

Pengaruh Penambahan Gliserol Mentah Limbah Industri Biodiesel Terhadap Produksi Biogas dari Kotoran Sapi Menggunakan *Anaerobic Digester Sistem Batch*

Nelsy Mariza Syahyuda^{1*}, Fadjar Goembira², dan Shinta Silvia²

¹Jurusan Teknik Lingkungan Program Pascasarjana Universitas Andalas;

²Program Pascasarjana Universitas Andalas

ABSTRAK

Biogas adalah gas yang dihasilkan oleh aktivitas anaerobik dalam menguraikan bahan organik dengan kandungan utama metana (CH₄) dan karbon dioksida (CO₂). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh gliserol mentah dengan campuran kotoran sapi dalam memproduksi biogas. Digester menggunakan sistem batch skala laboratorium. Variasi pada penelitian ini adalah campuran kotoran sapi dengan penambahan gliserol mentah sebanyak 0, 4, 8, dan 12%. Semua variasi dengan volume total 350 mL. Pengukuran volume biogas dilakukan setiap hari. Pengukuran konsentrasi CH₄ dan CO₂ diukur menggunakan alat Geotech Biogas 5000 analyzer. Parameter yang diukur adalah COD, BOD, TS dan VS dan untuk pH diukur di awal serta di akhir proses. Suhu lingkungan diukur setiap hari dengan interval waktu selama 30 menit menggunakan alat Weather Station model PCE-FWS 20. Hasil penelitian menunjukkan lama waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi biogas adalah 14 hari. Volume biogas tertinggi adalah 836 mL, pada variasi penambahan gliserol mentah 12%. Gliserol mentah yang ditambahkan memiliki COD 475,2 mg/L, BOD 133,22 mg/L, TS 20% dan VS 14,8%. Konsentrasi CH₄ tertinggi juga didapatkan dari variasi penambahan gliserol mentah 12% yaitu 44,1%. Sedangkan volume biogas terendah adalah 292 mL pada digester tanpa penambahan gliserol mentah. Konsentrasi CH₄ terendah didapatkan pada variasi penambahan gliserol mentah 8% yaitu 15,5%. Identifikasi bakteri yang berperan dalam proses produksi biogas berdasarkan uji biokimia dengan Bergey's manual adalah genus Bacillus. Bakteri ini berperan dalam proses pendegradasi bahan organik yang ada di dalam digester.

Kata kunci: Bacillus, batch digester, biogas, gliserol mentah, konsentrasi CH₄.

ABSTRACT

Biogas is a gas produced by anaerobic activity in decomposing organic matter with the main content of methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂). This study aims to analyze the effect of crude glycerol with a mixture of cow dung in producing biogas. The digester used in this research was a laboratory-scale batch system. The variation in this study was a mixture of cow dung with the addition of 0, 4, 8, and 12% crude glycerol. All variations with a total volume of 350 mL. The measurement of the biogas volume was carried out every day. Measurements of CH₄ and CO₂ concentrations were measured using a Geotech Biogas 5000 analyzer. The COD, BOD, TS, and VS, and pH parameters were measured at the beginning and the end of the process. With parameters COD 475.2 mg/L, BOD 133.22 mg/L, TS 20%, and VS 14.8%. The ambient temperature was measured every 30 minutes using a PCE-FWS 20 Weather Station model. The results showed that the length of time needed to produce biogas was 14 days. The highest biogas volume was 836 mL, when 12% cured glycerol was added. The highest CH₄ concentration of 44,1% was also obtained from variations in the addition of 12% crude glycerol. The lowest biogas volume of 292 mL was obtained from the absence of crude glycerol in the reactor. The lowest CH₄ concentration was found in the variation of the addition of 8% crude glycerol, namely 15.5%. Identification of bacteria that play a role in the biogas production process based on biochemical tests using Bergey's manual is the Bacillus genus. These bacteria contribute in these bacteria contribute in organic matter degradation inside the digester.

Keywords: Bacillus, batch digester, biogas, CH₄ concentration, crude glycerol.

Citation: Syahyuda, N., Goembira, F., dan Silvia, S. (2022). Pengaruh Penambahan Gliserol Mentah Limbah Industri Biodiesel terhadap Produksi Biogas dari Kotoran Sapi Menggunakan *Anaerobic Digester Sistem Batch*. Jurnal Ilmu Lingkungan, 20(3), 465-473, doi:10.14710/jil.20.3.465-473

1. Pendahuluan

Biogas merupakan salah satu sumber energi terbarukan yang dapat menjadi solusi kebutuhan energi alternatif. Pada umumnya biogas adalah gas yang dihasilkan dari proses penguraian bahan-bahan

organik oleh mikroorganisme dalam keadaan anaerobik. Oleh karena itu biogas memiliki keunggulan dibandingkan dengan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang berasal dari fosil. Potensi biogas sebagai sumber energi cukup besar dan dapat mengatasi masalah limbah yang dihasilkan oleh industri, pertanian dan rumah tangga

* Penulis korespondensi: nelsymariza@gmail.com

(Valerie, 2006; Zhang *et al.*, 2013). Sifatnya yang ramah lingkungan dan dapat diperbaharui merupakan keunggulan sebagai energi alternatif (Wahyuni, 2015).

Saat ini limbah ternak umumnya digunakan sebagai pupuk kompos dan hanya sedikit yang dimanfaatkan sebagai biogas (Budiyanto, 2011). Oleh karena itu, pemanfaatan energi biogas memberikan beberapa keuntungan seperti mengurangi bau kotoran ternak yang tidak sedap, mencegah penyebaran penyakit, mengurangi efek gas rumah kaca, menghasilkan panas dan daya mekanis/listrik, serta memberikan hasil samping berupa pupuk padat dan cair (Orskov *et al.*, 2014; Walter *et al.*, 2011).

Sementara itu gliserol adalah produk sampingan utama dari produksi biodiesel. Produksi 100 kg biodiesel menghasilkan sekitar 10 kg gliserol mentah, dengan kemurnian 55-90% gliserol (Dasari *et al.*, 2005; Hazimah *et al.*, 2003). Saat ini gliserol yang dihasilkan belum dimanfaatkan oleh industri biodiesel, karena banyak mengandung zat-zat pengotor. Bahan dominan yang terkandung dalam gliserol adalah sisa metanol yang tidak bereaksi, seperti sabun dari hasil reaksi antara asam lemak bebas dengan katalis kalium hidroksida. Katalis kalium hidroksida digunakan pada proses transesterifikasi, sehingga gliserol bersifat basa (Diwani *et al.*, 2009). Menurut Knothe (2005), gliserol dari hasil samping produksi biodiesel berupa cairan kental berwarna coklat kehitaman, memiliki kadar kemurnian 50%, dan pH yang sangat basa ($\text{pH} > 10$).

Gliserol adalah zat yang mudah dicerna dan juga dapat dengan mudah disimpan dalam waktu lama (Fountoulakis & Manios, 2009). Menurut Fountoulakis *et al.* (2010), tentang instalasi biogas terlihat bahwa produksi biogas yang tinggi berkorelasi positif dengan penambahan produk sampingan dari limbah industri, dimana bahan organikya berkonsentrasi tinggi. Keunggulan ini dapat membuat gliserol menjadi substrat pendukung yang cukup ideal dalam proses *anaerobic digester* (AD).

Pembuatan biogas menggunakan metode *anaerobic digester* (AD), dimana AD adalah proses mikroorganisme mengubah bahan organik dalam menghasilkan gas metana, adapun tahapan dalam proses AD yaitu hidrolisis, asidogenesis, asetogenesis dan metanogenesis (Li *et al.*, 2011; Weiland, 2010). Ada beberapa faktor utama yang mempengaruhi efisiensi dari AD seperti suhu, nilai pH, asam lemak volatil, ammonium, dan rasio nitrogen terhadap karbon (rasio C/N) (Kim *et al.*, 2006; Trzcinski & Stuckey, 2010). Oleh karena itu, *anaerobic digester* komersial biasanya memiliki dua pilihan suhu utama, mesofilik dan termofilik (Ward *et al.*, 2008). Sedangkan untuk nilai pH optimal pada destruksi anaerobik, hidrolisis, dan asidogenesis adalah masing-masing sekitar 7-8, 5,5 dan 6,5 (Khalid *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2003.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji penggunaan gliserol mentah dalam meningkatkan produksi biogas, kemudian menganalisis kondisi optimal dari proses *anaerobic digester* skala laboratorium. Selain itu diperlukan mengidentifikasi

bakteri yang berperan dalam proses produksi biogas. Penelitian ini diharapkan menjadi salah satu solusi dalam memanfaatkan limbah sebagai energi alternatif seperti biogas. Solusi tersebut dapat digunakan sebagai upaya untuk pemanfaatan energi terbarukan yang ramah lingkungan.

2. Metodologi

2.1 Bahan dan Alat

Bahan baku untuk *anaerobic digester* adalah campuran kotoran sapi, akuades dan gliserol mentah. Kotoran sapi berasal dari peternakan sapi rumah potong yang berada di Lubuk Buaya Kota Padang. Pengambilan kotoran sapi dilakukan pada pagi hari jam 06.30 WIB sebanyak 4 kg dimasukkan ke dalam ember berukuran sedang lalu tutup. Limbah gliserol mentah berasal dari industri biodiesel yang berada di Riau sebanyak satu drum. Sampel kotoran sapi dan gliserol mentah kemudian di bawa ke Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Andalas.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu *Erlenmeyer flask* pipa samping 500 mL, *syringe*, slang, *silicon tube*, gelas ukur 250 mL, gelas kimia 500 mL, neraca digital, kertas filter, corong pisah, *thermometer*, termogun, pH, pipet tetes, batang pengaduk, tabung nitrogen, Geotech Biogas 5000 *analyzer*, mikroskop, *autoclave*, *hot plate*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, jarum ose, bunsen dan korek api.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Andalas dan Laboratorium Balai Venteriner Bukittinggi. Gambar 1 menunjukkan skema instalasi *anaerobic digester* biogas. Instalasi biogas dibuat skala laboratorium dengan menggunakan labu erlenmeyer 500 mL. Bahan baku yang dimasukan ke dalam instalasi biogas adalah campuran kotoran sapi, akuades dan gliserol mentah. Dimana instalasi biogas ditutup dengan katup yang berfungsi menutup dan membuka gas agar terukur di *syringe*. Pada *flask* samping di pasang slang silikon yang terhubung pada balon agar gas dapat ditampung. Untuk menjamin kondisi anaerob pada *anaerobic digester* maka udara yang ada di dalam *digester* dikeluarkan dengan menggunakan gas nitrogen selama satu menit dengan laju aliran 5 L/det.

2.2 Prosedur Percobaan

Dalam mendapatkan bahan baku kotoran sapi encer, maka kotoran sapi dan akuades dibuat dengan perbandingan 2 : 1 (Catur *et al.*, 2017). Berikut merupakan bahan baku untuk *anaerobic digester* Tabel 1. Perbandingan 4 variasi ini dipilih untuk melihat pengaruh penambahan gliserol mentah dengan campuran kotoran sapi sebagai substrat dalam menghasilkan biogas.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengisolat bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) dan

diikubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Bakteri dominan diambil satu jarum ose dan dioleskan dengan akuades di atas preparat lalu diletakkan di atas api Bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan kristal violet dan biarkan selama satu menit, cuci dengan air mengalir. Larutan iodium ditambahkan satu tetes dan didiamkan selama satu menit, dicuci dengan air mengalir dan keringkan. Preparat di bilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dicuci dengan air. Safranin sebanyak satu tetes ditambahkan di atas preparat dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan minyak imersi dan diamati dengan mikroskop. Uji gram positif jika berwarna ungu dan negatif jika berwarna merah mikro (Abercrombie *et al.*, 1990; Cappuccino & Sherman, 2014; Volk, 1993).

Setelah pewarnaan gram maka dilakukan uji biokimia untuk melihat lebih jelas jenis bakteri secara fisik, yang terdiri dari uji fermentasi karbohidrat, uji *methyl red*, uji motilitas, uji katalase, uji indol, uji sitrat, uji *triple sugar iron agar*, uji *voges-proskauer*, uji gelatin dan uji nitrat. Pada uji biokimia dalam bentuk tabel dan digunakan untuk menentukan spesies bakteri berdasarkan metode *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

2.3 Metode Analisis

Analisis yang dilakukan yaitu analisis bahan baku, analisis kuantitas biogas, analisis kualitas biogas dan identifikasi bakteri yang berperan dalam produksi biogas.

Tabel 2 menunjukkan metode analisis masing-masing parameter. Analisis bahan baku berupa pengukuran pH, rasio C/N, *chemical oxygen demand* (COD), *biochemical oxygen demand* (BOD), *total solid* (TS), dan *volatile solid* (VS). Analisis kuantitas biogas berupa pengukuran volume yang dilakukan setiap hari memantau berapa lama waktu yang dibutuhkan dan berapa banyak volume biogas yang dihasilkan. Selanjutnya analisis kualitas biogas merupakan komposisi dari biogas diukur dengan menggunakan alat Geotech Biogas 5000 *analyzer*. Analisis ini dilakukan untuk melihat pengaruh dari penambahan gliserol mentah dalam memproduksi biogas.

Tabel 2. Metode Analisis Bahan Baku

Parameter	Metode Analisis
C-Organik	Spektrometer
Nitrogen	Kejeldahl
COD	Titration
BOD	Titration
TS	Gravimetri
VS	Gravimetri

2.4 Pengolahan Data

Dari data hasil analisis bahan baku berupa data tabel dan grafik. Hasil yang didapat berguna untuk merekomendasikan bahan baku dalam pemanfaatan pembuatan biogas. Rekomendasi pemanfaatan biogas dilakukan dengan cara membandingkan nilai analisis yang didapatkan dari literatur yang ada. Hasil pengukuran konsentrasi gas CH₄ dan CO₂ dengan menggunakan alat Geotech Biogas 5000 *analyzer* berupa persen konsentrasi dari masing-masing *anaerobic digester* (AD). Pada identifikasi bakteri yang dibahas adalah bakteri yang berperan dalam proses produksi biogas. Hasil yang didapatkan yaitu dari uji morfologi dan biokimia berupa data gambar dan tabel.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Bahan Baku

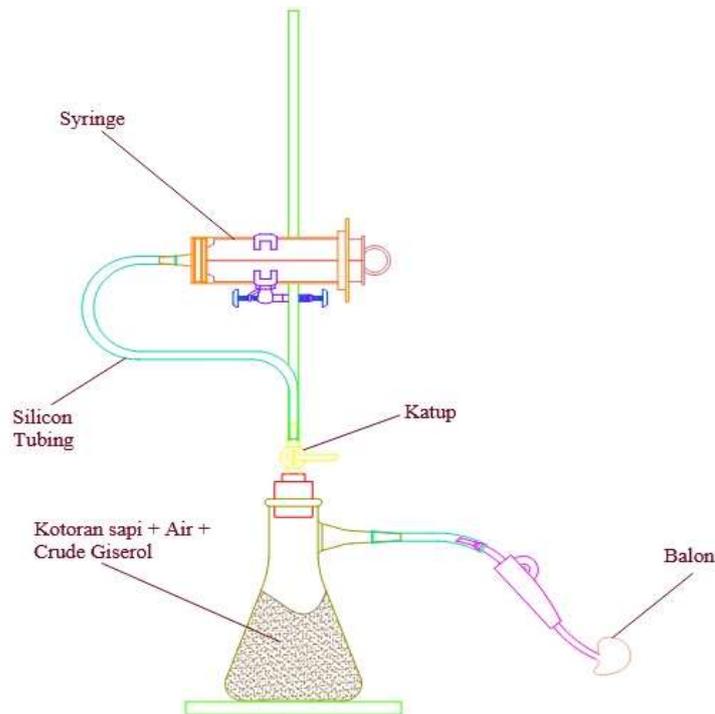
3.1.1 Analisis Rasio C/N

Rasio C/N bertujuan untuk mengetahui jumlah karbon dan nitrogen yang berada di dalam bahan baku berguna mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Tabel 3 menunjukkan kadar rasio C/N masing-masing variasi.

Pada variasi A memiliki rasio C/N yang tinggi dibandingkan dengan variasi lainnya. Variasi A dengan komposisi tanpa penambahan gliserol mentah. Sedangkan rasio C/N terendah pada variasi B dengan komposisi penambahan gliserol mentah sebanyak 4%. Namun, setelah ditambahkan gliserol mentah terlihat bahwa rasio C/N meningkat. Hal ini dikarenakan kandungan karbon yang ada pada variasi dengan penambahan gliserol mentah meningkatkan rasio C/N. Dalam hal ini menurut Wahyuni, (2015) karbon dan nitrogen merupakan nutrisi yang paling dibutuhkan dalam produksi biogas, hal ini diperlukan untuk mikroba memecah bahan organik dalam proses metabolismenya.

Tabel 3. Kadar rasio C/N masing-masing Variasi

Variasi	Kadar N (%)	%C-Organik	C/N
A1	0,382	3,58	9,38
A2	0,379	3,69	9,71
B1	0,445	3,47	7,81
B2	0,452	3,45	7,64
C1	0,501	4,17	8,33
C2	0,501	4,19	8,37
D1	0,508	4,44	8,75
D2	0,522	4,43	8,49



Gambar 1 Instalasi *Anaerobic Digester*

Tabel 1. *feedstock* isian untuk *anaerobic digester*

<i>Feedstock</i>	Satuan	Variasi A (0% Gliserol Mentah)	Variasi B (4% Gliserol Mentah)	Variasi C (8% Gliserol Mentah)	Variasi D (12% Gliserol Mentah)
Kotoran sapi	mL	233	224	215	206
Akuades	mL	117	112	107	102
Gliserol Mentah	mL	0	14	28	42
Total		350	350	350	350

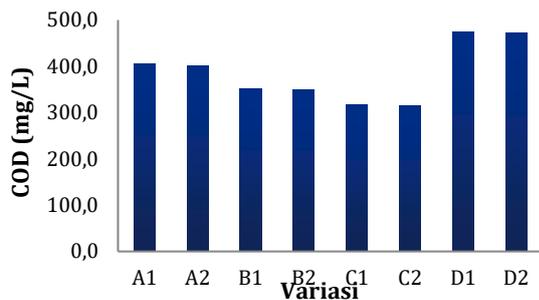
Tabel 4. pH masing-masing Variasi

Variasi	pH	
	Awal	Akhir
A1	7,5	7,1
A2	7,5	7
B1	8	5,3
B2	8,1	5,3
C1	8,5	5,8
C2	8,6	5,6
D1	8,8	5,5
D2	8,9	5,4

3.1.2 Analisis pH

Pengukuran pH dilakukan pada awal dan di akhir proses. Tabel 4 menunjukkan hasil pengukuran pH pada masing-masing variasi. pH tertinggi di awal terukur pada variasi D sedangkan yang terendah pada variasi A. Pengukuran pH di akhir proses menunjukkan variasi A adalah 7 dan terendah pada variasi B. Dari 4 variasi terlihat pH awal yang terbentuk lebih tinggi dibandingkan dengan pH setelah terbentuk gas. Ini berarti saat pencampuran komposisinya lebih basa dibandingkan dengan setelah terbentuknya gas.

Produksi biogas secara optimum dapat dicapai bila nilai pH dari pencampuran input dalam *digester* berada pada kisaran 6,5 – 8. Nilai pH di bawah 6 dapat menyebabkan terhambatnya produksi biogas, dikarenakan bakteri-bakteri sangat peka terhadap pH (Seadi *et al.*, 2008). Pada penelitian ini nilai pH tertinggi dalam menghasilkan gas adalah 8,9 pada variasi D dengan penambahan gliserol mentah sebanyak 12%, biarpun pH yang terukur jauh dari kondisi optimum, namun gas masih terbentuk. Pada akhir penelitian pH cenderung menurun hingga mencapai nilai 5,3 pada variasi B dengan penambahan gliserol mentah sebanyak 4%. Menurut Schnürer & Jarvis (2009), hal ini dikarenakan pada proses fermentasi anaerob nilai pH akan menurun seiring dengan produksi asam lemak. Namun, penurunan pH menunjukkan terjadinya proses asidifikasi, di mana asidifikasi menunjukkan konsentrasi asam yang tinggi karena terjadinya proses perubahan produk hasil hidrolisis menjadi asam lemak yang mudah menguap seperti asetat, propionat dan butirrat.



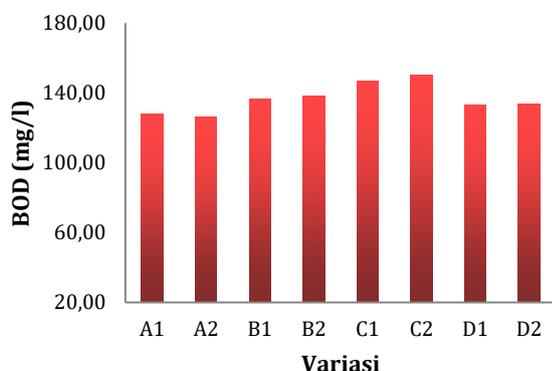
Gambar 2 Grafik Analisis COD

3.1.3 Analisis COD dan BOD

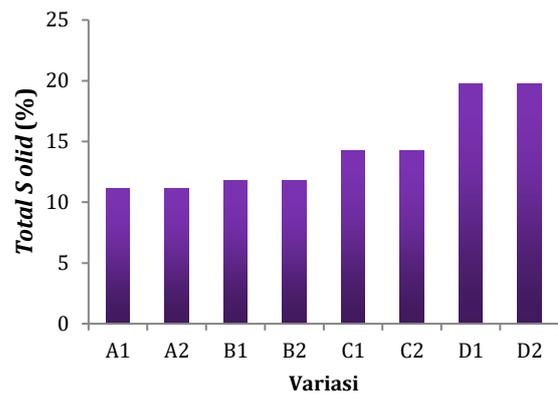
Pengukuran COD dilakukan untuk melihat pengaruh masing-masing variasi penambahan gliserol mentah dalam memengaruhi produksi biogas. Hasil pengukuran COD pada Gambar 2. COD tertinggi pada variasi D dengan penambahan gliserol mentah 12% sebesar 475,2 mg/L. Sedangkan COD terendah pada variasi C dengan penambahan gliserol mentah sebanyak 8% sebesar 315 mg/L. Penurunan hasil nilai COD pada variasi B dan variasi C dengan penambahan gliserol mentah disebabkan oleh kurangnya bahan-bahan organik, sehingga memperkecil nilai COD dalam substrat. Sebaliknya pada variasi D hasil dari nilai COD dengan penambahan gliserol sebesar 12% menunjukkan peningkatan dikarenakan banyaknya bahan-bahan organik yang ada di dalam substrat.

Selanjutnya BOD diukur untuk melihat pengaruh dari penambahan gliserol mentah dan Gambar 3 menunjukkan hasil dari pengukuran BOD pada masing-masing variasi.

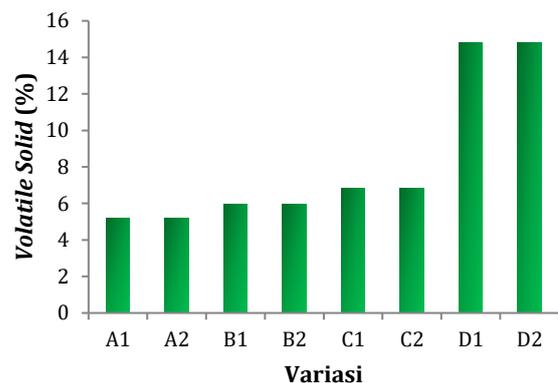
Hasil BOD tertinggi pada variasi C dengan komposisi penambahan gliserol mentah 8% sebanyak 149,9 mg/L sedangkan terendah pada variasi A tanpa penambahan gliserol mentah. Pada variasi B dan C untuk kadar BOD cenderung meningkat. Pada variasi D dengan kadar BOD 133,2 mg/L menunjukkan penurunan dengan komposisi penambahan gliserol mentah sebesar 12%. Hal ini memperlihatkan bahwa hasil COD berbanding terbalik dengan BOD.



Gambar 3 Grafik Analisis BOD



Gambar 4 Grafik Persentase TS



Gambar 5 Grafik Persentase VS

3.1.4 Analisis TS dan VS

Total Solid (TS) adalah salah satu faktor yang dapat menunjukkan proses pendegradasian pada bahan baku (Wulandari & Labiba, 2017). Gambar 4 merupakan hasil dari TS pada masing-masing variasi. Perbedaan TS pada masing-masing variasi 0, 4, 8, dan 12% menunjukkan bahwa dengan penambahan gliserol mentah dapat meningkatkan nilai TS. Persentase TS tertinggi pada variasi D penambahan gliserol mentah 12% yaitu sebesar 20%.

Kemudian pada *volatile solid* (VS) juga menunjukkan peningkatan pada masing-masing variasi. VS tertinggi juga pada variasi D dengan penambahan gliserol mentah sebanyak 12% yaitu sebesar 14,8%. Hal ini memperlihatkan bahwa penambahan gliserol mentah dapat meningkatkan persentase dari kadar TS dan VS. Gambar 5 menunjukkan hasil dari kadar VS pada masing-masing variasi.

3.2. Analisis Kuantitas Biogas

Lama waktu dan besarnya volume untuk masing-masing variasi berbeda akibat pengaruh dari pH, COD, BOD, TS dan VS. Gambar 6 dan Gambar 7 merupakan hasil dari lama waktu dan volume biogas yang dihasilkan.

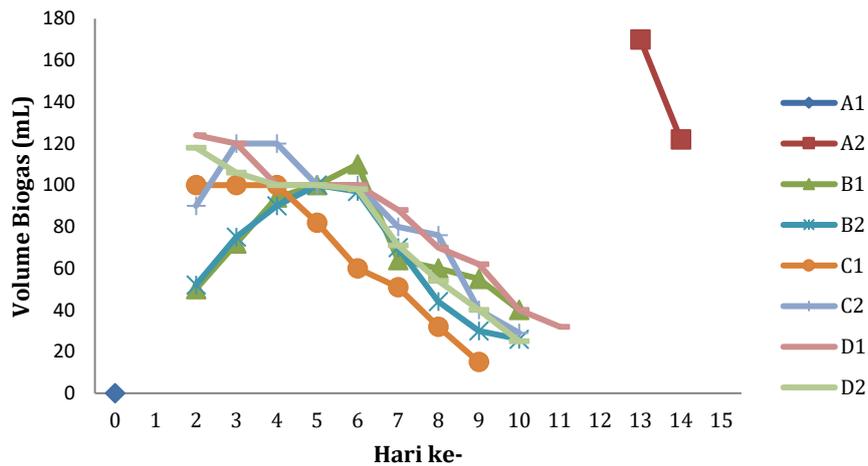
Hasil volume biogas tertinggi pada hari ke-2 adalah variasi D dengan penambahan gliserol mentah 12%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan gliserol mentah dapat meningkatkan produksi biogas. Sedangkan untuk variasi A tanpa penambahan gliserol mentah pada minggu 1 tidak terukur. Ini dikarenakan variasi A membutuhkan waktu yang cukup lama dalam proses fermentasinya. Sedangkan pada variasi penambahan gliserol mentah 4, 8, dan 12% menunjukkan produksi biogas dalam waktu 7 hari. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Kolesárová *et al* (2011) dengan semakin banyak penambahan gliserol mentah dapat meningkatkan akumulasi produksi biogas yang diperoleh. Pada hasil penelitian untuk lama pembentukan biogas terjadi selama waktu 14 hari, hal ini dikarenakan bakteri mulai aktif memanfaatkan substrat sebagai sumber energi untuk memperbanyak diri dalam melakukan proses fermentasi.

Volume biogas terbanyak dihasilkan pada perlakuan D1 dengan penambahan gliserol 12%, yakni sebanyak 836 mL. Jumlah volume ini lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Li *et al.*, (2011), menemukan bahwa rasio C/N adalah faktor penting dalam efisiensi proses degradasi. Bahan baku

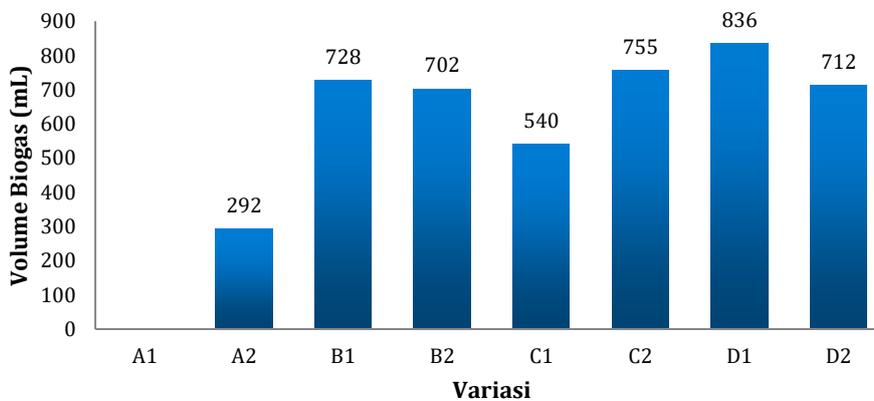
pada penelitian ini memiliki rasio C/N yang lebih rendah. Namun, bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Chou & Su, (2019) terkait jumlah volume yang dihasilkan dengan menggunakan substrat gliserol mentah, pada penelitian ini tergolong sedikit, hal ini dikarenakan jumlah substrat yang digunakan terlalu sedikit sehingga membuat biogas yang dihasilkan pun juga sedikit. Pada variasi D1 dapat diketahui campuran antara kotoran sapi dan gliserol mentah sebesar 12% memiliki konsentrasi yang cukup tinggi sehingga dapat menghasilkan biogas dengan baik. Selain nutrisi, rentang waktu juga berperan penting dalam pembuatan biogas.

3.3. Analisis Kualitas Biogas

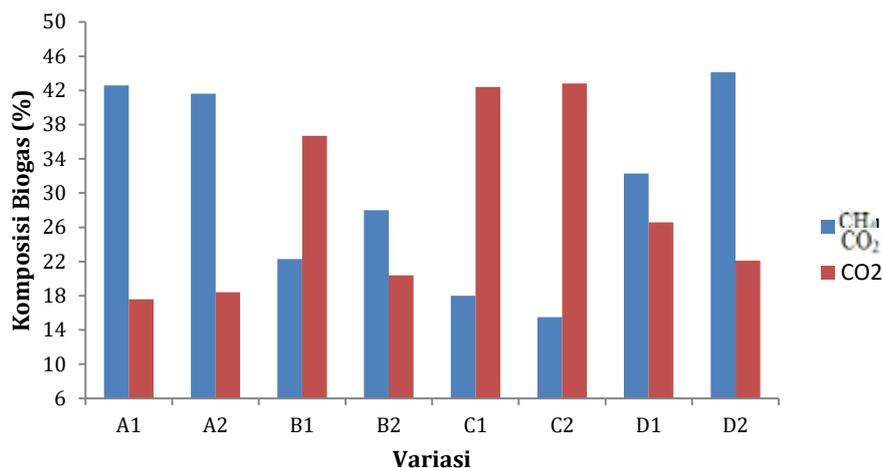
Gambar 8 merupakan hasil dari pengukuran kadar biogas dengan menggunakan alat biogas gas analyzer. Pada variasi A, B, C, dan D dengan komposisi variasi penambahan gliserol masing-masing sebesar 0, 4, 8, dan 12% terlihat bahwa semakin banyak kandungan CH₄, maka semakin sedikit kadar CO₂ yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa CH₄ berbanding terbalik dengan produksi CO₂.



Gambar 6 Lama Waktu Terbentuk Biogas



Gambar 7 Grafik Volume Biogas masing-masing Variasi



Gambar 8 Grafik Kadar Biogas masing-masing Variasi

Pada variasi D2 yang memiliki kandungan metana tertinggi dengan penambahan gliserol mentah sebesar 12%. Hal ini dikarenakan bakteri yang berada di dalam *digester* mendegradasi substrat untuk menghasilkan gas metana. Hasil COD pada variasi D2 yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa organik dalam *digester* terdekomposisi sesuai dengan reaksi yang terjadi pada masing-masing reaktor. Produk hasil dari dekomposisi senyawa organik adalah biogas dengan komposisi yang didominasi oleh senyawa CH₄. Hal ini diperkuat oleh Robra *et al* (2010) terkait dengan jumlah volume penambahan gliserol mentah dapat meningkatkan kadar gas CH₄. Sedangkan untuk kadar metana yang terendah adalah pada variasi C2, dikarenakan gas yang banyak terbentuk adalah CO₂. Terlihat pada volume biogas yang dimiliki oleh variasi C2 cukup tinggi pada 7 hari. Hal ini menunjukkan bahwa produksi biogas yang tinggi tidak dapat dijadikan tolak ukur tingginya produksi gas metana. Ini bisa jadi karena nutrisi dalam variasi ini tidak sepenuhnya diubah menjadi gas CH₄ seluruhnya tetapi menjadi CO₂. Hal ini juga disebabkan oleh ketidakseimbangan rasio C/N dalam proses perombakan.

Dalam pembentukan gas metana bakteri memecah senyawa dengan berat molekul rendah menjadi senyawa dengan berat molekul tinggi. Sebagaimana bakteri menggunakan hidrogen, CO₂ dan asam asetat untuk membentuk gas CH₄. Bakteri penghasil asam dan gas metana bekerja sama secara simbiosis. Bakteri penghasil asam akan membentuk kondisi ideal bagi bakteri penghasil metana (Viana *et al.*, 2012).

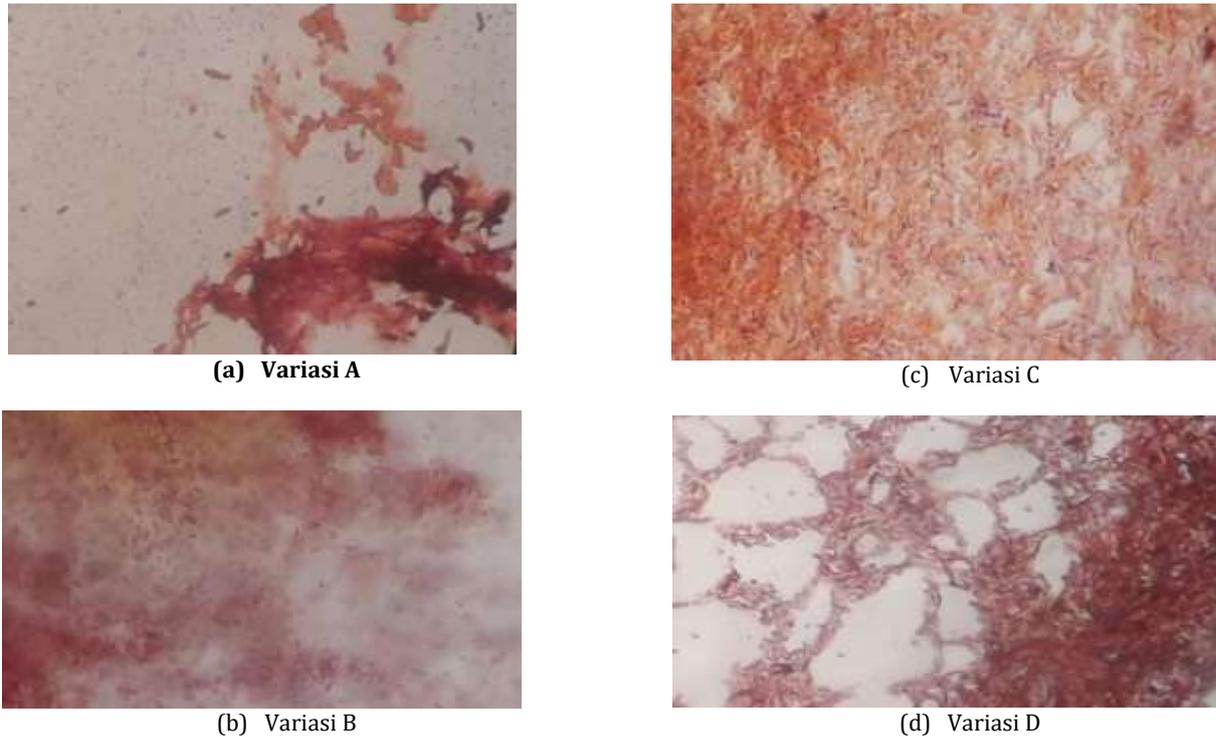
3.4. Identifikasi Bakteri

Hasil dari identifikasi yang berperan dalam produksi biogas ditunjukkan pada Gambar 9 dan Tabel 5. Identifikasi bakteri berupa pewarnaan gram dan uji

biokimia. Isolat bakteri menunjukkan bahwa bakteri bersifat Gram negatif yang ditandai dengan warna merah.

Karakteristik bakteri pada masing-masing variasi mempunyai ciri-ciri morfologis berbentuk batang, dapat tumbuh pada suhu sedang (mesofilik). Berdasarkan uji biokimia didapatkan bakteri yang berperan dalam proses pendegradasi biogas yaitu genus *Bacillus*. Menurut Hatmanti (2000), *Bacillus* mampu menghasilkan enzim protease untuk mendegradasi bahan organik di dalam limbah khususnya protein. Bakteri ini mampu tumbuh pada suhu 10 - 50 °C. Jenis *Bacillus* memiliki bentuk koloni dan ukuran yang berbeda-beda. Selain itu setiap jenis juga menunjukkan kemampuan dan ketahanan yang juga berbeda-beda dalam menghadapi kondisi lingkungannya.

Bakteri ini bergerak dengan adanya flagela, dapat bersifat aerob, anaerob atau anaerob fakultatif serta bersifat dengan katalase positif. *Bacillus* juga dapat menghasilkan gas dalam metabolismenya (Garrity & Holt, 2001). Klasifikasi bakteri ini berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition* adalah Division Bacteria, Classis Schizomycetes, Ordo Eubacteriales, Familia Bacillaceae, Genus *Bacillus*. Pada penelitian Ken *et al* (2019), tentang peranan bakteri dalam mendegradasi limbah menemukan bahwa bakteri *Bacillus* menghasilkan hidrokarbon sebagai substrat. Bakteri ini dapat mengeluarkan asam-asam organik seperti asam formiat, asetat dan laktat. Selama aktivitasnya berlangsung bakteri Genus *Bacillus* juga bisa menghasilkan gas.



Gambar 9 Pewarnaan Gram

Tabel 5 Uji Biokimia

Perlakuan	Koloni yang di proses			
	Variasi A	Variasi B	Variasi C	Variasi D
Koloni (warna, bentuk, sifat)				
TSIA	k/k	m/m	m/k	m/k
Mortilitas	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-
Sitrat	-	-	-	-
Laktosa	-	-	-	-
Glukosa	-	-	-	-
Sukrosa	-	-	-	-
MR	+	-	-	+
VP	+	+	-	+
Nitrat	+	+	-	+
Gelatin	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+
Gas	+	+	+	+

Keterangan : + mengandung perlakuan
 - tidak mengandung perlakuan

4. Kesimpulan

Lama waktu yang dibutuhkan dalam menghasilkan biogas adalah 14 hari. Penambahan gliserol mentah membuat proksi kadar gas metana menjadi tinggi. Walaupun begitu ukuran volume dalam pembentukan biogas berhasil dan bagus dapat dilihat tinggi produksi biogas yang diimbangi dengan produksi gas metana. Bakteri yang berperan dalam proses produksi biogas adalah Genus Bacillus.

DAFTAR PUSTAKA

Abercrombie, M, D., Boutaiba, S., Bhatnagar, T., Hacene, H.,

Mitchell, D. A., & Baratti, J. C. (1990). Peliczar, Michael J, dkk, 1986. "Dasar - Dasar Mikrobiologi" Universitas Indonesia;Jakarta. In *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* (Vol. 41, Issues 1-2). Erlangga.

Budyanto, M. A. K. (2011). Tipologi Pendayagunaan Kotoran Sapi Dalam Upaya Mendukung Pertanian Organik Di Desa Sumpersari Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang. *Gamma*, 7(1), 42-49.

Catur, M., & Priyanti, A. (2017). Kajian Karakteristik Digester Kotoran Sapi Berdasarkan Komposisi Air Berbasis Kinetika Gas Metana untuk Produksi Biogas. *Jurnal Ilmiah*. Studi Teknik Pertanian Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri P. <https://dx.doi.org/10.29303/jrpb.v5i1.38>

Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). Manual Laboratory Mikrobiolgi. In *Clinical application*. Buku Penerbit Kedokteran EGC.

Chou, Y., & Su, J. (2019). Biogas Production by Anaerobic Co-

- Digestion of Dairy Wastewater with the Crude Glycerol from Slaughterhouse Sludge Cake Transesterification. *Journal Animals* 9(618), 1-17. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fani9090618>
- Dasari, M. A., Kiatsimkul, P. P., Sutterlin, W. R., & Suppes, G. J. (2005). Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis A: General*, 281(1-2), 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2004.11.033>
- Diwani, G. El, Attia, N. K., & Hawash, S. I. (2009). Development and evaluation of biodiesel fuel and by-products from jatropha oil. *Int. J. Environ. Sci. Tech*, 6(2), 219-224.
- Fountoulakis, M. S., & Manios, T. (2009). Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. *Bioresource Technology*, 100(12), 3043-3047. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.016>
- Fountoulakis, M. S., Petousi, I., & Manios, T. (2010). Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. *Waste Management*, 30(10), 1849-1853. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.04.011>
- Garrity, G. M., & Holt, J. G. (2001). The Road Map to the Manual. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_15
- Hatmanti, A. (2000). Pengenalan *Bacillus Spp*. In *Oseanografi* (Vol. XXV, pp. 31-41).
- Hazimah, a H., Ooi, T. L., & Salmiah, a. (2003). Recovery of Glycerol and Diglycerol From Glycerol Pitch Recovery of Glycerol and Diglycerol From Glycerol Pitch. *Journal of Oil Palm Research*, 15(1), 1-5.
- Ken, R., Wibowo, A., Jati, N., Indah, L., & Yulianti, M. (2019). The Role of Indigenous Bacteria in Degrading Liquid Waste of Tofu Production. *Biota*, Vol 4(1), 8-15.
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. In *Waste Management* (Vol. 31, Issue 8, pp. 1737-1744). <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021>
- Kim, J. K., Oh, B. R., Chun, Y. N., & Kim, S. W. (2006). Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic digestion of food waste. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102(4), 328-332. <https://doi.org/10.1263/jbb.102.328>
- Kim, J., Park, C., Kim, T., Lee, M., Kim, S., Eung-wook Kim, S., & Lee, J. (n.d.). Effects of Various Pretreatments for Enhanced Anaerobic Digestion with Waste Activated Sludge. In *Journal of Bioscience and Bioengineering* (Vol. 95, Issue 3).
- Kolesárová, N., Hutan, M., Bodík, I., & Špalková, V. (2011). Utilization of biodiesel by-products for biogas production. In *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Vol. 2011). <https://doi.org/10.1155/2011/126798>
- Knothe, G. (2005). Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology*, 86(10), 1059-1070. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.002>
- Li, A., Chu, nan, Wang, X., Ren, L., Yu, J., Liu, X., Yan, J., Zhang, L., Wu, S., & Li, S. (2013). A pyrosequencing-based metagenomic study of methane-producing microbial community in solid-state biogas reactor. <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/6/1/3>
- Li, Y., Park, S. Y., & Zhu, J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 15, Issue 1, pp. 821-826). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.042>
- Orskov, E. R., Yongabi Anchang, K., Subedi, M., & Smith, J. (2014). Overview of holistic application of biogas for small scale farmers in Sub-Saharan Africa. *Biomass and Bioenergy*, 70, 4-16. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.02.028>
- Robra, S., Serpa da Cruz, R., de Oliveira, A. M., Neto, J. A. A., & Santos, J. V. (2010). Generation of biogas using crude glycerin from biodiesel production as a supplement to cattle slurry. *Biomass and Bioenergy*, 34(9), 1330-1335. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.04.021>
- Seadi, T. A., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., & Janssen, R. (2008). Biogas Handbook. In *Igarss 2014* (Issue 1). www.lemvigbiogas.com
- Schnürer, A., & Jarvis, Å. (2009). *Microbiological Handbook for Biogas Plants Swedish Waste Management U2009:03 Swedish Gas Centre Report 207*. www.avfallsverige.se
- Trzcinski, A. P., & Stuckey, D. C. (2010). Treatment of municipal solid waste leachate using a submerged anaerobic membrane bioreactor at mesophilic and psychrophilic temperatures: Analysis of recalcitrants in the permeate using GC-MS. *Water Research*, 44(3), 671-680. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.043>
- Valerie J, B. (2006). *Biogas : A bright Idea For Africa*. Vol 114 No 5. Environmental Health Perspectives.
- Viana, M. B., Freitas, A. V., Leitão, R. C., & Santaella, S. T. (2012). Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. *Water Science and Technology*, 66(10), 2217-2222. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.455>
- Volk. (1993). Mikrobiologi Dasar Jilid 1. In *Microbiology*. Gramedia
- Wahyuni, S. (2015). Panduan Praktis Biogas. In *Penebar Swadaya*. Jakarta: Gramedia.
- Walter Borges de Oliveira, S. V., Leoneti, A. B., Magrini Caldo, G. M., & Borges de Oliveira, M. M. (2011). Generation of bioenergy and biofertilizer on a sustainable rural property. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 2608-2618. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.02.048>
- Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., & Jones, D. L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. In *Bioresource Technology* (Vol. 99, Issue 17, pp. 7928-7940). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.044>
- Weiland, P. (2010). Biogas production: Current state and perspectives. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 85, Issue 4, pp. 849-860). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>
- Wulandari, C., & Labiba, Q. (2017). Pembuatan Biogas dari Campuran Kulit Pisang dan Kotoran Sapi menggunakan Bioreaktor Anaerobik. *Skripsi*. Universitas Negeri Islam Malang.
- Zhang, T., Liu, L., Song, Z., Ren, G., Feng, Y., Han, X., & Yang, G. (2013). Biogas Production by Co-Digestion of Goat Manure with Three Crop Residues. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066845>