



Fermentasi Anaerobik Biogas Dua Tahap Dengan Aklimatisasi dan Pengkondisian pH Fermentasi

Purwinda Iriani*, Yanti Suprianti, Fitria Yulistiani

Jurusan Teknik Konversi Energi, Politeknik Negeri Bandung, Jl. Gegerkalong Hilir, Desa Ciwaruga, Parongpong, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat 40012, Indonesia

*E-mail: purwinda.iriანი@polban.ac.id

ABSTRAK

Produksi biogas pada skala rumah tangga umumnya menggunakan teknologi fermentasi anaerobik di dalam satu biodigester (satu tahap), yang mengakomodasi dua tahap utama prinsip pembentukan biogas, yakni tahap asetogenesis dan tahap metanogenesis. Permasalahan yang muncul dari penggunaan digester biogas satu tahap adalah ketidakseimbangan proses fermentasi (peningkatan laju beban organik, waktu retensi senyawa organik yang lebih cepat, dan produktivitas biogas yang menjadi tidak maksimal). Untuk mengatasi hal tersebut, dilakukan penelitian yang bertujuan melakukan produksi biogas melalui sistem fermentasi anaerobik dua-tahap (*two-stage anaerobic digestion*), yang didukung dengan pengaturan pH pada proses metanogenik. Pada penelitian ini telah dilakukan proses aklimatisasi (aktivasi) bakteri yang menunjang proses asetogenik dan metanogenik pada skala laboratorium (19 L), dan selanjutnya menjadi inokulum untuk proses fermentasi skala pilot dengan kapasitas biodigester asetogenik 125 L dan metanogenik 500 L. Hasil proses aklimatisasi bakteri asetogenik pada media kotoran sapi menunjukkan adanya kestabilan pH yang dibutuhkan untuk reaksi asetogenik, yaitu pada kisaran pH 5-6, sedangkan kontrol menunjukkan perubahan pH yang masih ada di rentang pH netral yaitu 6-7. Kotoran sapi yang telah melalui proses asetogenik selama 2 minggu (pH awal 5,5), menjadi bahan baku pembuatan biogas pada digester metanogenik. Hasil dari proses metanogenik menunjukkan terjadinya peningkatan volume biogas dan komposisi gas metana (CH₄) di dalam biogas. Komposisi CH₄ tertinggi diperoleh pada hari ke-20 yakni 74,82% dengan volume produksi biogas tertinggi ada pada hari ke-22, dengan laju 8,87 L/hari. Potensi energi tertinggi yang diperoleh mencapai 217,66 kJ/hari.

Kata kunci: biogas, digester, fermentasi dua tahap, metana

ABSTRACT

Generally, biogas production on the household scale is using one-stage anaerobic fermentation technology, which accommodates two main processes of biogas production, namely acetogenesis and methanogenesis. An obstacle of using one-stage biogas digester is the imbalance of the fermentation process that indicated by the increase of organic load rate and shorter retention time that lead to un-optimal biogas productivity. This research undertook the application of two-stage anaerobic digestion, supported by adjusting the initial pH for both acetogenic and methanogenic processes. Firstly, the research initiated by acclimatization (activation) process of acetogenic and methanogenic bacteria via fermentation in laboratory scale (19 L) digesters, separately. The results of acetogenic bacteria acclimatization process on cow dung media showed the pH stability needed for the reaction acetogenic, in the range of 5-6, while the control showed the pH changes still in the neutral pH range (6-7). The substrate from lab-scale acetogenic and methanogenic digester, then used as a starter for pilot-scale digester (125 L and 500 L, respectively). The mixture of water and cow dung were adjusted at initial pH 5.5 on acetogenic digester for 2 weeks. Those material were used for biogas production in the methanogenic digester. The result of the methanogenic process showed an increasing volume of biogas and the composition of methane (CH₄) in the biogas. The highest CH₄ composition was obtained on the 20th day, which reached 74.82%, and the highest volume of biogas production was at day 22, with the rate of 8.87 L/day. The highest energy potential obtained was 217.66 kJ/day.

Keywords: biogas, digester, methane, two-stage fermentation

1. PENDAHULUAN

Produksi biogas dari kotoran sapi pada umumnya dilakukan dengan menggunakan teknik fermentasi anaerob satu tahap (di dalam satu digester). Bakteri pendegradasi senyawa organik kompleks yang membutuhkan suasana lingkungan lebih asam, berada pada satu digester dengan bakteri penghasil metana yang membutuhkan suasana pH lebih netral. Hal tersebut menyebabkan proses pendegradasian senyawa organik kompleks menjadi senyawa organik sederhana, atau yang disebut sebagai tahap asetogenesis, menjadi tidak optimal, karena pH proses asetogenesis terganggu. Demikian juga, pada proses perubahan senyawa organik sederhana menjadi biogas, -atau yang disebut sebagai tahap metanogenesis-, turut mengalami kondisi serupa. Untuk dapat mengatasi hal tersebut, penerapan produksi biogas melalui sistem fermentasi anaerobik dua-tahap (*two-stage anaerobic digestion*) mulai dikembangkan dalam bentuk pengkajian/penelitian.

Terdapat beberapa penelitian mengenai digester biogas dua-tahap yang telah dilakukan. Patil, dkk. [1] melakukan kajian mengenai produksi metana dari *anaerobic digestion* dua tahap dengan menggunakan dadih keju pada skala laboratorium. Proses yang dikaji menunjukkan adanya penurunan waktu retensi hidrolis dan produksi metana yang dihasilkan dari biogas sekitar 50-70%. Nizami, dkk. [2] melakukan produksi biogas dari rumput pakan ternak dengan sistem fermentasi anaerobik dua tahap secara kontinu dan menghasilkan gas metana hingga 71%. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan sistem fermentasi anaerobik satu tahap secara kontinu yang menghasilkan 52% gas metana. Penelitian lainnya [3] menunjukkan produksi gas metana tertinggi hingga 70,7% pada fermentasi biogas limbah makanan sistem dua tahap dengan pengkondisian digester asetogenik pada suhu mesofilik dan digester metanogenik pada suhu termofilik.

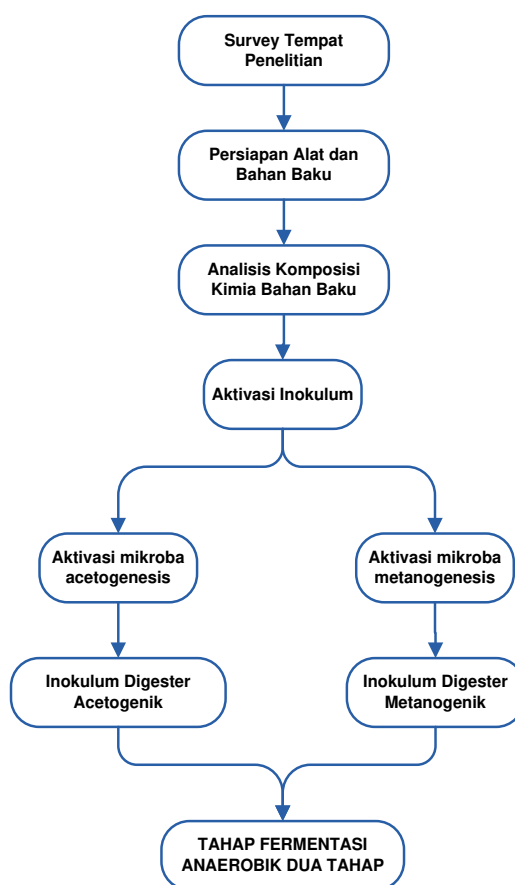
Sistem biogas dua tahap dari penelitian-penelitian tersebut masih terkendala pada skala fermentasi biogas (skala laboratorium), jenis limbah yang digunakan (limbah rumah tangga, limbah pertanian, dan limbah industri), dan konfigurasi sistem (satu digester asetogenesis untuk satu digester metanogenesis). Apabila dihubungkan dengan masalah yang teridentifikasi di lapangan (ketersediaan kotoran sapi yang melimpah dari beberapa sumber tempat ternak dan keterbatasan kapasitas dan sistem fermentasi satu tahap), hal tersebut menyebabkan laju beban organik yang tinggi, sehingga waktu retensi senyawa organik dipaksa menjadi lebih cepat karena keterbatasan kapasitas. Hal tersebut turut menyebabkan produktivitas biogas menjadi tidak maksimal.

Dari masalah tersebut, diperlukan penelitian mengenai penerapan produksi biogas dari kotoran sapi menggunakan fermentasi anaerobik dua tahap, dengan melakukan pengendalian pH pada proses metanogenik. Asumsi beban organik yang dihasilkan dari beberapa sumber asal kotoran sapi, akan direpresentasikan melalui dua digester asetogenik yang bekerja secara bergantian dalam memberikan input/umpan ke dalam digester metanogenik. Melalui metode tersebut, hipotesis penelitian mengenai sistem fermentasi anaerobik dua tahap dengan menggunakan pengendalian pH, akan berkorelasi positif terhadap efektivitas pendegradasian senyawa organik, total waktu retensi yang lebih singkat, dan produktivitas biogas yang lebih tinggi.

2. METODE PENELITIAN

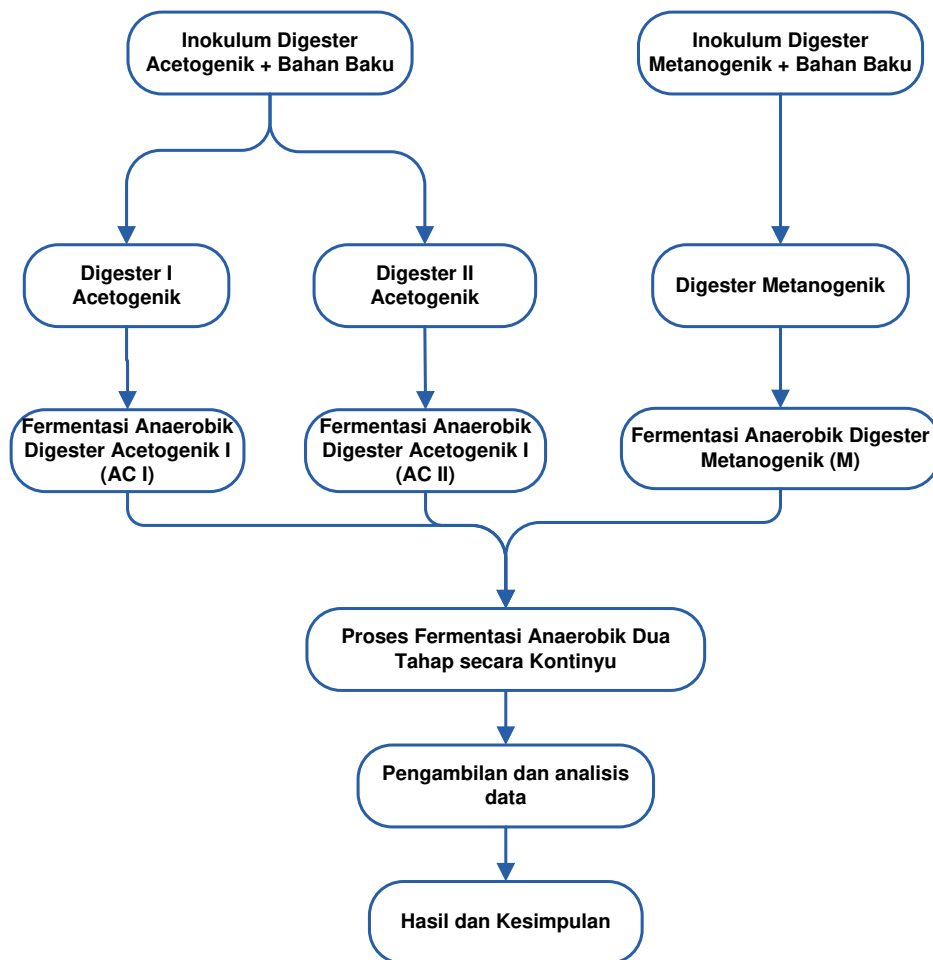
Metode yang digunakan pada penelitian ini melalui beberapa tahap percobaan, antara lain:

1. Preparasi Alat dan Bahan. Hal ini meliputi desain dan pembuatan biodigester dua tahap yang terdiri dari 2 unit digester asetogenik 125 L dan 1 unit digester metanogenik 500 L. Digester dilengkapi dengan alat pengaduk dan penampung gas hasil fermentasi. Survey lokasi dan ketersediaan bahan baku yang kontinyu turut dilakukan pada tahap ini. Analisis komposisi kimia dilakukan pada bahan baku yang akan digunakan, dengan memeriksa kandungan Karbon, Nitrogen, pH, dan air di Laboratorium B3 Teknik Lingkungan ITB.
2. Aktivasi Inokulum. Proses aktivasi inokulum untuk masing-masing tahap asetogenik dan metanogenik, dilakukan pada skala laboratorium. Asplund [4] menyebutkan penggunaan inokulum sebesar 10% dari total volume reaktor yang digunakan. Aktivasi pertama dilakukan dengan menggunakan bahan baku kotoran sapi segar yang dikondisikan pada suasana lingkungan pendukungnya. Hasil dari aktivasi pertama akan dijadikan inokulum bagi proses aktivasi tahap kedua yang berkapasitas 10x dari volume. Hasil fermentasi dari aktivasi tahap kedua akan menjadi inokulum bagi tahap fermentasi berskala pilot. Bagan alir pengerjaan dari mulai persiapan alat dan bahan serta aktivasi inokulum dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram tahap penyediaan bahan baku dan aktivasi inokulum

3. Fermentasi Anaerobik dalam Digester Asetogenik. Bahan baku yang digunakan pada tahap ini adalah kotoran sapi segar yang akan dicampur dengan air (perbandingan 1:1) dan kemudian dimasukkan ke dalam digester asetogenik berkapasitas 125 L. Jumlah bahan baku yang dimasukkan sebanyak 80% dari kapasitas digester yang sudah mengandung 10% inokulum (*starter*) dari hasil aktivasi. Fermentasi dilakukan dengan mengkondisikan suasana pH substrat bakteri asetogenik, yaitu pH 5, menggunakan temperatur ambien, dan dilakukan secara kontinyu dengan masa tinggal hidrolis 4-5 hari. Tahapan penyiapan fermentasi anaerobik dua tahap dapat dilihat pada Gambar 2. Digester yang akan digunakan sebanyak 2 unit, yakni digester asetogenik 1 (AC 1) dan digester asetogenik 2 (AC 2). Keduanya dibedakan melalui waktu *start* pemasukan (*input*) bahan baku dan pengeluaran (*output*). Waktu fermentasi asetogenik pada AC 1 dilakukan lebih dahulu dan *output* berupa umpan bagi digester metanogenik (M) dimasukkan setelah 4-5 hari fermentasi. Waktu *start* pemasukan bahan baku ke dalam AC 2 adalah setelah 3 hari fermentasi pada AC 1 berlangsung. *Output* dari AC 1 dan AC 2 akan bergantian mengisi digester metanogenik (M) hingga digester tersebut penuh terisi. Proses pengeluaran substrat dari masing-masing digester akan dilanjutkan dengan pengisian kembali secara kontinyu.



Gambar 2. Tahap fermentasi anaerobik dua tahap secara kontinyu

4. *Anaerobic Digestion* Tahap Metanogenik. Pada tahap ini, digester metanogenik (DMT) yang akan digunakan bervolume 500 L. Volume substrat yang efektif untuk difermentasi adalah 80% dari kapasitas maksimum, yaitu 400 L. Tahap pertama fermentasi metanogenik dilakukan dengan memasukkan kotoran sapi segar dan air dengan perbandingan 1:1, serta menambahkan inokulum (*starter*). Total bahan yang dimasukkan adalah 20% dari 400 L. Tahap fermentasi anaerobik dua tahap dimulai dengan memasukkan 80 L umpan yang merupakan *output* dari digester asetogenik 1 (AC 1). Setelah 3 hari waktu pemasukan dari AC 1, proses pemasukan umpan dilanjutkan dari *output* digester asetogenik 2 (AC 2) sebanyak 80 L. Pemasukan umpan dari AC 1 dan AC 2 dilakukan bergantian hingga volume bahan di dalam DMT mencapai 400 L. Selama proses fermentasi, pH substrat dikendalikan agar tetap netral (pH 7) dengan cara menambahkan *buffer* Na₂CO₃. Substrat hasil fermentasi anaerobik dua tahap yang telah dilakukan pada kapasitas DMT maksimum, untuk selanjutnya dikeluarkan sebanyak 80% dari 400 L. Substrat yang tersisa di dalam DMT akan menjadi *starter* pada pola pengisian yang sama seperti sebelumnya.
5. Pengambilan dan analisis data. Parameter yang diukur meliputi temperatur sekitar digester, pH, COD, volume biogas, dan komposisi gas yang terkandung. Data yang diperoleh dari setiap digester kemudian dianalisis menggunakan *gas chromatography*. Gas yang akan dideteksi oleh alat tersebut adalah CH₄, CO₂, H₂, dan N₂.
6. Hasil dan Kesimpulan. Pengumpulan dan analisis data yang telah selesai dilakukan akan menghasilkan suatu kesimpulan yang selanjutnya akan menjawab hipotesis yang sebelumnya telah dibuat peneliti.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan yang dipakai untuk pembuatan biogas ini adalah kotoran sapi yang diperoleh dari peternakan sapi Desa Cisarani – Lembang. Karakteristik kimiawi kotoran sapi untuk masing-masing skala percobaan dapat dilihat pada Tabel 1.

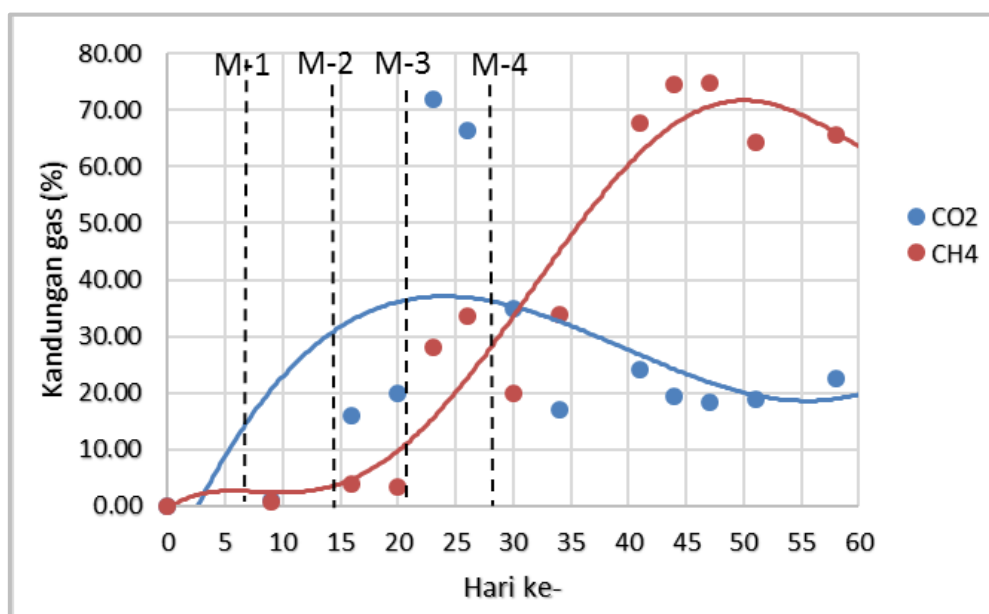
Tabel 1. Karakteristik kimiawi kotoran sapi

Parameter	Satuan	Skala lab	Skala Pilot	
			Tanpa air	Penambahan air
C-Organik	%	59,17	49,71	53,49
NTK	%	1,83	1,79	1,62
Kadar Air	%	86,19	86,15	92,43
Berat Jenis	gr/cm ³	1,16	1,26	1,04
pH	-	5,54	7,96	5,87

Nilai rasio C/N dari kotoran sapi yang digunakan selama penelitian ada pada kisaran 27:1 hingga 33:1. Nilai tersebut masuk ke dalam rasio C/N yang optimum untuk proses fermentasi anaerob, yakni 25-35 [5]. Profil pH kotoran sapi cenderung netral menuju basa (7,96) dan menjadi sedikit asam ketika ditambahkan campuran air. Proses aklimatisasi bakteri yang mendukung proses asetogenik melalui proses isolasi dan perbanyakan kultur murni *Acetobacter acetii*, dilakukan dengan pembiakan kultur cair bakteri *Acetobacter acetii* selama 2x24 jam. Kemudian, hasil pembiakan dimasukkan ke dalam bahan baku

kotoran sapi yang akan difermentasi dalam digester asetogenik berukuran 19 L. Proses tersebut menjadi tahap aktivasi bakteri asetogenik. Aktivasi bakteri metanogenik dilakukan pada digester dengan ukuran yang sama. Kotoran sapi yang difermentasikan pada kedua digester berkapasitas 19 L tersebut, akan menjadi *starter* bagi fermentasi pada tahap selanjutnya, yaitu fermentasi dalam 2 buah digester asetogenik berkapasitas 125 L, dan digester metanogenik berkapasitas 500 L.

Gambar 3 menunjukkan profil komposisi gas CO₂ dan CH₄ yang diproduksi selama proses fermentasi berlangsung pada digester metanogenik. Pada periode fermentasi metanogenik dengan menggunakan hasil fermentasi digester AC 1 pengisian ke-1 diberi notasi M1, diikuti dengan campuran dari digester AC 2 pengisian ke-1 pada minggu berikutnya (M2), kemudian hal serupa untuk masukan dari digester AC 1 pengisian ke-2 (M3) dan digester AC 2 pengisian ke-2 (M4), menunjukkan bahwa dominasi gas yang diproduksi adalah CO₂ (tertinggi 66,5% di hari ke-26). Namun setelah hari ke-28, terjadi penurunan produksi gas Karbon dioksida (CO₂) yang disertai dengan kenaikan produksi gas Metana (CH₄).



Gambar 3. Profil konsentrasi biogas pada digester metanogenik sesuai tahapan pengisian (M-1 = 25%, M-2 = 50%, M-3 = 75%, M-4 = 100% kapasitas).

Proses fermentasi biogas pada digester metanogenik yang telah terisi penuh, menunjukkan produksi biogas dengan kualitas yang meningkat (Gambar 3). Dalam kurun waktu 14 hari setelah pengisian penuh bahan baku digester metanogenik, komposisi gas metana mampu mencapai 67,63% di hari ke-41 dan tertinggi ada pada hari ke-47, yakni hingga 74,82%. Sementara, konsentrasi gas metana hasil penelitian Ni'mah [6] menyebutkan bahwa konsentrasi tertinggi yang diperoleh dari fermentasi satu tahap biogas dengan menggunakan kotoran sapi hanya mencapai 59% pada hari ke-14, dan setelah itu turun menjadi 52% setelah 21 hari fermentasi.

Peningkatan kandungan metana tersebut, diiringi dengan volume biogas yang terbentuk. Volume gas dan komposisi metana dapat direpresentasikan menjadi potensi energi yang dihasilkan selama proses fermentasi metanogenik (Gambar 5). Pada komposisi CH₄ tertinggi (hari ke-47), volume gas yang dihasilkan berjumlah 26,6 L, sehingga potensi energi yang dihasilkan mencapai 65,3 MJ. Proses pembentukan gas metana berjalan optimum pada rentang pH 7 s.d. 8 [7]. Sesuai dengan teori tersebut, komposisi gas metana tertinggi dalam biogas terjadi pada rentang pH 7,48 s.d. 7,86 (Tabel 2). pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses pembentukan gas metana. Pada lingkungan yang memiliki kondisi pH asam (< 7) atau sangat basa (> 8) dapat terbentuk ion NH₄⁺ atau amonia bebas (NH₃) yang bersifat racun bagi bakteri pembentuk metana (*methane-forming bacteria*), dan menjadi inhibitor pembentukan gas metana [8]. Hal tersebut menyebabkan komposisi gas metana yang terbentuk tidak optimum. Terlihat pada Tabel 2, pada pH < 7 komposisi gas metana yang terbentuk < 35%.

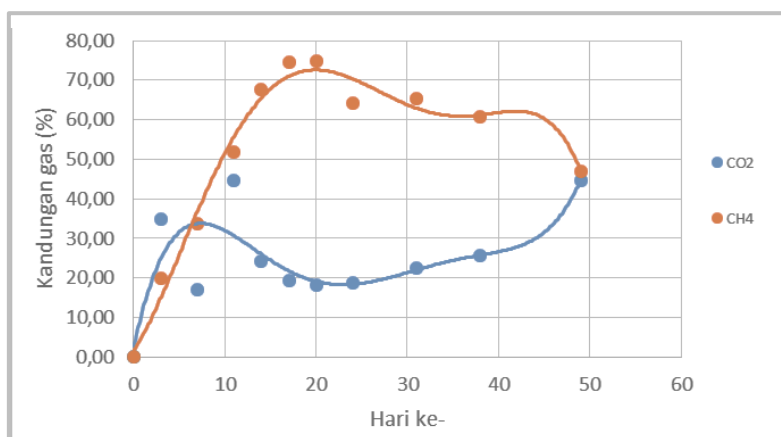
Tabel 2. Keterkaitan antara pH dengan komposisi CH₄

Hari ke-	Komposisi CH ₄	pH
0	0	8,1
9	0,66	7,00
23	28,14	6,82
26	33,66	6,22
30	19,93	6,76
34	33,80	6,74
41	67,63	7,48
44	74,59	7,80
47	74,82	7,86
51	64,33	7,86
58	65,48	7,73
65	60,66	7,72

Pada kapasitas digester metanogenik telah terisi penuh (100%), diperoleh kandungan biogas seperti pada Gambar 3 (hanya ditampilkan komposisi gas yang dominan). Pembentukan gas CO₂ di minggu ke-2 sempat mengalami kenaikan hingga 44,74% (hari ke-11). Setelah hari ke-11, konsentrasi gas CO₂ mengalami penurunan dimana kisaran konsentrasi CO₂ selama 30 hari fermentasi adalah 18,88 – 24,19%. Pada penelitian Kavuma [9], fermentasi kotoran sapi di dalam digester 5 L menunjukkan kenaikan gas CO₂ hingga hari ke-10 yakni 25,8% dan setelah itu produksi CO₂ berfluktuasi pada rentang 17,3 hingga 27,4%.

Berdasarkan penelitian Kavuma [9], gas metana yang diperoleh tertinggi hanya mencapai 45,3% di hari ke-18 dan setelah itu mengalami penurunan. Sementara hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan yang signifikan, yaitu dari 33,8% di hari ke-7 setelah pengisian penuh (hari ke-41 fermentasi metanogenik), meningkat menjadi 67,63% di hari ke-14. Komposisi CH₄ tertinggi diperoleh pada hari ke-20 setelah pengisian penuh (hari ke-47 fermentasi metanogenik), yakni 74,82%. Selain CH₄ (74,82%) dan CO₂ (18,3%), terdapat juga sedikit gas lain, yaitu N₂ (5,2%) dan O₂ (1,7%).

Proses metanogenik yang berlangsung lebih didominasi dengan pembentukan gas metana, sedangkan gas CO₂ turut dihasilkan walau dalam jumlah yang tidak sebanyak gas metana. Pada kondisi fermentasi dengan bahan baku yang telah mengalami proses asetonik, maka senyawa hasil proses tersebut (yakni asam asetat) akan lebih mudah dan cepat untuk digunakan oleh bakteri metanogenik untuk dikonversi menjadi CH₄ dan CO₂. Gambar 4 menunjukkan bahwa ketika konsentrasi CH₄ mengalami kenaikan, maka konsentrasi CO₂ mengalami penurunan. Namun setelah 40 hari masa fermentasi, diperoleh penurunan konsentrasi CH₄ yang diikuti dengan peningkatan gas CO₂.



Gambar 4. Produksi biogas dengan digester metanogenik pada 100% kapasitas

Potensi energi biogas yang dihasilkan pada digester metanogenik diperoleh dari laju produksi biogas, yaitu volume gas dan komposisi gas metana yang dihasilkan. Pada Gambar 5 ditunjukkan bahwa potensi energi tertinggi adalah 217,66 kJ/hari di hari ke-20. Rentang potensi energi dari biogas yang dihasilkan dari hari minggu ke-2 hingga minggu ke-4 adalah 88,70 – 217,66 kJ/hari. Setelah hari ke-31, nilai potensi energi biogas menurun drastis hingga 14 kJ/hari.



Gambar 5. Potensi energi biogas pada digester metanogenik

Secara keseluruhan, pengaruh pemisahan proses fermentasi asetonik dan metanogenik yang berdasarkan nilai derajat keasaman (pH) di setiap tahapan memberikan dampak yang cukup signifikan dalam produksi biogas. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Liu dkk [10], dimana *yield* biogas yang dihasilkan meningkat sebesar 21% dengan menggunakan proses *anaerobic digestion* dua tahap kontinyu menggunakan limbah rumah tangga sebagai umpan. Waktu retensi limbah tersebut adalah 30 hari.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari proses Fermentasi Anaerobik Biogas Dua Tahap dengan Aklimatisasi dan Pengkondisian pH Fermentasi adalah sebagai berikut:

1. Pengaturan pH awal fermentasi anerobik dua tahap dilakukan pada pH awal 5,5 untuk proses asetonik dan pH awal 7 untuk proses metanogenik.
2. Rentang nilai pH selama proses asetonik berlangsung ada pada kisaran 5,2 – 5,8, sedangkan metanogenik pada pH 6,2 – 8,1.
3. Komposisi metana tertinggi pada digester metanogenik diperoleh pada hari ke-20 setelah pengisian penuh (hari ke-47 fermentasi metanogenik), yakni hingga 74,82%.
4. Volume produksi biogas tertinggi diperoleh pada hari ke-22, dengan laju 8,87 L/hari. Sehingga potensi energi tertinggi yang diperoleh mencapai 217,66 kJ/hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Unit Penelitian Pengabdian Masyarakat (UPPM) Politeknik Negeri Bandung melalui Program Penelitian Terapan Dana DIPA Politeknik Negeri Bandung.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. S. Patil, N. V. Ghasghse, A. P. Nashte, S. S. Kanase, R. H. Pawar, Anaerobic Digestion Treatment of Cheese Whey For Production of Methane in two Stage Upflow Packed Bed Reactor, *International Journal of Advanced Science, Engineering and Technology*, vol. 1, no. 1, hal. 1-7, 2012.
- [2] A. S. Nizami, A. Orozco, E. Groom, B. Dieterich, J. D. Murphy, How much gas can we get from grass?, *Applied Energy*, vol. 92, hal. 783–790, 2012.
- [3] J. -R. S. Ventura, J. Lee, D. Jahng, A comparative study on the alternating mesophilic and thermophilic two-stage anaerobic digestion of food waste, *Journal of Environmental Sciences*, vol. 26, no. 6, hal. 1274-1283, 2014.
- [4] S. Asplund, The Biogas Production Plant at Umea Dairy Evaluation of Design and Start-Up Treatment, *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 14, hal. 2539-2556, 2005.
- [5] S. Simamora, Salundik, S. Wahyuni, Surajudin, Membuat Biogas Pengganti Minyak dan Gas dari Kotoran Ternak, Jakarta: Agromedia Pustaka, 2006.
- [6] L. Ni'mah, Gas from Solid Waste of Tofu Production and Cow Manure Mixture: Composition Effect, *Chemica.*, vol. 1, no. 1, hal. 1-9, 2014.
- [7] T. A. Seadi, Biogas Handbook, Esbjerg: University of Southern Denmark, 2008.

- [8] M. H. Gerardi, *The Microbiology of Anaerobic Digesters*, New Jersey: Wiley-Interscience, 2003.
- [9] C. Kavuma, *Variation of Methane and Carbon Dioxide Yield in Biogas Plant*, M.Sc. thesis, Dept. of Energy Technology, KTH Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden, 2013.
- [10] D. Liu, D. Liu, R. J. Zeng, I. Angelidaki, Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process, *Water Research*, vol. 40, hal. 2230–2236, 2006.