

ISOLASI MIKROORGANISME ANAEROB LIMBAH CAIR TEKSTIL MENGGUNAKAN DESIKATOR SEBAGAI INKUBATOR ANAEROBIK

Dianty Rosirda Dewi Kurnia, Ira Permatasari, Yuni Rafika

Teknik Kimia-Politeknik Negeri Bandung
Jl. Terusan Gegerkalong Hilir, Ds. Ciwaruga, Kabupaten Bandung 40012
Telp./Fax. (022) 2013789/ (022) 2016403
e-mail: diantyrosirda@gmail.com

Abstrak: Isolasi Mikroorganisme Anaerob Limbah Cair Tekstil Menggunakan Desikator Sebagai Inkubator Anaerobik. Penggunaan mikroorganisme untuk mengolah limbah cair tekstil yang mengandung bahan organik tinggi sangat potensial untuk dikembangkan. Mikroorganisme anaerob dapat digunakan pada pengolahan limbah cair, yaitu untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik kompleks berantai panjang menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat menurunkan beban kerja dari pengolahan aerobik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas desikator termodifikasi sebagai inkubator anaerob dan melakukan isolasi mikroba dari unit pengolahan air limbah tekstil sehingga diperoleh konsorsium mikroorganisme (mixed culture) anaerobik. Desikator dimodifikasi dengan dialiri gas nitrogen untuk menghilangkan gas oksigen di dalam desikator. Parameter yang digunakan sebagai indikator adalah pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan uji pembentukan hidrogen sulfida. Isolat pembanding yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri aerob obligat, *Escherichia coli* sebagai bakteri anaerob fakultatif, *Desulfovibrio desulfuricans* dan *Methanobrevibacter ruminantium* sebagai anaerob obligat. Desikator termodifikasi juga digunakan sebagai inkubator untuk melakukan isolasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa desikator yang dimodifikasi mempunyai efektivitas sebagai inkubator anaerob meskipun bakteri obligat aerob dan aerob fakultatif masih dapat tumbuh karena pada media yang digunakan masih terdapat oksigen terlarut yang ditandai dengan warna pink di bagian atas media dan lilin dinyalakan di dalam desikator dapat juga digunakan sebagai indikator keberadaan oksigen. Desikator ini juga menunjukkan efektivitas untuk digunakan sebagai inkubator anaerob. Pada proses isolasi dari pengolahan limbah anaerob pabrik tekstil diperoleh 6 jenis isolat yang dapat digunakan sebagai konsorsium mikroorganisme (mixed culture) anaerobik.

Kata kunci : *Air limbah tekstil, desikator, inkubator anaerob, isolasi mikroorganisme*

PENDAHULUAN

Industri tekstil merupakan salah satu industri yang menghasilkan limbah cair yang berbeda karakteristik sesuai tahapan proses produksinya yang berbeda-beda. Secara umum, air limbah tekstil mengandung sejumlah senyawa organik baik yang mudah maupun yang sulit terdegradasi (non-biodegradable) secara biologis.

Menurut Sastrawidana (2009), air limbah tekstil mempunyai karakteristik intensitas warna berkisar 50-2500 skala Pt-Co, COD 150-12000 mg/L dan BOD 80-6000 mg/L. Kandungan bahan organik yang tinggi terkait

dengan bahan-bahan yang digunakan dalam industri tekstil seperti enzim, detergen, zat warna dan bahan-bahan tambahan lainnya. Parameter COD dan BOD yang dimiliki air limbah tekstil berada di atas baku mutu berdasarkan surat Keputusan Gubernur Jawa Barat No. 6 Tahun 1999 dimana kadar maksimum BOD adalah 85 mg/L dan COD 250 mg/L.

Pengolahan air limbah secara anaerobik menjadi pilihan karena efektif dalam menanggulangi limbah dengan kandungan COD tinggi dan juga menghasilkan biogas yang dapat digunakan sebagai sumber energi.

Selain itu, pengolahan anaerobik tidak memerlukan energi untuk aerasi dan kuantitas lumpur yang rendah serta bebas bau merupakan kelebihan lain dari sistem pengolahan secara anaerobik (Maynell, 1976 dalam Bagus, 2008).

Penggunaan mikroorganisme untuk mengolah air limbah yang banyak mengandung bahan organik tinggi sangat potensial untuk dikembangkan. Air limbah tersebut dapat dimanfaatkan secara langsung maupun tidak langsung oleh mikroorganisme sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Pengolahan menggunakan mikroorganisme dapat dilakukan baik secara aerob maupun anaerob

Pengolahan secara anaerob dilakukan menggunakan mikroorganisme tanpa melibatkan oksigen bebas sebagai oksidan (penerima elektron) dalam proses respirasinya, tetapi menggunakan senyawa anorganik lain seperti sulfat dan nitrat. Mikroorganisme anaerob sensitif terhadap oksigen, karena dapat menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian (Fardiaz, 1992).

Mikroorganisme anaerob dapat digunakan pada pengolahan air limbah, yaitu untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik kompleks berantai panjang menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat menurunkan beban kerja dari pengolahan aerobik (Frowen, 1992). Dalam hal ini terjadi stabilisasi material organik dengan cara mengkonversinya menjadi metana (CH₄) dan produk anorganik lain termasuk CO₂ (Kiely, 1998).

Salah satu cara yang biasa digunakan untuk isolasi mikroba anaerob adalah metode Hungate. Pada umumnya laboratorium mikrobiologi melakukan hal ini menggunakan Anaerobik jar. Peralatan ini kedap udara dan rendah oksigen karena ditambahkan paladium yang sangat efektif untuk mereduksi oksigen, namun harganya mahal. Humaidah (2011) menunjukkan

bahwa desikator vakum memiliki potensi sebagai inkubator anaerob. Pada inkubator ini, mikroorganisme obligat aerob dan anaerob fakultatif masih dapat hidup yang diduga karena masih terdapat oksigen pada head space pada peralatan tersebut.

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efektivitas desikator termodifikasi sebagai inkubator anaerob dan melakukan isolasi mikroba dari unit pengolahan air limbah tekstil sehingga diperoleh konsorsium mikroorganisme (mixed culture) anaerobik.

METODE

Tahap Persiapan

Sumber mikroorganisme diambil dari IPAL pabrik tekstil unit anaerob di Leuwigajah Kota Cimahi. Isolat pembanding, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri aerob obligat dan *Escherichia coli* sebagai bakteri anaerob fakultatif diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Teknik Kimia ITB, sedangkan bakteri *Desulfovibrio desulfuricans* dan *Methanobrevibacter ruminantium* sebagai bakteri anaerobik obligat diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga Surabaya.

Pengembangbiakan mikroorganisme yang bersifat strict anaerob (obligat anaerob) dilakukan menggunakan metoda Hungate. Medium yang digunakan adalah thioglikolat dengan menambahkan MgSO₄ · 7 H₂O sebagai elektron akseptor dan sodium laktat sebagai elektron donor (Humaidah, 2011)

Percobaan dilakukan untuk mengetahui efektivitas desikator termodifikasi, dimana pada desikator yang digunakan sebagai inkubator anaerob dialirkan gas nitrogen untuk menghilangkan gas oksigen yang ada di dalamnya. Desikator tersebut dilengkapi dengan silika gel sebagai bahan pengering. Bagian wadah dan tutup desikator diolesi dengan vaselin sehingga tidak

memungkinkan udara untuk masuk.

Sebagai pembanding, dilakukan teknik Hungate, dimana isolat dalam tabung reaksi dialiri gas nitrogen. Tabung reaksi tersebut kemudian disimpan diatas meja kerja Kontrol positif yang digunakan adalah isolat bakteri yang diinokulasi tanpa perlakuan.

Tahap Percobaan Desikator sebagai inkubator anaerobik dan Isolasi Mikroorganisme

Tahap percobaan desikator sebagai inkubator anaerobik dilakukan menggunakan 4 isolat yang diletakkan di dalam desikator, teknik Hungate pada tabung reaksi dan yang diletakkan di meja kerja tanpa perlakuan.

a) Desikator sebagai inkubator anaerobik
Tabung reaksi yang berisi media thioglikolat disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121oC dengan tekanan 1,5 atm. Isolat diinokulasikan ke dalam media. (Humaidah, 2011).

Tabung reaksi yang berisi biakan kemudian diletakkan ke dalam desikator yang ditutup rapat dan dialirkan gas nitrogen untuk mengeluarkan gas yang ada di dalam desikator. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 3 – 7 hari dan diamati pertumbuhannya.

Teknik pembanding yang digunakan adalah teknik Hungate. Tabung reaksi yang berisi biakan ditutup dengan sumbat karet dan dialiri gas nitrogen menggunakan syringe steril. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 3 – 7 hari dan diamati pertumbuhannya. Sebagai kontrol positif, tabung reaksi lainnya yang berisi biakan disimpan pada suhu ruang tanpa perlakuan.

b) Isolasi Mikroorganisme

Sebanyak 10 mL media thioglikolat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121oC dengan tekanan 1,5 atm. Mikroorganisme yang berasal dari IPAL diinokulasikan ke

dalam media tersebut. Biakan tersebut kemudian diletakkan ke dalam desikator yang ditutup rapat dan dialirkan gas nitrogen untuk mengeluarkan gas yang ada di dalam desikator. Biakan diletakkan di tempat gelap dan terang. Inkubasi selama 7 hari.

Tahap Analisis dan Pengembang biakan Mikroorganisme

Mikroorganisme dan isolat pembanding dianalisis dan diamati secara makroskopis, mikroskopis, dan uji pembentukan hidrogen sulfida.

a) Pengamatan makroskopis

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati pertumbuhan mikroorganisme pada media thioglikolat.

b) Pengamatan mikroskopis

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati mikroorganisme secara visual dan membandingkannya dengan literatur menggunakan mikroskop digital Olympus BX-41 pada perbesaran 10 x 40 dan 10 x 100. Perbedaan susunan dinding sel bakteri gram negatif dan gram positif diamati melalui pewarnaan gram (Fardiaz, 1992). Pengamatan dilakukan dengan mikroskop digital Olympus BX-41 pada perbesaran 10 x 40 dan 10 x 100.

c) Uji pembentukan hidrogen sulfida

Pengujian dilakukan menggunakan medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA).

Jarum inokulasi yang mengandung mikroorganisme ditusukkan ke dalam media semi padat TSIA secara aseptis, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37oC (Humaidah, 2011).

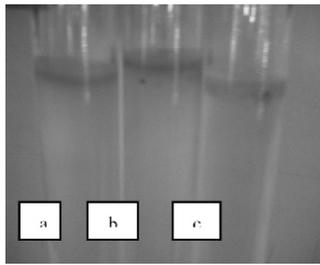
d) Pengembang biakan mikroorganisme

Pengembang biakan mikroorganisme hasil isolasi dilakukan menggunakan desikator sebagai inkubator anaerobik.

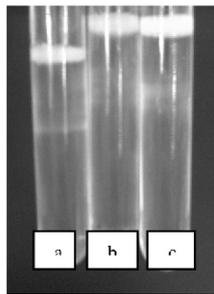
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji potensi desikator vakum sebagai inkubator anaerob telah dilakukan oleh Humaidah (2011), dimana isolat bakteri obligat an aerob yang digunakan dapat tumbuh, namun isolat bakteri obligat aerob dan fakultatif juga masih tumbuh.

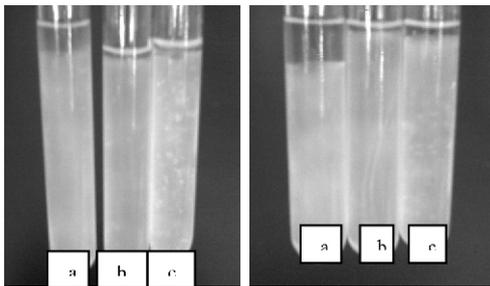
Hasil percobaan secara makroskopis dapat dilihat pada Gambar 1, 2 dan 3.



Gambar 1. Hasil uji makroskopis pada *P. aeruginosa* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)



Gambar 2. Hasil uji makroskopis pada *E. coli* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)

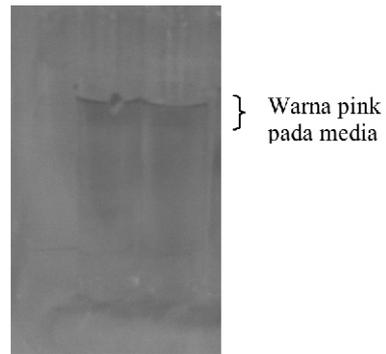


Gambar 3. Hasil uji makroskopis pada *D. desulfuricans* dan *M. ruminantium* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)

Berdasarkan Gambar 1, 2 dan 3 dapat dilihat bahwa isolat *P. aeruginosa*, *E. coli*, *D.*

desulfuricans dan *Methanobrevibacter ruminantium* pada ketiga kondisi masih dapat tumbuh.

Bakteri *P. Aeruginosa* yang ditumbuhkan pada desikator dan metoda Hungate tumbuh lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini terlihat dari bercak berwarna hijau kehitaman yang tumbuh di permukaan tabung reaksi. Pertumbuhan ini sesuai dengan sifat bakteri tersebut (obligat aerob) yang akan tumbuh di permukaan tabung reaksi. Hal ini juga sesuai dengan kondisi media thioglikolat dimana pada media ini terdapat indikator rezasurin yang akan menunjukkan warna pink bila terdapat oksigen pada media. Thioglikolat yang ditambahkan pada medium akan memperlihatkan bahwa oksigen akan berada hanya di permukaan yang berdifusi dengan udara (O'flaherty, tanpa tahun). Kondisi ini diperlihatkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Medium thioglikolat

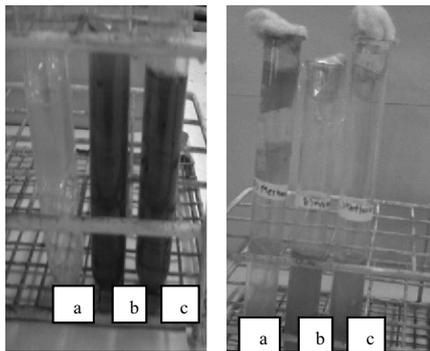
Menurut Ortega (2007), bakteri *P. Aeruginosa* dapat tumbuh pada konsentrasi oksigen 0,4%. Media thioglikolat yang mengandung agar sebanyak 0,075%, akan menghambat difusi oksigen dari permukaan media ke dasar media. Konsentrasi oksigen pada permukaan media yang lebih tinggi (ditunjukkan dengan warna pink) memungkinkan bakteri obligat aerob untuk tumbuh.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa bakteri *E. coli* tumbuh sampai pertengahan media dan pada Gambar 3, terlihat bahwa isolat yang digunakan baik *D. desulfuricans* maupun *M. ruminantium* tumbuh di dasar media

(dibawah batas warna pink).

Pada uji pembentukan gas hidrogen sulfida dapat dilihat bahwa pada bakteri obligat anaerob, baik pada *D. desulfuricans* maupun *M. Ruminantium*, media yang digunakan terangkat yang mengindikasikan bahwa telah terbentuk gas pada bakteri tersebut. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.

Pada isolat yang ditumbuhkan di dalam desikator (a) terlihat bahwa pada isolat *D. desulfuricans* maupun *M. Ruminantium* terjadi pembentukan gas yang cepat yang terjadi pada jam ke-41 yang ditandai dengan terangkatnya media dari dasar tabung reaksi. Endapan hitam pada isolat *D. Desulfuricans* juga nampak sebagai hasil reaksi gas H₂S dengan Ferrous sulfat. Pada metoda Hungate dan kontrol positif juga terlihat bintik hitam, namun pembentukan gas yang mampu mengangkat media belum terlihat.



Gambar 5. Hasil uji pembentukan gas H₂S pada *D. desulfuricans* dan *M. ruminantium* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)

Pada isolat *M. ruminantium*, media TSIA yang digunakan untuk kontrol positif dan metoda Hungate juga telah berubah warna, namun belum mampu mengangkat media ke permukaan tabung reaksi.

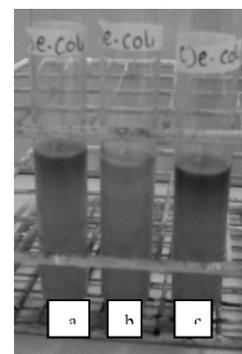
Uji pembentukan gas hidrogen sulfida pada *P. Aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil uji pembentukan gas H₂S pada *P. aeruginosa* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)

Hasil uji pembentukan gas H₂S pada isolat bakteri *P. Aeruginosa* menunjukkan adanya perubahan warna parsial, dimana sebagian media tetap berwarna merah dan sebagian sudah berubah menjadi kuning. Menurut Harley dan Prescott (2002), bakteri *P. Aeruginosa* merupakan bakteri yang hanya dapat memfermentasi glukosa, sedangkan laktosa dan sukrosa yang terkandung dalam media TSIA tidak terfermentasikan.

Hasil uji pembentukan gas H₂S pada isolat bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar 7. Hasil uji pembentukan gas H₂S pada *E. coli* (a. Pada desikator b. Kontrol positif c. Metoda Hungate)

Berdasarkan Gambar 7, terlihat bahwa isolat bakteri *E. coli* masih menunjukkan perubahan warna parsial. Perubahan warna di seluruh bagian media baru terlihat pada kontrol positif. *E. coli* merupakan bakteri yang mampu memfermentasi laktosa dan

glukosa, sehingga akan mengakibatkan penurunan pH yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning di seluruh bagian media serta menghasilkan gas yang ditandai dengan sedikit terangkatnya bagian bawah media biakan (Harkey dan rescott, 2002).

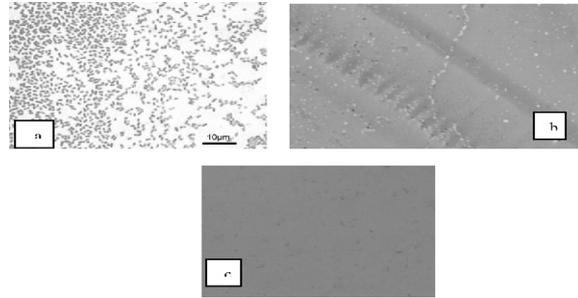
Hasil uji mikroskopis dilakukan dengan membandingkan hasil pengamatan bakteri secara visual menggunakan mikroskop Olympus BX-41 pada perbesaran 10 x 100 dan 10 x 40 dengan literatur dan melakukan pewarnaan gram.

Bentuk dan pewarnaan gram bakteri *P. Aeruginosa* serta perbandingan dengan literatur dapat dilihat pada Gambar 8, sedangkan untuk bakteri *E. Coli*, *D. Desulfu-ricans* dan *M. ruminantium* dapat dilihat pada Gambar 9, 10 dan 11. Isolat bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, dan *D. desulfuricans* merupakan bakteri gram negatif. Hal ini juga nampak pada pengujian pewarnaan gram.

Bakteri dari genus *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, dan *Methanospaera* termasuk gram positif, suhu pertumbuhan optimum antara 35-45°C, pH 5-7, mempunyai endospora dan dapat tumbuh baik dalam asetat. Balch dan Wolfe (1981) juga menyatakan bahwa *methanobrevibacter* mempunyai bentuk oval rods atau coccus (short rods), biasanya berbentuk rantai, mempunyai lebar sekitar 0.5–0.7 µm dan panjang 0.8–1.4 µm, nonspora dan termasuk gram positif. Hasil pengujian isolat bakteri *M. Ruminantium* juga menunjukkan bahwa isolat termasuk bakteri gram positif.

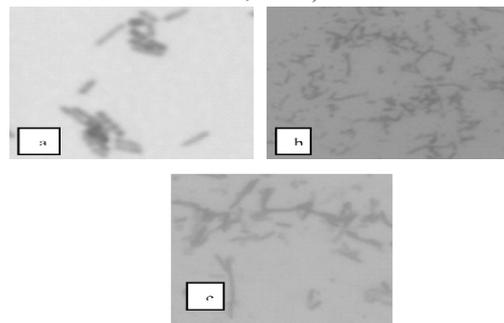
Isolasi mikroba dilakukan dengan melakukan pengenceran dari air limbah keluaran proses pengolahan anaerob di Instalasi Pengolahan Air Limbah sebuah pabrik Tekstil di Leuwigajah Cimahi. Jenis mikroorganisme anaerobik yang dapat diidentifikasi terbatas karena pada lokasi pengambilan

cuplikan, tidak tersedia saluran khusus untuk mengambil cuplikan dari granule atau selimut lumpur yang mewakili jenis mikroorganisme dalam reaktor, sehingga cuplikan hanya dapat diambil dari aliran efluen reaktor.

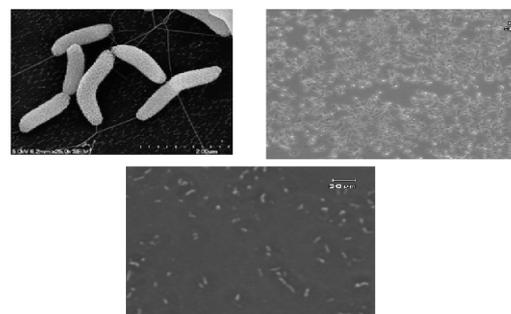


Gambar 8. Bentuk bakteri *P. Aeruginosa* (a. literatur b. Perbesaran 100 x 10 c. Pewarnaan) Sumber literatur :

Morphological Alterations of *Pseudomonas aeruginosa* by Ticarcillin: a Scanning Electron Microscope Study (Richard B. Prior and John F. Warner, 1974)

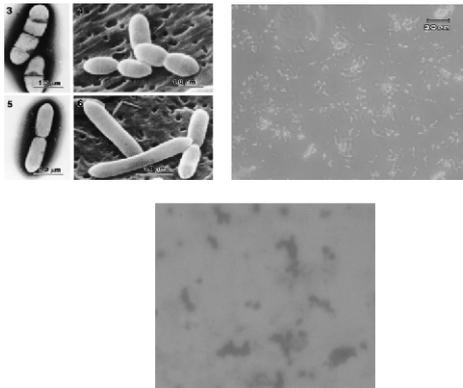


Gambar 9. Hasil pengujian pewarnaan gram pada bakteri *E-coli* (a. literatur b. Perbesaran 40 x 10 c. Perbesaran 100 x 10)



Gambar 10. Bentuk bakteri *Desulfovibrio* (a. literatur b. Perbesaran 40 x 10 c. Perbesaran 100 x 10)

Sumber literatur : www.textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/structure.html pada perbesaran 15.000x menggunakan TEM

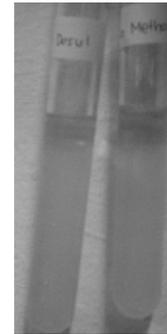


Gambar 11. Bentuk bakteri *M. ruminantium* (a. literatur (www.springer.com) b. Perbesaran 40 x 10 c. Pewarnaan gram)

Dari hasil pengamatan secara visual, mikroba yang teridentifikasi dalam reaktor anaerob adalah *Clostridium*, *Streptococcae*, *Methanobacillus*, dan *Methanococcus*. Bakteri yang teridentifikasi ini telah mewakili seluruh tahap yang ada di pengolahan anaerobik. *Clostridium* adalah bakteri yang berperan dalam proses hidrolisis yang mengurai senyawa organik kompleks, protein dan karbohidrat akan diubah menjadi asam amino dan gula, sedangkan lipid diubah menjadi fatty acid dan alkohol. *Streptococcae* adalah bakteri yang berperan dalam proses acidogenesis. *Methanobacillus* dan *methanococcus* merupakan bakteri yang berperan dalam proses methanogenesis yang menguraikan asam asetat yang telah terbentuk menjadi metana (Metcalf and Eddy, 1991).

Pada penelitian ini, dicoba alternatif untuk melakukan modifikasi terhadap desikator secara sederhana, tanpa menggunakan vakum dan gas. Dicoba untuk menggunakan nyala lilin dalam desikator sebagai indikator keberadaan oksigen. Lilin dinyalakan dan diletakkan dalam desikator yang ditutup rapat. Lilin yang padam menunjukkan habisnya oksigen di dalam desikator.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri an aerob masih dapat tumbuh dalam desikator tersebut (Gambar 12).



Gambar 12. Bakteri anaerob yang ditumbuhkan dalam desikator dengan indikator nyala lilin

SIMPULAN

1. Desikator yang dimodifikasi menggunakan gas nitrogen mempunyai efektivitas sebagai inkubator anaerob, dimana bakteri anaerob dapat tumbuh. Pada desikator ini, bakteri obligat aerob dan aerob fakultatif masih dapat tumbuh karena pada media yang digunakan masih terdapat oksigen yang terlarut yang ditandai dengan warna pink di bagian atas media. Desikator yang dimodifikasi secara sederhana menggunakan lilin sebagai indikator keberadaan oksigen juga menunjukkan efektivitas untuk digunakan sebagai inkubator anaerob.
2. Hasil isolasi mikroba dari pengolahan limbah anaerob pabrik tekstil diperoleh 6 jenis isolat sehingga diperoleh konsorsium mikroorganisme (mixed culture) anaerobik

DAFTAR RUJUKAN

- Arief, M. L. (2000). *Pengolahan Limbah Cair dengan Metode Biologis*. Jakarta: Universitas Esa Unggul.
- Bagus, I. N. (2008). *Start-Up dan Perancangan Bioreaktor Anaerobik Untuk Pengolahan Limbah Cair dengan Konsentrasi Garam Tinggi*. Bogor.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Frowen, B. (1992). *Anaerobik-Aerobic Treatment of a Dye Wastewater by Combination of RBC with Activated Sludge*.

- Gomez, R. R. (2011). *Upflow Anaerobik Sludge Blanket Reactor : Modelling*. Stockholm: Kungliga Tekniska Hogskolan.
- Group, M. E. (t.thn.). *Growth Conditions for Strictly Anaerobik Bacteria*. Dalam *Diversity of Microorganism*. Zurich: Institute of Plant Biology/Microbiology.
- Harley, & Prescott. (2002). *Laboratory Exercise in Microbiology*. McGraw Hill.
- Humaidah, S. (2011). *Potensi Desikator untuk Inkubator Anaerob*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Kiely, G. (1998). *Anaerobik Digestion and Sludge Treatment*. Dalam *Environmental Engineering* (hal. 563-573). Singapore: McGraw-Hill International.
- Metcalf, & Eddy. (1991). *Anaerobik Suspended-Growth Treatment Processes*. Dalam *Wastewater Engineering : Treatment, Disposal and Reuse*. Singapore: McGraw Hill International.
- Nugraheni, R. (2010). *Analisis Mikrobiologis Abon Ikan Tuna dan Kecap*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- O'Flaherty, V. (t.thn.). *Anaerobik Culture Techniques*. 3rd Science Practical Seminar 1.
- Permatasari, I., & Rafika, Y. (2013). *Evaluasi Kinerja Unit Pengolahan Anaerobik di Instalasi Pengolahan Air Limbah PT Garuda Mas Semesta*. Bandung: Politeknik Negeri Bandung.
- Satrawidana, I. K. (2009). *Isolasi Bakteri dari Limbah Tekstil dan Aplikasinya untuk Pengolahan Limbah Tekstil menggunakan Sistem Kombinasi Anaerob-aerob*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wolfe, R. S. (2011). *Techniques for Cultivating Methanogens*. Dalam *Methods in Enzymology volume 494*. Elsevier.