

Penyisihan Nitrogen melalui Proses Anammox dengan Inokulum Lumpur Instalasi Pengolahan Air Limbah Pabrik Pupuk

Iing Surya Marlis¹, Puti Sri Komala² dan Zulkarnaini Zulkarnaini^{2*}

¹Program Studi Magister Teknik Lingkungan, Departemen Teknik Lingkungan, Universitas Andalas

²Departemen Teknik Lingkungan, Universitas Andalas; e-mail: zulkarnaini@eng.unand.ac.id

ABSTRAK

Pabrik pupuk merupakan salah satu industri yang menghasilkan air limbah dengan konsentrasi amonium tinggi yang jika dibuang langsung ke lingkungan akan membahayakan kehidupan di perairan. Sejauh ini pengolahan limbah pabrik masih menggunakan proses steam stripping dan wetland. Anammox merupakan bioteknologi untuk pengolahan air limbah dengan rasio karbon/nitrogen (C/N) yang rendah. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis penyisihan nitrogen menggunakan lumpur dari instalasi pengolahan air limbah pabrik pupuk sebagai inokulum dalam proses anammox. Penelitian menggunakan reaktor yang terdiri dari *housing filter* dan *string wound filter* sebagai media lekat biomassa yang dinamakan *Filter Bioreactor* (FtBR). FtBR yang sudah diisi dengan inokulum dari lumpur limbah pabrik pupuk dialiri substrat secara kontinu dengan konsentrasi amonium dan nitrit 70 mg-N/L, HRT 24 jam dan dioperasikan selama 120 hari pada suhu 35°C. Efisiensi penyisihan nitrogen dihitung dengan menguji konsentrasi amonium, nitrit dan nitrat menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kinerja penyisihan nitrogen dengan parameter ammonium conversion efficiency (ACE), nitrogen removal efficiency (NRE) dan removal rate (NRR) adalah 88,01%, 85,85%, 0,141 kg-N/m³.h, pada nitrogen loading rate (NLR) 0,144 kg-N/m³.h. Biomassa anammox yang dihasilkan berwarna merah tumbuh pada filter sebagai indikator biomassa bakteri anammox.

Kata kunci : Anammox, FtBR, lumpur, pabrik pupuk.

ABSTRACT

Fertilizer factory is one of the industries that produces wastewater with high ammonium concentration which, if discharged directly into the environment, will endanger life in the waters. So far, factory waste treatment is still using steam stripping and wetland processes. Anammox is a biotechnology for wastewater treatment with a low carbon/nitrogen (C/N) ratio. This study aims to analyze nitrogen removal using sludge from a fertilizer factory wastewater treatment plant as inoculum in the anammox process. The study used a reactor consisting of a filter housing and a string wound filter as a biomass adhesive medium called Filter Bioreactor (FtBR). The FtBR which was filled with inoculum from the sewage sludge from the fertilizer factory was fed continuously with ammonium and nitrite concentrations of 70 mg-N/L, 24 hours HRT and operated for 120 days at a temperature of 35°C. Nitrogen removal efficiency was calculated by testing the concentrations of ammonium, nitrite and nitrate using a UV-Vis Spectrophotometer. The performance of nitrogen removal with parameters of ammonium conversion efficiency (ACE), nitrogen removal efficiency (NRE) and removal rate (NRR) was 88.01%, 85.85%, 0.141 kg-N/m³.d, at a nitrogen loading rate (NLR) of 0.144. kg-N/m³.d. The red anammox biomass produced grows on the filter as an indicator of anammox bacterial biomass.

Keywords: Anammox, FtBR, fertilizer factory sludge

Citation: Marlis, I., Zulkarnaini., dan Komala, P. (2023). Kultivasi Bakteri Anammox dari Lumpur Instalasi Pengolahan Air Limbah Pabrik Pupuk. Jurnal Ilmu Lingkungan, 21(3), 717-724, doi:10.14710/jil.21.3.717-724

1. Pendahuluan

Industri pupuk merupakan salah satu industri yang menghasilkan air limbah dengan kandungan nitrogen yang tinggi (Mareta 2019). Pada salah satu pabrik pupuk di Indonesia, memiliki karakteristik air limbah pupuk NPK yaitu COD 727,6 mg/L, TSS 6450 mg/L, NH₃-N 0,7 mg/L, total nitrogen 0,8 mg/L dan pH 9,5 sedangkan karakteristik air limbah pupuk urea

yaitu COD 168,4 mg/L, BOD 60,4 mg/L, TSS 251 mg/L, NH₃-N 107,7 mg/L, TKN 3003,34 mg/L, pH 9,6 dan suhu 35°C. Kandungan nitrogen khususnya amonia pada efluen air limbah pupuk belum memenuhi baku mutu.

Penyisihan nitrogen dari air limbah dapat dilakukan dengan beberapa teknologi dan kombinasi diantaranya metode fisikokimia seperti *ammonium*

air-stripping, breakpoint chlorinasi dan ion-exchange dimana metode tersebut membutuhkan biaya operasional yang lebih tinggi, namun dianggap ekonomis jika konsentrasi amonium lebih tinggi dari 5 g-N/L (Mulder 2003).

Pengolahan air limbah pupuk pada salah satu industri pupuk di Indonesia terdiri dari metode *steam stripping* dan *wetland*. *Steam stripping* terdiri dari *stripper* dan *scrubber*. *Stripper* memiliki kelemahan yaitu membutuhkan biaya perawatan yang besar serta daya serta zat kapur yang tinggi. Selain itu suhu akan memengaruhi tingkat efisiensi penyisihan amonia. Kekurangan yang lainnya yaitu amonia yang dilepas ke udara akan menimbulkan pencemaran udara. *Scrubber* juga memiliki kelemahan, dimana metode ini rentan terhadap korosi, untuk efisiensi yang tinggi dibutuhkan power yang tinggi sehingga menimbulkan biaya operasional yang besar, pembuangan sisa pengolahan ini membutuhkan pengolahan lanjutan agar tidak mencemari lingkungan. Pengolahan dengan kolam *wetland* dengan memanfaatkan tanaman eceng gondok sebagai media absorpsi biologis urea dan amonia, dimana akan terjadi proses nitrifikasi dan denitrifikasi. Kekurangan dari metode ini diantaranya membutuhkan lahan yang luas dan membutuhkan kriteria desain dan operasi yang rumit.

Salah satu proses biologis yang dikembangkan saat ini dalam penyisihan nitrogen adalah *anaerobic ammonium oxidation* (anammox). Anammox merupakan proses konversi atau oksidasi amonium menjadi gas nitrogen menggunakan nitrit sebagai penerima elektron pada keadaan anoksik oleh bakteri anammox yang tergolong dalam Filum *Planctomycetes* (M. S. M. Jetten et al. 2005). Berdasarkan karakteristik bakteri anammox, proses penyisihan nitrogen dari air limbah mencapai kondisi optimal pada rentang suhu 30-40°C, walaupun kinerja anammox tetap berlangsung pada suhu 20°C, akan tetapi mengalami penurunan kinerja (Lotti, Kleerebezem, and van Loosdrecht 2015).

Penyisihan amonia pada lumpur pengolahan air limbah pabrik pupuk telah dilakukan sebelumnya oleh Huy Quoc Anh et al. (2015) dengan memanfaatkan komunitas bakteri yang ada di dalamnya dan dapat mengurangi biaya operasional sekitar 90%. Penelitian ini menggunakan reaktor SBR selama 100 hari dengan penyisihan nitrogen sebesar 80%. Bakteri *Planctomycetes* mendominasi dari seluruh populasi bakteri yang ada di dalam reaktor. Hanya sebagian kecil dari populasi yang terdiri dari bakteri pengoksidasi amonium aerobik. Keluskar et al. (2013) melaporkan penyisihan 98,9% amonia dari industri pupuk pada reaktor SNAD (*Simultaneous Partial Nitrification, Anammox and Denitrification*), suhu 30°C, dan waktu retensi hidrolis 2,31 hari. Di Indonesia, Putra, Zulkarnaini, and Komala (2020) telah menyelidiki potensi dari keberadaan bakteri anammox spesies air tawar dalam penyisihan nitrogen pada iklim tropis di Indonesia dengan

melakukan kultivasi menggunakan *filter bioreactor* (FtBR) dan sumber inokulum dari lumpur Telaga Koto Baru. Kultivasi dilakukan pada suhu ambien dan suhu 35°C. Setelah 140 operasional reaktor diperoleh efisiensi penyisihan nitrogen (*nitrogen removal efficiency/NRE*) 91,92%. Sementara itu, Lulrahman et al. (2022) melakukan kultivasi bakteri anammox air asin (*marine anammox*) dengan sumber inokulum dari lumpur muara sungai "Muaro Panjalinan," Kota Padang, dengan efisiensi penyisihan nitrogen sebesar 46,52%. Sedangkan Gumelar et al. (2022) menggunakan limbah padat tambak udang sebagai inokulum dengan penyisihan yang lebih tinggi yaitu 72,58%.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis penyisihan nitrogen dengan proses anammox menggunakan lumpur limbah industri pupuk sebagai sumber inokulum menggunakan FtBR.

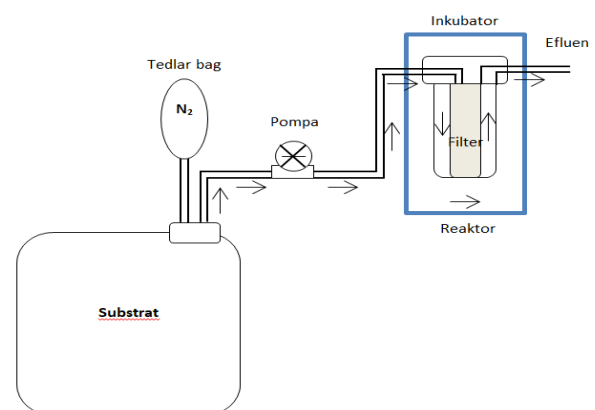
2. Metodologi

2.1. Inokulum

Penelitian menggunakan inokulum dari lumpur limbah pabrik pupuk. Inokulum merupakan gabungan dari lumpur yang diambil pada unit *wetland* IPAL produksi pupuk urea dan limbah produksi pupuk NPK masing-masing sebanyak 3 L. Sebanyak 1,5 L sampel lumpur ini nantinya akan dimasukkan ke dalam reaktor yang akan dialiri air limbah artifisial secara kontinu.

1) Konfigurasi Reaktor

Gambar 1 memperlihatkan konfigurasi FtBR untuk penelitian. FtBR dengan volume 1.800 mL terbuat dari material akrilik dilengkapi *string wound filter cartridge* sebagai media lekat bakteri. Pompa peristaltik memompakan substrat dari jerigen air limbah ke reaktor secara kontinu. Jerigen dilengkapi *tedlar bag* berisi gas N₂ untuk menjaga kondisi anaerobik. Pada bagian atas reaktor terdapat effluen yang dibagi menjadi 2 saluran yaitu saluran cairan effluen untuk analisis sampel dan gas yang dihasilkan dialirkan ke *tedlar bag*. Reaktor ditutupi dengan aluminium foil untuk menghalangi cahaya agar bakteri heterotrofik tidak berkembang dan reaktor diletakkan di dalam inkubator dengan suhu konstan 35°C.



Gambar 1 Konfigurasi Reaktor Penelitian

2) Komposisi air limbah artifisial

Reaktor dijalankan dengan mengalir air limbah artifisial dengan komposisi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan NaNO_2 masing-masing 70 mg-N/L ke dalam medium yang terdiri dari $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 300 mg/L; $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 180 mg/L; KH_2PO_4 27,2 mg/L; *Trace element I* 1 mL/L; *Trace element II* 1 mL/L; dan KHCO_3 500 mg/L (Zulkarnaini, Nur, and Ermaliza 2019).

3) Metode Analitis dan Perhitungan

Efisiensi penurunan kadar amonium, nitrit dan nitrat pada influen dan efluen diukur satu kali dalam seminggu. Analisis konsentrasi amonium dengan metode nessler, nitrit dengan spektrofotometri dan nitrat dengan skrining UV Spektrofotometri menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800, Kyoto, Japan). Perhitungan efisiensi kinerja anammox dihitung dengan persentase *ammonium conversion efficiency* (ACE), *nitrogen removal efficiency* (NRE), atau *nitrogen loading rate* (NLR) dan *nitrogen removal rate* (NRR) (Zulkarnaini et al. 2018).

$$ACE = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{out}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in}} \times 100 \%$$

$$NRE = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{in} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{out} - [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{out} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{out}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{in}} \times 100 \%$$

$$NLR = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{in}}{HRT} \times \frac{24}{1000}$$

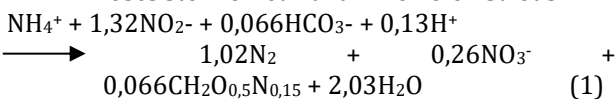
$$NRR = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{in} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{in} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{out} - [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{out} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{out}}{HRT} \times \frac{24}{1000}$$

3. Hasil dan Pembahasan

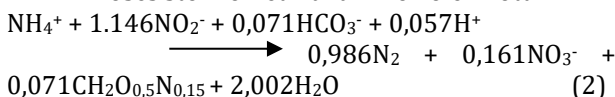
3.1. Stoikiometri Penelitian Anammox

Bakteri anammox mengoksidasi amonium dan mengambil nitrit sebagai penerima elektron menjadi gas nitrogen secara autotrof dalam kondisi anaerobik. Stoikiometri proses anammox didefinisikan oleh Strous et al. (1998) (1) dan (Lotti et al. 2014) (2) pada reaksi berikut :

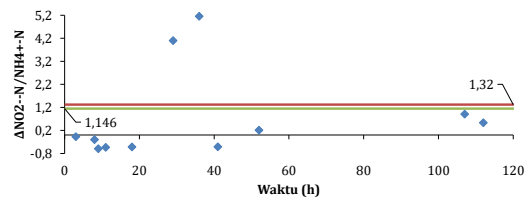
Proses stoikiometri anammox oleh Strous :



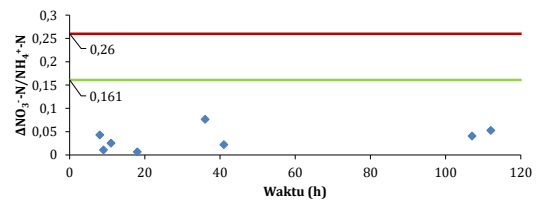
Proses stoikiometri anammox oleh Lotti :



Reaksi anammox yang berlangsung secara anaerob akan menghasilkan 0,26 mol nitrat dan 1,02 mol gas nitrogen yang merupakan indikator berlangsungnya proses anammox yang berasal dari konversi 1 mol amonium yang direaksikan dengan 1,32 mol nitrit. Rasio konsentrasi $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ dan $\text{NO}_2^- - \text{N}$ pada air limbah artifisial yang disuplai ke reaktor adalah 1.



Gambar 2 Grafik Rasio $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$



Gambar 3 Grafik Rasio $\Delta\text{NO}_3\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$

Nilai Stoikiometri rasio $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ yang dinyatakan oleh Strous adalah 1,32 sedangkan yang dirumuskan oleh Lotti adalah 1,146. Sementara itu, rasio $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ yang diperoleh dari penelitian ini adalah 1,806. Nilai rasio ini berbeda bahkan berada diatas nilai rasio yang dirumuskan oleh Strous maupun Lotti namun mendekati nilai rasio oleh Strous.

Nitrat merupakan hasil sampingan dari proses anammox. Pada percobaan ini diperoleh nilai rasio $\Delta\text{NO}_3\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ yaitu 0,192. Strous dan Lotti dalam penelitiannya merumuskan nilai rasio $\Delta\text{NO}_3\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ yaitu 0,26 dan 0,161. Dari nilai tersebut dapat dilihat bahwa nilai rasio $\Delta\text{NO}_3\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ pada penelitian ini mendekati rasio teoritis oleh Lotti (Gambar 2-3).

3.2 Profil nitrogen selama operasional reaktor

Profil nitrogen selama penelitian berlangsung diperlihatkan pada Gambar 4. Konsentrasi amonium, nitrit dan nitrat berfluktuasi berdasarkan proses yang berlangsung.

1) Amonium

Biakan inokulum anammox merupakan lumpur yang bersumber dari air limbah pabrik pupuk dimana karakteristiknya memiliki konsentrasi amonium yang tinggi. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis efluen dari reaktor FtBR yang sudah *running* di hari ke 3 dimana konsentrasi amonium ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) adalah 614,241 mg-N/L. Penurunan konsentrasi amonium pada efluen terjadi selama operasional reaktor tidak bermasalah. Pada minggu pertama operasi reaktor, konsentrasi amonium terjadi penurunan yang drastis hingga hari ke 22 yaitu 85,66 mg-N/L. Konsentrasi amonium pada hari ke 22 ini sudah mendekati konsentrasi amonium pada influen yaitu 71,68 mg-N/L. Kondisi ini tidak mengalami perubahan hingga operasi reaktor hari ke 41. Hal ini dikarenakan kondisi lumpur yang memiliki konsentrasi amonium yang sangat tinggi dimana konsentrasi TKN 743,40 mg/L dan juga dipengaruhi oleh bakteri aerob dan heterotrof yang mengalami pemecahan nitrogen organik menjadi amonia. Sementara itu, pertumbuhan bakteri anammox yang lambat yaitu 0,0027/hari

dengan waktu penggantian 11 hari (Strous, J. Fuerst, and Muyzer 1999).

Pada hari ke 52, konsentrasi amonium pada efluen mengalami penurunan dari konsentrasi pada influen yaitu 54,89 mg-N/L. Hal ini merupakan pertanda bahwa kinerja dari bakteri anammox sudah mulai terlihat. Namun demikian kondisi tersebut tidak stabil dikarenakan pada hari ke 65 konsentrasi amonium pada efluen meningkat lagi menjadi 80,22 mg-N/L. Hal ini terjadi karena adanya gangguan pada pompa yang mengalirkan influen ke dalam reaktor sehingga reaktor mengalami penurunan kinerja. Proses anammox mulai menunjukkan kinerja yang optimal pada operasi hari ke 107 dimana konsentrasi amonium pada efluen 5,806 mg-N/L dan peningkatan kinerja proses anammox berlangsung stabil. Pandemi Covid 19 yang melanda seluruh dunia berdampak pada data yang diperoleh saat penelitian ini. Adanya Pembatasan Sosial Berskala Besar (PSBB) yang diberlakukan di seluruh Indonesia tanpa terkecuali mengakibatkan peneliti tidak dapat mengambil data secara rutin. Akan tetapi substrat terus disuplai selama penelitian berlangsung.

2) Nitrit

Bakteri anammox mengoksidasi amonium dan mengambil nitrit sebagai penerima elektron menjadi gas nitrogen secara autotrof dalam kondisi anaerob. Nitrit merupakan salah satu substrat untuk bakteri anammox namun jika dalam jumlah yang tinggi dapat menyebabkan metabolisme sel anammox berhenti (Strous, J. A. Fuerst, et al. 1999).

Konsentrasi nitrit diawal operasi reaktor terjadi penurunan, hal ini menandakan bahwa adanya proses denitrifikasi dimana nitrit direduksi menjadi gas nitrogen dalam kondisi anoksik oleh bakteri heterotrofik. Fenomena ini juga dicurigai karena adanya proses *Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium* (DNRA). Ciri-ciri proses DNRA yaitu terjadinya penurunan konsentrasi nitrat dan nitrit karena reduksi nitrat menjadi nitrit dan kemudian diubah menjadi amonium sehingga konsentrasi amonium menjadi naik. Pada awal operasi reaktor konsentrasi nitrit di hari ke 3 adalah 31,498 mg-N/L. Penurunan konsentrasi nitrit pada efluen terjadi hingga hari ke 18. Konsentrasi nitrit pada hari ke 18 merupakan penurunan konsentrasi nitrit yang paling rendah yaitu 7,782 mg-N/L. hal ini menandakan bahwa nitrit yang ada bersama amonium digunakan oleh bakteri anammox dikonversi menjadi gas nitrogen.

Namun pada operasi reaktor hari ke 22 hingga hari ke 74 konsentrasi nitrit naik menjadi 66,49 mg-N/L kondisi ini tidak berubah. Hal ini terjadi karena adanya masalah pada pompa influen yang menyebabkan influen tidak lancar masuk ke reaktor, selain itu kondisi pandemi Covid 19 yang menyebabkan kurangnya kontrol terhadap reaktor. Beberapa masalah yang muncul yaitu tersumbatnya aliran influen, bocornya selang influen, operasi pompa yang tidak jalan/ macet dan kurang lancarnya aliran substrat dalam jangka waktu yang lama. Peningkatan

konsentrasi nitrit secara signifikan terjadi setelah pembuangan lumpur yang pertama kali yaitu 12,88 mg-N/L pada hari ke 107 dan 38,08 mg-N/L pada hari ke 112. Konsentrasi nitrit kembali lagi turun secara signifikan seiring dengan penurunan konsentrasi amonium pada efluen. Hal ini membuktikan bahwa kinerja proses anammox berjalan optimal karena penyisihan nitrogen pada fase ini juga maksimal.

3) Nitrat

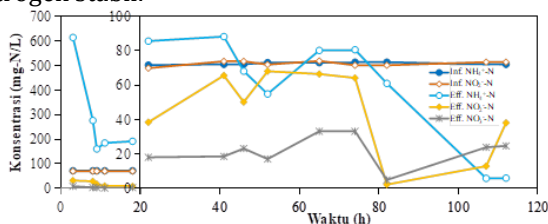
Jalur reaksi biokimia pada bakteri anammox ada dua tahap. Pertama, terjadi pengurangan nitrit menjadi oksida nitrat oleh nitrat. Kedua, amonium dikombinasikan dengan oksida nitrat oleh hidrolase hidrazin menjadi bentuk hidrazin. Hidrazin yang terbentuk tersebut dioksidasi menjadi gas dinitrogen melalui hidrosilamin oksidoreduktase (Kartal, Kuenen, and Van Loosdrecht 2010). Reaksi anammox selalu dikaitkan dengan produksi nitrat. Reaksi ini terjadi di dalam anammoxosom yang merupakan kompartemen terpisah tanpa ribosom dan menciptakan gradien proton di seluruh membrane anammoxosom (M. Jetten et al. 2005).

Pada operasi reaktor di hari ke 3 jumlah nitrat dalam efluen masih sangat rendah yaitu 8,137 mg-N/L. Konsentrasi nitrat ini selalu mengalami penurunan hingga hari ke 11 yaitu 1,080 mg-N/L. Hal ini dicurigai bahwa terjadi proses denitrifikasi nitrat menjadi N_2 dengan memanfaatkan zat organik yang berasal dari lumpur inokulum. Namun, yang dinyatakan oleh (Mulder et al. 1995) dalam penelitiannya bahwa di dalam proses anammox gas N_2 dihasilkan dari reaksi amonium dan nitrit oleh bakteri anammox tanpa adanya pembentukan nitrat terlebih dahulu dan tanpa proses denitrifikasi. Penelitian yang dilakukan oleh Gonzalez-Martinez et al. (2015) juga mengatakan bahwa keberadaan bahan organik akan meningkatkan pertumbuhan bakteri heterotrofik yang berperan dalam penyisihan nitrogen melalui proses denitrifikasi. Pada hari ke 22 hingga hari ke 74 operasi reaktor, konsentrasi nitrat meningkat jauh hingga 33,149 mg-N/L. Keberadaan nitrat di dalam efluen membuktikan bahwa nitrat tersebut merupakan hasil dari proses anammox dalam kondisi anaerobik, seperti yang terlihat pada stoikiometri anammox dimana proses anammox menghasilkan nitrat.

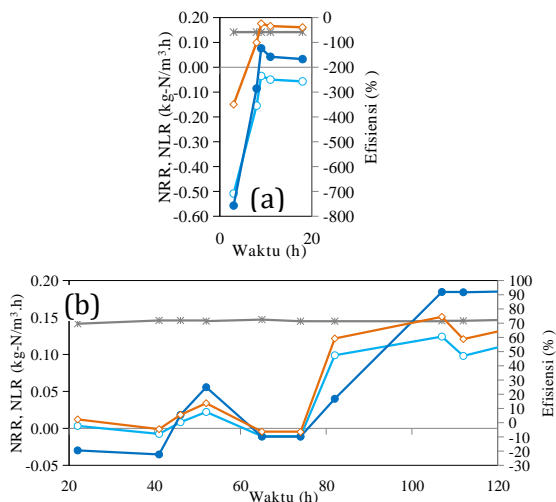
3.3 Penyisihan Nitrogen

Gambar 5 menunjukkan kinerja penyisihan nitrogen. Pada awal pengoperasian reaktor, konsentrasi amonium pada efluen selalu lebih tinggi dari pada konsentrasi amonium influen. Hal ini terjadi dari hari pertama hingga hari ke 41. Sehingga selama 41 hari tersebut kinerja reaktor bernilai negatif. Dalam percobaan yang dilakukan oleh Putra et al. (2020) juga terjadi peningkatan konsentrasi amonium pada efluen tetapi hanya 15 hari. Perbedaan ini terjadi karena pada penelitian ini menggunakan lumpur dari air limbah pabrik pupuk yang memiliki kandungan amonium yang tinggi, sehingga proses anammox membutuhkan waktu yang lebih lama

untuk kinerja yang optimal. Peningkatan amonium ini berasal dari bakteri aerob dan heterotrof yang mati karena adanya perubahan kondisi lingkungan sehingga terjadi lisis sel (H. Chen et al. 2016). Dari minggu pertama hingga hari ke-82 dapat dilihat bahwa penyisihan nitrogen semakin tinggi, terutama pada hari ke 82 menunjukkan peningkatan penyisihan nitrogen yang drastis yaitu 59,22% yang merupakan awal dari stabilnya kinerja anammox untuk hari selanjutnya. Pada hari ke-115 dilakukan pembuangan lumpur karena kinerja anammox yang sudah mulai stabil dengan nilai penyisihan nitrogen 74,48% dan tampak fisik dari biomassa anammox sudah mulai menunjukkan warna merah kecokelatan yang menempel pada dinding dan tutup reaktor FtBR. Pada Dari hari ke-82 hingga hari ke 120 penyisihan nitrogen stabil.



Gambar 4 Profil Nitrogen Selama Penelitian



Gambar 5 Kinerja Penyisihan Nitrogen (A) Hari 0-20 dan (B) Hari 20-120

1) Fase Pertumbuhan Bakteri Anammox

Menurut C. Chen et al. (2016) dengan melihat konsentrasi amonium pada efluen dalam proses anammox dapat dibagi menjadi empat tahap, yaitu *cell lysis phase* (fase lisis sel), *lag phase* (fase penyesuaian), *transition phase* (fase transisi), dan *activity elevation phase* (fase eksponensial). Pada penelitian ini memiliki keempat fase tersebut. Dimana fase pertama yaitu fase lisis ditandai dengan konsentrasi amonium pada efluen lebih tinggi di dibandingkan dengan influen serta terjadi penurunan konsentrasi nitrit pada efluen. Fase penyesuaian ditandai dengan konsentrasi amonium pada efluen yang tidak stabil. Fase transisi ditandai dengan optimalnya kinerja anammox dimana nilai ACE, NRE dan NRR bernilai maksimal. Yang terakhir adalah fase

eksponensial dimana fase ini ditandai dengan kinerja proses yang stabil, fase ini disebut juga dengan fase *steady state*.

a) Fase lisis sel/*cel lysis phase*

Fase lisis sel pada proses anammox ditandai dengan konsentrasi amonium pada efluen lebih tinggi dari pada konsentrasi amonium pada influen (Chen et al. 2012). Hal ini disebabkan oleh peningkatan konsentrasi amonium yang berasal dari bakteri aerob dan heterotrof yang mati oleh perubahan lingkungan dan mengakibatkan lisis sel dan pemecahan nitrogen organik menjadi amonium (Wang et al. 2013). Sementara itu terjadi penurunan konsentrasi nitrit yang menunjukkan adanya proses denitrifikasi pada proses tersebut.

Pada Gambar 4 terlihat bahwa fase lisis terjadi selama 41 hari yang ditandai dengan konsentrasi amonium pada efluen selalu lebih tinggi dari pada konsentrasi amonium pada influen. Konsentrasi amonium pada efluen di hari ke 46 tersebut yaitu 88,25 mg-N/L lebih tinggi dari konsentrasi amonium pada influen yaitu 72,13 mg-N/L.

Sementara itu konsentrasi nitrit pada efluen juga terus menurun dibandingkan dengan konsentrasi nitrit pada influen. Penurunan yang signifikan terjadi pada hari ke 18 yang menunjukkan adanya aktivitas bakteri denitrifikasi (Chamchoi and Nitorisavut 2007). Adanya nitrat pada efluen dikarenakan karena pengaruh dari konsentrasi awal lumpur limbah pupuk tersebut. Pada fase ini didapat nilai ACE, NRE, dan NRR secara berturut-turut pada hari ke 41 adalah -22,35 kg-N/m³.h, -4,55 kg-N/m³.h, dan -0,008 kg-N/m³.h. Fase lisis ini berakhir ditandai dengan terjadinya penurunan konsentrasi nitrit secara drastis pada hari selanjutnya serta NRR yang sudah bernilai positif.

b) Fase penyesuaian/*lag phase*

Pada fase ini konsentrasi amonium efluen cenderung mendatar atau sama dengan konsentrasi amonium pada influen. Terjadinya kenaikan dan penurunan konsentrasi amonium yang tidak stabil pada efluen merupakan tanda akhir dari proses pada fase ini.

Konsentrasi amonium pada influen masih tetap dipertahankan dengan kisaran 70 mg-N/L. Konsentrasi amonium pada efluen cenderung stabil, hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh C. Chen et al. (2016). Proses ini terlihat hingga hari ke-82 dengan nilai konsentrasi pada efluen diantaranya amonium 61,06 mg-N/L, nitrit 2,18 mg-N/L dan nitrat 4,86 mg-N/L. Namun pada hari ke-107 konsentrasi amonium pada efluen menurun drastis yaitu 5,81 mg-N/L. Dengan terjadinya penurunan konsentrasi amonium yang drastis pada hari ke-107 ini menunjukkan akhir dari proses penyesuaian ini dan proses akan masuk pada tahap *transition phase*/fase transisi.

c) Fase transisi/*transition phase*

Pada fase ini ditandai dengan mulai tampaknya kinerja penyisihan amonium dalam proses anammox yang dapat dilihat dari nilai ACE, NRE, NRR dan NLR.

Dimana nilai masing-masingnya yaitu ACE 91,95 Kg-N/m³, NRE 74,48 Kg-N/m³, NRR 0,124 Kg-N/m³ dan NLR 0,146 Kg-N/m³. Proses maksimal pada fase ini terlihat pada running hari ke-107. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Chamchoi and Nitorisravut (2007) yang menyatakan bahwa fase transisi menunjukkan adanya nilai positif ataupun maksimal terhadap nilai ACE, NRE, NRR dan NLR. Tidak semua peneliti kultivasi anammox akan memperoleh hasil yang sama, tetapi tergantung pada aktivitas anammox yang diperoleh Chen et al. (2012).

d) Fase eksponensial/*activity elevation phase*

Fase ini merupakan fase terakhir pada tahapan *start-up* dimana tahap ini menunjukkan kinerja penyisihan nitrogen yang bernilai positif dan stabil. Efisiensi penyisihan amonium diatas 80% dengan pengamatan visual telah terjadi perubahan di dalam reaktor dimana lumpur dalam reaktor sudah mulai berwarna merah kecoklatan. Karena kestabilan penyisihan nitrogen ini fase ini sering disebut dengan fase *steady state* (Chen et al. 2012). Pada penelitian ini fase *steady state* dimulai pada hari ke-107 tepat setelah fase transisi penyisihan nitrogen sudah stabil. Dimana nilai ACE, NRE, NLR dan NRR maksimal pada fase ini yaitu ACE 93,79 Kg-N/m³.h, NRE 81,49 Kg-N/m³.h, NRR 0,147 Kg-N/m³.h dan NLR 0,149 Kg-N/m³.h. Dalam penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa proses anammox merupakan sistem yang sangat efisien dan stabil dikembangkan untuk pengolahan limbah yang mengandung amonia dari industri pupuk tanpa penambahan sumber karbon ataupun nitrit dengan lama pengoperasian selama 120 hari pada suhu 35°C dimana efisiensi penyisihan amonia sebanyak 98,9% (Keluskar et al. 2013).

2) Faktor yang memengaruhi kinerja anammox

Berdasarkan karakteristik bakteri anammox, proses penyisihan nitrogen dari air limbah mencapai kondisi yang optimal pada rentang suhu 35-40°C (Yusof et al. 2013). Proses anammox masih memungkinkan terjadi pada suhu di bawah 20°C namun akan mengalami penurunan kinerja. Sedangkan kinerja anammox akan tinggi yaitu pada suhu > 30°C khususnya yang berasal dari sumber inokulum limbah kinerja sangat lambat dan optimal tumbuh pada suhu > 30°C dan dengan kandungan amonium tinggi yaitu sekitar 500-1500 mg/L NH₄⁺-N (Jenni et al. 2014; Kuenen 2008). Suhu dan konsentrasi amonium merupakan dua faktor yang digunakan dalam menentukan jenis pengolahan air limbah. Aktivitas anammox menunjukkan korelasi yang kuat dengan tingkat kelimpahan bakteri anammox (Jin et al. 2013).

Bakteri anammox menyukai kondisi anaerobik, maka proses anammox terhambat secara *reversible* (dapat balik) oleh oksigen terlarut (*dissolved oxygen/DO*). Nitrit adalah salah satu substrat untuk bakteri anammox, maka konsentrasi nitrit bisa berkurang, jika pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan metabolisme sel anammox berhenti.

Nitrit memiliki efek negatif terhadap proses anammox walaupun tingkat konsentrasi nitrit yang menyebabkan inhibisi dan waktu untuk proses pemulihannya berbeda-beda. Penambahan sejumlah katalitik hidrazin atau hidroksilamin pada medium kultur dapat memulihkan bakteri anammox yang tidak aktif (Strous, Kuenen, and Jetten 1999).

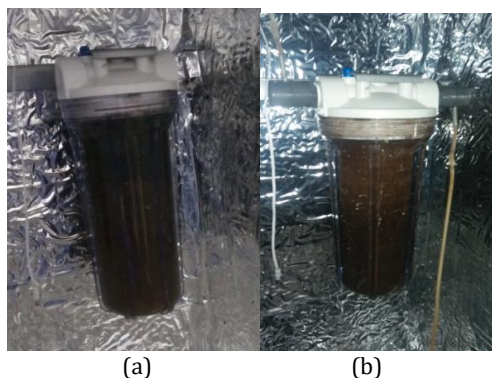
Berdasarkan studi yang dilakukan terhadap kultur pembiakan anammox dari air limbah, metanol juga merupakan salah satu inhibitor proses anammox, yang dapat menyebabkan kehilangan aktivitas bakteri anammox secara total dan tidak dapat balik (*irreversible*) pada konsentrasi ≥ 0,5 mM (Güven et al. 2005). Efek pada tingkat pH dan amonia yang tinggi terhadap bakteri anammox akan menghambat aktivitas anammox. Diperkirakan bahwa amonia bebas berkontribusi terhadap ketidakstabilan bioreaktor anammox yang menggunakan biakan (*seeding*) lumpur granular anaerobik (*anaerobic granular sludge*) selama beberapa hari pertama proses *start-up* (Zhang et al. 2008).

3) Pengaruh suhu

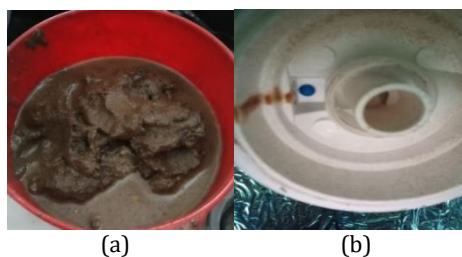
Pertumbuhan sel bakteri anammox dipengaruhi oleh suhu, dimana pertumbuhan yang lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi, hal ini menunjukkan bahwa bakteri anammox dibatasi untuk air limbah yang memiliki suhu tinggi (Ma et al. 2016). Pada umumnya anammox bekerja pada suhu 6 sampai 43°C dan laju reaksinya akan turun pada suhu yang lebih rendah yaitu 15°C atau lebih tinggi dari 40°C (Huang et al. 2016). Beberapa penelitian mengkonfirmasi bahwa suhu antara 40-45°C dapat merusak bakteri anammox dimana akan terjadi lisis pada sel bakteri karena pelepasan sitokrom c setelah *temperature shock* dan akibatnya dapat mengurangi aktivitas anammox (Daverey et al. 2013; Dosta et al. 2008; Han et al. 2013; Isanta et al. 2015; Qadarfi 2014). Penelitian ini dikondisikan untuk tetap terjaga pada suhu 35°C agar kinerja bakteri anammox optimal yang ditandai dengan tingginya penyisihan nitrogen. Penyisihan nitrogen mulai meningkat dan stabil pada hari ke 107.

4) Perubahan warna biomassa

Lumpur pabrik pupuk yang berwarna coklat kehitaman mengakibatkan identifikasi bakteri anammox secara visual sangat sulit dilihat. Sehingga identifikasi dapat dilakukan dengan melihat warna selang inlet influen ke reaktor dan selang outlet dari reaktor. Pada hari ke 64 selang pada outlet sudah menunjukkan warna merah kecoklatan, hal ini mengindikasikan tumbuhnya biomassa anammox. Namun pada reaktor khususnya pada media lekatnya sulit untuk dilihat karena tertutup oleh lumpur (Gambar 6). Pada hari ke-115 pada saat pembuangan lumpur tampak biomassa yang menempel pada tutup dan dinding reaktor berwarna merah kecoklatan, sementara pada *string wound filter cartridge* tidak terlihat biomassa yang menempel karena lumpur yang sangat banyak ikut menempel pada media lekat tersebut (Gambar 7).



Gambar 6. Lumpur Limbah Pabrik Pupuk dalam Reaktor FtBR hari ke-1 (a) dan Hari ke-180 (b)



Gambar 7. Lumpur Limbah Pabrik Pupuk (a); Biomassa Berwarna Merah pada Tutup Reaktor ketika Inokulum Dibuang pada Hari ke-115 (b)

4 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kinerja penyisihan nitrogen maksimal pada FtBR dengan inokulum lumpur IPAL Pabrik Pupuk yaitu *ammonium conversion efficiency (ACE)* 88.007%, *nitrogen removal efficiency (NRE)* 85.853%, *nitrogen removal rate (NRR)* 0.141 kg-N/m³.h pada *nitrogen loading rate (NLR)* 0.144 kg-N/m³.h. Biofilm berwarna merah kecokelatan tumbuh pada bagian tutup reaktor. Tidak menutup kemungkinan bahwa biofilm yang tumbuh tersebut merupakan spesies bakteri anammox karena ciri-ciri yang menyerupai bakteri anammox. Untuk itu perlu dilakukannya identifikasi bakteri anammox.

DAFTAR PUSTAKA

Chamchoi, Nuchanat, and Suwanchai Nitisoravut. 2007. "Anammox Enrichment from Different Conventional Sludges." *Chemosphere* 66(11):2225-32. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.09.036.

Chen, Chong-jun jun, Xiao-xiao xiao Huang, Chen-xiao xiao Lei, Wei-jing jing Zhu, Ying-xu xu Chen, and Wei-xiang xiang Wu. 2012. "Improving Anammox Start-up with Bamboo Charcoal." *Chemosphere* 89(10):1224-29. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.07.045.

Chen, Chongjun, Faqian Sun, Haiqing Zhang, Jianfang Wang, Yaoliang Shen, and Xinqiang Liang. 2016. "Evaluation of COD Effect on Anammox Process and Microbial Communities in the Anaerobic Baffled Reactor (ABR)." *Bioresource Technology* 216:571-78. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.115.

Chen, Hui, Hai-Yan Yan Hu, Qian-Qian Qian Chen, Man-Ling Ling Shi, and Ren-Cun Cun Jin. 2016. "Successful Start-up of The Anammox Process: Influence of The Seeding Strategy on Performance and Granule Properties."

Bioresource Technology 211:594-602. doi: 10.1016/j.biortech.2016.03.139.

Daverey, Achlesh, Nien Tzu Hung, Kasturi Dutta, and Jih Gaw Lin. 2013. "Ambient Temperature SNAD Process Treating Anaerobic Digester Liquor of Swine Wastewater." *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2013.02.045.

Dosta, J., I. Fernández, J. R. Vázquez-Padín, A. Mosquera-Corral, J. L. Campos, J. Mata-Álvarez, and R. Méndez. 2008. "Short- and Long-Term Effects of Temperature on The Anammox Process." *Journal of Hazardous Materials* 154(1-3):688-93. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.10.082.

Gonzalez-Martinez, Alejandro, F. Osorio, Alejandro Rodriguez-Sanchez, Maria Victoria Martinez-Toledo, Jesus Gonzalez-Lopez, Tommaso Lotti, and M. C. M. van Loosdrecht. 2015. "Bacterial Community Structure of a Lab-Scale Anammox Membrane Bioreactor." *Biotechnology Progress* 31(1):186-93. doi: https://doi.org/10.1002/btpr.1995.

Gumelar, Guno, Elmi Zainuddin, and Zulkarnaini Zulkarnaini. 2022. "Anaerobic Ammonium Oxidation Performance in Shrimp Pond Wastewater Treatment." *02(02):51-56*. doi: 10.25077/aijaset.v2i1.41.

Güven, Didem, Ana Dapena, Boran Kartal, Markus C. Schmid, Bart Maas, Katinka Van De Pas-Schoonen, Seval Sozen, Ramon Mendez, Huub J. M. Op Den Camp, Mike S. M. Jetten, Marc Strous, and Ingo Schmidt. 2005. "Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria." *Applied and Environmental Microbiology* 71(2):1066-71. doi: 10.1128/AEM.71.2.1066-1071.2005.

Han, Ping, Yu Tzu Huang, Jih Gaw Lin, and Ji Dong Gu. 2013. "A Comparison of Two 16S rRNA Gene-Based PCR Primer Sets in Unraveling Anammox Bacteria from Different Environmental Samples." *Applied Microbiology and Biotechnology* 97(24):10521-29. doi: 10.1007/s00253-013-5305-z.

Huang, Xiaowu, Kohei Urata, Qiaoyan Wei, Yuki Yamashita, Takehide Hama, and Yasunori Kawagoshi. 2016. "Fast Start-up of Partial Nitritation as Pre-Treatment for Anammox in Membrane Bioreactor." *Biochemical Engineering Journal* 105:371-78. doi: 10.1016/j.bej.2015.10.018.

Huy Quoc Anh, Dang, Prapakorn Tantayotai, Kraipat Cheenkachorn, and Malinee Sriariyanun. 2015. "Anammox Process: The Principle, the Technological Development and Recent Industrial Applications." *KMUTNB International Journal of Applied Science and Technology* (October):1-8. doi: 10.14416/j.ijast.2015.08.003.

Isanta, Eduardo, Tercia Bezerra, Isaac Fernández, María Eugenia Suárez-Ojeda, Julio Pérez, and Julián Carrera. 2015. "Microbial Community Shifts on an Anammox Reactor after a Temperature Shock Using 454-Pyrosequencing Analysis." *Bioresource Technology* 181:207-13. doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.064.

Jenni, Sarina, Siegfried E. Vlaeminck, Eberhard Morgenroth, and Kai M. Udert. 2014. "Successful Application of Nitritation/Anammox Towastewater with Elevated Organic Carbon to Ammonia Ratios." *Water Research* 49:316-26. doi: 10.1016/j.watres.2013.10.073.

Jetten, M. S. M., I. Cirpus, B. Kartal, L. Van Niftrik, K. T. Van De Pas-Schoonen, O. Sliemers, S. Haaijer, W. Van Der Star, M. Schmid, J. Van De Vossenberg, I. Schmidt, H. Harhangi, M. Van Loosdrecht, J. Gijs Kuenen, H. Op Den Camp, and M. Strous. 2005. "1994-2004: 10 Years of Research on the Anaerobic Oxidation of Ammonium."

- Pp. 119–23 in *Biochemical Society Transactions*. Vol. 33.
- Jetten, Mike, Markus Schmid, Katinka Van De Pas-Schoonen, Jaap Sinninghe Damsté, and Marc Strous. 2005. "Anammox Organisms: Enrichment, Cultivation, and Environmental Analysis." *Methods in Enzymology* 397:34–57. doi: 10.1016/S0076-6879(05)97003-1.
- Jin, Ren Cun, Bao Shan Xing, Jin Jin Yu, Tian Yue Qin, and Shen Xing Chen. 2013. "The Importance of the Substrate Ratio in the Operation of the Anammox Process in Upflow Biofilter." *Ecological Engineering* 53:130–37. doi: 10.1016/j.ecoleng.2012.12.027.
- Kartal, B., J. G. Kuenen, and M. C. M. M. Van Loosdrecht. 2010. "Sewage Treatment with Anammox." *Science* 328(5979):702–3. doi: 10.1126/science.1185941.
- Keluskar, Radhika, Anuradha Nerurkar, and Anjana Desai. 2013. "Development of a Simultaneous Partial Nitrification, Anaerobic Ammonia Oxidation and Denitrification (SNAD) Bench Scale Process for Removal of Ammonia from Effluent of a Fertilizer Industry." *Bioresource Technology* 130:390–97. doi: 10.1016/j.biortech.2012.12.066.
- Kuenen, J. Gijs. 2008. "Anammox Bacteria: From Discovery to Application." *Nature Reviews Microbiology* 6(4):320–26. doi: 10.1038/nrmicro1857.
- Lotti, T., R. Kleerebezem, and M. C. M. van Loosdrecht. 2015. "Effect of Temperature Change on Anammox Activity." *Biotechnology and Bioengineering* 112(1):98–103. doi: 10.1002/bit.25333.
- Lotti, T., R. Kleerebezem, C. Lubello, and M. C. M. M. van Loosdrecht. 2014. "Physiological and Kinetic Characterization of A Suspended Cell Anammox Culture." *Water Research* 60:1–14. doi: 10.1016/j.watres.2014.04.017.
- Lulrahman, Faldi, Shinta Silvia, and Zulkarnaini. 2022. "Penyisihan Nitrogen Dengan Proses Anammox Menggunakan Lumpur Muara Penjalinan Kota Padang Sebagai Inokulum." *Jurnal Teknologi Lingkungan* 23(2):143–50.
- Ma, Bin, Shanyun Wang, Shenbin Cao, Yuanyuan Miao, Fangxu Jia, Rui Du, and Yongzhen Peng. 2016. "Biological Nitrogen Removal from Sewage via Anammox: Recent Advances." *Bioresource Technology* 200:981–90. doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.074.
- Mareta, Andiri. 2019. "Studi Pengolahan Limbah Cair Di PT Pupuk Sriwidjaja Palembang. Mareta, A. Studi Pengolahan Limbah Cair Di PT Pupuk Sriwidjaja Palembang. (2019).Ang."
- Mulder, A., A. A. A. van de Graaf, L. A. A. Robertson, and J. G. G. Kuenen. 1995. "Anaerobic Ammonium Oxidation Discovered in a Denitrifying Fluidized Bed Reactor." *FEMS Microbiology Ecology* 16(3):177–83. doi: 10.1016/0168-6496(94)00081-7.
- Mulder, Arnold. 2003. "The Quest for Sustainable Nitrogen Removal Technologies." Pp. 67–75 in *Water Science and Technology*. Vol. 48.
- Putra, Randi Permana, Zulkarnaini Zulkarnaini, and Puti Sri Komala. 2020. "Start - Up Proses Anammox Menggunakan Lumpur Telaga Kotobaru Sebagai Inokulum." *Jurnal Teknologi Lingkungan* 21(2):138–46. doi: 10.29122/jtl.v21i2.4155.
- Qadarfi, Moch. 2014. "Analisis Pengaruh Perubahan Kemiringan Sudut Pancar Antena Sektorial Terhadap Kualitas Layanan Jaringan Sistem Komunikasi Bergerak Seluler." *Teknik Elektro Universitas Tanjungpura Pontianak* 1.
- Strous, M., J. J. Heijnen, J. G. Kuenen, M. S. M. M. Jetten, M. Strous, J. J. Heijnen, and J. G. Kuenen. 1998. "The Sequencing Batch Reactor as A Powerful Tool for The Study of Slowly Growing Anaerobic Ammonium-Oxidizing Microorganisms." *Applied Microbiology and Biotechnology* 50(5):589–96. doi: 10.1007/s002530051340.
- Strous, Marc, John A. Fuerst, Evelien H. M. Kramer, Susanne Logemann, Gerard Muyzer, Katinka T. Van De Pas-Schoonen, Richard Webb, J. Gijs Kuenen, and Mike S. M. Jetten. 1999. "Missing Lithotroph Identified as New Planctomycete." *Nature* 400(6743):446–49. doi: 10.1038/22749.
- Strous, Marc, John Fuerst, and Gerard Muyzer. 1999. "Letter to Nature Missing Lithotroph Identified as New Planctomycete." (May 2014). doi: 10.1038/22749.
- Strous, Marc, J. Gijs Kuenen, and Mike S. M. Jetten. 1999. "Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation." *Applied and Environmental Microbiology* 65(7):0–3. doi: papers2://publication/uuid/E9A1573A-6D62-420E-94D0-CA7C84D0FEB9.
- Wang, Tao, Hanmin Zhang, Fenglin Yang, Yifei Li, and Guangyi Zhang. 2013. "Start-up and Long-Term Operation of The Anammox Process in A Fixed Bed Reactor (FBR) Filled With Novel Non-Woven Ring Carriers." *Chemosphere* 91(5):669–75. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.026.
- Yusof, Norjan, Hanisom Abdullah, Syakirah Samsudin, and Mohd Ali Hassan. 2013. "Enrichment of Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) Bacteria for Biological Nitrogen Removal of Wastewater." *Jurnal Teknologi (Sciences and Engineering)* 62(2):25–29. doi: 10.11113/jt.v62.1874.
- Zhang, Lei, Ping Zheng, Chong-jian Tang, and Ren-cun Jin. 2008. "Anaerobic Ammonium Oxidation for Treatment Of." 9(5):416–26. doi: 10.1631/jzus.B0710590.
- Zulkarnaini, Ansiha Nur, and Wina Ermaliza. 2019. "Nitrogen Removal in the Anammox Biofilm Reactor Using Palm Fiber as Carrier in Tropical Temperature Operation." *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri* 10(2):7–15. doi: 10.21771/jrtppi.2019.v10.no2.p7-15.
- Zulkarnaini, Zulkarnaini, Qin Yujie, Ryoko Yamamoto-Ikemoto, Norihisa Matsuura, Qin Yujie, Ryoko Yamamoto-Ikemoto, and Norihisa Matsuura. 2018. "One-Stage Nitritation/Anammox Process Using a Biofilm Reactor with Two-Inflow." *Journal of Water and Environment Technology* 16(2):106–14. doi: 10.2965/jwet.17-050.