Analisis Numerik Khamir dari Nektar Bunga Kebun Raya Baturraden dan Panggeran Hargobinangun

Numerical Analysis of Flower Nectar Yeast from Baturraden Botanical Garden and Panggeran Hargobinangun

Setiady CEB¹, Ilmi M¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281

Setiady CEB, Ilmi M. 2018 – Analisis Numerik Khamir dari Nektar Bunga Kebun Raya Baturraden dan Panggeran Hargobinangun 2 (2), 90–98.

Abstrak

Khamir pada nektar bunga masih belum banyak diteliti di Indonesia. Padahal keragaman tanaman di Indonesia sangat tinggi karena letak geografis dan iklimnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari hubungan kekerabatan khamir pada nektar bunga melalui pendekatan taksonomi numerik. Metode yang dilakukan adalah mengisolasi khamir dari nektar bunga di Kebun Raya Baturraden dan Padukuhan Panggeran, Hargobinangun. Hasil isolasi kemudian dipurifikasi hingga menjadi isolat murni, kemudian diamati karakter morfologi, fisiologi, dan biokimia. Data dianalisis dengan koefisien *Jaccard*, dikelompokkan dengan metode UPGMA, dan disajikan dalam bentuk dendrogram. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada dendrogram *Jaccard's Coefficient* dengan menggunakan *cut-off* 70%, didapatkan 3 kluster dan 1 *outlier*. Kluster I dan *outlier* IV yang berasal dari Padukuhan Panggeran diduga merupakan khamir *Basidiomycetes*, memiliki indeks kesamaan 63%. Sementara kluster II dan III yang berasal dari Kebun Raya Baturraden, diduga merupakan khamir *Ascomycetes* dan memiliki indeks kesamaan 62%.

Kata kunci – Kebun Raya Baturraden – khamir – nektar bunga – Panggeran – polinator

Abstract

A study on the flower nectar yeast in Indonesia has not been widely reported. Even though the diversity of plants in Indonesia is very high due to its geographical location and climate. Therefore, this study was aimed to determine the flower nectar yeast relationship through a numerical taxonomic method. Samples were collected from Baturraden Botanical Garden and Panggeran village. Isolation of yeast was conducted using BSEA (Bean Sprouts Extract Agar). Data from morphological, physiological, and biochemical characters was analyzed using UPGMA method with *Jaccard coefficient*. The result showed that 3 clusters and 1 outlier were determined in the dendrogram using 70% cut-off *Jaccard's Coefficient*. Cluster I and outlier IV from Panggeran village belong to basidiomycetous yeast with 63% similarity. While clusters II and III from the Baturraden Botanical Gardens belong to ascomycetous yeast with 62% similarity.

Key words – Baturraden Botanical Garden – flower nectar - Panggeran – pollinator – yeast

Pendahuluan

Indonesia memiliki keragaman tumbuhan yang tinggi karena letak geografis dan iklimnya, dan 55% tumbuhan berbunga di Indonesia merupakan tumbuhan endemik, menjadikan Indonesia sangat kaya akan keragaman tumbuhan berbunga. Nektar pada bunga, menjadi salah satu daya tarik bagi polinator untuk hinggap dan membantu penyerbukannya. Nektar merupakan senyawa dengan kandungan gula tinggi dan bersifat osmofil yang relevan dengan habitat hidup mikroorganisme seperti khamir. Nektar mengandung gula seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa, dengan konsentrasi yang berbeda tergantung pada jenis tumbuhan dan polinatornya (Chalcoff *et al.* 2006, Convention on Biological Diversity 2017).

Keberagaman khamir dalam nektar bunga dilaporkan cukup tinggi. Pozo *et al.* (2011) menemukan bahwa dari nektar bunga 24 jenis tumbuhan di bagian selatan Spanyol, khamir jenis *Metschnikowiareukaufii* dan *M. gruessii* paling mendominasi dari total 216 isolat yang didapatkan. Selain *Metschnikowia*, ditemukan juga khamir yang termasuk dalam marga *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, dan *Lecythophora*. de Vega *et al.* (2009) meneliti bahwa keragaman khamir pada nektar, berkorelasi dengan tipe polinator. Polinator berupa burung, teramati diversitas khamir pada bunga tinggi, sementara pada tanaman dan bunga dengan polinator *Hymenoptera*, diversitas khamir rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Vega dan Herrera (2012) menunjukkan bahwa serangga baik semut maupun polinator memegang peran penting terhadap populasi khamir pada nektar bunga. Fokus penelitian di Indonesia yang berkaitan dengan keanekaragaman khamir, khususnya yang berhubungan dengan nektar dan polinator masih belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi keanekaragaman khamir pada nektar bunga. Tujuan dari penelitian ini untuk mempelajari hubungan kekerabatan khamir pada nektar bunga melalui pendekatan taksonomi numerik fenetik.

Metoda Penelitian

Isolasi dan purifikasi isolat

Isolasi dilakukan dengan modifikasi metode dari Pozo *et al.* (2011). Nektar sampel bunga yang didapatkan dari Kebun Raya Baturraden dan Padukuhan Panggeran diinokulasikan kedalam medium *Bean Sprouts Extract Agar* (BSEA) pada cawan petri dengan metode *swab*, diinkubasi suhu 30°C selama 2-5 hari. Isolat yang tumbuh diseleksi dan dipurifikasi hingga menjadi isolat murni, kemudian disimpan di medium *Malt Extract Agar* (MEA).

Karakterisasi morfologi dan fisiologi

Pengujian karakter terhadap isolat khamir dilakukan dengan menggunakan panduan dari buku "The Yeast: A Taxonomic Study" oleh Kurtzman & Fell (1998) dan Kurtzman *et al.* (2011). Karakter morfologi yang dikoleksi yaitu morfologi koloni meliputi warna, bentuk, permukaan, teksur, elevasi dan tepian koloni dan juga adanya *pellicle*; karakter morfologi sel meliputi bentuk, panjang dan lebar sel, perkembangbiakan aseksual, tipenya dan keberadaan pseudohifa. Pengujian karakter fisiologis yang dilakukan adalah fermentasi glukosa, galaktosa, sukrosa, maltosa dan laktosa, uji asimilasi sumber karbon dan nitrogen yaitu glukosa, galaktosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manitol, asam sitrat, xilosa serta nitrit dan nitrat, pertumbuhan pada 1% asam asetat, produksi asam dari medium mengandung glukosa, pertumbuhan pada suhu 25°C, 30°C dan 37°C, pertumbuhan pada 50% dan 60% glukosa, hidrolisis urea dan pencairan gelatin.

Analisis data

Seluruh hasil pengamatan ditabulasikan dalam tabel $n \times t$, n untuk karakter yang diuji dan t untuk *Operational Taxonomical Unit* (OTU) yang digunakan. Hasil positif (+) bernilai 1, sementara hasil negatif (-) bernilai 0. Jika terdapat hasil ulangan yang berbeda, maka pengujian pada isolat tersebut diulang hingga hasil yang didapatkan seragam/ dominan. Data kemudian dianalisis menggunakan program *Multi Variate Statistical Package* (MVSP) berbasis Windows. Analisis hubungan kekerabatan didasarkan pada taksonomi numerik, yang menggunakan sifat-sifat pengujian fisiologis, biokimia dan sifat-sifat lainnya untuk mengklasifikasikan organisme (Sneath 2001). Similaritas tiap OTU dihitung dengan menggunakan *Jaccard's Coefficient* (Priestland Austin, 1993):

$$\text{Jaccard Coefficient: } \frac{a}{a + b + c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = jumlah karakter *doublepositive* pada kedua OTU yang diuji

b = jumlah karakter OTU pertama positif, sementara OTU kedua negatif

c = jumlah karakter OTU pertama negatif, OTU kedua positif

Analisis pengelompokan menggunakan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average Mean* (UPGMA). Hasil pengelompokan ini kemudian disajikan dalam dendrogram.

Hasil

Isolasi khamir yang dilakukan menghasilkan total 20 isolat khamir dari kedua lokasi, dengan rincian 7 isolat dari sampel bunga Kebun Raya Baturraden dan 13 isolat dari Panggeran Hargobinangun (Tabel 1, Gambar 1).

Hasil *clustering* dari karakter yang telah diambil menunjukkan bahwa dengan *cut-off* sebesar 70%, terdapat 3 klaster dan 1 *outlier* (Gambar 2). Klaster I beranggotakan seluruh isolat PG kecuali PG2.2, klaster II terdiri dari isolat BL6.4, BL8.21 dan BL8.22, anggota klaster III merupakan isolat BL6.1, BL6.22, BL7.1 dan BL7.2 dan 1 *outlier* yaitu isolat PG2.2.

Tabel 1 Kode sampel, jumlah dan kode isolat khamir dan marga sampel tanaman di Kebun Raya Baturraden dan Panggeran

Lokasi Sampel	Kode sampel	Jumlah isolat	Kode isolat khamir	Marga sampel
Kebun Raya Baturraden	RA31	0	-	-
	RA32	0	-	-
	RA33	0	-	-
	RA34	0	-	-
	RA35	0	-	-
	RA36	0	-	-
	RA37	0	-	-
	RA38	0	-	-
	BL1	0	-	-
	BL2	0	-	-
	BL3	0	-	-
	BL4	0	-	-
	BL5	0	-	-
	BL6	3	BL6.1, BL6.22, BL6.4	<i>Hymenocallis</i>

Lokasi Sampel	Kode sampel	Jumlah isolat	Kode isolat khamir	Marga sampel
Panggeran (Asta Bunda)	BL7	2	BL7.1, BL7.2	<i>Vanda</i>
	BL8	2	BL8.21, BL8.22	<i>Costus</i>
	PL1	0	-	-
	PL2	0	-	-
	FB1	0	-	-
	FB2	0	-	-
	FB3	0	-	-
	FB4	0	-	-
	FB5	0	-	-
	FB6	0	-	-
	MG1	0	-	-
	PG1	3	PG1.1, PG1.2, PG1.3	<i>Petunia</i>
	PG2	1	PG2.2	<i>Petunia</i>
	PG3	0	-	-
	PG4	1	PG4.3	<i>Torenia</i>
	PG5	2	PG5.4, PG5.5	<i>Saintpaulia</i>
	PG6	0	-	-
	PG7	0	-	-
	PG8	0	-	-
	PG9	0	-	-
	PG10	2	PG10.11, PG10.12	<i>Capsicum</i>
	PG11	0	-	-
	PG12	4	PG12.1, PG12.2, PG12.3, PG12.4	<i>Ochna</i>

Gambar 1 Sampel Tanaman mengandung khamir. A.*Hymenocallis* sp.(BL6). B.*Vanda* sp. (BL7). C.*Costus* sp.(BL8). D.*Petunia* sp.(PG1). E.*Petunia* sp.(PG2). F.*Torenia* sp. (PG4). G.*Saintpaulia* sp.(PG5). H.*Capsicum* sp.(PG10). I.*Ochna* sp.(PG12)

Gambar 2 Dendrogram analisis kluster 20 isolat khamir dari Kebun Raya Baturraden dan Panggeran, Hargobinangun dengan *Jaccard's Coefficient*

Tabel 2 Persentase karakter positif yang dimiliki isolat pada masing-masing kluster khamir

No	Karakter	Subkarakter	Persentase isolat positif (%)			
			Klaster I	Klaster II	Klaster III	Outlier
1	Bentuk Koloni	<i>Circular</i>	100	100	100	100
2	Warna Koloni	<i>White</i>	0	100	100	0
3		<i>Cream</i>	50	0	0	0
4		<i>Creamy Brown</i>	50	0	0	100
5	Permukaan Koloni	<i>Dull</i>	75	67	25	0
6		<i>Glistening</i>	0	33	50	100
7		<i>Smooth</i>	25	0	25	0
8		<i>Wrinkled</i>	33	0	0	0
9		<i>Less Wrinkled</i>	67	0	0	0
10	Tekstur Koloni	<i>Butyrous</i>	100	100	100	100
11	Elevasi Koloni	<i>Raised</i>	100	0	25	100
12		<i>Convex</i>	0	100	75	0
13	Tepi Koloni	<i>Entire</i>	67	100	100	100
14		<i>Entire with filament</i>	33	0	0	0
15	Pertumbuhan pada Medium Cair	<i>Floating Pellicle</i>	100	100	0	100
16	<i>Pellicle</i>	<i>Wrinkled</i>	83	0	0	0
17		<i>Dull</i>	17	0	0	100
18		<i>Glistening</i>	0	100	0	0
19	Bentuk Sel	<i>Broadly Ellipsoidal</i>	0	33	25	0
20		<i>Ellipsoidal</i>	8	67	75	0
21		<i>Oval</i>	0	0	0	100
22	Bentuk Sel	<i>Fusiform</i>	92	0	0	0

23	Rerata Panjang Sel	$X, ^{-} < 4 \mu\text{m}$	0	100	0	100
24		$4 \leq X, ^{-} \leq 6 \mu\text{m}$	17	0	100	0
No	Subkarakter	Persentase isolat positif (%)				
		Klaster I	Klaster II	Klaster III	Outlier	
25		$X, ^{-} > 6 \mu\text{m}$	83	0	0	0
26	Rerata Lebar Sel	$X, ^{-} < 2 \mu\text{m}$	42	0	0	0
27		$2 \leq X, ^{-} \leq 3 \mu\text{m}$	58	100	50	100
28		$X, ^{-} > 3 \mu\text{m}$	0	0	50	0
29	Reproduksi Aseksual	<i>Budding</i>	100	100	100	100
30	Tipe Pertunasan	<i>Unipolar</i>	0	67	0	0
31		<i>Polar</i>	100	0	0	100
32		<i>Multilateral</i>	0	33	100	0
33	Pseudohifa	<i>Positive</i>	100	0	50	100
34		<i>Negative</i>	0	100	50	0
35	Asimilasi Sumber	<i>Glucose</i>	100	100	100	100
36	Karbon dan	<i>Galactose</i>	100	100	100	100
37	Nitrogen	<i>Sucrose</i>	100	100	100	100
38		<i>Lactose</i>	100	100	100	100
39		<i>Maltose</i>	100	100	100	100
40		<i>Mannitol</i>	100	100	100	100
41		<i>CitricAcid</i>	100	100	100	100
42		<i>Xylose</i>	100	100	100	100
43		<i>Nitrate</i>	100	100	75	100
44		<i>Nitrite</i>	100	100	100	100
45	Fermentasi Glukosa	<i>Strong Positive</i>	0	100	100	0
46		<i>Weak Positive</i>	50	0	0	100
47		<i>Non-Fermented</i>	50	0	0	0
48	Fermentasi Galaktosa	<i>Weak Positive</i>	0	67	25	0
49		<i>Non-Fermented</i>	100	33	75	100
50	Fermentasi Sukrosa	<i>Strong Positive</i>	0	100	0	0
51		<i>WeakPositive</i>	0	0	100	100
52		<i>Non-Fermented</i>	100	0	0	0
53	Fermentasi Laktosa	<i>Non-Fermented</i>	100	100	100	100
54	Fermentasi Maltosa	<i>StrongPositive</i>	0	100	100	0
55		<i>Non-Fermented</i>	100	0	0	100
56	Pertumbuhan pada 1% Asam Asetat	<i>Negative</i>	100	100	100	100
57	Produksi asam dari glukosa	<i>Negative</i>	100	100	100	100
58	Pertumbuhan pada berbagai suhu	$25^{\circ} C$	100	100	100	100
59		$30^{\circ} C (+)$	100	100	100	100
60		$37^{\circ} C (+)$	100	0	25	100
61		$37^{\circ} C (-)$	0	100	75	0
62	Pertumbuhan pada 50% glukosa	<i>Positive</i>	67	67	100	0
63		<i>Negative</i>	33	33	0	100
64	Pertumbuhan pada 60% glukosa	<i>Positive</i>	0	0	25	0
65		<i>Negative</i>	100	100	75	100
66	Pertumbuhan pada 10% NaCl+ 5% glukosa	<i>Positive</i>	17	0	75	100
67		<i>Slow Positive</i>	83	0	25	0
68		<i>Negative</i>	0	100	0	0
69	Hidrolisis Urea	<i>Positive</i>	100	0	0	100
70		<i>Negative</i>	0	100	100	0

71	Pencairan Gelatin	<i>Positive</i>	100	67	100	100
72		<i>Negative</i>	0	33	0	0

Pembahasan

Berdasarkan tahapan isolasi yang telah dilakukan, dari 25 sampel bunga yang diambil di Kebun Raya Baturraden, Jawa Tengah, populasi khamir hanya ditemukan pada 3 sampel bunga (12%). Sementara dari 12 sampel bunga Padukuhan Panggeran, Hargobinangun, D.I. Yogyakarta yang dikoleksi dan diisolasi, populasi khamir didapati pada 6 sampel bunga (50%) (Tabel 1). Rendahnya populasi khamir pada sampel Kebun Raya Baturraden (selanjutnya disebut KRB), dimungkinkan karena sehari sebelum pengambilan sampel nektar turun hujan. Turunnya hujan dimungkinkan menghilangkan populasi mikrobial nektar, sehingga isolat khamir yang didapatkan sedikit.

Hasil analisis dengan *Jaccard's Coefficient*, menggunakan *cut-off* pada indeks kesamaan (*similarity*) 70%, didapatkan 3 klaster dan 1 *outlier* berupa isolat tunggal, PG2.2 (Gambar 2). Penggunaan *cut-off* pada indeks kesamaan 70% didasarkan pada penelitian Campbell (1972) yang menyatakan bahwa isolat yang memiliki indeks kesamaan lebih dari 70% termasuk kedalam satu marga yang sama. Sehingga dari hasil analisis yang telah dilakukan, diduga terdapat 4 marga khamir yang berbeda.

Berikut adalah karakteristik kunci yang membedakan tiap marga dengan marga lainnya.

1. **Klaster/marga I** (PG1.1, PG1.2, PG1.3, PG4.3, PG5.4, PG5.5, PG10.11, PG10.12, PG12.1, PG12.2, PG12.3 dan PG12.4) memiliki koloni *raised*, perkembangbiakan aseksual dengan *polar budding*, memiliki pseudohifa, umumnya memiliki bentuk sel fusiform, dapat mengasimilasi nitrat, tidak mampu memfermentasi galaktosa, maltosa, dan sukrosa, mampu tumbuh pada suhu 37⁰ C, mampu tumbuh pada 10% NaCl dan 5% glukosa, tidak mampu tumbuh pada glukosa 60%, mampu menghidrolisis urea, dan mampu melarutkan gelatin.
2. **Klaster/marga II** (BL6.4, BL8.21 dan BL8.22) memiliki koloni berwarna putih, *convex*, tepian *entire*, membentuk *floating glistening pellicle*, panjang sel kurang dari 4 μ m, lebar sel antara 2-3 μ m, bertunas, tidak memiliki pseudohifa, mampu mengasimilasi nitrat, mampu memfermentasi glukosa, sukrosa dan maltosa, tidak mampu tumbuh pada suhu 37⁰ C, tidak mampu tumbuh pada glukosa 60%, dan tidak mampu menghidrolisis urea.
3. **Klaster/marga III** (BL6.1, BL6.22, BL7.1 dan BL7.2) memiliki karakter berupa warna koloni putih, *butyrous*, *entire*, panjang sel 4-6 μ m, perkembangbiakan aseksual dengan pertunasan multilateral, mampu memfermentasi glukosa, maltosa dan sukrosa (lemah), mampu tumbuh pada suhu 37⁰ C, mampu tumbuh pada glukosa 50%, tidak mampu menghidrolisis urea, dan mampu melarutkan gelatin.
4. **Outlier IV** (PG2.2) memiliki koloni *raised*, perkembangbiakan aseksual dengan *polar budding*, memiliki pseudohifa, memiliki bentuk sel oval, dapat mengasimilasi nitrat, mampu memfermentasi glukosa (lemah), maltosa (lemah), dan sukrosa (lemah), mampu tumbuh pada suhu 37⁰ C, mampu tumbuh pada 10% NaCl dan 5% glukosa, tidak mampu tumbuh pada glukosa 50% dan 60%, mampu menghidrolisis urea, dan mampu melarutkan gelatin.

Berdasarkan uji karakter yang telah dilakukan terhadap seluruh isolat, beberapa karakter bernilai sama untuk semua isolat, seperti hasil negatif pada uji fermentasi laktosa, pertumbuhan pada 1% asam asetat, dan produksi asam dari glukosa (Tabel 2). Seluruh isolat memiliki kenampakan koloni *butyrous*, atau menyerupai mentega. Seluruh isolat juga mampu mengasimilasi glukosa, galaktosa, maltosa, sukrosa, laktosa, asam sitrat, xilosa, manitol dan nitrit.

Klaster/marga I diduga merupakan khamir *Basidiomycetes*, karakteristik utama adalah tidak memiliki kemampuan fermentasi, yang membedakan dengan *outlier* IV. Klaster ini dibedakan dengan klaster II dan III pada karakter pseudohifa, dimana seluruh isolat pada klaster I memiliki pseudohifa. Isolat ini juga mampu melarutkan gelatin yang menunjukkan kemampuan proteolitik.

Klaster/marga II diduga merupakan khamir *Ascomycetes* dilihat dari karakter uji hidrolisis urea yang bernilai negatif. Isolat ini merupakan isolat fermentatif yang baik, terlihat dari kemampuannya memfermentasi glukosa, maltosa dan sukrosa. Diduga hasil fermentasi yang dihasilkan adalah alkohol, mengingat tidak adanya isolat yang mampu memproduksi asam dari glukosa.

Klaster/marga III diduga merupakan khamir *Ascomycetes*, dan yang membedakannya dengan kluster II adalah klaster ini hanya menghasilkan hasil *weak positive* pada fermentasi sukrosa. Perbedaan lain adalah kemampuan dalam melarutkan gelatin yang menunjukkan aktifitas proteolitik pada seluruh isolat klaster III. Klaster ini memiliki ukuran sel yang cenderung lebih besar jika dibandingkan dengan klaster II. Klaster ini memiliki kesamaan dengan klaster II dimana tidak adanya pseudohifa yang terbentuk dan memiliki bentuk koloni yang mirip.

Penelitian Pozo *et al.* (2009) menyatakan bahwa dimungkinkan khamir, yang banyak menjadikan nektar bunga tanaman *Angiosperm* sebagai habitatnya, memiliki peranan untuk menjadi agen perantara persinyalan antara tanaman dengan polinator melalui aroma hasil fermentasi gula yang khas. Aroma yang dihasilkan dari fermentasi diduga menarik polinator untuk hinggap dan menyerbukinya atau membawa polen ke bunga yang lain. Penelitian ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Good *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa keberadaan mikrobia berupa bakteri di dalam nektar mempengaruhi preferensi lebah madu (*Apis mellifera*). *A. mellifera* cenderung menghindari nektar mengandung bakteri, namun tidak pada nektar mengandung khamir. Diduga bahwa bukan keberadaan bakteri yang membuat *A. mellifera* menghindari nektar, namun karena senyawa kimia yang ada pada nektar akibat aktifitas bakteri. Hipotesa ini mendukung hasil yang didapatkan. Pada kedua lokasi sampel, ada kemiripan antar isolat yang ditemukan di masing-masing lokasi, dimanasiimilaritas antara klaster II dan III yang berasal dari Kebun Raya Baturraden adalah 62%. Sedangkan tingkat similiaritas pada klaster I dan *outlier* IV yang berasal dari Panggeran adalah 63%, mengindikasikan bahwa kekerabatan antar spesies dalam satu lokasi cukup dekat.

Berdasarkan hasil yang didapatkan dapat disimpulkan bahwa khamir yang berasal dari Kebun Raya Baturraden memiliki karakteristik kunci yaitu warna koloni putih, memiliki aktifitas fermentasi serta tidak mampu menghidrolisis urea. Khamir yang berasal dari Padukuhan Panggeran memiliki karakteristik kunci yaitu koloni yang berwarna jingga kecoklatan, tidak/ rendahnya aktifitas fermentasi serta teramatinya aktifitas hidrolisis urea. Klasifikasi numerik fenetik dengan *Jaccard's Coefficient* dan *cut-off* pada indeks kesamaan 70% menghasilkan 3 klaster yaitu klaster I, klaster II dan klaster III serta 1 outlier. Klaster I dan *outlier* diduga merupakan khamir *Basidiomycota*, sedangkan klaster II klaster III diduga khamir *Ascomycota*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Kepala Kebun Raya Baturraden, Purwokerto, serta pemilik pembibitan bunga di Padukuhan Panggeran Hargobinangun, D.I. Yogyakarta, yang telah memberikan izin untuk pengambilan sampel.

Pustaka

- Campbell I. 1972 – Numerical analysis of the genera *Saccharomyces* and *Kluyveromyces*. J Gen Microbiol 73, 279–301.
- Chalcoff VR, Aizen MA, Galetto L. 2006 – Nectar concentration and composition of 26 species from the temperate forest of South America. Ann Bot 97, 413–21.
- Convention on Biological Diversity. 2017 – Indonesia - country profile. [accessed 2018 Jan 10]. <https://www.cbd.int/countries/profile/default.shtml?country=id#facts>.
- Good AP, Gauthier ML, Vannette RL, Fukami T. 2014 – Honey bees avoid nectar colonized by three bacterial species, but not by a yeast species, isolated from the bee gut. PLOS One 9(1), e86494.
- Kurtzman CP, Fell JW. 1998 – The yeasts, ataxonomic study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier Science.
- Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. 2011 – The yeasts: ataxonomic study. 5th ed. London: Elsevier Science.
- Pozo MI, Herrera CM, Bazaga P. 2011 – Species richness of yeast communities in floral nectar of southern Spanish plants. MicrobEcol 61, 82–91.
- Pozo MI, Vega C De, Canto A, Herrera CM. 2009 – Presence of yeasts in floral nectar is consistent with the hypothesis of microbial-mediated signaling in plant-pollinator interactions. Plant Signal Behav 4, 1102–1104.
- Vega C De, Herrera CM. 2012 – Relationships among nectar-dwelling yeasts, flowers and ants: patterns and incidence on nectar traits. Oikos 121, 1–11.
- de Vega C, Herrera CM, Johnson SD. 2009 – Yeasts in floral nectar of some South African plants: quantification and associations with pollinator type and sugar concentration. South African J Bot 75, 798–806.