

## PRODUKSI BIOGAS DARI MAKROALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa*) PADA SISTEM BATCH

### BIOGAS PRODUCTION FROM RED MACROALGAE (*Gracilaria verrucosa*) IN BATCH SYSTEM

Dea Fauzia Lestari<sup>1,3</sup>, Mujizat Kawaroe<sup>1,4</sup>, Salundik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Produksi Ternak

<sup>3</sup>Pusat Penelitian Lingkungan Hidup (PPLH)-LPPM

Institut Pertanian Bogor

<sup>4</sup>Surfactant and Bioenergy Research Center (SBRC)-LPPM

Institut Pertanian Bogor

#### ABSTRACT

Marine macroalgae become one of biomass resource to be converted into energy using anaerobic degradation. This process requires bacteria agent contained in cattle rumen or manure. Availability of residual *Gracilaria verrucosa* (rejected) on fishpond macroalgae cultivation support for biogas energy development. The aims of this research were analyzing biogas production from red macroalgae *Gracilaria verrucosa* and applying the gas to biogas lamp and stove. The method in this research was batch system, used 1500 L capacity digester with 1200 L working volume. Methane production average volume was 72 L/day during 31 days of observation. The trials were carried out to operate lamp and stove, biogas lamp require 1.80 L/min and biogas stoves require 6.00 L/min gas from digester. This research may be applied and developed when supported by availability of macroalgae biomass as the prime substrate.

Keywords: anaerobic digestion, batch systems, biogas, macroalga, methane

#### ABSTRAK

Makroalga dari laut menjadi salah satu pilihan sumber biomassa yang dapat dikonversi menjadi energi melalui proses degradasi anaerobik. Proses ini membutuhkan bantuan bakteri yang sangat melimpah pada rumen ataupun feses sapi. Ketersediaan bahan baku *Gracilaria verrucosa* sisa (*rejected*) pada budidaya makroalga di tambak menunjang bagi pengembangan energi biogas. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis produksi biogas dari *Gracilaria verrucosa* serta uji coba potensinya pada lampu dan kompor biogas. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah sistem batch pada digester sebesar 1500 L dengan volume kerja digester sebesar 1200 L. Volume rata-rata gas metana yang dihasilkan selama pengamatan adalah 72 L/hari. Uji coba biogas makroalga dilakukan terhadap pemakaian lampu biogas memerlukan 1.80 L/menit dan kompor biogas memerlukan 6.00 L/menit gas dari digester. Potensi dari biogas ini dapat diaplikasikan dan dikembangkan jika ditunjang dengan keberadaan sumber biomassa makroalga sebagai substrat utama.

Kata kunci: anaerobic, biogas, makroalga, metana, sistem *batch*

#### PENDAHULUAN

Produksi makroalga dalam skala besar untuk pembuatan biofuel telah dilakukan pada akhir tahun 1960-an (Hughes *et al.* 2012). Makroalga memiliki banyak keuntungan dalam aplikasi energi terbarukan karena memiliki efisiensi konversi cahaya matahari yang relatif tinggi sehingga dengan cepat dapat menyintesis biomassa melalui asimilasi karbon dioksida dan nutrisi anorganik (Aresta *et al.* 2005, Subadhra & Edward 2011).

Hasil produksi makroalga per satuan luas secara signifikan lebih tinggi daripada biomassa terestrial karena memiliki tingkat fiksasi karbon dioksida yang lebih tinggi dibandingkan dengan biomassa terestrial dan berpotensi untuk merestorasi karbon yang lebih besar. Kandungan hemiselulosa dan lignin makroalga lebih rendah daripada kandungan yang dimiliki sebagian besar tanaman darat (John *et al.* 2011) sehingga lebih mudah untuk dipolimerisasi daripada biomassa yang mengandung lignoselulosa tinggi (Wargacki *et al.* 2012).

Salah satu metode yang digunakan untuk mengonversi makroalga menjadi energi adalah degradasi anaerobik dengan sistem *batch*. Sistem *batch* merupakan fermentasi dengan cara memasukkan media dan inokulum secara bersamaan ke dalam biodigester. Pada saat ini proses reaksi penguraian berlangsung kemudian terjadi perubahan kondisi substrat yang padat menjadi biogas. Selain itu, kondisi fisik substrat menjadi lebih cair akibat adanya aktivitas mikroba. Mikroba yang berasal dari rumen seperti bakteri, protozoa, fungi, dan bakteriofag bertindak sebagai pengurai bahan organik penghasil gas (Beauchemin *et al.* 2008). Kotoran sapi diketahui memiliki tingkat biodegradabilitas anaerobik yang baik karena mengandung bakteri pendegradasi sehingga dapat digunakan sebagai inokulum (Sunarso *et al.* 2010). Bakteri memerlukan aklimatisasi agar dapat beradaptasi pada substrat yang berbeda.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis produksi biogas yang dihasilkan dari proses degradasi anaerobik makroalga merah *Gracilaria verrucosa* dengan bantuan bakteri dari kotoran sapi. Selain itu, melihat potensi biogas yang dihasilkan pada uji coba alat berupa lampu dan kompor biogas.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2014-Maret 2015 di tambak budidaya Desa Tanara, Serang, Banten dan Laboratorium Surfactant and *Bioenergy Research Centre* (SBRC) Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Institut Pertanian Bogor. Studi lokasi dilakukan untuk mengetahui keadaan lapang dan kesesuaian tempat yang membutuhkan aplikasi biogas. Selain itu, studi ini bertujuan untuk memastikan ketersediaan bahan baku (makroalga) dan kualitas lingkungan. Data mengenai produksi kering (*dry product*) dan basah (*wet product*) diperoleh dari data jurnal panen bulanan salah satu gudang pengumpul *Gracilaria verrucosa* yang ada di Desa Tanara. *Wet product* merupakan biomassa makroalga sebelum dilakukan pengeringan saat pemanenan, sedangkan *dry product* merupakan biomassa setelah dilakukan pengeringan dengan sinar matahari sampai kadar airnya berkurang 40-50%. Data sekunder yang diperoleh terdiri dari 17 bulan masa panen yaitu Januari 2014-Mei 2015. Informasi tambahan mengenai potensi makroalga di

Desa Tanara dilakukan wawancara.

## Pemasangan alat

Alat yang disiapkan berupa bak penampungan dan tangki digester (*fix dome digester*) yang terbuat dari bahan fiber kemudian disambungkan pada instalasi kompor dan lampu pijar. Bak pertama berfungsi sebagai penampungan bahan organik yaitu substrat, sebelum masuk ke dalam tangki digester (*input*). Bak kedua berfungsi sebagai bak penampung akhir sisa degradasi anaerobik (*output*). Kapasitas dari tangki digester adalah 1.50 ton setara dengan 1500 L. Untuk mengurangi kandungan gas hidrogen sulfida pada biogas yang dihasilkan dilakukan pemasangan *scrubber* agar menyaring gas tersebut. *Flow* meter dipasang untuk mengetahui volume biogas yang dihasilkan sebelum gas melewati filter.

## Persiapan dan aklimatisasi substrat

Tahap pertama adalah pencucian substrat *Gracilaria verrucosa* (*rejected*) yang diambil dari tambak sampai bersih dari kotoran dan pasir. Setelah itu makroalga dikeringkan untuk mengurangi kadar garam dalam biomasanya (Bruhn *et al.* 2010). Makroalga disiapkan untuk dicampur dengan kotoran sapi namun sebelumnya direndam terlebih dahulu dalam air selama 2 jam untuk mengembalikan bentuk awalnya. Tahap kedua adalah pembuatan inokulum yang berasal dari campuran kotoran sapi, makroalga, dan air. Air digunakan sebanyak 800 L dan kotoran sapi yang baru diambil dari kandang sebanyak 100 L. Sumber air campuran substrat berasal dari sunagn di sekitar tambak makroalga. Kondisi salinitasnya dipengaruhi oleh musim dan pencampuran dengan air laut karena letaknya yang sangat berdekatan dengan laut. Ulangan pertama (R1) dilakukan saat intensitas curah hujan rendah di mana tingkat penguapan, salinitas, dan pH pun menjadi tinggi sedangkan ulangan kedua (R2) dilakukan selama intensitas curah hujan tinggi, banyak masukan air tawar masuk melalui mulut sungai sehingga salinitas dan pH lebih rendah.

Kotoran sapi diaklimatisasi dengan penambahan substrat makroalga yang bertujuan untuk membuat bakteri pendegradasi dapat beradaptasi dengan substrat yang baru hingga inokulum siap untuk digunakan. Substrat makroalga

memiliki perbedaan karakter dan kondisi dibandingkan dengan rumput yang menjadi makanan sapi. Substrat sebanyak 2% (24 L) ditambahkan setiap 4 hari ke dalam digester sampai dengan pH stabil atau keluar gas dari dalam digester.

### Degradasi anaerobik

Setelah proses aklimatisasi selesai, makroalga (300 L) dimasukkan sekaligus ke dalam digester. Observasi dilakukan sebanyak dua kali pengulangan dengan komposisi dan perlakuan yang sama (R1 dan R2). Waktu pengamatan setelah aklimatisasi dilakukan selama 31 untuk masing-masing ulangan. Temperatur dan pH tidak dikontrol tetapi disesuaikan dengan keadaan lingkungan aslinya. Produksi gas harian dan kumulatif diukur menggunakan *flow meter* yang diukur setiap hari.

Sistem *batch* digunakan dalam proses pemasukan substrat yaitu dengan menginput seluruh substrat di awal. Sistem ini merupakan sistem tertutup dan tidak perlu ditambahkan pupuk N, P, dan K untuk menambah kesuburan. Kelebihan dari sistem ini adalah risiko yang kecil dari kontaminasi luar karena pemasukan substrat yang tidak dilakukan setiap hari. Namun beberapa kekurangan yang ada yaitu produksi gas yang menurun seiring berjalannya waktu karena ketersediaan substrat dan kemampuan bakteri dalam menguraikan substrat karena kejenuhan yang terjadi dalam digester.

### Uji coba biogas

Uji coba gas dilakukan dengan melewati biogas pada instalasi selang yang diatur menggunakan kran. Selang gas disambungkan pada kompor dan lampu khusus biogas. Konversi dilihat dari jumlah total biogas yang diperlukan untuk menyalakan kompor dan lampu biogas selama 1 menit penggunaan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Potensi makroalga

Gambar 2 menunjukkan produksi bulanan makroalga *Gracilaria verrucosa* di Desa Tanara, Serang pada lahan tambak sekitar 120 Ha yang dipanen secara selang-seling. Setelah pemanenan makroalga dikeringkan dan mencapai bobot rata-rata sebesar 56.64% dari biomassa awalnya. Nilai

produksi biomassa makroalga paling tinggi yaitu pada bulan September 2014 sebesar 64.50 ton (basah) dan 37.50 ton (kering), sedangkan produksi paling rendah yaitu pada bulan Desember 2014 sebesar 5.80 ton (basah) dan 3.72 (kering). Bulan November 2014 sampai dengan Februari 2015 intensitas hujan di daerah Serang sering terjadi dan berpengaruh pada produksi makroalga. Jumlah produksi relatif berkurang seiring dengan penurunan kuantitas pemanenan dan proses pengeringan yang kurang efektif karena intensitas cahaya matahari yang lebih rendah. Hal ini terjadi pula pada Januari dan Februari 2014. Berbeda halnya pada Juni dan Juli 2014, jumlah produksi menurun disebabkan oleh terhambatnya pertumbuhan makroalga akibat kualitas air tambak yang buruk. Petani melakukan perlakuan khusus pada air tambak yakni dengan menyaring dan melewati air terlebih dahulu pada petak yang disediakan agar air bisa digunakan untuk budidaya.

Proses sortir telah dilakukan untuk membedakan kualitas hasil panen dilihat dari warna dan ukuran thalus. Makroalga tersebut biasanya dibiarkan membusuk karena harganya yang rendah. Hal ini memunculkan peluang adanya pemanfaatan barang sisa tersebut agar lebih termanfaatkan. Salah satunya adalah untuk pembuatan energi yang berbahan baku biomassa yaitu biogas. Jumlah *rejected* makroalga ini belum diketahui secara terperinci karena belum ada data yang mencatat totalnya. Namun dengan adanya penelitian mengenai potensi biogas ini diharapkan ada aktivitas pengumpulan sisa biomassa sekaligus pencatatan agar diketahui potensi dari bahan biomassa makroalga yang tersedia sebagai bahan baku pembuatan energi biogas.

Kemungkinan ketersediaan bahan baku *rejected* paling banyak terdapat pada musim penghujan dimana makroalga yang dipanen mengalami *bleaching* atau pemutihan serta proses pengeringan yang kurang sempurna. Selain itu, potongan kecil (remah-remah) makroalga di gudang bisa mencapai 50 kg jika dikumpulkan dalam 1 bulan.

Nilai pH aklimatisasi dan produksi

Substrat memerlukan *pra-treatment* untuk meningkatkan produksi metana dalam proses degradasi anaerobik. *Pra-treatment* bertujuan untuk memecah struktur organik kompleks menjadi molekul

sederhana yang agar mudah terdegradasi oleh mikroba. Proses degradasi anaerobik sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Faktor pengendali utama meliputi suhu, pH, dan senyawa beracun (de Mez *et al.* 2003).

Keasaman merupakan parameter penting yang memengaruhi pertumbuhan mikroba selama fermentasi. Kondisi pH pada digester harus dijaga dalam kisaran yang diinginkan dari 6.80-7.20 atau pH netral dengan masukan substrat yang optimum (Yadvika *et al.* 2004). Dalam penelitian ini nilai pH lebih dari 7 karena bahan substrat merupakan campuran kotoran sapi dan makroalga sisa (*rejected*) dari tambak yang memiliki salinitas, sehingga pH air lebih dari 7. Selain itu, air peralut berasal dari muara sungai dipengaruhi oleh pasang surut. Gambar 3 menunjukkan nilai pH selama proses aklimatisasi.

Selama proses aklimatisasi rentang pH rata-rata berkisar antara 7.40-8.30. Nilai ini berfluktuasi karena dilakukan penambahan makroalga setiap 4 hari sebanyak 2% dari kapasitas digester (1200 L). Kecenderungan nilai pH naik setelah penambahan substrat makroalga. Proses *loading* makroalga (2%) berhenti ketika digester menghasilkan gas dan atau nilai pH stabil.

Produksi biogas dan efisiensi degradasi substrat lebih tinggi pada nilai pH 7 dibandingkan dengan nilai pH lainnya (Ghaly *et al.* 2000, Mahajoeno *et al.* 2008, Sivakumar *et al.* 2012, Budiyo *et al.* 2013, Astuti *et al.* 2013). Selain itu, penurunan nilai COD juga sangat efisien pada nilai pH yang netral. Gambar 4 menunjukkan nilai pH selama produksi biogas.

Gambar 4 menunjukkan pH rata-rata selama 31 hari pengamatan dari dua kali pengulangan (R1 dan R2). Salinitas ditentukan oleh kegiatan pertukaran kation ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ , dan  $Ca^{2+}$ ) yang terjadi pada air. R1 nilai pH berkisar 7.70-8.40, sedangkan pada R2 berkisar antara 7.20-8.20. Beberapa studi yang dilakukan penelitian biogas menggunakan makroalga juga menjelaskan bahwa nilai pH selama proses degradasi anaerobik adalah lebih dari 7 (Briand & Morand 1997, Nkemka *et al.* 2014). Fluktuasi nilai pH adalah implikasi dari proses kimia selama proses degradasi anaerobik. Nilai pH relatif menurun pada akhir pengamatan disebabkan oleh bakteri asidogenesis yang memproduksi asam asetat, hidrogen, karbon dioksida, dan *Volatile Fatty Acid* (VFA) yang tidak semua diubah menjadi biogas tetapi beberapa menjadi bagian atau komponen penghambat

(Leggett *et al.* 2005).

## Produksi biogas

Gambar 5 menunjukkan produksi biogas harian dari substrat makroalga dalam digester. Setelah aklimatisasi, bakteri beradaptasi dengan substrat yang baru sehingga menghasilkan biogas. Percobaan 1 (R1) menghasilkan produksi gas tertinggi adalah 135 L/hari di hari ke-14 dan produksi gas terendah adalah 24 L/hari di hari ke-29. Percobaan 2 (R2) menghasilkan produksi gas tertinggi sebanyak 138 L/hari di hari ke-13 dan produksi gas terendah sebanyak 15 L/hari di hari ke-30. Rata-rata produksi harian biogas adalah 72 L/hari. Gambar 5 menunjukkan produksi harian biogas.

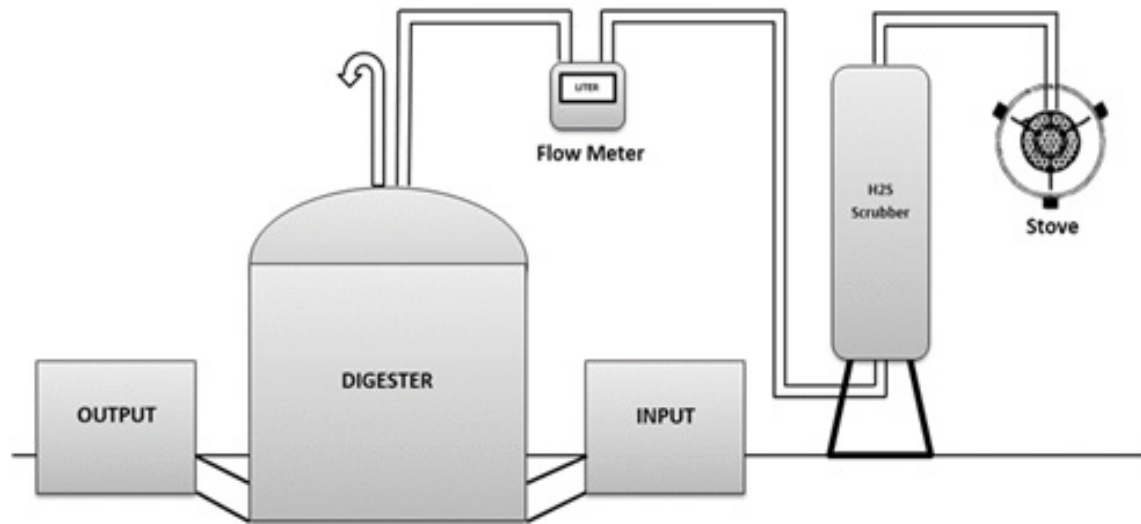
Aktivitas degradasi paling tinggi terjadi pada 10-19 hari pertama, berbeda dengan kulit nanas dan singkong, keduanya menghasilkan gas tertinggi pada 5-10 hari pertama disebabkan penyusun biomasnya terdiri dari gula dan pati yang lebih mudah terdegradasi (Paepatung *et al.* 2009). Makroalga memiliki polisakarida berupa selulosa yang hanya bisa dicerna oleh enzim selulase. Salah satu faktor yang dapat menghambat produktivitas degradasi anaerobik adalah logam berat, makroalga laut mengandung logam berat lebih tinggi dari makroalgae air tawar (Machado *et al.* 2014). Produksi kumulatif dari biogas R2 lebih tinggi dari R1. Total produksi biogas pada R2 adalah 2.43 L dan R1 adalah 2.17 L selama 31 hari pengamatan. Total produksi gas dalam degradasi anaerobik tergantung pada substrat dan proses dalam digester seperti pH dan suhu.

## Potensi biogas

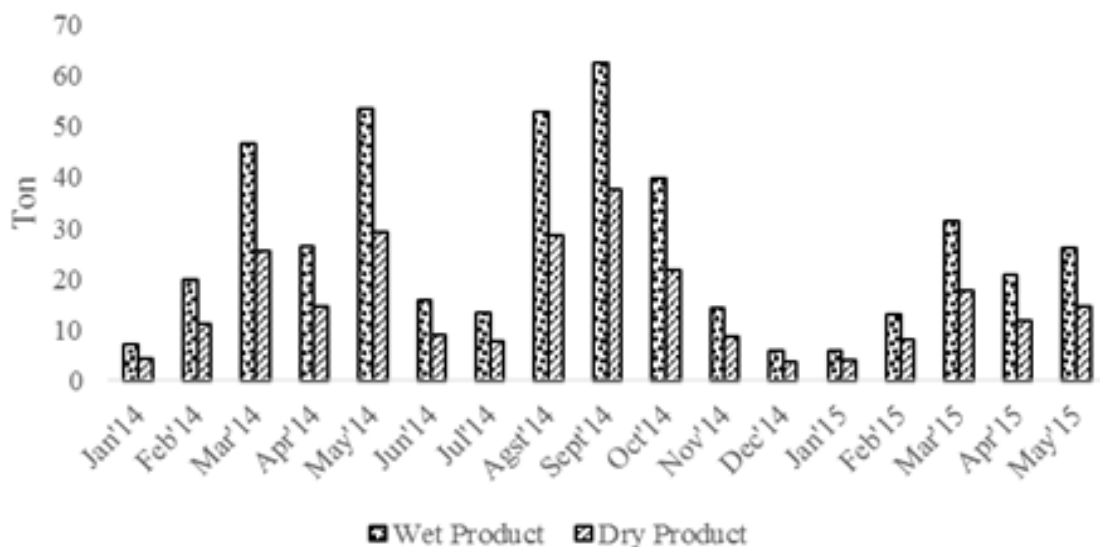
Produksi biogas diujicobakan untuk pemanfaatan lampu dan kompor biogas agar bisa mengetahui jumlah gas yang digunakan dalam aplikasi alat rumah tangga. Pemanfaatan secara berkelanjutan bisa diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari, namun perlu dilakukan upaya optimalisasi salah satunya dengan menambahkan kepekatan dan jumlah biomassa dari substrat makroalga yang digunakan agar jumlah gas yang diproduksi meningkat sesuai dengan kebutuhan. Nyala api biogas warnanya biru seperti gas elpiji jika kandungan metannya tinggi. Namun lama-kelamaan warnanya akan menjadi kemerahan seiring berkurangnya kandungan metan dan tingginya karbon dioksida.

Pemakaian biogas untuk menyalakan kompor lebih banyak dibandingkan dengan lampu. Gas dapat diaplikasikan langsung melalui pipa yang terhubung pada alat kompor, lampu, ataupun ditampung pada wadah khusus biogas seperti kantong plastik tebal ataupun tabung. Karakteristik biogas ini salah satunya memiliki tekanan

yang rendah sehingga perlu pemampatan agar dapat disimpan pada wadah yang lebih kecil volumenya seperti tabung. Berikut ini adalah tabel yang menunjukkan waktu dan jumlah biogas yang diperlukan.

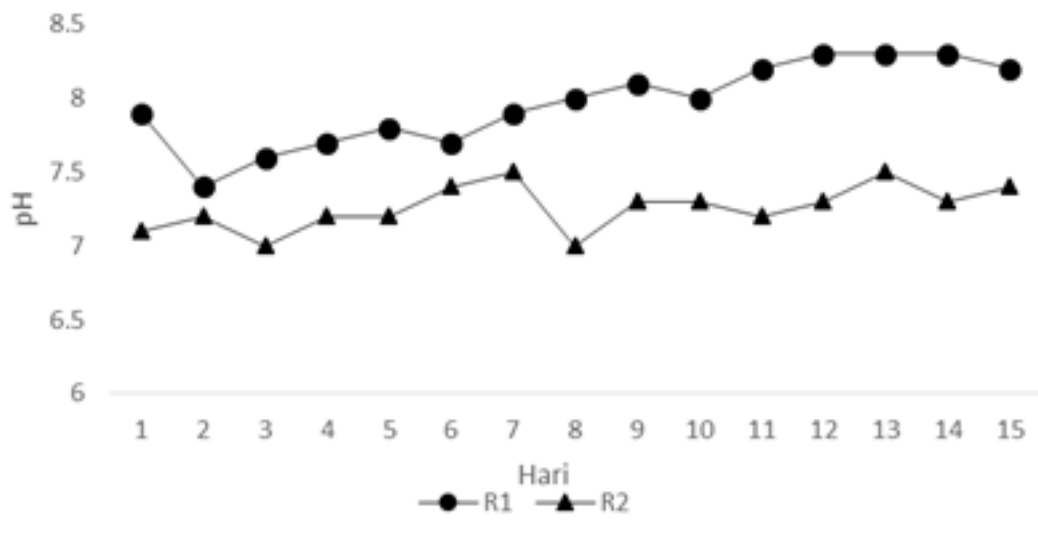


Gambar 1. Instalasi digester

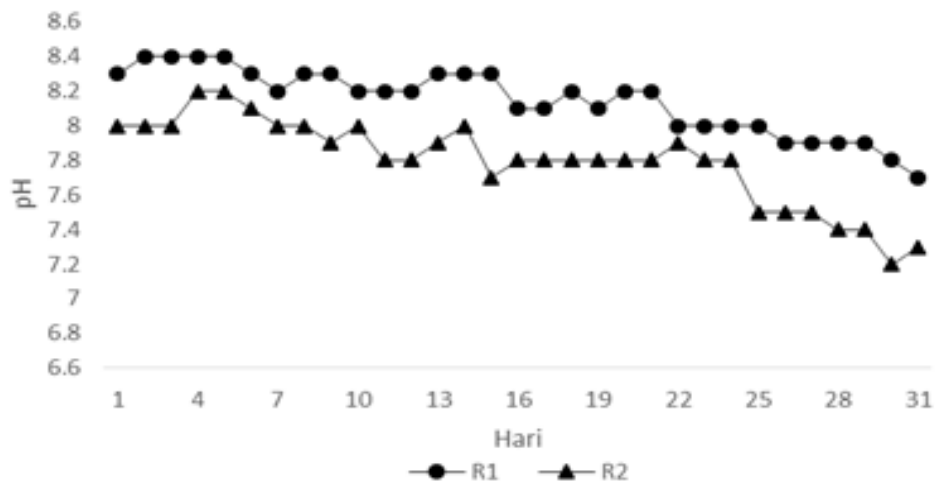


Gambar 2. Produksi makroalga bulanan di tambak Desa Tanara, Serang

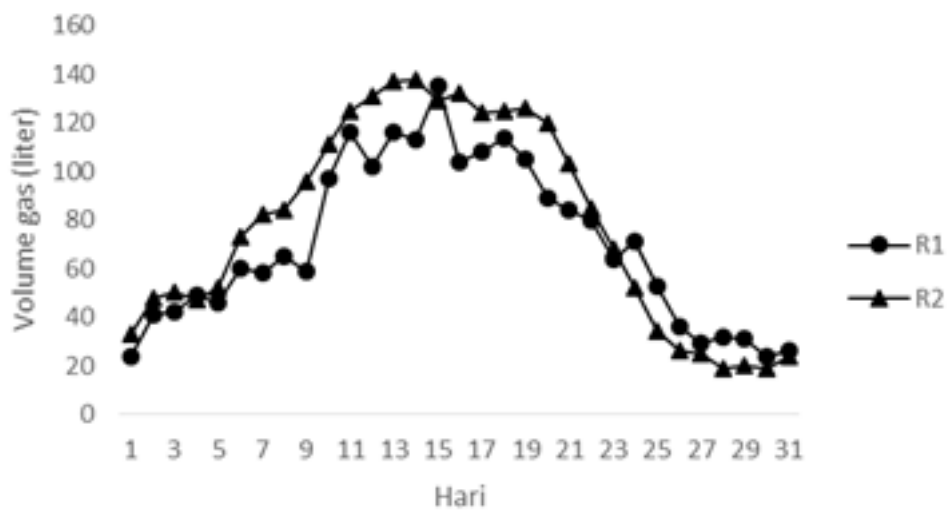




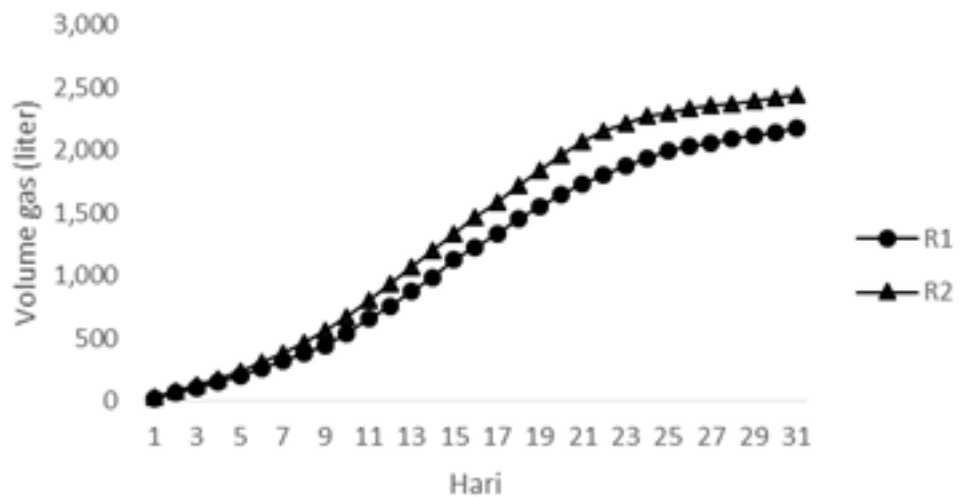
Gambar 3. Nilai pH saat aklimatisasi



Gambar 4. Nilai pH saat produksi biogas



Gambar 5. Produksi harian biogas



Gambar 6. Produksi kumulatif biogas

Tabel 1. Uji coba konversi gas menjadi energi

Alat uji	Waktu (menit)	Volume biogas (L)
Lampu	1	1.80
Kompore	1	6.00

## KESIMPULAN

Makroalga bisa digunakan sebagai bahan baku pembuatan energi biogas dengan bantuan bakteri yang berasal dari kotoran atau rumen sapi melalui proses degradasi anaerobik. Kondisi lingkungan sangat berpengaruh terhadap proses degradasi tersebut diantaranya substrat dan parameter fisik seperti salinitas dan pH. Aklimatisasi diutuhkan untuk mengadaptasikan bakteri terhadap substrat makroalga. Kisaran pH selama selama aklimatisasi dan produksi biogas melebihi nilai pH nertal dikerenakan pengaruh bahan baku yang berasal dari lingkungan bersalinitas tinggi. Volume total produksi rata-rata selama pengamatan adalah 2305.50 L dengan rata-rata produksi harian sebanyak 72 L/hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada LPDP yang telah memberikan dana penelitian hibah dan *Surfactant and Bioenergy Research Center* (SBRC) IPB yang menjadi institusi penyalur dana hibah sekaligus wadah kegiatan penelitian yang berbasis energi terbarukan serta ramah lingkungan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aresta M, Dibendetto A, Berberio G. 2005. Utilization of macroalgae for enhanced CO fixation and biofuels production: development of a computing software for LCA study. *Fuel Process Tech.* 86:1679-1693.
- Astuti N, Soeprbowati TR, Budiyo. 2013. Observation of temperature and pH during biogas production from water hyacinth and cow manure. *Waste Tech.* 1(1):22-25.
- Beauchemin K, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister T. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Anim Prod Sci.* 48:21-27.
- Briand X, Morand P. 1997. Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 1. Relationship between *Ulva* composition and methanisation. *Appl Phycol.* 9:511-524.
- Bruhn A, Dahl J, Nielsen HB, Nikolaisen L, Rasmussen MB, Markager S, Olesen B, Arias C, Jensen PD. 2010. Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: biomass yield, methane production and combustion. *Biores Technol.* 102:2595-2604.
- Budiyo, Syaichurrozi I, Sumardiono

- S. 2013. Biogas production from bioethanol waste: the effect of pH and urea addition to biogas production rate. *Waste Tech.* 1(1):1-5.
- de Mez TZD, Stams AJM, Reith JH, Zeeman G. 2003. *Methane production by Anaerobic Digestion of Waste Water and Solid Wastes*. In Reith JH, Wijffels RH, Barten H (ed). *Biomethane and Biohydrogen Status Add Perspectives of Biological Methane and Hydrogen Production*. Wageningen: Dutch Biological Hydrogen Foundation.
- Ghaly AE, Ramkumar DR, Sadaka SS, Rochon JD. 2000. Effect of reseeded and pH control on the performance of a two-stage mesophilic anaerobic digester operating on acid cheese whey. *Can Agri Engin.* 42(4):173-183.
- Hughes AD, Kelly MS, Black KD, Stanley MS. 2012. Biogas from macroalgae: is it time to revisit the idea?. *Biotech for Biofuels.* 5(86):1-7.
- John RP, Anisha GS, Nampootheri KM, Pandey A. 2011. Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. *Biores Tech.* 102:186-193.
- Leggett J, Graves RE, Lanyon LE. 2005. Anaerobic digestion: biogas production and odor reduction from manure. [http://server .age.psu.edu](http://server.age.psu.edu) (diakses pada April 2015). Amerika: College of Agricultural Science
- Machado L, Magnusson M, Paul NA, Rde Nys, Tomkins N. 2014. Effects of marine and freshwater macroalgae on in vitro total gas and methane production. *Plos One.* 9(1):e85289.
- Mahajoeno E, Lay BW, Sutjahjo SH, Siswanto. 2008. The possibility of palm oil mill effluent for biogas production. *Biodiversitas.* 9(1):48-52.
- Nkemka VN, Rivera JA, Murto M. 2014. Two-stage dry anaerobic digestion of beach cast seaweed and its codigestion with cow manure. *Waste Manag.*
- Paepatung N, Nopharatana A, Songkasiri W. 2009. Bio-methane potential of biological solid materials and agricultural wastes. *Asia Ener Envi.* 10(1):19-27.
- Sivakumar P, Bhagiyalakshmi M, Anbarasu K. 2012. Anaerobic treatment of spoiled milk from milk processing industry for energy recovery: A laboratory to pilot scale study. *Fuel.* 96:482-486.
- Subhadra B, Edwards M. 2010. An integrated renewable energy park approach for algal biofuel production in United States. *Energy Policy.* 38:4897-4902.
- Sunarso, Johari S, Widiyasa IN, Budiyo. 2010. The effect of feed to inoculum ratio on biogas production rate from cattle manure using rumen fluid as inoculum. *Sci and Engin.* 1:41-45.
- Wargacki AJ, Leonard E, Win MN, Regitsky DD. 2012. An engineered microbial platform for direct biofuel production from brown macroalgae. *Science.* 335:308-313.
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan TR, Kohli S, Rana V. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. *Biores Techno.*