

Fermentasi nira nipah (*Nypa fruticans Wurmb*) menjadi bioetanol menggunakan kombinasi ragi *Pichia stipitis* dan *Saccharomyces cereviceae* dalam BIOFLO 2000 FERMENTOR

Riki Antoni, Chairul dan Hafidawati

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya
Jalan Raya HR.Subrantas km 12,5 Pekanbaru – Riau Telp. 0761-566937 / 085271039368
email : riki.antoni81@gmail.com

Abstract

*Indonesian palm forest land has a very broad (973,205.54 ha) spread on the island of Sumatra, Kalimantan, Sulawesi and Irian Jaya. Ethanol consumption of the world for a variety of uses has increased very significantly in recent years. Nipa sap is one of potential materials to be processed into bioethanol. Availability of nypa palm land in Indonesia and a fairly high sugar content (15-17%) makes nipa sap has the potential to be processed into bioethanol. Fermentation of palm sap using a combination of yeast *Saccharomyces* and *Pichia stipitis cereviceae* with starter volume variation of 10%, 15%, 20% and fermentation time variation of 6,12,24,48,72 and 96 hours to determine the effect on bioethanol yield, the use of substrates and growth phase combination of yeast *Saccharomyces* and *Pichia stipitis cereviceae*. The degree of acidity of the fermentation medium is maintained at pH 4,5, stirring speed of 200 rpm and temperature of fermentation at room temperature (25 - 30 °C). Ethanol concentrations were analyzed using alcoholmeter. The process of optimum fermentation conditions indicated in the addition of 20% volume starter and fermentation time of 48 hours of the initial sugar concentration of 193,382 mg/ml. Bioethanol concentration obtained in this condition is 12% (v/v) or 94,716 mg/ml with the acquisition of 95,849% yield.*

Keywords : Bioethanol, Nipa Sap, Fermentation, *Pichia stipitis*, *Saccharomyces cereviceae*.

Pendahuluan

Nipah merupakan salah satu spesies utama penyusun hutan mangrove dengan komposisi sekitar 30% dari total luas area mangrove [Agushoe, 2009]. Data hasil pemetaan Pusat Survey Sumber Daya Alam Laut (PSSDAL)-Bakosurtanal dengan menganalisis data citra Landsat ETM (akumulasi data citra tahun 2006-2009, 190 *scenes*), mengestimasi luas mangrove di Indonesia adalah 3.244.018,46 ha [Hartini *et al.*, 2010]. Dengan luas area mangrove tersebut, maka diperkirakan terdapat 973.205,54 ha hutan nipah di Indonesia.

Propinsi Riau merupakan salah satu daerah terluas di Indonesia yang ditumbuhi oleh tanaman nipah. Terdapat sekitar 41.530,09 ha hutan nipah di sepanjang pesisir pantai Kabupaten Rokan Hilir serta Kabupaten Indragiri Hilir (Dinas Kehutanan Propinsi Riau, 2010). Pada saat ini, nira nipah disadap hanya untuk diminum, sedangkan daun nipah dimanfaatkan sebagai bahan pembuat atap, dinding, aneka keranjang anyaman dan untuk daun rokok.

Salah satu alternatif pemanfaatan tanaman nipah adalah sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Menurut Rachman (1991) nira nipah mengandung sukrosa sebanyak 13-17%, ini merupakan suatu bahan yang sangat potensial untuk diolah menjadi bioetanol. Bioetanol merupakan salah satu sumber energi terbarukan yang dapat menggantikan atau sebagai campuran bahan bakar fosil, banyak digunakan pada minuman, kosmetik, pada bidang kesehatan sebagai zat antiseptik, *solvent*, serta sebagai bahan baku industri. Kebutuhan etanol di dunia untuk berbagai penggunaan semakin bertambah beberapa tahun belakangan ini. Pada tahun 2010, konsumsi etanol di dunia diperkirakan mencapai 82,13 juta liter dan ditahun 2015 diperkirakan meningkat 171,23 juta liter (Raya Industrial, 2010). Dengan melihat kondisi tersebut, maka Propinsi Riau berpotensi untuk memproduksi bioetanol dari nira nipah sehingga dapat berperan dalam memenuhi kebutuhan etanol dunia

Sodiq (2012) melakukan fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan *yeast Saccharomyces cereviceae* dengan variasi volume starter 10%, 15%, 20% dan variasi waktu fermentasi 6,12,24,48,72 dan 96 jam memperoleh kadar

bioetanol tertinggi dari fermentasi nira nipah murni pada volume starter 10% dan waktu fermentasi 48 jam yaitu dengan kadar bioetanol sebesar 12% (v/v). Jenova (2012) melakukan fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan *yeast Pichia stipitis* dengan variasi volume starter 10%, 15%, 20% dan variasi waktu fermentasi 6,12,24,48,72 dan 96 jam memperoleh kadar bioetanol tertinggi dari fermentasi nira nipah murni pada volume starter 20% dan waktu fermentasi 48 jam yaitu dengan kadar bioetanol sebesar 9% (v/v).

Pada penelitian ini akan dilakukan fermentasi nira nipah menggunakan kombinasi *yeast Saccharomyces cereviceae* dan *Pichia stipitis* dengan variasi volume starter 10%, 15%, 20% dan variasi waktu fermentasi 6,12,24,48,72 dan 96 jam untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perolehan bioetanol dan penggunaan substrat.

Landasan Teori

Nipah

Nipah adalah sejenis palem (palma) yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang-surut air laut. Nama ilmiah tumbuhan nipah adalah *Nypa fruticans wurmb.* Batang pohon nipah membentuk rimpang yang terendam oleh lumpur. Akar serabutnya dapat mencapai panjang 13 m. Panjang anak daun dapat mencapai 100 cm dan lebar daun 4-7 cm. Daun nipah yang sudah tua berwarna kuning, sedangkan daunnya yang masih muda berwarna hijau. Banyaknya anak daun dalam tiap tandan mencapai 25-100 helai (Vernandos, 2008).

Cairan manis yang dikandung nipah memiliki kadar gula (*sucrose*) antara 15-17 %-brix. Dengan kandungan itu, maka nira nipah berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku industri bioetanol. Satu tangkai bunga nipah mampu memproduksi sekitar 3 liter nira per hari, Setiap tangkai dapat dipanen terus menerus selama sekitar 20 hari. Setiap rumpun pohon Nipah mampu menghasilkan sekitar 4 tangkai pada waktu bersamaan. Dengan demikian, satu pohon nipah dapat menghasilkan 12 liter nira per hari (Riyadi, 2010)

Tabel 1. Komposisi Nira Nipah(Rachman,1991).

Komposisi	% (w/v)
Air	60 – 70
Brix	15 – 17
Sukrosa	13 – 17
Gula Pereduksi	0,2 - 0,5
Abu	0,3 - 0,7

Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dari bahan baku nabati. Bioetanol merupakan cairan hasil proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat dengan menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat dibuat dari tiga kelompok bahan baku yaitu bahan yang mengandung gula seperti tebu dan nira, bahan berpati seperti jagung dan ubi –

ubian, serta bahan berserat berupa limbah pertanian yang saat ini terus dikembangkan di negara maju (Humasristek, 2006)

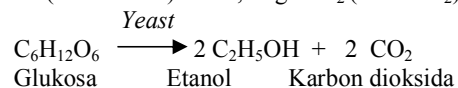
Pembuatan bioetanol dari bahan yang mengandung gula relatif lebih mudah dan murah dibandingkan bahan berpati dan berselulosa, hal ini disebabkan karena pada bahan yang mengandung gula tidak perlu perlakuan pendahuluan (*Pretreatment*) seperti proses liquifikasi, pemasakan, sakarifikasi dan hidrolisis. Tetapi jika ditinjau dari segi harga bahan baku, bahan yang mengandung gula lebih mahal dari bahan berpati dan berselulosa.

Biotanol mempunyai empat karakteristik yang sesuai sebagai bahan bakar yaitu: bentuknya cairan sehingga mudah bergerak, nilai kalor 2/3 nilai kalor gasolin, dapat dicampurkan sampai 10% pada bensin untuk meningkatkan angka oktan, dan dapat meningkatkan angka oktan bensin tanpa timbal. Selain sebagai bahan bakar, bioetanol banyak digunakan pada minuman, kosmetik, kesehatan, *solvent*, serta sebagai bahan baku industri.

Fermentasi

Fermentasi merupakan proses perubahan-perubahan kimia dalam suatu substrat organik yang berlangsung karena aksi katalisator biokimiawi yaitu enzim yang dihasilkan oleh mikroba hidup tertentu. Untuk berlangsungnya proses fermentasi oleh suatu mikroba perlu adanya medium fermentasi yang mengandung nutrien untuk pertumbuhan, bahan pembentuk sel, dan biosintesis produk-produk metabolisme (Rachman, 1991).

Fermentasi untuk menghasilkan etanol oleh ragi merupakan perubahan gula-gula heksosa sederhana menjadi etanol dan CO₂ secara anaerob, udara tidak diperlukan selama proses fermentasi. Menurut Suwahyono (1994) pada fermentasi terjadi pemecahan senyawa induk, dimana 1 molekul glukosa akan menghasilkan 2 molekul etanol, 2 molekul CO₂ dan pembebasan energi. Secara teoritis bahwa 1 gr gula akan dikonversikan menjadi 0,51 gr etanol (51% etanol) dan 0,49 gr CO₂ (49% CO₂).



Pada penelitian ini digunakan kombinasi *yeast Pichia stipitis*. *Pichia stipitis* merupakan *yeast* yang memiliki kemampuan mengubah xilosa menjadi bioetanol. *Pichia stipitis* merupakan golongan *yeast* yang diisolasi dari kayu lapuk (Yusra dkk, 2010). *Pichia stipitis* bisa digunakan baik aerobik dan fermentasi anaerobik. *Pichia stipitis* memiliki keunggulan selain mampu memfermentasi Xilosa, juga mampu memfermentasi Glukosa, Galaktosa, Manosa, dan Selobiosa serta nutrisi yang dibutuhkan pada waktu fermentasi rendah. *Sacharomyces cereviceae* lebih banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial dibandingkan dengan khamir lainnya. Hal ini disebabkan karena *Sacharomyces cereviceae* dapat

memproduksi alkohol dalam jumlah yang besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi. Kadar alkohol yang dihasilkan sebesar 8 – 20% pada kondisi optimum. *Saccharomyces cerevisiae* adalah yeast yang berkembangbiak secara pembelahan (budding). *Saccharomyces cereviceae* bersifat stabil, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, mudah di dapat dan mudah dalam pemeliharaan [Sudarmadji, 1989].

Adapun faktor – faktor yang mempengaruhi fermentasi diantaranya adalah : konsentrasi gula didalam substrat, komposisi nutrisi, jenis yeast yang digunakan, derajat keasamaan (pH), temperatur dan oksigen (aerasi). Faktor – faktor tersebut merupakan hal yang perlu diperhatikan selama proses fermentasi agar fermentasi dapat dilakukan dengan optimal sehingga perolehan bioetanol dapat dihasilkan semaksimal mungkin.

Metodologi

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah nira nipah, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Yeast Pichia stipitis*, ragi *Saccharomices cereviceae*, aquades, HCl, NaOH, (NH₂)₂CO (Urea), NH₄H₂PO₄ (NPK), dan reagen Nelson-Samogyi.

Alat-alat yang digunakan adalah rangkaian alat Bioflo 2000 Fermentor, Alkoholmeter, *Autoclave*, *Incubator*, *Shaker*, Rangkaian alat distilasi, Erlenmeyer, Tabung reaksi, Timbangan Analitik, Cawan Petri dan Jarum Ose.

Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

Variabel Tetap. Medium Fermentasi : 8000 ml nira nipah murni; pH awal : 4,5; Suhu : Suhu Kamar; Pengadukan : 200 rpm; Urea (46% N) : 0,4 gr/l; dan NPK (16% P) : 0,5 gr/l

Variabel Berubah. Waktu pengambilan sampel : 6;12;24;48; 72 dan 96 jam serta Volume starter : 10%;15% dan 20%.

Prosedur Penelitian

Persiapan Medium Fermentasi. Medium fermentasi adalah nira nipah murni yang diberi garam-garam nutrisi untuk pertumbuhan yeast. Konsentrasi glukosa awal dianalisa dengan metode Nelson-Samogyi. Nutrisi yang dibutuhkan adalah urea (0,4 g/l) dan NPK (0,5 g/l).

Pembuatan Kurva Standar Glukosa. Kurva standar glukosa berfungsi untuk menganalisa gula awal dan akhir nira nipah. Kurva dibuat menggunakan reagen Nelson-Samogyi.

Tahap Sterilisasi. Semua alat-alat dan bahan kecuali yeast harus di sterilisasi terlebih dahulu di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.

Penyiapan Inokulum Yeast. *Pichia stipitis* segar dari stok pembiakan dan *Saccharomycess Cereviceae* diinokulasi dalam medium fermentasi (nira nipah yang sudah diberi garam-garam nutrisi) sesuai dengan volume starter yang diinginkan di dalam erlenmeyer 1 L. Sebelum diinokulasi,

medium disterilisasi uap dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu kamar. Setelah dingin yeast *Pichia sitipitis* dimasukan ke dalam medium fermentasi sebanyak 1 jarum ose /50 ml, dan untuk *Saccharomycess Cereviceae* dimasukkan kedalam medium fermentasi sebanyak 2 gram/100 ml. Volume larutan kedua yeast yang akan digunakan sebagai starter adalah masing-masing 1/2 dari total volume starter. Kemudian inokulum *Pichia sitipitis* dan inokulum *Saccharomycess Cereviceae* dikocok dengan shaker pada suhu kamar selama 24 jam.

Tahap Fermentasi. Fermentasi dimulai dengan menambahkan starter inokulum yeast *Pichia Stipitis* dan *Saccharomyces cereviceae* ke dalam medium fermentasi. Variasi volume starter adalah 10, 15 dan 20% terhadap total volume fermentasi yaitu 8 liter. Fermentor yang digunakan berukuran 10 liter. Kecepatan pengadukan 200 rpm, keadaan anaerob dan suhu kamar (25–30°C). Waktu fermentasi divariasikan: 6, 12, 24, 48, 72, dan 96 jam.

Tahap Analisa. Konsentrasi bioetanol ditentukan dengan Alkoholmeter. Konsentrasi gula dianalisa dengan metode nelson-samogyi. Pertumbuhan Yeast dianalisa menggunakan kinetika monod dengan menimbang berat sel kering.

Hasil dan Pembahasan

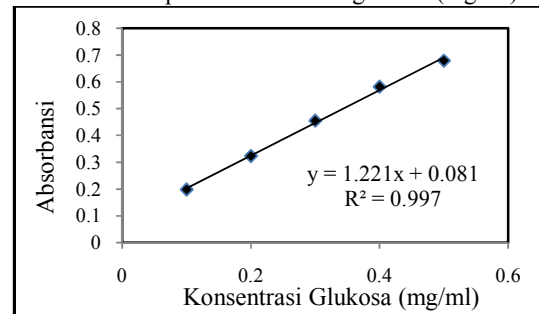
Kurva Standar glukosa

Pembuatan kurva standar glukosa dengan metode Nelson-Samogyi digunakan untuk menentukan konsentrasi gula awal dan akhir fermentasi. Data hasil pengukuran absorbansi spektrofotometer dari masing-masing konsentrasi larutan standar glukosa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Konsentrasi Gula	Absorbansi
0,1	0,198
0,2	0,323
0,3	0,455
0,4	0,582
0,5	0,679

Regresi linier data kurva standar glukosa (Gambar 1) menghasilkan persamaan $y = 1,221x + 0,081$, dimana y merupakan absorbansi spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) = 540 nm dan x merupakan konsentrasi glukosa (mg/ml).



Gambar 1. Kurva Standar Glukosa Analisa Konsentrasi Gula Awal Nira Nipah

Setelah dilakukan penentuan konsentrasi gula awal dari nira nipah dengan menggunakan metode Nelson-Semogy diperoleh hasil seperti pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Konsentrasi Gula Awal Nira Nipah Murni

Absorbansi	Pengenceran	Konsentrasi Gula (mg/ml)	Konsentrasi Gula Rata-rata (mg/ml)
0,876	300 x	195,184	193,382
0,839	300 x	186,216	
0,890	300 x	198,746	

Seperti terlihat pada Tabel 3, dilakukan tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi gula awal dari nira nipah, dan diperoleh konsentrasi rata-rata gula awal nira nipah sebanyak 193,382 mg/ml.

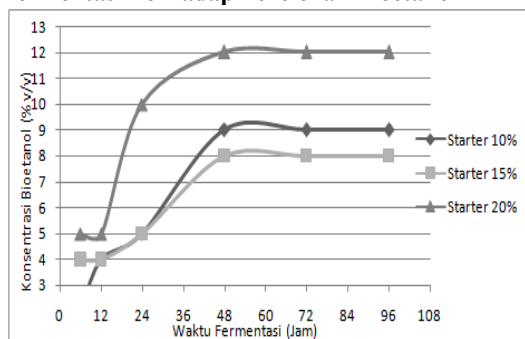
Hasil Fermentasi Nira Nipah

Kondisi optimum dalam fermentasi nira nipah ini ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi bioetanol hasil fermentasi yang telah di distilasi terlebih dahulu untuk memisahkan cairan hasil fermentasi dengan impuritis-impuritis (Metode Guymon). Konsentrasi bioetanol diukur dengan menggunakan Alkoholmeter. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada masing-masing variabel penelitian dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Perolehan Konsentrasi Bioetanol Hasil Fermentasi Nira Nipah.

Waktu Fermentasi (Jam)	Konsentrasi Bioetanol yang diperoleh (%v/v)		
	Volume Starter		
	10%	15%	20%
6	2	4	5
12	4	4	5
24	5	5	10
48	9	5	12
72	9	8	12
96	9	8	12

Pengaruh Variasi Volume Starter dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

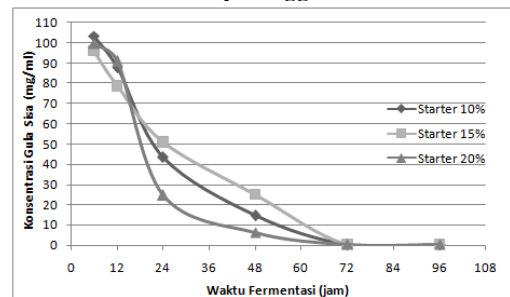


Gambar 2. Hubungan Volume Starter dan Waktu Fermentasi terhadap Perolehan Konsentrasi Bioetanol Hasil Fermentasi Nira Nipah

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa volume starter 20% menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu sebesar 12%(v/v) pada waktu

fermentasi 48 jam. Hal ini disebabkan oleh volume starter (*Saccharomyces cereviceae* - *Pichia stipitis*) yang dimasukkan kedalam medium fermentasi merupakan jumlah yang paling banyak serta konsentrasi gula awal substrat pada volume starter 20% memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi gula awal substrat pada volume starter yang lain. Dari Gambar 2 juga dapat dilihat bahwa waktu optimum proses fermentasi nira nipah adalah 48 jam. Setelah waktu fermentasi tersebut maka dapat dilihat tidak terjadi lagi penambahan konsentrasi bioetanol. Hal ini disebabkan karena substrat berupa glukosa sudah mengalami penurunan konsentrasi yang signifikan karena telah dikonversi oleh mikroorganismenjadi produk (bioetanol). Mikroorganismen juga membutuhkan sebagian substrat untuk perkembangan dirinya sendiri, baik dalam reproduksi membentuk sel-sel baru maupun memperbesar ukuran sel. Selain itu, mikroorganismen yang berfungsi untuk mengkonversi substrat menjadi produk sebagian besar telah memasuki fase kematian karena telah kehabisan nutrisi. Selama proses fermentasi faktor kebersihan lingkungan juga harus diperhatikan agar tetap steril dari mikroorganismen yang tidak diinginkan sehingga tidak mempengaruhi perolehan produk.

Pengaruh Variasi Volume Starter dan Waktu Fermentasi Terhadap Penggunaan Substrat



Gambar 3. Hubungan Volume Starter dan Waktu Fermentasi terhadap Penggunaan Substrat

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka konsentrasi substrat akan semakin menurun / berkurang. Hal ini disebabkan karena substrat berupa gula telah dikonversi oleh mikroorganismen menjadi produk berupa bioetanol dan juga digunakan untuk metabolisme sel. Sehingga semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak substrat yang dikonversi oleh mikroorganismen menjadi produk yang menyebabkan konsentrasi substrat semakin berkurang dan pada akhirnya akan habis. Pada Gambar 3 juga dapat dilihat bahwa konsentrasi substrat pada starter 20% lebih cepat berkurang dibandingkan dengan konsentrasi substrat pada starter 10% dan 15%. Pada starter 20% substrat telah mulai habis pada waktu fermentasi 24 jam,

sedangkan pada starter 10% dan 15% substrat mulai habis pada waktu 48 jam. Hal ini disebabkan karena semakin banyak starter yang dimasukkan maka semakin banyak mikroorganisme yang berperan dalam mengkonversi substrat menjadi produk sehingga substrat menjadi lebih cepat habis / terkonversi.

Konsentrasi Gula Sisa, Yield Etanol, dan Kinetika Pengurangan Konsentrasi Gula pada Fermentasi Nira Nipah.

Tabel 5. Konsentrasi Gula Sisa, Konsentrasi Bioetanol dan Yield Bioetanol

Waktu Fermentasi (Jam)	Volum Starter	Gula Sisa (mg/ml)	Kadar Bioetanol (mg/ml)	Yield Etanol (%)
6	10%	103,44	15,786	15,975
	15%	96,069	31,572	31,950
	20%	99,754	39,465	39,937
12	10%	87,715	31,572	31,950
	15%	78,624	31,572	31,950
	20%	99,909	39,465	39,937
24	10%	43,407	39,465	39,937
	15%	50,778	39,465	39,937
	20%	24,734	78,93	79,874
48	10%	14,578	71,037	71,886
	15%	24,898	63,144	63,899
	20%	6,134	94,716	95,849
72	10%	0,132	71,037	71,886
	15%	0,247	63,144	63,899
	20%	0,274	94,716	95,849
96	10%	0,126	71,037	71,886
	15%	0,241	63,144	63,899
	20%	0,244	94,716	95,849

Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa terhadap konsentrasi gula sisa dengan metode Nelson-Somogyi. Tujuan dari analisa ini adalah untuk melihat efektifitas mikroorganisme dalam mengdegradasi gula (substrat) menjadi bioetanol (produk). Konsentrasi gula sisa, gula yang habis selama proses fermentasi dan yield etanol pada masing-masing kondisi proses fermentasi ditunjukkan dalam Tabel 5.

Dari Tabel 5, dapat dilihat yield bioetanol tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi 48 jam dengan volum starter 20% yaitu sebesar 95,849%. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan dari fermentasi nira nipah adalah sebesar 94,716 mg/ml. Besarnya konsentrasi bioetanol hasil fermentasi ini mendekati konsentrasi bioetanol teoritis yang seharusnya dihasilkan dari fermentasi nira nipah pada konsentrasi gula awal 193,382 mg/ml yaitu sebesar 98,811 mg/ml.

Kesimpulan

Fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan kombinasi yeast *Pichia stipitis* dan *Saccharomyces cereviceae* dalam Bioflo 2000 Fermentor dapat disimpulkan :

Hasil nira nipah fermentasi optimum diperoleh pada volume starter 20% dan waktu fermentasi 48 jam dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 94,716 mg/ml dengan yield 95,849%.

Saran

Perlu dikembangkan dan dilaksanakan penelitian fermentasi secara kontinu, karena penelitian ini berlangsung secara *batch*

Daftar Pustaka

Dinas Kehutanan Propinsi Riau, 2010, Luas Hutan Menurut Fungsi, Riau In Figures 2010, Riau.
 FAO, 2007, *The World's Mangroves 1980–2005. Forest Resources Assessment Working Paper* No. 153, FAO of The United Nations, Rome.
 Hartini, S., G. B. Saputro, M. Yulianto, Suprajaka. 2010. *Assessing the Used of Remotely Sensed Data for Mapping Mangroves Indonesia*, Iwate Prefectural University, Japan. October 4-6, 2010; pp. 210-215
 Humasristek, 2006, *Paparan Mengenai Bioetanol*, <http://www.ristek.go.id/index.php?mod=news&conf=v&id=1210>, 23 April 2011.
 Jenova, F., 2012, Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Pichia stipitis*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru
 Rachman, A. K., dan Sudarto, Y., 1991, Nipah Sumber Pemanis Baru, Kanisius, Yogyakarta
 Riyadi, A. 2010. Nipah Membawa Berkah. <http://jurnalenergi.com/news/55-nipah-membawa-berkah>. 29 Oktober 2011.
 Sodiq, M., 2012, Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru
 Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi, 1997, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta
 Suwahyono, U., dan D. Titisari, 1994, *Perlakuan Larutan Alkali dan Enzim Sellulase pada Onggok untuk Fermentasi Ethanol*, Majalah BPPT, No.LVIII
 Vernandos, A., N. Huda, 2008, Fermentasi Nira Nipah Menjadi Etanol menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru.
 Yulneriwarni, 2008, *Mikroba dari Habitat ke Industri*, Fakultas Biologi Universitas Nasional, Jakarta
 Yusra, F., Hendy, F., 2010, Pembuatan Etanol dari Xilan dalam Jerami Padi melalui Degradasi Enzimatik diikuti Proses Fermentasi menggunakan *Pichia stipitis*, Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya