

INOVASI PENGGUNAAN *WAVE BIOREACTOR* SEBAGAI PEMBIAKAN KULTUR PADA INDUSTRI *FROZEN YOGHURT*

Dinda Rahmah Firmandani dan Dwina Moentamaria

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia
dinda.rahmahfirmandani@gmail.com ; dwina_mnt@yahoo.com]

ABSTRAK

Yoghurt merupakan salah satu produk hasil olahan susu dengan tekstur seperti gel yang diproduksi dengan proses fermentasi. Sebelum dilakukan proses fermentasi, bakteri yang akan digunakan akan melalui proses inokulasi dengan menggunakan kultur murni bakteri yang telah dibiakkan untuk membantu agar biaya produksi cukup rendah. Pemiakan ini umumnya dilakukan dalam *shake flask* atau *spinner glass*. Akan tetapi penggunaan *spinner flask* akan membutuhkan waktu yang lebih lama dan tegangan geser yang dihasilkan cukup tinggi sehingga cukup membahayakan pertumbuhan sel. Akibatnya, diperlukan suatu alat yang dapat mempersingkat tahapan dan waktu serta tegangan geser yang lebih rendah seperti *wave bioreactor*. Tujuan dari penelusuran ini yaitu untuk mengkaji proses pemiakan kultur menggunakan *wave bioreactor* serta proses pemiakan yang digunakan. Penelitian ini dilakukan melalui penelusuran studi literatur dengan membandingkan proses pemiakan secara konvensional dan intensifikasi serta alat yang digunakan. Dari penelusuran ini diperoleh hasil bahwa kultur murni yoghurt dapat diperbanyak dengan dibiakkan dalam media susu pada *wave bioreactor*. Penggunaan *wave bioreactor* dengan proses intensifikasi juga dapat mempersingkat waktu pemiakan melalui pengurangan tahapan pemiakan pada *spinner flask* sehingga dapat mengurangi waktu 1–2 minggu.

Kata kunci: *Bioreaktor gelombang, inokulasi, spinner flask, yoghurt.*

ABSTRACT

Yogurt is a dairy product with a gel-like texture produced by a fermentation process. Prior to the fermentation process, the bacteria to be used will go through an inoculation process using pure cultures of bacteria that have been bred to help keep production costs low. This culture is generally carried out in a shake flask or spinner glass. However, the use of a spinner flask will require a longer time and the resulting shear stress is high enough to endanger cell growth. As a result, we need a tool that can shorten the stages and time as well as lower shear stresses such as a wave bioreactor. The purpose of this search is to examine the process of culture propagation using a wave bioreactor and the breeding process used. This research was conducted through a literature study by comparing the conventional and intensification process of breeding and the tools used. From this research, it was found that pure yogurt culture can be propagated by culturing in milk media in a wave bioreactor. The use of a wave bioreactor with an intensification process can also shorten the culturing time by reducing the culturing stages in the spinner flask so as to reduce the time of 1-2 weeks.

Keywords: *Inoculation, spinner flask, wave bioreactor, yogurt.*

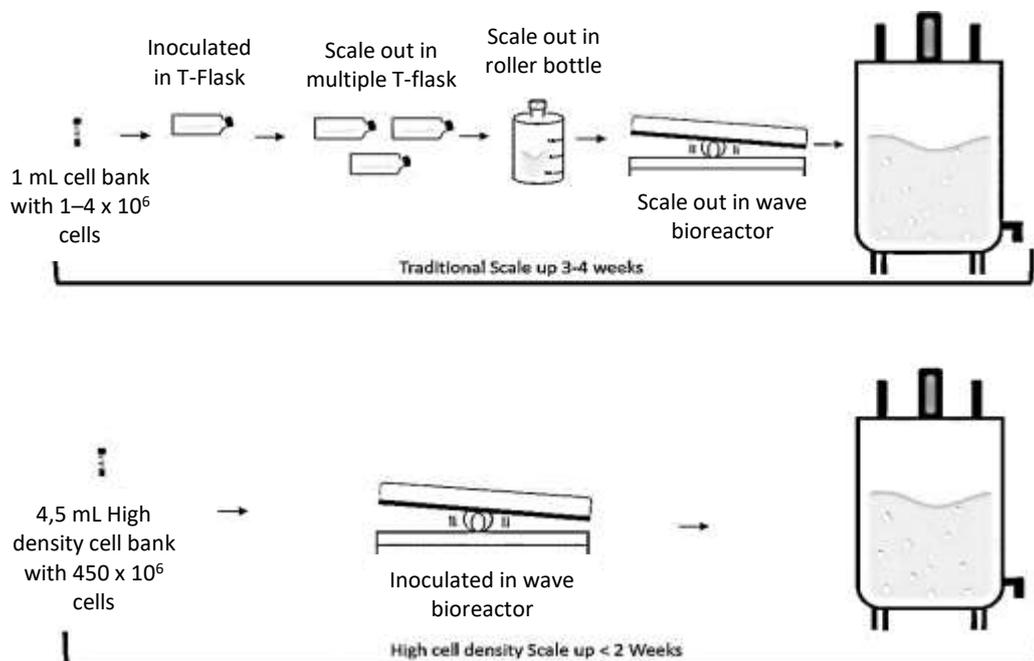
1. PENDAHULUAN

Yoghurt didefinisikan sebagai produk yang dibuat dari susu dengan struktur seperti gel yang dihasilkan dari koagulasi protein susu akibat asam laktat yang disekresikan oleh kultur bakteri tertentu [1]. Jenis yoghurt yang umum ada di pasaran antara lain *set type* dan *strained yoghurt*. Selain itu, jenis yoghurt *drink* dan *frozen yoghurt* menjadi cukup populer akhir-akhir ini. Jenis-jenis yoghurt di atas dapat memiliki perbedaan tekstur yang diakibatkan



dari perbedaan proses fermentasi [1]. *Frozen* yoghurt juga biasa disebut dengan es krim yoghurt merupakan salah satu jenis dari produk olahan susu yang dianggap sebagai salah satu produk yang lebih sehat karena kandungan lemak yang rendah dan adanya bakteri asam laktat yang layak. *Frozen* yoghurt merupakan suatu produk yang terbuat dari fermentasi susu dengan menggunakan *starter* bakteri yoghurt yang diantaranya adalah *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Yoghurt beku ini memiliki kandungan setidaknya 2,7% protein susu dan lebih dari 10% lemak susu serta memiliki keasaman yang dapat dititrasi dari 0,3% asam laktat. Selain 3 kandungan tersebut, yoghurt beku juga dapat mengandung pemanis, pewarna, *stabilizer* dan emulsi [2]. Proses fermentasi susu dalam proses pembuatan *frozen* yoghurt dilakukan dengan penambahan kultur *starter* yoghurt yang sebelumnya dibiakkan terlebih dulu pada *shake flask* atau *glass spinner*.

Proses pembiakan kultur menggunakan *shake flask* atau *glass spinner* membutuhkan pembiakan berulang serta membutuhkan jenis alat serupa dalam jumlah yang lebih banyak sebelum diaplikasikan ke dalam reaktor yang lebih besar untuk memproduksi yoghurt. Proses ini merupakan suatu proses pembiakan kultur secara konvensional. Hal tersebut dapat ditingkatkan dengan metode yang lebih baru yakni melalui metode intensifikasi dimana sel yang digunakan menggunakan sel dengan densitas tinggi yang kemudian dibiakkan ke dalam *wave bioreactor*. Hal ini tentu akan menghemat waktu pembiakan karena pengurangan tahapan yang dilakukan pada pembiakan kultur. Perbandingan antara proses pembiakan secara konvensional dan intensifikasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan proses pembiakan secara tradisional dan *high intensity* [3].

Pembiakan kultur yoghurt di industri *frozen* yoghurt dapat diinovasikan dengan menggunakan *wave bioreactor*. *Wave bioreactor* umumnya digunakan untuk pembiakan berbagai macam sel dan fermentasi. Sebagai contoh, untuk proses yang menggunakan *saccharomyces cerevisiae* dan fermentasi mikroba *Escherichia coli* [4]. Penggunaan *wave*

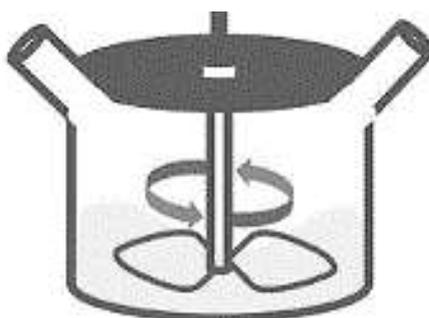
bioreactor dapat mempersingkat waktu pembiakan karena adanya pengurangan tahapan proses pada tahapan pembiakan kultur. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji proses pembiakan kultur menggunakan *wave bioreactor* dibandingkan dengan menggunakan *spinner flask* serta proses pembiakan yang digunakan dengan metode konvensional dan intensifikasi.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Studi literatur dilakukan dengan mengkaji proses pembiakan secara konvensional dan intensifikasi serta penggunaan *wave bioreactor* pada proses pembiakan kultur yoghurt di industri *frozen yoghurt*.

2.1. Pembiakan Kultur Yoghurt

Kultur *starter* yoghurt dapat didefinisikan sebagai mikroorganisme yang ditambahkan secara sengaja ke dalam susu untuk untuk difermentasi serta mempertahankan produk dalam kondisi yang terkendali. Kultur *starter* yoghurt memiliki fungsi utama untuk memproduksi asam laktat dan senyawa rasa lainnya serta berdampak pada tekstur dari yoghurt tersebut [5]. Pembiakan kultur secara konvensional membutuhkan waktu 3 hingga 4 minggu serta dilakukan secara berulang dan manual untuk menghasilkan jumlah sel yang cukup untuk diinokulasikan ke reaktor yang lebih besar [3]. Perlu adanya solusi untuk mempercepat waktu proses dan mengurangi jumlah tahap selama proses peningkatan melalui produksi sel dengan densitas tinggi [3,6]. Hal ini dapat menggunakan proses intensifikasi pada pembiakan kultur yang membutuhkan waktu kurang dari 2 minggu. Hal ini dapat menghemat waktu pembiakan hingga 9 hari dan memperbaiki langkah dalam tahap pembiakan. Selain itu, proses intensifikasi juga dapat menurunkan resiko kontaminasi pada kultur yang dibiakkan [3].



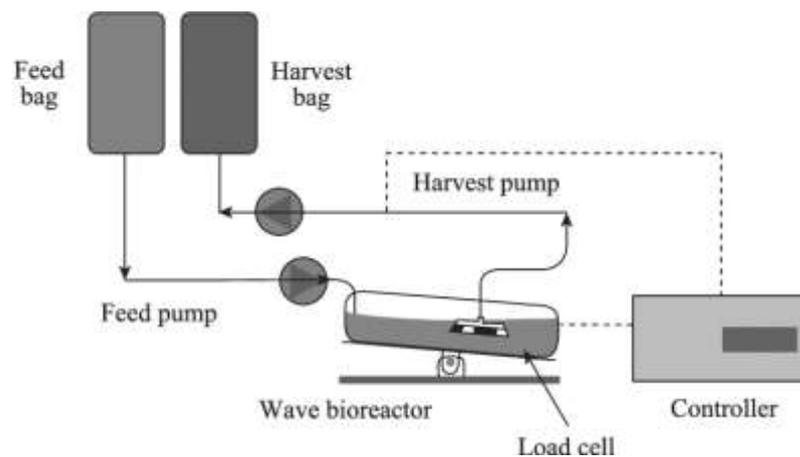
Gambar 2. *Spinner flask* [3].

Pembiakan kultur secara konvensional dilakukan menggunakan *shake flask* maupun *glass spinner*. *Spinner flask* merupakan alat dengan labu alas datar yang biasa digunakan pada skala kecil untuk pengadukan kultur suspensi yang dapat digunakan untuk validasi awal mikroba dan komposisi media. Langkah penting yang dilakukan untuk penggunaan alat ini antara lain pemisahan sel dan memanen sel dari media. Penggunaan *spinner glass* atau *glass spinner* dapat meningkatkan hasil permukaan dan sel, perpindahan massa yang homogen, biaya relatif rendah, serta optimalisasi sebelum suspensi ditingkatkan ke skala industri. Akan tetapi kekurangan dari penggunaan alat ini antara lain tegangan geser yang

dapat mengganggu pertumbuhan sel serta memerlukan pengoptimalan pada *cell-line* [3]. Karena tegangan geser yang besar dapat mengganggu pertumbuhan sel maka diperlukan alat untuk pembiakan sel dengan tegangan geser yang lebih rendah, seperti *wave bioreactor*.

2.2. Wave Bioreactor

Wave bioreactor merupakan suatu bioreaktor yang diinduksi oleh gelombang yang terdiri dari nampan yang bergerak untuk mengaduk kultur sel dengan gerakan seperti gelombang ke depan dan belakang [7,8]. Selain itu, bioreaktor ini termasuk ke dalam salah satu jenis bioreaktor yang digerakkan secara mekanis atau campuran gelombang (*wave-induced*) dengan osilasi horizontal [7]. *Wave bioreactor* ini dirancang untuk memberikan pencampuran yang sangat baik dengan tegangan geser yang rendah. Hal tersebut memberikan suatu alternatif bagi pembiakan kultur sel yang sangat sensitif dengan kondisi hidrodinamik [9,10]. Kapasitas maksimum yang terdapat di pasaran adalah 20 liter/0,02 m³ dengan densitas sel sebanyak 2 x 10⁶ sel/ml [3]. Pada literatur lain disebutkan bahwa kapasitas sistem *wave bioreactor* dapat ditingkatkan hingga 1000 liter dan densitas sel sebanyak 10⁷ sel/ml dapat tercapai [11].



Gambar 3. Skema kontroller *perfusion* pada *wave bioreactor* [12].

Skema pengoperasian pada *wave bioreactor* dapat dilihat pada Gambar 3. Sistem *wave bioreactor* terdiri dari kantong plastik steril yang diletakkan pada *rocking platform*. Kantong tersebut akan diisi oleh media yang akan dibiakkan sebanyak setengah bagian dari kantong. Gerakan dari platform tersebut akan menciptakan gerakan bergelombang pada kultur yang ada di dalam kantong, memastikan efisiensi aerasi serta pencampuran kultur tanpa menyebabkan kerusakan akibat tegangan geser [13]. Kultur yang akan dibiakkan akan dipompa menuju kantong untuk plastik. Hasil panen dari kultur tersebut akan dipompakan ke penampung hasil panen kultur. Sebuah *load cell* dapat dipasang di bawah *holder tray* untuk mengukur berat kantong yang berisi kultur selama proses pembiakan. Sebuah pengontrol pompa *built-in* dapat digunakan untuk pengumpanan, mengumpulkan hasil pembiakan dan perfusi [14]. Laju perfusi dikontrol melalui *integrated load cell* yang memastikan penambahan dan pemindahan umpan dan hasil pembiakan dalam jumlah yang sama secara berkala. *Integrated filter* mengurangi

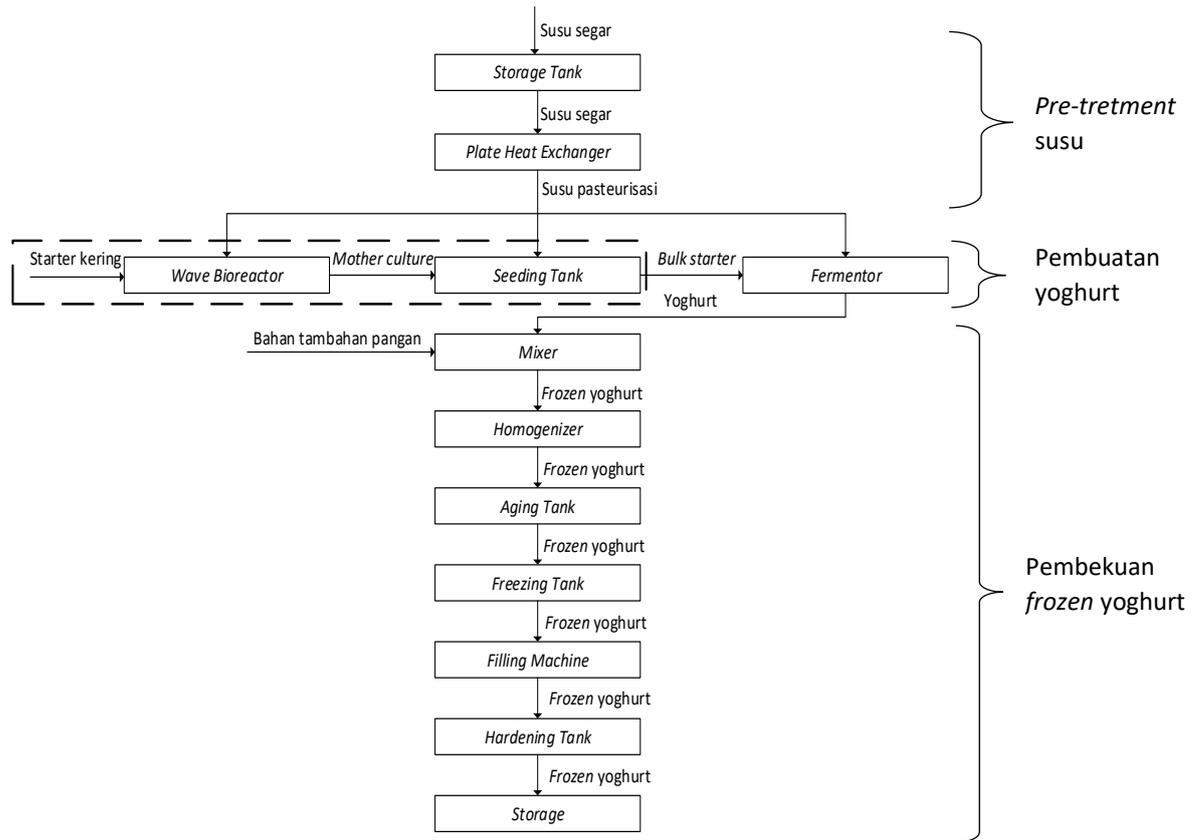
kebutuhan *loop* resirkulasi eksternal. Kunci dalam proses perfusi adalah kecepatan pembaruan dan pembuangan atau yang biasa disebut dengan kecepatan perfusi (*perfusion rate*). Pada *cell-specific perfusion rate* (CSPR), umpan perfusi ditambahkan berdasarkan jumlah sel dan hari, dimana hal ini dapat secara efisien menjaga lingkungan yang tetap konstan dan merupakan salah satu cara efektif untuk mengurangi konsumsi media [15].

Sel yang pernah diuji menggunakan reaktor ini antara lain *Chinese Hamster Ovary* (CHO) cells, sel NS0, sel hibridoma, sel serangga dan beberapa sel yang dibiakkan menggunakan *microcarrier* [11]. Penyesuaian penggunaan dapat dilakukan dengan mengganti kantung reaktor tersebut seperti ukuran dan rasio panjang, lebar dan tinggi, kondisi operasi serta kondisi pembudidayaan. Kebanyakan dari bioreaktor jenis ini merupakan bioreaktor yang hanya sekali pakai dan dipakai setelah disterilisasi terlebih dahulu. Kontaminasi silang dalam penggunaan bioreaktor jenis ini relatif kecil dan cukup mudah dalam pelaksanaan pembudidayaannya. Salah satu keuntungan pemakaian bioreaktor jenis ini adalah dapat diaplikasikan pada suspensi sel tanaman dan kultur jaringan [8].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Proses Produksi *Frozen Yoghurt*

Proses produksi *frozen yoghurt* terdiri dari 2 tahapan utama yaitu pembuatan yoghurt dan pembuatan yoghurt beku. Pembuatan yoghurt beku diadaptasi dari proses pembuatan *ice cream*. Proses pembuatan yoghurt dimulai dari pengolahan susu terlebih dahulu yang meliputi proses pasteurisasi, pendinginan, pemberian *starter* yoghurt dan proses fermentasi hingga menjadi yoghurt. Yoghurt yang telah jadi selanjutnya akan diproses menjadi yoghurt beku dengan pencampuran beberapa bahan tambahan pangan [16]. Proses produksi *frozen yoghurt* secara garis besar ditunjukkan pada Gambar 4.

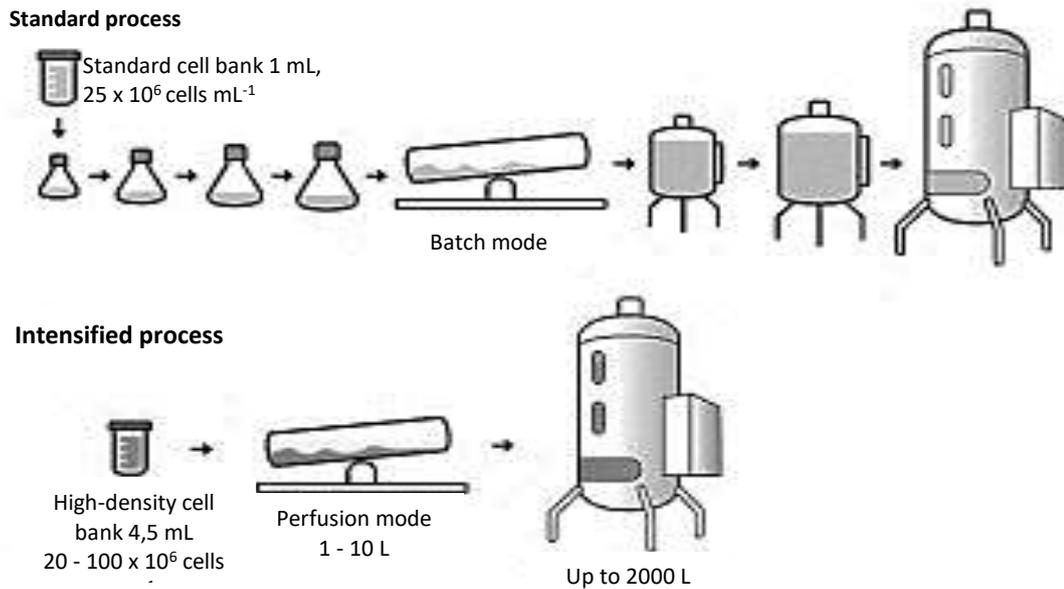


Gambar 4. Proses produksi *frozen yoghurt*.

Penambahan kultur *starter yoghurt* dilakukan pada *seeding tank* dengan mencampurkan kultur *yoghurt Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* murni dengan susu yang telah dipasteurisasi untuk menghasilkan *bulk starter*. Kultur *yoghurt* yang dimasukkan dalam susu pada *seeding tank* merupakan *mother culture* yang diperoleh dari pembiakan dalam *wave bioreactor*. *Mother culture yoghurt* berfungsi sebagai persediaan tambahan kultur *yoghurt* sehingga dapat mengurangi biaya produksi untuk pengadaan kultur *yoghurt* murni.

3.2. *Pembiakan Kultur*

Proses pembiakan kultur *yoghurt* yang dilakukan di skala industri dilakukan pada *seeding tank*. Pembiakan ini berfungsi untuk memperbanyak kultur namun dengan pengeluaran biaya yang relatif lebih sedikit. Proses inokulum secara konvensional dimulai dari pencairan sel satu botol *vial* dan dilanjutkan dengan ekspansi selanjutnya [17]. Akan tetapi, proses pembiakan secara konvensional ini membutuhkan waktu lebih lama karena pembiakan pada *spinner flask* dilakukan secara berulang. Akibat pengulangan yang dilakukan inilah sehingga membutuhkan waktu lebih lama dalam pembiakan kultur. Proses pembiakan secara konvensional sendiri membutuhkan waktu 3–4 minggu. Pembiakan secara konvensional dilakukan dengan memperbanyak sel awal dari bejana kecil hingga bejana besar secara bertahap. Sedangkan proses pembiakan dengan proses intensifikasi dapat dilakukan selama kurang dari 2 minggu [3]. Tentu hal ini akan menguntungkan karena dapat mengurangi masa pembiakan kultur sebelum diinokulasikan ke susu untuk difermentasi menjadi *yoghurt*.

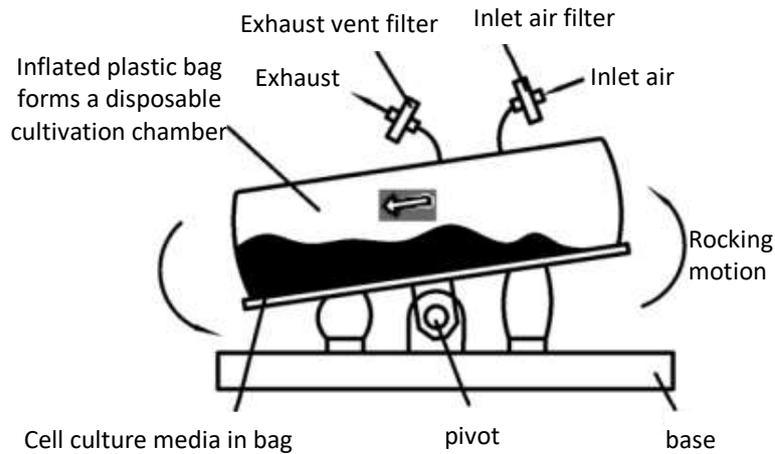


Gambar 5. Perbandingan proses pembiakan secara konvensional dan intensifikasi [18].

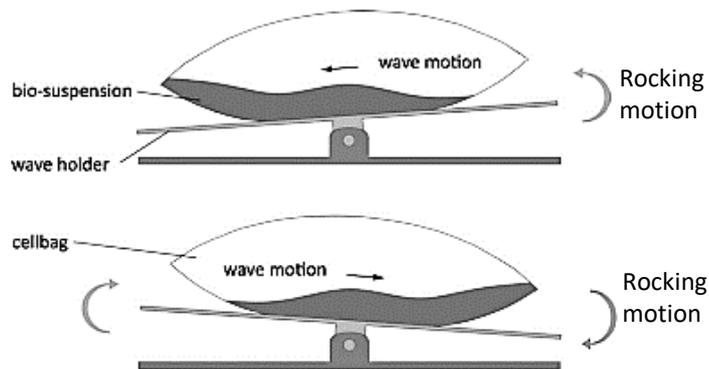
Berdasarkan Gambar 5., proses pembiakan secara konvensional yang membutuhkan *spinner flask* bisa digantikan dengan menggunakan *wave bioreactor* secara langsung pada proses secara intensifikasi. Selain membutuhkan waktu yang lebih lama, tegangan geser yang dihasilkan juga cukup tinggi sehingga cukup membahayakan sel yang dibiakkan akibat dari pengadukan yang terjadi di dalam *spinner flask*, terutama pada sel yang sangat sensitif terhadap tegangan geser seperti sel tumbuhan dan hewan. Sehingga dibutuhkan alat yang memiliki tegangan geser yang lebih rendah seperti *wave bioreactor*.

3.3. Penggunaan Wave Bioreactor

Wave bioreactor merupakan salah satu jenis bioreaktor yang diinduksi dengan gelombang dengan gerakan ke depan dan belakang. Skema alat *wave bioreactor* dapat dilihat pada Gambar 5. Gerakan pada kantong kultur yang ada di *wave bioreactor* dapat dilihat pada Gambar 6. Bioreaktor bergerak ke depan dan belakang sehingga membentuk gelombang dalam kantong sel akibat gerakan yang diinduksi dengan osilasi horizontal. Pembiakan kultur menggunakan *Wave bioreactor* menjadikan seluruh proses ekspansi inokulum dapat secara langsung dilakukan pada kantong sekali pakai 2 liter dengan volume kerja sebanyak 0,5 liter setelah pencairan sel. Volume kultur awal akan terus ditingkatkan dengan menambahkan media kultur dan dipindahkan ke *seeding reactor* yang lebih besar setelah volume maksimal pada kantong tercapai. Dengan proses ini maka proses inokulum dapat disederhanakan dan tidak menggunakan banyak *flask* sambil menghasilkan inokulum yang homogen. Penggunaan *wave bioreactor* juga menurunkan resiko kontaminasi melalui sistem bioreaktor yang tertutup dibandingkan dengan sistem operasi terbuka pada proses ekspansi inokulum konvensional pada *flask* [17].



Gambar 6. Skema alat *disposable wave bioreactor* [19].



Gambar 7. Konsep gerakan gelombang pada kantong sel yang dihasilkan dari gerakan bioreaktor secara osilasi horizontal [20].

Penggunaan *wave bioreactor* pada pembiakan kultur yoghurt melalui proses intensifikasi memiliki beberapa keunggulan seperti dapat mengurangi biaya produksi untuk pengadaan *spinner flask* yang cukup banyak, mengurangi tahapan pembiakan sehingga dapat menghemat waktu pembiakan kultur, tegangan geser yang rendah. Keuntungan lain dari penggunaan *wave bioreactor* ini adalah penggunaan kantong PET yang digunakan sekali pakai sehingga dapat mengurangi kebutuhan pembersihan dan sterilisasi berulang. Hal ini menjadi suatu hal yang menjadikan kompleksitas desain reaktor yang rendah dan penyiapan jalur produksi baru yang cepat. Saat ini, kantong sel untuk *wave bioreactor* tersedia hingga volume kerja 500 liter [20]. Sistem pembiakan menggunakan *wave bioreactor* oleh *supplier* GE Healthcare dengan volume kerja mencapai 500 liter membutuhkan waktu pencampuran sekitar 10–800 detik [21]. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan *wave bioreactor* dapat mengurangi waktu pada proses pembiakan sebelum diinokulasikan ke dalam *seeding tank*.

Tabel 1. Perbandingan Penggunaan Alat Konvensional (*Spinner Flask*) dan *Wave Bioreactor*.

Aspek	<i>Spinner Flask</i>	<i>Wave Bioreactor</i>	Referensi
Waktu	3 – 4 minggu	< 2 minggu	[3]
Volume Kerja	< 1 liter	100 liter	[9]
Biaya Operasional	Tinggi	Rendah	[9]
Tingkat Kompleksitas	Tinggi	Rendah	[9]
Gaya Gesek	Tinggi	Rendah	[9]

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Proses pembiakan kultur murni yoghurt dilakukan pada *wave bioreactor* untuk menghasilkan *mother culture* sebelum diinokulasikan ke dalam susu pada *seeding tank*. Proses ini terjadi pada tahap pembuatan yoghurt. Proses pembiakan kultur yoghurt menggunakan *wave bioreactor* dapat mempersingkat waktu pembiakan. Penggunaan *wave bioreactor* membutuhkan waktu kurang dari 2 minggu, sedangkan pembiakan menggunakan *spinner flask* membutuhkan waktu 3–4 minggu. Penggunaan *wave bioreactor* ini dapat mengurangi waktu pembiakan 1–2 minggu karena adanya pengurangan pada tahap pembiakan di *spinner flask*. Selain itu, waktu pembersihan dan sterilisasi dapat dikurangi karena penggunaan kantong sekali pakai. Pada skala industri, penggunaan *wave bioreactor* lebih disarankan karena kapasitasnya yang lebih besar dan waktu proses yang lebih singkat serta tegangan geser yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan *spinner flask*. Proses pembiakan secara intensifikasi dapat mempersingkat waktu karena terdapat proses pembiakan dari pencairan kultur murni bias diinokulasikan ke dalam *wave bioreactor* secara langsung tanpa melalui tahapan pembiakan pada *spinner flask*. Volume kerja yang dapat dioperasikan pada *wave bioreactor* lebih besar daripada penggunaan *spinner flask*. Biaya operasional yang dibutuhkan untuk mengoperasikan *wave bioreactor* tergolong rendah bila dibandingkan dengan *spinner flask*. Hal tersebut dikarenakan volume kerja dari *spinner flask* hanya sebesar kurang dari 1 liter sehingga membutuhkan alat yang lebih banyak. Tingkat kompleksitas dari penggunaan alat *spinner flask* lebih tinggi karena pembiakan berulang pada *spinner flask* yang lebih besar, sedangkan pembiakan pada *wave bioreactor* hanya dilakukan dengan 1 kali pembiakan secara langsung. Selain itu, gaya gesek yang dihasilkan dari penggunaan *spinner flask* lebih tinggi dibandingkan dengan gaya gesek pada *wave bioreactor* akibat pengadukan oleh *stirrer*.

Saran untuk penelitian mengenai proses intensifikasi dan penggunaan *wave bioreactor* pada proses pembiakan kultur dapat dikembangkan lebih lanjut seperti penerapan pada industri *frozen yoghurt* baik dari segi waktu yang diperlukan serta seberapa efektif penggunaan pada industri tersebut.

REFERENSI

- [1] P. Sfakianakis dan C. Tzia, "Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review," *Foods*, vol. 3, no. 1, hal. 176, 2014.
- [2] K. Skryplonek dkk., "Characteristics of Lactose-Free Frozen Yogurt with κ -carrageenan and Corn Starch as Stabilizers," *Journal of Dairy Science*, vol. 102, no. 9, hal. 7838–7848, 2019.
- [3] C. F. Bellani, J. Ajeian, L. Duffy, M. Miotto, L. Groenewegen, dan C. J. Connon, "Scale-

- Up Technologies for the Manufacture of Adherent Cells,”* *Frontiers in Nutrition*, vol. 7, no. 575146, hal. 1–14, 2020.
- [4] D. T. J. Marsh, “*Engineering Characterisation of a Rocked Bag Bioreactor for Improved Process Development and Scale-Up,*” M.S. thesis, Biochemical Engineering, University College London, London, 2017. [Daring]. Tersedia pada: <https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/1534658/>
- [5] O. F. Celik, A. H. Con, H. Saygin, N. Şahin, dan H. Temiz, “*Isolation and Identification of Lactobacilli from Traditional Yogurts as Potential Starter Cultures,*” *LWT*, vol. 148, no. 111774, hal. 1–8, 2021.
- [6] Y. Tao, J. Shih, M. Sinacore, T. Ryll, dan H. Yusuf-Makagiansar, “*Development and Implementation of a Perfusion-Based High Cell Density Cell Banking Process,*” *Biotechnology Progress*, vol. 27, no. 3, hal. 824–829, 2011.
- [7] R. Eibl, S. Kaiser, R. Lombriser, dan D. Eibl, “*Disposable Bioreactors: The Current State-of-the-Art and Recommended Applications in Biotechnology,*” *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 86, no. 1, hal. 41–49, 2010.
- [8] S. Werner, R. W. Maschke, D. Eibl, dan R. Eibl, “*Bioreactor Technology for Sustainable Production of Plant Cell-Derived Products*” in *Bioprocessing of Plant In Vitro Systems*, Switzerland: Ed. Springer, 2018. hal. 413–432.
- [9] V. Singh, “*Disposable Bioreactor for Cell Culture Using Wave-Induced Agitation,*” *Cytotechnology*, vol. 30, no. 1–3, hal. 149–158, 1999.
- [10] C. Zhan, E. Hagrot, L. Brandt, dan V. Chotteau, “*Study of Hydrodynamics in Wave Bioreactors by Computational Fluid Dynamics Reveals a Resonance Phenomenon,*” *Chemical Engineering Science*, vol. 193, no. 1, hal. 53–65, 2019.
- [11] J.-J. Zhong, “*Bioreactor Engineering*” in *Comprehensive Biotechnology*, vol. 2, Shanghai: Elsevier, 2011. hal. 165–177.
- [12] J. Yang dan L. Sui, “*Development and Application of Perfusion Culture Producing Seed Cells in Wave Bioreactor,*” *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao = Chinese Journal of Biotechnology*, vol. 28, no. 3, hal. 358–367, 2012. [Daring]. Tersedia pada: [https://www.semanticscholar.org/paper/\[Development-and-application-of-perfusion-culture-Yang-Sui/e0bb6492919e777cd464527ae0f3c2eb5b4f0366](https://www.semanticscholar.org/paper/[Development-and-application-of-perfusion-culture-Yang-Sui/e0bb6492919e777cd464527ae0f3c2eb5b4f0366)
- [13] L. S. Carvalho, O. B. da Silva, G. C. da Almeida, J. D. de Oliveira, N. S. Parachin, dan T. S. Carmo, “*Production Processes for Monoclonal Antibodies,*” in *Fermentation Processes*, 2017, hal. 181–198.
- [14] GE Healthcare. (2011, Mar). *Wave Bioreactor 2/10 and 20/50 Systems*. [Daring]. Tersedia pada : <https://acmervival.com/wp-content/uploads/2021/03/GEWaveBioreactorSystem210EHBrochure.pdf>
- [15] Cytiva. (2021, Apr 8). *Perfusion N-1 in Fed-Batch Process Development*. [Daring]. Tersedia pada : <https://www.cytivalifesciences.com/en/us/solutions/bioprocessing/knowledge-center/perfusion-n-1-in-fed-batch-process-development> .
- [16] A. M. Sholikhah, D. R. Firmandani, S. D. Hasanah, dan S. Khairina. *Pembuatan Frozen Yoghurt dari Susu Sapi Segar dengan Penambahan Ekstrak Kelapa (Santan) dan Activated Carbon Powder Kapasitas Produksi 13.500 Ton/Tahun*. Malang, Indonesia: Politeknik Negeri Malang. 2021.
- [17] C. Kloth, G. Maclsaac, H. Ghebremariam, dan A. Arunakumari, “*Inoculum Expansion Methods, Recombinant Mammalian Cell Lines*” in *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [18] J. M. Woodgate, “*Perfusion N-1 Culture—Opportunities for Process Intensification,*” in

- Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes*, Ed. Elsevier, Marlborough, 2018, hal. 755–768.
- [19] J. J. Zhong, “Recent Advances in Bioreactor Engineering,” *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 27, no. 4, hal. 1035–1041, 2010.
- [20] A. Kalmbach, R. Bordás, A. A. Oncül, D. Thévenin, Y. Genzel, dan U. Reichl, “Experimental Characterization of Flow Conditions in 2- and 20-L Bioreactors with Wave-Induced Motion.,” *Biotechnology progress*, vol. 27, no. 2, hal. 402–9, 2011.
- [21] S. Junne, T. Solymosi, N. Oosterhuis, dan P. Neubauer, “Cultivation of Cells and Microorganisms in Wave-Mixed Disposable Bag Bioreactors at Different Scales,” *Chemie-Ingenieur-Technik*, vol. 85, no. 1–2, hal. 57–66, 2013.