

PENGARUH VARIETAS APEL DAN CAMPURAN BAKTERI ASAM ASETAT TERHADAP PROSES FERMENTASI CIDER

The Effect of Apple Variety and Mixed Culture of Acetic Acid Bacteria on Cider Fermentation

Dessi Caturryanti¹, Sri Luwihana¹, Siti Tamaroh¹

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi peran varietas apel dan rasio bakteri asam asetat dalam fermentasi cider. Dua varietas apel (*Manalagi* and *Rome Beauty*) dan dua kultur bakteri (*Acetobacter pasteurianus* INT-7 and *Acetobacter aceti* JCM 7640) digunakan dalam penelitian ini. Ekstrak buah apel dinokulasi dengan bakteri asam asetat dengan rasio 1:1 dan 1:2. Sebagai substrat ditambahkan ke dalam medium fermentasi etanol sebanyak 5%. Fermentasi dilakukan secara aerobik pada suhu ruang selama 7 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi cider menggunakan varietas apel *Rome Beauty* dengan perbandingan *A. pasteurianus* : *A. aceti* = 1:2 menghasilkan asam asetat sebanyak 3,11 %, yield produk 0,85 dan efisiensi sebesar 60,56 %.

Kata kunci: *Apel, bakteri asam asetat, fermentasi cider*

ABSTRACT

The objectives of the research were evaluate apple variety and acetic acid bacteria ratio used in cider fermentation. Two apple varieties (*Manalagi* and *Rome Beauty*) were used and mixed culture of two bacteria species (*Acetobacter pasteurianus* INT-7 and *Acetobacter aceti* JCM 7640) were used for inoculation. Apple extract was inoculated by ratio of acetic bacteria 1:1 and 1:2, and etanol substrat of 5 % was added respectively, continued aerobic condition at room temperature for 7 days. The result of the reseach indicated that cider fermentation using *Rome Beauty* variety with mixed culture of *A. pasteurianus* INT-7 : *A. aceti* JCM 7640 = 1:2 produced acetic acid 3.11 %, product yield 0.85 g/g and efficiency 60.56 %.

Keywords : *Apple, acetic acid bacteria, cider fermentation*

PENDAHULUAN

Apel (*Malus sylvestris* Mill) merupakan salah satu hasil pertanian yang tersedia sepanjang tahun dan dapat dijadikan bahan baku dalam pembuatan asam asetat dengan fermentasi. Buah dari tanaman apel (*Malus sylvestris* Mill) banyak dikonsumsi sebagai buah segar selain rasanya yang menyegarkan juga banyak mengandung zat yang dapat mencegah dan menyembuhkan penyakit. Di Indonesia terdapat enam macam varietas apel, dua varietas yang paling banyak dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis bila dipasarkan adalah *Rome Beauty* dan *Manalagi*. Apel *Rome*

Beauty memiliki ciri-ciri bentuk buah bulat lonjong, warna buah hijau kemerahan dan rasa manis agak asam, sedangkan apel *Manalagi* bentuk buah bulat, kecil dengan warna buah kuning kehijauan dan rasa manis, dengan adanya fruktosa 45 mg/g, glukosa 37,2 mg/g dan sukrosa 45,4 mg/g (Soelarso, 1997). Kadar asam apel *Rome beauty* cenderung lebih tinggi dibanding apel *Manalagi*. Kadar gula sederhana pada apel *Manalagi* lebih besar dibanding apel jenis *Rome beauty*. Komponen gula dan asam merupakan media yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri asam asetat.

¹ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Jl. Wates Km.10, Pos Kemusuk, Bantul, Yogyakarta 55753

Asam asetat atau asam cuka yang dihasilkan dalam fermentasi menggunakan bakteri asam asetat dari bahan dasar apel disebut juga *cider* atau lebih dikenal dengan nama cuka apel. Cuka apel memiliki berbagai manfaat seperti penambah rasa, pengawet bahan makanan bahkan untuk pengobatan sehari-hari dalam rumah tangga sudah dikenal sejak beberapa kurun waktu. Manfaat kesehatan yang khasiatnya untuk mencegah dan mengatasi gangguan kesehatan juga sudah dikenal di beberapa negara (Anonim, 2007).

Salah satu bakteri asam asetat yang dominan dalam fermentasi asam asetat adalah *A. aceti* meskipun *A. pasteurianus* juga sudah digunakan dalam fermentasi *rice wine* sejak tahun 1970an di Jepang (Adam, 1997; Nanba dkk., 2001). Penelitian Soedarini (1998) menyatakan bahwa fermentasi asam asetat dengan substrat etanol 5 %, suhu 30 °C dan goyangan 150 rpm menggunakan *A. pasteurianus* INT 7 menghasilkan asam asetat 6,27 % yang lebih tinggi dari *A. aceti* JCM 7640 5,23 %. *A. pasteurianus* INT-7 merupakan isolat lokal yang unggul bersifat *acedo-ethanol tolerant*. *A. aceti* bersifat kurang tahan pada pH rendah dibandingkan bakteri *A. pasteurianus* INT 7. *A. pasteurianus* INT 7 masih bertahan hidup pada media dengan konsentrasi asam asetat 8 %, sedangkan bakteri *A. aceti* JCM 7640 masih bertahan hidup pada media dengan konsentrasi asam asetat lebih rendah, yaitu 7,5 %. Pada pH 3, *A. aceti* JCM 7640 tumbuh hanya dalam jumlah sedikit, sedangkan *A. pasteurianus* dapat tumbuh lebih baik. Pada media dengan konsentrasi etanol 5 %, *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640 dapat tumbuh dengan baik (Kuswanto dkk. 1998).

Kuswanto dkk. (1998) dan Kozaki dkk. (1998), menunjukkan bahwa fermentasi asam asetat menggunakan substrat air kelapa tanpa pasteurisasi dan langsung diinokulasi dengan bakteri asam asetat *A. pasteurianus* INT-7, selama 2 minggu pada suhu ruang akan menghasilkan asam asetat konsentrasi 5,42 % Sedangkan air kelapa yang dipasteurisasi, diinokulasi dengan bakteri dan kondisi yang sama hanya memproduksi asam asetat 0,42 %. Hal ini dimungkinkan pada air kelapa tanpa pasteurisasi ada jenis bakteri lain yang berperan, sehingga konsentrasi asam asetat menjadi lebih besar.

Dalam fermentasi asam asetat, etanol yang ditambahkan berfungsi sebagai substrat yang akan dioksidasi oleh enzim yang dihasilkan bakteri asam asetat menjadi asam asetat. Oksidasi etanol menjadi asam asetat berlangsung dua tahap; pertama etanol dioksidasi oleh enzim alkohol dehidrogenase menjadi asetaldehid, kemudian tahap kedua asetaldehid dioksidasi oleh aldehid dehidrogenase menjadi asam asetat.

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari dan mengetahui pengaruh penggunaan varietas apel dan campuran bakteri *A. pasteurianus* INT-7 dengan *A. aceti* JCM 7640 dalam fermentasi *cider*.

METODA PENELITIAN

Bahan

Apel Manalagi dan apel *Rome beauty* diperoleh dari pasar Gemah Ripah, Gamping, Sleman, Yogyakarta. Isolat *A. pasteurianus* INT 7 dan *A. aceti* JCM 7640 diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan kimia dan media yang antara lain adalah NaOH 1 N, indikator Phenolphthalein (pp), PGY (Pepton Glukosa Yeast Ekstrak), reagen Nelson, reagen Arsenomolybdate, NaCl, Pb-asetat, K-Karbonat, Asam Sulfat diperoleh dari Laboratorium PHP Universitas Wangsa Manggala dan Laboratorium Mikrobiologi PAU Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Preparasi Sari Buah

Digunakan 2 varietas apel Manalagi dan *Rome Beauty*. Buah apel 500 gram, disortasi, dicuci bersih dan dihilangkan biji dan kulitnya, dipotong-potong dan dilakukan *blanching* selama 10 menit. Selanjutnya potongan apel ditambah air 3x berat apel, kemudian dihancurkan dan disaring, diperoleh sari buah apel dengan kadar gula reduksi 3,40 %.

Preparasi Starter

Media PGY (Pepton Glucose Yeast extract) dengan komposisi: 0,75 g pepton, 2 g glukosa dan 0,45 g yeast ekstrak dalam 100 ml akuades dengan pH 5,5, disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya media diinokulasi dengan 0,5 ml suspensi bakteri dari biakan agar miring ke dalam media starter steril yang dingin setelah ditambah lebih dulu 2 % b/v etanol absolut steril. Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada 30 °C dengan aerasi selama 2 hari. Perlakuan tersebut digunakan untuk mempersiapkan starter *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640.

Fermentasi Asam Asetat

Media fermentasi dibuat dalam erlenmeyer 250 ml yang masing-masing diisi dengan sari buah apel Manalagi dan *Rome Beauty* sebanyak 200 ml yang sudah diatur pH 6,0. Media tersebut di pasteurisasi pada 70 °C 15 menit, ditambahkan 5% (v/v) etanol absolut dan diinokulasi dengan starter 20% campuran yang terdiri dari *A. pasteurianus* INT 7 dan *A. aceti* JCM 7640 dengan rasio masing-masing 1:1 (10 %:10 %) dan 1:2 (7 %:13 %). Kemudian erlenmeyer yang berisi media fermentasi dihubungkan dengan aerator, diinkubasikan pada suhu kamar selama 7 hari. Pengamatan kadar asam asetat dengan titasi, kadar gula reduksi dengan metode Nelson-Samogyi, kadar etanol dengan Micro Conway, pH pada hari ke nol dan ke 7 menggunakan pH meter dan jumlah sel dengan TPC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan setelah fermentasi 7 hari untuk 2 varietas apel dan rasio campuran *A. pasteurianus* INT-7 dengan *A. aceti* JCM 7640 seperti terlihat pada Tabel 1. Varietas Manalagi pada campuran bakteri dengan rasio (1:2) mempunyai pH yang lebih rendah daripada campuran bakteri rasio (1:1), sedangkan konsumsi etanol serta produksi asam asetat menunjukkan nilai yang lebih besar.

Tabel 1. Pengamatan pH, jumlah sel, konsumsi gula reduksi, etanol dan produksi asam asetat dalam fermentasi *cider* selama 7 hari, suhu kamar dengan aerasi

Varietas Apel	Rasio bakteri v:v	pH	Jumlah sel cfu/ml	Konsumsi gula % b/v	Produksi	
					Etanol % b/v	Asam asetat % b/v
Manalagi	1:1	3,32	3,1 x 10 ⁸	1,74	3,39	2,67
	1:2	3,01	3,3 x 10 ⁸	1,76	3,57	3,02
Rome Beauty	1:1	3,09	3,2 x 10 ⁸	1,81	3,62	2,80
	1:2	2,92	3,5 x 10 ⁸	1,84	3,65	3,11

Nilai pH substrat pada akhir fermentasi berkaitan dengan produksi asam asetat, semakin besar produksi asam asetat semakin menurun nilai pHnya. Konsumsi gula menunjukkan adanya pertumbuhan sel, demikian juga konsumsi etanol oleh sel. Etanol diperlukan selain sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel juga sebagai substrat fermentasi. Bakteri asam asetat tidak dapat hidup tanpa adanya etanol, kadar minimum etanol yang harus ada didalam media pertumbuhan 0,2 % (Cruger dan Cruger, 1989). Dengan demikian etanol 5 % yang ditambahkan sebagai substrat fermentasi sebagian digunakan untuk pertumbuhan sel bakteri asam asetat yang diinokulasikan dan sebagian yang lain akan dioksidasi menjadi asam asetat. Semakin besar konsumsi etanol berarti semakin besar etanol yang dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat seperti terlihat pada Tabel 1.

Nilai pH terendah dicapai 2,92 pada fermentasi dengan apel variasi *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) dengan produksi asam asetat 3,11 %. Meskipun keempat variabel (2 variasi apel dan 2 rasio campuran bakteri) menunjukkan jumlah sel yang relatif sama sekitar 10⁸ cfu/ml, ternyata penggunaan apel varietas *Rome Beauty* pada campuran bakteri rasio (1:2) memproduksi asam asetat yang paling tinggi (3,11 %). Hal ini kemungkinan disebabkan adanya aktivitas enzim yang lebih besar apabila digunakan campuran bakteri rasio (1:2) atau kemungkinan kedua spesies bakteri bersimbiosis sehingga aktivitas enzimnya meningkat.

Produksi asam asetat menggunakan apel varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) sebesar 3,11 %, menunjukkan adanya peningkatan produksi asam asetat secara tradisional yang berlangsung secara spontan. Produksi asam asetat fermentasi tradisional hanya 2% (Kozaki dkk, 1998; Sofyan dkk., 2003).

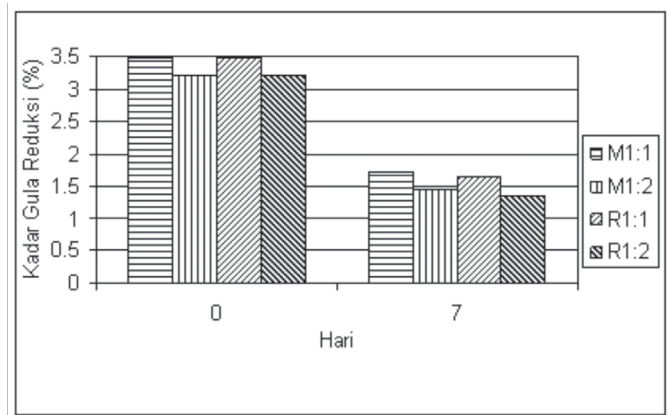
Perubahan kadar gula reduksi, kadar etanol dan produksi asam asetat dalam fermentasi *cider* selama 7 hari menggunakan 2 varietas apel (Manalagi dan *Rome Beauty*) serta campuran bakteri rasio (1:1) dan (1:2) ditunjukkan pada Gambar 1, dan 2.

Konsumsi Gula Reduksi dalam Fermentasi Asam Asetat

Hasil analisa kadar gula reduksi selama fermentasi menggunakan dua spesies bakteri pada rasio yang berbeda yaitu *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640 dengan 2 varietas apel dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan uji statistik pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa semakin besar rasio bakteri yang diinokulasikan untuk tiap variasi apel tidak menunjukkan perbedaan konsumsi gula reduksi. Konsumsi gula reduksi tertinggi terjadi pada penggunaan apel *Rome Beauty* pada campuran bakteri rasio (1:2). Selama proses fermentasi kadar gula reduksi yang digunakan atau dikonsumsi pada varietas Manalagi dengan campuran bakteri rasio (1:1) sebesar 1,74 % dan pada campuran bakteri rasio (1:2) sebesar 1,76 % sedangkan pada varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:1) sebesar 1,81 % dan pada campuran bakteri rasio (1:2) sebesar 1,84 %.

Konsumsi gula reduksi tertinggi pada varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) sebesar 1,84 %, dengan perbandingan spesies *A. pasteurianus* INT-7 sebanyak 7 % dan *A. aceti* JCM 7640 sebanyak 13 %. Meskipun jumlah sel *A. aceti* yang diinokulasikan lebih banyak daripada *A.*



Gambar 1. Kadar gula reduksi dalam fermentasi *cider*

pasteurianus INT-7 ini cenderung mengkonsumsi gula lebih tinggi akan tetapi jumlah sel yang ada di dalam substrat sama. Sebenarnya gula tersebut akan dimetabolisme oleh mikroorganisme yang tumbuh sebagai nutrisi dan energi untuk melakukan perkembang biakan sel.

Berdasarkan hasil analisa TPC yang tampak pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa selama fermentasi jumlah sel meningkat 1 log cycle pada semua perlakuan karena adanya substrat yang digunakan untuk pertumbuhan yaitu gula sebesar 3,40 % dalam ekstrak apel. Meskipun rasio campuran bakteri yang diinokulasikan lebih besar (1:2) jumlah sel pada akhir fermentasi relatif sama pada setiap perlakuan, sehingga fenomena ini sangat menarik dan perlu mendapat perhatian.

Pada fermentasi hari ke 7 jumlah sel yang relatif sama untuk semua perlakuan sebesar 10⁸ CFU/mL tetapi pH akhir produksi asam asetat menggunakan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) paling rendah dan produksi asam asetat yang paling tinggi. Produksi asam asetat yang tinggi ini kemungkinan karena adanya interaksi kedua spesies bakteri yang diinokulasikan tersebut sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang aktif mengoksidasi substrat etanol menjadi asam asetat. Dugaan lain kedua mikrobia melakukan sinergisme dalam oksidasi etanol menjadi asam asetat sehingga asam asetat yang dihasilkan tinggi.

Tabel 2. Hasil analisa jumlah sel dalam fermentasi asam asetat

Varietas apel	Rasio bakteri	Fermentasi	
		0 hari	7 hari
Manalagi	(1:1)	6,1 x 10 ⁷	3,1 x 10 ⁸
	(1:2)	6,0 x 10 ⁷	3,3 x 10 ⁸
<i>Rome beauty</i>	(1:1)	6,0 x 10 ⁷	3,2 x 10 ⁸
	(1:2)	6,1 x 10 ⁷	3,5 x 10 ⁸

Nilai pH dalam Fermentasi Asam Asetat

Hasil pengamatan keasaman atau pH selama fermentasi menggunakan campuran dua spesies bakteri pada rasio yang berbeda yaitu *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640 dengan 2 varietas apel dapat dilihat pada Tabel 3.

Fermentasi menggunakan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) ternyata konsumsi etanol relatif sama dengan ratio bakteri (1:1), tetapi produksi asam asetat lebih besar (3,11 %) sehingga pada perlakuan ini juga perlu mendapat perhatian.

Berdasarkan uji statistik dapat diketahui bahwa kemungkinan ada interaksi antara varietas apel dengan campuran bakteri pada rasio tertentu selama fermentasi. Keasaman

Tabel 3. Perubahan pH dalam fermentasi asam asetat

Varietas apel	Rasio bakteri	Fermentasi	
		0 hari	7 hari
Manalagi	(1:1)	5,62 ^f	3,32 ^d
	(1:2)	5,45 ^e	3,01 ^b
<i>Rome beauty</i>	(1:1)	5,60 ^f	3,09 ^e
	(1:2)	5,43 ^e	2,92 ^a

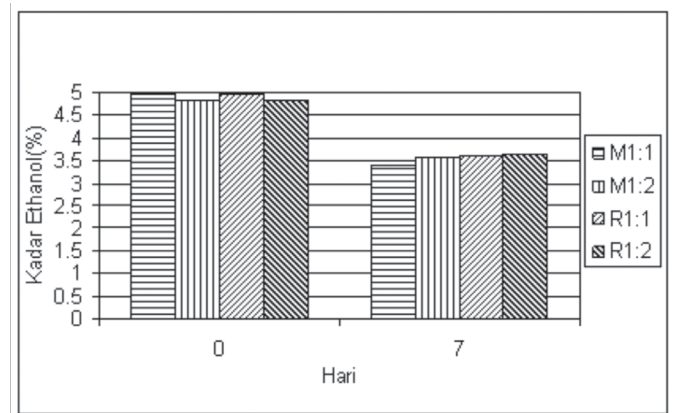
paling rendah pada akhir fermentasi menggunakan apel *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) yaitu 2,92 menunjukkan bahwa kemungkinan adanya interaksi antara variasi apel dengan rasio campuran bakteri.

Pada awal fermentasi media produksi ini ada pengaturan pH, yaitu dengan penambahan NaOH 0,05 N hingga pH 6, karena kedua spesies bakteri tersebut dapat tumbuh pada pH 5,1 – 6,3 (Soedarini, 1998). Pada pengamatan hari ke 7 dari keempat perlakuan mengalami penurunan. Penurunan pH pada substrat memiliki kecenderungan sama, dikarenakan pengaruh produksi asam asetat yang bertambah besar secara otomatis akan menurunkan pH. Penurunan pH ini menunjukkan adanya produksi asam asetat yang dihasilkan karena oksidasi etanol menjadi asam asetat oleh enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam asetat tersebut.

Konsumsi Etanol Akhir dalam Fermentasi Asam Asetat

Hasil analisa etanol selama fermentasi menggunakan dua spesies bakteri pada rasio yang berbeda yaitu *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640 dengan 2 varietas apel dapat dilihat Tabel 1.

Hasil penelitian yang telah dilakukan sesuai pada Tabel 1, bahwa etanol yang digunakan atau dikonsumsi oleh bakteri asam asetat, untuk varietas Manalagi dengan campuran bakteri rasio (1:1) yaitu 3,39 % dan dengan campuran bakteri rasio (1:2) yaitu 3,57 % relatif sama. Sedangkan untuk varietas



Gambar 2. Konsumsi etanol selama fermentasi asam asetat

Rome Beauty dengan campuran bakteri rasio (1:1) yaitu 3,62 % dan dengan campuran bakteri rasio (1:2) yaitu 3,65 % tidak berbeda pula. Pada campuran bakteri rasio bakteri (1:2) untuk varietas Manalagi dan *Rome Beauty* konsumsi etanol paling besar. Pada penggunaan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:1) dan (1:2) konsumsi etanol relatif sama tetapi berbeda dengan penggunaan varietas Manalagi dengan campuran bakteri rasio (1:2). Pada varietas Manalagi dengan campuran bakteri rasio (1:2) konsumsi etanol lebih besar daripada dengan campuran bakteri rasio (1:1). Konsumsi etanol terbesar pada varietas *Rome Beauty* dengan perbandingan rasio bakteri (1:2) karena adanya etanol sebagai sumber karbon yang diperlukan oleh bakteri asam asetat untuk energi pertumbuhan sel atau etanol sebagai substrat pada proses oksidasi menjadi asam asetat.

Produksi Asam Asetat dalam Fermentasi Asam Asetat

Hasil produksi asam asetat selama fermentasi menggunakan campuran dua spesies bakteri pada rasio yang berbeda yaitu *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* JCM 7640 dengan 2 varietas apel dapat dilihat pada Tabel 1.

Product yield dan efisiensi dari fermentasi asam asetat menggunakan 2 variasi apel dan campuran bakteri terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Product yield dan efisiensi dari fermentasi asam asetat menggunakan 2 variasi apel dan campuran bakteri asam asetat

Varietas apel	Rasio bakteri	Product Yield (g/g)	Efisiensi (%)
Manalagi	(1 : 1)	0,78	51,99
	(1 : 2)	0,84	58,81
<i>Rome Beauty</i>	(1 : 1)	0,77	54,53
	(1 : 2)	0,85	60,56

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa produksi asam asetat menggunakan varietas Manalagi dan *Rome Beauty* dengan campuran bakteri pada rasio(1:2) lebih tinggi daripada campuran bakteri pada rasio (1:1). Produksi asam asetat tertinggi sebesar 3,11 % pada penggunaan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2) ini jumlah *A. pasteurianus* INT-7 (7 %) dan *A. aceti* JCM 7640 (13 %). Pada kondisi ini kemungkinan bakteri *A. aceti* JCM 7640 lebih efektif memproduksi asam asetat atau kemungkinan telah terjadi interaksi kedua spesies bakteri tersebut sehingga aktivitas enzim meningkat. Dengan demikian adanya konsumsi etanol lebih banyak pada campuran bakteri rasio (1:2) kemungkinan disebabkan oleh jumlah sel *A. aceti* JCM 7640 yang lebih banyak daripada *A. pasteurianus* INT-7.

Meskipun jumlah sel yang relatif sama (10^8 cfu/mL) pada akhir fermentasi untuk setiap perlakuan dan konsumsi etanol lebih besar pada penggunaan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:1 dan 1:2), produksi asam asetat paling tinggi diperoleh pada penggunaan varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri rasio (1:2).

KESIMPULAN

1. Penggunaan apel varietas *Rome Beauty* dengan campuran bakteri *A. pasteurianus* INT-7 dan *A. aceti* CJM 7640 rasio (1:2) dapat meningkatkan produksi asam asetat.
2. Fermentasi asam asetat menggunakan apel Rome Beauty dengan campuran bakteri rasio (1:2) menghasilkan asam asetat 3,11 % dengan product yield 0,85 g/g, efisiensi 60,56 %.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, (2007). *Ensiklopedia Bebas Berbahasa Indonesia*. Wikipedia Indonesia, diakses pada 2 Oktober 2007.

Adam, M.R. (1997). *Vinegar. Dalam: Wood, B.J.B. (Ed.). Microbiology of Fermented Foods*. Vol. I. Elsevier Applied Science Published. London.

Crueger, W dan Crueger A. (1989). *Organic acid dalam Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. Science Tech. Inc. Madison USA.

Kozaki, M., Iino, H., Matsumoto, T., Dizon, E.I., Kuswanto, K.R., dan Sanchez, P.C. (1998). Studies on the acid-producing bacteria of the traditional vinegars from Philippines and Indonesia. *Proceeding of International Conference on Asia Network on Microbial Researches*. Gadjah Mada University, Yogyakarta, Hal. 451-646.

Kuswanto, K.R., Dizon, E.I., Thuoc, T.L., Iino, H. dan Kozaki, M. (1998). Studies on the acid – producing bacteria of traditional vinegars: Selection and evaluation on the efficiency of isolated acetic acid bacteria. *Proceeding of International Conference on Asian Network on Microbial Research*. Gadjah Mada University, Yogyakarta. Hal. 105-115.

Nanba, K., Taniguchi, M., Ujike, S., Ishihara, N., Mori, H., Ono, H. dan Murooka, Y. (2001). Characerization of acetic acid bacteria in traditional acetic acid fermentation of rice vinegar (komesu) and unpolish rice vinegar (kurosusu) product in Japan. *Applied and Environmental Microbiology* **677**: 986-990.

Soelarso, B. (1997), *Budidaya Apel*. Kanisius, Yogyakarta.

Soedarini, (1998), *Seleksi dan Identifikasi Bakteri Asam Asetat "Acido-ethanol tolerant" untuk Fermentasi Vinegar*. Tesis S-2. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada.

Sofyan, H.M.I., Garnida, Y. dan Fitri, W.N. (2003). Mempelajari pengaruh kecepatan aerasi dan agitasi terhadap lama fermentasi produk vinegar dari nira aren (*Arenga pinnata* Merr) untuk perbaikan mutu cuka di Buniwangi Wetan, Kabupaten Bandung. *Prosiding Seminar Nasional dan Pertemuan Tahunan PATPI*. Yogyakarta. Hal. 1-4.