

SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TEKNIK FST UNDANA (SAINSTEK-IV)

Hotel Swiss-Belinn Kristal Kupang, Kupang - 25 Oktober 2019

KAJIAN TENTANG LAMA FERMENTASI NIRA LONTAR (*Borassus flabeliffer* L.) TERHADAP KELIMPAHAN DAN KARAKTERISASI MORFOLOGI MIKROBA

Hilda Purninarike Mantut¹, Rony S. Mauboy² dan Theresia L. Boro³

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana Kupang

Jl. Adisucipto, Penfui.

Email: kekemantut@gmail.com

ABSTRAK

Lontar (*Borassus flabeliffer* L.) merupakan tanaman serbaguna. Hasil utama lontar yakni nira yang disadap dari bunganya. Nira sangat digemari oleh masyarakat karena dapat dikonsumsi secara langsung dan diolah untuk kebutuhan pangan lainnya. Nira lontar mengandung nutrisi yang cukup lengkap, yang menarik dari nira tersebut adalah dapat mengalami fermentasi karena mengandung gula yang cukup tinggi. Fermentasi tersebut disebabkan oleh kehadiran mikroba tertentu dan fermentasi ini berlangsung dalam beberapa jam. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji lama fermentasi nira lontar (*Borassus flabeliffer* L.) terhadap kelimpahan dan karakterisasi morfologi mikroba. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan variabel bebas yakni waktu fermentasi (0 jam, 5 jam, 10 jam, dan 15 jam) serta variabel terikat yakni jumlah koloni mikroba dan karakterisasi mikroba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelimpahan khamir lebih banyak pada waktu fermentasi 0-5 jam dengan jumlah $93,3 \times 10^8 - 23,3 \times 10^8$ CFU, sedangkan jumlah bakteri lebih dominan dari khamir pada waktu fermentasi 10 jam yakni dengan jumlah 61×10^8 CFU, dan setelah 15 jam khamir dan bakteri semakin berkurang karena mengalami suksesi dengan jumlah khamir $5,6 \times 10^8$ dan jumlah bakteri $9,6 \times 10^8$. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi (koloni dan sel) mikroba pada nira lontar terfermentasi spontan didapatkan ciri yang menyerupai beberapa genus bakteri yakni *Acetobacter sp.*, dan *Lactobacillus sp.*, dan beberapa genus khamir yakni *Saccharomyces sp.*, *Hansenula sp.*, dan *Candida sp.*

Kata kunci: nira lontar, fermentasi, kelimpahan mikroba

Author : Hilda Purninarike Mantut, Rony S. Mauboy dan Theresia L. Boro

1. PENDAHULUAN

Lontar merupakan salah satu jenis palma penghasil nira yang potensial di Indonesia. Di Indonesia lontar dikenal juga dengan nama siwalan. Menurut Fox (1977) jenis yang ada yakni *Borassus sondaicus*. Menurut Sasongko (2008) ada tujuh lontar yang dikenal dunia namun hanya *Borassus flabelifer* dan *Borassus sondaicus* yang tersebar di Indonesia. Jenis ini tumbuh di daerah-daerah beriklim kering seperti Madura, Sulawesi selatan, Maluku, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa Tenggara Timur. Di NTT lontar tersebar di pulau Timor, Sumba, Sabu, Rote, Flores dan pulau-pulau lainnya. Pellokila dan Woha (1989) menyatakan bahwa populasi lontar terbesar dapat dijumpai di Kabupaten Kupang. Hampir seluruh bagian tanaman lontar memberikan berbagai manfaat kepada manusia sehingga lontar juga disebut "tanaman serbaguna".

Hasil utama lontar yaitu nira yang disadap dari bunganya, bunga jantan dan bunga betina tetapi yang umum adalah bunga jantan, nira dapat langsung diminum atau diolah menjadi gula. Buah muda dapat dikonsumsi, sedangkan yang tua untuk pakan. Produk lainnya dari lontar yakni Batangnya yang kuat dan keras dapat digunakan sebagai bahan bangunan, daun dan tangkai daun sebagai bahan kerajinan atau keperluan rumah tangga. Nira yang baru disadap berasa manis, berbau khas nira dan tidak bewarna. Nira lontar mengandung beberapa zat gizi antara lain protein, lemak, karbohidrat, dan mineral. Rasa manis pada nira disebabkan kandungan karbohidratnya yang mencapai 10,96%.

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas nira yakni lama penyimpanan nira setelah disadap dan fermentasi. Menurut kebiasaan masyarakat penyadap nira, penggunaan nira yang baik yaitu beberapa saat setelah disadap dan tidak boleh dibiarkan bermalam, karena akan mengubah cita rasa dari nira itu sendiri. Berubahnya cita rasa ini disebabkan oleh

keberadaan mikroba yang mengubah gula menjadi asam. Perubahan ini juga diikuti dengan jumlah kelimpahan ragi pada nira yang digunakan, karena ragi akan mengalami suksepsi jika substratnya mengandung asam.

Proses fermentasi pada nira dapat berlangsung dalam beberapa jam. Mikroba yang berkembang selanjutnya adalah mikroba yang membentuk asam asetat. Nira sangat mudah terkontaminasi karena mengandung nutrisi yang lengkap seperti gula, protein, lemak dan mineral yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroba.

Hasil fermentasi dari nira disebut tuak. Fermentasi ini disebabkan oleh aktivitas enzim invertasi yang dihasilkan oleh mikroba yang mengkontaminasi nira. Fermentasi nira menjadi tuak umumnya dilakukan selama sehari, dibantu ragi/khamir (*Saccharomyces*) dan bakteri misalnya *Lactobacillus*. *Saccharomyces* dapat menghasilkan etanol dan *Lactobacillus* menghasilkan asam selama fermentasi berlangsung. Mahulette (2009) jumlah sel ragi pada tuak adalah 10^7 - 10^8 sel/mL sampel, sedangkan bakteri akan mengalami suksepsi karena konsentrasi etanol meningkat. Pertumbuhan khamir optimal pada pH 4,0-4,5 dan khamir tumbuh dengan baik pada suasana aerob namun untuk khamir fermentatif dapat tumbuh pada suasana anaerob. Menurut Said (1987) kadar gula yang optimal untuk pertumbuhan khamir adalah 10%, tapi kadar gula yang optimal untuk pemulaan fermentasi 16%.

Nira yang belum terfermentasi pada dasarnya mengandung sejumlah mikroba baik berupa bakteri maupun khamir. Kerusakan Nira ditandai oleh penurunan pH yang disebabkan adanya perombakan gula menjadi asam organik oleh mikroba seperti bakteri *Actobacter* sp serta khamir *Saccharomyces* sp (Fossi dkk, 2014). Kandungan gula yang cukup tinggi dan berbagai mikronutrien merupakan media tempat tumbuhnya mikroba.

Mussa (2014) telah melakukan penelitian mengenai kajian tentang lama fermentasi nira aren terhadap kelimpahan mikroba dan disimpulkan bahwa jumlah ragi lebih banyak terdapat pada awal fermentasi 0 - 5 jam yang berjumlah $27,1 \times 10^6$ – $48,8 \times 10^6$, sedangkan jumlah bakteri lebih dominan pada waktu fermentasi 10 jam yaitu $21,0 \times 10^6$ CFU/ml. Jenis mikroba yang tumbuh selama proses fermentasi nira mengalami perubahan khususnya untuk golongan bakteri.

Kandungan nira aren dan nira lontar (*Borassus flabellifer* L.) tidak jauh berbeda namun sejauh ini belum ada penelitian yang mengkaji tentang lama fermentasi nira lontar terhadap kelimpahan dan karakterisasi morfologi mikroba pada nira lontar. Berdasarkan latar belakang diatas maka telah dilakukan penelitian mengenai kajian pengaruh lama fermentasi nira lontar (*Borassus flabellifer* L.) terhadap kelimpahan dan karakterisasi morfologi mikroba.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei hingga Juni Tahun 2019 bertempat di Laboratorium Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP), Universitas Kristen Artha Wacana Kupang, dengan subjek penelitian yakni nira lontar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Variabel yang digunakan adalah variabel bebas yaitu lama waktu fermentasi (0 jam, 5 jam, 10 jam dan 15 jam) dan variabel terikat yaitu jumlah koloni mikroba (Mussa, 2014), dan karakterisasi mikroba.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, masker, penutup kepala, sarung tangan, karet gelang, Kertas label, Kapas, tissue, Alat tulis-menulis, Kamera, Beker Gelas, Gelas Ukur, Pipet dan Mikro pipet, Cawan Petri, Tabung Reaksi, Rak Tabung Reaksi, Erlenmeyer, Botol Sampel, sendok steril, *cool box*, Jarum/kawat ose, Lup, Bunsen, Hot Plate stirer, *Colony* counter, Timbangan Analitik, Inkubator, Autoklaf, Oven, freezer.

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah media pertumbuhan bagi mikroba pada umumnya yakni NB, NA dan PDA. Bahan-bahan kimia yang digunakan ialah Aquades, Alkohol 95%, Spirtus, larutan *Cristal Violet*, larutan iodium sebagai larutan pengikat warna dasar, alkohol 96%, sebagai larutan pencuci warna dasar, larutan safranin sebagai warna pembanding, larutan *Methylen Blue* 0,1%.

Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu tahapan persiapan alat bahan, tahapan pembuatan media dan sterilisasi, tahapan pengambilan sampel, tahapan pengenceran, tahapan inokulasi, tahapan isolasi dan perhitungan koloni mikroba.

Analisis data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan teknik analisa deskriptif yaitu berupa persentase hasil perhitungan jumlah koloni sedangkan untuk karakterisasi dari masing-masing isolat diidentifikasi dengan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Buchanan, R.E dan N.E. Gibbons, 1974) dan mencocokkan dengan jurnal-jurnal acuan hasil penelitian terdahulu.

Untuk mengetahui kelimpahan koloni yang tumbuh dapat dihitung dengan cara:

$$\text{RUMUS: } \sum s_i = \sum k_i \times \frac{1}{f} \times \frac{1}{\sum i}$$

Sumber : Black (2005)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelimpahan Mikroba Berdasarkan Lama Waktu Fermentasi

Tujuan diisolasi pada media PDA untuk mengamati koloni jamur dan media NA untuk mengamati koloni bakteri. Setelah diinkubasi didapatkan total koloni mikroba. Berdasarkan rumus perhitungan koloni mikroba maka didapatkan kelimpahan mikroba dari masing-masing waktu fermentasi. Dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Perhitungan Koloni Pada Media NA

| Waktu fermentasi | Pengenceran | Cawan | | | Total Koloni (CFU) |
|------------------|------------------|-------|----|-----|------------------------|
| | | I | II | III | |
| 0 jam | 10 ⁻⁸ | TBD | 53 | 51 | 52 x 10 ⁸ |
| 5 jam | 10 ⁻⁸ | 10 | 16 | 12 | 12,6 x 10 ⁸ |
| 10 | 10 ⁻⁸ | 85 | 74 | 24 | 61 x 10 ⁸ |
| 15 | 10 ⁻⁸ | 13 | 7 | 9 | 9,6 x 10 ⁸ |

Tabel 2. Perhitungan Koloni Pada Media PDA

| Waktu fermentasi | Pengenceran | Cawan | | | Total Koloni (CFU) |
|------------------|------------------|-------|----|-----|------------------------|
| | | I | II | III | |
| 0 jam | 10 ⁻⁸ | 79 | 92 | 109 | 93,3 x 10 ⁸ |
| 5 jam | 10 ⁻⁸ | 24 | 33 | 13 | 23,3 x 10 ⁸ |
| 10 | 10 ⁻⁸ | 10 | 23 | 32 | 21,6 x 10 ⁸ |
| 15 | 10 ⁻⁸ | 9 | 5 | 3 | 5,6 x 10 ⁸ |

Berdasarkan hasil pengamatan (tabel 1 dan 2) diatas dapat dilihat bahwa kelimpahan mikroba sangat dipengaruhi oleh waktu fermentasi. Pada waktu awal fermentasi yakni 0 jam kehadiran khamir atau ragi lebih melimpah dibandingkan dengan bakteri pada media NA hal tersebut disebabkan oleh kandungan sukrosa yang terdapat pada nira masih sangat tinggi.

Pada waktu fermentasi 0 jam nira berwarna bening keruh berbau khas nira dan juga memiliki rasa yang sangat manis disebabkan oleh kandungan suksrosanya belum melalui proses fermentasi.

Kusmanto (2010) menjelaskan bahwa khamir yang terdapat pada nira ini akan memanfaatkan sukrosa melalui proses enzimatik dan mengubahnya menjadi alkohol. Penurunan kadar gula disebabkan oleh kecepatan fermentasi yang terjadi pada nira karena sebagian gula telah dirombak oleh enzim yang dihasilkan dari proses fermentasi menjadi asam dan alkohol.

Perbedaan yang paling mencolok pada media NA dan PDA terjadi pada waktu fermentasi 10 jam terlihat jelas pada tabel di atas bahwa yang tumbuh melimpah dari golongan bakteri yakni dengan jumlah 62,6 x 10⁸ CFU, Sedangkan untuk golongan khamir justru mengalami penurunan yakni dengan jumlah 21 x 10⁸ CFU. Perubahan mencolok yang terjadi lainnya yakni rasa nira sudah mulai asam, warna berubah menjadi putih, dan aroma nira sendiri berbau alkohol-khas tuak sudah mulai tajam.

Rasa asam pada nira lontar ini disebabkan oleh adanya bakteri yang mengoksidasi atau merombak alkohol yang dihasilkan khamir menjadi asam. Hal ini ditegaskan oleh Hidayat *dkk* (2006) bahwa bakteri yang berperan penting dalam pembentukan asam asetat, yang mengoksidasi alkohol (etanol) menjadi asam asetat merupakan golongan bakteri *Acetobacter*. Bakteri *Acetobacter* ini mampu bertahan dalam alkohol yang dihasilkan oleh khamir khamir genus *Saccharomyces* pada konsentrasi 10-13%.

Khamir genus *Saccharomyces* akan mengubah gula pada nira dan menghasilkan etanol, kemudian etanol tersebut mengalami oksidasi akibat dari aktivitas bakteri *Acetobacter* sehingga terbentuknya asam asetat pada nira (Sumanti *dkk.* 1994) Hal ini membuat adanya perubahan pada waktu fermentasi 10 jam dimana nira lontar menjadi asam dan tidak bisa diolah menjadi gula lempeng. Pada dasarnya khamir atau ragi memanfaatkan glukosa yang ada melalui glikolisis dengan tujuannya yakni mendapatkan energi dalam senyawa tersebut disamping sebagai bahan pembentuk sel (keperluan metabolisme dan pertumbuhannya)

4. KARAKTERISASI MORFOLOGI MIKROBA

Bakteri

Prinsip dari isolasi mikroba yaitu memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya. Hasil isolasi dengan metode pengenceran kemudian ditumbuhkan pada media NB 1x24 jam kemudian ditumbuhkan kembali pada media NA dengan metode cawan tuang. Hasil dari isolasi didapatkan 4 isolat berbeda dapat dilihat pada tabel 3.

a) Karakterisasi morfologi koloni dan sel bakteri

Tabel 3. Morfologi Koloni Bakteri

| Karakter | Kode Isolat | | | |
|---------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|
| | B1 | B2 | B3 | B4 |
| 1. morfologi Koloni | | | | |
| a. Warna | Putih susu | Putih kekuningan | Putih kekuningan | Putih susu |
| b. Bentuk | Irregular | Rizoid | Irregular | Filamentous |
| c. Elevasi | Flat | Flat | Flat | Flat |
| d. Tepian | Undulate | Lobate | Lobate | Serate |
| e. Ukuran | Punciform (titik) | Large | Large | Moderate |
| 2. morfologi sel | | | | |
| a. Bentuk Sel | Basil (batang) | Basil (batang) | Basil (batang) | Basil (batang) |
| b. Susunan Sel | Diplobasil | Diplobasil | Diplobasil | Diplobasil |
| c. Sifat Gram | Negatif | Negatif | Positif | Negatif |

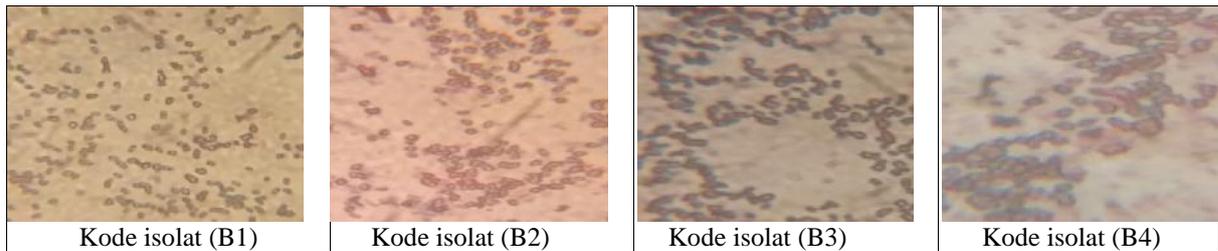
Setelah proses isolasi, dilakukan pemurnian dengan metode gores dan tusuk pada media yang sama dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Prinsip dari pemurnian yakni untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Hasil pemurnian bakteri dapat dilihat pada gambar 1.

b) Karakterisasi morfologi sel bakteri



Gambar 1. Bakteri Secara Makroskopis

Hasil pemurnian kemudian dilanjutkan pada pengamatan morfologi mikroskopik yakni koloni sel dengan pewarnaan gram. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Hasil Pengamatan Bakteri Secara Mikroskopis dengan perbesaran 1000X

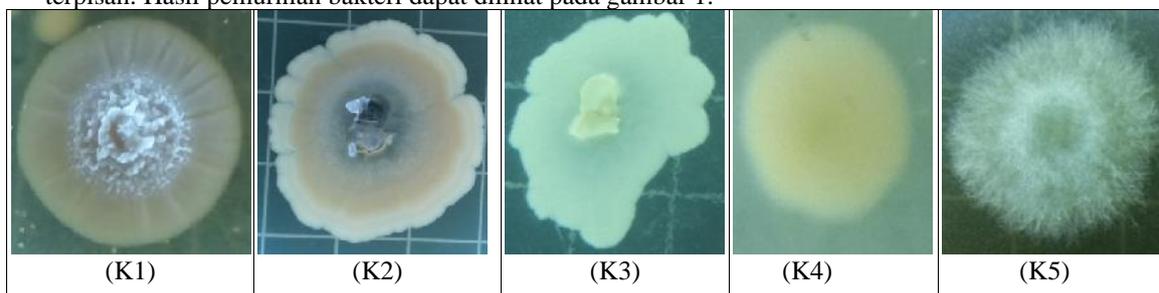
1. Khamir

Prinsip dari isolasi mikroba yaitu memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya. Hasil isolasi dengan metode pengenceran kemudian ditumbuhkan pada media NB 1x24 jam kemudian ditumbuhkan kembali pada media PDA dengan metode cawan tuang. Hasil dari isolasi didapatkan 4 isolat berbeda dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Pengamatan Morfologi Khamir

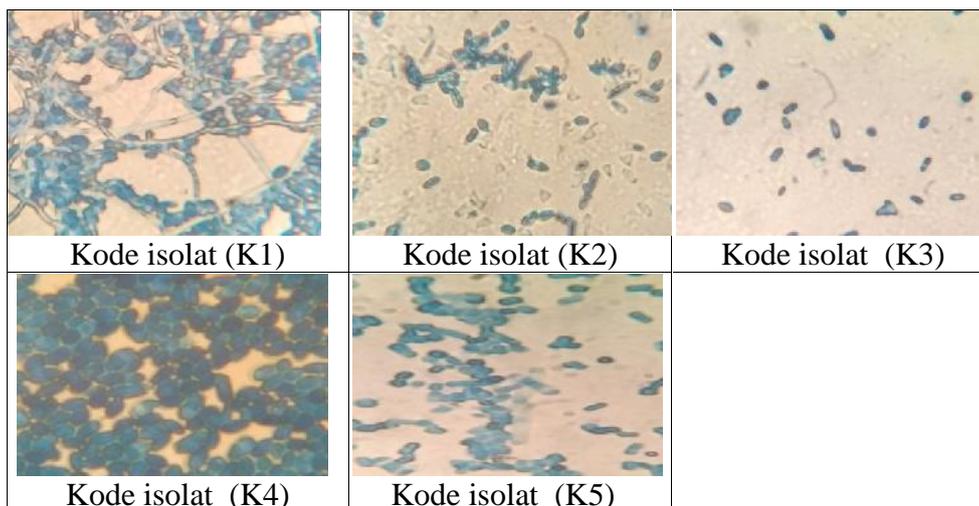
| Karakter | Kode Isolat | | | | |
|---------------------|-------------------------------|--|-------------------------|--------------------------|-----------------|
| | K1 | K2 | K3 | K4 | K5 |
| 1. Morfologi Koloni | | | | | |
| a. Warna | Putih kekuningan | Putih kekuningan-krem | Putih susu | Putih kekuningan-krem | Putih susu |
| b. Bentuk | Circular | Circular | Irregular | Irregular | Filamentous |
| c. Elevasi | Convex | Convex | Flat | Raised | Raised |
| d. Tepian | Entire | Entire | Undulate | Undulate | Serate |
| e. Ukuran | Moderate | Small | Large | Large | Large |
| f. Tekstur | Kasar/bergerigi | Licin | Licin | Timbul | Tidak beraturan |
| 2. Morfologi Sel | | | | | |
| a. Bentuk Sel | Oval-silinder | Oval | Oval | Memanjang-Pseudomiselium | Silinder |
| b. Pola Reproduksi | Pertunasan (<i>budding</i>) | Pertunasan (<i>budding</i>) multilateral | Pertunasan multilateral | Pertunasan multilateral | Pertunasan |

Setelah proses isolasi, dilakukan pemurnian dengan metode gores dan tusuk pada media yang sama dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Prinsip dari pemurnian yakni untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Hasil pemurnian bakteri dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 3. Khamir Secara Makroskopis

Hasil pemurnian kemudian dilanjutkan pada pengamatan morfologi mikroskopik yakni koloni sel dengan pewarnaan gram. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 4. Khamir Secara Mikroskopis dengan perbesaran 1000X

Berdasarkan hasil pengamatan dan identifikasi morfologi khamir baik secara makroskopis maupun mikroskopis selanjutnya diidentifikasi masing-masing isolat tersebut untuk mengetahui golongan tingkat genusnya. Identifikasi mikroba secara morfologi hanya dapat mengidentifikasi suatu mikroba sampai pada tingkat genus belum bisa sampai pada tingkat spesiesnya. Karakter morfologi dalam suatu genus dapat berbeda-beda atau beragam tergantung pada spesies yang terdapat dalam genus tersebut.

Berdasarkan hasil pengamatan karakterisasi isolat khamir yang telah dilakukan (tabel 4.4), isolat khamir K1 dan K2 diduga berasal dari genus *Saccharomyces*. Hal ini sesuai dengan ciri-ciri yang dijelaskan pada literatur bahwa genus *Saccharomyces* memiliki sel yang tumbuh menggerombol, dapat melepaskan CO₂ dengan cepat dan menyebabkan sel terapung pada permukaan. Koloni *Saccharomyces sp* berwarna putih kekuningan dan permukaannya mengkilat (*surface glistening*) (Pelczar, 1998; Pitt & Hocking, 1997). Bentuk sel *Saccharomyces sp* sesuai dengan identitas yang dijelaskan oleh Pitt & Hocking (1997) yakni bulat, silindris, oval dan bulat lonjong. Kreger-van (1987) dan Gandjar *dkk* (2006) menjelaskan bahwa *Saccharomyces sp* bereproduksi secara aseksual hanya dengan pertunasan. *Saccharomyces sp* melakukan pertunasan di beberapa tempat pada permukaan sel yang disebut dengan multipolar atau multilateral.

Berdasarkan hasil pengamatan karakterisasi, isolat khamir K3 memiliki ciri yang menyerupai genus *Hansenula* dimana isolat khamir K3 ini berwarna putih susu, berbentuk irregular, tepiannya undulate, serta memiliki sel yang berebentuk oval, dengan melakukan reproduksi aseksual yakni dengan cara pertunasan multilateral. Menurut Kreger-van Rij (1987) genus *Hansenula* memiliki bentuk sel bulat, elips atau memanjang dengan *true* hifa atau pseudohifa mungkin terbentuk. Reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral dan secara seksual terbentuk askospora (1-4 per askus), genus ini mungkin atau tidak melakukan fermentasi gula. Menurut Naning dan Nur (2014) genus *Hansenula* memiliki sel bentuk oval, bereproduksi dengan pertunasan multilateral, mampu memfermentasi gula glukosa, sukrosa, maltose, dan galaktosa, namun tidak pada gula laktosa. Berdasarkan ciri-ciri morfologi yang ada maka isolat khamir K3 memiliki kemiripan dan diduga berasal dari genus *Hansenula*.

Berdasarkan karakteristik morfologi yang telah dilakukan isolat khamir K4 dan K5 memiliki ciri-ciri putih kekuningan dan putih susu, memiliki ukuran yang besar, tekstur yang timbul dan tidak beraturan, memiliki sel yang memanjang- pseudomiselium dan silinder, serta melakukan reproduksi secara aseksual yakni dengan pertunasan multilateral. Berdasarkan kesamaan ciri morfologi baik sel maupun koloni isolat K4 dan K5 memiliki kemiripan dan diduga berasal dari genus *Candida*.

Menurut Kregervan Rij (1984) dalam Nuriyati *et al* (2004) dan Rafiqah (2010) genus *Candida* memiliki ciri-ciri sel dengan bentuk yang bervariasi yaitu bulat, ova pendek, oval, oval-memanjang, silindris sampai memanjang (*elongate*), jarang berbentuk apikulat, ogival, triangular, atau berbentuk botol. Reproduksi vegetatif dengan pertunasan multilateral, pseudohifa berkembang baik atau tidak ada, pada beberapa spesies membentuk miselium sejati. genus *Candida* tidak memiliki karatenoid sehingga berwarna putih hingga krem (Kreger-van Rij, 1987).

Beberapa spesies *Candida* dapat melakukan fermentasi, dan beberapa yang lain tidak. Meskipun mereka berasal dari genus yang sama, berbagai spesies memiliki beberapa perilaku yang unik sehubungan dengan

morfologi koloni. Genus *Candida* dapat memfermentasi glukosa, nitrat dapat diasimilasi, senyawa pati tidak diproduksi.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Kelimpahan khamir lebih banyak terdapat pada waktu fermentasi 0-5 jam yang berjumlah $93,3 \times 10^8$ CFU, sebaliknya pada waktu fermentasi 10 jam bakteri lebih dominan dari khamir yakni dengan jumlah $62,6 \times 10^8$ CFU, dan setelah 15 jam jumlah kelimpahan ragi dan bakteri semakin berkurang karena mengalami suksesi dengan jumlah ragi $5,6 \times 10^8$ CFU dan jumlah bakteri $9,6 \times 10^8$ CFU
2. Berdasarkan hasil karakteristik morfologi (koloni dan sel) bakteri dan khamir pada nira yang terfermentasi spontan didapatkan ciri yang menyerupai beberapa genus bakteri yakni *Acetobacter sp.*, dan *Lactobacillus sp.*, dan beberapa genus khamir yakni *Saccharomyces sp.*, *Hansenula sp.*, dan *Candida sp.*

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2009). Laporan Dinas Perkebunan Propinsi Nusa Tenggara Timur. Kupang.
- Barlina, R. (2013). "Pengolahan Nira Untuk Produk Fermentasi Nata De Coco Alkohol, Dan Asam, Cuka". Jurnal Penelitian. Balai Penelitian Manado. Manado.
- Bernadina, (2011). "Pohon siwalan Lontar (*Borassau flabellifer*) sebagai pohon kehidupan". Bogor.
- Black, J.G. (2005). *Microbiology, Principles and Exploration*. Jhon Wiley and Son.Ltd.
- Buchanan, R., Gibbson, E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. USA : The Williams & Wilkins Co.,Inc.
- Davis, A. And Johnson, D. V. (1987). "Current utilization and further development of the palmyra palm (*Borassus flabellifer* L., Araceae) in Tamil Nadu State, India. Economic Botany", 41(2): 247-266.
- Djafar, M., Z. Mahmud dan S. N. Darwis. (1998). *Pola Usaha tani dengan Dasar Siwalan (Lontar) di Nusa Tenggara Timur*. Prosiding Temu Tugas Pengembangan dan Pemanfaatan Siwalan Lahan Kering Iklim Kering di NTT
- Fardiaz, S. (1993). *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.
- Fossi, B.T., F. Tavena, L. A. Fontem, R. Ndjouenkeu, and S. Wanji. (2014). "Microbial interaction for enhancement of α -amylase production by *Bacillus amyloliquefaciens* 04BBA15 and *Lactobacillus fermentum* 04BBA19". Biotechnology Reports 4: 99-106.
- Fox, J.J. (1977). *Harvest of The Palms. Ecological Change in Eastern Indonesia*. Harvard University Press. Camberige. Massachusetts.
- Gandjar I., Sjamsuridzal, W., dan Oetari, A., (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia Anggota IKAPI DKI Jakarta. Jakarta
- Hartanto, (2014). *Studi Etnobotani Borassus Fabellifer Dalam Kehidupan Masyarakat Lokal*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Riau.
- Hidayat, N., Padaga M. C, dan Surhatini S. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Jogjakarta. C.V Andi Offset.
- Hidayat, N. (2009). *Manfaat Pohon Aren*. (<http://niahidayati.net>). Diakses, 29 November 2018, pukul 19:48 WITA.
- Husni, H., N.L. Barri dan E.T. Bambang. (1990). "Usaha Tani dan Sistem Tataniaga Lontar di Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. Balai Penelitian Kelapa", Manado. *Buletin* 11: 84-96.
- Kerstens, K., P. Lisdiyanti, K. Komagata, and J. Swings. (2006). "The Family Acetobacteraceae, In The Prokaryotes: a handbook on the Biology of Bacteria". Third edition vol. 6., Springer, New York, pp 163-200.
- Kozaki, M., L., H. Matsumoto, T. E. I. Dizin, K. Rahayu and P. C. Sanchez. (1998). *Studied on the Acid-Producing Bacteria of Traditional Vinegars from the Philipinnes and Indonesia. Proc. Ins. Conf. on Asian Network on Microbial Research*. Gadjah Mada University. Indonesia.
- Kreger-van Rij, N. J. W. (1987). *The Yeast: A Taxonomic Study*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B. V.
- Lendra. (2012). *Pustaka Lontar*. Fakultas Sastra Universitas Udayana. Jakarta
- Mahayasa, I. N. W. (2009). *Lontar Sumber Daya Lokal yang Terabaikan*. Orasi Ilmiah : Disampaikan pada Rapat Senat Luar Biasa Undana, Periode Maret 2009.
- Mahmud. (2013). "Palma Sebagai Bahan Pangan, Pakan dan Konsevasi". Buletin Balitka. Balai Penelitian Lontar. Manado.

- Mahulette, F. (2009). *Isolasi dan Penentuan Mikroorganisme Dominan Pada Fermentasi Tradisional Arak Ambon Serta Optimasi Pembuatannya Secara Fermentasi Terkontrol*. (Tesis, Tidak Dipublikasikan). Institut Teknologi Bandung.
- Mussa, R. (2014). “Kajian Tentang Lama Fermentasi Nira Aren (*Arenga Pinnata*) Terhadap Kelimpahan Mikroba Dan Kualitas Organoleptik Tuak”. *Biopendix* 1 (1): 54-58
- Nailoa, E. (2008). “Mikrobia Amilolitik Pada Nira dan Laru Dari Pulau Timor Nusa”. Jakarta. Biodeversitas. Volume 3 (3): 165-168.
- Nurhariyati T, Ni’ matuzahroh & Surtiningsih T. (2004). *Keanekaragaman Khamir Pendegradasi Minyak Hasil Isolasi Dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya*. *Berk. Penelitian Hayati* 9; 87-91.
- Pellokia, S.C. dan P.U. Woha. (1989). *Potensi Lontar di Nusa Tenggara Timur*. Prosiding Temu Tugas Pengembangan dan Pemanfaatan Lontar Lahan Kering Iklim Kering di NTT, Kupang. Puslitbangtri. Bogor.
- Pelzar, M. J., dan Chan E. S. C., (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI. Press. Jakarta
- Pitt and Hocking, (1997), *Fungi and Food Spoilage*, 2 Ed, 457, Great Britain at The GrAW Hill Book Company. Inc, New York
- Plantamor.(2010).*Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Spesies-Pala*. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=883>. Diakses pada tanggal 29 November 2018, pukul 20:14 WITA.
- Prescott, LM, Harley, JP and Klein, DA. *Laboratory Exercises in Microbiology* 5th Edition. (2002). The McGraw Hill Company. USA.
- Putri, B.S.P., S. Suwasono dan M. Choiron. (2015). “Identifikasi Bakteri Asam Laktat Sebagai Anti Kapang Dari Fermentasi Kakao Di Gunung Kidul Yogyakarta”. *Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian*. Volume 10(10): 2-3
- Rafiqah N. (2010). *Studi Vabilitas Khamir Pada Fermentasi Tauco Dalam Larutan Garam*. Tesis Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Ray, B. (2001). *Fundamental Food Microbiology*. 3rd Edition. CRC Press LCC. Florida
- Riadi, L. (2007). *Teknologi Fermentasi*. UGM. Yogyakarta
- Said, G. E. (1987). *Bio Industri*. Media Tamasa Rana Perkasa. Jakarta.
- Sasongko, D.a. (2008).” Sekilas Lontar”. *Kabe* .Edisi 04/II/2008. Hal 29-30.
- Sulistyo. (2005). Pengembangan agroindustri bieotanol nira lontar dan kecap lajanus cajan bebas aflatoksin (BAF) di kabupaten Belu dan Rote-Ndao NTT. Laporan kumulatif Pusat Penelitian Biologi - LIPI. Bogor
- Sumanti D, Tjahjadi C, Betty D.S, Cucu A.S dan Abdul R. (1994). *Efek bahan pengawet alami terhadap pertumbuhan mikroorganisme kontaminan Nira aren*. Laporan Penelitian.Fakultas Pertanian Padjajaran, Jatinangor
- Supardi dan Sukamto. (1999). *Mikrobio dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni, Bandung
- Surono, I.S, (2004). *Probiotik Susu Fementasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Therik, W. (1998). *Pembinaan dan Pengembangan Gula Merah Dari Lontar di Propinsi NTT*. Kanwil Departemen Perindustrian NTT. Prosiding Temu tugas Pengembangan dan Pemanfaatan Siwalan Lahan Kering Nusa Tenggara Timur, 28-29 Agustus 1998 di Kupang
- Tjitrosoepomo, G.(2007). *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. UGM. Yogyakarta.
- Van, Steenis. (1981). “*Flora*”. Pratia Pramita. Jakarta.
- Woha, U.P. (2011). “*Pohon Lontar di Nusa Tenggara Timur*”. Dinas Perkebunan Nusa Tenggara Timur. Kupang.