Vol. 2, No. 1, 2025, 80-86
e-ISSN: 3031-1101
Online at https://journal.umg.ac.id/index.php/jipl

Studi Reaksi Fermentasi pada Minuman Legen
Study of Fermentation Reactions in Legen Drinks

Liizzah D Manzil*, Benny A Pambudiarto

Universitas Muhammadiyah Gresik, Gresik – Indonesia
**Email: liizzahdianaa@gmail.com*

Artikel histori:

Submitted 10 Juli 2024
Revised 16 Juli 2024
Accepted 28 Desember 2024

ABSTRAK: Legen merupakan minuman yang mudah mengalami kerusakan selama proses penyimpanan. Konsentrasi nutrisi yang tinggi akan mempercepat terjadinya proses fermentasi, sehingga legen akan mudah rusak. Legen yang sudah mengalami proses fermentasi dapat berubah menjadi tuak yang memiliki rasa pahit dan dapat memabukkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah mikroba, kadar glukosa, kadar alkohol dan kadar asam asetat selama waktu penyimpanan. Penelitian ini dilakukan dengan interval setiap 48 jam selama 13 hari untuk uji jumlah mikroba, kadar alkohol dan kadar glukosa. Sedangkan varian pengukuran hari ke-4, ke-7, dan ke-14 untuk uji asam asetat. Dalam penelitian ini, uji jumlah mikroba menggunakan metode *total plate count* (TPC), untuk uji kadar alkohol menggunakan metode titrasi dikromatometri, untuk uji kadar glukosa menggunakan metode *Somogyi-Nelson* dan untuk uji kadar asam asetat menggunakan metode titrasi alkalimetri. Uji lain yang menunjuang penelitian ini adalah uji organoleptik. Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa semakin lama penyimpanan minuman legen menyebabkan jumlah mikroba meningkat, kadar alkohol menurun, kadar glukosa menurun dan kadar asam asetat meningkat.
Kata kunci: Minuman Legen; Lama Penyimpanan; Fermentasi

ABSTRACT: *Legen is a drink that is easily damaged during the storage process. A high nutrient concentration will speed up the fermentation process, so that the legumes will be easily damaged. Legen that has undergone a fermentation process can turn into palm wine which has a bitter taste and can be intoxicating. This study aims to determine changes in the number of microbes, glucose levels, alcohol levels and acetic acid levels during storage time. This research was carried out at intervals of every 48 hours for 13 days to test the number of microbes, alcohol levels and glucose levels. Meanwhile, the measurement variants on the 4th, 7th and 14th days are for the acetic acid test. In this research, the microbial count test used the total plate count (TPC) method, to test the alcohol content using the dichromatometry titration method, to test the glucose content using the UV-vis spectrophotometer method and to test the acetic acid content using the alkalimetric titration method. Another test that supports this research is the organoleptic test. The results of this research showed that the longer the storage of Legen drinks caused the number of microbes to increase, alcohol levels to decrease, glucose levels to decrease and acetic acid levels to increase.*
Keywords: *Legen Drinks; Long Storage; Fermentation*

1. PENDAHULUAN

Selain kaya akan keragaman budaya dan bahasa, Indonesia juga kaya akan minuman-minuman tradisional warisan nenek moyang yang perlu dilestarikan. Salah satu minuman tradisional di Indonesia adalah nira siwalan atau secara umum dalam bahasa jawa disebut legen. Minuman legen merupakan air nira yang keluar dari pohon siwalan melalui tangkai tandan bunga yang dipotong atau diiris kemudian disadap dan ditampung kedalam bumbung yaitu wadah yang terbuat dari bambu yang dipasang dibawah pucuk tandan bunga siwalan (Mochklas, Hidajat dan Mauliddah, 2021). Waktu penyadapan biasanya berlangsung selama satu

malam, dimana penyadapan dimulai pada sore hari (Prasmatiwi, dkk. 2022).

Minuman legen merupakan minuman tradisional berwarna putih keruh yang memiliki rasa manis dan sedikit asam yang menyegarkan, legen dapat dimanfaatkan menjadi minuman *isotonic*, dimana cairan *isotonic* sanggup menggantikan keluarnya cairan tubuh melalui keringat. Menurut Mardhiyah, S. (2017) Kata legen sendiri berasal dari kata dasar "legi" (bahasa jawa) yang artinya "manis". Zaman dahulu minuman legen ini sangat popular dikalangan masyarakat karena dapat melepaskan rasa dahaga dan harganya yang cukup terjangkau. Minuman ini sangat cocok diminum ketika cuaca sedang panas, memiliki rasa yang manis dan mengandung kalori yang bisa menambah tenaga dan dapat mengembalikan kebugaran tubuh yang mulai lelah (Suroyya, 2016).

Kabupaten Gresik merupakan salah satu wilayah yang memproduksi minuman legen. Berdasarkan data dari Dinas Pertanian Pemkab Gresik pada tahun 2021 total luas lahan pohon siwalan mencapai 61.34 hektare, dengan sebaran luas lahan ditunjukan pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Luas Area Perkebunan Siwalan di Gresik (BPS Gresik, 2021)

Kecamatan	Luas area (Ha)
Menganti	13.45
Panceng	40.95
Ujung Pangkah	6.94
Total	61.34

Minuman legen mengandung nutrisi-nutrisi yang lengkap seperti gula, lemak, protein maupun mineral, yang komposisinya ditunjukan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Komposisi Nutrisi Dalam Minuman Legen (Arifin, 2019)

Komposisi	Jumlah (%)
Air	86.1
Protein	0.3
Lemak	0.002
Karbohidrat	13.54
Mineral sebagai Abu	0.04

Kandungan nutrisi pada minuman legen dapat bervariasi tergantung pada; waktu penyadapan, usia pohon, kondisi lingkungan, metode pengambilan dan penyimpanan (Fitria dan Zulaika, 2018). Minuman legen memiliki beberapa manfaat, antara lain memperbaiki fungsi ginjal, mencegah impotensi, mencegah dehidrasi dan kelelahan, meredakan migrain dan kesehatan kulit (Aspra, 2023). Menurut Khatimah (2018) minuman legen yang masih alami memiliki warna putih pekat seperti air yang telah digunakan untuk mencuci beras, seperti yang ditunjukan pada gambar.1 berikut:

Gambar 1. Minuman Legen segar (Maratus, 2023)

Minuman legen memiliki waktu penyimpanan yang sangat singkat yaitu hanya 1-2 hari. Kemudian hari berikutnya legen akan mengalami fermentasi karena kandungan gula yang cukup tinggi dan berubah menjadi minuman tuak yang rasanya pahit dan memabukkan (Arsyad, 2019). Mengkonsumsi tuak secara berlebihan dapat menyebabkan gangguan pada organ hati (Wahyuni, 2023).

Menurut Hawa, dkk (2019) ada beberapa faktor yang paling mempengaruhi proses fermentasi antara lain : suhu, pH, substrat, waktu, oksigen dan mikroorganisme. Suhu dan pH sangat berperan dalam pertumbuhan bakteri. Setiap spesies bakteri memiliki suhu dan pH optimal yang berbeda-beda untuk mendukung proses pertumbuhannya (Firdaus, dkk. 2018). Sedangkan waktu fermentasi yang terlalu lama bisa menghasilakn produk yang tidak diinginkan (Mulyadi, dkk. 2017)

Karena minumam legen merupakan minuman khas kab.Gresik dan banyaknya manfaat pada minumam legen sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk edukasi kepada masyarakat untuk penyimpanan minuman legen secara ideal, sebelum minuman legen berubah menjadi tuak, dimana penelitian ini dilakukan selama 13 hari pada kondisi lingkungan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian studi reaksi fermentasi pada minuman legen dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Gresik.

Pada pengujian ini sampel minuman legen sebanyak 1L disiapkan, pengujian dilakukan dengan interval setiap 48 jam selama 13 hari pada kondisi lingkungan. Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini, antara lain: uji organoleptik, uji jumlah koloni, uji kadar alkohol, uji kadar glukosa dan uji kadar asam asetat.

Pada pengujian jumlah koloni metode yang digunakan adalah metode *Total Plate Count* (TPC), dimana cara pengujian pada penelitian ini berdasarkan SNI 2897:2008 tentang metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan

susu serta hasil olahannya. Penentuan jumlah koloni tersebut menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% CH_3COOH = \frac{N \times Mr}{\rho \times 1000} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{Koloni} = \text{Jumlah koloni pada cawan} \times \frac{1}{faktor\ pengenceran} \quad (1)$$

Pada pengujian kadar alkohol metode yang digunakan adalah metode dikromatometri. Dimana titrasi dikrimatometri adalah titrasi redoks yang menggunakan senyawa dikromat sebagai oksidator. Cara pengujian pada penelitian ini berdasarkan buku *Production Wine Analysis* (Zoeckein, 1990). Penentuan kadar alkohol tersebut menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% = \frac{0.25 \times (VA - VB) \times C \times Fp \times Mr}{Vs \times \rho\ C_2H_5OH \times 1000} \times 100\% \quad (2)$$

Dengan % menyatakan kadar C_2H_5OH, VA menyatakan volume blangko (mL), VB menyatakan volume sampel (mL), Mr menyatakan massa relatif C_2H_5OH, C menyatakan konsentrasi FAS (N), fp menyatakan faktor pengenceran, ρ menyatakan massa jenis C_2H_5OH dan vs menyatakan volume sampel yang direaksikan.

Pada pengujian kadar glukosa metode yang digunakan adalah metode *Somogyi-Nelson*, dimana cara pengujian pada penelitian ini berdasarkan buku *a Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose* (Nelson, 1944). Penentuan kadar glukosa tersebut menggunakan *Spectrophotometer* UV-VIS, dimana tahapan uji kadar glukosa ini yaitu: proses pembuatan larutan standar, penentuan panjang gelombang maksimum, pengukuran absorbansi larutan standar dan sampel, pembuatan kurva standar kemudian menentukan kadar glukosa dalam sampel minuman. Dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar digunakan untuk membuat kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Sehingga dari kurva standar tersebut didapatkan persamaan regeresi linier, selanjutnya dari persamaan regresi tersebut dapat ditentukan konsentrasi sampel yang ditunjukkan oleh persamaan sebagai berikut:

$$X = \frac{(Y - B)}{A} \quad (3)$$

Dengan Y menyatakan absorbansi dan X menyatakan kadar glukosa.

Pada pengujian kadar asam asetat metode yang digunakan adalah metode titrasi alkalimetri. Dimana titrasi alkalimetri adalah metode penetapan konsentrasi larutan yang memiliki sifat asam secara kuantitatif dengan menggunakan larutan baku asam (Faiqah, dkk. 2023)

Cara pengujian pada penelitian ini berdasarkan SNI 01-371-1995 tentang cuka makanan. Penentuan kadar asam asetat tersebut menggunakan persamaan sebagai berikut:

Dengan Mr menyatakan massa relatif CH_3COOH (60gr/mol), ρ menyatakan massa jenis CH_3COOH (1.05 gr/l) dan N menyatakan normalitas CH_3COOH.

Pada pengujian organoleptik ini dilakukan dengan metode uji rasa, warna dan aroma pada minuman legen dengan tujuan memastikan perubahan yang terjadi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

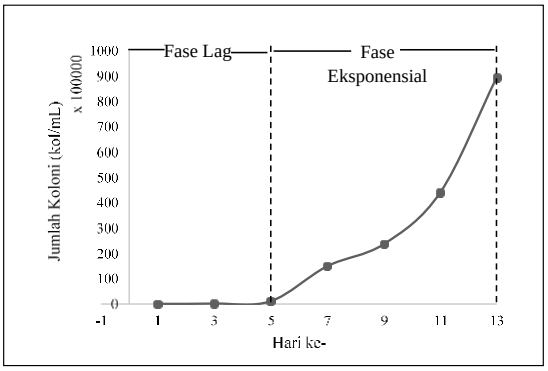
Uji jumlah koloni metode *Total Plate Count* (TPC)

Berdasarkan hasil penelitian uji jumlah koloni dengan metode *Total Plate Count* (TPC) yang telah dilakukan diperoleh data pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Data Hasil Uji Jumlah Koloni

Hari Ke-	Pengenceran	*Jumlah Koloni (kol/mL)*			*TPC (Koloni/mL)*
		Cawan 1	*Cawan 2*	*Rata-rata*	
1	10^{-3}	49	61	55	$5.5x10^4$
3	10^{-3}	54	68	61	$1.58x10^5$
	10^{-4}	27	24	25.5	
5	10^{-4}	106	109	107	$1.07x10^6$
7	10^{-5}	154	144	149	$1.49x10^7$
9	10^{-5}	209	205	207	$2.36x10^7$
	10^{-6}	25	28	26.5	
11	10^{-6}	40	48	44	$4.4\ x10^7$
13	10^{-6}	117	62	89.5	$8.95x10^7$

Sesuai dengan SNI 7388:2009 mengenai batas maksimum cemaran mikroba dalam minuman legen yaitu sebesar $1x10^5$ koloni/mL. Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3, mulai hari ke-3 sampai ke-13 legen sudah melebihi ambang batas atau tidak memenuhi syarat standar baku maksimum cemaran.



Gambar 2. Grafik Pertumbuhan Bakteri

Grafik pertumbuhan mikroba diawali dengan fase lag (fase adaptasi), dimana fase lag (fase adaptasi) adalah fase penyesuaian mikroba dalam lingkungan baru (Sanatang dan Titi, P., 2023). Pada fase lag terjadi mulai pada hari ke-1 sampai pada hari ke-5. Pada fase lag ini, mikroba membutuhkan waktu untuk melakukan adaptasi terhadap lingkungan barunya sehingga dalam pertumbuhannya jumlah bakteri mengalami kenaikan yang relatif lambat. Selanjutnya pada hari ke-5 sampai hari ke-13 memasuki fase eksponensial (fase pertumbuhan cepat). Pada fase eksponensial laju pertumbuhan meningkat cepat, dimana sel akan membelah sampai maksimum jumlah sel tercapai (Ajizah, dkk. 2021).

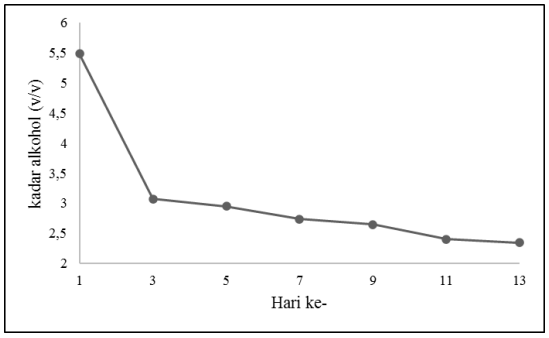
Uji kadar alkohol

Berdasarkan hasil penelitian uji kadar alkohol dengan metode dikromatometri yang telah dilakukan diperoleh data pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Data Hasil Uji Kadar Alkohol

Hari ke-	Volume FAS (mL)		
	V1	V2	V Rata-Rata
1	11	10.9	10.95
3	14.9	14.9	14.95
5	15	15.2	15.1
7	15.3	15.6	15.5
9	15.5	15.7	15.6
11	16	16	16
13	16.1	16.1	16.1

Dari tabel 4 dilakukan perhitungan menggunakan persamaan (2) sehingga diperoleh kadar alkohol. Secara keseluruhan kadar alkohol yang dihasilkan mengalami penurunan setiap harinya.



Gambar 3. Grafik Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Alkohol

Dari Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar alkohol mengalami penurunan secara signifikan pada hari ke-1 menuju hari ke-3 yaitu 40%, selanjutnya pada hari ke-5, 7, 9, 11 dan 13 kadar alkohol terjadi penurunan secara konstan, yaitu sebesar ±5%.

Penurunan kadar alkohol pada minuman legen tersebut disebabkan karena terdapatnya bakteri *Achetobacter* sehingga mengakibatkan perubahan etanol menjadi asam asetat. Bakteri *Achetobacter* merupakan bakteri gram negatif yang mampu menghasilkan senyawa selulosa. Bakteri ini bersifat aerob sehingga untuk memperoleh energi, mikroba tersebut menggunakan glukosa sebagai substrat (Putri, dkk. 2021).

Dimana peningkatan kadar asam tersebut disebabkan oleh kecepatan fermentasi yang terjadi pada minuman legen sehingga kadar gula menurun, karena sebagian gula dirombak oleh enzim yang dihasilkan dari proses fermentasi menjadi asam dan alkohol.

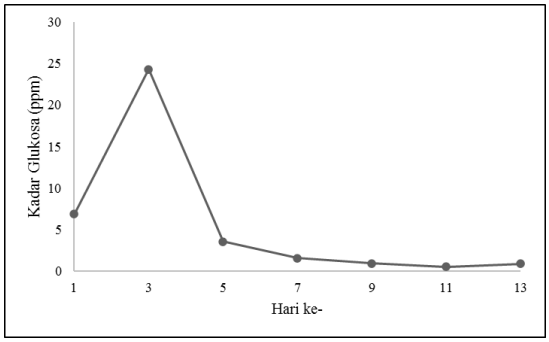
Uji kadar glukosa

Berdasarkan hasil penelitian uji kadar glukosa dengan metode Somogyi-Nelson yang telah dilakukan diperoleh data pada tabel 5 berikut:

Tabel 5. Data Hasil Uji Kadar Glukosa

Hari ke-	Pengenceran	Absorbansi (y)
1	1/100	0.193
3	1/100	0.612
5	1/100	0.113
7	1/100	0.065
9	1/10	0.255
11	1/10	0.155
13	1/10	0.240

Dari tabel 5 dilakukan perhitungan menggunakan persamaan (3) sehingga diperoleh kadar glukosa. Secara keseluruhan kadar glukosa yang dihasilkan mengalami penurunan setiap harinya.



Gambar 4. Grafik Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Glukosa

Dari Gambar 4 menunjukkkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka kadar glukosa pada minuman legen akan semakin berkurang, penurunan yang terjadi untuk interval setiap dua hari yaitu ±45%. Sedangkan pada hari ke-3 terdapat kenaikan kadar glukosa, hal ini disebabkan karena penggunaan nelson A dan nelson B yang sangat sedikit sehingga perubahan volume sangat berpengaruh pada pembacaan hasil.

Hal ini selaras dengan penelitian Huda, dkk (2017) bahwa semakin lama fermentasi, kadar glukosa yang ada semakin berkurang. Penurunan glukosa terjadi karena bakteri membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, glukosa digunakan oleh bakteri untuk beraktivitas sehingga menghasilkan etanol sebagai metabolit primer.

Uji organoleptik

Pada uji organoleptik dilakukan dengan variasi hari pengukuran, yaitu hari ke- 1, 3, 5, 7, 9, 11 dan 13. Pengujian organoleptik ini dilakukan dengan cara mencicip dan mengamati warna minuman legen. Berikut hasil uji organoleptik disajikan pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Data Hasil Uji Organoleptik

Hari ke-	Rasa	Warna
1	Manis sedikit asam	Putih keruh
3	Asam sedikit manis	Putih keruh
5	Asam	Putih keruh, terdapat buih putih
7	Asam sedikit pahit	Putih keruh, terdapat buih putih
9	Pahit	Putih kekuningan, terdapat buih putih
11	Pahit	Putih kekuningan, terdapat buih putih
13	Pahit	Putih kekuningan, terdapat buih putih

Berdasarkan Tabel 6 minuman legen mengalami perubahan pada hari ke-5, perubahan yang terjadi menjadikan minuman legen memiliki rasa asam, dimana rasa asam tersebut disebabkan oleh kecepatan fermentasi yang terjadi pada minuman legen sehingga kadar gula menurun, karena sebagian gula dirombak oleh enzim yang dihasilkan dari proses fermentasi menjadi asam dan alkohol. Sehingga hal ini menyebabkan minuman legen memiliki rasa asam.

Menurut Hotijah, dkk (2020) minuman legen yang sudah menurun kualitasnya ditandai dengan mulai timbulnya rasa asam, bau yang tajam, berlendir dan juga berbuih.

Pada hari ke-5 minuman legen terdapat buih berwarna putih, buih tersebut disebabkan terbentuknya gas, dimana gas tersebut adalah hasil pemecahan glukosa secara terus menerus pada minuman legen yang dilakukan oleh khamir selama proses penyimpanan tersebut, dimana proses fermentasi glukosa yang terus menerus akan menghasilkan alkohol dan karbondioksida. Perubahan paling signifikan yaitu pada hari ke-9 dimana minuman legen memiliki rasa pahit, dimana rasa pahit tersebut disebabkan karena jumlah asam yang terbentuk dalam proses fermentasi yang berlebihan. Menurut Silaban (2017) kelebihan asam dalam minuman fermentasi dapat memberikan rasa asam yang kuat atau pahit pada minuman tersebut.

Uji kadar asam asetat

Pada pengujian kadar asam asetat varian hari pengukuran yang dilakukan adalah hari ke-4, ke-7 dan ke-14. Pengujian ini digunakan sebagai penegasan bahwa kadar alkohol mengalami penurunan disebabkan berubahnya etanol menjadi asam asetat.

Berdasarkan hasil penelitian uji kadar asam asetat dengan metode titrasi alkalimetri yang telah dilakukan diperoleh data pada tabel 7 berikut:

Tabel 7. Data Hasil Uji Kadar Asam Asetat

Hari ke-	V NaOH (Ml)	Kadar CH_3COOH (%)
4	0.6	0.3428
7	0.8	0.4571
14	1.3	0.7428

Dari Tabel 7 diatas menunjukkan bahwa kadar asam asetat pada minuman legen mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu. Hal ini membuktikan bahwa etanol yang berkurang karena terbentuknya asam asetat.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada minuman legen dengan perlakuan penyimpanan selama 13 hari pada interval setiap 48 jam kondisi lingkungan tanpa adanya pengawetan, dapat disimpulkan bahwa jumlah mikroba mengalami peningkatan, kadar alkohol mengalami penurunan, kadar glukosa mengalami penurunan dan kadar asam asetat mengalami peningkatan.

Pada pengujian jumlah mikroba mulai hari ke-3 minuman legen sudah melebihi ambang batas yaitu sebesar $1.58x10^5$ Koloni/mL. Pada pengujian kadar alkohol penurunan secara signifikan terjadi pada hari ke-1 menuju hari ke-3 yaitu sebesar 40%. Pada pengujian kadar glukosa penurunan terjadi secara konstan dimana besar penurunan setiap interval dua hari yaitu sebesar ±45%. Pada pengujian penegasan yaitu pengujian kadar asam asetat, membuktikan bahwa kadar alkohol mengalami penurunan disebabkan berubahnya etanol menjadi asam asetat.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, N.L.W., Mahaputra, I.M. dan Semadi Antara, N., 2021. Variasi Konsentrasi Glukosa pada Media Tumbuh dan Lama Fermentasi Dalam Memproduksi Etanol oleh Isolat BM1-CP14. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), hal. 208–218. https://doi.org/10.24843/JRMA.2021.v09.i02.p06.

Arifin, F., 2019. Pemanfaatan Limbah Nira Siwalan (Borassus Flabellifer L.) Sebagai Bahan Utama Pembuatan Bioetanol dengan Variasi Lama Destilasi. *Skripsi*. Jurusan Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Arsyad, M., 2019. lama penyimpanan terhadap kualitas nira siwalan (Borassus flabellifer L.). *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Malang.

Aspra, 2023. Legen Minuman Khas Tuban dan Manfaatnya. https://asiapramulia.com/legen-minuman-khas-tuban-dan-manfaatnya/ (diakses : 10 Juli 202).

BPS, 2021. Luas Area Perkebunan Siwalan di Kabupaten Gresik. http://data.gresikkab.go.id/pt_PT/dataset/luas-area-siwalan/resource/a321d239-ceee-4380-ba33-decc18f15ada.

Faiqah, N.S., Imranah dan Yusaerah, N., 2023. Asidimetri dan Alkalimetri Dalam Kehidupan Sehari-Hari, *Jurnal Pendidikan IPA*, hal. 15–21.

Fitria, A.N., Zulaika, E., 2018. Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan Bacillus Cereus S1 pada Medium MSM Modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2).

Firdaus, G.M., Rizqiati, H., dan Nurwantoro, 2018. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Rendemen, pH, Total Padatan Terlarut dan Mutu Hedonik Kefir Whey, *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), hal 70-79.

Hawa, L.C., Lutfi, M. dan Makhfudhi, M.Y., 2019. Studi proses termal dalam pengolahan nira siwalan menjadi minuman sinom legen di PT . Petrokimia Gresik. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 7(1), hal. 20–27. https://jkptb.ub.ac.id/index.php/jkptb/article/view/453.

Hotijah, S., Rofieq, A. dan Wahyuni, S., 2020. Pengaruh waktu penyadapan nira dan lama penyimpanan terhadap kualitas nira siwalan (Borassus flabellifer L.). *Prosiding Seminar Nasional V 2019*. Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Muhammadiyah Malang, hal. 256–264. https://eprints.umm.ac.id/id/eprint/4736.

Huda, M.K., Dewi, R.R., Prakas, M.Y. dan Cahyanti, N., 2017. Kajian Lama Fermentasi Terhadap Konsentrasi Glukosa Dan Alkohol Pada Pembuatan Tape Onggok. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 12(2), hal. 59. https://doi.org/10.26623/jtphp.v12i2.1812.

Khatimah, H., 2018. Pengaruh Tuak Terhadap Berat Badan, Serta Perubahan Morfologi Ginjal Dan Kadar Eritrosit Pada Mencit (Mus Musculus) ICR Jantan. *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin. http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/14124

Maratus, L., 2023. Legen, Minuman Khas Tuban Kaya Manfaat. https://solutif.id/legen-minuman-khas-tuban-kaya-manfaat/ (diakses : 10 Juli 2024).

Mardiyah, S., 2017. Pengaruh Lama Pemanasan Terhadap Kadar Alkohol Pada Siwalan ((Borassus flabellifer). *Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1(1), hal. 9-15

Mochklas, M., Hidajat, S. dan Mauliddah, N., 2021. Pemberdayaan Potensi Desa Kebon Raya Paciran Lamongan di Era New Normal. *Jurnal Abdidas*, 2(1), hal. 86–91. https://doi.org/10.31004/abdidas.v2i1.219.

Mulyadi, T., Mailo, M., dan Rijal, M., 2017.

Pengaruh pH, dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Ethanol dari Sargassum Crassifolium. *Jurnal Biology and Education*, 6(1), hal 13-25.

Nelson, N.,1944. A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 153(2), hal. 375–380. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71980-7.

Prasmatiwi, F.E., Evizal, R. dan Zahra, A.R., 2022. Pengadaan Bahan Baku Nira Dan Nilai Tambah Pengolahan Gula Aren di Desa Air Kubang, Air Naningan Kabupaten Tanggamus. *Jurnal Pemikiran Masyarakat Ilmiah Berwawasan Agribisnis*, 8(2), hal. 1188–1201. http://dx.doi.org/10.25157/ma.v8i2.7863.

Putri, S.N.Y., Syahrani, W.F., Utami, C.V.B., Safitri, D.R., Arum, Z.N., Prihastari, Z.S. dan Sari, A.R., 2021. Pengaruh Mikroorganisme, Bahan Baku, Dan Waktu Inkubasi Pada Karakter Nata: Review. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 14(1), hal. 62. https://doi.org/10.20961/jthp.v14i1.47654.

Sanatang dan Titi, P., 2023. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Supernatan Dari Bakteri Endofit Kulit Pisang. *Jurnal Biologi Makasar*, 8(1), hal. 44–50.

Silaban, B.M.J., 2017. Optimasi fermentasi produksi etanol dari nira siwalan (Borassus flabellifer) menggunakan mikroorganisme Saccharomyces cerevisiae dan Pichia stipitis dengan Response Surface Methodology. *Skripsi*. Jurusan Teknik Kimia , Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Suroyya, M., 2016. Pengaruh Suhu Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Nira Siwalan dengan Penambahan Ekstrak Biji Kelengkeng. *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

wahyuni, S., 2023. Gambaran Perilaku Mengkonsumsi Alkohol (Tuak) Terhadap Kekebalan Tubuh (Imunitas) Pada Masyarakat Di Desa Kampung Tengah Pancur Batu Kabupaten Deli Serdang Provinsi Sumatera Utara. *jurnal kesehatan*, 1(2), hal 352-359.

Zoeckein, 1990. Estimation of Alcohol Content in Wine by Dichromate Oxidation followed by Redox Titration Chemical Concepts and Techniques.