



## Karakterisasi Bakteri Penghasil Gas Metana pada Rumput Laut Jenis *Gracilaria* sp

Erwin F. Silalahi, Melki, Heron Surbakti

Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia

Received 10 November 2011; received in revised form 28 November 2011;  
accepted 20 December 2011

### ABSTRACT

One of the biological resources that have important economic value is seaweed. During this seaweed is only used as a source of food, medicines and cosmetics. The many types of seaweed that untapped potential as an alternative to bioenergy-producing raw materials. Increasing energy demand, caused by population growth and depletion of oil reserves as well as emissions from fuel problems put pressure on people to produce and use renewable energy is an alternative biogas from seaweeds. The purpose of this study was to determine the gas pressure and to know the characterization of bacteria methane-producing bacteria of seaweed species *Gracilaria* sp. This research is a laboratory scale research. The research was conducted in July 2010 to March 2011. The sampling was taken around the waters Kalianda, South Lampung. Making biogas process is conducted at the Laboratory of Marine Science. Characterization of bacteria is conducted at the Central Health Laboratory Palembang. Biogas manufacturing done by collecting seaweed and coastal sediments as seedsman intake that is the source of microorganisms that later would form the methane gas in the process of anaerobic fermentation of seaweed, the completion of the stater and the digester and manufacturing fields, biogas pressure observations carried out by using the manometer. Characterization of bacteria consists of three stages namely the characterization of morphology, macroscopic and physiological observations. Based on research results obtained gas pressure type of seaweed *Gracilaria* sp produced 14.88 Psi. Morphological characteristics of bacterial cells is a group of gram negative.

Key words: Bacteria, Methane, Seaweed *Gracilaria* sp.

### ABSTRAK

Salah satu sumberdaya hayati yang mempunyai nilai ekonomis penting adalah rumput laut. Selama ini rumput laut hanya dimanfaatkan sebagai sumber makanan, obat-obatan dan kosmetik. Peningkatan permintaan energi, yang disebabkan oleh pertumbuhan populasi penduduk dan menipisnya sumber cadangan minyak serta permasalahan emisi dari bahan bakar memberikan tekanan kepada masyarakat untuk memproduksi dan menggunakan energi terbarukan yaitu biogas alternatif dari rumput laut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tekanan gas serta mengetahui karakterisasi bakteri penghasil gas metan rumput laut jenis *Gracilaria* sp. Penelitian ini merupakan penelitian skala laboratorium. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Juli 2010 sampai dengan Maret 2011. Pengambilan sampel diambil di sekitar perairan Kalianda, Lampung Selatan. Proses Pembuatan biogas dilakukan di Laboratorium Dasar Ilmu Kelautan. Karakterisasi Bakteri dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Pembuatan biogas dilakukan dengan cara pengumpulan rumput laut dan pengambilan sedimen pantai sebagai penyemai

yaitu sumber mikroorganisme yang nantinya akan membentuk gas metana dalam proses fermentasi anaerob rumput laut, kemudian penyiapan digester serta pembuatan starter dan isian, pengamatan tekanan biogas dilakukan dengan menggunakan manometer. Karakterisasi bakteri terdiri dari tiga tahap yaitu karakterisasi morfologi, makroskopis dan pengamatan fisiologi. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan tekanan gas jenis rumput laut *Gracilaria* sp dihasilkan 14,88 Psi. Karakteristik morfologi sel bakteri merupakan kelompok dari gram negatif.

Kata Kunci : Bakteri, Gas Metana, Rumput laut *Gracilaria* sp.

## I. PENDAHULUAN

Pembakaran bahan bakar fosil menjadi kontributor utama terhadap pemanasan global. Bahan bakar fosil telah digunakan selama beberapa dekade dan merupakan sumber utama untuk memperoleh energi. Sebagai informasi, konsumsi energi dunia pada tahun 2001: 31 % minyak, 25 % batu bara, dan 24 % gas alam (Jean, 2004 dalam Hernandez and Kafarov, 2007 dalam Maulana et al, 2009).

Peningkatan permintaan energi, yang disebabkan oleh pertumbuhan populasi penduduk dan menipisnya sumber cadangan minyak dunia, serta permasalahan emisi dari bahan bakar fosil memberikan tekanan kepada setiap negara untuk segera memproduksi dan menggunakan energi terbarukan. Sejumlah kebijakan internasional telah dilakukan untuk mengatasi isu tersebut, seperti, Protokol Kyoto pada Konvensi Perubahan Iklim Perserikatan Bangsa-bangsa (PBB). Protokol Kyoto yang disetujui pada Desember 1997 menekankan pentingnya penggunaan energi yang dapat diperbaharui (Aizawa et al, 2007).

Salah satu dari sekian banyak jenis bioenergi adalah biogas, yang dapat dihasilkan dari berbagai macam bahan organik seperti kotoran ternak, kotoran manusia, limbah kertas dan makanan dan material seperti tanaman air, enceng gondok, alga berfilamen, dan

rumput laut. Kandungan utama dalam biogas adalah metana dan karbon dioksida. Gas metana yang nantinya dapat digunakan sebagai bahan bakar (Susanto dan Abdillah, 2008).

Biogas adalah gas mudah terbakar (*flammable*) yang dihasilkan dari proses fermentasi bahan-bahan organik oleh bakteri-bakteri anaerob (bakteri yang tidak membutuhkan oksigen untuk bertahan hidup dan berkembang biak). Pada umumnya semua jenis bahan organik bisa diproses untuk menghasilkan biogas, seperti kotoran dan urine hewan ternak yang cocok untuk sistem biogas sederhana (Erawati,2010).

Rumput laut belum banyak digunakan sebagai penghasil biogas di Indonesia. Banyaknya jenis rumput laut yang belum dimanfaatkan berpotensi sebagai bahan baku penghasil bioenergi alternatif (algafuel). Rumput laut yang melimpah dan mengganggu dari jenis *Ulva* dan *Laminaria* sudah dimanfaatkan sebagai penghasil biogas untuk campuran bahan bakar dan pembangkit listrik di Jepang (Matsui et al., 2006).

## II. METODOLOGI

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Juli 2010 sampai dengan Maret 2011. Pengambilan sampel diambil disekitar perairan Kalianda, Lampung

Selatan. Pembuatan biogas dilakukan di Laboratorium Dasar Ilmu Kelautan sedangkan karakterisasi bakteri dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang.

### Prosedur Kerja

#### Pengambilan Sampel Rumput Laut dan Sedimen Pantai

Rumput laut dikumpulkan dari perairan dengan menggunakan tangan dan dimasukkan ke dalam wadah. Rumput laut yang akan digunakan untuk bahan baku biogas pada penelitian ini usianya 4 – 7 minggu sebanyak 5 kg dan hendaknya masih segar. Untuk menjaga kesegaran rumput laut sebelum digunakan maka rumput laut diletakkan dalam wadah dan diberi air laut.

Sedimen diambil secukupnya disesuaikan dengan ukuran digester yang akan digunakan. Sedimen diambil dengan menggunakan cangkul atau sekop.

#### Penyiapan digester dan Pembuatan stater Isian

Dalam penelitian ini digester yang digunakan yaitu *continous load digester* model *displacement* karena lebih praktis dan penghasilan gas bisa terus berlangsung. Dengan menggunakan *displacement digester*, maka isian dapat dimasukkan secara terus menerus sehingga gas yang dihasilkan dapat kontinyu. Gambar alat penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alat Pembuatan Biogas

Dalam digester sering kali kondisi asam sehingga perlu ditambahkan kapur seperti  $Mg(OH)_2$  untuk menaikkan pH karena bakteri pembentuk metan nyaman pada lingkungan dengan pH netral atau pada kisaran 6-8. Pada penelitian digunakan sebanyak 500 gram kapur atau buffer lainya pada setiap pemasukan rumput laut kedalam digester.

Perlu ditambahkan pupuk sebagai nutrien untuk pertumbuhan bakteri metanogenik. Nutrien yang dibutuhkan oleh bakteri adalah C, N, P. Nutrien C diperoleh dari karbohidarat rumput laut, sedangkan untuk memenuhi nutrien N dan P perlu ditambahkan pupuk seperti NPK, pada penelitian ini digunakan 500 gram pupuk NPK. Untuk starter digunakan perbandingan volume sedimen dan rumput laut yang telah dihaluskan sebanyak 2 : 1, apabila sedimen sebanyak 10 kg, maka rumput laut yang telah dihaluskan sebanyak 5 kg dimasukkan dalam digester dan ditunggu selama 2- 4 minggu akan dihasilkan gas.

#### Pengamatan tekanan gas metan

Pengamatan tekanan gas metan dilakukan setiap hari setelah tekanan gas keluar secara manual menggunakan mistar yang diletakkan disamping digester. Pengamatan ini dilakukan

untuk melihat penambahan tekanan gas metan pada manometer manual yang nantinya akan dapat diketahui kadar tekanan gas metan.

#### **Karakterisasi bakteri**

Karakterisasi bakteri dilakukan untuk mengetahui karakteristik morfologi bakteri yang ada pada proses pembuatan biogas. Pengambilan sampel *Gracilaria* sp pada pembuatan biogas dilakukan 1 kali pada saat tekanan gas sudah mulai keluar. Karakterisasi bakteri terdiri dari tiga tahap yaitu karakterisasi morfologi, makroskopis yaitu melihat warna, bentuk, tepian serta elevasi dan pengamatan fisiologi.

#### **Pengamatan Sifat Morfologi Koloni**

Isolat bakteri di karakterisasi dengan menumbuhkan pada media dan dilakukan pengamatan meliputi bentuk, warna, tepian dan elevasi.

#### **Pengamatan Morfologi Sel**

Pewarnaan gram sangat berguna untuk membedakan mikroorganisme menjadi 2 golongan bakteri yaitu gram positif (berwarna biru atau ungu) dan gram negatif (berwarna merah).

#### **Pengamatan Fisiologis dengan Reaksi Biokimia**

##### *Uji Motilitas*

Uji motilitas digunakan untuk mengamati motilitas bakteri serta mengetahui ada tidaknya flagel pada bakteri. Uji akan bersifat positif jika bekas tusukan pada media melebar dan bersifat negatif bila bekas tusukan tidak melebar.

##### *Uji Fermentasi Karbohidrat*

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat. Reaksi

positif bila adanya perubahan warna kekuningan yang menunjukkan pembentukan asam.

##### *Uji Indol*

Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhannya bakteri dapat membentuk indol dari asam amino esensial triptofan.

##### *Uji TSIA (H<sub>2</sub>S)*

Uji TSI (H<sub>2</sub>S) dilakukan untuk melihat apakah bakteri mampu membentuk Hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), yang ditandai dengan adanya endapan berwarna hitam pada media.

##### *Uji Methil Red*

Uji Methil Red dilakukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme untuk mengoksidasi glukosa dan menstabilkan konsentrasi asam yang tinggi sebagai produk akhir. Uji positif jika media pada tabung tetap merah yang berarti memproduksi asam dan uji negatif bila media pada tabung berwarna kuning dan memproduksi basa.

##### *Uji Voges Proskauer*

Uji voges proskauer dilakukan untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhan organisme terbentuk asetilmetil karbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme karbohidrat. Jika terbentuk warna merah pada medium maka akan bernilai positif dan bernilai negatif jika warna kuning.

##### *Uji Hidrolisis Urea*

Uji citrat dilakukan untuk melihat apakah mikroorganisme mampu menggunakan citrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Reaksi positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah keunguan setelah

inkubasi, hal ini merupakan indikasi bahwa isolat bakteri mampu menggunakan urea dan mengubah pH menjadi media basa.

#### Analisis data

Untuk mengetahui tekanan biogas yang dihasilkan dari manometer akan dicari dengan menggunakan rumus tekanan seperti dibawah ini.

Rumus mencari tekanan

$$h = \frac{p_1 - p_2}{\rho \cdot g}$$

$$p_1 - p_2 = h \cdot \rho \cdot g$$

$$p_1 = h \cdot \rho \cdot g + p_2$$

Dimana :

p1 : Tekanan pada tabung 1 (psi)

p2 : Tekanan pada tabung 2 (atm)

h : Jarak ketinggian antara h1 dan h2 (cm)

g : Percepatan gravitasi 10 (m/s<sup>2</sup>)

$\rho$  (air): Berat jenis air, 1000 (kg/m<sup>3</sup>)

Untuk mengetahui peningkatan tekanan gas dalam satu percobaan digunakan analisis regresi (Steel and Torry, 1991) yaitu :

$$Y = a + bx$$

Dimana Y = tekanan gas dalam Psi X = Waktu Pengukuran (Hari)

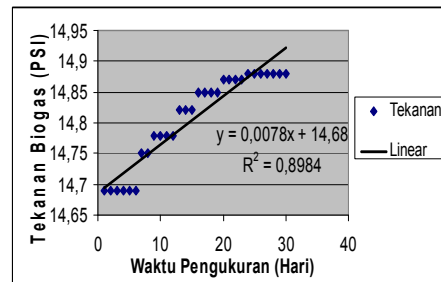
a, b = konstanta

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Perhitungan Tekanan Biogas pada Jenis *Gracilaria* sp

Pada penelitian ini gas dihasilkan pada hari ke 7 sebesar 14,75 Psi. Pada pengamatan ini tekanan

tertinggi dihasilkan pada hari ke 24 sebesar 14,88 Psi. Hal ini dapat dilihat dari alat pengukur tekanan manometer telah menunjukkan angka tertentu. Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat walaupun tekanan gas metana pada proses pembuatan biogas dari rumput laut jenis *Gracilaria* sp tidak naik setiap harinya, tetapi dengan menggunakan persamaan regresi linier ( $y = a + bx$ ) dapat diketahui setiap kenaikan 1 hari sebesar 14,687 Psi . Hal ini dikuatkan dengan R<sup>2</sup> (determinasi) sebesar 0,8984 atau hampir mendekati 1 dimana hubungan kedua variable semakin kuat. Hasil pembacaan manometer dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Tekanan Biogas *Gracilaria* sp

#### Karakterisasi bakteri Penghasil Gas Metana

##### Karakteristik morfologi koloni

Dari penelitian ini morfologi yang diamati berupa warna, bentuk, tepian dan elevasi.



Gambar 3. Isolat bakteri

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada isolat bakteri penghasil biogas dari rumput laut jenis *Gracilaria sp* diperoleh hasil yang dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Penghasil Biogas**

No.	Karakteristik	Isolat Bakteri
1.	Warna	Kuning
2.	Bentuk	Basil
3.	Tepian	Lembut
4.	Elevasi	Tinggi

#### Karakteristik Morfologi Sel

Hasil pengamatan pewarnaan gram dari penelitian sampel rumput laut jenis *Gracilaria sp* menunjukan warna yang dihasilkan berwarna merah. sehingga jenis bakteri merupakan kelompok dari gram negatif. Proses pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 4 dibawah ini.



**Gambar 4. Proses pewarnaan gram**

#### Uji Fisiologis dengan Reaksi Biokimia

Hasil dan gambar dari uji reaksi biokimia dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 5.

**Tabel 2. Hasil Uji Reaksi Biokimia**

No	Uji	Hasil
1	Motilitas	+
2	Glukosa	-
3	Laktosa	-
4	Manitol	-
5	Maltosa	-
6	Sukrosa	-
7	Indol	-
8	TSIA (H <sub>2</sub> S)	+
9	Urea	+
10	Methyl Red	-
11	Voges Proskauers	-
12	S. Citrat	+
13	Lysine Decar	-
14	Ornithine Decar	+



**Gambar 5. Uji Fisiologis dengan Reaksi Biokimia**

#### Uji Motilitas

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji motilitas ini, isolat bakteri menunjukkan sifat positif dengan menunjukkan adanya pergerakan yang ditandai oleh pelebaran pada daerah bekas tusukan dan menimbulkan busa.

#### Uji Fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, manitol, maltosa dan sukrosa)

Pada uji ini digunakan 5 jenis karbohidrat yaitu glukosa, laktosa, manitol, maltosa dan sukrosa. Hasil yang didapat menunjukkan pada medium glukosa, laktosa, manitol,

maltosa dan sukrosa isolat bakteri bersifat negatif, karena warna pada medium yang digunakan tidak terjadi perubahan warna disebabkan karena isolat bakteri berhasil memecahkan gula-gula dalam larutan.

#### Uji Indol

Dari hasil pengamatan, hasil yang didapat dari uji indol bersifat positif karena terjadi pembentukan warna merah pada permukaan medium. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat bakteri memiliki enzim *tryptophan*.

#### Uji TSIA (H<sub>2</sub>S)

Hasil pengamatan pada uji ini menunjukkan bahwa isolat bakteri bersifat positif karena mampu membentuk Hidrogen Sulfida (H<sub>2</sub>S) yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada bagian bawah medium.

#### Uji Hidrolisis Urea

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan isolat bakteri bersifat positif karena menghasilkan warna merah pada medium, hal ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut tidak memiliki enzim urease. Urease adalah enzim yang memecah nitrogen dan ikatan karbon dalam senyawa amida seperti urea dan membentuk produk akhir amonia.

#### Uji Methyl Red

Isolat yang telah diuji memperlihatkan hasil yang positif karena menghasilkan warna merah pada medium, hal ini mengindikasikan bahwa isolat bakteri menghasilkan asam dengan konsentrasi yang tinggi setelah ditetesi methyl red. Penambahan indikator pH methyl red dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam. Methyl red berwarna

merah pada lingkungan dengan pH 4,4 dan berwarna kuning pada lingkungan dengan pH 6,2.

#### Uji Voges Proskauer

Isolat yang telah diuji menunjukkan hasil yang negatif dimana pada uji ini tidak terbentuk warna merah setelah ditetesi reagen barrit A dan barrit B.

#### Uji Citrat

Pada uji citrat ini isolat bakteri menunjukkan hasil yang positif karena terjadi perubahan warna medium dari hijau menjadi biru. Hal ini menandakan isolat mampu menggunakan citrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

#### Uji Lisyne Decar

Lisyne decar merupakan proses penguraian gugus karboksil dari suatu molekul organik. Hasil pengamatan pada uji ini menunjukkan isolat bakteri bersifat negatif disebabkan tidak terjadi perubahan warna pada medium.

#### Uji Ornithine Decar

Ornithine Decar merupakan proses penguraian gugus oritin dari suatu molekul organik. Hasil pengamatan pada uji ini menunjukkan isolat bakteri bersifat positif karena media mengalami perubahan warna pada medium tumbuh.

## IV. KESIMPULAN

1. Tekanan gas untuk 5 kg *gracilaria* sp mampu menghasilkan 14,88 Psi
2. Karakteristik morfologi sel bakteri penghasil gas metan jenis bakteri merupakan kelompok bakteri gram negatif

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aizawa, M., K. Asaoka, M. Atsumi dan T. Sakou. 2007. *Seaweed Bioethanol Production in Japan - The Ocean Sunrise Project*. Assoc. of Quality Assurance, Tokyo. 5 pp.
- Aslan, L. M. 1998. *Rumput Laut*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. 97 hlm.
- Buchanan dan Gibbons, 1975 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8<sup>th</sup> Edition*. Lippincott Williams n Wilkinns, 799 hlm
- Dadang, S. 2005. *Monera*. Diakses 14 Mei 2010 8:25 PM <http://elcom.umy.ac.id/elschool/muallimin.muhammadiyah/file.php/1/materi/Biologi/MONERA.pdf>
- Daryanto. 2007. *Energi: Masalah dan Pemanfaatannya Bagi Kehidupan Manusia*. Pustaka Widyatama, Yogyakarta, 200 hlm.
- Da Silva, E. J. 1979. *Biogas Generation: Development, Problems, and Tasks-an Overview*. [www.unu.edu](http://www.unu.edu) (14 Mei 2010).
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi, Djembatan*, Jakarta. 214 hlm
- Erawati.2010. *Biogas Sebagai Alternatif Energi Yang Efektif* . Diakses, 14 Mei 2010 8:25 PM <http://wartawarga.gunadarma.ac.id/2010/01/biogas-sebagai-alternatif-energi-yang-efektif/>
- Fitria.B. 2009. *Pewarnaan Gram (Gram Positif dan Gram Negatif)*. Diakses 02 Juni 2010 83:30 PM <http://skripsi.umm.ac.id/files/disk1/175/jiptummpp-gdl-s1-2007-syamsuddin-8742-PENDAHULU-N.pdf>
- Hambali, E. S. Mujdalifah, A. H. Tambunan, A. W. Pattiwiri, dan R. Hendroko. 2007. *Teknologi Bioenergi*. PT Agromedia Pustaka, Jakarta, 110 hlm.
- Hansen, R.W.2003. *Methane Generation From Livestock Wastes*. Colorado State University Cooperative extension, 5 (2).
- Hernandez, L. dan V. Kafarov. 2007. *Process integration of bioethanol from sugar cane and hydrogen production*. *Journal of Applied Science*, 7 (15): pp. 2015-2019.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. P.T. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Kwartiningsih, E dan Jumari, A. 2007. *Pemurnian Biogas dari Kandungan H<sub>2</sub>S dengan menggunakan Larutan Absorben Fe-EDTA*. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*.
- 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) : pp 328-332.
- Matsui, T; Amano, T; Koike,; Saiganji, A dan Saito, H.2006. *Methane Fermentation of Seaweed Biomass*. *Technology Research Institute, Tokyo Gas Co., Ltd., 1-7-7, Suehiro-cho, Tsurumi-ku,yokohama, 230-0045, Japan*.
- Price, E.C dan Cheresmisnaff, P.N.1981. *Biogas Production and Utilization*. Ann Arbor Science Publishers Inc, 160 hlm.
- Sidharta, B. R, 2000. *Pengantar Mikrobiologi Kelautan*. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Simamora, Salundik, Wahyuni, & Surajudin, 2005. *Membuat Biogas Pengganti Bahan Bakar Minyak dan Gas*. Bogor
- Standar Nasional Indonesia, 2006. *Cara Uji Mikrobiologi bagian 4 : Penentuan Vibrio pada Produk*



- Perikanan . Badan Standarisasi Nasional.
- Suptijah, P. 2002. *Makalah Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Program Pasca Sarjana/S3 Institut Pertanian Bogor*.
- Susanto, A. B, Pramesti R dan Wijaya, A.2009. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut Di Indonesia*. Semarang : Indonesia.
- Susanto, A. B dan Y. R. Abdillah. 2009. *Rumput Laut dan Biogas Sebagai Alternatif Bahan Bakar*. Navila Idea, Yogyakarta, 80 hlm
- Utami dan Jaya, 2009. *Bakteri, Definisi, klasifikasi, Struktur, Bentuk, Reproduksi*. Diakses 14 Mei 2010 8:25 PM di <http://idonkelor.blogspot.com/2009/03/bakteri-definisi-klasifikasi-struktur.html>
- Widodo, Ana,Asari & Elita, 2008. *Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian Untuk Energi Biogas*. Diakses 14 Mei 2010 8:30 PM di [http://mekanisasi.litbang.deptan.go.id/eng/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=22&Itemid=63](http://mekanisasi.litbang.deptan.go.id/eng/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=22&Itemid=63)