

Start-up Proses Parsial Nitritasi-Anammox pada Filter Bioreactor

Dwi Desmawita¹, Shinta Silvia², dan Zulkarnaini^{2*}

¹Magister Teknik Lingkungan, Departemen Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Andalas, Indonesia; e-mail: desmawitadwides@gmail.com

²Departemen Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Andalas, Indonesia

ABSTRAK

Amonium pada air limbah dapat dihilangkan melalui proses parsial nitritasi-anammox (PN/A). Penelitian PN/A di Indonesia masih terbatas, khususnya pada penggunaan lumpur lokal sebagai inokulum dalam sistem biofilm. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi *start-up* proses PN/A menggunakan filter bioreactor (FtBR) termodifikasi dengan dua kompartemen aerob-anaerob untuk mengurangi clogging dan mendukung pembentukan biofilm. Lumpur dari Telaga Koto Baru digunakan sebagai sumber bakteri anammox dan lumpur dari Muaro Panjalinan sebagai sumber ammonium oxidizing bacteria (AOB). Reaktor dioperasikan secara kontinu selama 53 hari menggunakan limbah artifisial dengan konsentrasi amonium 150 mg-N/L, hydraulic retention time (HRT) 12 jam, dan dissolved oxygen (DO) <2,3 mg/L. Kinerja sistem dievaluasi berdasarkan ammonium conversion efficiency (ACE), nitrogen removal efficiency (NRE), dan nitrogen removal rate (NRR). Hasil penelitian menunjukkan nilai maksimum ACE, NRE, dan NRR masing-masing sebesar 34,20%, 31,22%, dan 0,023 kg-N/m³.hari. Rendahnya konsentrasi nitrit dan nitrat effluen menunjukkan berlangsungnya proses parsial nitritasi dan anammox secara simultan serta tertekannya pertumbuhan nitrite oxidizing bacteria (NOB). Meskipun kinerja reaktor masih lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya yang menggunakan inokulum teraklimatisasi, hasil penelitian menunjukkan bahwa lumpur lokal berpotensi digunakan sebagai sumber inokulum awal untuk pengembangan sistem PN/A di Indonesia.

Kata kunci: anammox, filter bioreactor, lumpur lokal, parsial nitritasi-anammox, *start-up* reaktor

ABSTRACT

Ammonium in wastewater can be removed through the partial nitrification-anammox (PN/A) process. Research on PN/A in Indonesia remains limited, particularly regarding the use of local sludge as inoculum in biofilm systems. This study aims to evaluate the *start-up* of the PN/A process using a modified filter bioreactor (FtBR) with two aerobic-anaerobic compartments to reduce clogging and support biofilm formation. Sludge from Telaga Koto Baru was used as a source of anammox bacteria, and sludge from Muaro Panjalinan as a source of ammonium-oxidizing bacteria (AOB). The reactor was operated continuously for 53 days using artificial wastewater with an ammonium concentration of 150 mg-N/L, a hydraulic retention time (HRT) of 12 hours, and dissolved oxygen (DO) <2.3 mg/L. System performance was evaluated based on ammonium conversion efficiency (ACE), nitrogen removal efficiency (NRE), and nitrogen removal rate (NRR). The results showed maximum values of ACE, NRE, and NRR of 34.20%, 31.22%, and 0.023 kg-N/m³·day, respectively. The low concentrations of nitrite and nitrate in the effluent indicate the simultaneous occurrence of partial nitrification and anammox processes, as well as the suppression of nitrite-oxidizing bacteria (NOB) growth. Although the reactor performance is still lower compared to previous studies using acclimated inoculum, the results indicate that local sludge has the potential to be used as a source of initial inoculum for the development of PN/A systems in Indonesia.

Keywords: Anammox, filter bioreactor, indigenous sludge, partial nitrification-anammox, reactor *start-up*

Citation: Dwi, D., Shinta, S., dan Zulkarnaini, Z. (2026). *Start-up* Proses Parsial Nitritasi-Anammox pada Filter Bioreactor. Jurnal Ilmu Lingkungan, 24(2), 243-251, doi:10.14710/jil.24.2.243-251

1. PENDAHULUAN

Dampak aktivitas manusia yang berasal dari industri, rumah tangga, maupun pertanian menyebabkan sebagian besar nitrogen antropogenik mengalami perubahan signifikan pada jumlah nitrogen di alam (Galloway *et al.*, 2008). Senyawa amonium (NH₄⁺) di perairan dapat memicu

eutrofikasi, sehingga dibutuhkan pengolahan air limbah untuk menghilangkan amonium sebelum dibuang ke badan air. Penyisihan amonium secara biologi biasanya dilakukan melalui proses nitrifikasi-denitrifikasi (Jin *et al.*, 2007). Pada proses nitrifikasi, amonium dioksidasi menjadi nitrat dalam kondisi aerob yang selanjutnya direduksi menjadi gas

nitrogen melalui proses denitrifikasi dalam kondisi anaerob dan keberadaan karbon organik (Thakur and Medhi, 2019). Selain itu, penyisihan amonium juga dapat dilakukan dengan proses *anaerobic ammonium oxidation* (anammox).

Anammox pertama kali ditemukan pada tahun 1995 dalam reaktor denitrifikasi *fluidized bed* (Mulder et al., 1995). Dalam kondisi anoksik, amonium dioksidasi oleh bakteri anammox menjadi gas nitrogen menggunakan nitrit sebagai penerima elektron (Van de Graaf et al., 1996). Proses anammox dilaporkan memiliki kebutuhan oksigen lebih rendah dan produksi lumpur yang lebih sedikit dibandingkan proses biologis konvensional sehingga berpotensi menjadi teknologi pengolahan nitrogen yang lebih berkelanjutan (Cao et al., 2023).

Proses parsial nitritasi-anammox (PN/A) menjadi salah satu alternatif pengolahan biologis yang berkembang karena memiliki kebutuhan aerasi lebih rendah, tidak memerlukan sumber karbon organik eksternal, dan menghasilkan lumpur lebih sedikit dibandingkan proses nitrifikasi-denitrifikasi konvensional (Lackner et al., 2014; Lotti et al., 2022). Pada sistem PN/A, sebagian amonium dioksidasi menjadi nitrit oleh *ammonium oxidizing bacteria* (AOB), kemudian nitrit digunakan oleh bakteri anammox untuk mengonversi amonium menjadi gas nitrogen dalam kondisi anoksik.

Meskipun proses PN/A telah banyak dikembangkan, tahap *start-up* masih menjadi tantangan utama karena bakteri anammox memiliki laju pertumbuhan yang sangat lambat dengan waktu penggandaan sekitar 11–20 hari (Strous et al., 1999). Selain itu, kestabilan sistem sangat dipengaruhi oleh kondisi operasional seperti dissolved oxygen (DO), suhu, hydraulic retention time (HRT), serta kemampuan sistem dalam menekan pertumbuhan nitrite oxidizing bacteria (NOB) (Li et al., 2023; Wang et al., 2024). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penggunaan sistem biofilm mampu meningkatkan retensi biomassa dan stabilitas proses PN/A. Augusto et al. (2018) melaporkan efisiensi penyisihan nitrogen hingga 84% menggunakan membrane-aerated biofilm reactor, sedangkan Zulkarnaini et al. (2018) memperoleh nitrogen removal rate (NRR) sebesar 0,228 kg-N/m³-hari pada *nitrogen loading rate* NLR 0,5 kg-N/m³-hari menggunakan sistem two-inflow biofilm reactor. Namun, penelitian tersebut masih menghadapi kendala berupa *clogging* (penyumbatan) akibat akumulasi biomassa pada media biofilm.

Selain kendala *clogging*, sebagian besar penelitian PN/A sebelumnya menggunakan inokulum teraklimatisasi atau kultur anammox yang telah diperkaya sehingga dalam penerapannya membutuhkan biaya dan waktu persiapan yang relatif tinggi. Informasi mengenai penggunaan lumpur lokal sebagai sumber inokulum alami untuk *start-up* PN/A masih terbatas, khususnya pada kondisi suhu ambien di daerah tropis. Padahal, penggunaan lumpur lokal berpotensi menjadi alternatif yang lebih sederhana

dan ekonomis untuk pengembangan teknologi PN/A di Indonesia (Kim et al., 2023; Zhao et al., 2024).

Berdasarkan kondisi tersebut, penelitian ini menggunakan filter bioreactor (FtBR) termodifikasi dengan dua kompartemen aerob-anaerob untuk mendukung pertumbuhan AOB dan bakteri anammox secara simultan sekaligus mengurangi potensi clogging pada media biofilm. Lumpur dari Telaga Koto Baru digunakan sebagai sumber bakteri anammox dan lumpur dari Muaro Panjalinan digunakan sebagai sumber AOB. Berbeda dengan penelitian sebelumnya, sistem ini dioperasikan menggunakan inokulum lokal tanpa tahap enrichment awal pada kondisi suhu ambien. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kinerja *start-up* proses parsial nitritasi-anammox pada FtBR termodifikasi berdasarkan profil nitrogen, ammonium conversion efficiency (ACE), nitrogen removal efficiency (NRE), dan nitrogen removal rate (NRR), serta membandingkan hasil kinerja sistem dengan penelitian sebelumnya untuk menilai potensi penggunaan inokulum lokal pada sistem PN/A di daerah tropis.

2. MATERIAL DAN METODE

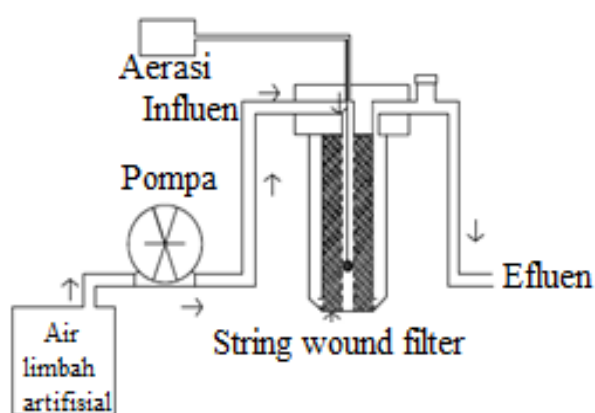
2.1. Sumber Inokulum Bakteri

Start-up proses parsial nitritasi-anammox menggunakan inokulum berupa lumpur lokal dari dua sumber berbeda. Lumpur dari Telaga Koto Baru, Kabupaten Tanah Datar digunakan sebagai sumber bakteri anaerobic ammonium oxidation (anammox), sedangkan lumpur dari Muaro Panjalinan, Kota Padang digunakan sebagai sumber *Ammonium Oxidizing Bacteria* (AOB). Pemilihan lumpur lokal dilakukan karena lebih mudah diperoleh dan berpotensi menjadi alternatif inokulum yang lebih sederhana dan ekonomis untuk pengembangan sistem parsial nitritasi-anammox di Indonesia. Masing-masing lumpur sebanyak 500 mL dimasukkan ke dalam reaktor pada awal operasional. Karakterisasi lumpur inokulum pada penelitian ini masih terbatas dan belum mencakup analisis mixed liquor suspended solids (MLSS), mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS), maupun identifikasi komunitas mikroba secara molekuler. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada evaluasi awal performa *start-up* proses parsial nitritasi-anammox menggunakan sumber inokulum lokal pada skala laboratorium.

2.2. Konfigurasi Reaktor Penelitian

FtBR yang sebelumnya digunakan untuk kultivasi bakteri anammox dimodifikasi untuk proses parsial nitritasi-anammox dengan penambahan saluran pada bagian dalam filter untuk mencegah terjadinya *clogging*. Modifikasi ini dilakukan karena penelitian sebelumnya pada sistem biofilm PN/A masih menghadapi permasalahan penyumbatan media akibat pertumbuhan biomassa yang berlebihan. Reaktor terdiri dari housing filter dengan volume reaktor 1.800 mL dan volume efektif 1.500 mL. Media lekat yang digunakan berupa *string wound filter*

cartridge (panjang 10 inch ukuran pori 0,5 µm) untuk mendukung pembentukan biofilm mikroorganisme. Penggunaan media biofilm bertujuan meningkatkan retensi biomassa sehingga pertumbuhan mikroorganisme dengan laju pertumbuhan lambat, seperti bakteri anammox, dapat dipertahankan selama fase *start-up*. Reaktor terbagi menjadi dua kompartemen, yaitu kompartemen aerasi pada bagian dalam filter untuk mendukung pertumbuhan AOB dan kompartemen anaerob atau tanpa aerasi pada bagian luar filter untuk pertumbuhan bakteri anammox. Konfigurasi dua kompartemen ini dirancang untuk mendukung proses parsial nitritasi dan anammox secara simultan dalam satu reaktor sekaligus menekan pertumbuhan nitrite oxidizing bacteria (NOB). Selama penelitian, reaktor dioperasikan pada suhu ambien. Skema reaktor penelitian ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Reaktor Penelitian Parsial Nitritasi-Anammox

2.3. Operasional Reaktor

Air limbah artifisial dibuat dengan menambahkan pada air kran (dari sumur gali) dengan komposisi amonium 150 mg-N/L dan substrat (mg/L) : 300 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 27,2 KH_2PO_4 ; 180 $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 500 KHCO_3 dan trace element I dan II masing-masing 1 mL/L (Putra et al., 2020). Air limbah dialirkan secara kontinu dengan *hydraulic retention time* (HRT) 12 jam dengan *flow rate* 2,08 mL/menit. Konsentrasi oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*/DO) diatur <2,3 mg/L. Substrat dipompakan ke dalam reaktor menggunakan pompa peristaltik. Reaktor ditutupi dengan *aluminium foil* dan ditempatkan dalam kotak untuk menghalangi cahaya agar bakteri heterotrofik tidak berkembang. Skema reaktor penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

2.4. Perhitungan Kinerja Penyisihan Nitrogen

Sampel influen dan effluen diambil dua kali setiap minggu selama fase *start-up*. Konsentrasi amonium dan nitrit dianalisis menggunakan metode kolorimetri berdasarkan SNI 06-6989.30-2005 dan SNI 06-6989.9-2004, sedangkan nitrat dianalisis menggunakan metode UV spektrofotometri berdasarkan APHA (2017). Pengukuran dissolved

oxygen (DO) dilakukan menggunakan DO meter (Lutron DO-5510), sedangkan pH dan suhu diukur menggunakan pH meter (Ohaus ST300). Kinerja proses parsial nitritasi-anammox dievaluasi berdasarkan *Ammonium Conversion Efficiency* (ACE), *Nitrogen Removal Efficiency* (NRE), dan *Nitrogen Removal Rate* (NRR). Perubahan profil nitrogen diamati untuk mengevaluasi perkembangan aktivitas AOB dan bakteri anammox selama fase *start-up* reaktor. Analisis data dilakukan secara deskriptif berdasarkan perubahan profil nitrogen dan parameter kinerja selama periode operasional. Analisis statistik inferensial belum dilakukan karena penelitian masih bersifat pendahuluan pada skala laboratorium dengan satu unit reaktor, sehingga data yang diperoleh masih terbatas untuk analisis statistik yang lebih kompleks.

$$\text{ACE} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}}} \times 100 \% \quad (1)$$

$$\text{NRE} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{NRR} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}}}{\text{HRT}} \quad (3)$$

Keterangan :

$[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}}$ = konsentrasi influen amonium
 $[\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}}$ = Konsentrasi influen nitrit
 $[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}}$ = Konsentrasi effluen amonium
 $[\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}}$ = Konsentrasi effluen nitrit
 $[\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}}$ = Konsentrasi effluen nitrat
 HRT = *Hydraulic Retention Time* (jam)

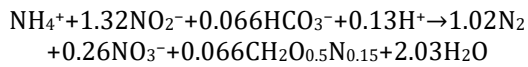
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Profil Nitrogen pada Reaktor Parsial Nitritasi-Anammox

Perubahan konsentrasi amonium, nitrit, dan nitrat selama operasional reaktor ditunjukkan pada Gambar 2. Konsentrasi amonium ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) pada influen berkisar antara 149,00–152,60 mg-N/L yang menunjukkan kestabilan beban nitrogen masuk selama operasional reaktor. Di sisi lain, konsentrasi $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ pada effluen bervariasi antara 98,03–148,92 mg-N/L. Variasi konsentrasi amonium pada effluen menunjukkan bahwa proses penyisihan nitrogen selama fase *start-up* belum berlangsung secara stabil. Penurunan konsentrasi amonium pada beberapa periode operasional mengindikasikan mulai berkembangnya aktivitas amonium oxidizing bacteria (AOB) dan bakteri anaerobic amonium oxidation (anammox) dalam sistem biofilm FtBR.

Akumulasi nitrit ($\text{NO}_2^- - \text{N}$) dalam reaktor sangat rendah (0,01-0,94 mg/L), yang mengindikasikan bahwa nitrit yang terbentuk dari proses parsial nitritasi oleh AOB segera digunakan oleh bakteri anammox untuk direduksi menjadi N_2 bersama dengan amonium. Hal ini didukung pula oleh rendahnya konsentrasi nitrat ($\text{NO}_3^- - \text{N}$) di effluen (0,62-7,19 mg/L). Kondisi ini menunjukkan keberhasilan dalam menekan aktivitas bakteri pengoksiasian nitrit (NOB) melalui pengendalian kadar

DO. Secara teoritis, proses anammox berlangsung melalui konsumsi amonium dan nitrit secara simultan dengan pembentukan nitrat dalam jumlah kecil sebagai produk samping. Mekanisme tersebut dapat dijelaskan berdasarkan persamaan stoikiometri berikut:

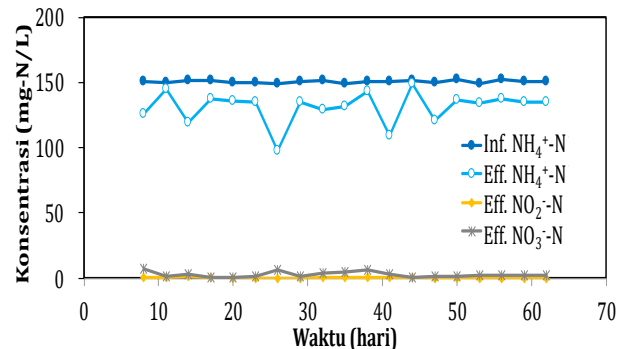


Profil nitrogen pada penelitian ini menunjukkan kecenderungan yang sesuai dengan mekanisme tersebut, yaitu rendahnya akumulasi nitrit dan nitrat pada effluen. Namun demikian, evaluasi stoikiometri secara kuantitatif belum dilakukan sehingga hubungan konsumsi substrat dan pembentukan produk belum dapat dianalisis secara mendalam.

Selama operasional, profil nitrogen masih menunjukkan fluktuasi yang cukup tinggi sebagaimana terlihat pada Gambar 2. Fluktuasi tersebut mengindikasikan bahwa komunitas mikroba PN/A belum sepenuhnya stabil selama fase *start-up*. Kondisi ini diduga dipengaruhi oleh lambatnya pertumbuhan bakteri anammox yang memiliki waktu penggandaan sekitar 11–20 hari. Selain itu, penggunaan lumpur lokal tanpa tahap enrichment awal kemungkinan menyebabkan jumlah bakteri anammox aktif pada awal operasional masih rendah sehingga fase adaptasi mikroorganisme berlangsung lebih lama. Wu et al. (2021) menunjukkan bahwa pengoperasian AnMBR dengan intermitten aerasi ($\text{DO} < 0,5 \text{ mg/L}$) secara selektif mendukung pertumbuhan AOB dan menghambat NOB, sehingga mendukung akumulasi NO_2^- untuk dimanfaatkan oleh bakteri anammox. Nilai yang lebih tinggi dilaporkan oleh Zulkarnaini et al., (2024) yaitu 1,2–1,5 mg/L dengan sistem dua aliran influen. Penelitian ini menggunakan DO lebih tinggi hingga 2,3 mg/L karena perbedaan kompartemen dalam reaktor yang aerobik pada bagian dalam filter untuk pertumbuhan AOB dan kompartemen anaerobik untuk pertumbuhan anammox.

Pengoperasian reaktor pada suhu ambien juga diperkirakan memengaruhi aktivitas biologis sistem. Suhu optimum pertumbuhan bakteri anammox umumnya berada pada kisaran 30–37°C, sedangkan fluktuasi suhu lingkungan selama penelitian berpotensi memperlambat laju metabolisme mikroorganisme. Selain itu, kestabilan proses PN/A juga kemungkinan dipengaruhi oleh keberadaan free ammonia (FA) dan free nitrous acid (FNA). Konsentrasi amonium influen yang relatif tinggi berpotensi meningkatkan pembentukan FA yang dapat menghambat aktivitas bakteri anammox maupun NOB, sedangkan akumulasi nitrit dapat menghasilkan FNA yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme tertentu pada sistem PN/A. Namun demikian, penelitian ini belum melakukan pengukuran FA dan FNA secara kuantitatif sehingga pengaruh spesifik kedua parameter tersebut belum dapat dievaluasi lebih lanjut.

Kestabilan awal sistem mulai terlihat mendekati hari ke-53 yang ditandai dengan peningkatan bertahap penyisihan nitrogen dan menurunnya fluktuasi konsentrasi nitrogen pada effluen. Akan tetapi, durasi operasional selama 53 hari belum sepenuhnya menunjukkan keberhasilan *start-up* anammox secara penuh karena bakteri anammox memiliki laju pertumbuhan yang sangat lambat. Oleh karena itu, penelitian ini lebih difokuskan pada evaluasi tahap awal *start-up* sistem PN/A menggunakan inokulum lokal pada kondisi suhu ambien.



Gambar 2. Profil Penyisihan Nitrogen Reaktor 2 Parsial Nitritasi-Anammox

3.2. Kinerja Penyisihan Nitrogen pada Reaktor Parsial Nitritasi-Anammox

Kinerja penyisihan nitrogen dilakukan melalui tiga parameter utama, yaitu ACE, NRE, dan NRR. Kinerja penyisihan nitrogen pada reaktor parsial nitritasi-anammox dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil menunjukkan bahwa nilai ACE selama fase *start-up* berfluktuasi antara 1,83–34,21%. Nilai ini mencerminkan sejauh mana amonium berhasil dikonversi, baik melalui proses parsial nitritasi maupun anammox. Beberapa data menunjukkan nilai ACE di atas 30%, kemudian turun dan stabil sekitar 10%. Hal ini menandakan bahwa sistem mulai mencapai kestabilan dalam oksidasi amonium dengan nilai yang masih rendah.

Nilai NRE, yang mencerminkan efisiensi penyisihan total nitrogen, menunjukkan kisaran 2,74–31,23%. Variasi yang lebar ini mengindikasikan bahwa aktivitas anammox belum sepenuhnya stabil pada awal *start-up*. Untuk sistem PN/A, efisiensi penyisihan nitrogen yang tinggi sangat bergantung pada keberhasilan interaksi antara AOB dan anammox serta keberhasilan menekan NOB. Nilai NRR juga menunjukkan variasi dari 0,0019–0,024 kg-N/m³.hari. Nilai tertinggi ditemukan pada saat effluen menunjukkan konsentrasi NH_4^+ dan NO_3^- yang rendah, hal ini menandakan bahwa nitrogen telah terkonversi menjadi gas nitrogen.

Peningkatan parameter ACE, NRE, dan NRR menunjukkan mulai berkembangnya aktivitas AOB dan bakteri anammox pada sistem biofilm FtBR. Akan tetapi, efisiensi penyisihan nitrogen yang diperoleh masih relatif rendah dibandingkan penelitian

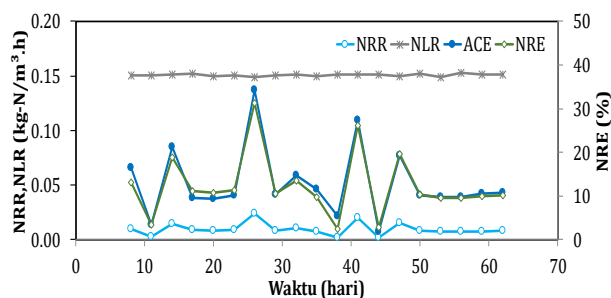
sebelumnya yang menggunakan inokulum teraklimatisasi dan kondisi operasional lebih stabil.

Rendahnya efisiensi penyisihan nitrogen pada penelitian ini diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor operasional dan biologis. Pertama, bakteri anammox memiliki laju pertumbuhan yang sangat lambat sehingga pembentukan komunitas mikroba stabil membutuhkan waktu *start-up* yang relatif panjang. Kedua, penggunaan lumpur lokal tanpa tahap enrichment awal kemungkinan menyebabkan jumlah bakteri anammox aktif pada awal operasional masih rendah. Ketiga, distribusi oksigen di dalam biofilm diduga belum homogen sehingga keseimbangan aktivitas antara AOB dan bakteri anammox belum optimal. Selain itu, pengoperasian pada suhu ambien diperkirakan menurunkan aktivitas metabolik bakteri anammox dibandingkan kondisi temperatur optimum.

Fluktuasi nilai ACE, NRE, dan NRR selama operasional sebagaimana terlihat pada Gambar 3 menunjukkan bahwa komunitas mikroba PN/A masih berada pada fase adaptasi. Kondisi ini diduga berkaitan dengan perubahan aktivitas biologis mikroorganisme akibat fluktuasi suhu lingkungan, distribusi oksigen dalam biofilm, serta kemungkinan inhibisi oleh FA dan FNA. Namun demikian, penelitian ini belum melakukan analisis kinetika pertumbuhan mikroorganisme maupun evaluasi stoikiometri secara kuantitatif sehingga hubungan antar parameter operasional dan aktivitas biologis sistem belum dapat dijelaskan secara menyeluruh.

Jika dibandingkan dengan studi oleh Zulkarnaini et al. (2024), efisiensi NRR pada fase *start-up* sistem ini masih lebih rendah dari nilai NRR 0.276 kg-N/m³.hari yang dihasilkan dalam sistem reaktor PN/A dengan inokulum bakteri anammox dan AOB yang sudah dikultivasi pada media *string wound filter* dan spons. Namun, hal ini karena proses anammox secara alami berlangsung lambat dan membutuhkan waktu lama hingga mencapai stabilitas. Lotti et al. (2014) juga menghitung bahwa pertumbuhan bakteri anammox sangat lambat ($\mu_{max} \approx 0,21/\text{hari}$) pada *membrane bioreactor* (MBR). Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh jenis inokulum, kondisi operasional, temperatur, kestabilan komunitas mikroba, serta penggunaan inokulum yang telah melalui tahap enrichment pada penelitian sebelumnya.

Meskipun performa penyisihan nitrogen pada penelitian ini masih relatif rendah, hasil penelitian menunjukkan bahwa lumpur lokal berpotensi digunakan sebagai sumber inokulum awal untuk pengembangan sistem PN/A di Indonesia. Selain itu, penggunaan FtBR termodifikasi menunjukkan potensi dalam mendukung pembentukan biofilm sekaligus mengurangi risiko clogging yang umum terjadi pada sistem biofilm konvensional.



Gambar 3. Kinerja Penyisihan Nitrogen Reaktor Parsial Nitritasi-Anammox

3.3. Parameter yang Memengaruhi *Start-up* Proses Parsial Nitritasi-Anammox

Proses *start-up* pada sistem parsial nitritasi-anammox (PN/A) merupakan tahap krusial yang menentukan keberhasilan jangka panjang dalam pengolahan nitrogen secara biologis. Kecepatan dan kestabilan *start-up* sangat dipengaruhi oleh berbagai parameter operasional dan biologis. Salah satu faktor utama adalah jenis dan sumber inokulum yang digunakan.

Zhou et al. (2024) membutuhkan waktu sembilan bulan untuk *start-up* proses PA/N menggunakan inokulum dari proses nitrifikasi-denitrifikasi. Kelimpahan relatif bakteri anammox, *Candidatus Kuenenia* meningkat dari 0 hingga 12,0%. Hasil ini menunjukkan peningkatan nilai ACE dan NRE seiring waktu menjadi indikasi bahwa sistem mulai membentuk komunitas mikrob yang sesuai, dan dalam jangka panjang berpotensi untuk mencapai efisiensi yang lebih tinggi. Sama halnya dengan Wu et al. (2021) yang membutuhkan waktu 255 hari untuk *start-up* sistem PA/N dengan inokulum lumpur aktif menggunakan anaerobic membrane reactor (AnMBR). Dibandingkan dengan penelitian tersebut, durasi operasional pada penelitian ini masih relatif singkat sehingga kestabilan komunitas mikroorganisme kemungkinan belum tercapai secara optimum. Kondisi tersebut dapat menjelaskan masih berfluktuasinya nilai ACE, NRE, dan NRR selama fase *start-up*.

Inokulum yang mengandung bakteri anammox aktif, terutama yang berasal dari sistem anammox sebelumnya atau dari lumpur granular yang telah teraklimatisasi, dapat mempercepat pembentukan aktivitas biologis dan mempersingkat waktu *start-up* (Jetten et al., 2005; Lackner et al., 2014). Selain itu, rasio amonium terhadap nitrit ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_2^-$) perlu dijaga mendekati stoikiometri ideal sekitar 1:1,32 untuk mencegah akumulasi substrat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Strous et al., 1999). Akan tetapi hal ini sulit tercapai untuk sistem PN/A dengan reaktor tunggal karena sulit menjaga keseimbangan komunitas mikrob terutama AOB, anammox dan NOB. Rendahnya akumulasi nitrit pada efluen menunjukkan bahwa nitrit yang terbentuk segera dikonsumsi oleh bakteri anammox, namun kondisi tersebut juga mengindikasikan bahwa laju pembentukan nitrit oleh AOB kemungkinan

belum sepenuhnya memenuhi kebutuhan stoikiometri proses anammox. Ketidakseimbangan laju parsial nitrifikasi dan anammox selama fase *start-up* dapat menyebabkan fluktuasi nilai ACE, NRE, dan NRR pada awal operasional reaktor.

Konsentrasi oksigen terlarut (DO) juga harus dikendalikan dengan ketat; nilai DO rendah sekitar 0,2–0,5 mg/L dibutuhkan untuk mendorong pertumbuhan bakteri AOB sekaligus menekan pertumbuhan bakteri NOB dan menghindari inhibisi terhadap bakteri anammox yang bersifat anaerob (Hao et al., 2001; Lackner et al., 2014). Pada penelitian ini DO dioperasikan <2,3 mg/L karena adanya perbedaan zona aerobik dan anaerobik pada FtBR. Meskipun kondisi tersebut mampu mempertahankan proses parsial nitrifikasi-anammox, nilai DO yang relatif lebih tinggi dibandingkan penelitian lain masih memungkinkan terjadinya aktivitas NOB dalam jumlah tertentu sehingga efisiensi penyisihan nitrogen belum optimal. Hubungan antara DO, pembentukan nitrit, dan kestabilan sistem terlihat dari fluktuasi konsentrasi nitrogen pada efluen selama operasional reaktor.

Suhu operasional memainkan peran penting dalam aktivitas metabolisme mikroorganisme, di mana suhu optimal untuk bakteri anammox berada pada kisaran 30–37°C tergantung spesies anammox, *Candidatus Brocadia sinica* optimal pada suhu 37°C (Oshiki et al., 2011) sedangkan *Candidatus Brocadia fulgida* pada suhu yang lebih rendah (Lotti et al., 2015). Pada penelitian ini reaktor dioperasikan pada suhu ambien sehingga fluktuasi temperatur lingkungan diduga turut memengaruhi aktivitas biologis dan kestabilan proses *start-up*. Suhu rendah dapat memperpanjang waktu adaptasi dan menurunkan efisiensi penyisihan nitrogen.

Di samping itu, parameter kimia seperti pH dan alkalinitas juga memengaruhi stabilitas proses. pH optimum berkisar antara 6,7–8,3; nilai di luar rentang tersebut dapat mengganggu aktivitas nitrifikasi atau menyebabkan terbentuknya amonia bebas (NH_3) yang toksik bagi anammox (Puyol et al., 2014). Selain amonia bebas, akumulasi nitrit juga berpotensi menghasilkan *free nitrous acid* (FNA) yang dapat menghambat aktivitas mikroorganisme. Namun demikian, pada penelitian ini analisis FA dan FNA belum dilakukan sehingga pengaruh inhibisi terhadap proses parsial nitrifikasi-anammox belum dapat dievaluasi secara kuantitatif.

Strategi pengoperasian reaktor dan pemberian beban konsentrasi amonium pada air limbah secara bertahap, terbukti efektif dalam mendukung perkembangan komunitas mikrob yang diinginkan yaitu AOB dan anammox sambil menekan mikrob kompetitor, *nitrite oxidizing bacteria* (NOB) (Zulkarnaini et al., 2024). Secara keseluruhan, pengendalian terpadu terhadap parameter-parameter tersebut sangat penting untuk memastikan proses *start-up* PN/A berlangsung cepat, stabil, dan efisien.

3.4. Pengaruh Inokulum terhadap *Start-up* Proses Partial Nitrifikasi-Anammox

Inokulum merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan *start-up* proses parsial nitrifikasi-anammox karena memengaruhi komposisi awal komunitas mikroorganisme di dalam reaktor. Dalam penelitian ini, inokulum yang digunakan terdiri atas lumpur dari Telaga Koto Baru sebagai sumber bakteri anammox dan lumpur dari Muaro Panjalinan sebagai sumber bakteri *ammonium oxidizing bacteria* (AOB). Penggunaan lumpur alam sebagai sumber bakteri spesifik tersebut memberikan tantangan tersendiri mengingat bakteri anammox dikenal memiliki laju pertumbuhan yang sangat lambat dengan waktu penggandaan antara 11–20 hari (Strous et al., 1999). Hal ini berkontribusi pada rendahnya nilai efisiensi awal proses, sebagaimana ditunjukkan oleh rendahnya nilai ACE dan NRE pada fase awal operasional.

Keberhasilan *start-up* dalam sistem ini menunjukkan bahwa komunitas mikrob dari kedua sumber inokulum mampu beradaptasi meskipun tanpa proses aklimatisasi awal secara khusus. Namun demikian, rendahnya nilai ACE pada fase pertengahan (hari ke-21 hingga ke-44) menunjukkan bahwa keberadaan AOB belum optimal, kemungkinan disebabkan oleh turunnya konsentrasi DO yang berperan penting dalam proses nitrifikasi. Kondisi ini mengindikasikan bahwa meskipun inokulum AOB tersedia, keberhasilannya dalam mendukung pembentukan nitrit sebagai substrat untuk anammox sangat dipengaruhi oleh kondisi operasional reaktor seperti DO, suhu, dan kestabilan biofilm pada media filter.

Studi terdahulu oleh Huang et al. (2016) menunjukkan bahwa penggunaan inokulum yang telah melalui proses aklimatisasi aerobik selama beberapa bulan dapat mempercepat *start-up* dan meningkatkan kestabilan sistem. Sementara dalam penelitian ini, meskipun tanpa perlakuan khusus, kinerja NRR terus meningkat secara bertahap dan mencapai kestabilan pada hari ke-53, menunjukkan bahwa sistem tetap dapat mencapai performa yang baik seiring waktu. Hasil ini menguatkan temuan Augusto et al. (2018) bahwa sumber inokulum, meskipun berasal dari lumpur alam, tetap dapat menghasilkan aktivitas PN/A yang efektif jika kondisi reaktor dikontrol dengan baik, khususnya pada parameter DO, HRT, dan ketersediaan substrat terutama nitrit untuk proses anammox.

Meskipun demikian, penelitian ini belum dilengkapi dengan karakterisasi awal inokulum seperti MLSS, MLVSS, maupun analisis komunitas mikrobiota untuk mengidentifikasi keberadaan AOB dan anammox secara biologis. Oleh karena itu, keberhasilan proses parsial nitrifikasi-anammox pada penelitian ini diinterpretasikan berdasarkan perubahan profil nitrogen serta peningkatan nilai ACE, NRE, dan NRR selama operasional reaktor. Selain itu, penelitian ini juga belum menggunakan reaktor kontrol tanpa inokulum anammox sehingga

kontribusi spesifik bakteri anammox terhadap penyisihan nitrogen belum dapat dibandingkan secara langsung.

Penggunaan lumpur sebagai inokulum dari lingkungan lokal berpotensi untuk dikembangkan dalam sistem PN/A, namun dibutuhkan waktu operasi yang cukup panjang untuk mencapai kestabilan karena keterbatasan laju pertumbuhan bakteri anammox. Strategi peningkatan kinerja seperti penambahan nitrit eksternal di awal operasional reaktor, pemisahan antara reaktor parsial nitritasi dan anammox, atau penggunaan media lekat yang mempercepat pembentukan biofilm dapat menjadi alternatif untuk mengatasi lambatnya *start-up*.

Penggunaan bakteri anammox untuk *start-up* proses nitritasi-anammox dan peningkatan konsentrasi air limbah secara bertahap dapat mempercepat sistem PN/A (Zulkarnaini et al., 2024). Dengan berhasilnya identifikasi dan kultivasi bakteri anammox di Indonesia oleh Zulkarnaini et al. (2025) membuka peluang untuk penelitian lebih lanjut. Waktu mulai untuk proses PN/A menggunakan bakteri anammox sebagai inokulum dapat bervariasi secara signifikan. Dalam percobaan skala laboratorium, *start-up* dicapai hanya dalam 5–21 hari menggunakan lumpur anammox dan lumpur aktif sebagai inokulum (Wang et al., 2018). Oleh karena itu, optimasi parameter operasional seperti DO, HRT, suhu, dan *enrichment* inokulum diperlukan untuk meningkatkan kestabilan dan efisiensi sistem PN/A pada penelitian selanjutnya.

3.5. Keterbatasan Penelitian dan Implikasi Pengembangan Sistem

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan yang dapat memengaruhi interpretasi hasil penelitian. Karakterisasi lumpur inokulum belum mencakup analisis mixed liquor suspended solids (MLSS), mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS), kandungan nitrogen lumpur, maupun identifikasi komunitas mikroba secara molekuler. Selain itu, penelitian ini belum menggunakan reaktor kontrol tanpa inokulum anammox sehingga kontribusi spesifik aktivitas anammox terhadap penyisihan nitrogen belum dapat dibandingkan secara langsung.

Interpretasi aktivitas mikroorganisme pada penelitian ini masih didasarkan pada perubahan profil nitrogen dan kondisi operasional reaktor. Analisis komunitas mikroba menggunakan metode molekuler seperti polymerase chain reaction (PCR), quantitative PCR (qPCR), maupun sequencing belum dilakukan sehingga keberadaan dan dominansi bakteri AOB serta anammox belum dapat dikonfirmasi secara biologis. Durasi operasional selama 53 hari juga belum sepenuhnya menunjukkan keberhasilan *start-up* anammox secara penuh karena bakteri anammox memiliki laju pertumbuhan yang sangat lambat. Oleh karena itu, penelitian ini lebih difokuskan pada evaluasi tahap awal *start-up* sistem PN/A

menggunakan lumpur lokal pada kondisi suhu ambien.

Selain itu, penelitian masih terbatas pada skala laboratorium dengan satu unit reaktor sehingga performa sistem pada kondisi operasional skala nyata belum dapat dievaluasi secara langsung. Faktor seperti fluktuasi beban nitrogen, variasi temperatur lingkungan, distribusi oksigen, dan kestabilan biofilm pada debit yang lebih besar berpotensi memengaruhi performa sistem PN/A pada aplikasi lapangan.

Meskipun demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa lumpur lokal berpotensi digunakan sebagai sumber inokulum awal untuk pengembangan sistem PN/A di Indonesia. Penggunaan FtBR termodifikasi juga menunjukkan potensi dalam mendukung pembentukan biofilm sekaligus mengurangi risiko clogging pada sistem biofilm konvensional. Penelitian lanjutan diperlukan untuk melakukan enrichment inokulum, optimasi kondisi operasional, analisis komunitas mikroba, evaluasi kinetika pertumbuhan bakteri, serta pengujian sistem pada skala yang lebih besar guna meningkatkan stabilitas dan efisiensi penyisihan nitrogen.

4. KESIMPULAN

FtBR termodifikasi berpotensi digunakan sebagai reaktor biofilm untuk mendukung *start-up* proses parsial nitritasi-anammox (PN/A) menggunakan lumpur lokal sebagai sumber inokulum pada kondisi suhu ambien. Selama 53 hari operasional, sistem menunjukkan adanya konversi nitrogen yang mengindikasikan aktivitas parsial nitritasi dan anammox. Namun, kinerja reaktor masih relatif rendah dengan nilai ACE, NRE, dan NRR masing-masing sebesar 34,20%, 31,22%, dan 0,023 kg-N/m³.hari sehingga kestabilan sistem belum tercapai secara optimal. Kondisi DO, ketersediaan nitrit, suhu ambien, dan kemungkinan aktivitas NOB diduga memengaruhi performa sistem selama fase *start-up*. Meskipun demikian, penggunaan FtBR termodifikasi menunjukkan potensi dalam mendukung pembentukan biofilm dan mengurangi risiko *clogging* pada sistem biofilm konvensional. Penelitian lanjutan diperlukan untuk optimasi DO, HRT, suhu operasional, *enrichment* inokulum, analisis komunitas mikroba, dan pengujian pada skala lebih besar guna meningkatkan stabilitas dan efisiensi penyisihan nitrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Augusto, M. R., Camiloti, P. R., & Souza, T. S. O. de. (2018). Fast *start-up* of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. *Bioresource Technology*, 266(April), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.068>
- Cao, Y., Wang, Q., & Li, X. (2023). Recent development of mainstream partial nitritation/anammox biotechnology for wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 369, 128353.

- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erismann, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., Martinelli, L. A., Seitzinger, S. P., & Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878), 889–892. <https://doi.org/10.1126/science.1136674>
- Hao, X., Heijnen, J. J., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2001). Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process. *Biotechnology and Bioengineering*, 77(3), 266–277. <https://doi.org/10.1002/bit.10105>
- Huang, X., Sun, K., Wei, Q., Urata, K., Yamashita, Y., Hong, N., Hama, T., & Kawagoshi, Y. (2016). One-stage partial nitrification and anammox in membrane bioreactor. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(11), 11149–11162. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6309-x>
- Jetten, M., Schmid, M., Van De Pas-Schoonen, K., Damsté, J. S., & Strous, M. (2005). Anammox Organisms: Enrichment, Cultivation, and Environmental Analysis. *Methods in Enzymology*, 397, 34–57. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)97003-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)97003-1)
- Jin, R.-C. C., Zheng, P., Mahmood, Q., & Hu, B.-L. L. (2007). Osmotic stress on nitrification in an airlift bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*, 146(1–2), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.004>
- Kim, S., Lee, J., & Choi, M. (2023). Potential of local sludge inoculum for anammox enrichment under tropical conditions. *Environmental Research*, 216, 114567.
- Lackner, S., Gilbert, E. M., Vlaeminck, S. E., Joss, A., Horn, H., & van Loosdrecht, M. C. M. (2014). Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. *Water Research*, 55(0), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.032>
- Li, J., Sun, D., & Zhang, X. (2023). Effects of dissolved oxygen on microbial competition in PN/A systems. *Chemosphere*, 327, 138512.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Lubello, C., & van Loosdrecht, M. C. M. C. M. (2014). Physiological and Kinetic Characterization of A Suspended Cell Anammox Culture. *Water Research*, 60, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.017>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., & van Loosdrecht, M. C. M. C. M. (2015). Effect of temperature change on anammox activity. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(1), 98–103. <https://doi.org/10.1002/bit.25333>
- Mulder, A., van de Graaf, A. A. A., Robertson, L. A. A. A., & Kuenen, J. G. G. G. (1995). Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology*, 16(3), 177–183. [https://doi.org/10.1016/0168-6496\(94\)00081-7](https://doi.org/10.1016/0168-6496(94)00081-7)
- Oshiki, M., Shimokawa, M., Fujii, N., Satoh, H., & Okabe, S. (2011). Physiological characteristics of the anaerobic ammonium-oxidizing bacterium "Candidatus Brocadia sinica." *Microbiology*, 157(6), 1706–1713. <https://doi.org/10.1099/mic.0.048595-0>
- Putra, R. P., Zulkarnaini, & Komala, P. S. R. I. (2020). Start – Up Proses Anammox Menggunakan Lumpur Telaga Koto Baru sebagai Inokulum *Start-up Anammox Process Using Sludge from Koto Baru Lake as Inoculum. Jurnal Teknologi Lingkungan*, 21(1), 9.
- Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J. M., Li, G. B., Dougless, A., Fuentes-Velasco, M., Sierra-Alvarez, R., & Field, J. A. (2014). High pH (and not free ammonia) is responsible for Anammox inhibition in mildly alkaline solutions with excess of ammonium. *Biotechnology Letters*, 36(10), 1981–1986. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1564-8>
- Strous, M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. M., Gijs Kuenen, J., Jetten, M. S. M. M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. M., Gijs Kuenen, J., Jetten, M. S. M. M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. M., Gijs Kuenen, J., Jetten, M. S. M. M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. M., Gijs Kuenen, J., Jetten, M. S. M. M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. M., ... Jetten, M. S. M. M. (1999). Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3248–3250. <https://doi.org/10.1128/aem.65.7.3248-3250.1999>
- Thakur, I. S., & Medhi, K. (2019). Nitrification and denitrification processes for mitigation of nitrous oxide from waste water treatment plants for biovalorization: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 282(January), 502–513. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.069>
- Van De Graaf, A. A., De Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S. M. M., & Kuenen, J. G. (1996). Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*, 142(8), 2187–2196. <https://doi.org/10.1099/13500872-142-8-2187>
- Wang, Z., Li, Y., & Zhao, H. (2024). Operational challenges and stability of partial nitrification-anammox processes under ambient conditions. *Journal of Environmental Management*, 352, 119968.
- Wang, Q., Wang, Y., Lin, J., Tang, R., Wang, W., Zhan, X., & Hu, Z. H. (2018). Selection of seeding strategy for fast start-up of Anammox process with low concentration of Anammox sludge inoculum. *Bioresource Technology*, 268(June), 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.056>
- Wu, J., Kong, Z., Luo, Z., Qin, Y., Rong, C., Wang, T., Hanaoka, T., Sakemi, S., Ito, M., Kobayashi, S., Kobayashi, M., Xu, K. Q., Kobayashi, T., Kubota, K., & Li, Y. Y. (2021). A successful start-up of an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) coupled mainstream partial nitrification-anammox (PN/A) system: A pilot-scale study on in-situ NOB elimination, AnAOB growth kinetics, and mainstream treatment performance. *Water Research*, 207, 117783. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117783>
- Zhao, L., Wang, H., & Liu, Q. (2024). Adaptation of indigenous microbial communities during PN/A reactor start-up. *Journal of Water Process Engineering*, 57, 104421.
- Zhou, S., Gong, H., Xu, E., Chen, X., Wang, X., Wang, H., Zhu, D., Zhang, Y., Yang, J., Gu, G., & Dai, X. (2024). Start-up of a full-scale two-stage partial nitrification/anammox (PN/A) process treating reject water from high solid anaerobic sludge digestion (HSAD). *Water Research X*, 25, 100259. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2024.100259>
- Zulkarnaini, Yujie, Q., Yamamoto-Ikemoto, R., & Matsuura, N. (2018). One-Stage Nitrification/Anammox Process Using a Biofilm Reactor with Two-Inflow. *Journal of Water and Environment Technology*, 16(2), 106–114. <https://doi.org/10.2965/jwet.17-050>
- Zulkarnaini, Z. (2024). *Sistem Bioreaktor untuk Pengayaan Bakteri Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) (IDP000096776)*. Direktorat Jenderal Kekayaan Intelektual.
- Zulkarnaini, Z., Komala, P. S., Putra, R. P., Ali, M., Matsuura, N., Koike, K., Wang, J., Mawarda, P. C., & Yamamoto-Ikemoto, R. (2025). Cultivation of anammox bacteria

- Dwi, D., Shinta, S., dan Zulkarnaini, Z. (2026). *Start-up* Proses Parsial Nitritasi-Anammox pada *Filter Bioreactor*. Jurnal Ilmu Lingkungan, 24(2), 243-xx, doi:10.14710/jil.24.2.243-251
- from a tropical lake in Indonesia using a novel filter bioreactor to enhance nitrogen removal efficiency. *Water Science and Technology*, 91(7), 811–826. <https://doi.org/10.2166/wst.2025.050>
- Zulkarnaini, Z., Matsuura, N., Kanazawa, S., Honda, R., & Yamamoto-Ikemoto, R. (2024). Optimizing *start-up* strategies for the two-inflow nitrification/anammox process: influence on biofilm microbial community composition. *Water Science & Technology*, 89(6), 1583–1594. <https://doi.org/10.2166/wst.2024.065>