

# Pembebanan Hidrolis terhadap Produksi Gas Metana dan Bakteri Anaerobik dalam *Anaerobic Fixed Bed Reactor*

Herawati Budiastuti\*, Kharisma P. Adila, Tri S. Wibowo

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung, Bandung 40012

\*E-mail : herabudi@polban.ac.id

## ABSTRAK

Pengaruh pembebanan hidrolis terhadap kinerja *Anaerobic Fixed Bed Reactor* (AFBR) pada pengolahan air limbah sintesis menjadi obyek penelitian ini. Kinerja reaktor diobservasi berdasarkan parameter COD, pH, dan volume gas metana yang dihasilkan. AFBR dioperasikan pada pembebanan normal 530 g COD/L/hari dan HRT 40 hari setelah proses *seeding* dan aklimatisasi tercapai. Pembebanan hidrolis diaplikasikan dengan menurunkan secara drastis HRT reaktor menjadi 20 hari pada *organic loading rate* (OLR) tetap sebesar 530 g COD/L/hari. Bakteri yang berpengaruh pada proses degradasi senyawa organik dalam air limbah dicek pada saat proses *seeding* dan aklimatisasi dan pada saat pembebanan normal serta saat reaktor pada kondisi *steady state*. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa pembebanan hidrolis berpengaruh terhadap kinerja AFBR dari sisi efisiensi pengolahan, produksi gas metana, dan komposisi gas metana pada biogas yang dihasilkan. Pada pembebanan normal (OLR 530 g COD/L/hari dan HRT 40 hari), efisiensi pengolahan pada rentang 80 – 92%, produksi CH<sub>4</sub> 80 – 170 mL/hari, pada rentang pH 7 – 7,2. Komposisi CH<sub>4</sub> pada biogas sebesar 53,6%. Pada pembebanan hidrolis pada HRT 20 hari dan OLR 530 g COD/L/hari, efisiensi pengolahan turun menjadi pada rentang 78 – 90%, produksi CH<sub>4</sub> turun pada rentang 68 – 126 mL/hari, pada rentang pH 6,6 – 7,2. Komposisi CH<sub>4</sub> pada biogas sebesar 40,3%. Bakteri yang teridentifikasi pada saat *seeding* dan aklimatisasi menyerupai *Bacteroides ruminicola*. Bakteri yang teridentifikasi pada saat pembebanan normal menyerupai *Streptococcae* dan bakteri yang teridentifikasi pada saat *steady state* menyerupai *Metanaococcus*.

## Kata Kunci

Bakteri, metana, pembebanan hidrolis, pengolahan anaerobik

## 1. PENDAHULUAN

Pengolahan air limbah secara anaerobik adalah jenis pengolahan yang sangat efektif dalam mengolah kandungan organik konsentrasi tinggi ( $\geq 2.000$  mg BOD/L) dalam air limbah. Metode pengolahan ini merupakan metode yang umum diaplikasikan untuk mengolah air limbah industri seperti industri gula, pupuk, pulp dan kertas, serta industri farmasi. Industri-industri ini memproduksi air limbah dengan konsentrasi tinggi yang biasanya tidak efektif jika dioleh secara aerobik. Dalam pengolahan secara anaerobik senyawa organik dalam air limbah akan diubah menjadi gas metana dan karbon dioksida sebagai hasil akhir proses degradasi yang terjadi tanpa adanya oksigen bebas dalam sistem pengolahan.

Secara umum proses pengolahan air limbah secara anaerobik dibagi menjadi 3 (tiga) tahap, yakni proses hidrolisis, asetogenesis, dan metanogenesis [1]. Pada tahap hidrolisis senyawa organik kompleks

seperti lipid, polisakarida, protein, dan senyawa nitrat didegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti asam-asam lemak, monosakarida, dan asam-asam amino dengan melibatkan enzim selulose, amilase, protease, dan lipase. Untuk selanjutnya senyawa organik yang lebih sederhana ini didegradasi menjadi asam format, asam asetat, hidrogen, dan karbon dioksida pada tahap asetogenesis. Pada tahap ini asam-asam lemak yang mudah menguap (VFA) diproduksi pula pada tahap ini. Jenis bakteri yang terlibat adalah bakteri pemroduksi asam (*acid producing bacteria*). VFA inilah yang akan dikonversi menjadi metana oleh bakteri pemroduksi metana (*methane producing bacteria*). Jika kandungan VFA dalam reaktor terlalu tinggi maka pertumbuhan bakteri pemroduksi metana akan terganggu dan hal ini akan berakibat pada terganggunya sistem degradasi anaerobik. Pada tahap metanogenesis, bakteri metanogenik mengkonversi asam asetat, hidrogen, dan karbon dioksida menjadi metana dan karbon dioksida. Pada

tahap ini *acid producing bacteria* memberikan kondisi ideal bagi *methane producing bacteria* dengan mengkonsumsi asam-asam yang dihasilkan oleh bakteri pemroduksi asam [2], [3].

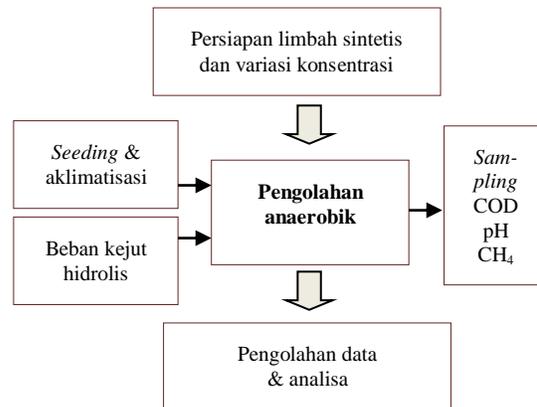
Pada instalasi pengolahan air limbah (IPAL) di industri beban kejut (*shock loads*) baik secara organik maupun hidrolis perlu mendapat perhatian seksama. Biasanya beban kejut secara organik diakibatkan oleh kenaikan konsentrasi air limbah secara tiba-tiba sedangkan beban kejut secara hidrolis diakibatkan oleh kenaikan laju alir air limbah secara tiba-tiba. Kondisi beban kejut akan mengakibatkan penurunan efisiensi pengolahan, produksi metana, dan *recovery* dari 3 (tiga) jenis bakteri di atas tidak dapat diperoleh. Dari kedua jenis beban kejut yang terjadi di IPAL, beban kejut secara hidrolis lebih sering terjadi dibandingkan beban kejut secara organik [5]. Oleh karena itu penelitian ini ditujukan untuk mengobservasi pengaruh pembebanan hidrolis terhadap efisiensi pengolahan dan produksi gas metana serta terhadap jenis bakteri yang berperan pada pengolahan air limbah. Dengan demikian hasil penelitian ini dapat diaplikasikan pada industri terkait yang mengalami pembebanan secara hidrolis.

## 2. METODOLOGI

Secara garis besar tahapan penelitian seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Tahapan awal yang merupakan *start up* reaktor yaitu tahap penumbuhan mikroorganisme (*seeding*) dan tahap adaptasi mikroorganisme terhadap konsentrasi umpan limbah sintetis (aklimatisasi). Tahap *seeding* dan aklimatisasi dihentikan pada saat efisiensi pengolahan mencapai sekitar 30% dan konsentrasi mikroorganisme mencapai rentang 28-29 g/L. Tahap pembebanan hidrolis dilaksanakan setelah tahap *seeding* dan aklimatisasi selesai. Pembebanan sebesar 2 (dua) kali pembebanan normal dilakukan sebagai beban kejut (*shock load*) setelah tahapan operasi pada pembebanan normal berhasil diperoleh.

### 2.1 Starter, Air Limbah Sintetik, dan Reaktor

*Starter* yang merupakan sumber mikroorganisme dalam proses *start up* pengolahan air limbah berupa rumen sapi yang diperoleh dari salah satu rumah potong hewan di Padalarang, Jawa Barat. *Starter* dengan rasio rumen dan air sebesar 0.5 : 10 (%b) sebanyak 2L dimasukkan ke dalam reaktor dan diberikan umpan pada konsentrasi dinaikkan secara bertahap tanpa pengeluaran efluen. Pengumpanan dengan laju alir yang dinaikkan secara bertahap dilaksanakan hingga volume aktif reaktor sebesar 4L diperoleh.



Gambar 1: Tahapan Penelitian

Air limbah sintetis dengan komposisi seperti tertera pada Tabel 1 dan 2 merupakan umpan air limbah yang merepresentasikan limbah organik dengan konsentrasi tinggi. Konsentrasi air limbah glukosa ini diatur sedemikian rupa untuk memperoleh konsentrasi yang sesuai untuk kondisi *seeding* dan aklimatisasi sebelum proses pengolahan pada pembebanan normal dan beban kejut dilaksanakan.

Tabel 1. Komposisi Umpan (2 gCOD/L)

Bahan Kimia	Komposisi
Glukosa	2 g/L
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	0,15 g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,15 g/L
NaHCO <sub>3</sub>	0,5 g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g/L
TMS A	0,1 mL/L
TMS B	0,1 mL/L

Tabel 2. Komposisi TMS

TMS	Bahan Kimia	Komposisi
A	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	5 g/L
	FeCl <sub>3</sub>	5 g/L
	CaCl <sub>2</sub>	5 g/L
B	KCl	5 g/L
	CoCl <sub>2</sub>	1 g/L
	NiCl <sub>2</sub>	1 g/L

Reaktor yang digunakan pada penelitian ini (*Anaerobic Fixed Bed Reactor*) adalah reaktor anaerobik jenis unggun diam yang berupa bahan isian bioball untuk tempat menempelnya bakteri/mikroorganisme anaerobik. Reaktor ini dilengkapi dengan tangki air penampung biogas dan sistem penangkap gas (*water displacement system*) dan volume biogas yang diperoleh dapat dibaca pada tangki penampung biogas [6].

## 2.2 Pembebanan Normal, Beban Kejut, Pengecekan Bakteri dan Komposisi Gas Metana

Pembebanan normal dilakukan pada waktu tinggal (*hydraulic retention time/HRT*) 40 hari dan laju pembebanan organik (*organic loading rate/OLR*) sebesar 530 g COD/L/hari. Pembebanan normal dihentikan pada saat diperoleh efisiensi pengolahan berkisar pada nilai konstan sekitar 80% dan nilai pH pada rentang pH normal.

Beban kejut hidrolis dilakukan sebesar 2 (dua) kali lipat pembebanan normal dengan mengatur laju alir pembebanan normal sehingga HRT menjadi 20 hari dengan konsentrasi organik (OLR) tetap pada 530 g COD/L/hari.

Pengecekan bakteri dilakukan pada saat *seeding* dan aklimatisasi dan pada saat pembebanan normal sedangkan pengecekan komposisi gas metana dilaksanakan pada saat pembebanan normal dan pada saat beban kejut. Pengecekan bakteri dilakukan secara mikroskopik dengan metode pewarnaan sederhana menggunakan *methylene blue*. Volume gas metana diperoleh dengan cara mengkonversikannya terhadap volume total biogas yang diperoleh dengan komposisi biogas yang dihasilkan dari pengukuran kroma-tografi gas. Kromatografi gas yang digunakan milik Jurusan Teknik Kimia ITB.

## 2.3 Sampling, Pengolahan data, dan Analisa

Parameter yang dicek selama penelitian adalah konsentrasi senyawa organik (*chemical oxygen demand/COD*), pH, dan volume gas metana. Parameter tambahan yang dicek selama proses *seeding* dan aklimatisasi adalah konsentrasi bakteri yang diperoleh secara gravimetri menggunakan pengukuran konsentrasi mikroorganisme yang diwakili oleh pengukuran mixed liquor volatile suspended solid (MLVSS) dalam satuan g/L [7].

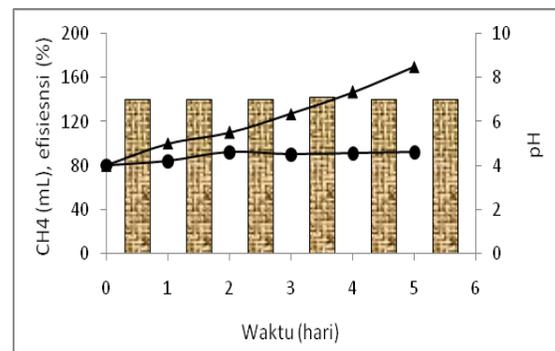
Pengolahan data dilakukan berdasarkan hasil parameter yang dicek. Analisa hasil pengolahan data dikelompokkan berdasarkan analisa pembebanan secara normal dan beban kejut. Analisa hasil pengecekan bakteri dikelompokkan berdasarkan analisa pada saat *seeding* dan aklimatisasi dan beban kejut serta dengan membandingkannya dengan pustaka hasil penelitian peneliti lain.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Pengolahan pada Pembebanan Normal

Kinerja AFBR pada saat pembebanan normal pada OLR 530 g COD/L/hari dan HRT 40 hari seperti

ditunjukkan pada Gambar 2. Parameter pH, yang digunakan sebagai salah satu indikator keberhasilan pengolahan, menunjukkan kestabilan pada rentang pH 7 – 7,2. Pada rentang pH optimum pengolahan ini [8] AFBR menunjukkan kenaikan efisiensi dari 80% menjadi 92% dan tetap bertahan pada kurun operasi 3 (hari) terakhir pada kestabilan efisiensi 92%. Produksi gas metana pada pada awal operasi sebesar 80 mL/hari menjadi 170 mL/hari pada akhir operasi. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri/mikro-organisme pendegradasi senyawa organik dalam air limbah mampu menangani pembebanan pada OLR 530 g COD/L/hari dan laju alir air limbah pada HRT 40 hari. Jeong dkk (2010) memperoleh kondisi optimum pengolahan dengan efisiensi COD sampai dengan 99% dengan mengoptimumkan mikro-organisme pendegradasi air limbah yang menempel pada reaktor jenis membran [9]. Mikroorganisme pada AFBR pada penelitian ini juga menempel pada bahan pengisi yang disebut dengan *bioball* [10].



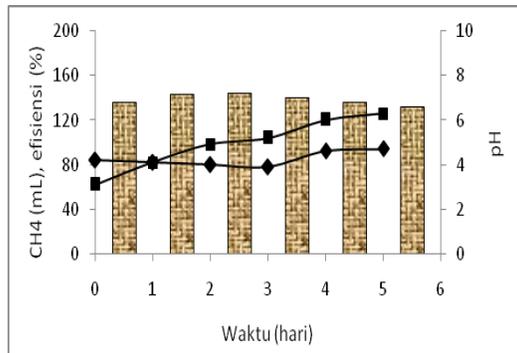
Gambar 2: Kinerja Reaktor saat Pembebanan Normal. Efisiensi (●), CH4 (▲), pH (▨)

Diduga sebagian mikroorganisme pendegradasi air limbah telah menempel pada *bioball* dalam reaktor AFBR [11]. Kinerja AFBR yang mampu menangani pengolahan pada pembebanan normal selanjutnya dilakukan pada aplikasi pengolahan pada pembebanan dua kali lipat laju alir umpan.

### 3.2 Pengolahan saat Beban Kejut

HRT pada pembebanan normal sebesar 40 hari diturunkan secara drastis menjadi 20 hari. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh beban kejut hidrolis terhadap kinerja AFBR. Penurunan HRT dilakukan dengan mengatur laju alir pengumpanan sebesar dua kali lipat laju alir pengumpanan pada pembebanan normal. Konsentrasi air limbah yang dibebankan dibuat tetap pada OLR 530 g COD /L/hari. Hal ini sengaja dilakukan agar pengaruh

pembebanan secara organik tidak terjadi dan pengamatan terhadap pengaruh pembebanan secara hidrolis dapat teramati dengan baik.

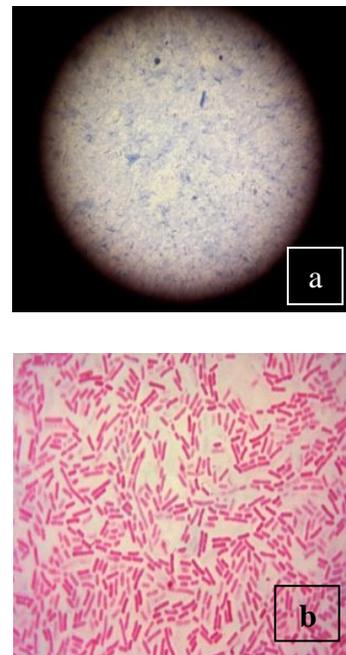


Gambar 3: Kinerja Reaktor saat Pembebanan Normal. Efisiensi (◆), CH<sub>4</sub> (■), pH (■)

Pengaruh beban kejut secara hidrolis terhadap kinerja AFBR seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan laju alir pengumpanan sebesar dua kali lipat laju alir pembebanan normal berpengaruh pada ketiga parameter yang diteliti. Efisiensi pengolahan terlihat terganggu. Pada empat hari pertama efisiensi turun dari 84% menjadi 78% dan baru pada dua hari berikutnya efisiensi pengolahan berangsur naik kembali pada kondisi yang diinginkan (sekitar 90%). Produksi gas metana juga mengalami penurunan dibandingkan produksi pada saat HRT normal (40 hari). Pada hari pertama produksi turun menjadi 62 mL/hari dan produksi tertinggi pada 126 mL/hari. Sebagai pembanding, pada saat pembebanan normal, produksi CH<sub>4</sub> pada rentang 80 – 170 mL/hari. Keasaman reaktor mulai terlihat bertambah dengan beban kejut hidrolis, yakni menjadi pH 6,6. Selama beban kejut proses pengolahan berlangsung pada pH fluktuatif pada rentang 6,6 – 7,2. Jika dibandingkan dengan penelitian lain kondisi pH fluktuatif ini masih pada rentang pH yang masih dapat ditoleransi [2]. Namun karena terlihat penurunan pH secara konsisten di empat hari terakhir operasi maka diputuskan untuk dihentikan beban kejut yang dilakukan dan pembebanan dikembalikan ke pembebanan normal pada HRT 40 hari. Budiastuti (2004) dan Park (2010) menemukan bahwa pH reaktor merupakan indikator terakhir yang dapat diandalkan untuk melihat sanggup tidaknya mikroorganisme anaerobik dalam menangani beban kejut [8, 12]. Langkah lebih dini yang harus dilakukan adalah pengecekan asam-asam lemak mudah menguap (*volatile fatty acid/VFA*) yang dihasilkan oleh konsorsium mikroorganisme pada sistem anaerobik pada saat sistem mulai terganggu [12].

### 3.3 Pengecekan Bakteri dan Komposisi Gas Metana

Seperti disebutkan pada Pendahuluan, konsorsium mikroorganisme dalam sistem pengolahan anaerobik terdiri dari 3 (tiga) macam jenis mikroorganisme dimana masing-masing jenis bakteri ini saling bekerja sama untuk melakukan proses degradasi senyawa organik yang terdapat dalam air limbah. Gambar 4 menunjukkan jenis bakteri yang terdapat dalam AFBR pada saat proses *seeding* dan aklimatisasi. Terlihat bahwa pada saat awal proses pengolahan, mikroorganisme yang mendominasi dalam reaktor adalah mikroorganisme hidrolitik yang mengkonversi senyawa organik kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana [1, 6]. Dengan banyaknya bakteri penghasil asam pada tahap hidrolisis ini berakibat pada suasana asam dalam reaktor. Pada saat proses *seeding* dan aklimatisasi, pH dalam reaktor sempat turun menjadi 5,5 dan berfluktuasi pada rentang 5,5 - 6,7.



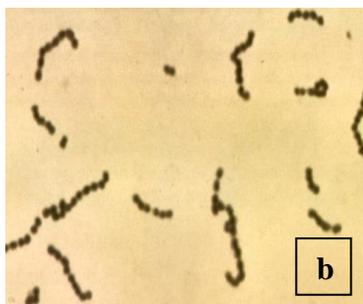
Gambar 4: Bakteri saat *Seeding* dan Aklimatisasi (a), *Bacteroides ruminicola* (b)

Setelah proses aklimatisasi berakhir maka pH beranjak naik dan bertahan pada pH normal pada rentang 6,7 – 7,2. Pengukuran MLVSS yang mewakili pengukuran konsentrasi mikroorganisme pada saat proses *seeding* dan aklimatisasi mencapai rentang konsentrasi 28 – 29 g/L. Nilai rentang MLVSS ini menunjukkan konsentrasi mikro-

organisme yang lebih dari cukup dalam sistem anaerobik [6]. Maka pada kondisi efisiensi pengolahan sekitar 30% proses *seeding* dan aklimatisasi dihentikan dan dilanjutkan dengan pengumpulan pada pembebanan normal.

Sutarsono (2010) menemukan mikroorganisme jenis *Bacteroides ruminicola* (Gambar 4b) yang merupakan bakteri pada awal proses hidrolisis. Walaupun bakteri yang teridentifikasi pada penelitian ini (Gambar 4a) kurang jelas namun dapat ditarik kesimpulan bahwa bakteri yang berbentuk basil ini serupa dengan *Bacteroides ruminicola* [13]. Hal ini dikonfirmasi dengan penurunan pH yang terjadi sampai dengan pH 5,5 dan efisiensi pengolahan hanya sekitar 30% pada saat pengecekan bakteri ini dilaksanakan.

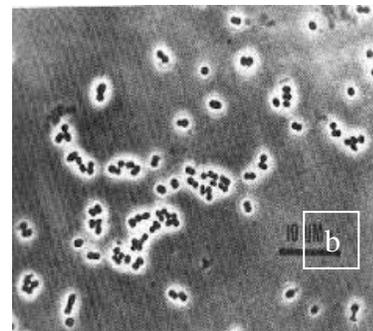
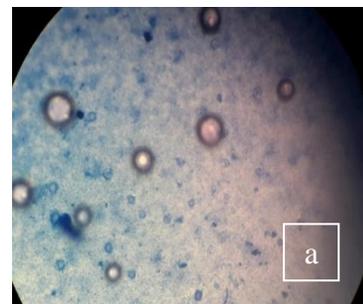
Gambar 5 (a) menunjukkan mikroorganisme yang teridentifikasi pada saat pembebanan normal (OLR 530 g COD/L/hari dan HRT 40 hari). Bentuk morfologi bakteri ini sangat menyerupai *Streptococcae* (Gambar 5b). *Streptococcae* merupakan jenis bakteri yang ditemukan pada tahap asetogenesis pada pengolahan secara anaerobik [14]. Hal ini dikonfirmasi dengan hasil pengecekan semua parameter operasi pada kondisi optimal, pada efisiensi 80 – 92%, produksi gas naik dari 80 mL/hari menjadi 170 mL/hari, dan pada rentang pH 7 – 7,2 (Gambar 2).



Gambar 5: Bakteri saat Pembebanan Normal (a), *Streptococcae* (b)

Gambar 6 (a) menunjukkan mikroorganisme yang teridentifikasi pada saat proses *steady state* pada pembebanan normal. Dikatakan kondisi *steady state* karena proses pengolahan telah berlangsung selama proses operasi selama 6 hari (Gambar 2) dan dilanjutkan dengan operasi pada pembebanan normal selama lebih kurang 2 minggu sebelum dilaksanakan operasi beban kejut hidrolis. Hal ini dilaksanakan selain untuk memperoleh kondisi *steady state* yang dapat diteliti jenis bakteri metanogenesis yang terlibat, juga ditujukan untuk memberikan kondisi operasi normal yang cukup lama agar terlihat betul pengaruh pembebanan hidrolis pada kondisi yang siap dibebani.

Pada kondisi *steady state* ini terlihat bakteri dalam reaktor AFBR serupa dengan *Metanaococus* (Gambar 6b). *Metanaococus* merupakan jenis bakteri yang ditemukan pada tahap metanogenesis [14]. Dapat disimpulkan bahwa tahapan pengolahan secara anaerobik benar-benar telah berlangsung dan pembebanan normal telah dapat ditangani dengan baik oleh konsorsium mikroorganisme dalam AFBR yang bertanggung jawab pada proses pengolahan air limbah secara anaerobik. Untuk alasan ini maka penelitian dilanjutkan dengan pembebanan hidrolis sebesar 2 (dua) kali lipat pembebanan normal.



Gambar 6: Bakteri saat *Steady State* pada Pembebanan Normal (a), *Metanaococus* (b)

Hasil pengecekan komposisi gas metana pada biogas hasil degradasi senyawa organik selama proses pembebanan normal dan pada saat beban kejut diperlihatkan pada Tabel 3. Jelas terlihat pada saat pembebanan normal kandungan gas metana mendominasi campuran gas dalam biogas yakni mencapai 53,6% dari total biogas. Sebaliknya pada saat beban kejut gas CO<sub>2</sub> yang mendominasi sistem (49,7%) dan CH<sub>4</sub> turun menjadi 40,3%.

Tabel 3. Komposisi Biogas pada saat Pembebanan Normal dan Beban Kejut

No	Gas	Komposisi Biogas (%)	
		Beban normal	Beban kejut
1	CO <sub>2</sub>	36,2409	49,6673
2	H <sub>2</sub>	0,0125	0,2443
3	N <sub>2</sub>	0,334	7,8064
4	O <sub>2</sub>	1,7924	1,9969
5	CH <sub>4</sub>	53,6201	40,2852

Nasr dkk (2012) memperoleh kondisi optimum dengan *yield* metana sebesar 0.26 L CH<sub>4</sub>/g penambahan COD pada pengolahan secara satu tahap [15]. Hal ini sesuai dengan hasil gas metana pada penelitian ini.

#### 4. KESIMPULAN

Pembebanan hidrolis berpengaruh terhadap kinerja AFBR dari sisi efisiensi pengolahan, produksi gas metana, dan komposisi gas metana pada biogas yang dihasilkan.

- 1) Pada pembebanan normal sebesar 530 g COD/L/hari dan HRT 40 hari, efisiensi pengolahan pada rentang 80 – 92%, produksi CH<sub>4</sub> 80 – 170 mL/hari, pada rentang pH 7 – 7,2. Komposisi CH<sub>4</sub> pada biogas sebesar 53,6%.
- 2) Pada pembebanan hidrolis pada HRT 20 hari dan OLR 530 g COD/L/hari, efisiensi pengolahan turun menjadi pada rentang 78 – 90%, produksi CH<sub>4</sub> turun pada rentang 68 – 126 mL/hari, pada rentang pH 6,6 – 7,2. Komposisi CH<sub>4</sub> pada biogas sebesar 40,3%.
- 3) Bakteri yang teridentifikasi pada saat *seeding* dan aklimatisasi menyerupai *Bacteroides ruminicola*.
- 4) Bakteri yang teridentifikasi pada saat pembebanan normal menyerupai *Streptococcae*

dan bakteri yang teridentifikasi pada saat *steady state* menyerupai *Metanaococcus*.

#### 5. SARAN

Perlu dilakukan pengecekan mikroorganisme yang terlibat dalam proses degradasi dengan menggunakan metode lebih canggih, yakni menggunakan SEM (*Scanning Electrone Microscopy*) agar diperoleh *photomicrograph* yang lebih jelas.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada: Politeknik Negeri Bandung dalam penyediaan dana penelitian melalui Skema Penelitian Mandiri, No. 598.5/PL1.R7/PL/2016,

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Brock and Madigan, *Biology of Microorganisms*. California: Pearson Education, 2009.
- [2] Shizas, I. and Bagley. D.M., “Improving Anaerobic Sequencing Batch Reactor Performance by Modifying Operational Parameters”. *Water Research*. vol. 36 pp. 363 – 367. 2002.
- [3] Yu, H.Q, Zheng, X.J., et al. “High-Rate Anaerobic Hydrolysis and Acetogenesis of Sewage Sludge in a Modified Up-Flow Reactor”. *Water Science and Technology*. vol 48 no. 4, pp. 69 –75. 2003.
- [4] Budiastuti, H., Pullammanappallil, P., Cord-Ruwisch, R. “Effect of Feeding Patterns towards Methane and Volatile Fatty Acids Production in Single Stage Stirred Tank Anaerobic Digesters”. *J Env. Bioenergy*. vol 3 no. 1, pp. 25–33. 2012.
- [5] Budiastuti, H., Pullammanappallil, P., Cord-Ruwisch, R. “Shock Loads and Revival Activity after Shutdown in Single Stage Stirred Tank Anaerobic Reactors Fed Continuously and Intermittently”. *Proceeding of 19<sup>th</sup> Regional Symposium on Chemical Engineering*. pp. C–14-1–6. Kuta, 7–8 November 2012.
- [6] Budiastuti, H., Widyabudiningsih, D., Kurnia, D.R.D., “Seed Sludge Source Affects Seeding and Acclimatization in Anaerobic Fixed Bed Reactors”, *Proceeding of 22<sup>nd</sup> Regional Symposium on Chemical Engineering*. pp. C–1-5. Bangkok, 24–25 September 2015.
- [7] APHA, *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. Washington DC: Government Printing Office, 2010.
- [8] Park, M.J., Job, J.H., Park, D., Lee, D.S., Park, J.M., “Comprehensive study on a two-stage anaerobic digestion process for the sequential production of hydrogen and methane from cost-effective molasses”, *International J of Hydrogen Energy*, vol. 35, no. 12, pp. 6194–6202, 2010.
- [9] Jeong, E., Kim, H.W, Nam, J.Y, Shin H.S., “Enhancement of bioenergy production and effluent

- quality by integrating optimized acidification with submerged anaerobic membrane bioreactor”, *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. S7–S12, 2010.
- [10] Armfield, “W8 Anaerobic Reactor”, 2006. Panduan Pemakaian.
- [11] Budiastuti, H., Widyabudiningsih, D., Kurnia, D.R.D., “Seed Sludge Source Affects Seeding and Acclimatization in Anaerobic Fixed Bed Reactors”, *Proceeding of 2<sup>nd</sup> International Conference on Chemical Engineering*. accepted for publication. Bandung, 26–27 Oktober 2016.
- [12] Budiastuti, H., Intensification of Single State Continuously Stirred Tank Anaerobic Digestion Process using Carriers. Ph.D Thesis. Murdoch University. 2004.
- [13] Sutarsono, Fisiologi Ternak, Bandung: Widya Pajajaran, 2010.
- [14] Adila, K.P. dan Wibowo, T.S. Jurusan Teknik Kimia, Pengaruh Proses Seeding Dan Aklimatisasi terhadap *Start Up* dan Pembentukan CH<sub>4</sub>, Tugas Akhir, Politeknik Negeri Bandung, 2015.
- [15] Nasr, N., Elbeshbishy, E., Hafez, H., Nakhla, G., Naggar, M.H.E., “Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage”, *Bioresource Technology*, vol. 111, pp. 122-126, 2012.