**Supporting information**

* 1. **Analisis Hasil Penelitian**
		1. Pengukuran Derajat Keasaman (pH).

pH medium fermentasi diukur menggunakan pH meter Lutron PH-208 yang dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 7. Pengukuran dilakukan setiap pengambilan sampel cairan.

* + 1. Perhitungan Volum Biogas dan Kadar H2.

Volum biogas diukur dengan *high gasometer*, yaitu berupa silinder tertutup atau kolom yang sebagian terendam dalam wadah terbuka yang berisi air garam sebagai *barrier solution* yang berisi air garam 75% jenuh dengan pH = 2. Gas mengalir ke kolom melalui katup bawah yang terhubung langsung ke reaktor. Gas yang masuk ke dalam kolom *high gasometer* ini akan menggantikan *barrier solution* ke dalam wadah (Walker dkk., 2009).



Gambar 3.3. Alat Pengukur Gas (*High gasometer*).

Untuk menghitung volum biogas yang dihasilkan digunakan Persamaan (3.3) (Goff dan Gratch, 1946):



dengan $P\_{H\_{2O}}$ dapat dihitung dengan Persamaan (3.4):



Untuk mengukur kadar H2 dapat dilakukan dengan mengambil gas menggunakan *syringe* sebanyak 10 mL dan disimpan di dalam *venoject*. Analisis kadar gas H2 dilakukan di Laboratorium Analisis dan Instrumen, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada. Gas yang telah disimpan di dalam *venoject* diinjeksikan ke dalam *Gas Chromatography* (GC) Shimadzu GC 14B, Japan, dengan kolom SUS Packed Porapak Q, 5 m x 4 mm 1.D., 60 °C *colum oven temperature*, 100 kPa *inlet pressure*, *flame ionization detector* (FID) dan gas N2 sebagai *gas carrier*.

* + 1. Pengukuran *Total Solid* (TS) dan *Volatile Solid* (VS).

Pengukuran *total solid* (TS) dan *volatile solid* (VS) diperlukan untuk mengetahui seberapa banyak substrat yang digunakan dan degradasi sumber karbon. *Total solid* (TS) dan *volatile solid* (VS) dapat dihitung dengan metode gravimetri sesuai metode standar APHA 1998. Untuk menghitung kadar *total solid* (TS), dapat dilakukan dengan mengeringkan krus yang sudah dibersihkan menggunakan oven pada suhu 103-105 °C selama ± 15-20 menit.

Simpan dan dinginkan dalam desikator selama 15 menit, kemudian timbang dan catat berat awal krus. Masukkan sampel ke dalam krus (catat berat krus dan sampel), setelah itu masukkan dalam oven dan uapkan pada suhu 103-105 °C selama 1 jam. Keluarkan krus dari oven kemudian dinginkan hingga suhu ruang dalam desikator selama 15 menit. Timbang berat sampel (catat sebagai nilai berat kering/ *total solid*). Perlakuan tersebut diulangi hingga perubahan berat lebih kecil dari 4% terhadap penimbangan sebelumnya atau lebih kecil dari 0,5 mg. Nilai *total solid* (TS) dapat dihitung dengan menggunakan rumus pada persamaan (3.1).

Adapun untuk menghitung kadar *volatile solid* (VS), dapat dilakukan dengan memasukkan sampel kering ke dalam *furnace* pada suhu 550 °C selama 3 jam, setelah itu keluarkan krus dan dinginkan dalam desikator. Timbang berat sampel (catat sebagai nilai berat abu). Nilai *volatile solid* (VS) bahan ditentukan dengan rumus pada persamaan (3.2).

* + 1. Analisis *Volatile Fatty Acid* (VFA)

Analisis sampel cairan dilakukan di Laboratorium Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada. Sampel larutan yang diambil pada saat sampling disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian di analisis menggunkan *Gas Chromatograhpy-Mass Spectrometry* (GC-MS) Hewlett Packard 5890 II, dengan kolom CP-FFA 25 m x 0,32 m x 0,3 µm, fase diam 95% *dimethyl* 5% *diphenylpolysilosane*, *flame ionization detector* (FID) dan gas H2 sebagai *gas carrier*. Larutan standar untuk analisis VFA diperoleh dari Sigma-Aldrich (*Standar Volatile Free Acid* No. Cat: 46975-U Supelco). Analisis ini digunakan untuk mengetahui produk samping dari proses fermentasi seperti asam-asam organik.

Tabel 1. Kadar H2 (%)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OLR, kg VS/ m3.hari | Harike- | % H2 |
| Titik *Sampling* Gas 1 | Titik *Sampling* Gas 2 | Titik *Sampling* Gas 3 |
| 6.044 | 1 | 0.952 | 1.154 | 1.343 |
| 2 | 1.082 | 1.382 | 1.41 |
| 3 | 1.506 | 1.788 | 1.866 |
| 5 | 2.743 | 2.98 | 2.901 |
| 7 | 4.429 | 4.926 | 5.021 |
| 7.621 | 8 | 1.029 | 0.853 | 1.191 |
| 9 | 1.181 | 1.786 | 1.616 |
| 10 | 2.578 | 2.295 | 2.378 |
| 12 | 2.2 | 3.399 | 3.343 |
| 14 | 4.448 | 2.124 | 4.327 |
| 26.315 | 15 | 12.188 | 13.004 | 9.411 |
| 16 | 12.108 | 10.409 | 14.338 |
| 17 | 1.491 | 1.682 | 1.239 |
| 19 | 12.603 | 21.357 | 22.809 |
| 21 | 2.743 | 0 | 2.733 |

Tabel 2. Produksi Bio-H2 (mL/ g VS)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| OLR, kg VS/ m3.hari | Harike- | Volume Bio-H2, mL/ g VS | Volume Bio-H2 Akumulasi, mL/ g VS |
| Titik *Sampling* Gas 1 | Titik *Sampling* Gas 2 | Titik *Sampling* Gas 3 |
| 6.044 | 1 | 0.0592 | 0.0394 | 0.2160 | 0.3145 |
| 2 | 0.0113 | 2.3103 | 5.9899 | 8.3115 |
| 3 | 0.0043 | 7.4325 | 2.3944 | 9.8311 |
| 5 | 0.0066 | 4.1100 | 56.8670 | 60.9836 |
| 7 | 0.5934 | 14.6858 | 3.4997 | 18.7789 |
| 7.6217 | 8 | 0.0867 | 0.0056 | 5.4560 | 5.5484 |
| 9 | 0.1937 | 0.5182 | 9.5328 | 10.2447 |
| 10 | 0.6728 | 0.3247 | 5.7118 | 6.7093 |
| 12 | 0.4505 | 0.1840 | 19.9164 | 20.5508 |
| 14 | 0.2573 | 13.0004 | 6.6385 | 19.8963 |
| 26.3152 | 15 | 0.9912 | 0.6300 | 81.8367 | 83.4579 |
| 16 | 4.8410 | 8.4129 | 17.4229 | 30.6767 |
| 17 | 0.0967 | 0.6282 | 1.3861 | 2.1111 |
| 19 | 0.6239 | 50.4097 | 39.8567 | 90.8904 |
| 21 | 0.2061 | 0 | 6.9970 | 7.2031 |

Tabel 3. Konsentrasi *Volatile Fatty Acid* (mg/ L)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OLR,kg VS/ m3.hari | Hari ke- | Konsentrasi Asam Asetat, mg/ L |
| 6.0443 | 1 | 713.1287 |
| 2 | 660.1001 |
| 3 |  755.0250 |
| 5 | 655.5394 |
| 7 | 651.2482 |
| 7.6217 | 1 | 596.4368 |
| 2 | 587.2532 |
| 3 | 540.6925 |
| 5 | 491.7271 |
| 7 | 575.6856 |
| 26.3152 | 1 | 669.2838 |
| 2 | 465.8348 |
| 3 | 441.0411 |
| 5 | 787.3231 |
| 7 | 711.1593 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OLR,kg VS/ m3.hari | Hari ke- | Konsentrasi Asam Butirat,mg/ L |
| 6.0443 | 1 | 449.4691 |
| 2 | 507.1278 |
| 3 | 751.9808 |
| 5 | 466.5014 |
| 7 | 500.2370 |
| 7.6217 | 1 | 554.1749 |
| 2 | 502.2451 |
| 3 | 504.8913 |
| 5 | 475.1318 |
| 7 | 538.7142 |
| 26.3152 | 1 | 511.4531 |
| 2 | 511.6545 |
| 3 | 502.6280 |
| 5 | 558.7956 |
| 7 | 481.4719 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OLR,kg VS/ m3.hari | Hari ke- | Konsentrasi Asam Propionat, mg/ L |
| 6.0443 | 1 | 353.6511 |
| 2 | 489.3682 |
| 3 | 463.0171 |
| 5 | 472.1517 |
| 7 | 467.0681 |
| 7.6217 | 1 | 464.7944 |
| 2 | 516.4342 |
| 3 | 475.8253 |
| 5 | 492.7043 |
| 7 | 484.7414 |
| 26.3152 | 1 | 459.1548 |
| 2 | 456.5733 |
| 3 | 474.5147 |
| 5 | 512.1053 |
| 7 | 411.4269 |