

**PERBANDINGAN INOKULUM DAN SUBSTRAT (ISR) TERHADAP
PRODUKSI BIOGAS DARI AIR LIMBAH
SISA REBUSAN CILOK**

(Skrpsi)

Oleh

**NATASYA VALENTINA PUTRI
NPM 2117021015**



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

**PERBANDINGAN INOKULUM DAN SUBSTRAT (ISR) TERHADAP
PRODUKSI BIOGAS DARI AIR LIMBAH
SISA REBUSAN CILOK**

Oleh

Natasya Valentina Putri

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jususan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PRGORAM STUDI S1 BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

PERBANDINGAN INOKULUM DAN SUBSTRAT (ISR) TERHADAP PRODUKSI BIOGAS DARI AIR LIMBAH SISA REBUSAN CILOK

Oleh

NATASYA VALENTINA PUTRI

Peningkatan aktivitas industri pangan skala kecil, seperti industri cilok, turut menghasilkan limbah cair dengan kandungan bahan organik yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi produksi biogas dari limbah cair sisa rebusan cilok melalui proses *anaerobic digestion* dengan variasi rasio inokulum terhadap substrat/ISR. Limbah cair rebusan cilok digunakan sebagai substrat, sementara *effluent* digester kotoran sapi digunakan sebagai inokulum. Proses dilakukan secara *batch* pada empat variasi ISR (ISR I-IV) serta satu digester kontrol positif menggunakan glukosa. Hasil penelitian ini menunjukkan karakteristik degradasi limbah cilok yang terbukti lebih baik dibandingkan substrat glukosa, yang ditunjukkan oleh nilai akhir VS sebesar 4.750 mg/L dan COD sebesar 1.078 mg/L, lebih rendah daripada nilai akhir pada digester glukosa. Namun perolehan CH₄ pada digester cilok cenderung lebih rendah dibandingkan digester glukosa yaitu hanya 82 N mL/g VS dan 59 N mL/g COD. Hasil penelitian pada berbagai ISR menunjukkan bahwa digester dengan ISR IV menunjukkan kinerja paling optimal dengan produksi metana tertinggi sebesar 238 mL/g VS dan disertai penurunan nilai VS dan COD, serta kestabilan pH, alkalinitas, VFA yang baik. Dengan demikian, limbah cair rebusan cilok memiliki potensi besar sebagai bahan baku produksi biogas, dan optimalisasi rasio ISR menjadi kunci penting dalam meningkatkan performa sistem *anaerobic digestion* sekaligus sebagai solusi pengelolaan limbah cair yang berkelanjutan.

Kata kunci : Biogas, Limbah cair rebusan cilok, Fermentasi anaerob, dan ISR.

ABSTRAK

THE EFFECT OF INOCULUM TO SUBSTRATE RATIO (ISR) ON BIOGAS PRODUCTION FROM CILOK BOILING WASTEWATER

Authored by

NATASYA VALENTINA PUTRI

The increasing activities of small-scale food industries, such as cilok production, contribute to the generation of wastewater with high organic content. This study aims to evaluate the biogas production potential of cilok boiling wastewater through the anaerobic digestion process using various inoculum-to-substrate ratios (ISR). The cilok boiling wastewater was used as the substrate, while cattle manure digester effluent served as the inoculum. The batch anaerobic digestion process was conducted at four ISR variations (ISR I–IV) along with a positive control digester using glucose. The results showed that the degradation of cilok wastewater was better than that of the glucose substrate, indicated by the final VS value of 4,750 mg/L and COD value of 1,078 mg/L, both lower than the final values in the glucose digester. However, methane yield from the cilok digester was lower than that of the glucose digester, producing only 82 N mL/g VS and 59 N mL/g COD. Among the ISR variations, ISR IV exhibited the most optimal performance, generating the highest methane production of 238 mL/g VS, accompanied by significant reductions in VS and COD values, as well as stable pH, alkalinity, and VFA levels. In conclusion, cilok boiling wastewater has strong potential as a feedstock for biogas production, and optimizing the ISR ratio is a key factor in enhancing anaerobic digestion performance while supporting sustainable wastewater management.

Keywords : Biogas, Cilok boiling wastewater, Anaerobic digestion, ISR.

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Perbandingan Inokulum dan Substrat (ISR)
terhadap Produksi Biogas dari Air Limbah Sisa
Rebusan Cilok

Nama Mahasiswa : *Natasya Valentina Putri*

NPM : 2117021015

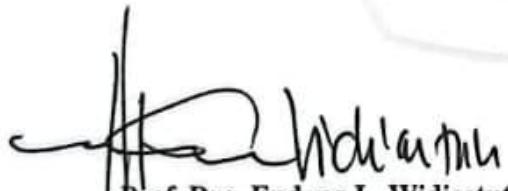
Jurusan/Program Studi : Biologi/S1-Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1



Endang Widiastuti

Prof. Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc. Ph.D.
NIP. 196106111986032001

Pembimbing 2



Arini Wresta

Dr. Arini Wresta M.Eng
NIP. 197908092005022001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNILA



Jani Master

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguj

Ketua Penguji : **Prof. Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D.**



.....
.....
.....

Anggota Penguji : **Dr. Arini Wresta, M.Eng.**

Penguji Utama : **Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi:

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Natasya Valentina Putri
NPM : 2117021015
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul :

“PERBANDINGAN INOKULUM DAN SUBSTRAT (ISR) TERHADAP PRODUKSI BIOGAS DARI AIR LIMBAH SISA REBUSAN CILOK”

Apa yang tertulis dalam karya ilmiah baik data, gagasan, dan pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini saya susun dengan mengikuti aturan dan etika akademik yang berlaku dan tidak berisikan hasil karya orang lain yang telah dipublikasikan sebelumnya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar atau terdapat kecurangan, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung,



Natasya Valentina Putri

NPM. 2117021015

RIWAYAT HIDUP



Natasya Valentina Putri, lahir di Metro, 14 Februari 2003. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Tri Junaidi, S.H. dan Ibu Ani Karmila Sari, S.Pd. Penulis beralamat di Dusun Sri Widodo, RT 003, RW 001, Desa Wonoharjo, Kecamatan Sumberejo, Kabupaten Tanggamus, Lampung. Penulis memulai pendidikan pertama di Sekolah Dasar (SD) Fransiskus Gisting pada tahun 2009 – 2015.

Kemudian pendidikan dilanjutkan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Gisting pada tahun 2015 – 2018. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Sumberejo pada tahun 2018 – 2021. Penulis resmi diterima sebagai mahasiswi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2021 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi, penulis pernah mengikuti program magang serta riset Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) pada tahun 2024. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada bulan pada bulan Januari – Februari 2024 di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) KST Samaun Samadikun Cisitu, Bandung, Jawa Barat dengan judul **“Tinjauan Degradasi Senyawa Organik dari Limbah Cilok menjadi Biogas dilihat dari Nilai Konsentrasi Total solid (TS) dan Volatile solid (VS)”**. Kemudian penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Toba, Kecamatan Sekampung Udik, Kabupaten Lampung Timur pada bulan Juni – Agustus 2024. Selain mengikuti kegiatan akademik, penulis juga pernah mengikuti beberapa organisasi

di dalam maupun di luar kampus diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai anggota bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan pada tahun 2022, Paduan Suara Mahasiswa (PSM) UNILA tahun 2023 dan organisasi luar kampus yaitu Ruang Pangan sebagai anggota Talent Management pada tahun 2024.

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, sumber segala kasih dan kekuatan, yang dengan rahmat-Nya mengiringi setiap langkah hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Meski karya ini jauh dari sempurna, namun pencapaian ini menjadi jejak kecil perjuangan yang saya banggakan. Dengan kerendahan hati, saya persembahkan karya sederhana ini untuk orang-orang yang menjadikan hidup saya penuh warna dan makna.

Untuk kedua orang tuaku tercinta,

Ayah Tri Junaidi, S.H. dan Ibu Ani Karmila Sari, S.Pd.

Terima kasih atas doa yang tak pernah putus, atas kasih sayang yang tidak bertepi, dan atas setiap langkah pengorbanan yang menjadi Cahaya penuntun dalam hidupku. Segala motivasi, semangat, dan restu kalian adalah kekuatan terbesar yang mendorongku untuk terus maju.

Untuk adik-adik tersayang,

yang kehadirannya menjadi penyemangat dalam setiap perjalanan panjang.

Dukungan kalian, sekecil apa pun, adalah alasan mengapa aku tetap bertahan dan melangkah hingga hari ini.

Dan untuk diriku sendiri,

Natasya Valentina Putri, yang telah memilih untuk tetap kuat, tetap berdiri, dan tidak menyerah pada segala rintangan. Terima kasih telah percaya pada mimpi, meski jalan menuju cita-cita tidak selalu mudah. Semoga persembahan kecil ini menjadi langkah awal menuju perjalanan yang lebih indah dan berarti.

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum hingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri”

(QS. Ar-Ra'd: 11)

“Terus mencoba disetiap peluang yang ada, tidak ada yang tau garis tanganmu akan menjadi apa dan akan menjadi siapa kalau kamu belum mencobanya”

(Ayah)

Rasakan setiap proses yang kamu tempuh dalam hidupmu, sehingga kamu tau betapa hebatnya dirimu sudah berjuang sampai detik ini.

SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, yang telah melimpahkan nikmat, anugerah serta kekuatan lahir dan batin kepada penulis. Dengan berbekal keyakinan, ketabahan dan kemauan yang keras, bimbingan dan ridho dari Allah SWT, serta bantuan dari berbagai pihak jualah, maka penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **“Perbandingan Inokulum dan Substrat (ISR) Terhadap Produksi Biogas dari Air Limbah Sisa Rebusan Cilok”** dengan baik yang menjadi syarat kelulusan dari Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan dan penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan. Namun atas bantuan Allah SWT. dan dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A, IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S. Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Kepala Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

5. Ibu Prof. Dra. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I yang telah membantu, membimbing, memberikan arahan, dan saran kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. Ibu Dr. Arini Wresta, M. Eng. selaku pembimbing II yang telah memberikan banyak ilmu, arahan dan membimbing penulis dengan penuh kesabaran dalam menyelesaikan skripsi ini serta senantiasa membimbing saat pelaksanaan penelitian.
7. Bapak Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan banyak masukan, saran, kritik, motivasi, dan arahan yang membangun sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Ibu Primasari Pertiwi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi banyak arahan dan masukan.
9. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan sampai mencapai gelar sarjana.
10. Kedua orang tua tercinta, Bapak Tri Junaidi, S.H. dan Ibu Ani Karmila Sari, S.Pd. yang telah mengorbankan segalanya untuk memberikan yang terbaik kepada penulis yang menjadi alasan utama penulis menyelesaikan skripsi ini
11. Kepada adik-adikku tersayang M. Neymar Banyu dan M. Benzema Dastan serta tanteku tercinta Siti Anisa, S.TP. yang selalu memberikan semangat, kegembiraan dan dukungan yang tiada henti-hentinya kepada penulis.
12. Sahabat - sahabat kuliah yang sangat penulis sayangi, Meilani Justicia Parhusip, Alya Lintang, Shira Amelia, dan Malika Riana Fatin yang telah memberikan banyak bantuan, masukan dan dukungan selama penulis menyelesaikan pendidikan S1.
13. Teman - teman sejati, Kgs. Yusuf Khan, Sukma Kencana, Shafa, Mika, Ilmi, Dian, Vivi, Ronaa, Bintang, dan Adzki yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis dan selalu memberikan tawa disetiap harinya.
14. Teman – teman di BRIN, Bang Rizqy, Palma, Christin, Faza, Ganen, Roy, dan Rajen serta para staf BRIN yang telah membantu penulis saat melaksanakan penelitian di laboratorium BRIN Cisitu, Bandung.

15. Seluruh rekan angkatan 2021 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas banyak pengalaman dan kebersamaan kepada penulis selama penulis menempuh pendidikan S1.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah ikut memberikan pengalaman baru, kebersamaan serta perjalanan hidup penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Bandar Lampung,

Natasya Valentina Putri

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
PERSEMPAHAN	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.3 Manfaat Penelitian.....	5
1.4 Kerangka Pemikiran	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Limbah Cair Rebusan Cilok dan Pembuatan Biogas dari Limbah Berbasis Tapioka	10
2.2 Proses Anaerobik untuk Menghasilkan Biogas.....	13
2.3 Perbandingan Inokulum dan Substrat (ISR) terhadap Proses Pembentukan Biogas	17
2.4 Parameter Analisis Hasil	19
2.4.1 <i>Total Solid (TS)</i> dan <i>Volatile Solid (VS)</i>	19
2.4.2 <i>Chemical Oxygen Demand (COD)</i>	19
2.4.3 pH dan Alkalinitas	20
2.4.4 Pengukuran Kadar CH4.....	21

2.4.5	Volatile Fatty Acid (VFA)	22
III.	METODE PENELITIAN	23
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2	Alat	23
3.2.1	Peralatan Percobaan.....	23
3.2.2	Peralatan Analisis	24
3.3	Bahan.....	24
3.3.1	Bahan Baku untuk Pembuatan Biogas	24
3.3.2	Bahan Analisis	25
3.4	Prosedur Kerja.....	25
3.4.1	Percobaan Pembuatan Biogas.....	25
3.4.2	Pengukuran Pembentukan Biogas dan Kadar CH4	26
3.4.3	Analisis <i>Total Solid</i> (TS) dan <i>Volatile Solid</i> (VS).....	27
3.4.4	Analisis <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD).....	28
3.4.5	Analisis pH dan Alkalinitas.....	30
3.4.6	Analisis <i>Volatile Fatty Acid</i> (VFA).....	30
3.5	Jadwal Pelaksanaan	31
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Karakteristik Degradasi Air Limbah Rebusan Cilok Berdasarkan Pembanding dengan Glukosa	33
4.1.1	Kecenderungan Konsentrasi COD dan VS.....	34
4.1.2	Nilai PH, Konsentrasi VFA dan Alkalinitas.....	38
4.1.3	Produktivitas CH ₄ dari Limbah Cilok Dibandingkan dengan Glukosa.....	41
4.2	Pengaruh Perbandingan Inokulum Terhadap Substrat (ISR) terhadap Produktifitas CH ₄	43
4.2.1	Kecenderungan Konsentrasi COD dan VS.....	44
4.2.2	Nilai PH, Konsentrasi VFA dan Alkalinitas.....	53
4.2.3	Nilai Perolehan CH ₄	57
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	66
5.1	Kesimpulan.....	66
5.2	Saran.....	67
	DAFTAR PUSTAKA	68
	LAMPIRAN I	76

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Analisis Laboratorium Limbah Cair Rebusan Cilok PT. Karya Baru Kita Cilokku.....	11
Tabel 2. Hasil Analisis Bahan Baku.....	25
Tabel 3. Variasi Perbandingan ISR	26
Tabel 4. Jadwal Pelaksanaan	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Kerangka Penelitian.....	9
Gambar 2. Skema Proses Pembuatan Cilok	10
Gambar 3. Reaktor.....	24
Gambar 4. Pengukuran Kadar CH ₄ pada Syringe.....	27
Gambar 5. Kurva Larutan Standar.....	30
Gambar 6. Grafik Perbandingan Konsentrasi COD mg/L pada Digester Cilok dan Digester Glukosa	35
Gambar 7. Grafik Grafik Perbandingan Konsentrasi VS mg/L pada Digester Cilok dan Digester Glukosa	36
Gambar 8. Grafik Perbandingan pH, VFA dan Alkalinitas pada Variasi ISR	39
Gambar 9. Grafik Perbandingan Perolehan CH ₄ N mL/g VS dan CH ₄ N mL/g COD pada Digester Cilok dan Digester Glukosa.....	41
Gambar 10. Grafik Konsentrasi COD mg/L	46
Gambar 11. Grafik Konsentrasi VS mg/L	50
Gambar 12. Grafik Perbandingan pH, VFA dan Alkalinitas pada Variasi ISR ..	54
Gambar 13. Grafik Perolehan CH ₄ N mL/g VS	59
Gambar 14. Grafik Perolehan CH ₄ N mL/g COD	62

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan jumlah penduduk berbanding lurus dengan peningkatan kebutuhan pangan. Salah satu cara untuk menambah nilai pangan hasil pertanian adalah melalui pengolahan dikarenakan produk pertanian sangat mudah rusak. Industri pengolahan pangan memiliki peran strategis dalam meningkatkan ketersediaan, akses dan kualitas konsumsi pangan (Hariadi, 2012). Namun demikian, luaran dari industri pangan tidak hanya berupa produk pangan tetapi limbah yang berasal dari proses produksi.

Permasalahan lingkungan terus bertambah akibat perkembangan berbagai sektor industri pangan. Sehingga tidak hanya plastik ataupun limbah B3 saja, tetapi limbah industri pangan juga turut menjadi sumber permasalahan. Anggapan bahwa limbah industri pangan merupakan limbah yang dapat terurai secara alami menyebabkan hampir seluruh masyarakat di Indonesia bertindak acuh terhadap pengelolaannya.

Beberapa industri pangan skala besar seperti PT. SO GOOD FOOD, PT. Indofood, PT. Bogasari Flour Mills, dan industri pangan skala besar lainnya telah memiliki Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) sehingga limbah yang dibuang ke lingkungan memiliki beban pencemar yang rendah. Air limbah tersebut telah memiliki spesifikasi yang sesuai dengan baku mutu yang telah ditetapkan oleh pemerintah (Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia No. 5 Tahun 2014). Namun pada industri pangan skala kecil dan menengah pada umumnya tidak memiliki IPAL sehingga seringkali limbah cair hasil produksi pangan dibuang secara

langsung ke lingkungan (Agustina *et al.*, 2018).

Salah satu industri pangan yang menghasilkan limbah yang perlu diperhatikan adalah industri pangan yang berbahan dasar dari tepung tapioka yaitu industri cilok. Dalam pembuatan cilok dilakukan proses perebusan, sehingga menghasilkan air limbah dari sisa perebusan yang mengandung bahan organik yang tinggi. Berdasarkan hasil uji analisis yang dilakukan oleh industri cilok untuk limbah yang digunakan dalam penelitian ini, didapatkan nilai COD limbah rebusan cilok sebesar 29167 mg/L, nilai BOD sebesar 4636 mg/L dan pH sebesar 3,52. Adapun baku mutu air limbah bagi usaha industri tapioka Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 tahun 2014 adalah nilai COD maksimal sebesar 300 mg/L, BOD 150 mg/L dan pH 6,0 – 9,0. Dengan kandungan COD dan BOD jauh di atas baku mutu, bila air limbah sisa rebusan cilok langsung dibuang ke badan air dapat menimbulkan pencemaran. Limbah cair akan mengalami 7 proses perubahan fisik, kimia, maupun biologi yang menghasilkan zat beracun dan dapat menimbulkan gangguan ataupun resiko terjadinya penyakit dan kerusakan lingkungan. Menurut Ikhtiar (2017), adapun beberapa dampak dari limbah cair apabila langsung dibuang ke badan air antara lain mengganggu ekosistem air contohnya dapat menyebabkan keracunan bahkan sampai kematian pada hewan dan tumbuhan air, dapat menimbulkan bau yang disebabkan dari hasil dekomposisi zat anaerobik dan zat anorganik. Selain itu dapat menghasilkan lumpur yang mengakibatkan pendangkalan air sehingga terjadi penyumbatan yang dapat menyebabkan banjir. Oleh karena itu perlu adanya suatu cara untuk mengatasi masalah pencemaran ini, salah satunya dengan mengolah limbah tersebut menjadi biogas. Tingginya kandungan zat organik dalam limbah cair rebusan cilok memungkinkan limbah ini untuk digunakan sebagai bahan baku pada pembuatan biogas.

Biogas merupakan produk akhir dari degradasi anaerobik bahan organik oleh bakteri-bakteri anaerobik dalam lingkungan tanpa oksigen. Biogas

menjadi salah satu alternatif yang dapat dikembangkan untuk menjadi salah satu solusi krisis energi (Anoi, 2022). Saat ini, ketersedian energi yang berasal dari fosil berupa gas dan minyak tidak sebanding dengan kebutuhan energi setiap tahunnya karena jumlah penduduk yang cenderung bertambah. Energi dari sumber bahan bakar fosil, merupakan sumber energi yang tidak akan bertahan lama, karena waktu pembentukannya yang sangat lama sehingga diperkirakan akan habis (tidak dapat diperbaharui). Pengembangan sumber energi terbarukan, termasuk biogas merupakan salah satu alternatif cara untuk mengatasi semakin menipisnya cadangan sumber energi fosil.

Pemanfaatan biogas sebagai salah satu sumber energi terbarukan diatur dalam UU Energi, dalam Pasal 1 ayat (6), khususnya terkait dengan bioenergi. Bioenergi merujuk pada energi yang dihasilkan dari sumber daya biomassa, yang mencakup limbah organik, biomassa tanaman, dan bahan-bahan organik lainnya. Biogas merupakan salah satu bentuk bioenergi yang dihasilkan melalui proses fermentasi anaerobik dari bahan-bahan organik yang terurai, seperti limbah pertanian, limbah makanan, kotoran hewan, dan lain sebagainya (Wardana, *et al.*, 2021).

Proses pembuatan biogas memanfaatkan aktivitas metabolisme mikroba-mikroba anaerobik. Pada proses ini diperlukan sumber mikroba (*starter*) untuk dapat mendegradasi senyawa organik. Pada pembuatan biogas dari air limbah cilok pada penelitian ini digunakan sumber mikroba yang berasal dari *effluent* digester kotoran sapi aktif. Pencampuran limbah cilok dan *effluent* digester biogas aktif berpotensi dapat menghasilkan biogas melalui proses fermentasi anaerobik. Limbah cilok berfungsi sebagai substrat (sumber makanan) untuk mikroorganisme-mikroorganisme anaerobik, dan *effluent* dari digester biogas berfungsi sebagai inokulum atau sumber mikroba anaerobik penghasil biogas. Menurut Gerardi (2003), *effluent* digester dimungkinkan telah mengandung mikroba-mikroba anaerobik dengan konsentrasi tinggi karena berasal dari digester biogas yang sudah

stabil. Di dalam *effluent* digester terdapat substrat, nutrisi, dan berbagai macam bakteri yang dibutuhkan dalam peruraian anaerobik.

Apabila ditinjau dari metodenya proses fermentasi terdiri dari beberapa sistem yaitu, sistem *batch*, *continuous*, dan *fed-batch*. Sistem *batch* merupakan fermentasi dengan cara memasukkan substrat dan inokulum secara bersamaan pada awal proses dan tidak ditambahkan lagi selama proses berlangsung (Firdaus, 2018). Sistem *fed-batch* adalah suatu sistem yang menambahkan media baru secara teratur pada reaktor tertutup, tanpa mengeluarkan cairan yang ada di dalam reaktor sehingga volume digester semakin lama akan semakin bertambah (Widjaja *et al.*, 2016). Pada sistem *continuous*, pemberian substrat dan pengambilan produk dilakukan secara terus menerus dengan waktu yang telah ditentukan. Pada penelitian ini digunakan fermentasi sistem *batch* dengan menggunakan variasi perbandingan inokulum dan substrat (ISR). Variasi ISR dilakukan untuk mengetahui rasio inokulum dan substrat yang paling optimal dalam proses degradasi limbah cilok dan pembentukan biogas. Perbedaan rasio inokulum akan memengaruhi aktivitas mikroorganisme, kestabilan reaktor, serta laju degradasi substrat. ISR yang terlalu rendah berpotensi menyebabkan akumulasi VFA dan penurunan pH sehingga menurunkan produksi biogas, sedangkan ISR yang terlalu tinggi dapat menghasilkan kondisi stabil tetapi produksi gas lebih kecil karena substrat terbatas. Dengan melakukan variasi ISR, dapat ditentukan kondisi terbaik yang memberikan produksi biogas dan metana paling tinggi serta kinerja reaktor paling stabil. Untuk mengetahui karakteristik degradasi substrat dan kemungkinan adanya hambatan dalam pembentukan biogas, dilakukan pula perbandingan dengan substrat glukosa. Glukosa digunakan sebagai kontrol untuk mengevaluasi kinerja sistem pada substrat sederhana dan membandingkannya dengan degradasi limbah cilok dan parameter – parameter lainnya.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui karakteristik degradasi air limbah sisa rebusan cilok dalam menghasilkan biogas melalui proses *anaerobic digestion* dibandingkan dengan substrat glukosa.
2. Untuk mengetahui perbandingan inokulum dan substrat yang baik untuk memproduksi biogas dari limbah sisa rebusan cilok.
3. Untuk mengetahui apakah proses *anaerobic digestion* dapat mengurangi kandungan senyawa organik pada air limbah sisa rebusan cilok sehingga lebih aman untuk dibuang ke badan air.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik degradasi limbah cair sisa rebusan cilok untuk pembentukan biogas, yang selama ini belum banyak dimanfaatkan. Informasi ini dapat menjadi dasar pengembangan energi alternatif dari limbah industri makanan skala kecil berbasis tapioka.
2. Membantu dalam menentukan rasio inokulum terhadap substrat yang optimal dalam proses *anaerobic digestion* air limbah sisa rebusan cilok, sehingga proses produksi biogas dapat berlangsung secara efisien dan optimal
3. Memberikan kontribusi terhadap upaya pengelolaan lingkungan, khususnya dalam mengurangi beban pencemaran air, dengan menunjukkan kemampuan proses *anaerobic digestion* dalam menurunkan kandungan senyawa organik dalam limbah, sehingga limbah yang dihasilkan menjadi lebih aman untuk dibuang ke lingkungan perairan.

1.4 Kerangka Pemikiran

Minyak bumi, seperti minyak tanah, bensin, dan solar, merupakan jenis energi yang paling banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Namun, karena termasuk sumber energi tak terbarukan, ketersediaannya terus menurun seiring waktu. Kondisi ini menjadi salah satu penyebab utama naiknya harga bahan bakar minyak (BBM), yang berdampak pada kesulitan ekonomi masyarakat. Untuk mengatasi masalah tersebut, diperlukan sumber energi alternatif. Salah satu pilihan yang menjanjikan adalah biogas. Biogas merupakan energi terbarukan yang ramah lingkungan dan dapat terus diproduksi tanpa khawatir akan habis. Energi ini dihasilkan melalui proses penguraian bahan organik secara anaerob. Berbagai sumber limbah organik seperti sampah tumbuh-tumbuhan, limbah dapur, dan kotoran hewan bisa dimanfaatkan untuk menghasilkan biogas sebagai sumber energi yang berkelanjutan.

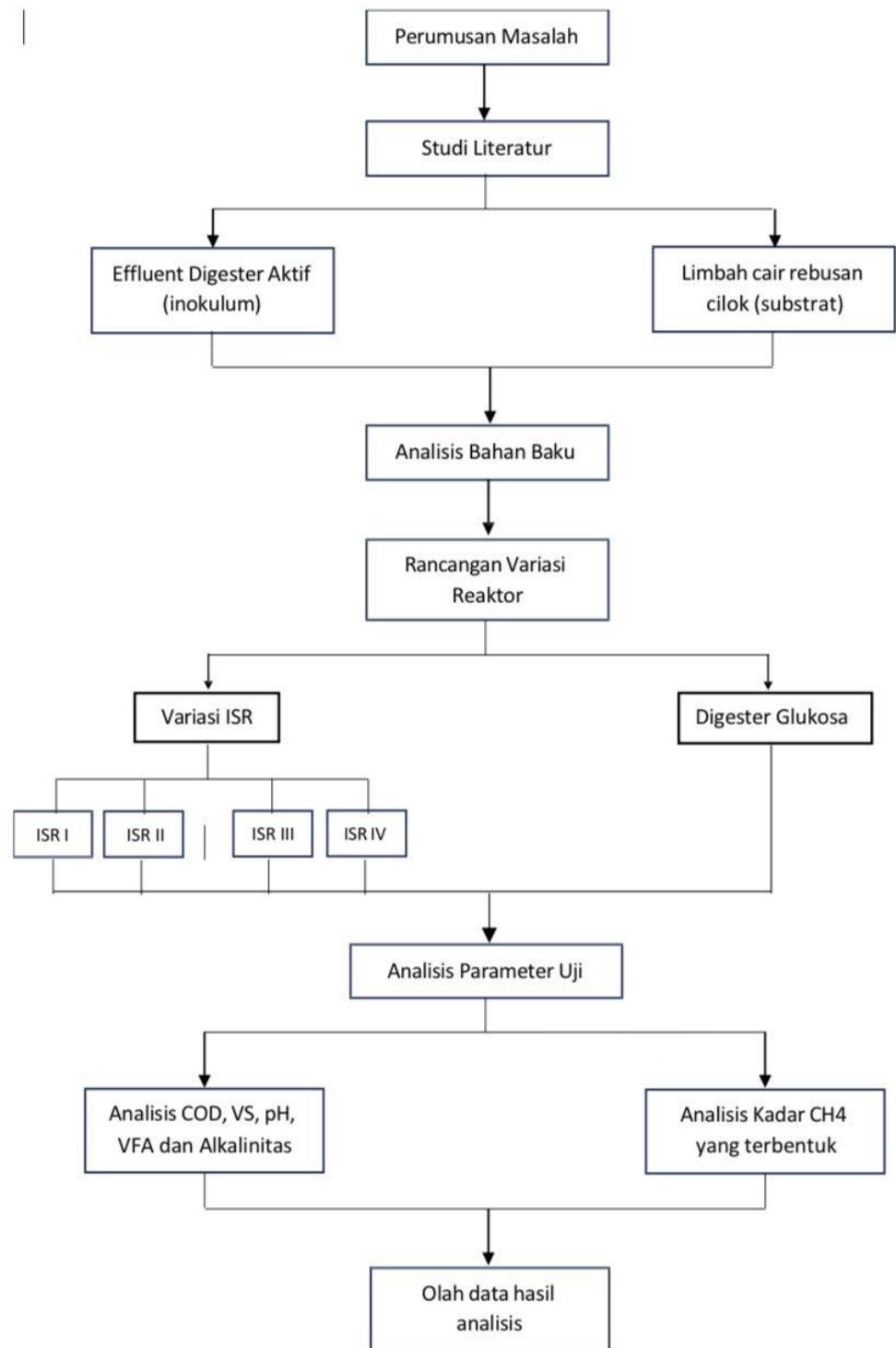
Limbah cair rebusan cilok merupakan hasil samping dari proses produksi makanan berbahan dasar tepung tapioka yang direbus. Limbah ini umumnya mengandung bahan organik tinggi terutama karbohidrat, dan protein, dan lemak dalam jumlah kecil, yang apabila tidak ditangani dengan baik dapat mencemari lingkungan. Melihat komposisi kimianya, limbah ini berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi biogas melalui proses anaerob. Proses ini melibatkan mikroorganisme yang menguraikan senyawa organik dalam kondisi tanpa oksigen, menghasilkan gas metana (CH_4) sebagai sumber energi alternatif yang ramah lingkungan. Pemanfaatan limbah cair rebusan cilok sebagai substrat dalam proses produksi biogas merupakan salah satu pendekatan inovatif dalam pengelolaan limbah organik dari industri makanan skala kecil. Namun, karena karakteristik limbah cair rebusan cilok cenderung memiliki mikroorganisme pendegradasi yang terbatas, dibutuhkan penambahan inokulum atau starter yang kaya akan bakteri metanogenik. Effluent dari kotoran sapi, yang merupakan hasil samping dari proses fermentasi

sebelumnya, dipilih sebagai starter karena mengandung mikroorganisme anaerob yang aktif dan stabil. Kombinasi ini diharapkan mampu meningkatkan efisiensi degradasi senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana yang kemudian dikonversi menjadi metana.

Proses pembentukan biogas melibatkan penguraian bahan organik (substrat) oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob. Degradasi substrat dalam proses pembentukan biogas terjadi melalui empat tahap utama, yaitu hidrolisis, asidogenesis, asetogenesis, dan metanogenesis. Pada tahap hidrolisis, senyawa organik kompleks seperti karbohidrat, protein, dan lemak dipecah menjadi senyawa sederhana seperti gula, asam amino, dan asam lemak (Sayara & Sánchez, 2019). Selanjutnya, pada tahap asidogenesis, senyawa sederhana tersebut diubah menjadi asam-asam volatil (VFA), alkohol, hidrogen, dan karbon dioksida. Tahap asetogenesis mengonversi produk asidogenesis menjadi asam asetat, hidrogen, dan karbon dioksida yang kemudian dimanfaatkan oleh mikroba metanogen untuk menghasilkan metana (CH_4) dan karbon dioksida pada tahap metanogenesis. Proses degradasi substrat ini dapat dipantau melalui analisis parameter kimia seperti *Chemical Oxygen Demand* (COD) dan *Volatile Solids* (VS) untuk menilai tingkat penguraian bahan organik. Selanjutnya, salah satu faktor kunci dalam keberhasilan proses ini adalah proporsi yang tepat antara volume substrat dan inokulum (mikroorganisme pengurai). Substrat berperan sebagai sumber nutrisi dan energi bagi mikroorganisme, sedangkan inokulum menyediakan populasi mikroba yang akan memulai dan mempertahankan proses fermentasi, melakukan degradasi senyawa organik sebagai bagian dari metabolisme selnya. Ketidakseimbangan rasio antara keduanya dapat menghambat aktivitas mikroorganisme, menyebabkan pembentukan gas metana yang tidak optimal, atau bahkan menghentikan proses fermentasi sama sekali. Penentuan rasio substrat dan inokulum yang ideal sangat penting untuk memastikan efisiensi konversi bahan organik menjadi biogas. Jumlah substrat yang terlalu tinggi dapat menyebabkan akumulasi asam lemak volatil dan menurunkan pH, sehingga

menghambat pertumbuhan mikroba metanogenik (Wu *et al.*, 2025). Sebaliknya, jumlah inokulum yang terlalu tinggi bisa membuat proses menjadi tidak efisien. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian rasio yang tepat berdasarkan nilai VS dari substrat dan inokulum agar produksi biogas dapat berjalan secara optimal.

Untuk memastikan keberhasilan proses ini, diperlukan analisis karakteristik awal substrat dan starter, termasuk pengukuran *Chemical Oxygen Demand* (COD) dan *Volatile Solid* (VS) untuk menilai potensi bahan organik yang tersedia, sebagai sumber energi bagi mikroorganisme. Selama proses fermentasi anaerobik berlangsung, penting dilakukan pemantauan terhadap parameter lingkungan yang memengaruhi aktivitas mikroorganisme, seperti pH, alkalinitas, dan *Volatile Fatty Acid* (VFA). pH yang ideal dalam reaktor biogas berkisar antara 6,8–7,2; nilai yang terlalu rendah atau tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri metanogen. Alkalinitas berfungsi sebagai penyangga terhadap perubahan pH yang disebabkan oleh akumulasi asam organik selama proses fermentasi. VFA, yang merupakan produk antara dari degradasi senyawa organik, menjadi indikator penting untuk mengevaluasi kestabilan proses. Akumulasi VFA secara berlebihan menandakan adanya ketidakseimbangan antara tahap asidogenesis dan metanogenesis. Melalui analisis terpadu terhadap parameter-parameter tersebut, efektivitas proses konversi limbah cair rebusan cilok menjadi biogas dapat dievaluasi secara menyeluruh, baik dari segi kualitas substrat, performa proses biologis, maupun potensi energi yang dihasilkan. Adapun skema kerangka penelitian dijelaskan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema kerangka penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

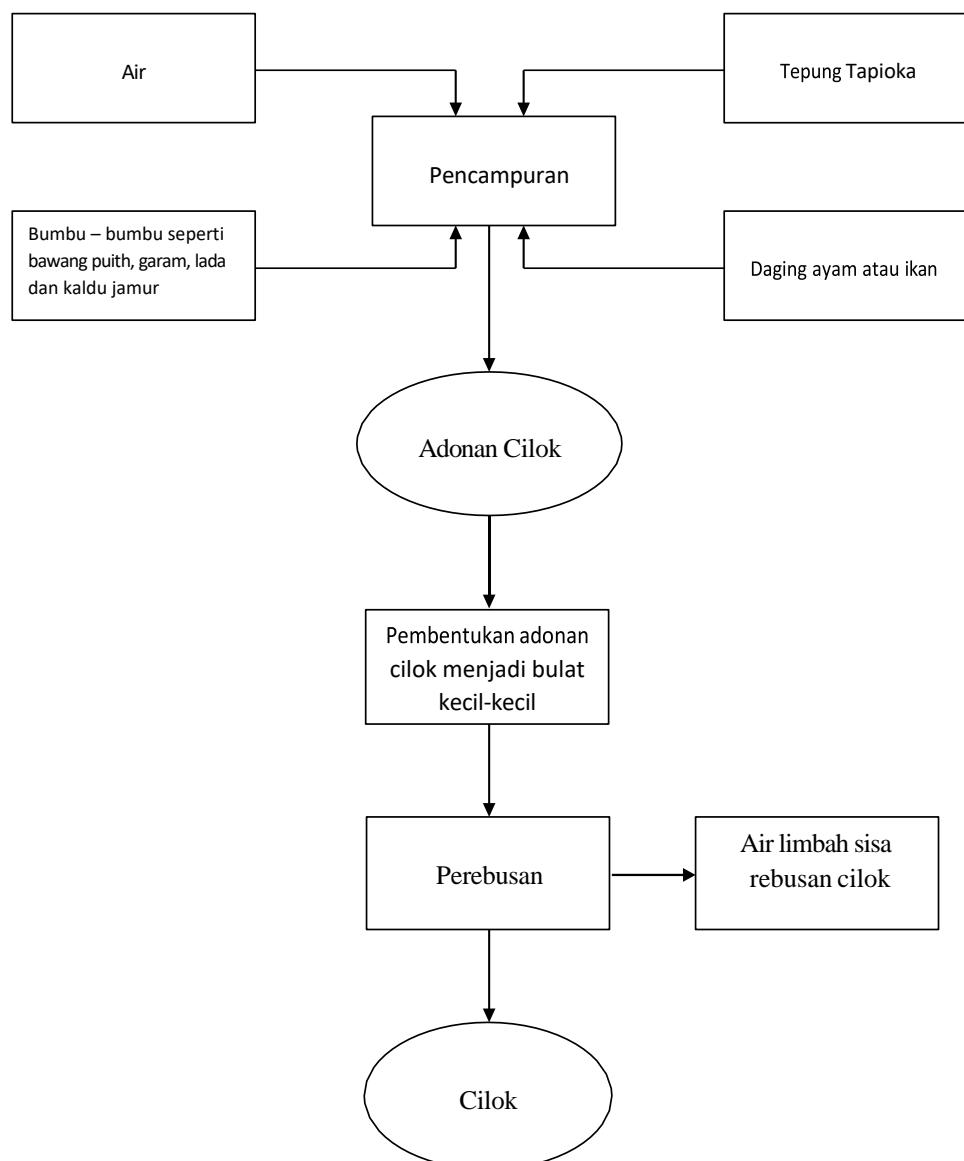
2.1 Limbah Cair Rebusan Cilok dan Pembuatan Biogas dari Limbah Berbasis Tapioka

Beberapa tahun terakhir, dikenal luas jajanan atau makanan kecil yang diolah dari tepung tapioka, yaitu cilok. Makanan ini berasal dari Bandung dan mulai menyebar ke beberapa daerah karena rasanya yang gurih, asin, pedas, dan manis, sehingga disukai berbagai kalangan. Cilok adalah makanan ringan yang terbuat dari tepung tapioka, berasa gurih, dan mempunyai tekstur kenyal. Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan cilok, yaitu tepung kanji, tepung terigu ,air, merica, garam, dan bawang putih (Yuliastuti *et al.*, 2021).

Cilok berbahan dasar tepung tapioka dan tepung terigu, dimana kedua bahan tersebut kurang mengandung protein (Pomalingo & Misnanti, 2021). Kandungan gizi cilok per 100 gram mengandung kalori 266 kkal, protein 2,45 gram, lemak 2,57 gram, karbohidrat 58,17 gram (Rohmah, 2013). Untuk menambah kandungan gizi cilok ditambahkan bahan-bahan yang mengandung protein tinggi yaitu daging sapi, gajih, dan daging ayam atau ikan dalam proses pembuatannya.

Umumnya proses atau cara pembuatan cilok di berbagai industri hampir sama. Skema proses pembuatan cilok dapat dilihat pada **Gambar 2**. Proses pembuatan cilok melalui beberapa tahapan diantaranya adalah pembuatan adonan cilok yang dilakukan dengan mencampur bahan-bahan seperti tepung tapioka, tepung terigu, garam, lada, bawang putih, kaldu jamur, air dan

biasanya untuk menambah rasa pada cilok ditambahkan daging ayam ataupun ikan. Setelah menjadi adonan yang kalis, adonan dibentuk bulat-bulat kecil yang selanjutnya akan melalui proses perebusan, dimana pada proses inilah produksi cilok menghasilkan limbah cair. Sisa air yang sudah berulang kali digunakan untuk merebus cilok merupakan air limbah yang mengandung bahan organik yang tinggi, dan disebut dengan air limbah rebusan cilok atau air limbah cilok.



Gambar 2. Skema Proses Pembuatan Cilok

Secara umum karakteristik limbah rebusan cilok sama dengan limbah tapioka pada umumnya, namun karena pada proses pembuatannya ada penambahan bahan lain seperti daging ayam atau ikan, maka dari itu limbah cair rebusan cilok mengandung protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan limbah tapioka lainnya. Limbah cair tepung tapioka mengandung bahan organik tersuspensi seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Limbah cair industri tapioka mengandung sebagian besar air, pati terlarut, nitrogen, fosfor, lemak, dan protein dalam konsentrasi yang rendah. Sedangkan kadar mineral limbah cair tapioka terdiri dari Ca, Mg, Fe, Cu, Pb, dan Zn (Septira & Prayitno, 2020).

Adapun hasil analisis laboratorium limbah cair rebusan cilok PT. Karya Baru Kita Cilokku adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Analisis Laboratorium Limbah Cair Rebusan Cilok PT. Karya Baru Kita Cilokku

NO	PARAMETER	SATUAN	HASIL UJI	BAKU MUTU	
				I	II
FISIKA					
1	Zat Padat Terlarut	mg/L	9490	2000	4000
2	Zat Padat Tersuspensi	mg/L	3610	200	400
KIMIA					
1	pH	-	3,52	6 – 9	6 – 9
2	BOD	mg/L	4636	50	150
3	COD	mg/L	29167	100	300
4	Amonia	mg/L	< 0,07	5	10

Keterangan :
Baku mutu sesuai Permen LH No. 5 Tahun 2014 Lampiran XLVII tentang Baku Mutu Air Limbah

Kandungan COD limbah tapioka sekitar 7.000 - 30.000 mg/ mendekati nilai COD limbah cilok sebesar 29167 mg/L. Kandungan protein dalam 100 gr limbah cair tapioka adalah 0,91 gr sedikit lebih rendah dari kandungan

protein dalam 100 gram limbah cilok sebesar 2,45 gram (Rohmah, 2013).

Menurut Herawati & Wibawa (2010), pembentukan biogas sangat ditentukan oleh banyaknya kandungan senyawa organik berupa protein, karbohidrat dan lemak dalam bahan baku yang digunakan. Semakin tinggi kandungan protein, karbohidrat dan lemak, maka biogas yang dihasilkan juga semakin banyak. Dengan kandungan COD yang mirip dan kandungan protein yang sedikit lebih banyak, proses pembuatan biogas dari air limbah rebusan cilok dimungkinkan dapat dilakukan seperti pembuatan biogas dari limbah tapioka.

Beberapa penelitian menunjukkan keberhasilan proses pembuatan biogas dari limbah cair tapioka. Menurut hasil percobaan yang dilakukan oleh Indarto (2010), menggunakan biodigester sistem batch berkapasitas 5 liter dengan substrat limbah tapioka dan penambahan urea sebagai starter serta peningkatan suhu, diketahui bahwa produksi biogas tertinggi diperoleh dari substrat tanpa penambahan urea pada suhu tinggi (50°C), yaitu sebesar 2,08 liter, dengan total produksi biogas hingga akhir percobaan mencapai 14,158 liter. Peningkatan suhu mempercepat produksi biogas karena pada suhu 50°C, proses degradasi substrat berlangsung lebih cepat dan difusi zat terlarut menjadi lebih mudah, sehingga pembentukan gas juga terjadi lebih cepat.

Penelitian (Hadiyarto *et al.*, 2018) tentang pemanfaatan campuran limbah cair industri tapioka dan limbah tinja dengan tiga variasi inokulum: rumen sapi, lumpur anaerobik aktif IPAL Industri Tapioka, dan lumpur aktif dari lumpur anaerobik IPAL. Hasil tertinggi diperoleh pada digester dengan inokulum rumen sapi, yaitu 161 liter/kgCOD/hari. Hal ini disebabkan oleh kandungan mikroba dalam rumen sapi, yang terdiri dari 40–60% bakteri dan protozoa (Deubelin & Steinhauser, 2008) yang efektif mencerna karbohidrat non- struktural seperti amilopektin dalam tapioka.

2.2 Proses Anaerobik untuk Menghasilkan Biogas

Anaerobic digestion adalah proses penguraian bahan organik oleh bakteri dalam lingkungan tanpa oksigen. Dari proses ini dihasilkan gas yang sebagian besar terdiri dari CH_4 dan CO_2 , dan disebut sebagai biogas.

Serangkaian reaksi metabolisme seperti hidrolisis, asidogenesis, asetogenesis, dan metanogenesis terlibat dalam proses *anaerobic digestion* untuk menghasilkan biogas (Reyes *et al.*, 2015).

Secara umum pembentukan biogas memanfaatkan proses pembusukan dari limbah organik secara anaerob (bakteri yang hidup pada kondisi kedap udara). Proses pembentukan biogas terdiri dari hidrolisis, asidogenesis, acetogenesis, dan metanaogenesis. Pada umumnya proses pembentukan biogas meliputi empat tahap yaitu (Sinaga *et al.*, 2022):

1. Tahap Hidrolisis

Pada tahap ini terjadi proses penguraian bahan organik yang kompleks yang berupa polimer menjadi monomernya yang berupa senyawa terlarut dengan berat molekul yang lebih ringan (Widiartanti & Totok , 2013).

Protein akan dihidrolisis menjadi asam amino, lipida menjadi asam lemak rantai panjang dan gliserin menjadi asam gliserol. Sedangkan karbohidrat kompleks termasuk ke dalamnya polisakarida, selulosa, lignin dihidrolisis menjadi monomer yang lebih sederhana seperti glukosa (Emerseon *et al.*, 2020). Proses hidrolisis ini di katalis oleh bakteri dengan menggunakan ekstrak enzim dari bakteri yaitu selulase, protease, lipase dan enzim ekstraseluler lainnya (Lestari, 2016). Sejumlah besar bakteri dalam proses hidrolisis dan fermentasi senyawa organik antara lain *Cellulomonas* sp., *Cytophaga* sp., *Cellvibrio* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas* sp. dan *Lactobacillus plantarum*.

2. Tahap Asidogenesis

Pada tahap asidogenesis, bakteri akan mengubah bahan organik yang larut dari tahap hidrolisis menjadi asam lemak mudah menguap (volatile), asam laktat, senyawa mineral seperti karbondioksida, hidrogen, amonia dan gas hidrogen sulfida. Pada fase ini keberhasilan bakteri sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, temperatur dan pH (Emerseon *et al.*, 2020).

Pembentukan asam dari senyawa-senyawa organik sederhana (monomer) dilakukan oleh bakteri-bakteri penghasil asam yaitu divisi acids/farming bacteria yang mayoritas merupakan bakteri obligat anaerob dan sebagian yang lain bakteri anaerob fakultatif. Contoh bakteri asidogenik adalah *Clostridium* sp. Menurut Deubelin & Steinhauser (2008) produk terpenting dalam tahapan asidogenesis adalah asam propionat, asam butirat, H₂ dan CO₂. Selain itu dihasilkan sejumlah kecil asam formiat, asam laktat, asam valerat, metanol, etanol, butadienol dan aseton. Berikut adalah reaksi pemecahan monomer menjadi asam yang dilakukan bakteri pada tahap ini (Lestari, 2016).

- a. C₆H₁₂O₆ + 2H₂O → 2CH₃COOH + 2CO₂ + 4H₂
(as. asetat)
- b. C₆H₁₂O₆ → CH₃CH₂CH₂COOH + 2CO₂ + 2H₂
(as. butirat)
- c. C₆H₁₂O₆ + 2H₂ → 2 CH₃CH₂COOH + 2H₂O
(as. propionat)

3. Tahap Asetogenesis

Hasil yang didapatkan pada tahap asidogenesis dikonversi menjadi asam asetat, CO₂ dan H₂ (Emerseon *et al.*, 2020). Sekitar 70% bahan diubah menjadi asam asetat. Pembentukan asam asetat kadang-kadang disertai dengan pembentukan karbondioksida atau hidrogen, tergantung kondisi oksidasi dari bahan organic aslinya. Bakteri yang bekerja pada tahap ini

adalah acetogenic bacteria, contohnya *Acetobacter aceti* (Lestari, 2016). Berikut adalah reaksi perubahan asam propionat dan asam butirat oleh bakteri asetogenik:

- a. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$
(asam propionat) (as. asetat)
- b. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$
(asam butirat) (as. asetat)

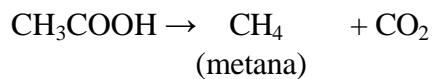
Tahap asetogenesis menghasilkan produk yang digunakan dalam tahap pembentukan gas metana oleh bakteri metanogenik pada tahap metanogenes is, akan tetapi tidak semua produk dari asetogenesis dapat digunakan secara langsung pada tahap pembentukan gas metan (Kurniati et al., 2021).

4. Tahap Metanogenesis

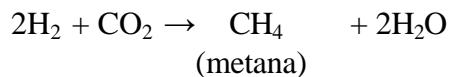
Metanogenesis merupakan tahap terakhir dari keseluruhan proses dalam tahap konversi anaerobik dari bahan organik menjadi gas metana dan karbondioksida (Dewi & Visca, 2020). Pembentukan metana dilakukan oleh bakteri penghasil metana yaitu dari sub divisi acetoclastic methane bacteria yang menguraikan asam asetat menjadi metana dan karbon dioksida. Contoh bakteri metanogen yang termasuk subdivisi acetoclastic bacteria adalah *Methanobacterium* sp., *Methanosarcina* sp. dan *Methanococcus* sp.

Pada keadaan normal, asam asetat merupakan perkusor yang membentuk 70% metana di dalam digester, sedangkan 30% metana dihasilkan dari hidrogen dan karbondioksida. Pembentukan gas metana dari penguraian hidrogen dan karbondioksida dibantu oleh bakteri hydrogenothrophic methanogenesis. Berikut adalah reaksi kerja bakteri yang menguraikan asam dari tahap sebelumnya menjadi gas metan dan karbondioksida (Lestari, 2016) :

a. Bakteri *acetoclastic methane bacteria* menguraikan asam asetat menjadi :



b. *Hydrogenotrophic methane bacteria* mensintesa hidrogen dan karbondioksida menjadi :



Bakteri metanogen sangat sensitif terhadap perubahan lingkungan. Jika pH- nya berada di bawah 6, maka bakteri metanogen tidak dapat bertahan hidup (Emereson et al., 2020).

Biogas yang dihasilkan dari pencernaan anaerobik dapat digunakan sebagai sumber energi untuk menghasilkan panas dan listrik, atau dapat digunakan untuk kebutuhan nasional seperti untuk substitusi LPG. Bagian cair dan padat dari digestate yang dihasilkan dari proses pencernaan anaerobik masih kaya akan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor yang dapat diolah dan dimanfaatkan sebagai pupuk alami, sebagai pengganti pupuk sintetis, untuk meningkatkan kesuburan tanah (Zhang et al., 2007).

Biogas merupakan energi alternatif yang dapat dikembangkan untuk menjadi salah satu solusi krisis energi. Komponen terbesar yang terkandung dalam biogas adalah metana 55-70 % dan karbondioksida 30 - 45 % serta sedikit nitrogen dan hydrogen sulfida. Kandungan metana (CH_4) yang tinggi menyebabkan biogas dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar. Apabila kandungan metana dalam biogas lebih dari 50% maka biogas tersebut telah layak digunakan sebagai bahan bakar karena bersifat mudah terbakar dan memiliki nilai kalor bakar yang tinggi (Safrizal, 2015). Tetapi kandungan CO_2 dalam biogas, yang biasanya berkisar antara 25 –50 %, dapat mengurangi nilai kalor bakar

dari biogas tersebut. Sedangkan kandungan H_2S dalam biogas dapat menyebabkan korosi pada peralatan dan perpipaan dan nitrogen dalam biogas juga dapat mengurangi nilai kalor bakar biogas tersebut. Selain itu terdapat uap air yang juga dapat menyebabkan kerusakan pada peralatan-peralatan yang menggunakan biogas (Anoi, 2022).

2.3 Perbandingan Inokulum dan Substrat (ISR) terhadap Proses Pembentukan Biogas

Optimalisasi rasio inokulum terhadap substrat (ISR) memainkan peran penting dalam meningkatkan produksi biometana. Apabila substrat yang dimasukkan dalam reaktor terlalu tinggi dan inokulumnya terbatas maka proses penguraian akan mengalami penurunan dikarenakan mikroorganisme tidak dapat bekerja secara efisien dalam proses penguraian bahan organik. Apabila inokulum tidak dapat mengurai substrat dengan cepat maka VFA (*Volatile Fatty Acid*) akan terbentuk secara berlebihan pada fase hidrolisis yang menyebabkan terganggunya kestabilan bakteri metanogenik penghasil metana (Dixon *et al.*, 2019).

Demikian pula, inokulum, ketika diberikan ke substrat, memberikan stabilitas proses anaerobic digestion karena dapat membantu mengawali proses pendegradasi dan memastikan mikroorganisme yang diperlukan sudah ada dalam jumlah yang cukup untuk memecah bahan organik dengan efisien. Tanpa inokulum yang cukup, proses degradasi bisa menjadi lebih lambat, tidak stabil, atau bahkan terhenti karena kekurangan mikroorganisme untuk mendegradasi substrat sehingga pH akan menjadi asam dan menghambat bakteri matanogen untuk menghasilkan metan. Hal ini menunjukkan bahwa ISR memainkan peran penting dalam mendorong jalur biokimia dan kinetika proses *Anaerobic digestion* (Córdoba *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menunjukkan terjadinya hambatan proses, pada pembuatan biogas dengan ISR yang rendah. Nilai pH akhir yang lebih

rendah (setelah pencernaan) yang terlihat pada pengujian ISR yang lebih rendah menunjukkan akumulasi (VFA) dalam tingkat yang lebih besar dibandingkan dengan pengujian dengan ISR yang lebih tinggi. Hal ini menegaskan bahwa ISR yang lebih rendah dapat menyebabkan potensi akumulasi VFA selama hari-hari pertama proses *Anaerobic digestion* (Ghimire *et al.*, 2016). Akumulasi VFA sebagai produk utama hidrolisis, proses pertama pemecahan nutrisi, sering ditunjukkan dengan penurunan pH reaktor batch tepat setelah pengaturan (Cheah *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian Hafsah, (2023) yang menggunakan kotoran sapi sebagai inokulum dan limbah cair tahu sebagai substrat menyebutkan bahwa jumlah inokulum yang lebih tinggi mampu menghasilkan degradasi substrat limbah menjadi gas metana. Pada percobaan tersebut terdapat perbedaan rasio starter/substrat berdasarkan volume yaitu dengan variasi 2:10; 4:10; 6:10. Volume biogas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan perbandingan volume starter dengan substrat 4:10 menghasilkan volume biogas sebanyak 666 ml. Meskipun volume biogas yang dihasilkan cukup besar, kandungan gas metana di dalamnya relatif rendah karena biogas juga mengandung gas-gas lain seperti hidrogen sulfida (H₂S). Produksi gas metana paling optimal terjadi pada rasio volume starter kotoran sapi terhadap limbah cair tahu sebesar 6:10. Semakin banyak volume kotoran sapi yang digunakan sebagai starter, semakin cepat proses pembentukan gas metana dan semakin tinggi pula jumlah gas metana yang dihasilkan. Penjelasan ini sejalan dengan pernyataan (Wati & Sugito, 2013) yang menyebutkan bahwa kotoran sapi secara alami mengandung bakteri penghasil metana, sehingga peningkatan jumlah kotoran sapi sebagai starter akan meningkatkan jumlah bakteri metanogen yang berperan dalam proses pembentukan gas metana.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan (Khadka *et al.*, 2022), terlihat bahwa pengujian dengan ISR yang lebih rendah membutuhkan waktu lebih lama untuk menstabilkan produksi biogas daripada pengujian dengan ISR yang lebih tinggi. ISR dapat mempengaruhi hasil biogas dan kinetika proses

selama *Anaerobic digestion* secara signifikan. Dalam penelitian ini, ISR 1 terbukti menghasilkan hasil biogas rata-rata tertinggi (674,40).±29,10 NmL/gVS) di antara 6 ISR lainnya. Namun, dengan mempertimbangkan deviasi standar dan perbandingan literatur, ISR yang sesuai untuk *Anaerobic digestion* khususnya Food Waste disimpulkan berada dalam kisaran 1 hingga 2 (berdasarkan VS) (Gandhi *et al.*, 2022).

2.4 Parameter Analisis Hasil

2.4.1 *Total Solid (TS) dan Volatile Solid (VS)*

Total solid merupakan suspended solid dan dissolved solid yang diperoleh dari pemisahan padatan dan cairan dengan pemanasan atau evaporasi. Material yang tersisa pada temperatur 105°C inilah yang disebut *Total solid*. Total padatan adalah padatan yang tersisa setelah penguapan sampel hingga berat konstan pada suhu 105°C. *Total solid* biasanya ditentukan dalam oven melalui proses pengeringan, yang dapat dibagi dalam dua sub-proses. TS dapat dibagi lagi menjadi *volatile solid* (VS) atau padatan organik dan fixed solid atau padatan anorganik. *Volatile solid* (VS) menggambarkan kandungan senyawa organik dalam suatu bahan. Senyawa organik merupakan substrat untuk proses pembentukan biogas, sehingga *Volatile Solid* merupakan jumlah indikasi awal pada pembentukan gas metana (Simare *et al.*, 2022).

2.4.2 *Chemical Oxygen Demand (COD)*

Chemical oxygen demand (COD) atau kebutuhan oksigen kimiawi yaitu jumlah oksigen yang dibutuhkan agar bahan buangan yang ada didalam air dapat teroksidasi melalui reaksi kimiawi atau banyaknya oksigen- oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat organik menjadi CO₂ dan H₂O. COD merupakan salah satu parameter kunci sebagai pendekripsi tingkat pencemaran air. Semakin tinggi COD,

maka semakin buruk kualitas air yang ada. Angka COD juga merupakan ukuran bagi pencemaran air oleh zat-zat organik yang secara ilmiah dapat dioksidasikan melalui proses mikrobiologis dan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut dalam air (Ristyana, 2022).

Limbah cair industri seringkali dihasilkan dari proses pemisahan antara produk utama dan hasil sampingnya. Sebagian besar kandungan limbah cair industri terdiri atas padatan tersuspensi, bahan organik, dan nitrogen (Barik, 2019). Tingginya kadar COD (Chemical Oxygen Demand) dalam air limbah merupakan salah satu indikator beban pencemaran zat organik dalam air limbah. Nilai COD dapat mengkonfirmasi hasil analisis VS pada pembuatan biogas, untuk mengetahui kandungan bahan organik selama proses. Bahan organik dalam limbah cair industri terdiri atas karbohidrat, protein, dan lemak. Pengelolaan limbah organik secara tepat secara biologi melalui proses anaerobik dapat menghasilkan biogas (Rahayu *et al.*, 2015). Bahan organik yang tidak dikelola dengan baik dapat menjadi masalah pencemaran lingkungan.

Metabolisme mikroorganisme dari setiap tahapan proses produksi biogas mempengaruhi besarnya bahan organik yang terurai. Besarnya bahan organik yang terurai dapat dilihat dari reduksi COD. Semakin besar reduksi COD, berarti bahan organik yang terdegradasi menjadi asam organik juga semakin besar. Asam organik inilah yang kemudian terkonversi menjadi gas metana. Jika reduksi COD semakin besar maka laju pembentukan gas metana juga semakin besar (Widjaja *et al.*, 2016).

2.4.3 pH dan Alkalinitas

Analisis pH dan alkalinitas dilakukan untuk mengkaji stabilitas reaktor pada kondisi ambient menggunakan sampel yang diambil dari

dalam reaktor. pH berdampak langsung pada kemajuan proses degradasi dan produk. Bakteri hidrolitik, asidogen, dan metanogen memiliki pH optimal sendiri untuk laju reaksi maksimum. pH mempengaruhi kesetimbangan kimia NH_3 , H_2S dan *Volatile Fatty Acid* (VFA), yang dapat menghambat aktivitas mikroorganisme. Kisaran pH ideal untuk pencernaan anaerob ialah 6,8-7,4 (Cerón-Vivas *et al.*, 2019).

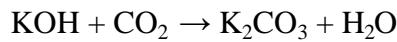
Alkalinitas adalah jumlah basa dalam reaktor untuk menetralkan kondisi asam dalam digester sehingga pH digester stabil. Adanya alkalinitas dalam suatu reaktor dengan konsentrasi tertentu dapat menjadi penyangga (buffer) untuk menjaga pH dalam kondisi netral pada saat terjadi pembentukan asam, sehingga proses secara keseluruhan tetap dapat berjalan normal. Ketika pH dibiarkan turun terlalu tinggi, maka sistem akan berhenti karena bakteri pembentuk metana akan mati (Matin & Hadiyanto, 2018).

Umumnya alkalinitas dinyatakan sebagai mg/L CaCO_3 . Karena terbentuknya CO_2 dan asam lemah rantai pendek (VFA) lainnya dalam proses anaerobik, maka diperlukan alkalinitas bikarbonat yang cukup untuk menetralkan pH. Sistem anaerobik umumnya beroperasi dalam rentang pH netral, dimana bikarbonat adalah bentuk utama yang ada, sehingga alkalinitas bikarbonat menjadi perhatian utama dalam menjaga kestabilan pH (Sembiring *et al.*, 2019).

2.6.4 Pengukuran Kadar CH_4

Kandungan biogas didominasi oleh gas metana (CH_4) dan karbondioksida (CO_2). Keberadaan CO_2 di dalam biogas dapat mengurangi nilai kalor pembakaran biogas itu, sehingga menyebabkan panas yang dihasilkan menjadi rendah. Untuk mengetahui nilai kalor biogas, perlu dilakukan pengukuran kadar metana pada biogas, yang dapat dilakukan secara sederhana menyerap CO_2 di dalam biogas

menggunakan KOH. Fungsi KOH yaitu sebagai pengikat CO_2 . Reaksi antara KOH dengan CO_2 , dapat dituliskan sebagai berikut (Hermawan *et al.*, 2016).



2.6.5 *Volatile Fatty Acid (VFA)*

Volatile fatty acid (VFA) atau asam lemak terbang adalah elemen penting dalam mengendalikan proses pencernaan anaerob. *Anaerobic Digestion* merupakan proses biokimia yang terdiri dari empat tahap, yaitu hidrolisis, asidogenesis, asetogenesis, dan metanogenesis. Pada tahap hidrolisis dan asidogenesis, kandungan organik kompleks diubah menjadi berbagai asam lemak volatil (VFA) rantai pendek seperti asetat, propionat, butirat dan valerat oleh bakteri asidogenik (Al-Mamun *et al.*, 2020). Pada tahap selanjutnya, mikroba asetogenik mengoksidasi VFA menjadi asetat, hidrogen dan karbon dioksida yang merupakan substrat utama produksi metana oleh metanogen (Chalik *et al.*, 2021).

Fase lag dalam pencernaan anaerobik dapat terjadi akibat penghambatan proses fermentasi. Salah satu penghambat utama bagi bakteri fermentatif adalah produk utama fermentasi, yaitu *Volatile Fatty Acid* (VFA), terutama ketika karbohidrat menjadi substrat utama. Pada penguraian protein, bakteri anaerob menghidrolisis produk sampingan menjadi asam lemak rantai pendek, amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$), serta sejumlah senyawa hidrogen dan sulfur. VFA dan $\text{NH}_3\text{-N}$ yang dihasilkan pada tahap ini dapat menghambat proses *Anaerobic Digestion* jika protein menjadi substrat utama dan rasio substrat terhadap inokulum lebih tinggi (Kim & Kim, 2017).

III. METODE PENELITIAN

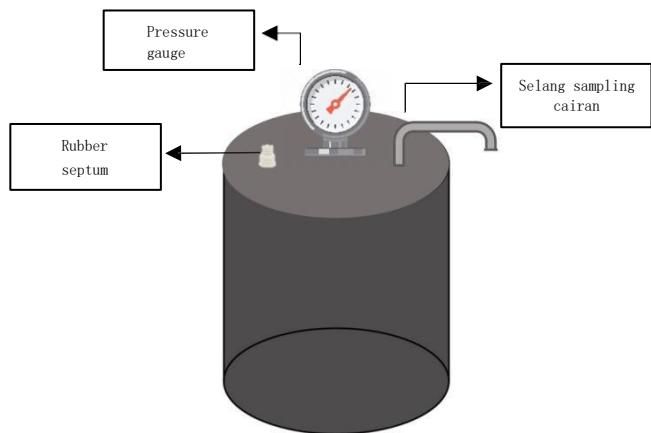
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Adapun penelitian ini dimulai pada tanggal 16 Desember 2024 sampai dengan 24 Februari 2025. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia 2, Laboratorium Gedung 80 dan Workshop Basement KST Samaun Samadikun BRIN Cisitu, Bandung, Jawa Barat.

3.2. Alat

3.2.1. Peralatan Percobaan

Adapun alat utama yang digunakan untuk percobaan di dalam penelitian ini adalah reaktor (digester) biogas. Digester ini berbentuk silinder dengan ukuran 2,03 L yang dilengkapi dengan *pressure gauge*, pipa sampling cair dan pipa sampling gas. Pipa sampling gas dilengkapi dengan *rubber septum* untuk mencegah adanya kebocoran saat pengambilan biogas dari reaktor. Rangkaian alat percobaan ini dibuat di laboratorium, dan detil alat-alat yang digunakan untuk pembuatan digester disajikan pada **Lampiran 1**. Rangkaian alat digester biogas yang digunakan di dalam penelitian ini dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Reaktor

3.2.2. Peralatan Analisis

Pada penelitian ini dilakukan beberapa parameter analisis yaitu pengukuran kadar CH_4 , analisis Chemical Oxygen Demand (COD), analisis *Volatile Solid* (VS), pH, Alkalinitas, dan *Volatile Fatty Acid* (VFA). Adapun alat utama yang digunakan dalam analisis-analisis tersebut adalah syringe 60 mL, *thermoblock*, spektrofotometri, krus, mikropipet, tabung reaksi, oven, furnace, HPLC UFLC, neraca analitik, Alkalinity Test Kit dan pH Paper Universal. Detil peralatan-peralatan analisis yang digunakan selama penelitian dijelaskan pada (**Lampiran 1**).

3.3. Bahan

3.3.1 Bahan Baku untuk Pembuatan Biogas

Limbah cair cilok, merupakan limbah cair dari sisa proses perebusan cilok. Pada penelitian digunakan limbah cair sisa perebusan cilok dari industri pangan cilok KBK yang berlokasi di Kampung Muara Beres, RT 002, RW 002, Kel. Sukahati, Kec. Cibinong Kab. Bogor, Jawa Barat. Sebelum percobaan, dilakukan analisis karakteristik limbah cilok dijelaskan pada

Tabel 2.

***Effluent* digester aktif**, merupakan *slurry* keluaran digester kotoran sapi yang berada di Desa Suntenjaya, Kelurahan Cikapundung, Kec. Cikidang, Kab Bandung Barat, Jawa Barat. Sebelum percobaan, dilakukan analisis karakteristik *effluent* digester aktif yang dijelaskan pada **Tabel 2.**

Tabel 2. Hasil Analisis Bahan Baku

No	Parameter	Hasil Uji
Limbah cair rebusan cilok		
1	COD	44.697 mg/L
2	VS	32.000 mg/L
3	pH	3
4	Alkalinitas	0
<i>Effluent</i>		
1	COD	31.029 mg/L
2	VS	42.750 mg/L
3	pH	7
4	Alkalinitas	4.500 mg/L

3.3.2 Bahan Analisis

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam melakukan analisis meliputi aquades, H_2SO_4 , $K_2Cr_2O_7$, KHP, $AgSO_4$, $HgSO_4$, Asam Format 99%, Asam Propionat 99%, Asam asetat 100%, Asam Butirat 99%, Asam Isovalerat 98%, dan $NaOH$ atau KOH .

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1 Percobaan Pembuatan Biogas

Percobaan dimulai dengan memasukkan inokulum (*effluent* digester aktif) dan substrat (limbah cair rebusan cilok) dengan

perbandingan tertentu (**Tabel 3.**) ke dalam reaktor dengan total volume 1.2 L. Campuran inokulum dan substrat diaduk sampai homogen, dan dilakukan pengambilan sampel cair dari reaktor untuk keperluan analisis pH, alkalinity, konsentrasi VS, COD, dan VFA. Reaktor kemudian ditutup rapat dan percobaan mulai dijalankan. Pada waktu-waktu tertentu diambil sampel cair dari reaktor untuk analisis pH, alkalinity, konsentrasi VS, COD, dan VFA serta sampel gas yang terbentuk untuk diukur volume dan komposisinya.

Adapun perbandingan volume dari effluent dan limbah cilok pada masing-masing ISR yang telah ditentukan, dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Volume substrat (L)} = \frac{\text{Volume total}}{1 + \frac{ISR \times VS_{substrat}}{VS_{effluent}}}$$

$$\text{Volume effluent (L)} = \text{Volume total} - \text{Volume substrat}$$

Sehingga didapatkan hasil volume *effluent* dan substrat dari masing-masing ISR yang diuraikan dalam **tabel 3.**

Tabel 3. Variasi Perbandingan ISR

Variasi ISR	Volume Limbah Cilok (L)	Volume Effluent (L)
I	0,7366	0,5525
II	0,52	0,7691
III	0,39	0,8991
IV	0,325	0,9641
Reaktor Kontrol	Volume Glukosa (L)	Volume Effluent (L)
	0,52	0,7691

3.4.2 Pengukuran Pembentukan Biogas dan Kadar CH₄

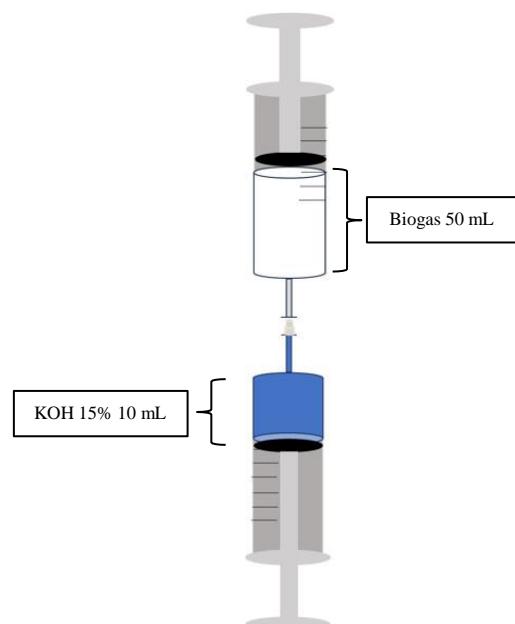
Gas yang terbentuk di dalam digester dapat dilihat melalui *pressure gauge* yang terpasang pada reaktor. Produksi biogas diamati setiap hari dan analisis gas dijadwalkan 3 kali dalam

seminggu. Apabila pada saat pengamatan, terobservasi tekanan gas cukup besar, di atas 10 kPa, maka analisis gas dilakukan pada hari itu meskipun tidak ada pada penjadwalan. Untuk mengetahui volume CH_4 pada digester, dilakukan pengambilan gas pada digester sebanyak 50 mL menggunakan *syringe* ukuran 60 mL yang telah diisi dengan larutan KOH 15% sebanyak 10 mL, seperti dapat dilihat pada **Gambar 4**.

Biogas dalam *syringe* dihomogenkan dengan KOH sehingga CO_2 dalam biogas terserap dalam larutan KOH dan sisa gas dalam *syringe* adalah CH_4 dan N_2 . Sisa gas yang terdapat pada *syringe* KOH dicatat dan dihitung kadar CH_4 dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kadar } \text{CH}_4 \text{ dalam biogas} = \frac{\text{Volume } \text{CH}_4}{\text{Volume biogas}} \times 100\%$$

Jika terdapat sisa gas pada reaktor, gas diambil sampai pressure gauge turun ke angka 0, kemudian dicatat hasil yang diperoleh.



Gambar 4. Pengukuran Kadar CH_4 pada *Syringe*

3.4.3 Analisis *Total Solid* (TS) dan *Volatile solid* (VS)

Analisis *Total solid* dan *Volatile Solid* dilakukan dengan mengikuti panduan SNI 6989.26:2019 yang dikeluarkan oleh Badan Standarisasi Nasional(BSN) tahun 2019 mengenai Cara Uji TS VS Secara Gravimetri. Adapun prosedur kerja untuk analisis TS yaitu dengan memasukkan sampel cair kedalam cawan pijar dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 12 jam, kemudian dinginkan di dalam desikator dan ditimbang. Perhitungan nilai konsentrasi TS yang diperoleh dapat dilihat di Lampiran. Hasil TS dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$TS \text{ (mg/l)} = \frac{(W_1 - W_0) \times 1.000}{V}$$

Keterangan:

W₁ = Berat cawan krus + sampel setelah sampel

dipanaskan pada 105°C (mg)

W₀ = Berat awal cawan krus kosong sebelum dipanaskan (mg) V= Volume contoh uji (ml)

Analisis VS dilakukan dengan melakukan pemanasan kembali sampel hasil uji TS ke dalam *furnace* dengan suhu 550°C selama 2 jam. Sampel yang telah dipanaskan dipindahkan ke dalam desikator untuk didinginkan dan ditimbang. Rumus yang digunakan untuk perhitungan VS adalah sebagai berikut.

$$VS \text{ (mg/l)} = \frac{(W_0 - W_1) \times 1.000}{V}$$

Keterangan:

W₁= Berat cawan krus + sampel setelah sampel dipanaskan pada 550°C (mg)

W₀= Berat cawan krus + sampel setelah sampel dipanaskan pada 105°C (mg)

V= Volume contoh uji (mL)

3.4.4 Analisis Chemical Oxygen Demand (COD)

Analisis COD dilakukan dengan mengikuti SNI 6989.2:2019 yang dikeluarkan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) tahun 2019 mengenai Cara Uji COD dengan Refluks Tertutup Secara Spektrofotometri. Analisis yang dilakukan menggunakan konsentrasi COD terlarut.

Persiapan Larutan Pencerna dan Reagen, larutan pencerna (*digestion solution*) sebanyak 1000 mL dibuat dengan melarutkan 10,216 g $K_2Cr_2O_7$ dengan aquades sebanyak 500 mL. Kemudian ditambahkan 167 mL H_2SO_4 pekat dan 33,3 g $HgSO_4$, masukkan aquades sampai volume larutan menjadi 1000 mL, homogenkan larutan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan pereaksi asam sulfat dibuat dengan melarutkan 10,12 g Ag_2SO_4 ke dalam 1000 mL H_2SO_4 pekat. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut selama ± 2 hari.

Analisis Contoh Uji, analisis COD menggunakan 2 jenis sampel cair yaitu terlarut dan tidak terlarut. Pada penelitian ini data yang digunakan adalah data hasil analisis COD terlarut. Tabung kultur yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung dengan ukuran 16 mm x 100 mm. Sehingga dimasukkan 2,5 mL sampel, 1,5 mL *digestion solution* dan 3,5 mL larutan pereaksi asam sulfat. Tabung dimasukkan kedalam *thermoblock* dan dipanaskan pada suhu 150°C selama 2 jam. Setelah 2 jam tabung diambil dan didinginkan pada suhu ruang. Pengukuran nilai COD dilakukan dengan mengukur absorbansi menggunakan Spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm dan dibandingkan dengan nilai absorbansi pada kurva standard.

Hasil pengukuran berupa absorbansi dan *transmitten* (%) dicatat, kemudian hasil pengukuran dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$C = ax + b$$

$$\text{Kadar COD Sebenarnya (mg O}_2\text{l}) = C \times f$$

Keterangan:

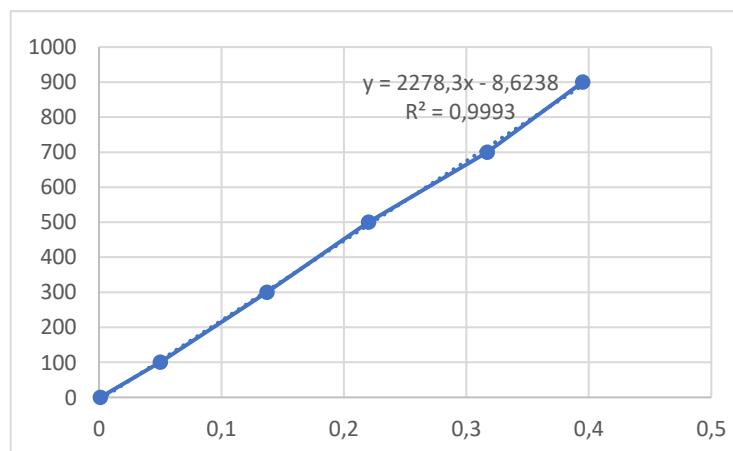
a = Koefisien regresi

x = Nilai absorbansi COD contoh uji

b = Intersep

c = Kadar COD (mg O₂/l) F = Faktor pengenceran

Kurva standar dan koefisien regresi dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Kurva Larutan Standar untuk Perlakuan Pereaksi COD (mgO₂/L)

3.4.5 Analisis pH dan Alkalinitas

Analisi pH dilakukan dengan mengambil sampel cair dari digester dan diukur pH-nya menggunakan pH universal. Untuk analisis alkalinitas dilakukan dengan menyiapkan sampel cair sebanyak 10 mL, dilakukan pengenceran bila diperlukan. Sebanyak 3 tetes M alkalinity diteteskan kedalam sampel, bila sampel sudah berwana jingga tidak perlu dilanjutkan ke tahap berikutnya. Hal itu mengindikasikan sampel tidak memiliki

alkalinity. Apabila setelah diteteskan M Alkalinity warna sampel tidak berubah, maka dilanjutkan ke step berikutnya yaitu teteskan reagan Alkalinity sampai sampel berubah warna menjadi jingga. Hitung berapa tetes reagen yang diteteskan pada sampel, setiap satu tetes reagen alkalinity sama dengan 20 ppm.

3.4.6 Analisis *Volatile Fatty Acid* (VFA)

Analisis VFA dilakukan di Laboratorium Genomik, BRIN Cibinong KST Soekarnoo menggunakan High Performance Liquid Chromatography dengan spesifikasi Detektor Refractive Index (RID- 20A). Larutan Standar dibuat dengan menggunakan beberapa senyawa asam antara lain Asam Format 99%, Asam Propionat 99%, Asam asetat 100%, Asam Butirat 99%, dan Asam Isovalerat 98%. Sampel disentrifius pada putaran 10000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan padatan di dalam slurry. Filtrat kemudian disaring menggunakan microfilter untuk menyaring padatan yang sangat kecil sebelum diinjeksikan ke HPLC. Luas area puncak pada waktu tinggal yang diinginkan kemudian dibandingkan dengan luas area larutan standard untuk mendapatkan konsentrasi asam yang dimaksud.

3.6 Jadwal Pelaksanaan

Waktu pelaksanaan penelitian dirancang dalam jadwal pelaksanaan kegiatan pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Jadwal Pelaksanaan

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah

1. Degradasi limbah cair rebusan cilok melalui proses *anaerobic digestion* menunjukkan kinerja lebih baik dibandingkan digester glukosa, dengan konsentrasi akhir COD dan VS yang lebih rendah, masing-masing 1.075 mg/L dan 4.750 mg/L, dibandingkan 3.871 mg/L dan 11.750 mg/L pada digester glukosa. Namun, produksi CH₄ pada digester cilok cenderung lebih rendah, yaitu 82 N mL/g VS dan 59 N mL/g COD, dimungkinkan karena kompleksitas dan adanya senyawa-senyawa penghambat di dalam limbah cilok.
2. Peningkatan rasio ISR mempercepat adaptasi mikroorganisme dan mempersingkat fase lag dalam pembentukan metana. Perlakuan ISR IV menunjukkan kinerja terbaik dengan produksi metana spesifik 238 N mL/g VS dan 170 N mL/g COD dalam waktu fermentasi 66 hari. Sebaliknya, ISR rendah menyebabkan hambatan proses akibat beban organik berlebih, ditandai akumulasi VFA hingga 8.806 mg/L pada ISR I, yang menurunkan pH dan menghambat aktivitas mikroba metanogen. Kapasitas buffer yang rendah pada ISR rendah semakin menghambat kestabilan sistem.
3. Proses *anaerobic digestion* terbukti dapat menurunkan kandungan senyawa organik dalam air limbah cilok, yang ditunjukkan oleh penurunan nilai COD dan VS secara signifikan pada seluruh perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa proses ini tidak hanya berpotensi menghasilkan

energi terbarukan, tetapi juga dapat mendukung pengelolaan limbah cair secara lebih ramah lingkungan, meskipun hasil akhir masih perlu disesuaikan dengan standar baku mutu yang berlaku.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan disarankan dilakukan pada skala yang lebih besar untuk menguji kelayakan penerapan teknologi *anaerobic digestion* dalam pengolahan limbah cair makanan, khususnya limbah rebusan cilok. Meskipun ISR IV memberikan hasil terbaik, perlu dikaji kembali rasio ISR yang lebih efisien secara ekonomis. Selain itu, karena hasil akhir belum sepenuhnya memenuhi baku mutu limbah cair, disarankan adanya pengolahan lanjutan sebelum dibuang ke lingkungan. Penelitian selanjutnya juga sebaiknya mencakup analisis mikrobiologis dan studi kinetika untuk memperdalam pemahaman terhadap proses degradasi bahan organik.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, T. E., Faizal, M., Aprianti, T., Teguh, D., Rif'at, A. M., Putra, I. G., Prayesi, M. R., & Fitrializa, U. (2018). Pengolahan Limbah Logam Berat Kromium Hexavalen Menggunakan Reagen Fenton dan Adsorben Keramik Zeolit. *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 13(1), 60–69.
<https://doi.org/10.23955/rkl.v13i1.10109>

Al-Mamun, A., Jafary, T., Baawain, M. S., Rahman, S., Choudhury, M. R., Tabatabaei, M., & Lam, S. S. (2020). Energy recovery and carbon/nitrogen removal from sewage and contaminated groundwater in a coupled hydrolytic-acidogenic sequencing batch reactor and denitrifying biocathode microbial fuel cell. *Environmental Research*, 183, 109273.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2020.109273>

Anoi, Y. H. (2022). Pengaruh Variasi Jenis Feses Terhadap Produktivitas Biogas. *Jurnal Juara, Aktif, Global, Optimis STTI Bandung*, 2(1), 2798–3315.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., & Dewil, R. (2008a). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781.
<https://doi.org/10.1016/J.PECS.2008.06.002>

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., & Dewil, R. (2008b). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781.
<https://doi.org/10.1016/J.PECS.2008.06.002>

Barik, D. (2019). Energy Extraction From Toxic Waste Originating From Food Processing Industries. *Energy from Toxic Organic Waste for Heat and Power Generation*, 17–42. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102528-4.00003-1>

Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., Sanders, W. T., Siegrist, H., & Vavilin, V. A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 45(10), 65–73. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0292>

Bermúdez, L. A., Pascual, J. M., Martínez, M. D. M. M., & Capilla, J. M. P. (2021). Effectiveness of advanced oxidation processes in wastewater treatment: State of the art. *Water (Switzerland)*, 13(15), 1–20. <https://doi.org/10.3390/w13152094>

Cerón-Vivas, A., Cáceres, K. T., Rincón, A., & Cajigas, A. (2019). Influence of pH and the C/N ratio on the biogas production of wastewater. *Revista Facultad de Ingeniería*, 92, 88–95. <https://doi.org/10.17533/udea.redin.20190627>

Chalik, A., Kalla, R., Nurjannah, N., & Arman, M. (2021). Produksi Biogas secara Anaerob dari Popok Bayi Bekas dan Limbah Organik. *Journal of Chemical Process Engineering*, 6(2), 64–73. <https://doi.org/10.33536/jcpe.v6i2.698>

Cheah, Y. K., Vidal-Antich, C., Dosta, J., & Mata-Álvarez, J. (2019). Volatile fatty acid production from mesophilic acidogenic fermentation of organic fraction of municipal solid waste and food waste under acidic and alkaline pH. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(35), 35509–35522. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05394-6>

Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.01.057>

Choe, U., Mustafa, A. M., Lin, H., Choe, U., & Sheng, K. (2020). Anaerobic co-digestion of fish processing waste with a liquid fraction of hydrothermal carbonization of bamboo residue. *Bioresource Technology*, 297(December 2019), 122542. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122542>

Córdoba, V., Fernández, M., & Santalla, E. (2018). The effect of substrate/inoculum ratio on the kinetics of methane production in swine wastewater anaerobic digestion. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(22), 21308–21317. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0039-6>

Deubelin, D., & Steinhauser, A. (2008). *Biorefineries – Industrial Biological Wastewater Artificial Photosynthesis Renewables - Based Beyond Oil and Gas*.

Dewi, M. N., & Visca, R. (2020). Potensi Limbah Cair Organik Sebagai Bahan Baku Biogas Menggunakan Sistem Fermentasi Dua Tahap. *Jurnal Migasian / e-Issn*, 4(2), 2580–5258.

Dixon, P. J., Ergas, S. J., Mihelcic, J. R., & Hobbs, S. R. (2019). Effect of Substrate to Inoculum Ratio on Bioenergy Recovery from Food Waste, Yard Waste, and Biosolids by High Solids Anaerobic Digestion. *Environmental Engineering Science*, 36(12), 1459–1465. <https://doi.org/10.1089/ees.2019.0078>

Emerseon, E., Syarief, R., & Alla Asmara. (2020). Sustainability Strategy to Utilize the Biogas of Tapioca Industry in PD XYZ. *Jurnal Manajemen Pengembangan Industri Kecil Menengah*, 15(1), 84–93.
<http://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnalmpi/>

Firdaus, N. Q. (2018). Efektivitas variasi inokulan konsorsium mikroorganisme (*Phanerochaete chrysosporium*, *Basillus circulans*, *Tricoderma reesei*, dan *Saccharomyces cerevisiae*) dalam proses biodelignifikasi rumput gajah (*Pannisetum Purpureum*) dengan penambahan urea. *Skripsi*, 1–12.
<https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/47857%0Ahttps://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/47857/1/NABILA QORINA FIRDAUS-FST.pdf>

Gandhi, B. P., Otite, S. V., Fofie, E. A., Lag-Brottons, A. J., Ezemonye, L. I., Semple, K. T., & Martin, A. D. (2022). Kinetic investigations into the effect of inoculum to substrate ratio on batch anaerobic digestion of simulated food waste. *Renewable Energy*, 195, 311–321.
<https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.05.134>

Gerardi, M. H. (2003). The Microbiology of Anaerobic Digesters. In *Wiley Interscience*.

Ghimire, A., Sposito, F., Frunzo, L., Trably, E., Escudie, R., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., & Esposito, G. (2016). Effects of operational parameters on dark fermentative hydrogen production from biodegradable complex waste biomass. *Waste Management*, 50(2), 55–64.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.044>

Gomec, C. Y., & Speece, R. E. (2003). The role of pH in the organic material solubilization of domestic sludge in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 48(3), 143–150. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0185>

Gunaseelan, V. N. (2004). Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, 26(4), 389–399.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2003.08.006>

Hadiyarto, A., Soetrisnanto, D., Samsudin, A. M., Asri, P. D. A., & Abdillah, S. (2018). Co digestion for biogas production from tapioca industrial wastewater and septage. *ASEAN Journal of Chemical Engineering*, 18(1), 24–29.

Hafsah, D. S., Z., D. A. F., & Prayitno, P. (2023). Pengaruh Rasio Starter Terhadap Substrat Dalam Produksi Biogas. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 5(2), 29–34. <https://doi.org/10.33795/distilat.v5i2.14>

Hariadi, P. (2012). *INDUSTRI PANGAN DALAM MENUNJANG KEDAULATAN PANGAN*.

Herawati, D. A., & Wibawa, A. A. (2010). Pengaruh pretreatment jerami padi

pada produksi biogas dari jerami padi dan sampah sayur sawi hijau secara batch. *J. Rekayasa Proses*, 4(1), 25–29.

Hermawan, D., Hamidi, N., & Nur Sasongko, M. (2016). Performansi Purifikasi Biogas Dengan KOH Based Absorbent. *Jurnal Rekayasa Mesin*, 7(2), 65–73. <https://doi.org/10.21776/ub.jrm.2016.007.02.4>

Ikhtiar, M. (2017). Pengantar Kesehatan Lingkungan. In *Egc*. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/30773/ChapterII.pdf?sequence=4>

Ikrema Hassan, Saidur R. Chowdhury, Perdana K. Prihartato, S. A. R. (2021). *Wastewater Treatment Using Constructed Wetland : Current Trends and Future Potential*. 1–27.

Indarto, K. E. (2010). *Produksi biogas Limbah Cair Industri Melalui peningkatan Suhu dan Penambahan Urea Pada Perombakan Anaerob*.

Khadka, A., Parajuli, A., Dangol, S., Thapa, B., Sapkota, L., Carmona-Martínez, A. A., & Ghimire, A. (2022). Effect of the Substrate to Inoculum Ratios on the Kinetics of Biogas Production during the Mesophilic Anaerobic Digestion of Food Waste. *Energies*, 15(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/en15030834>

Kim, M. J., & Kim, S. H. (2017). Minimization of diauxic growth lag-phase for high-efficiency biogas production. *Journal of Environmental Management*, 187, 456–463. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.002>

Kurniati, Y., Rahmat, A., Malianto, B. I., Nandayani, D., & Pratiwi, W. S. W. (2021). Review Analisa Kondisi Optimum Dalam Proses Pembuatan Biogas. *Rekayasa*, 14(2), 272–281. <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v14i2.11305>

Lestari, D. I. (2016). Efektivitas Rumput Laut *Sargassum* sp. Sebagai Sumber Alternatif Penghasil Biogas. In *Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga*.

Li, C., Tabassum, S., & Zhang, Z. (2014). A novel environmental biotechnological aerobic process (BioAX) for the treatment of coal gasification wastewater. *RSC Advances*, 4(66), 35156–35162. <https://doi.org/10.1039/c4ra06030j>

Li, Y., Chen, Z., Peng, Y., Huang, W., Liu, J., Mironov, V., & Zhang, S. (2022). Deeper insights into the effects of substrate to inoculum ratio selection on the relationship of kinetic parameters, microbial communities, and key metabolic pathways during the anaerobic digestion of food waste. *Water Research*, 217(October 2021), 118440. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118440>

Matin, H. H. A., & Hadiyanto. (2018). Biogas Production from Rice Husk Waste by using Solid State Anaerobic Digestion (SSAD) Method. *E3S Web of Conferences*, 31(1), 1–7. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20183102007>

Morales-Polo, C., del Mar Cledera-Castro, M., & Yolanda Moratilla Soria, B. (2018). Reviewing the anaerobic digestion of food waste: From waste generation and anaerobic process to its perspectives. *Applied Sciences (Switzerland)*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/app8101804>

Ohemeng-Ntiamoah, J., & Datta, T. (2019). Perspectives on variabilities in biomethane potential test parameters and outcomes: A review of studies published between 2007 and 2018. *Science of the Total Environment*, 664, 1052–1062. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.088>

Okoro-Shekhwaga, C. K., Turnell Suruagy, M. V., Ross, A., & Camargo-Valero, M. A. (2020). Particle size, inoculum-to-substrate ratio and nutrient media effects on biomethane yield from food waste. *Renewable Energy*, 151(September), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.11.028>

Pagés-Díaz, J., & Huiliñir, C. (2020). Valorization of the liquid fraction of co-hydrothermal carbonization of mixed biomass by anaerobic digestion: Effect of the substrate to inoculum ratio and hydrochar addition. *Bioresource Technology*, 317, 123989. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123989>

Pomalingo, A. Y., & Misnanti. (2021). Analisis Kandungan Gizi Dan Daya Terima Cilok Dengan Penambahan Ikan Tuna (Thunnini) Dan Wortel (Daucus Carota) Analysis Of Nutritional Content And Acceptance Of Cilok With Addition Of Tuna Fish (Thunnini) And Carrot (Daucus Carota). *Journal Health and Science ; Gorontalo Journal Health & Science Community*, 5(2), 122–132.

Rahayu, A. S., Karsiwulan, D., Yuwono, H., Trisnawati, I., Mulyasari, S., Rahardjo, S., Hokerman, S., & Paramita, V. (2015). Buku Panduan Konversi POME Menjadi Biogas Pengembangan Proyek di Indonesia. In *Winrock International*. <https://www.winrock.org/wp-content/uploads/2016/05/CIRCLE-Handbook-INDO-compressed.pdf>

Raposo, F., De La Rubia, M. A., Fernández-Cegrí, V., & Borja, R. (2012). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 861–877. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>

Reyes, I. P., Díaz, J. P., & Horváth, I. S. (2015). Anaerobic Biodegradation of Solid Substrates from Agroindustrial Activities — Slaughterhouse Wastes and Agrowastes. In *Biodegradation and Bioremediation of Polluted Systems - New Advances and Technologies* (Issue December). <https://doi.org/10.5772/60907>

Ristyana, L. (2022). Analisis Kandungan DO, BOD, COD, TS, TDS, TSS dan Analisis Karakteristik Fisikokimia Limbah Cair Industri Tahu di UMKM Daerah Imogiri Barat Yogyakarta Ristyana Listyaningrum. In *Universitas*

Ahmad Dahlan (Issue June).

Rohmah, N. K. (2013). Kajian Keamanan Pangan Pentol Cilok Di Desa Blawirejo Kecamatan Kedungpiring Lamongan. *E-Jurnal Tata Boga*, 2(1), 58–65. <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/jurnal-tata-boga/article/view/1139>

RUDOLFS, W., & STAHL, G. W. (2020). Phosphates in sewage and sludge treatment; effects on sludge digestion. *Sewage Works Journal*, 19(3), 415–422.

Safrizal. (2015). Small Renewable Energy Biogas Limbah Cair (Pome) Pabrik Kelapa Sawit MSmall Renewable Energy Biogas Limbah Cair (Pome) Pabrik Kelapa Sawit Menggunakan Tipe Covered Lagoon Solusi Alternatif Defisit Listrik Provinsi RiauSmall Renewable Energy Biogas Limbah . *Jurnal DISPROTEK*, 6(1), 26–35.

Sayara, T., & Sánchez, A. (2019). A review on anaerobic digestion of lignocellulosic wastes: Pretreatments and operational conditions. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(21). <https://doi.org/10.3390/app9214655>

Sembiring, S. D., Irvan, Trisakti, B., & Sihombing, D. N. S. (2019). Stabilitas Reaktor Uplow Anaerobic Sludge Blanket-Hollow Centered Packed Bed. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 08(2), 67–71.

Septira, V. A., & Prayitno. (2020). Studi Literatur Limbah Tapioka Untuk Produksi Biogas: Metode Pengolahan dan Peranan Starter-Substrat. *Jurnal Teknologi Separasi*, 6(2), 176–187.

Simare, E. M., Sarah, M., & Husin, A. (2022). JURNAL TEKNIK KIMIA-USU Analisis Produksi Biogas Terhadap Penambahan Kulit Singkong pada Variasi Campuran Limbah Cair Domestk dan Aquadest Biogas Production Analysis on the Addition of Cassava Peels in the Variation of Domestic Liquid Waste Mixtures and A. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 11(2), 110–115. <https://talenta.usu.ac.id/jtk>

Sinaga, P. V. H., Suanggana, D., & Haryono, H. D. (2022). Analisis Produksi Biogas Sebagai Energi Alternatif Pada Kompor Biogas Menggunakan Campuran Kotoran Sapi Dan Ampas Tahu. *JTT (Jurnal Teknologi Terapan)*, 8(1), 61. <https://doi.org/10.31884/jtt.v8i1.348>

Tzoupanos, N. D., & Zouboulis, a I. (2008). Coagulation-Flocculation Processes in Water / Wastewater Treatment : the Application of New Generation of Chemical Reagents. *6th IASME/WSEAS International Conference on HEAT TRANSFER, THERMAL ENGINEERING and ENVIRONMENT*, May, 309–317.

Van, D. P., Fujiwara, T., Leu Tho, B., Toan, S., Phu, P., Hoang Minh, G., Van, D. P., Fujiwara, T., Tho, B. L., & Toan, P. P. S. (2019). A review of anaerobic

digestion systems for biodegradable waste: Configurations, operating parameters, and current trends. *Environmental Engineering Research*, 25(1), 1–17.

Wainaina, S., Lukitawesa, Kumar Awasthi, M., & Taherzadeh, M. J. (2019). Bioengineering of anaerobic digestion for volatile fatty acids, hydrogen or methane production: A critical review. *Bioengineered*, 10(1), 437–458. <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1673937>

Wardana, L. A., Nizar Lukman, Mukmin, D. (2021). Pemanfaatan Limbah Organik (Kotoran Sapi) Menjadi Biogas dan Pupuk Kompos. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*, 4(1), 201–207.

Wati, D. A. T., & Sugito, S. (2013). Pembuatan Biogas Dari Limbah Cair Pabrik Tahu Dengan Tinja Sapi. *WAKTU: Jurnal Teknik UNIPA*, 11(2), 55–61. <https://doi.org/10.36456/waktu.v11i2.886>

Widiartanti, Y. C & Totok Soehartanto. (2013). Perancangan Sistem Pengaduk Pada Bioreaktor Batch untuk Meningkatkan Produksi Biogas. *Jurnal Teknik Pomits*, 2(1), 2337–3539.

Widjaja, T., Anwar, H., Prajitno, D. H., & Pujiastuti, L. (2016). Effect of EM (Effective Microorganism) Addition on the Quality of Methane Production from Rice Straw. *International Journal of ChemTech Research*, 9(12), 520–528.

Wu, H. M., Li, X., Chen, J. N., Yan, Y. J., Kobayashi, T., Hu, Y., & Zhang, X. (2025). Food Waste Anaerobic Digestion Under High Organic Loading Rate: Inhibiting Factors, Mechanisms, and Mitigation Strategies. *Processes*, 13(7), 1–26. <https://doi.org/10.3390/pr13072090>

Yang, J., Zhang, J., Du, X., Gao, T., Cheng, Z., Fu, W., & Wang, S. (2025). Ammonia inhibition in anaerobic digestion of organic waste: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 22(5), 3927–3942. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-06029-1>

Yuliastuti, E., Suhartatik, N., Mustofa, A., Lustiyani, D., & Pratiwi, N. (2021). Kajian Cemaran Mikrobiologis Cilok Dan Saus Kacang Di Kota Surakarta. *Agrointek*, 15(2), 633–638. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i2.9068>

Zainal, A., Harun, R., & Idrus, S. (2022). Performance Monitoring of Anaerobic Digestion at Various Organic Loading Rates of Commercial Malaysian Food Waste. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.775676>

Zamanzadeh, M., Hagen, L. H., Svensson, K., Linjordet, R., & Horn, S. J. (2017). Biogas production from food waste via co-digestion and digestion- effects on performance and microbial ecology. *Scientific Reports*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15784-w>

Zhang, R., El-Mashad, H. M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., & Gamble, P. (2007). Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 98(4), 929–935.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOTECH.2006.02.039>