

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Gas Bio

Gas bio merupakan campuran senyawa hasil dekomposisi mikrobial dari bahan organik dalam kondisi anaerob. Menurut Basuki (1985), gas bio adalah gas yang timbul dari proses fermentasi *anaerob* oleh mikrobial terhadap bahan organik seperti limbah feses ternak, feses manusia maupun limbah pertanian. Menurut Hambali *et al.* (2007), gas bio terdiri dari senyawa metana, karbondioksida, nitrogen, oksigen, karbonmonoksida, air, dan hidrogen sulfida yang persentasenya dapat dilihat pada Tabel 1. Bahan gas yang dominan yaitu gas metana (CH₄) merupakan gas yang dapat dibakar. Gas metana secara luas diproduksi di permukaan bumi oleh mikrobial penghasil metana. Mikrobial penghasil gas metana ini terdapat di rawa-rawa, lumpur sungai, dan sumber air panas. Hasil pencernaan hewan ruminansia juga menghasilkan gas metana. Hewan-hewan ini memecah selulosa yang terkandung dalam rumput menjadi molekul yang dapat diserap oleh rumen dengan bantuan mikrobial anaerob (Amaru, 2004).

Tabel 1. Rata-rata Komponen Komposisi Penyusun Gas Bio

Komponen	Konsentrasi
Metana	40 – 70 % volume
Karbondioksida	25 – 45 % volume
Nitrogen	0,6 – 1,8 % volume
Oksigen	0,1 – 1 % volume
Karbonmonoksida	0,1 % volume
Air	2 – 7 % volume (20 – 40° C)
Hidrogen sulfida	20 – 20.000 ppm

(Sumber: Hambali *et al.*, 2007)

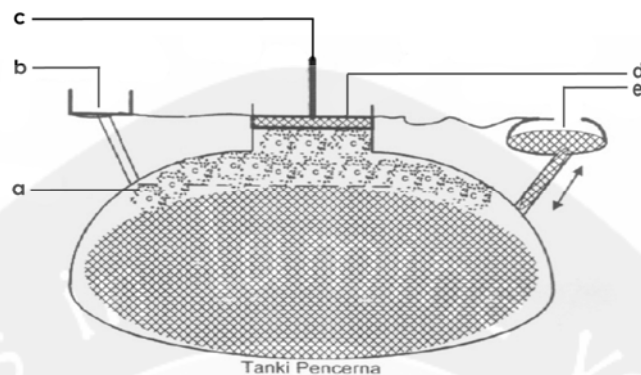
Gas bio merupakan bahan bakar yang berguna karena nilai kalori yang cukup tinggi yaitu dalam kisaran 4.800 sampai 8.700 kkal/cm³, sedangkan gas metana murni (100 %) mempunyai kalor 8.900 kkal/cm³ (Hardjo, 1989).

B. Digester Gas Bio

Digester atau unit pencernaan adalah suatu wadah kedap udara yang digunakan untuk tempat proses pembuatan gas bio (Widarto dan Sudarto, 1997). Menurut Hambali *et al.* (2007), digester merupakan unit pencernaan yang memanfaatkan bahan organik dengan menggunakan bantuan mikrobia pada kondisi yang anaerob sehingga menghasilkan produk baru. Digester gas bio memiliki model yang bermacam-macam. Model yang dimaksud merupakan tata letak dan bentuk digester yang akan dikembangkan dan tergantung dari tujuan dan kegunaannya. (Junus, 1995). Menurut Firdaus (2006), dilihat dari sisi konstruksinya, digester gas bio bisa digolongkan dalam dua macam yaitu kubah tetap dan drum mengapung.

1. Kubah Tetap

Jenis kubah tetap mewakili konstruksi digester dengan volume yang tetap sehingga produksi gas akan meningkatkan tekanan di dalam digester (Gambar 1). Strukturnya kuat sehingga mampu menahan gas agar tidak terjadi kebocoran. Jenis ini terdiri dari bagian pencernaan yang berbentuk kubah tertutup, penahan gas, dan pemindah substrat (keseimbangan). Keuntungan dari digester ini yaitu biaya konstruksi lebih murah dari pada menggunakan jenis drum mengapung, karena tidak memiliki bagian yang bergerak menggunakan besi yang tentunya harganya relatif lebih mahal dan perawatannya lebih mudah (Firdaus, 2006).

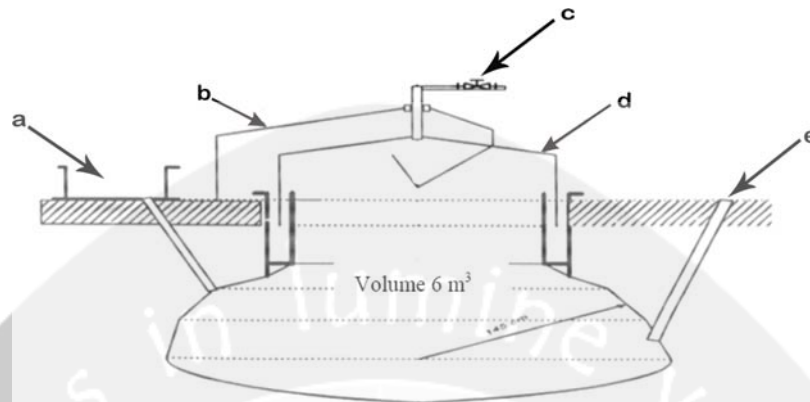


Gambar 1. Skema Digester Gas Bio jenis Kubah Tetap
(Sumber : Firdaus, 2006).

Keterangan: a. Bagian digester yang terisi gas, b. Lubang pencampur, c. Pipa gas, d. Penahan tekanan gas, e. Lubang keseimbangan

2. Drum Mengapung

Jenis drum mengapung berarti ada bagian pada konstruksi digester yang bisa bergerak untuk menyesuaikan dengan tekanan digester gas yang terbentuk (Gambar 2). Pergerakan bagian digester tersebut juga menjadi tanda telah dimulainya produksi gas. Jenis ini terdiri dari ruang pencernaan berbentuk silinder atau kubah yang dapat bergerak, penahan gas mengapung atau drum. Bagian drum sebagai tempat tersimpannya gas yang terbentuk mempunyai rangka pengarah agar pergerakan drum stabil. Keuntungan unit pencernaan jenis drum mengapung adalah mudah dioperasikan, produksi gas dan tekanannya dapat dimonitor. Kerugiannya adalah biaya material konstruksi dari drum lebih mahal. Faktor korosi pada drum juga menjadi masalah sehingga bagian pengumpul gas pada digester ini memiliki umur yang lebih pendek dibandingkan menggunakan tipe kubah tetap (Firdaus, 2006).



Gambar 2. Skema Digester Gas Bio jenis Drum Mengapung
(Sumber : Firdaus, 2006).

Keterangan : a. Lubang pencampuran, b. Rangka pengarah, c. Kran gas,
d. Tutup/penahan gas, e. Lubang keseimbangan

Lebih lanjut Firdaus (2006) menambahkan model digester gas bio dilihat dari aliran bahan baku (limbah), juga bisa dibagi menjadi dua macam yaitu tipe sekali unduh dan tipe mengalir.

1. Tipe Sekali Unduh

Pada tipe sekali unduh, bahan baku digester ditempatkan di dalam wadah (ruang tertentu) dari awal hingga selesainya proses pencernaan selama 2 – 6 bulan tergantung pada jumlah bahan yang dimasukkan. Isi dari digester biasanya dihangatkan dan dipertahankan suhunya. Selain itu, sesekali dilakukan pengadukan untuk melepaskan gelembung-gelembung udara dari *sludge*. Tipe digester ini tidak membutuhkan banyak perhatian selama proses. Meskipun demikian hampir semua bahan organik tetap akan diproses. Efisiensi maksimal dari proses hanya dapat diharapkan bila digester diisi dengan hati-hati. Ruang yang terbuang dan udara yang terjebak di dalam *sludge* harus dihindarkan karena akan menghambat pembentukan gas metana. Tipe sekali unduh digunakan untuk

pemakaian yang bersifat sementara karena tidak adanya aliran bahan baku yang masuk secara teratur untuk memproduksi gas bio. Kelebihan pada tipe ini adalah pembuatannya yang relatif lebih murah bila dibandingkan dengan tipe mengalir. Tipe sekali unduh ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bahan yang diproses sebelum unit yang besar dibangun (Firdaus, 2006).

2. Tipe Mengalir

Pada jenis mengalir terdapat adanya aliran bahan baku yang masuk secara teratur pada satu ujung dan keluar pada selang waktu tertentu di ujung yang lain. Menurut Amaru (2004), variasi dari tipe ini dapat dilakukan secara vertikal dan horizontal. Kelemahan pada tipe mengalir yaitu pembuatannya yang sulit dan membutuhkan biaya yang lebih tinggi dibandingkan pada tipe sekali unduh. Tipe ini biasanya bersifat permanen dan dapat digunakan untuk pemakaian pada jangka waktu yang lama hingga mencapai 30 tahun (menggunakan semen) dibandingkan dengan tipe sekali unduh sekaligus mengatasi masalah pada proses pemasukan dan pengosongan pada tipe sekali unduh.

Dari keseluruhan jenis digester yang ada, pada penelitian ini perlu menggunakan satu jenis yang paling sesuai yang dapat memudahkan kebutuhan pengujian dan kenyamanan kerja. Menurut Amaru (2004) dan Junus (1995), kriteria desain yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan pembuatan digester gas bio adalah sebagai berikut :

- a. Digester yang dibuat adalah digester skala laboratorium yang digunakan sebagai model uji awal sebelum diterapkan ke lapangan.

- b. Digester dapat memenuhi pengukuran parameter uji dalam menentukan kemampuan dasar dari digester gas bio.
- c. Pengoperasian digester gas bio mudah dilakukan.

Digester gas bio yang dirancang pada penelitian ini adalah digester gas bio tipe sekali unduh, dimana bahan dimasukkan ke dalam digester dari awal proses hingga selesainya proses pencernaan. Adapun komponen-komponen digester gas bio berdasarkan hasil perancangan digester gas bio adalah sebagai berikut :

- a. Tabung fermenter

Tabung fermenter berbentuk silinder berbahan dasar dari kaca berwarna gelap. Penggunaan botol kaca berwarna gelap ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan organisme autotrof akibat adanya sinar matahari yang masuk. Tabung ini memiliki kapasitas tampung sebesar 4 liter. Bagian ini berfungsi sebagai tempat pencernaan bahan oleh mikrobia anaerob dan kemudian diubah menjadi gas bio. Digester yang kedap udara menciptakan lingkungan yang cocok untuk mikrobia anaerob tumbuh.

- b. Selang penyalur gas

Penyalur gas menggunakan selang yang berbahan dasar plastik dengan panjang sekitar 20 cm dan diameter 0,5 cm. Selang penyalur gas berfungsi untuk menyalurkan gas dari botol fermenter ke tempat penampungan gas. Gas yang dihasilkan oleh mikrobia anaerob perlu disalurkan ketempat penampungan gas sehingga tidak terjadi tekanan yang berlebihan pada botol fermenter. Gas yang terkumpul di dalam botol fermenter dapat menyebabkan tekanan gas yang berlebihan dan apabila tidak tersalurkan dapat menyebabkan botol fermenter

pecah. Dengan adanya selang penyalur, maka tekanan gas akan terdorong menuju tekanan yang lebih rendah.

c. Penampung gas

Penampung gas menggunakan rol plastik transparan yang berbentuk silinder. Diameter plastik 15 cm dengan tinggi 145 cm. Penampung gas berfungsi sebagai tempat menyimpan gas yang dihasilkan dari digester untuk selanjutnya dilakukan pengujian lebih lanjut. Gas yang terkumpul dalam botol fermenter akan mendorong gas menuju tempat penampungan gas yang memiliki tekanan yang lebih rendah. Penampung gas dirancang secara vertikal untuk meminimalkan penggunaan ruang selama proses produksi gas bio. Bagian ini ditopang oleh rangka penyangga yang terbuat dari batang bambu.

d. Bagian penyumbat gas bio

Bagian ini terdiri dari kran besi yang terpasang pada tutup botol dan sekaligus menjadi penutup tabung fermenter pada digester gas bio. Kran besi ini berfungsi untuk mengatur keluarnya gas bio yang dihasilkan dan sekaligus menjaga kerapatan botol fermenter selama proses fermentasi berlangsung. dan kran plastik yang terdapat pada plastik penampung gas.

C. Hewan Ternak dan Feses Sapi

Ternak adalah istilah untuk menunjuk (secara jamak) kepada suatu binatang jinak yang dengan sengaja dipelihara di dalam suatu agrikultur untuk menghasilkan makanan atau untuk tenaga kerja. Ternak dipelihara untuk

penghidupan atau untuk laba. Peternakan adalah suatu komponen penting dalam pertanian modern (Anonim, 2007b).

Jenis ternak yang banyak dipelihara seperti babi, sapi, kambing, domba, dan berbagai jenis unggas. Di Indonesia sapi potong sangat potensial dan banyak dipelihara oleh petani peternak, sebagai sumber tenaga kerja, daging dan modal uang (Apandi, 1979). Perkembangan jumlah hewan ternak yang ada di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perkembangan Jumlah Hewan Ternak di Indonesia

Jenis Ternak	Tahun			
	2001	2002	2003	2004
Ternak Besar	100 (14.240)	100 (14.478)	100 (13.750)	100 (14.112)
Sapi perah	2,44	2,48	2,72	2,70
Sapi potong	78,21	78,03	76,39	76,01
Kerbau	16,39	16,60	17,89	18,23
Kuda	2,96	2,89	3,00	3,06
Ternak Kecil	100 (25.234)	100 (26.117)	100 (26.683)	100 (26.256)
Kambing	49,39	48,05	47,68	47,57
Domba	29,33	29,26	29,27	29,18
Babi	21,28	22,69	23,05	23,25
Unggas	100 (998.232)	100 (1.264.406)	100 (1.238.170)	100 (1.283.165)
Ayam kampung	2701	21,7	22,40	21,19
Ayam ras pedaging	7,08	6,17	6,40	6,28
Ayam ras pedaging	62,67	68,42	68,47	69,76
Itik	3,23	3,64	2,73	2,77

(Sumber: Hambali *et al.*, 2007)

Keterangan: angka dalam kurung menunjukkan jumlah dalam ribuan ekor

Feses adalah hasil sisa pencernaan yang dikeluarkan dari saluran pencernaan melalui anus (Tillman *et al.*, 1991). Feses merupakan sisa dari pakan yang sebagian telah dicerna dalam usus, dalam feses tersebut masih mengandung nutrisi seperti protein, karbohidrat, dan mineral dalam ukuran yang relatif rendah (Basuki, 1985). Feses lebih sering dipilih sebagai bahan pembuat gas bio karena ketersediaannya yang sangat besar di seluruh dunia. Bahan ini memiliki keseimbangan nutrisi, mudah diencerkan dan relatif dapat diproses secara biologi.

Selain itu, feses segar lebih mudah diproses dibandingkan dengan feses yang lama dan atau telah dikeringkan. Hal ini disebabkan pada feses segar terdapat mikrobia yang hidup pada pencernaan sapi yang berperan dalam proses pembentukan gas bio (Amaru, 2004).

Pedoman yang digunakan di dalam pemilihan bahan dasar substrat untuk proses pembentukan gas bio antara lain ketersediaan bahan, perbandingan unsur C dan N serta kandungan bahan padatnya dan mudah tidaknya bahan tersebut didekomposisikan (Hadi, 1980). Tabel 3 menunjukkan jumlah produksi feses dan gas bio dari berbagai jenis ternak dan manusia yang dapat diketahui bahwa setiap bahan yang digunakan dalam produksi mempunyai potensi menghasilkan gas bio yang berbeda.

Tabel 3. Jumlah Produksi Feses dan Gas Bio dari Berbagai Jenis Ternak

Jenis Ternak	Produksi Feses (kg)	Gas Bio (liter/ kg)
Sapi	15	40
Kerbau	20	40
Babi	2	70
Ayam	0,15	60
Domba	5	60
Itik	0,15	50
Merpati	0,05	50
Kuda	15	40
Unta	20	30
Gajah	40	20
Manusia dewasa	0,4	70

(Sumber: Junus, 1995)

Feses sapi merupakan substrat yang dianggap paling cocok sebagai sumber pembuat gas bio karena feses sapi mengandung sisa pakan yang tidak dicerna dinding sel bakteri dari saluran pencernaan sebelumnya, serta sel-sel mikrobia yang berasal dari sekum (usus buntu) dan usus besar meskipun konsentrasi mikrobianya berbeda dengan yang ada pada rumen (Omed *et al.*, 2000). Selain

itu, feses sapi telah mengandung mikrobia penghasil gas metan yang terdapat dalam rumen (Dhanoa *et al.*, 2004).

Hewan-hewan ternak tersebut dipelihara baik dalam jumlah besar di peternakan maupun dipelihara secara individu dalam jumlah yang kecil oleh rumah tangga. Menurut Junus (1995), dalam membuat gas bio petani cukup mempunyai dua atau tiga ekor sapi saja, sedangkan ternak lain seperti ayam, itik dan kelinci perlu diperhitungkan jumlahnya agar memenuhi kebutuhan untuk pengisian digester gas bio. Menurut Kasmidjo (1991), feses sapi merupakan bahan yang memiliki ketersediaan melimpah dan mudah dicampur menjadi bubur serta memungkinkan diproses secara kontinyu.

Berdasarkan hasil estimasi, seekor sapi dalam setiap hari dapat menghasilkan feses sebanyak 10 – 30 kg, seekor ayam menghasilkan feses 25 g/ hari, dan seekor babi dewasa dengan berat 60 – 120 kg dapat memproduksi feses 4,5 – 5,3 kg/ hari. Berdasarkan riset yang pernah ada diketahui bahwa setiap 10 kg feses sapi berpotensi menghasilkan 360 liter gas bio dan 20 kg feses babi dewasa bisa menghasilkan 1.379 liter biogas (Hambali *et al.*, 2007).

Produksi feses dipengaruhi oleh jenis pakan, umur ternak, kondisi pengumpulan feses, cara pemeliharaan dan faktor lingkungan (Kasmidjo, 1991).

Komposisi feses sapi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Feses Sapi dan Keluaran Digester (*sludge*)

Unsur	Feses sapi	Keluaran (%)
Bahan kering	16,2	8,5
Nitrogen total (N)	2,1	1,7
Karbon (C)	14,0	40,7
Perbandingan C/N	19,5	23,9

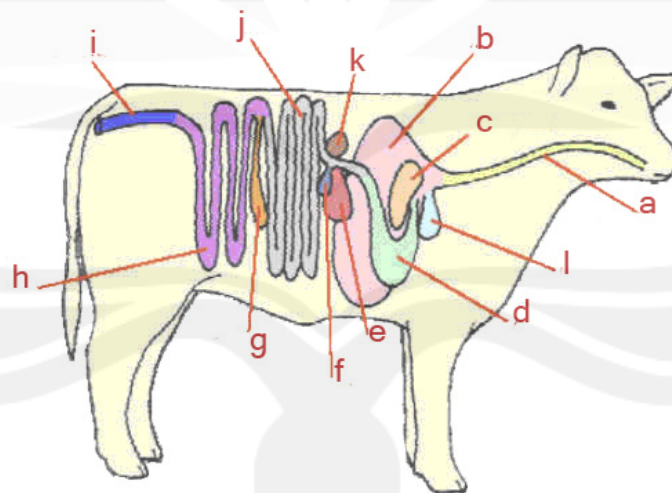
(Sumber: Kasmidjo, 1991)

Faktor rasio C/N sangat menentukan besarnya produksi gas metana karena kebutuhan unsur C (Carbon) dapat dipenuhi dari karbohidrat, lemak, dan asam-asam organik, sedangkan kebutuhan N (Nitrogen) dapat dipenuhi dari protein, amoniak dan nitrat. Apabila C/N tinggi berarti kadar C sangat berlebihan, yang berakibat mikrobia yang menggunakan bahan tersebut kekurangan unsur N untuk metabolisme berlangsung lambat. Lambatnya perkembangan jumlah mikrobia, berakibat menurunnya produksi gas metana pada digester. Sebaliknya apabila bahan organik mempunyai C/N rendah, misalnya pemberian pakan yang mengandung protein tinggi atau penambahan urea maka unsur karbon habis setelah fermentasi, sehingga sisa nitrogen yang ada pada bahan akan hilang sebagai gas amoniak (NH_3). Perbandingan rasio C/N substrat yang ideal untuk proses dekomposisi anaerob pembentukan gas metana berkisar antara 25 sampai 35 dengan perbandingan terbaik adalah 30 (Basuki, 1985).

Menurut Sufyandi (2001), feses yang digunakan pada pembuatan gas bio harus bersih dari jerami dan bahan asing lainnya untuk mencegah terbentuknya buih dan lapisan keras dipermukaan yang dapat mengganggu produksi gas bio, sehingga gas bio yang dihasilkan tidak dapat mengalir ke dalam bagian penampungan gas bio. Bahan yang digunakan sebaiknya berbentuk *cream*. Bentuk *cream* baik digunakan karena dapat menghindari terbentuknya kerak pada bagian permukaan yang dapat menghambat produksi gas bio. Lebih lanjut Sufyandi (2001) menambahkan, kotoran segar lebih mudah diproses dibandingkan kotoran lama atau yang telah dikeringkan.

D. Ruminansia dan Rumen

Semua hewan yang termasuk subordo ruminansia (memamah biak) yaitu sapi, kerbau, domba, jerapah, bison, rusa, kancil, dan antilop (Anonim, 2007b). Hewan ruminansia mencerna makanannya dengan cara menelan bahan mentah, kemudian mengeluarkan makanan yang sudah setengah dicerna dan mengunyahnya kembali. Lambung hewan memiliki banyak ruang (poligastrik). Lambung ternak ruminansia dibagi menjadi 4 bagian, yaitu retikulum (perut jala), rumen (perut beludru), omasum (perut bulu), dan abomasum (perut sejati) seperti yang terdapat pada Gambar 3. Dalam studi fisiologi ternak ruminansia, rumen dan retikulum sering dipandang sebagai organ tunggal dengan sebutan retikulo-rumen. (Hitani, 2006).



Gambar 3. Sistem Pencernaan Sapi (Sumber: Anonim, 2007a)

Keterangan : a. Kerongkongan, b. Rumen, c. Omasum, d. Abomasum, e. Hati, f. Kantung empedu, g. Sekum, h. Usus besar, i. Dubur, j. Usus halus, k. Pankreas, l. Retikulum

Rumen adalah kantung penampungan pertama pakan setelah dikunyah dan ditelan yang terletak di sebelah kiri rongga perut. Secara anatomi permukaan rumen tonjolan-tonjolan halus (*papila*) yang berfungsi untuk memperluas permukaan penyerapan makanan. Suhu pada rumen antara 39 – 40°C dengan nilai keasaman mencapai 6,7 – 7,0. Dalam rumen terdapat cairan yang merupakan medium yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri, protozoa dan fungi secara anaerob. (Hitani, 2006).

Pencernaan secara mekanis terjadi umumnya di mulut dengan bantuan gigi sebagai alat pemotong. Pada ruminansia proses pengambilan makanan dilakukan oleh lidah, kemudian dipotong-potong oleh gigi dan ditelan ke rumen. Pencernaan hidrolitik atau enzimatik adalah pencernaan yang dilakukan oleh enzim-enzim pencernaan. Pada pencernaan hidrolitik ini polimer dipecah menjadi monomer, misalnya karbohidrat dipecah menjadi glukosa, atau protein dipecah menjadi asam amino yang terjadi pada abomasum (perut sejati). Pencernaan fermentatif dilakukan atas bantuan mikroba. Pada proses pencernaan fermentatif zat makanan dirombak menjadi senyawa lain yang berbeda sifat kimianya sebagai zat intermedumte. Mikroba yang terlibat dalam proses pencernaan ini memiliki sifat dapat mencerna selulosa (selulolitik) dan dapat memecah protein (proteolitik). Pada ruminansia pencernaan fermentatif terjadi di dalam rumen dan retikulum (Anonim, 2007).

Penelitian yang menggunakan cairan rumen dapat memperoleh cairan rumen dari ternak donor. Menurut Hitani (2006), pengambilan cairan rumen dilakukan melalui *fistula* yang dibuat pada rumen ternak. Pembuatan fistula ini

membutuhkan biaya yang mahal dan tenaga terlatih. Pada ternak berfistula memerlukan pemeliharaan yang intensif dan tidak ekonomis, karena biaya operasional yang mahal. Efek lain yang ditimbulkan dari ternak berfistula adalah dapat menyebabkan gangguan metabolisme karena jika fistula lepas maka banyak cairan rumen yang keluar yang bisa menyebabkan ternak dehidrasi dan keadaan rumen menjadi aerob karena udara yang masuk melalui fistula serta ternak juga mudah terinfeksi karena seringkali ada serangga yang ada di daerah fistula. Hewan ternak berfistula ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Sapi berfistula

Keterangan : tanda panah menunjukkan bagian fistula pada sapi
Gambar diambil dari kandang ternak Fakultas Peternakan
Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada 12 Oktober 2007

E. Mikrobia Rumen

Rumen merupakan medium yang sangat baik untuk pertumbuhan mikrobia, protozoa dan kapang secara anaerob (Hitani, 2006). Mikrobia rumen merupakan mikrobia yang hidup di dalam sistem pencernaan pada hewan ruminansia. Mikrobia ini berfungsi memecah selulosa menjadi molekul yang dapat diserap

oleh rumen (Arora, 1989). Oleh karena itu, mikrobia ini dapat berkembang baik dan hidup membangun hubungan simbiosis mutualisme dengan hewan inangnya. Menurut Prescott *et al.* (2005), jumlah mikrobia rumen dalam setiap mililiter terdapat 10^{12} mikrobia. Mikrobia rumen terdiri dari bakteri, protozoa, dan fungi yang tumbuh secara anaerob.

Mikrobia rumen memiliki cukup banyak jenis dan jumlahnya. Berdasarkan kelompok utama, mikroba rumen dibagi dalam tiga kelompok utama yaitu bakteri, protozoa dan fungi. Selain itu, mikrobia rumen dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat utama yang digunakan (Hitani, 2006).

Beberapa jenis mikrobia rumen yang dilaporkan oleh Hungate (1966) adalah mikrobia selulolitik yaitu mikrobia yang dapat menghasilkan enzim selulase yang dapat mencerna selulosa dan merupakan mikrobia yang paling banyak terdapat dalam rumen. Jenis yang penting yaitu *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavafaciens*, *Ruminococcus albus*, *Butyrifibrio fibrisolvens* (Hungate, 1966).

Mikrobia hemiselulolitik berperan dalam mendegradasi hemiselulosa contohnya *Butyrivibrio fibrisolvens* dan *Bacteroides ruminicola*. Mikrobia amilolitik berperan dalam mencerna pati bila ternak tersebut banyak mengkonsumsi pati. Mikrobia amilolitik banyak terdapat di dalam rumen secara alamiah, yang dapat mencerna asam amino sebagai sumber utama bagi perkembangannya. Spesies yang penting yaitu *Bacteroides ammylonilai keasamanilus*, *Streptococcus bovis*, *Succinimonas amylolytica*. Mikrobia

proteolitik berperan dalam mencerna protein seperti, *Clostridium sporogenus* dan *Bacillus licheniformis* (Hungate, 1966).

Mikrobia lipolitik merupakan jenis mikrobia yang sangat aktif mencerna lemak. Pada beberapa jenis mampu menghidrolisis asam lemak tidak jenuh, sebagian lagi dapat menetralsir asam lemak rantai panjang menjadi keton. Mikrobia ini terdiri dari *Triponema bryanti* dan *Lactobasilus ruminus* (Hungate, 1966).

Mikrobia metanogenik merupakan mikrobia penghasil gas metana. Beberapa spesies mikrobia metanogenik adalah *Methanobacter forcium*, *Methanobacter ruminatium*, *Methanococcus*, *Methanospirilus*, dan *Methanobacillus* (Hungate, 1966).

Protozoa rumen diklasifikasikan menurut morfologinya yaitu: holotrik yang mempunyai silia hampir di seluruh tubuhnya dan mencerna karbohidrat secara fermentasi, sedangkan oligotrik yang mempunyai silia sekitar mulut umumnya merombak karbohidrat yang lebih sulit dicerna (Arora, 1989).

Pada rumen, gas metana dihasilkan kerana adanya mikrobia metanogen. Sifat mikrobia ini adalah anaerob obligat yang untuk hidupnya tidak membutuhkan udara sama sekali, bersifat Gram positif, dinding selnya mengandung protein tetapi tidak mempunyai peptidoglikan, berbentuk batang, nilai keasaman pertumbuhan antara 7,0 – 8,0, dan terhambat pertumbuhannya dengan adanya oksigen sebesar 0,01 mg/ l (Sutariningsih dan Sri Yuni, 1989). Mikrobia metanogen ini memproduksi metana dengan dua cara. Pertama, dengan cara fermentasi asam asetat untuk diubah menjadi metana dan cara kedua dengan

mereduksi CO₂ dan H₂ yang dibentuk oleh mikrobia lain. Substrat organik dalam tahap pertama bisa bermacam-macam, terutama adalah karbohidrat, lipida, protein dan material anorganik (Suriawiria dan Sastramihardja, 1979).

Mikrobia atau protozoa tidak ada yang secara langsung dapat memfermetasikan karbohidrat menjadi metana, tetapi dengan bantuan mikrobia penghasil asam yang dapat memproduksi formiat. Formiat merupakan substrat primer bagi spesies mikrobia metanogen untuk memproduksi gas metana. Secara umum gas metana yang diproduksi mikrobia metanogen bertujuan untuk menghindari ternak dari akumulasi H₂ pada proses fermentasi dalam rumen. (Sutariningsih dan Sri Yuni, 1989)

F. Degra Simba

Starter adalah salah satu atau segolongan mikrobia yang sengaja ditumbuhkan pada substrat yang selektif yang membantu proses fermentasi. Penambahan *starter* mikrobia bertujuan mempercepat proses dekomposisi (Sumardi, 1999).

Menurut Anonin (2007b), Degra Simba adalah produk mikrobia probiotik pilihan yang memiliki kemampuan untuk menguraikan limbah organik. Degra Simba mengandung spesies mikrobia terpilih antara lain *Lactobacillus* yang berperan dalam pemecahan glukosa, asam amino, dan asam-asam lemak. *Acetobacter* berperan dalam pembusukan bahan organik melalui proses fermentasi dan mempunyai kemampuan menghilangkan bau pada limbah organik. Selain itu mikrobia ini juga mengeluarkan antibiotik yang dapat menekan pertumbuhan

mikrobia patogen. *Sacharomyces* berperan mempercepat proses penguraian limbah melalui proses fermentasi bersama dengan *Acetobacter*. Mikrobia tersebut merupakan mikrobia mesofilik yang berkerja pada tahap pemecahan polimer dan pembentukan asam. *Lactobacillus* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37 – 45°C dan tumbuh optimal pada suhu 28 – 32°C. Hasil yang diperoleh dari penggunaan *starter* komersial ini dapat meningkatkan produksi gas bio sebesar 2,5 %. Menurut Wardana (2006) dalam penelitiannya, penambahan Degra Simba sebesar 2 % dalam proses pembentukan gas bio dapat meningkatkan produksi gas bio sebesar 3,5 % bila dibandingkan dengan proses pembentukan gas bio tanpa dilakukan penambahan apapun.

Penggunaan *starter* lain dalam proses pembuatan gas bio biasanya menggunakan EM₄ (*effective microorganism*) dan starbio. Menurut Amien (1994), starbio dan EM₄ biasanya mengandung kultur campuran mikrobia yang biasanya banyak digunakan dalam pertanian kerana sifatnya menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman.

G. Inokulum

Inokulum merupakan material yang berupa mikrobia yang dapat diinokulasikan ke dalam fermenter pada saat kultur tersebut berada pada fase eksponensial yaitu suatu fase sel mikrobia akan mengalami pertumbuhan dan peningkatan yang maksimal (Rachman, 1985).

Cairan rumen merupakan sumber inokulum yang baik untuk pertumbuhan mikrobia, protozoa dan kapang secara anaerob karena tingginya kandungan

mikromineral dan mikronutrien (Hitani, 2006). Tingginya mikronutrien pada cairan rumen ini karena mengandung sisa pakan yang tidak dicerna dari saluran pencernaan sebelumnya, sehingga keanekaragaman mikrobia yang terdapat pada cairan rumen lebih tinggi dibandingkan dengan yang terdapat pada feses. Tingginya keanekaragaman mikrobia yang terdapat pada cairan rumen membuat cairan rumen dapat dijadikan sebagai sumber inokulum yang dapat ditambahkan dalam proses pembuatan gas bio. Penelitian terkait mengenai penambahan cairan rumen biasanya dilakukan pada pengujian *in vitro* untuk pencernaan pada rumen. Inokulum yang berupa cairan rumen yang diberikan sebagai kultur awal (standar) sekitar 1 – 10 % dari volume bahan yang difermentasikan (Crueger dan Crueger, 1984).

H. Proses Pembentukan Gas Bio

Fermentasi merupakan katabolisme senyawa organik secara anaerob dengan senyawa organik bertindak sebagai donor dan akseptor serta menghasilkan ATP melalui fosforilasi tingkat substrat (Madigan *et al.*, 2000). Menurut Muchtadi *et al.* (1992), fermentasi merupakan proses-proses yang menghasilkan komponen-komponen kimia bahan yang kompleks sebagai akibat adanya pertumbuhan dan metabolisme mikrobia.

Proses pembentukan gas bio terdiri dari tiga tahap yaitu tahap hidrolisis, asetonik, dan metanogenik (Wibowo *et al.*, 1980). Lebih lanjut Wibowo *et al.* (1980) menambahkan, tahap hidrolisis merupakan proses perombakan bahan organik yang diperankan oleh mikrobia fermentasi yang terdiri dari mikrobia

selulolitik, hemiselulolitik, amilolitik, lipolitik dan proteolitik yang mampu merombak karbohidrat kompleks termasuk selulosa dan hemiselulosa, protein, serta lemak. Karbohidrat pada feses ruminansia sering ditemui seperti selulosa, hemiselulosa dan berbagai komponen tumbuh-tumbuhan yang terdapat dalam pakan ternak (Wibowo *et al.*, 1980).

Mikrobia selulolitik pada rumen penting untuk sekresi selulase. Proses pemecahan selulosa oleh aktivitas enzim selulase sangat dipengaruhi oleh struktur fisik dari substrat. Substrat yang berbentuk kristal (padatan yang partikelnya tersusun teratur) pada umumnya lebih sulit dicerna daripada substrat yang berbentuk amorf (padatan yang partikelnya tersusun tidak beraturan). Perombakan ini dapat terjadi karena selulase mempunyai sifat yang spesifik untuk menghidrolisis ikatan β -1-4 glikosidik dari rantai selulosa dan derivatnya. Kompleks enzim selulase umumnya terdiri dari 3 unit enzim utama yaitu endo β -1-4 glukonase (cx) yang berperan terutama pada bagian amorf rantai selulosa, ekso- β -1-4 glukonase (c1) yang berperan dalam pemecahan dibagian kristal selulosa, dan β -glukosidase merupakan enzim yang penting untuk menghasilkan produk selulosa (Hungate, 1966).

Jenis-jenis mikrobia fermentasi yang berperan dalam pembentukan gas bio antara lain adalah: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, dan *Aerobacter* (Sanusi dan Santoso, 1980). Mikrobia fakultatif anaerob melakukan hidrolisis enzimatik bahan organik yang polimerik untuk dirombak menjadi monomer yang larut (Apani, 1979). Hasil hidrolisis enzimatik tersebut antara

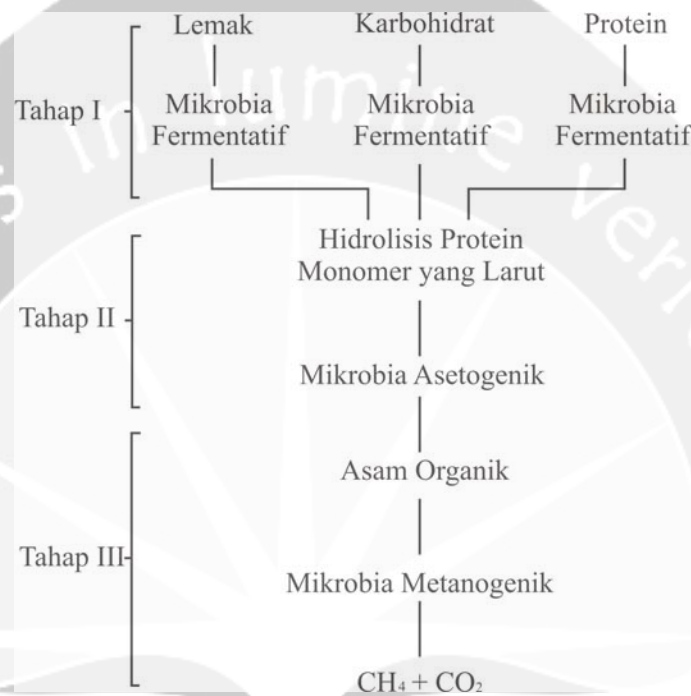
lain asam lemak, gas hidrogen, dan CO₂. Pada tahap ini mikrobia fermentatif bekerja sangat lambat (Wibowo *et al.*, 1980).

Tahap asetogenesis yaitu hasil dari tahap hidrolisis dikonversi menjadi hasil akhir bagi produksi metana, yaitu berupa asetat, hidrogen, dan karbondioksida yang dilakukan oleh mikrobia asetogenik. Pembentukan asam asetat kadang-kadang disertai dengan pembentukan karbondioksida atau hidrogen, tergantung kondisi oksidasi dari bahan organik aslinya (Wibowo *et al.*, 1980).

Tahap III biasa disebut juga dengan tahap metanogenesis. Pada tahap ini terbentuk metana dan karbondioksida oleh adanya aktivitas metanogenik. Metana dihasilkan dari asetat atau dari reduksi karbondioksida oleh mikrobia asetogenik dengan menggunakan hidrogen. Aktivitas mikrobia metanogenik sangat tergantung pada nutrisi substrat yang digunakan atau dari produk yang dihasilkan dari mikrobia yang bekerja pada tahap I dan tahap II. Pada digester, beberapa jenis mikroorganisme metanogenik dapat melakukan sintesis gas hidrogen dan CO₂ menjadi gas metana. Mikrobia metana yang bersifat anaerob tersebut, akan membentuk CH₄ dan CO₂ melalui fermentasi asam asetat atau mereduksi gas CO₂ dengan cara menggunakan hidrogen yang merupakan produk mikrobia lain (Wibowo *et al.*, 1980). Tahapan penguraian senyawa organik secara anaerob menjadi gas metana secara singkat terdapat pada Gambar 5.

Tahap pertama dan tahap kedua disebut sebagai fermentasi asam sedangkan tahap ketiga disebut fermentasi metanogenik. Fermentasi asam cenderung menyebabkan penurunan nilai keasaman karena adanya produksi asam lemak volatil dan intermediet-intermediet lain yang memisahkan dan memproduksi

proton. Fermentasi metanogenik hanya akan berkembang dengan baik pada kondisi nilai keasaman netral sehingga ketidakstabilan mungkin muncul pada awal proses (Wibowo *et al.*, 1980).



Gambar 5. Tahap Penguraian Senyawa Organik Secara Anaerob Membentuk Metana (Sumber: Wibowo *et al.*, 1980)

Menurut Hadi (1980), asam organik yang sangat penting untuk produksi gas metana dalam metanogenesis adalah asam lemak volatil. Metanogenesis bukanlah proses dekomposisi yang sempurna karena biasanya hanya asam-asam organik yang dirombak sekitar 60 sampai 70 %. Menurut Sutariningsih dan Sri Yuni (1989), mikrobia penghasil gas metana yang mendominasi metanogenesis adalah *Metanobacterium*, *Methanococcus*, *Methano bacillus*, *Methanosarcina* dan *Methanospirilus* sedangkan yang menggunakan substrat asetat adalah *Metanobacterium suhngeniei*, *Metanobacterium mesei*, *Metanobacterium metanaica*, dan *Metanobacterium karkerii*.

Apandi (1979) menyatakan bahwa proses penguraian bahan organik tidak hanya tergantung pada jumlah jenis bakteri yang ada dalam digester, akan tetapi juga efisiensi dalam mengubah substrat dengan kondisi-kondisi waktu tinggal substrat di dalam digester, suhu dan nilai keasaman yang terjadi di dalam digester. Bilamana substrat yang mudah larut dominan, kecepatan reaksi terbatas akan cenderung membentuk metana dari asam asetat dan dari asam lemak dengan kondisi stabil. Lebih lanjut Apandi (1979) menambahkan bahwa mikrobia yang memproduksi metana dari hidrogen dan karbondioksida tumbuh lebih cepat daripada yang menggunakan asam asetat. Produksi metana dengan menggunakan asam asetat berlangsung lebih lambat karena mengalami dekarboksilasi dan reduksi CO₂ yang kemudian bersama-sama dengan H₂ dan CO₂ menghasilkan metana dan carbondioksida. Reaksi kimia pembentukan metana dari asam asetat dan reduksi CO₂ dapat dilihat pada persamaan reaksi berikut :



(Sumber: Apandi, 1979)

I. Faktor-faktor yang Memengaruhi Pembentukan Gas Bio

Proses pembentukan gas bio dipengaruhi oleh dua faktor, yaitu: lingkungan biotik (biologi) dan lingkungan abiotik (non-biologis). Lingkungan biotik menyangkut faktor kehidupan mikrobia yang aktif di dalam proses ataupun bentuk-bentuk kehidupan yang terjadi di dalamnya (Suriawiria dan Sastramihardja, 1979). Basuki (2000) menambahkan bahwa mikrobia yang

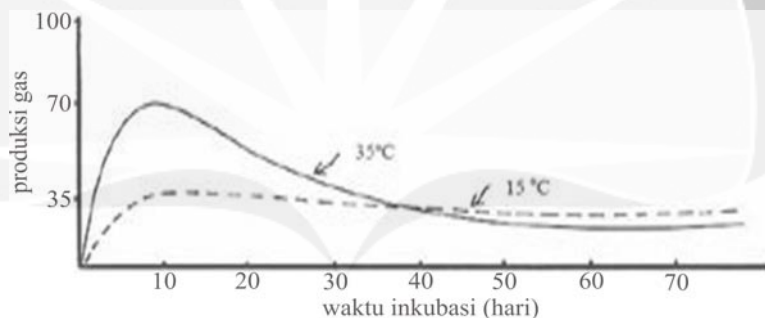
berperan dalam pembentukan gas metana bekerja secara berurutan dalam proses degradasi karbohidrat secara anaerob sehingga menghasilkan metana.

Lingkungan abiotik menyangkut faktor luar yang dapat diatur sesuai dengan kebutuhan serta secara langsung berpengaruh terhadap kehidupan dan aktivitas mikrobia, juga terhadap proses-proses yang terjadi selanjutnya (Suriawiria dan Sastramihardja, 1979). Untuk mencapai tujuan tersebut diperlukan medium lingkungan yang baik yang memenuhi syarat, antara lain: suhu digester, nilai keasaman, lamanya bahan organik yang berada dalam digester, kandungan air, kadar bahan kering, ada tidaknya zat toksik bagi mikrobia, dan substrat dalam kondisi yang memenuhi syarat C/N ideal (Suriawiria dan Sastramihardja, 1979).

Perkembangan mikrobia sangat dipengaruhi oleh suhu. Fermentasi anaerob dapat berlangsung pada kisaran 5 – 55 °C dengan suhu optimal 35° C. Suhu yang tinggi akan membentuk gas bio yang lebih cepat, tetapi suhu yang terlalu tinggi (di atas 55 °C) atau terlalu rendah (di bawah 5 °C) akan menyebabkan mikrobia tersebut lebih cepat mati sehingga pertumbuhan gas bio menjadi terhambat. Hal ini menunjukkan bahwa mikrobia yang berperan dalam proses pembentukan gas bio bersifat mesofil (Widarto dan Sudarto 1997). Lebih lanjut Sufyandi (2001) menambahkan bahwa proses fermentasi gas bio sangat sensitif terhadap perubahan suhu. Walaupun demikian perubahan suhu antara siang dan malam tidak menjadi masalah besar untuk aktivitas mikrobia. Pada Gambar 6 dapat dilihat perbedaan jumlah gas yang diproduksi ketika digester dipertahankan pada suhu 15°C dibanding dipertahankan pada suhu 35°C. Produksi gas bio yang dipertahankan pada suhu 35°C menghasilkan produksi gas bio yang lebih banyak,

sedangkan produksi gas bio yang dipertahankan pada suhu 15 °C menghasilkan gas bio yang lebih sedikit.

Nilai keasaman substrat juga memberikan pengaruh terhadap pembentukan gas bio. Menurut Basuki (1985), nilai keasaman substrat pada pembuatan gas bio berkisar antara 6,8 – 8 dan nilai keasaman yang optimal adalah 7,4. Menurut Hadi (1980), mula-mula nilai keasaman dalam digester dapat turun sampai 6 atau di bawahnya, selanjutnya nilai keasaman pada fase metanogenik secara berangsur-angsur akan naik sampai nilai keasaman 7,5. Lebih lanjut Amaru (2004) menambahkan, nilai keasaman dari substrat dalam digester merupakan salah satu faktor penting dalam pembentukan gas metana.



Gambar 6. Perbandingan tingkat produksi gas pada 15 °C dan 35 °C
(Sumber: Amaru, 2004)

Nilai keasaman dapat diukur dengan pH meter atau kertas pH. Untuk bangunan digester yang kecil, pengukuran nilai keasaman dapat diambil dari keluaran digester atau pengambilan sampel dapat diambil di permukaan digester apabila telah terpasang tempat khusus pengambilan sampel (Amaru, 2004).

Faktor lain yang memengaruhi pembentukan gas metana adalah lamanya bahan organik dalam digester. Lamanya bahan organik dalam digester akan memengaruhi produksi gas yang dihasilkan. Lamanya bahan organik dalam

digester akan memengaruhi produksi gas bio yang dihasilkan. Lama proses pembuatan gas bio dapat ditentukan melalui pendekatan pada Gambar 6, yaitu membandingkan tingkat produksi gas pada suhu 15 °C dan 35 °C yang kemudian berdasarkan kurva dapat diambil lama proses pada saat (hari) produksi gas bio terbaik (tertinggi), yaitu pada hari ke-30. Pada waktu inkubasi selama 30 hari, produksi gas bio sudah mengalami penurunan setelah hari ke-10 tetapi masih tetap berproduksi. Menurut Junus (1995), setiap bahan mempunyai karakteristik lama proses tertentu, untuk kotoran sapi diperlukan waktu 20 – 30 hari dimana sebagian gas bio diproduksi pada 10 sampai dengan 20 hari pertama.

Pada substrat mungkin dijumpai keberadaan suatu unsur yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia, diantaranya adalah logam berat, antibiotik, dan diterjen. Pada Tabel 5 ditunjukkan daftar batas konsentrasi yang diijinkan untuk berbagai faktor penghambat yang dapat menjadi zat toksik bagi mikrobia.

Tabel 5. Batas yang diijinkan dari ion anorganik pada digester gas bio

Ion Anorganik mg/L	Konsentrasi Optimum	Batas Penghambat (sedang)	Batas Penghambat (kuat)
Sodium	100-200	3500-5500	8000
Potassium	200-400	2500-4500	1200
Kalsium	100-200	2500-4500	8000
Magnesium	75-150	1000-15000	3000
Amonia	50-1000	15000	8000
Sulfida	0,1-10	100	200
Khromium	Tidak diketahui	2	3
Kobalt	20	Tidak diketahui	Tidak diketahui

Sumber: Meynell, 1976

Suriawiria dan Sastramihardja (1979) menyatakan bahwa kadar bahan kering yang optimal 7 % sampai dengan 9 %, maka aktivitas mikrobia berada pada kondisi yang optimal dalam fermentasi. Bila kadar bahan kering (BK) melebihi 9 % akan terjadi penyumbatan pipa keluaran gas bio akibatnya gas bio

sulit disalurkan, sebaliknya jika bahan kering kurang dari 7 % kecepatan menghasilkan gas bio akan menurun (Kasmidjo, 1991). Pengenceran perlu dilakukan mendapatkan kadar bahan kering ideal dengan cara dilakukan penambahan air. Selain itu dilakukan pengadukan sehingga diperoleh substrat yang lebih homogen (Basuki, 1985).

Menurut Sutariningsih dan Sri Yuni (1989), faktor-faktor yang memengaruhi produksi metana dapat ditentukan dan dipelajari dengan mempelajari sifat-sifat biokimia dari mikrobia penghasil metana, terutama hal yang menyangkut aktivitas enzim. Pada pembentukan metana, transformasi asam lemak menjadi metana adalah sangat penting karena metana merupakan hasil akhir fermentasi anaerob senyawa organik dan asam lemak volatil merupakan kunci perantara dalam produksi metana. Asam asetat dan formiat direduksi menjadi CO_2 dan CH_4 .

J. Pemanfaatan dan Produksi Gas Bio

Gas bio atau metana dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti halnya gas alam. Tujuan utama pembuatan gas bio adalah untuk mengisi kekurangan atau mensubstitusi sumber energi di daerah pedesaan sebagai bahan bakar keperluan rumah tangga, terutama untuk memasak dan lampu penerangan. Selain itu dapat digunakan untuk menjalankan generator untuk menghasilkan listrik (Junus, 1995).

Gas bio merupakan sumber energi ramah lingkungan, karena sumber bahannya memiliki rantai karbon yang lebih pendek bila dibandingkan dengan

minyak tanah, sehingga gas CO yang dihasilkan relatif lebih sedikit (Firdaus, 2006).

Bahan keluaran (*sludge*) yang dihasilkan dari digester gas bio memiliki keuntungan yaitu sebagai pupuk dan kondisioner tanah, yang berarti dapat digunakan untuk memperbaiki struktur tanah dan daya tahan air. Selain itu *sludge* dapat pula digunakan sebagai pakan ikan dan medium tumbuhnya *algae* yang dapat dijadikan sebagai pakan ikan. *Sludge* yang biasanya berwarna kehitam-hitaman memiliki kelebihan yaitu, sudah tidak berbau dan tidak menimbulkan kesan kotor, bahkan tidak mengandung bibit penyakit dan tidak disukai lalat (Apandi, 1979).

Menurut Amaru (2004), gas bio yang dihasilkan dari digester dengan volume bahan basah $8,8 \text{ m}^3$ yang dihasilkan dari aliran bahan 220 kg/ hari (feses dari lima ekor sapi) adalah sebesar $1,44 \text{ m}^3 / \text{hari}$ atau dapat digunakan memasak 3 – 4 jam. Bila didekati dari kebutuhan air minum dan nasi sebagai makanan pokok keluarga peternak yang terdiri dari 4 orang, gas bio digunakan untuk mendidihkan air dengan volume 6 liter atau 1 teko selama 45 menit. Pada penggunaan untuk memasak nasi dilakukan dalam dua tahap, yaitu beras ditanak terlebih dahulu hingga air menyusut kemudian dipindahkan untuk dikukus diperoleh waktu selama 58 menit untuk berat beras 1,5 kg.

Menurut Saputro dan Putri (2009), produksi gas bio dengan feses, air dan penambahan cairan rumen pada perbandingan 1 : 1 : 1 dapat menghasilkan produksi gas bio yang terbaik sebesar 1,75 l selama 30 hari waktu inkubasi dengan volume penampungan substrat sebesar 1,5 l. Komposisi perbandingan

tersebut terdiri dari feses : air : cairan rumen yang bila dihitung dalam persen, maka penambahan cairan rumen pada pembuatan gas bio ini mencapai 33 %.

K. Gas Metana

Gas bio yang didominasi oleh gas metana, merupakan gas yang dapat dibakar. Metana secara luas diproduksi di permukaan bumi oleh mikrobia pembusuk dengan cara menguraikan bahan organik. Mikrobia ini terdapat di rawa-rawa, lumpur sungai, sumber air panas (*hot spring*), dan perut hewan herbivora seperti sapi dan domba. Hewan – hewan ini tidak dapat memproses rumput yang mereka makan, bila tidak ada bakteri anaerobik yang memecah selulosa didalam rumput menjadi molekul yang dapat diserap oleh perut mereka (Amaru, 2004).

Menurut Sutariningsih dan Sri Yuni (1989), mikrobia penghasil metana bersifat anaerob obligat, Gram positif dan tidak motil, pleiomorfik bentuk batang dengan ukuran antara 2 – 15 μ m, bersifat kemolito-heterotrof atau membentuk struktur sel dari senyawa organik, pertumbuhannya terhambat dengan adanya oksigen 0,01 mg/lO₂ terlarut, dan hidup pada nilai keasaman 2,0 – 8,0.

Karakteristik dari metana murni adalah tidak berwarna dan tidak berbau, sedangkan bau gas bio yang timbul diakibatkan oleh komponen lain yaitu hidrogen sulfida (H₂S). Komposisi metana dengan udara akan menentukan pada kandungan berapa campuran yang mudah meledak dapat dibentuk. Pada LEL (*lower explosive limit*) 5,4 % metana dan UEL (*upper explosive limit*) 13,9 % basis volume. Di bawah 5,4 % tidak cukup metana sedangkan, di atas 14 % terlalu

sedikit oksigen untuk menyebabkan ledakan. Ini menunjukkan gas metana merupakan gas yang mudah terbakar dan dapat mengakibatkan ledakan. Suhu yang dapat menyebabkan ledakan sekitar $650 - 750^{\circ}\text{C}$ (Amaru, 2004).

Pengukuran persentase gas metana menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Sampel gas bio 1 ml diambil menggunakan *syring* dan diinjeksikan ke dalam detektor dengan suhu injeksi 170°C . Nitrogen digunakan sebagai pembawa dengan kecepatan 30 ml./ menit. Sampel yang dibawa oleh nitrogen masuk ke dalam kolom berupa *carbon active* yang terbuat dari bahan *stainless steel* dengan panjang 1 meter dan suhu kolom 140°C . Kolom akan memisahkan komponen gas, setelah komponen gas terpisahkan kemudian akan terdeteksi oleh detektor jenis *Flame Ionitiation Detector* (FID). Hasil deteksi berupa sinyal dalam bentuk puncak-puncak segitiga yang ditarik oleh kromatograf (Sastrohamidjojo, 1985).

Kromatogram (puncak-puncak segitiga) memberikan data secara kualitatif, yaitu hasil deteksi dari beberapa komponen yang telusuri dan secara kuantitatif yang menggambarkan luas puncak sebanding dengan massa komponen yang telusuri (Sastrohamidjojo, 1985).

Analisis kualitatif yaitu membandingkan waktu retensi senyawa murni (senyawa standar) dengan senyawa yang dianalisis (sampel). Bila ternyata waktu retensinya sama maka dua senyawa tersebut adalah sama. Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan untuk mengelusikan senyawa setelah diinjeksikan. Analisis kuantitatif adalah menentukan jumlah (persentase) komponen-komponen yang dari suatu sampel (Sastrohamidjojo, 1985).

Komponen-komponen yang terpisah akan digambarkan dalam bentuk puncak-puncak segitiga. Cara pengukuran luas puncak segitiga pada kromatogram digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Luas Puncak Segitiga} = \text{Tinggi} \times \text{Lebar pada Setengah Tinggi}$$

Lebih lanjut Sastrohamidjojo (1985) menambahkan, persentase gas metana pada sampel dapat diketahui dengan membandingkan hasil yang diperoleh dengan standar metana. Cara pengukuran persentase metana adalah sebagai berikut :

$$\text{Konsentrasi metana} = \frac{\text{Luas Puncak segitiga} \times \text{Konsentrasi standar metana}}{\text{Luas Puncak Segitiga Standar Metana}}$$

L. Hipotesis

Penambahan mikrobial rumen berupa cairan rumen sapi pada feses sapi dapat meningkatkan produksi gas bio.