

Periadnadi, Diah Kharisma Sari, Nurmiati. (2017). Isolasi dan Keberadaan Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren (*Arenga Pinnata* Merr.) dari Dataran Rendah dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat. Vol. 4 (1) Pp. 29-36. Doi: <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i1.3282>

Isolasi dan Keberadaan Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren (*Arenga Pinnata* Merr.) dari Dataran Rendah dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat

Periadnadi*, Diah Kharisma Sari, Nurmiati

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas

Jl. Bambu no. 6 Ujung Gurun, Padang

*Email: periadnadi@fmipa.unand.ac.id

Abstract

The purpose of this research were to isolate and character potential fermenting yeasts of fresh sugar palm sap from the lowlands and highlands of West Sumatra. The research used an experimental method which results are presented descriptively. The parameters observed total microbes, total yeasts, yeast isolates potency test through fermentation test, morphological character of potential fermenting yeast isolates *in vitro*, as well as biochemical analysis of sugar palm sap. The results showed that the presence of natural microbial sugar palm sap is highest in samples PAM₁ (168×10^4 cfu/ml), total yeast highest in the sample HLB (85×10^4 cfu/ml), while the percentage of yeast highest in the sample HLB (69.1%). Test isolates potential through fermentation tests showed that 5 isolates were positive fermented alcohol. Based on morphological character of yeast isolates from of several location *in vitro* obtained 3 *Hanseniaspora* genus, 1 isolates of the genus *Schizosaccharomyces* and 1 isolate of the genus *Saccharomyces*.

Keywords: Sugar Palm Sap, Alcoholic Fermentation, Potential Fermenting Yeast.

Abstrak

Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakter khamir potensial pemfermentasi nira aren segar dari dataran rendah dan dataran tinggi di Sumatera Barat. Penelitian menggunakan metode eksperimen yang hasilnya disajikan secara deskriptif. Parameter yang diamati meliputi total mikroba, total khamir, uji potensi isolat khamir melalui uji fermentasi, karakter morfologi isolat khamir potensial pemfermentasi secara *in vitro*, serta analisis biokimiawi nira aren. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan mikroba alami nira aren tertinggi terdapat pada sampel PAM₁ (168×10^4 cfu/ml), total khamir tertinggi terdapat pada sampel HLB (85×10^4 cfu/ml), sedangkan presentase khamir tertinggi terdapat pada sampel HLB (69,1%). Uji potensi isolat melalui uji fermentasi diperoleh 5 isolat yang positif memfermentasi alkohol. Berdasarkan karakter morfologi isolat-isolat khamir dari beberapa lokasi sampel secara *in vitro* didapatkan 3 isolat genus *Hanseniaspora*, 1 isolat genus *Schizosaccharomyces*, dan 1 isolat genus *Saccharomyces*.

Kata Kunci: Nira Aren, Fermentasi alkohol, Khamir potensial pemfermentasi.

Pendahuluan

Tanaman aren merupakan salah satu yang menjadi penyumbang bagi penyediaan bioetanol dalam rangka pengembangan bioetanol saat ini (Bambang, 2007). Menurut Effendi (2009) dan Ditjen Perkebunan (2004) Aren (*Arenga pinnata* Merr.) merupakan tanaman palma daerah tropis basah yang dapat beradaptasi baik pada berbagai agroklimat serta memiliki banyak kegunaan salah satunya dikembangkan sebagai tanaman penghasil bioetanol. Sunanto (1993) melaporkan di Indonesia tanaman aren banyak terdapat dan tersebar hampir

di seluruh wilayah Nusantara, khususnya di daerah-daerah perbukitan yang lembab sementara Heyne (1950) menyatakan bahwa tanaman aren sering tumbuh mulai dari permukaan laut sampai ketinggian 1.300 mdpl.

Fermentasi alkohol pada nira aren terjadi secara spontan akibat adanya mikroba yang berasal dari nira itu sendiri yang merupakan mikroorganisme indigenous. Secara umum khamir merupakan produsen utama penghasil alkohol salah satunya adalah genus *Saccharomyces*. Sel khamir lebih banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial dibandingkan dengan bakteri. Hal

ini disebabkan karena khamir dapat memproduksi alkohol dalam jumlah besar (Gunasekaran and Raj, 1999). Khamir memiliki beberapa enzim penting seperti fosfatase, lipase, zimase dan proteinase yang menyebabkan khamir memegang peran penting dalam dekomposisi senyawa organik dan dapat digunakan untuk keperluan industri (Spencer and Spencer, 1997). Besarnya peranan dan efisiensi khamir dalam industri fermentasi terutama fermentasi alkohol. Khamir menjadi pelaku-pelaku penting dalam industri bioetanol yang menggunakan substrat bergula. Sementara khamir-khamir yang aktif memproduksi alkohol dapat diisolasi dari substrat alami yang mengandung gula termasuk nira aren.

Penelitian yang berkaitan tentang khamir yang memfermentasi nira aren antara lain *Saccharomyces cerevisiae* oleh Periadnadi (1985), *S. cerevisiae* dan *S. ellipsoideus* oleh Barlina dkk., (2006), *Candida tropicalis* dan *Candida crusei* oleh Mulyawanti dkk.,(2011). Mikroorganisme yang dominan dalam fermentasi nira adalah *S. cerevisiae*, disamping jenis khamir yang lain seperti *Schizosaccharomyces* sp. dan *Candida* sp. (Rumokoi, 1990). Namun penelitian mengenai khamir potensial pemfermentasi nira aren belum dilakukan sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan keberadaan khamir potensial pemfermentasi nira aren (*Arenga pinnata* Merr.). Nira aren yang digunakan diperoleh dari daerah topografi yang berbeda diantaranya dataran rendah (2 lokasi) dan dataran tinggi (2 lokasi) di

Sumatera Barat. Menurut Widyatmanti dan Natalia (2008) karakteristik dataran rendah yaitu ketinggian wilayah <200 mdpl, suhu 24-32°C dan iklim yang cenderung panas serta memiliki PO₂ lebih tinggi dibanding dataran tinggi. Dataran tinggi yang merupakan dataran yang terletak pada ketinggian >200 mdpl, suhu 23-28°C, dan iklim yang lembab.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengamati, mengisolasi serta mengkarakter khamir potensial pemfermentasi nira aren segar dari dataran rendah dan dataran tinggi di Sumatera Barat.

Metode Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei-November 2016 di Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA-Universitas Andalas, Padang, menggunakan metode eksperimen yang hasilnya disajikan secara deskriptif. Parameter yang diamati meliputi total mikroba, total khamir, uji potensi isolat-isolat khamir melalui uji fermentasi, karakter morfologi (makroskopis dan mikroskopis) isolat khamir potensial secara *in vitro*, serta analisis biokimiawi berupa kadar gula dan nilai pH.

Sampel nira Aren diambil dalam kondisi segar (<6 jam setelah penyadapan). Nira aren langsung diangkut ke laboratorium dan dimasukkan ke dalam alat pendingin untuk mencegah proses fermentasi. Lokasi pengambilan sampel dapat terlihat pada Tabel 1. sebagai berikut :

Tabel 1. Lokasi Pengambilan Sampel Nira Aren di Sumatera Barat

No.	Isolat	Lokasi	Keterangan
1.	HLB	Desa Halaban, Kec. Lareh Sago halaban, Kab. Limapuluh Kota (0°20'16.8"S 100°44'39.4"E) (721 mdpl)	Dataran Tinggi
2.	PP	Desa Batu Bulek, Kec. Tanjung Bonai, Puncak Pato, Kab. Tanah Datar (0°23'18.9"S 100°41'35.9"E) (814 mdpl)	
3.	PAM ₁	Jalan Koto Kaciak, Pantai Air Manis, Padang Selatan, Kota Padang (0°58'44.3"S 100°21'48.3"E) (138 mdpl)	Dataran
4.	PAM ₂	Jalan Koto Kaciak, Kota Padang, Sumatera Barat (0°58'43.0"S 100°22'11.6"E) (108 mdpl)	Rendah

Media isolasi terdiri dari medium *GPA*, *YEA* dan *PDA*. Medium *Glucose Peptone Agar (GPA)* berkomporsi *glucose*, *peptone*, dan agar. Medium ini digunakan untuk penghitungan total mikroba (bakteri dan khamir) dalam sampel nira aren.

Medium *Yeast Extract Agar (YEA)* berkomporsi *yeast extract*, *glucose* dan agar. Medium ini digunakan untuk melihat keberadaan khamir dalam sampel nira aren.

Sedangkan Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) berkomposisi sari dari 200 g kentang, dekstrosa dan agar dengan aquadest dan pH 5,6. Medium ini digunakan untuk pemurnian dan pemeliharaan khamir.

Uji potensi isolat-isolat khamir dilakukan menggunakan uji fermentasi metode tabung Durham, CO₂ yang dihasilkan ditandai dengan naiknya tabung Durham ke permukaan selama 2 minggu pengamatan (Smith and Yarrow in R. A. Samson and E. S. Van Reenen-Hoekstra, 1988). Selanjutnya dibuat starter masing-masing isolat untuk mendapatkan perbanyakkan sel khamir. 1 ml masing-masing starter ditambahkan 20 ml glukosa (10%) pada *Test tube* berisi tabung Durham steril.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif. Karakter morfologi isolat-isolat khamir dianalisa menggunakan literatur dari "Yeasts" oleh M. Th. SMITH and D. YARROW (*Centraalbureau voor Schimmelcultures, Yeast-Division Julianalaan 67, 2628 BC Delft, The Netherlands*) in *Introduction to Food-Borne Fungi* oleh R. A. Samson and E. S. Van Reenen-Hoekstra (1988).

Hasil dan Pembahasan

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai isolasi dan keberadaan khamir potensial pemfermentasi nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.) dari dataran rendah dan dataran tinggi di Sumatera Barat, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Keberadaan dan Proposional Mikroba Alami Nira Aren Segar

Tabel 2. Rata-rata Total Mikroba dan Presentase Khamir Nira Aren Segar Beberapa Sampel

No.	Sampel	Parameter		Presentase Khamir
		Total Mikroba ($\times 10^4$ cfu/ml)	Total Khamir ($\times 10^4$ cfu/ml)	
1.	HLB	123	85	69,1%
2.	PP	120	81	67,5%
3.	PAM ₁	168	78	46,4%
4.	PAM ₂	153	72	47,1%

Berdasarkan Tabel 2. terlihat bahwa total mikroba pada sampel PAM₁ dan sampel PAM₂ yang diperoleh dari dataran rendah memiliki total mikroba terbanyak yaitu (168×10^4 cfu/ml) dan (153×10^4 cfu/ml) dibandingkan dengan sampel dataran tinggi yaitu 123×10^4 cfu/ml) dan (120×10^4 cfu/ml). Hal ini terjadi karena pada dataran rendah intensitas cahaya lebih tinggi sehingga proses fotosintesis lebih lama terjadi akibatnya kadar gula menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan dataran tinggi. Cahaya matahari menjadi lebih banyak dan lebih lama padadataran tinggi dibandingkan dengan dataran rendah. Selain itu pada dataran rendah penguapan lebih besar terjadi sehingga kadar gula pada nira cenderung menjadi lebih tinggi. Menurut Azizah *dkk.*, (2012) semakin tinggi kadar gula dalam suatu nira menandakan semakin besar nutrisi yang akan digunakan untuk pertumbuhan mikroba. Mikroba tersebut memanfaatkan

sukrosa dan komponen lain untuk hidupnya serta mengalami perkembangbiakan sehingga jumlah dan jenis mikroba akan meningkat dan menyebabkan perubahan fisiokimia nira (Jaya *dkk.*, 2015). Pada Tabel 2. terlihat bahwa presentase keberadaan khamir pada masing-masing sampel nira menunjukkan, bahwa sampel HLB memiliki presentase pertumbuhan khamir yang cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan sampel lainnya yaitu 69,1%. Menurut Fardiaz (1989) khamir yang bersifat fermentatif 70% dari glukosa di dalam substrat akan diubah menjadi karbondioksida dan alkohol, sedangkan sisanya 30% tanpa adanya nitrogen akan diubah menjadi produk simpanan sebagai cadangan yang akan digunakan kembali melalui fermentasi jika glukosa di dalam medium sudah habis. Khamir yang bersifat oksidatif kuat tidak dapat melakukan fermentasi alkohol.

Khamir ini bersifat aerobik karena memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya. Setelah dilakukan analisis biokimiawi terhadap beberapa sampel nira aren segar, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 3. Rata-rata Kadar Gula dan pH Sampel Nira Aren Segar dari Beberapa Lokasi

No.	Kode Sampel	Parameter	
		Kadar gula (% Brix)	pH
1.	HLB	10,5	5,64
2.	PP	9,8	6,90
3.	PAM ₁	10,8	5,95
4.	PAM ₂	11,3	5,59

Berdasarkan Tabel 3. terlihat bahwa kadar gula pada beberapa sampel nira aren segar berkisar antara 9-12 % Brix. Menurut Pontoh (2007), nira segar mengandung 13,9-14,9% sukrosa, 0,04% abu, 0,2% protein, dan 0,02% kadar lemak. Nira aren memiliki kandungan gula sekitar 10-15% yang sangat mudah terfermentasi menjadi alkohol. Proses fermentasi terjadi mulai dari penyadapan, penampungan nira di bumbung, sampai saat sebelum diproses (Herman dan Yunus, 1987). Keasaman (pH) pada beberapa sampel nira aren segar yang didapatkan berkisar antara 5,5-7. Nira aren segar mempunyai rasamanis, berbau harum, tidak berwarna dan memiliki pH sekitar 5,5-6 (Pontoh, 2013). Winarno (1993) menambahkan, bahwa nira aren sangat mudah mengalami kerusakan, mempunyai sifat mudah menjadi asam karena adanya proses fermentasi oleh mikroba dan nilai pH nira aren yang baru menetes dari tandan

bunga berkisar 7,0.

1. Uji Potensi Isolat-isolat Khamir Dengan Uji Fermentasi

Setelah dilakukan uji fermentasi tabung Durham terhadap delapan isolat khamir, lima isolat diantaranya dapat menghasilkan gas CO₂ yang ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung sehingga tabung Durham naik ke permukaan. Menurut Judoamidjojo (1992) proses fermentasi yang menghasilkan etanol melibatkan mikroorganisme, khususnya khamir. Khamir tersebut merombak bahan mentah dari beberapa komponen pada medium tempat tumbuhnya yang dianggap sebagai substrat, serta mengubah bahan mentah tersebut menjadi bahan baru. Uji potensi isolat-isolat khamir dengan uji fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4. sebagai berikut :

Tabel 4. Uji Potensi Isolat-isolat Khamir dengan Uji Fermentasi

No	Isolat	Uji Fermentasi
1	KN ₁	+ ¹⁾
2	KN ₂	+
3	KN ₃	+
4	KN ₄	- ²⁾
5	KN ₅	-
6	KN ₆	+
7	KN ₇	+
8	KN ₈	-

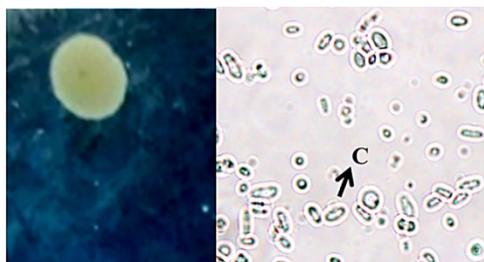
Keterangan : menghasilkan gas CO₂
tidak menghasilkan gas CO₂

Pada Tabel 4. terlihat bahwa melalui uji fermentasi isolat-isolat khamir nira aren segar, tidak semua isolat-isolat khamir mampu menghasilkan gas CO₂. Terbentuknya gas CO₂ pada tabung

Durham disebabkan karena isolat khamir memiliki enzim–enzim yang berperan dalam proses fermentasi alkohol. Menurut Poedjadi dan Titin (2006), khamir akan menghasilkan enzim–enzim seperti invertase, zimase, karboksilase, heksokinase, dehidrogenase, sedangkan bakteri hanya menghasilkan enzim alkohol dehidrogenase. Enzim zimase berfungsi sebagai biokatalis yang dapat mengubah glukosa dan fruktosa menjadi alkohol dan CO₂, sedangkan enzim invertase berfungsi mengubah sukrosa menjadi gula invert (glukosa dan fruktosa). Substrat yang mengandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa secara cepat akan digunakan oleh *yeast* pada tahap awal fermentasi. Sukrosa dihidrolisa oleh enzim invertase yang berada di luar membran sel dan dibatasi dinding sel. Sedangkan glukosa dan fruktosa yang ada akan masuk ke dalam sel (Umbreit, 1959).

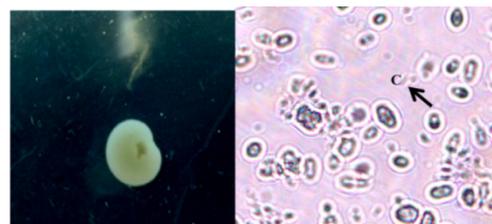
2. Karakter Morfologi Isolat Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren

Setelah dilakukan uji fermentasi, maka didapat lima isolat khamir yang berpotensi dalam fermentasi alkohol. Berdasarkan karakter morfologi isolat–isolat khamir yang telah dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut :



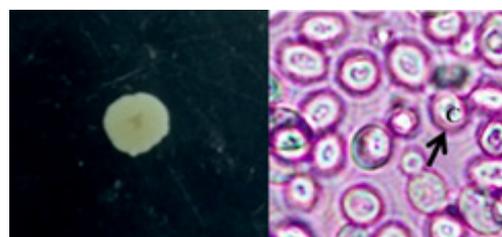
Gambar 3. (a.) Koloni isolat khamir KN₁, (b.) Sel khamir KN₁ dengan perbesaran 10x40 dan (c.) Reproduksi vegetatif

Berdasarkan Gambar 3. terlihat bahwa isolat khamir KN₁ secara morfologi; bentuk koloni : *circular*, tepian koloni : *entire*, elevasi koloni : *umbonate* dan warna koloni : putih. Sedangkan secara mikroskopis; bentuk sel : bulat–lonjong, tipe reproduksi vegetatif : *bipolar budding*. Isolat diduga berasal dari genus *Hanseniaspora*.



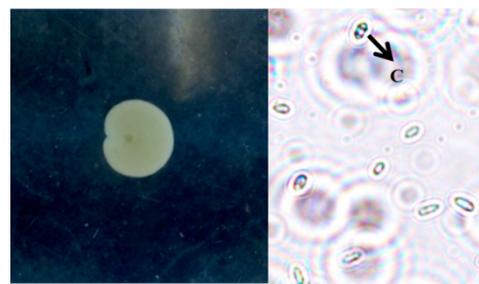
Gambar 4. (a.) Koloni isolat khamir KN₂, (b.) Sel khamir KN₂ dengan perbesaran 10x40 dan (c.) Reproduksi vegetatif

Berdasarkan Gambar 4. terlihat bahwa isolat khamir KN₂ secara morfologi; bentuk koloni : *irregular*, tepian koloni : *entire*, elevasi koloni : *umbonate* dan warna koloni : putih. Sedangkan secara mikroskopis; bentuk sel : lonjong, tipe reproduksi vegetatif : *fission*. Isolat diduga berasal dari genus *Schizosaccharomyces*.



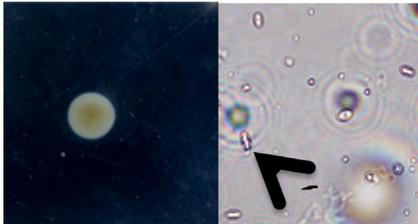
Gambar 5. (a.) Koloni isolat khamir KN₃, (b.) Sel khamir KN₃ dengan perbesaran 10x40 dan (c.) Reproduksi vegetatif

Berdasarkan Gambar 5. terlihat bahwa isolat khamir KN₃ secara morfologi; bentuk koloni : *irregular*, tepian koloni : *lobate*, elevasi koloni : *umbonate* dan warna koloni : putih. Sedangkan secara mikroskopis; bentuk sel : bulat telur, tipe reproduksi vegetatif secara *clusters of cells*. Isolat diduga berasal dari genus *Saccharomyces*.



Gambar 6. (a.) Koloni isolat khamir KN₆, (b.) Sel khamir KN₆ dengan perbesaran 10x40 dan (c.) Reproduksi vegetatif

Berdasarkan Gambar 6. dapat dilihat bahwa isolat khamir KN₆ secara morfologi; bentuk koloni : *irregular*, tepian koloni : *entire*, elevasi koloni : *umbonate* dan warna koloni : putih. Sedangkan secara mikroskopis; bentuk sel : bulat telur, tipe reproduksi vegetatif : *bipolar budding*. Isolat diduga berasal dari genus *Hanseniaspora*.



Gambar7. (a.) Koloni isolat khamir KN₇, (b.) Sel khamir KN₇ dengan perbesaran 10x40 dan (c.) Reproduksi vegetatif

Berdasarkan Gambar 7. terlihat bahwa isolat khamir KN₇ secara morfologi; bentuk koloni : *circular*, tepian koloni : *entire*, elevasi koloni : *umbonate* dan warna koloni : putih. Sedangkan secara mikroskopis; bentuk sel : bulat telur, tipe reproduksi vegetatif : *bipolar budding*. Isolat diduga berasal dari genus *Hanseniaspora*. Khamir genus *Hanseniaspora* umumnya terdapat pada buah, eksudat tanaman, dan tanah. Berdasarkan survei di Thailand, 16 strain khamir diisolasi dari bunga *Sonneratia caseolaris*, lumut, dan jamur serta berkembangbiak dengan *bipolar budding* (Jindamorakot *et al.*, 2009).

Isolat-isolat khamir potensif secara mikroskopis berbentuk bulat sampai lonjong dan adanya tunas sebagai bentuk perkembangbiakannya. Menurut Buckle *et al.*, (1987) khamir dapat tumbuh dalam media cair dan padat dengan cara yang sama seperti bakteri. Pembelahan sel terjadi secara aseksual dengan pembentukan tunas yakni suatu proses yang merupakan sifat khas dari khamir. Waluyo (2007) menambahkan bahwa sel vegetatif khamir yang berbentuk apikulat (lemon) ini merupakan karakteristik kelompok khamir yang ditemukan pada tahap awal fermentasi alami buah-buahan yang bahan lain yang mengandung gula. Bentuk sel khamir bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder

atau batang, segitiga melengkung, berbentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, membentuk *pseudomiselium* dan sebagainya (Fardiaz, 1992).

Diantara isolat-isolat khamir yang diamati, beberapa diantaranya memiliki kapsul pada bagian selnya. Menurut Fardiaz (1992) beberapa khamir ditutupi oleh komponen ekstraseluler yang berlendir dan disebut kapsul. Kapsul tersebut menutupi bagian luar dinding sel dan terutama terdiri dari polisakarida termasuk glukofosfomanan, suatu polimer menyerupai pati, dan heteropolisakarida yaitu polimer yang mengandung lebih dari satu macam unit gula seperti pentosa, heksosa, dan asam glukuronat.

Simpulan, Saran, dan Rekomendasi

Dari hasil penelitian ini, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Di dalam 4 sampel nira aren segar ditemukan sejumlah mikroba dan khamir. Keberadaan mikroba alami nira aren segar tertinggi terdapat pada sampel PAM₁ (168 x 10⁴ cfu/ml), sedangkan total khamir tertinggi terdapat pada sampel HLB (85 x 10⁴cfu/ml). Presentase khamir nira aren tertinggi pada sampel HLB (69,1%).
2. Uji potensi fermentasi terhadap 8 isolat khamir nira aren, 5 isolat positif memfermentasi alkohol diantaranya KN₁, KN₂, KN₃, KN₆, dan KN₇.
3. Karakter morfologi isolat-isolat khamir potensial pemfermentasi nira aren secara *in vitro* antara lain bentuk koloni : *circular-irregular*, bentuk sel : bulat-lonjong, tepian koloni : *entire*, tipe reproduksi vegetatif : *bipolar budding, fission, clusters of cells*.

Dari hasil penelitian ini, disarankan agar pada penelitian selanjutnya dilakukan tes urea, pengukuran terhadap kemampuan kadar alkohol, pengujian pertumbuhan dalam media 0,1% *Cycloheximide*, disamping pengujian kemampuan fermentasi menggunakan berbagai jenis gula.

Daftar Pustaka

- Azizah, N, A. N. Al-Baarri, dan S.Mulyani. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1, 2.
- Barlina, R., Steivie K. dan Patrik P. (2006). Pengaruh Sabut Kelapa Terhadap Kualitas Nira Aren dan Palm Wine. *Jurnal Littri*. 12, 4: 166 – 171. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Manado.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet and M. Wotton. (1987). *Ilmu Pangan*. Penerjemah H Purnomo dan Adiono. UI – Press :Jakarta.
- Ditjen Perkebunan. (2004). Pengembangan Tanaman Aren di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Aren. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan palma Lain: 138-143.
- Effendi, D.S. (2009). Aren, Sumber Energi Alternatif. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 31,2:1-3.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan PAU Pangan dan Gizi*. Institut Pertanian Bogor :Bogor.
- Gunasekaran, P. and K. C. Raj. (1999). *Fermentation Technology-Zymomonas mobilis*. Departement of Microbial Technology, School of Biological Science. Mandurai Kamaraj University : India.
- Herman, A. Suryati dan M.Yunus. (1987). Kandungan Mineral Nira dan Gula Semut Asal Aren. *J. Of Agro-based Industry*. 4, 2 : 48-51.
- Heyne, K.(1950). *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I*. Terjemahan oleh Badan Litbang Kehutanan : Jakarta.
- Jaya, Riko S., G. Sentosa, dan Ridwansyah. (2015). Pengaruh Suhu Pemanasan dan Lama Penyimpanan Terhadap Perubahan Kualitas Nira Aren (*Arenga pinnata*). *J.Rekayasa Pangan dan Pert*. 4,1.
- Jindamorakot, S., S. Ninomiya, S. Limtong, and W. Yongmanitchai. (2009). Three newspecies of bipolar budding yeasts of the genus *Hanseniaspora* and its anamorph *Kloeckera* isolated in Thailand. *FEMS Yeast Research*.9 : 1327-1337.
- Mulyawanti, Ira, N. Setyawan, A. N. A. Syah, dan Risfaheri. (2011). Evaluasi Mutu Kimia, Fisika dan Mikrobiologi Nira Aren (*Arenga pinnata*) Selama Penyimpanan. *Agritech*.31.
- Periadnadi. (1985). Penggunaan *S. cerevisiae* Hansen. dalam Memfermentasi Nira Aren. Tesis Sarjana Biologi. FMIPA UNAND. Padang.
- Poedjiadi, Anna dan S. Titin. (2006). *Dasar-dasar Biokimia*. UI Press :Jakarta.
- Pontoh, J. (2007). Analisa Komponen Kimia Dalam Gula dan Nira Aren. Laporanpada Yayasan Masarang. Sulawesi Utara.
- Pontoh, J. (2013). Penentuan Kandungan Sukrosa pada Gula Aren Dengan Metode Enzimatik. *J. Chem. Prog*. 6: 26-33.
- Samson, A.R. and E.S Van Reenen-Hoekstra. (1988). *Introduction of Food Borne Fungi*. Centralbureau Voor Schimmekultures Baarn: Delft.
- Spencer, J. F. T. and D. M. Spencer. (1997). *Yeasts in Natural and Artificial Habitats*. Springer-Verlag :Berlin.
- Umbreit, W.W.(1959). *Advances In Applied Microbiology*, 1. Rutgers University. NewJersey.
- Waluyo, L. (2007). *Mikrobiologi Umum*. Balai Pustaka : Jakarta.



Widyatmanti, Wirastuti dan Dini Natalia. (2008). *Geografi: Atmosfer dan Kondisi Geografis*. Grasindo :Jakarta.

Winarno, F.G. (1993). *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. PT. Gramedia Pustaka Utama : Jakarta.