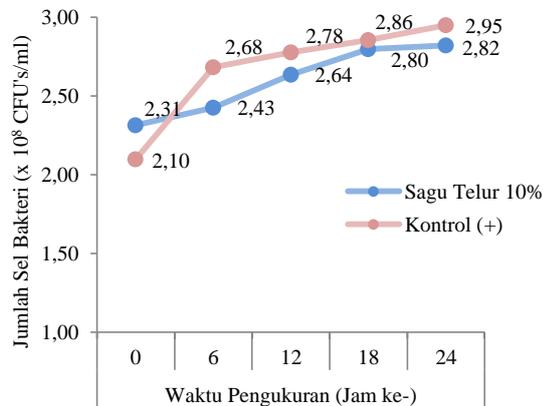
Keterangan:

SS : Media limbah sagu + susu skim,
ST : Media limbah sagu + putih telur,
K : Kontrol

Berdasarkan hasil pengukuran TPC, pertumbuhan pada media sagu dan telur, rata-rata ketiga konsentrasi mengalami fase-fase yang hampir sama yaitu pada jam ke 0, 6 dan 12 merupakan fase eksponensial dimana pertumbuhan bakteri meningkat namun berbeda-beda dan ada yang tidak terlalu signifikan, lalu pada jam ke 18 dan 24 bakteri telah mengalami fase stasioner. Pertumbuhan bakteri pada media sagu susu tidak terlalu bagus, dimana pada ketiga konsentrasinya dalam waktu inkubasi jam ke 12 sampai 24 sudah mengalami fase kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rizal *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa telur mengandung protein yang cukup tinggi yaitu 12%, serta komposisi asam amino yang terkandung didalam cukup komparatif dibandingkan dengan daging dan susu, yang artinya telur memiliki kandungan protein dengan komposisi asam amino yang lebih baik dan kompleks jika dibandingkan dengan susu.

Pengukuran jumlah koloni pada penelitian ini menghasilkan satu pertumbuhan

yang optimal pada masing-masing isolat. Pertumbuhan optimal tersebut dibandingkan



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Optimal Koloni Bakteri *B.cereus* SN7

Pertumbuhan optimal isolat *B. cereus* konsorsium pada media limbah cair sagu ditambah 12% putih telur lebih tinggi dibandingkan dengan *B. cereus* SN7 pada media limbah cair sagu ditambah 10% putih telur. Pertumbuhan tertinggi dari isolat konsorsium terdapat pada jam ke 18 dengan nilai $2,94 \times 10^8$ CFU's/ml, sedangkan pada isolat *B. cereus* SN7 terdapat pada jam ke 24 dengan nilai $2,82 \times 10^8$ CFU's/ml.

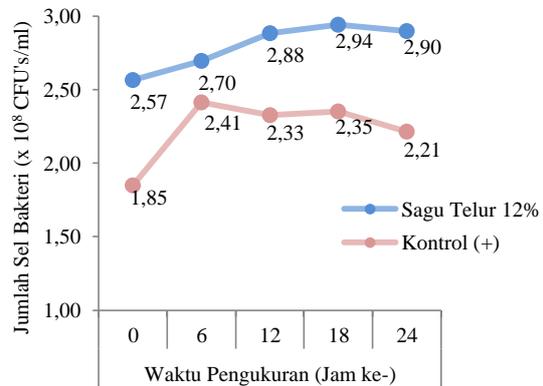
Pertumbuhan Kepadatan Sel Bakteri *B.cereus*

Hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer dirata - ratakan berdasarkan tiga ulangan pada setiap perlakuan, kemudian disajikan dalam bentuk Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Spektrofotometri bakteri *B. cereus* SN7

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)				
	(x10 ⁸ sel/ml)				
	0	6	12	18	24
8	3,32	2,88	8,86	7,32	8,98
SS 10	3,87	5,58	10,19	5,75	7,26
12	4,69	9,39	10,16	6,03	5,49
8	3,25	3,23	8,50	12,65	10,20
ST 10	3,15	3,34	8,83	11,84	13,50
12	3,00	3,57	12,48	11,21	12,66
K (+)	1,08	4,40	12,62	13,78	16,60
K (-)	0,61	0,57	0,48	0,28	0,09

dengan kontrol positifnya dan disajikan dalam bentuk grafik (Gambar 1 dan 2).



Gambar 2. Grafik Pertumbuhan Optimal Bakteri *B.cereus* Konsorsium

Tabel 4. Hasil Pengukuran Spektrofotometri bakteri *B. cereus* Konsorsium

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)				
	(x10 ⁸ sel/ml)				
	0	6	12	18	24
8	2,30	2,59	2,45	1,43	1,26
SS 10	2,57	2,87	2,72	2,31	1,90
12	2,69	2,95	2,61	2,36	1,80
8	1,77	2,65	2,75	2,95	2,43
ST 10	2,29	2,46	2,77	2,80	2,40
12	2,57	2,70	2,88	2,94	2,90
K (+)	1,85	2,41	2,33	2,35	2,21
K (-)	0,87	1,06	1,21	1,18	0,76

Keterangan:

SS : Media limbah sagu + susu skim,

ST : Media limbah sagu + putih telur,

K : Kontrol

Pertumbuhan pada pengukuran spektrofotometri berbanding lurus dengan hasil pengukuran TPC, yaitu pada nilai absorbansinya. Isolat *B. cereus* SN7 memiliki pertumbuhan yang paling optimal yaitu pada media sagu yang ditambahkan putih telur sebagai sumber proteinnya dengan konsentrasi 10% (Tabel 4). Begitu juga dengan isolat konsorsium yang menunjukkan hasil dimana media dengan pertumbuhan bakteri yang optimal terdapat pada media limbah cair sagu yang ditambahkan 12% telur sebagai proteinnya (sama dengan hasil pada pengukuran TPC). Hal ini sesuai dengan pernyataan Lizayana *et al.* (2016), semakin tinggi jumlah bakteri maka semakin banyak cahaya yang akan diserap oleh bakteri tersebut, sesampai cahaya yang dilewatkan sangat sedikit.

Pertumbuhan Biomassa Sel Bakteri *B.cereus*

Hasil pengukuran metode biomassa sel dirata-ratakan berdasarkan 3 ulangan pada setiap perlakuan, yang kemudian disajikan dalam bentuk Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Hasil Pengukuran biomassa sel bakteri *B.cereus* SN7

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)					
	(g/ml)					
	0	6	12	18	24	
SS	8	0,076	0,095	0,118	0,037	0,112
	10	0,095	0,110	0,123	0,065	0,095
	12	0,129	0,154	0,098	0,080	0,086
ST	8	0,020	0,069	0,079	0,083	0,065
	10	0,071	0,022	0,106	0,116	0,124
	12	0,068	0,096	0,141	0,130	0,094
K (+)		0,025	0,040	0,118	0,122	0,135
K (-)		0,020	0,100	0,033	0,030	0,014

Tabel 6. Hasil Pengukuran biomassa sel bakteri *B. cereus* Konsorsium

Media (%)	Waktu Pengukuran (Jam ke-)					
	(g/ml)					
	0	6	12	18	24	
SS	8	0,072	0,113	0,121	0,098	0,080
	10	0,091	0,133	0,135	0,056	0,055
	12	0,100	0,115	0,137	0,027	0,080
ST	8	0,044	0,088	0,125	0,111	0,064
	10	0,069	0,099	0,129	0,136	0,108
	12	0,057	0,131	0,138	0,107	0,084
K (+)		0,097	0,117	0,131	0,128	0,123
K (-)		0,015	0,029	0,101	0,024	0,009

Keterangan :

SS : Media limbah sagu + susu skim,

ST : Media limbah sagu + putih telur,

K : Kontrol

Media dengan nilai biomassa tertinggi pada kedua isolat ini memiliki fase adaptasi (*lag phase*) yang lebih singkat dari pada masing-masing kontrol positifnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Yeni *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa media pertumbuhan bakteri harus mengandung nutrisi

yang sesuai kebutuhan bakteri dan harus memiliki kesamaan dengan media produksi sehingga dapat meminimalkan waktu adaptasi dari kultur starter, mengurangi fase lag dan mengoptimalkan waktu dari fase stasioner.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Septiani *et al.* (2014), media limbah cair dengan nutrisi yang cukup dalam kadar tertentu dapat menghasilkan kultur mikroalga dan bakteri heterotrofik yang mampu mengkonversi bahan organik menjadi sel-sel baru dari limbah itu sendiri sehingga meningkatkan pertumbuhan biomassa dari kultur mikroba, hal ini menunjukkan bahwa limbah cair sagu dapat menjadi sumber bahan organik sebagai nutrisi bagi isolat bakteri *B. cereus* yang dibuktikan dari pertambahan biomassa isolat *B. cereus* SN7 dan konsorsium yang diinkubasi selama 24 jam.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Media pertumbuhan yang paling optimal untuk isolat bakteri *B. cereus* SN7 (isolat N) yaitu media limbah cari sagu yang ditambah dengan putih telur sebanyak 10% sebagai sumber protein, sedangkan pada isolat konsorsium terletak pada media yang sama namun dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 12%. Pertumbuhan optimal pada isolat *B. cereus* konsorsium dibandingkan dengan pertumbuhan optimal dari *B. cereus* SN7

Pertumbuhan bakteri *B. cereus* SN7 dan konsorsium pada setiap media perlakuan memiliki pola pertumbuhan yang hampir sama di awal yaitu mengalami fase eksponensial pada 6 sampai 12 jam waktu inkubasi. Waktu optimal pertumbuhan bakteri terletak pada fase stasioner dimana pembelahan sel bakteri sudah mendekati batasnya sesampai didapatkan kultur bakteri yang maksimal, pada penelitian ini waktu pertumbuhan optimal terletak pada kisaran 12 sampai 24 jam

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S.W., N.A. Yanti & N.H. Muhiddin. (2019). Pemanfaatan Limbah Cair Sagu untuk Memproduksi Selulosa Bakteri. *Jurnal Biologi Indonesia*. 15(1): 33-39.
- Azhar, M. (2016). *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein, dan Enzim*. Padang: UNP Press Padang.
- Effendi, I. 2020. *Metode Identifikasi dan Klasifikasi Bakteri*. Pekanbaru: Oceanum Press. 142 hlm
- Fitria, A.N., & E. Zulaika. (2018). Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada Medium MSM Modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 7(2): E39-E41.

- Hindersah, R., A.M. Kalay, A. Jacob & A. Talahaturuson. (2014). Limbah Sagu: Potensi Lokal untuk Media Pupuk Hayati. *Jurnal Agroekotek*. 6 (1) : 12 – 24.
- Inuhan, B., S. Arreneuz & M.A. Wibowo. (2016). Optimasi Produksi Protein Sel Tunggal (PST) dari Bakteri yang Terdapat pada Gastrointestinal (GI) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Kembung (*Scomber canagorta*). *Jurnal Kajian Komunikasi*. 5(1): 24 – 28.
- Lizayana., Mudatsir & Iswadi. (2016). Densitas Bakteri pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*. 1(1): 95-106.
- Nainggolan, A.H. (2019). Uji Metabolit Bakteri Heterotrofik dari Muara Sungai Siak Terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi*. Pekanbaru. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.
- Purwaningtyas, Y.R. (2019). Produksi Protein Sel Tunggal *Gluconacetobacter xylinus* dengan Medium Limbah Cair Tempe Menggunakan Metode Air - Lift Bioreactor. *Skripsi*. Yogyakarta. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma. 110 hlm.
- Rizal, B., A. Hintono & Nurwantoro. (2012). Pertumbuhan Mikroba pada Telur Pasca Pasteurisasi. *Animal Agriculture Journal*. 1(2): 208 – 218.
- Septiani, W.D., A. Slamet & J. Hermana. (2014). Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Laju Pertumbuhan Alga dan Bakteri Heterotropik. *Jurnal Teknik POMITS*. 3(2): 98 – 103.
- Siregar, I.A. (2019). Efektifitas Penggunaan Bakteri Heterotrofik terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. Pekanbaru. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. 80 hlm
- Supriatna, I., I.B. Hismayasari, I.G.A. Bidiadnyani, M. Sayuti & A. Yani. (2016). Analisis Karakteristik Bakteri Probiotik. *Jurnal Airaha*. 5(2) : 130-132.
- Wulandari, Z., E. Taufik & M. Syarif. (2017). Kajian Kualitas Produk Susu Pasteurisasi Hasil Penerapan Rantai Pendingin. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 5(3): 94-100.
- Yeni., A. Meryandini & T.C. Sunarti. (2016). Penggunaan Substrat Whey Tahu untuk Produksi Biomassa oleh *Pediococcus Pentosaceus* E.1222. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 26 (3): 284-293
- Yoswati, D. & I. Effendi. 2020. *Bioteknologi Kelautan*. Pekanbaru: Oceanum Press. 92 hlm