

ANALISIS PENGARUH JENIS RAGI DAN PENAMBAHAN NUTRIEN PADA PRODUK BIOETANOL BIJI ALPUKAT

Septia Damayanti Sriyono¹, Nirma Yuliana Saputri², Kholimatu Rosita³, Litasari Aldila
Aribowo⁴, Septiko Aji⁵

^{1,2,3,4,5}Universitas Negeri Semarang, Semarang

*Email korespondensi: sptiadmynti@students.unnes.ac.id

ABSTRAK

Biji alpukat termasuk limbah organik yang kaya karbohidrat dan berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif untuk produksi bioetanol melalui fermentasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh jenis ragi dan penambahan nutrisi terhadap produksi bioetanol dari biji alpukat. Ragi yang digunakan meliputi *Saccharomyces cerevisiae* dan ragi tapai, dengan variasi nutrisi berupa amonium sulfat, urea, dan mineral esensial. Penelitian dilakukan melalui eksperimen laboratorium sederhana yang diterapkan di luar laboratorium konvensional untuk menilai potensinya. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan penambahan nutrisi menghasilkan kadar bioetanol tertinggi. Penambahan nutrisi terbukti meningkatkan efisiensi fermentasi melalui dukungan terhadap aktivitas metabolisme ragi. Filtrat tanpa urea yang difermentasi menggunakan ragi tapai maupun ragi roti menunjukkan kadar etanol 0%. Sementara itu, perlakuan dengan urea dan ragi roti 2% menghasilkan etanol lebih tinggi dibandingkan ragi tapai 1%. Meskipun kadar bioetanol yang dihasilkan belum setinggi bahan baku konvensional seperti jagung atau singkong, biji alpukat tetap menunjukkan potensi sebagai bahan baku terbarukan. Pemanfaatan limbah ini dapat mengurangi pencemaran organik sekaligus membuka peluang pengembangan bioenergi berbasis limbah dalam kerangka ekonomi sirkular. Penelitian ini merekomendasikan pengembangan lebih lanjut melalui optimasi parameter fermentasi dan penerapan teknologi tepat guna untuk meningkatkan hasil produksi bioetanol dari limbah biji alpukat.

Kata kunci: Biji Alpukat; Bioetanol; Fermentasi; Nutrien; Ragi Roti; Ragi Tapai

PENDAHULUAN

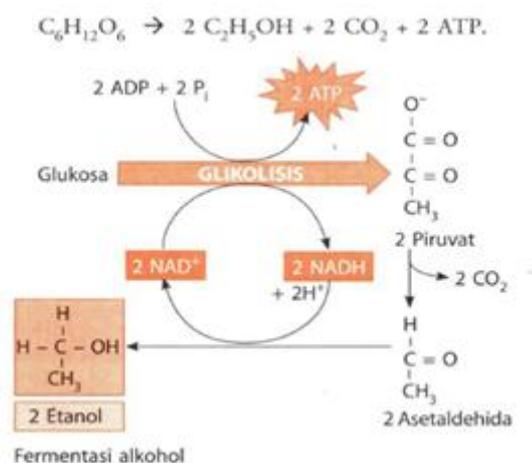
Sumber daya alam (SDA) di Indonesia merupakan aset vital yang dapat dimanfaatkan untuk mendukung pembangunan berkelanjutan dan meningkatkan kesejahteraan masyarakat. Salah satu pemanfaatan utama SDA adalah sebagai bahan bakar fosil, seperti minyak bumi, batu bara, dan gas alam, yang digunakan secara luas untuk memenuhi kebutuhan energi nasional. Namun, konsumsi bahan bakar fosil yang terus meningkat menyebabkan berkurangnya cadangan sumber daya ini secara signifikan karena sifatnya yang tidak terbarukan. Selain itu, pembakaran bahan bakar fosil menghasilkan emisi gas rumah kaca, seperti karbon dioksida (CO₂), yang mempercepat pemanasan global dan berkontribusi terhadap perubahan iklim (Pramudiyanto & Suedy, 2020). Dampak lingkungan tersebut mendorong perlunya alternatif energi yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan. Salah satu solusi yang ditawarkan adalah pengembangan bioenergi, khususnya bioetanol, sebagai bahan bakar alternatif yang berasal dari sumber hayati (Artini & Wartana, 2023). Oleh karena itu, pengembangan energi alternatif seperti bioetanol menjadi bagian dari strategi transisi energi menuju keberlanjutan.

Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh melalui proses fermentasi bahan organik yang kaya akan karbohidrat, seperti glukosa, amilum, atau lignoselulosa. Proses ini melibatkan mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* yang mampu mengubah gula menjadi etanol dalam kondisi anaerob (Restuhadi & Rahmayuni, 2017). Umumnya, bahan baku bioetanol berasal dari tanaman berpati dan bergula, seperti tebu, jagung, dan singkong (Sukaryo & Subekti, 2017). Akan tetapi, penggunaan bahan pangan sebagai bahan baku bioetanol menimbulkan kekhawatiran terkait ancaman terhadap ketahanan pangan, terutama di negara berkembang. Oleh sebab itu, perhatian kini mulai diarahkan pada pemanfaatan limbah pertanian dan hasil samping agroindustri yang tidak digunakan sebagai bahan pangan. Salah satu limbah yang memiliki potensi besar adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.), yang mengandung sekitar 48,11% karbohidrat, termasuk lignin dan selulosa, serta komponen lain seperti protein dan lemak (Rizwan et al., 2018). Biji alpukat banyak dihasilkan sebagai limbah rumah tangga dan industri pengolahan buah, sehingga pemanfaatannya sebagai bahan baku bioetanol berpotensi mengurangi limbah sekaligus menghasilkan energi terbarukan.

Meski memiliki potensi sebagai bahan baku bioetanol, proses fermentasi biji alpukat umumnya menghasilkan kadar etanol yang masih rendah, berkisar antara 5% hingga 10% (v/v). Padahal, agar bioetanol dapat digunakan sebagai bahan bakar kendaraan bermotor atau dicampur dengan bensin, dibutuhkan kadar etanol yang tinggi, yakni minimal 99,5% (Melinda & Atmono, 2023). Oleh karena itu, diperlukan upaya peningkatan efisiensi fermentasi agar menghasilkan kadar etanol yang lebih optimal. Peningkatan ini dapat dilakukan melalui optimalisasi berbagai faktor, seperti jenis mikroorganisme yang digunakan, kondisi lingkungan fermentasi, serta ketersediaan nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroba. Salah satu pendekatan yang efektif adalah memilih jenis ragi yang tepat, karena tiap jenis ragi memiliki kemampuan fermentasi yang berbeda-beda tergantung pada substrat dan kondisi yang digunakan. Selain itu, penambahan nutrisi tertentu juga dapat merangsang metabolisme mikroorganisme dan mempercepat proses konversi gula menjadi etanol.

Fermentasi alkohol merupakan proses biokimia kompleks yang melibatkan konversi gula menjadi etanol dan karbon dioksida oleh mikroorganisme dalam kondisi tanpa oksigen. Proses ini dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain jenis ragi, suhu, kadar pH, ketersediaan substrat, serta konsentrasi nutrisi dalam media fermentasi (Kusuma et al., 2020; Khairiah et al., 2021). Dua jenis ragi yang umum digunakan dalam penelitian bioetanol adalah ragi tape dan ragi roti. Ragi tape mengandung berbagai jenis mikroorganisme, seperti *Saccharomyces spp.*, *Aspergillus spp.*, dan *Candida spp.*, yang bekerja secara sinergis dalam memecah pati

menjadi gula sederhana dan mengubahnya menjadi etanol. Sementara itu, ragi roti terutama mengandung *Saccharomyces cerevisiae*, mikroorganisme fermentatif yang telah terbukti efisien dalam menghasilkan etanol dengan konsentrasi tinggi, tergantung pada jenis substrat dan perlakuan fermentasi yang diberikan (Qomariyah & Sindhuwati, 2023). Berbagai studi juga mengungkapkan bahwa *S. cerevisiae* merupakan pilihan utama dalam produksi bioetanol skala industri karena toleransi alkohol dan produktivitasnya yang tinggi.



Gambar 1. Proses Fermentasi Alkohol

Selain mikroorganisme, keberhasilan fermentasi juga sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan untuk metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Mikroorganisme memerlukan sumber nitrogen, fosfor, dan kalium yang cukup agar mampu mempertahankan aktivitas enzimatik dan biosintesis selama proses fermentasi. Penambahan pupuk seperti NPK dan urea ke dalam media fermentasi telah dilaporkan dapat meningkatkan efisiensi konversi gula menjadi etanol. Pupuk NPK mengandung unsur nitrogen, fosfor, dan kalium yang berperan dalam pembentukan protein, ATP, serta aktivitas seluler mikroba (Hidayati et al., 2022). Sedangkan pupuk urea, yang mengandung nitrogen tinggi, dapat mempercepat pertumbuhan sel ragi dan meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan (Kaya et al., 2020; Artini & Wartana, 2023). Oleh karena itu, kombinasi antara jenis ragi yang efektif dan penambahan nutrisi yang tepat menjadi strategi penting dalam meningkatkan produktivitas bioetanol dari substrat limbah seperti biji alpukat. Berdasarkan paparan di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis pengaruh jenis ragi (ragi tape dan ragi roti) serta penambahan nutrisi (urea) terhadap kadar etanol hasil fermentasi biji alpukat. Penelitian ini tidak hanya bertujuan untuk meningkatkan efisiensi fermentasi dan menghasilkan etanol berkadar tinggi, tetapi juga berkontribusi dalam pemanfaatan limbah organik menjadi sumber energi alternatif yang ramah lingkungan. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan solusi terhadap permasalahan pengelolaan limbah biji alpukat yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini juga mendukung upaya pencapaian Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (SDGs), khususnya pada aspek energi bersih dan terjangkau, serta pengurangan limbah organik. Dengan demikian, penelitian ini berperan dalam mengintegrasikan aspek lingkungan, energi, dan teknologi dalam konteks pembangunan berkelanjutan di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menerapkan metode eksperimen laboratorium sederhana yang dilaksanakan di luar ruang laboratorium untuk mengkaji potensi limbah biji alpukat sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol. Pendekatan ini merupakan metode ilmiah yang menguji hipotesis melalui prosedur praktis dengan peralatan dasar. Tahapan awal penelitian dimulai dari pengolahan biji alpukat menjadi substrat untuk fermentasi. Penelitian menguji variabel seperti pengaruh penambahan urea sebagai sumber nutrisi tambahan serta jenis ragi yang digunakan dalam proses fermentasi. Fermentasi dilakukan dalam kondisi yang dikendalikan selama jangka waktu tertentu dengan alat sederhana. Setelah proses fermentasi selesai, hasilnya dipisahkan melalui destilasi untuk memperoleh bioetanol dari campuran cairan hasil fermentasi. Volume bioetanol yang diperoleh kemudian diukur guna menilai efektivitas setiap perlakuan. Pendekatan ini memungkinkan penilaian langsung terhadap dampak penggunaan urea dan jenis ragi dalam meningkatkan produksi bioetanol dari biji alpukat. Selain itu, pelaksanaan di luar laboratorium menandakan potensi penggunaan teknologi sederhana untuk memproduksi bioetanol secara efisien dan terjangkau. Analisis data dilakukan secara kuantitatif dengan mengukur volume bioetanol dari tiap perlakuan, yang digunakan untuk menentukan perlakuan paling efektif serta mendukung argumen bahwa limbah biji alpukat berpotensi menjadi sumber energi terbarukan.

Alat dan Bahan

Dalam penelitian berjudul “Analisis Potensi Limbah Biji Alpukat sebagai Sumber Bahan Baku Bioetanol,” digunakan berbagai alat dan bahan untuk menunjang proses eksperimen. Alat yang dipakai antara lain parutan, wadah sampel, sendok makan dan teh, saringan, gelas ukur 100 mL, timbangan analitik, label, nampan, pisau, gunting, ulekan, corong, serta wadah seperti toples untuk menampung filtrat, gelas untuk menampung filtrat sebelum destilasi, dan seperangkat alat destilasi. Perangkat destilasi mencakup kaleng logam sebagai tempat filtrat, toples sedang berisi air es sebagai alat pendingin, selang, dan gelas plastik untuk menampung hasil bioetanol.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi pupuk NPK yang telah dihaluskan sebanyak 12 gram (3 gram per botol), urea 3 gram (1,5 gram per botol), ragi tapai dan ragi roti masing-masing 10 gram (5 gram per botol), air secukupnya, selembar kertas kecil, serta 50 gram biji alpukat kering yang telah diparut. Limbah biji alpukat diperoleh dari warung jus di wilayah Gunung Pati dan Juwana. Sebelum digunakan, biji diseleksi secara organoleptik untuk memastikan kualitas, dengan memilih biji bertekstur lebih lunak dari buah alpukat muda yang lebih mudah diolah dibandingkan biji dari buah yang lebih tua.



Gambar 2. Biji alpukat yang telah diparut

Biji alpukat yang bertekstur empuk memudahkan proses pamarutan karena alat parut dapat menembus permukaannya dengan lebih mudah, sehingga menghasilkan parutan yang halus dan efisien. Selain itu, biji muda umumnya memiliki kadar air yang lebih tinggi, membuatnya lebih lentur dan lebih mudah diolah. Secara organoleptik, biji dari alpukat muda dapat dikenali melalui ciri fisik seperti warna yang lebih terang dan permukaan kulit yang masih lembut. Ketika ditekan, biji ini terasa agak kenyal namun tidak keras, menandakan tekstur yang sesuai untuk diolah. Pemilihan biji dengan karakteristik ini turut meningkatkan kualitas hasil olahan, karena tekstur yang seragam dari parutan mengurangi pemborosan bahan dan mempermudah pengolahan.

Prosedur Kerja

Dalam penelitian ini digunakan dua metode utama, yaitu filtrasi dan destilasi. Filtrasi merupakan teknik pemisahan antara partikel padat dan cairan atau gas dengan memanfaatkan media penyaring, seperti kertas saring, kain, atau filter lainnya. Proses ini bergantung pada perbedaan ukuran partikel, di mana partikel padat tertahan oleh filter sementara cairan atau gas melewatinya. Sementara itu, destilasi adalah metode pemisahan campuran cair berdasarkan perbedaan titik didih masing-masing komponen. Menurut Melinda (2023), destilasi dilakukan dengan memanaskan campuran hingga salah satu komponen menguap, lalu uap tersebut didinginkan kembali hingga mengembun menjadi cairan yang terpisah.

Proses pembuatan bioetanol dimulai dengan memarut 10 biji alpukat di atas penampian, kemudian parutan diratakan hingga menutupi seluruh permukaan penampian. Parutan tersebut lalu dijemur di bawah sinar matahari selama satu hari. Setelah kering, parutan ditimbang sedikit demi sedikit hingga mencapai 50 gram dengan menggunakan wadah ringan di atas timbangan. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi biji alpukat dengan mencampurkan 50 gram parutan kering dengan 300 mL aquades (perbandingan 1:6) di dalam toples ukuran sedang. Campuran kemudian diaduk merata menggunakan sendok untuk menghasilkan larutan ekstrak.



Gambar 3. Pembuatan larutan ekstrak biji alpukat

Setelah larutan selesai dibuat, langkah selanjutnya adalah melakukan penyaringan untuk memperoleh filtrat. Kemudian, diberi label pada botol sesuai perlakuan—baik penggunaan atau tanpa urea serta jenis ragi yang digunakan. Sebanyak 75 mL filtrat dimasukkan ke dalam masing-masing botol, dan langkah ini diulang untuk tiga botol lainnya. Selanjutnya, NPK yang telah dihaluskan ditimbang secara bertahap hingga mencapai 3 gram, lalu dimasukkan ke dalam salah satu botol, dan diulang untuk tiga botol lainnya.

Proses penimbangan urea dilakukan dengan menambahkannya sedikit demi sedikit di atas kertas hingga mencapai 1,5 gram, lalu dimasukkan ke dalam satu botol sesuai perlakuan dan diulang untuk satu botol lainnya. Ragi tapai atau ragi roti ditimbang dengan cara yang sama hingga mencapai 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam botol sesuai perlakuan. Langkah ini juga diulangi untuk botol lainnya. Setiap botol ditutup rapat guna mendukung fermentasi secara

optimal. Fermentasi berlangsung selama 13 hari, sesuai dengan keterangan Aditya et al. (2014), yang menyatakan bahwa fermentasi biji alpukat idealnya berlangsung antara 12 hingga 18 hari, dengan mengandalkan enzim dari mikroorganisme sebagai katalis fermentasi.

Pengamatan dan Destilasi

Peneliti melakukan pengamatan awal pada hari ke-0 dan lanjutan pada hari ke-8, dengan fokus pada perubahan fisik larutan filtrat, seperti perubahan warna dan keberadaan endapan. Setelah fermentasi mencapai hari ke-13, dilakukan proses destilasi menggunakan peralatan sederhana untuk memperoleh bioetanol dalam volume tertentu. Selanjutnya, kadar etanol diukur menggunakan refraktometer dengan rentang 0–80%, sesuai dengan Herliati et al. (2018) yang menyebutkan bahwa alat ini digunakan untuk mengukur kandungan alkohol dalam cairan atau minuman. Berikut ini merupakan diagram alir yang menggambarkan proses pembuatan bioetanol.



Gambar 4. Diagram tahapan pembuatan bietanol biji alpukat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam beberapa dekade terakhir, permintaan energi dunia terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan laju industrialisasi. Ketergantungan terhadap energi fosil sebagai sumber utama mulai menimbulkan kekhawatiran, baik karena keterbatasan cadangan yang semakin menipis maupun akibat buruk yang ditimbulkan terhadap lingkungan, seperti emisi gas rumah kaca dan pencemaran. Kondisi ini mendorong pencarian dan pengembangan sumber energi alternatif yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan. Salah satu alternatif yang menjanjikan adalah bioetanol, yaitu bahan bakar berbasis alkohol yang dihasilkan melalui fermentasi bahan organik. Selama ini, produksi bioetanol umumnya memanfaatkan komoditas pangan seperti jagung, tebu, dan singkong (Hidayati et al., 2022). Namun, pendekatan ini menimbulkan perdebatan karena berpotensi mengganggu ketahanan pangan, terutama di negara-negara berkembang. Oleh karena itu, pencarian sumber bahan baku bioetanol non-pangan, khususnya dari limbah organik, menjadi semakin relevan dan mendesak.

Salah satu limbah organik yang berpotensi namun masih jarang dimanfaatkan adalah biji alpukat. Limbah ini banyak dihasilkan dari industri makanan dan minuman, dan memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi, yang dapat diubah menjadi glukosa melalui proses hidrolisis sebelum difermentasi menjadi etanol. Namun, efisiensi proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh faktor seperti jenis ragi dan tambahan nutrisi, misalnya urea. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh dua faktor tersebut terhadap keberhasilan fermentasi, serta mengevaluasi potensi biji alpukat sebagai bahan baku bioetanol. Dengan memanfaatkan limbah ini, diharapkan tidak hanya mengurangi beban limbah organik yang mencemari lingkungan, tetapi juga menawarkan solusi alternatif dalam produksi energi terbarukan.

Menurut Rizwan et al. (2018), biji *Persea americana* mengandung 9,92% air, 16,54% lemak, 2,4% abu, 17,94% protein, 3,10% serat, serta 48,11% karbohidrat (termasuk lignin dan selulosa). Tingginya kandungan karbohidrat ini menjadikan biji alpukat sebagai bahan yang potensial untuk dikonversi menjadi gula dan kemudian difermentasi menjadi bioetanol. Penelitian ini juga berkontribusi dalam isu pengelolaan limbah secara berkelanjutan dan mendukung penerapan prinsip ekonomi sirkular. Dengan mengubah limbah menjadi produk yang bernilai guna tinggi, penelitian ini mendukung pencapaian Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (TPB), khususnya dalam aspek energi bersih dan pengelolaan limbah. Diharapkan hasil analisis dapat memberikan pemahaman mendalam mengenai potensi biji alpukat sebagai bahan baku bioetanol non-pangan.

Dalam studi ini, digunakan dua jenis ragi: ragi roti dan ragi tapai. Ragi roti merupakan mikroorganisme dari spesies *Saccharomyces cerevisiae*, yang tergolong dalam kelompok jamur. Ragi ini sering digunakan dalam industri pangan, terutama dalam pembuatan roti, karena kemampuannya mengubah gula menjadi alkohol dan karbon dioksida, sehingga adonan roti bisa mengembang dan memiliki tekstur yang lembut (Kusuma et al., 2020; Jacobus et al., 2021). Ragi roti tersedia dalam bentuk segar maupun kering, dan umumnya bekerja optimal pada suhu sekitar 30–35°C. Nutrisi utama yang dibutuhkan meliputi gula dan air hangat, namun suhu di atas 50°C dapat mematikan ragi tersebut.

Sementara itu, ragi tapai merupakan starter fermentasi yang digunakan dalam pembuatan tapai dari singkong atau ketan. Ragi ini berbentuk bulat pipih dan berwarna putih, dengan kandungan mikroorganisme yang kompleks seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Amylomyces rouxii*, serta bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* (Tesfaw & Assefa, 2014). Kombinasi mikroorganisme ini berperan dalam mengubah karbohidrat menjadi gula sederhana dan selanjutnya menghasilkan alkohol. Pembuatan ragi tapai biasanya dilakukan secara tradisional dan bervariasi antar daerah, sehingga komposisi mikroorganismenya bisa berbeda-beda. Selain untuk pangan, hasil fermentasi ragi tapai seperti alkohol dan asam organik juga memiliki potensi sebagai bahan baku industri (Kurniati dkk., 2021).

Secara umum, baik ragi roti maupun ragi tapai melakukan fermentasi secara anaerob, di mana gula diubah menjadi etanol dan karbon dioksida. Ragi roti yang didominasi oleh *S. cerevisiae* melakukan proses fermentasi melalui tahap glikolisis yang menghasilkan asam piruvat, kemudian dilanjutkan dengan dekarboksilasi dan reduksi asetaldehida menjadi etanol dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase. Reaksi kimianya secara berurutan adalah sebagai berikut:

1. **Glikolisis**



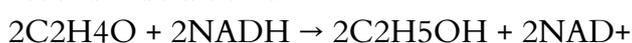
(Glukosa dikonversi menjadi asam piruvat, menghasilkan energi dan NADH)

2. **Dekarboksilasi Asam Piruvat**



(Asam piruvat diubah menjadi asetaldehida dan karbon dioksida)

3. **Reduksi Asetaldehida**



(Asetaldehida direduksi menjadi etanol)

Pada ragi tapai, terdapat tambahan tahap awal yaitu hidrolisis pati oleh enzim amilase dari *A. rouxii*, yang mengubah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana:

1. **Hidrolisis Pati**



(Pati dipecah menjadi glukosa)

2. **Fermentasi Glukosa**



Meskipun secara umum jalur fermentasinya mirip, perbedaan utama terletak pada keanekaragaman mikroorganisme dan tahap tambahan pada ragi tapai, yang memungkinkan pemanfaatan karbohidrat kompleks. Namun, kehadiran bakteri asam laktat dalam ragi tapai juga menghasilkan asam organik sebagai produk sampingan yang dapat mengurangi efisiensi produksi bioetanol (Delva et al., 2022). Oleh karena itu, pemilihan jenis ragi harus disesuaikan dengan karakteristik bahan baku dan target efisiensi fermentasi.

Tabel 1. Hasil Kadar Etanol Biji Alpukat yang diukur dengan Refraktometer 0-80%

Botol ke-	Jenis ragi	Jumlah pupuk NPK	Jumlah pupuk urea	Lama waktu fermentasi	Kadar etanol yang di hasilkan
1	Ragi tapai	3 gram	3 gram	13 hari	1%
2	Ragi tapai	3 gram	0 gram	13 hari	0%
3	Ragi roti	3 gram	3 gram	13 hari	2 %
4	Ragi roti	3 gram	0 gram	13 hari	0%

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa penggunaan ragi roti lebih efektif dibandingkan ragi tapai dalam proses fermentasi biji alpukat untuk menghasilkan etanol. Perbedaan konsentrasi etanol ini dapat dijelaskan secara biologis dan biokimia. Ragi roti, seperti *Saccharomyces cerevisiae*, memiliki tingkat aktivitas enzimatik yang tinggi, terutama enzim-enzim yang berperan dalam mengubah gula menjadi etanol (Rahman, 2024). Ragi jenis ini juga lebih mampu mengolah substrat kompleks seperti pati dan gula sederhana yang kemungkinan besar terdapat pada hasil ekstraksi biji alpukat. Sebaliknya, ragi tapai memiliki komposisi enzim yang berbeda dan kurang optimal dalam memproduksi etanol. Meskipun ragi tapai juga mengandung *Saccharomyces sp.*, keberadaan mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat justru menimbulkan kompetisi dalam penggunaan substrat, sehingga efisiensi pembentukan etanol menurun. Selain itu, ragi tapai lebih sensitif terhadap kondisi lingkungan

fermentasi, seperti suhu dan pH, yang dapat menghambat proses produksi etanol (Gayatri & Herawati, 2021).

Keberhasilan fermentasi juga sangat bergantung pada kemampuan ragi beradaptasi terhadap lingkungan, termasuk suhu, pH, dan ketersediaan nutrisi. Ragi roti diketahui lebih stabil dan efisien pada berbagai kondisi fermentasi yang digunakan dalam produksi etanol. Salah satu aspek penting dalam fermentasi adalah ketersediaan nutrisi, terutama unsur karbon, nitrogen, dan fosfor. Penambahan nutrisi seperti pupuk NPK dan urea dapat mendukung pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi (Susmanto et al., 2020). Pupuk NPK mengandung unsur hara nitrogen, fosfor, dan kalium, sementara pupuk urea kaya akan nitrogen dengan kandungan hingga 46% (Hidayati et al., 2022). Dalam penelitian ini, nutrisi ditambahkan dalam perbandingan NPK:urea sebesar 2:1 (3 gram NPK dan 1,5 gram urea) pada beberapa variasi sampel, sementara beberapa lainnya tidak diberikan urea. Sesuai dengan temuan Artini & Wartana (2023), penambahan urea sebagai sumber nitrogen mampu meningkatkan metabolisme mikroorganisme, mempercepat konversi gula menjadi etanol, karena nitrogen merupakan komponen utama pembentuk protein, yang berfungsi sebagai enzim dalam reaksi biokimia fermentasi. Semakin banyak nutrisi yang tersedia, semakin optimal kinerja mikroorganisme (Hidayati et al., 2022).

Dalam eksperimen ini, perbedaan kadar etanol yang dihasilkan antara sampel dengan dan tanpa urea menunjukkan bahwa urea memberikan pengaruh signifikan terhadap hasil fermentasi. Namun, efektivitas ragi tetap menjadi faktor utama. Ragi roti mampu memanfaatkan nutrisi tambahan dengan lebih baik dibandingkan ragi tapai. Dengan demikian, ragi roti memiliki potensi lebih besar untuk dimanfaatkan dalam produksi bioetanol dari biji alpukat, khususnya jika targetnya adalah memperoleh kadar etanol yang tinggi.



Gambar 5. Hasil etanol dari fermentasi biji alpukat selama 13 hari setelah melalui proses destilasi

Upaya optimalisasi penggunaan ragi dalam fermentasi biji alpukat menjadi hal krusial dalam meningkatkan hasil etanol. Menurut Ahmad et al. (2021), pemilihan ragi spesifik seperti ragi roti dengan *Saccharomyces cerevisiae* murni dapat meningkatkan efisiensi fermentasi. Selain itu, faktor lingkungan seperti pH, suhu, dan kadar oksigen harus disesuaikan untuk menunjang aktivitas enzim selama fermentasi. Dosis ragi juga harus disesuaikan dengan jumlah substrat agar fermentasi berjalan optimal tanpa pemborosan. Interaksi antara jenis ragi dan nutrisi tambahan seperti urea juga perlu diteliti lebih dalam. Meskipun urea penting sebagai sumber nitrogen, konsentrasi berlebih dapat bersifat toksik bagi mikroorganisme. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dapat difokuskan pada pengaruh variasi konsentrasi urea, jumlah ragi, dan lama fermentasi untuk memaksimalkan produksi etanol.

Keberhasilan proses fermentasi dalam penelitian mengenai potensi limbah biji alpukat sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dipengaruhi oleh berbagai faktor penting. Salah satu faktor utama adalah jenis ragi yang digunakan. Dalam studi ini, digunakan dua jenis ragi: ragi tapai dan ragi roti. Ragi roti yang mengandung *Saccharomyces cerevisiae* dinilai lebih unggul dalam memproduksi etanol dibandingkan ragi tapai, yang terdiri dari berbagai mikroorganisme termasuk *Saccharomyces* sp. dan bakteri asam laktat. Penelitian oleh Tesfaw & Assefa (2014) menunjukkan bahwa ragi roti lebih tahan terhadap kondisi fermentasi dan mampu mengubah gula menjadi etanol dengan lebih efisien, sehingga menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi.

Selain jenis ragi, kualitas bahan baku juga memegang peranan penting. Biji alpukat mengandung karbohidrat dalam bentuk pati, yang perlu diubah terlebih dahulu menjadi gula sederhana agar dapat difermentasi. Rizwan et al. (2018) melaporkan bahwa biji alpukat (*Persea americana*) mengandung sekitar 48,11% karbohidrat (lignin dan selulosa), menjadikannya kandidat potensial sebagai bahan baku bioetanol. Proses penggilingan biji alpukat bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan yang dapat dijangkau mikroorganisme, sehingga mempercepat proses fermentasi. Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak biji alpukat dengan rasio 1:6, dan hasilnya menunjukkan kadar etanol yang rendah. Hal ini sejalan dengan Rahman (2024) yang menyatakan bahwa konsentrasi substrat karbohidrat yang lebih tinggi akan menghasilkan kadar etanol yang lebih besar. Kandungan lemak dan serat dalam biji alpukat juga bisa mempengaruhi efektivitas fermentasi.

Kondisi lingkungan fermentasi seperti suhu, pH, dan kadar oksigen juga harus diperhatikan. Suhu optimal untuk fermentasi menggunakan ragi roti berkisar antara 30–35°C dengan pH 4,5–6, dan proses ini sebaiknya berlangsung dalam kondisi anaerob agar produksi etanol menjadi maksimal. Penambahan sumber nitrogen seperti urea juga berperan dalam mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Urea, sebagai sumber nitrogen, membantu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*, terutama jika medium kekurangan nutrisi. Namun, dosis urea harus dijaga agar tidak berlebihan, karena dapat meracuni ragi. Hidayah et al. (2021) menyarankan agar rasio nutrisi dari urea dan NPK diatur dengan urea dalam jumlah lebih sedikit untuk mencegah ketidakseimbangan nitrogen.

Durasi fermentasi juga sangat mempengaruhi hasil akhir. Putri et al. (2024) menyatakan bahwa waktu fermentasi optimal untuk *Saccharomyces cerevisiae* adalah sekitar 13 hari. Jika terlalu singkat, etanol yang dihasilkan belum maksimal; jika terlalu lama, mikroorganisme dapat mengalami degradasi, yang akan mengurangi efektivitas enzim dan menurunkan kualitas etanol karena munculnya produk sampingan. Proses distilasi juga memegang peranan penting dalam memisahkan etanol dari campuran lain, sehingga menghasilkan etanol yang lebih murni.

Kualitas bioetanol yang dihasilkan dari biji alpukat dinilai dari beberapa parameter seperti kadar etanol, kemurnian, kandungan air, dan komponen lain yang menentukan kesesuaian produk sebagai bahan bakar atau bahan industri. Dalam percobaan ini, fermentasi tanpa penambahan urea dengan ragi roti maupun ragi tapai menghasilkan kadar etanol 0%, menunjukkan bahwa tanpa sumber nutrisi tambahan, proses fermentasi tidak berlangsung optimal. Setelah penambahan 1,5 gram urea, kadar etanol meningkat menjadi 1% dengan ragi tapai dan 2% dengan ragi roti. Ini menunjukkan bahwa urea berperan besar dalam memperbaiki proses fermentasi.

Meski demikian, kadar etanol yang diperoleh masih rendah. Standar kadar etanol untuk bahan bakar minimal adalah 99,5%, sementara hasil penelitian ini hanya mencapai sekitar 2%. Oleh karena itu, diperlukan proses pemurnian tambahan untuk meningkatkan kadar etanol. Melinda & Atmono (2023) menyatakan bahwa kadar etanol dalam rentang 0–10% perlu ditingkatkan melalui proses lebih lanjut agar dapat digunakan secara efektif sebagai bahan bakar.

Rendahnya kadar etanol dari fermentasi biji alpukat kemungkinan disebabkan oleh kandungan gula yang sulit difermentasi, atau oleh keberadaan senyawa penghambat seperti lemak dan serat. Ketiadaan nutrisi tambahan juga menjadi salah satu faktor penghambat. Meskipun demikian, biji alpukat tetap memiliki potensi sebagai bahan baku bioetanol, terutama jika metode fermentasi dan pemurniannya dapat dioptimalkan.

Sebagai perbandingan, penelitian oleh Lestari & Mulyaningsih (2021) menunjukkan bahwa fermentasi kulit nanas dengan 20 gram starter menghasilkan kadar bioetanol sebesar 41,62%. Kulit nanas memang dikenal memiliki kadar gula sederhana yang tinggi seperti glukosa dan fruktosa, yang lebih mudah difermentasi oleh ragi. Sementara itu, Rahmawati et al. (2023) mencatat bahwa campuran ampas tebu dan sabut kelapa dapat menghasilkan bioetanol hingga 25,1% dengan bantuan enzim selama fermentasi lima hari.

Pemanfaatan biji alpukat sebagai bahan baku bioetanol memberikan manfaat lingkungan dengan mengurangi limbah organik yang berpotensi menghasilkan gas rumah kaca seperti metana. Hal ini juga mendukung ekonomi sirkular dengan mengubah limbah menjadi produk bernilai. Namun, penting untuk memastikan bahwa proses produksi bioetanol dilakukan secara ramah lingkungan, tanpa menghasilkan limbah berbahaya. Dengan pendekatan yang tepat, biji alpukat dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif yang mendukung keberlanjutan ekonomi dan pelestarian lingkungan.

Kebaruan dari artikel berjudul “Analisis Pengaruh Jenis Ragi dan Penambahan Nutrien pada Produk Bioetanol Biji Alpukat” terletak pada pemanfaatan limbah biji alpukat sebagai bahan baku alternatif yang masih jarang diteliti secara spesifik untuk produksi bioetanol. Penelitian ini tidak hanya menyoroti potensi biji alpukat yang kaya karbohidrat sebagai substrat fermentasi, tetapi juga membandingkan secara langsung efektivitas dua jenis ragi (ragi roti dan ragi tapai) serta pengaruh penambahan nutrien berupa pupuk urea dan NPK terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Penggunaan kombinasi ragi dan nutrien dalam konteks bahan baku non-pangan seperti biji alpukat merupakan pendekatan inovatif yang memberikan alternatif berkelanjutan dan ramah lingkungan dalam produksi bioetanol, sekaligus mendukung prinsip ekonomi sirkular dengan mengurangi limbah organik.

Lebih lanjut, artikel ini menawarkan pendekatan eksperimental sederhana namun aplikatif yang dilakukan di luar laboratorium konvensional, sehingga membuka peluang penerapan teknologi fermentasi di skala rumah tangga atau UMKM. Penelitian ini juga menampilkan data perbandingan kadar etanol hasil fermentasi dengan perlakuan berbeda secara kuantitatif, yang menunjukkan bahwa penggunaan ragi roti dengan tambahan urea memberikan hasil terbaik. Selain berkontribusi pada aspek lingkungan dan energi terbarukan, penelitian ini menjadi penting secara ilmiah karena menambahkan referensi baru terkait efisiensi mikroorganisme dan nutrien dalam fermentasi bioetanol dari bahan limbah. Oleh karena itu, kebaruan utama artikel ini terletak pada integrasi antara bahan baku limbah spesifik, penggunaan kombinasi ragi dan nutrien, serta metode fermentasi yang praktis namun berdampak signifikan terhadap hasil produksi etanol.

KESIMPULAN

Jenis ragi dan penambahan nutrien terbukti berpengaruh signifikan terhadap efektivitas fermentasi dan jumlah bioetanol yang dihasilkan. Ragi dengan kemampuan metabolisme yang tinggi mampu mengubah gula menjadi etanol lebih efisien. Penambahan nutrien seperti sumber nitrogen dan mineral penting juga mendukung aktivitas mikroorganisme selama fermentasi, sehingga meningkatkan kadar bioetanol. Pada filtrat tanpa penambahan urea tetapi dengan ragi tapai dan ragi roti, kadar etanol yang dihasilkan adalah 0%. Filtrat dengan penambahan urea dan ragi roti menghasilkan kadar etanol sebesar 2%, lebih tinggi dibandingkan ragi tapai yang

hanya 1%. Namun, produksi bioetanol dari biji alpukat masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan bahan baku lain yang kaya gula atau pati, yang juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat karbohidrat pada ekstrak biji. Oleh karena itu, diperlukan inovasi dalam metode fermentasi serta penerapan prinsip ekonomi sirkular dengan mengolah limbah menjadi produk bernilai guna. Selain itu, produksi bioetanol harus dilakukan dengan proses yang ramah lingkungan, minim limbah, dan tanpa bahan kimia berbahaya agar dampak positifnya maksimal. Dengan pendekatan yang tepat, biji alpukat berpotensi menjadi solusi yang menggabungkan keuntungan ekonomi dan pelestarian lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Naqvi, S. A., Jaskani, M. J., Waseem, M., Ali, E., Khan, I. A., ... & Aadil, R. M. (2021). Efficient utilization of date palm waste for the bioethanol production through *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Food Science & Nutrition*, 9(4), 2066-2074.
- Andana, D. S., Jannah, H., & Safnowandi, S. (2023). Pemanfaatan Bintil Akar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) sebagai Pupuk Biologi untuk Pertumbuhan Bibit Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) dalam Upaya Penyusunan Petunjuk Praktikum Fisiologi Tumbuhan II. *Biocaster :Jurnal Kajian Biologi*, 3(1), 1-10.
- Artini, N. P. R., & Wartana, I. G. N. A. W. (2023). The Effect of Fermentation Time on Bioethanol Production from Molasses. *The Journal ofMuhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, 6(6), 87-96.
- Gayatri, N. P., & Herawati, D. A. (2021). The Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Mass Variation and Time of Fermentation on Bioethanol production from Solid Waste of Palm Starch Using Simultaneous of Saccharification and Fermentation Methods. *Jurnal Kimia dan Rekayasa*, 1(2), 61-69.
- Herliati., Sefaniyah., & Indri, A. (2018). Pemanfaatan Limbah Kulit Pisang sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol. *Jurnal Teknologi*, 6(1), 1-10.
- Hidayati, M., Sapalian, K. D., Febriana, I., & Bow, Y. (2022). Pengaruh pH dan Waktu Fermentasi Molase Menjadi Bioetanol Menggunakan Bakteri EM4. *Jurnal Publikasi Penelitian Terapan dan Kebijakan*, 5(1), 33-40.
- Jacobus, A. P., Gross, J., Evans, J. H., Ceccato-Antonini, S. R., & Gombert, A. K. (2021). *Saccharomyces cerevisiae* strains used industrially for bioethanol production. *Essays in Biochemistry*, 65(2), 147-161.
- Jhariya, U., Dafale, N. A., Srivastava, S., Bhende, R. S., Kapley, A., & Purohit, H. J. (2021). Understanding ethanol tolerance mechanism in *Saccharomyces cerevisiae* to enhance the bioethanol production: Current and future prospects. *BioEnergy Research*, 14, 670-688.
- Maryana, T., Silsia, D., & Budiyanto. (2020). Pengaruh Konsentrasi dan Jenis Ragi pada Produksi Bioetanol dari Ampas Tebu. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 47-56.
- Melinda, M., & Atmono, A. (2023). Perbandingan Pengaruh Penggunaan Ragi Roti Dan Ragi Tape Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Biji Buah Durian, Nangka Dan Mangga. *Jurnal Lingkungan Dan Sumber daya Alam (JURNALIS)*, 6(2), 115-122
- Oktaniya, O., Relationship Between the Level of Ethanol, Sugar Concentration Reduction and Number of Cells in Bioethanol Production From Coconut Water with Addition of NPK Fertilizer. *Sagu*, 16(1), 28-34.

- Putri, Z. S., Ruyani, A., Uliyandari, M., Wardana, R. W., & Sukarso, A. A. (2024). Pengaruh Penambahan Nutrient (NPK dan Pupuk Urea) terhadap Bioethanol Hasil Fermentasi Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 662-670.
- Qomariyah, L., & Sindhuwati, C. (2023). Pengaruh Penambahan NPK dan Urea pada Pembuatan Etanol dari Air Tebu melalui Proses Fermentasi. *Distilat : Jurnal Teknologi Separasi*, 7(2), 82-88.
- Rahman, H., Nehemia, A., & Astuti, H. P. (2023). Investigating the potential of avocado seeds for bioethanol production: A study on boiled water delignification pretreatment. *International Journal of Renewable Energy Development*, 12(4).
- Rahman, H. (2024, August). Teknologi konversi crude glycerol menjadi bioetanol: solusi berkelanjutan untuk transisi energi terbarukan. *In Proceeding Technology of Renewable Energy and Development Conference* (Vol. 4, No. 1, pp. 51-66).
- Rizwan, M., Diah, A. W. M., & Ratman, R. (2018). Pengaruh Konsentrasi Ragi Tape (*Saccharomyces cerevisiae*) terhadap Kadar Bioetanol pada Proses Fermentasi Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Akademika Kimia*, 7(4), 173-189.
- Sukaryo., & Subekti, S. (2017). Bioetanol dari Limbah Biji Alpukat di Kabupaten Semarang. *Jurnal NEO Teknika*, 3(1), 29-34.
- Suryani, Y., Hernaman, I., & Ningsih, N. (2017). Pengaruh Penambahan Urea dan Sulfur pada Limbah Padat Bioetanol yang Difermentasi EM-4 terhadap Kandungan Protein dan Serat Kasar. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 5(1), 13-17.
- Susmanto, P., Yandriani., Dania, B., & Ellen. (2020). Pengaruh Jenis Nutrient dan Waktu terhadap Efisiensi Substrat dan Kinetika Reaksi Fermentasi dalam Produksi Bioetanol Berbahan Baku Biji Durian. *Jurnal Integrasi Proses*, 9(2), 1-8.
- Tesfaw, A., & Assefa, F. (2014). Current trends in bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*: substrate, inhibitor reduction, growth variables, coculture, and immobilization. *International Scholarly Research Notices*, 2014(1), 532852.