

# Start – Up Proses Anammox Menggunakan Lumpur Telaga Koto Baru sebagai Inokulum

## Start-Up Anammox Process Using Sludge from Koto Baru Lake as Inoculum

RANDI PERMANA PUTRA<sup>1,2</sup>, ZULKARNAINI<sup>1</sup>, PUTI SRI KOMALA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknik Lingkungan, Universitas Andalas  
Kampus Limau Manis, Padang – Sumatera Barat, Kode Pos 25163 Telp. 0751-72497 Fax. 0751-72566  
<sup>2</sup>Politeknik ATI Padang  
Jl. Bungo Pasang Tabing, Padang – Sumatera Barat, Kode Pos 25171 Telp. 0751-7055053  
Email: zulkarnaini@eng.unand.ac.id

### ABSTRACT

*The anammox process plays an essential role in removing nitrogen from the waters anaerobically. Since the discovery of anammox in 1995, no studies have reported anammox bacteria from the Indonesian environment. This research aims to begin exploring anammox bacteria from the environment in Indonesia as a tropical country. The exploration was carried out with a start-up anammox process in a continuous reactor. The reactor was constructed using a housing filter equipped with a string wound filter as a supporting media for biofilm. Sludge from Koto Baru Lake, Tanah Datar, Indonesia, was used as inoculum. The substrate was fed into the reactor through the inside of the filter using a peristaltic pump. Ammonium and nitrite were supplemented to the substrate at a 70-150 mg-N/L concentration and operated at room temperature. The samples were collected once a week. Ammonium and nitrite were measured using the colorimetric method, nitrate using the ultraviolet spectrophotometric method. Performance of nitrogen removal and the growth biofilm in the reactor shown the success of the start of the anammox process. After 140 days of reactor operation, the maximum value of nitrogen removal rate (NRR) was 0.271 kg-N/m<sup>3</sup>.day at the nitrogen loading rate (NLR) 0.3095 kg-N/m<sup>3</sup>.day. Ammonium conversion efficiency (ACE) and nitrogen removal efficiency (NRE) during start-up were 97.07% and 91.92%. Red biofilm growth on the filter and the reactor's inner wall, which is characteristic of the anammox bacteria biomass.*

**Keywords:** anammox, Indonesia, Koto Baru Lake, tropical

### ABSTRAK

Proses anammox memiliki peran penting dalam penyisihan nitrogen dari perairan secara anaerobik. Sejak ditemukannya anammox pada 1995, belum ada penelitian yang melaporkan keberadaan bakteri anammox dari lingkungan Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memulai eksplorasi bakteri anammox dari lingkungan di Indonesia sebagai negara tropis. Eksplorasi dilakukan dengan *start-up* proses anammox pada sebuah reaktor kontinu. Reaktor terdiri dari *housing filter* yang dilengkapi dengan *string wound filter* sebagai media lekat untuk biofilm. Lumpur dari Telaga Koto Baru digunakan sebagai inokulum. Substrat dialirkan ke dalam reaktor melalui bagian dalam filter menggunakan pompa peristaltik. Amonium dan nitrit ditambahkan ke substrat dengan konsentrasi 70-150 mg-N/L dan dioperasikan pada suhu kamar. Konsentrasi amonium dan nitrit diukur dengan metode kolorimetri, serta konsentrasi nitrat dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV dengan interval pengukuran sampel setiap 5 hari. Pengamatan penyisihan nitrogen dan pertumbuhan biofilm di reaktor menunjukkan keberhasilan dimulainya proses anammox. Setelah 140 hari operasional reaktor, didapatkan nilai tingkat penyisihan nitrogen (TPyN) maksimum 0,271 kg-N/m<sup>3</sup>.hari pada tingkat pemuatan nitrogen (TPN) 0,3095 kg-N/m<sup>3</sup>.hari. Nilai efisiensi konversi amonium (EKA) dan efisiensi penyisihan nitrogen (EPN) maksimum selama start-up adalah : 97,07% dan 91,92%. Biofilm berwarna merah tumbuh pada filter dan dinding bagian dalam reaktor yang merupakan karakteristik dari biomassa bakteri anammox.

**Kata kunci:** anammox, Indonesia, Telaga Koto Baru, tropis

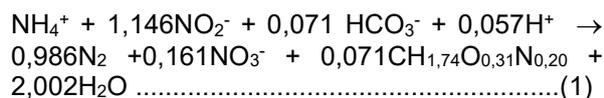
## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Anammox merupakan proses konversi amonium menjadi gas nitrogen dengan nitrit

sebagai penerima elektron pada keadaan anoksik oleh bakteri anammox yang merupakan golongan filum *Planctomycetes*<sup>(1)</sup>. Anammox pertama kali diketahui pada *fluidized bed reactor* (FBR) tahun 1995. Hingga saat ini, teknologi

pengolahan nitrogen menggunakan proses anammox sudah diaplikasikan di seluruh dunia, hingga lebih dari 114 reaktor anammox skala besar, dan para peneliti terus melakukan berbagai macam pengembangan dan inovasi terkait proses anammox tersebut<sup>(2,3)</sup>. Proses anammox menghemat kebutuhan aerasi hingga 65%, tidak membutuhkan tambahan karbon organik dan menghasilkan lumpur yang lebih sedikit hingga 80-90% dibandingkan proses nitrifikasi-denitrifikasi<sup>(4)</sup>. Reaksi biokimia dari proses anammox dirumuskan dalam persamaan sebagai berikut<sup>(5)</sup>:



Sejak penemuannya pada tahun 1995, proses anammox dalam siklus nitrogen biologis terus dilakukan eksplorasi. Saat ini, terdapat 7 genus bakteri anammox, yaitu *Candidatus Brocadia*<sup>(6)</sup>, *Candidatus Kuenenia*<sup>(7)</sup>, *Candidatus Scalindua*<sup>(8)</sup>, *Candidatus Anammoxoglobus*<sup>(9)</sup>, *Candidatus Jettenia*<sup>(10)</sup>, *Candidatus Brasiliis*<sup>(11)</sup> dan *Candidatus Anammoximicrobium*<sup>(12)</sup> dengan jumlah 22 spesies<sup>(13)</sup> akan tetapi tidak satupun genus atau spesies yang dilaporkan ditemukan di Indonesia. Indonesia sebagai negara tropis yang terkenal dengan keanekaragaman hayati dan mikroba memiliki potensi ditemukannya bakteri anammox. Dengan rentang suhu rata-rata 27–30 °C<sup>(14)</sup>, yang memungkinkan proses anammox dapat terjadi<sup>(15)</sup>. Selain itu beberapa bakteri anammox, yakni *Ca. B. sapporoensis*, *Ca. J. caeni* dan *Ca. S. sp.* dapat tumbuh pada rentang suhu 20–30 °C<sup>(16)</sup>. Hal ini memberikan gambaran potensi besar untuk ditemukannya bakteri anammox pada lingkungan alami Indonesia .

Keberadaan bakteri anammox di lingkungan dapat ditemukan pada habitat alami maupun habitat buatan seperti, sungai, danau, muara, akuifer air tanah, lahan basah, sawah, *everglades*, dan tanah<sup>(17)</sup>. Adapun faktor lingkungan yang mempengaruhi distribusi dan komposisi komunitas anammox adalah kandungan amonium, salinitas, suhu, dan rasio karbon organik/nitrogen (C/N). Dengan demikian, bakteri anammox sangat potensial ditemukan pada daerah yang memiliki kadar nitrogen tinggi seperti perairan yang tercemar. Dampak dari tercemarnya perairan dengan kadar nitrogen tinggi salah satunya adalah eutrofikasi<sup>(18)</sup>. Salah satu ciri paling nyata yang dapat dilihat secara fisik adalah pertumbuhan tidak terkendali dari tumbuhan enceng gondok (*Eichhornia crassipes*)<sup>(19)</sup>. Telaga Koto Baru yang terletak di Kabupaten Tanah Datar Provinsi Sumatera Barat (0°23'19.4"LS 100°24'00.8"BT)

menunjukkan kondisi fisik serupa yakni pertumbuhan enceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dan kiambang (*Pistia stratiotes*) yang tidak terkendali dan menutupi hampir 80% permukaan air. Sehingga dapat dikatakan Telaga Koto Baru telah mengalami eutrofikasi. Terlebih lagi di sekitar telaga tersebut digunakan untuk pemukiman warga, tempat makan/restoran, area pertanian, serta berada di kawasan dekat gunung berapi. Hal inilah yang dijadikan dugaan keberadaan bakteri anammox.

Kultivasi atau pembiakan bakteri anammox dalam *start-up* proses anammox telah dilakukan pada beberapa reaktor seperti *sequencing batch reactor* (SBR), *fixed bed reactor* (FBR), *upflow biofilter* (UBF), *upflow anaerobic sludge blanket* (UASB), *membrane bioreactor* (MBR), *airlift reactor*, dan *rotating biological contactor*. Biomasa anammox dalam reaktor tersebut umumnya mempunyai 3 bentuk, yaitu granula<sup>(20)</sup>, *suspended sludge*<sup>(5)</sup> dan biofilm dengan media pendukung sebagai tempat lekat dan tumbuh. Media lekat yang pernah digunakan seperti *non-woven*<sup>(21)</sup>, *filter*, *sponge*<sup>(22)</sup> dan PVA-SA gel<sup>(23)</sup>. Dalam penelitian ini, konfigurasi yang dipakai adalah reaktor biofilm dengan media lekat berupa *string wound filter* yang disebut reaktor biofilm<sup>(22)</sup>. Pemakaian reaktor biofilm dipilih karena sampel inokulum berupa lumpur paling optimal memberikan hasil ketika dilakukan proses *start-up* dengan reaktor biofilm<sup>(24)</sup>.

Penelitian terdahulu tentang kultivasi bakteri anammox di lingkungan Indonesia sudah pernah dilakukan dengan sampel biakan yang berasal dari sedimen dan air permukaan dari sungai di Kota Semarang<sup>(25)</sup>. Metode kultivasi dilakukan secara konvensional, di mana sampel yang diambil ditumbuhkan pada media *plating* yang diisikan media anammox cair. Hasil penelitian menunjukkan kurva pertumbuhan dari suatu bakteri gram negatif yang dianggap sebagai bakteri anammox. Akan tetapi hasil penelitian tersebut belum menunjukkan bukti terjadinya proses anammox yang ditunjukkan dengan penyisihan nitrogen (amonium dan nitrit) dan produksi nitrat dalam keadaan anaerobik sebagaimana reaksi dari biokimia proses anammox. Selain itu, tidak ada keterangan dari laporan penelitian mengenai biomasa bakteri anammox. Bakteri anammox tidak dapat diisolasi dan dimurnikan 100% dengan menggunakan metode konvensional<sup>(26)</sup> karena bakteri anammox bermutualisme dengan bakteri lainnya, sehingga genus bakteri anammox ditambahkan *Candidatus* di depannya<sup>(27)</sup>. Oleh karena, itu perlu adanya penelitian untuk mengidentifikasi proses anammox dengan menggunakan inokulum dari lumpur pada lingkungan tropis khususnya Indonesia dengan metode yang tepat.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk *start-up* proses anammox menggunakan lumpur Telaga Koto Baru sebagai inokulum yang dioperasikan pada suhu ruangan. Diharapkan penelitian ini menjadi langkah awal dan panduan bagi peneliti lain di Indonesia dalam mengeksplorasi bakteri anammox di Indonesia.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Bahan

Sampel yang digunakan sebagai inokulum pada penelitian ini adalah lumpur dari Telaga Koto Baru, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat yang telah mengalami eutrofikasi. Sampel diambil dengan teknik komposit sampel pada 4 titik di Telaga Koto Baru Kabupaten Tanah Datar pada kedalaman 0,5 - 1 meter di bawah permukaan air sebanyak 1 L setiap masing – masing titik sampling. Kedalaman pengambilan lumpur dipengaruhi pada bidang batas antara padatan dan air, sehingga lumpur yang diambil adalah lumpur yang berada pada zona tersebut.

Keempat titik pengambilan sampel yakni : titik 1 (100° 24' 5,400" BT dan 0° 23' 23,075" LS) pada saluran inlet dari telaga, titik 2 (100° 24' 3,110" BT dan 0° 23' 20,674" LS) area di mana enceng gondok atau kiambang tumbuh menutupi permukaan air, titik 3 (100° 24' 1,537" BT dan 0° 23' 17,376" LS) pada lokasi di mana tidak adanya enceng gondok yang tumbuh di atas permukaan air, dan titik 4 (100° 23' 59,766" BT dan 0° 23' 17,682" LS) pada saluran outlet telaga. Lokasi titik pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel yang telah dikumpulkan/diambil dari Telaga Koto Baru, Kabupaten Tanah Datar dimasukkan ke dalam jeriken tertutup kedap udara. Sampel inilah digunakan sebagai inokulum dan dimasukkan ke dalam reaktor dan dialiri secara kontinu dengan larutan substrat, di mana pengerjaan dilakukan dalam waktu 24 jam sejak pengambilan lumpur.

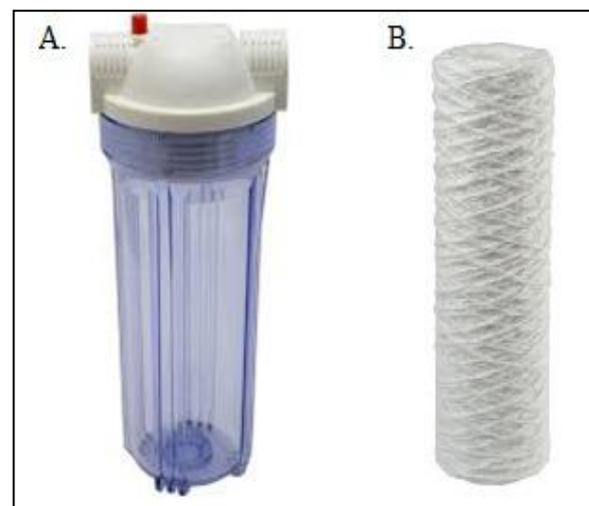


Gambar 1. Telaga Koto Baru, Tanah Datar, Sumatera Barat

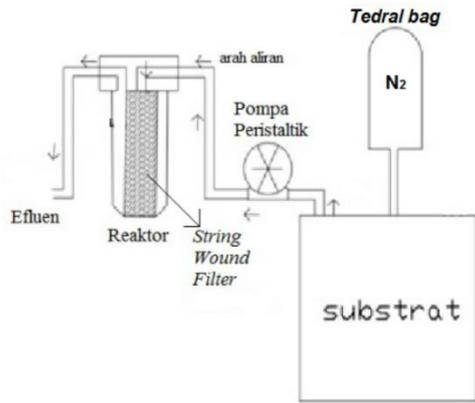
## 2.2 Metode

### 2.2.1 Konfigurasi reaktor

Reaktor merupakan *housing filter* air (Nanotec, ukuran 10", China) yang mempunyai volume efektif 1,8 L yang dipasang *string wound filter cartridge* (ukuran pori 0,5 µm, Puretex, USA) pada bagian tengah sebagai media lekat. Bentuk dari *housing filter* air dan *string wound filter* dapat dilihat pada Gambar 2. Lumpur dari Telaga Koto Baru dimasukkan ke dalam reaktor sebagai inokulum sebanyak 1500 ml. Reaktor dioperasikan pada suhu ruang (18-28°C) yang dimonitoring menggunakan alat *thermo-hygrometer* (Corona gl-89, China). Reaktor ditutup dengan aluminium foil untuk menghambat masuknya cahaya sehingga dapat mencegah tumbuhnya bakteri fotosintetik<sup>(28)</sup>. Substrat dialirkan ke dalam reaktor menggunakan pompa peristaltik melalui rongga dalam filter reaktor dan laju alir dikontrol pada waktu tinggal hidrolis (WTH) 24 jam yaitu 1,25 ml/menit. Pada wadah penampung substrat dilengkapi dengan *tedlar bag* yang berisi gas nitrogen untuk memastikan kondisi anoksik. Suhu dan pH reaktor tidak diatur selama penelitian. Skema konfigurasi reaktor pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Bentuk dari *housing filter* dan *string wound filter cartridge* yang digunakan dalam konfigurasi reaktor (A. *Housing filter*, B. *String wound filter cartridge*)



Gambar 3. Skema instalasi reaktor penelitian

### 2.2.2 Komposisi larutan substrat

Pada awal operasional reaktor, ditambahkan masing-masing 70 mg-N/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan  $\text{NaNO}_2$  dengan perbandingan 1:1 ke dalam substrat yang mengandung (setiap liter substrat) 500 mg  $\text{KHCO}_3$ ; 27,2 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 300 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 180 mg  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan 1 mL *Trace Element I* dan *II*<sup>(29)</sup>. Konsentrasi amonium dan nitrit ditingkatkan secara bertahap hingga 150 mg-N/L.

### 2.2.3 Metode analitis dan perhitungan

Sampel diambil sebanyak 25 mL pada efluen dan influen dengan rentang pengambilan sampel setiap 5 hari, terkecuali pada tahap peralihan (konsentrasi amonium/nitrit 100 mg-N/L) yang diambil satu kali setelah 29 hari dilakukan kenaikan konsentrasi amonium dan nitrit. Hal ini, karena konsentrasi 100 mg-N/L hanya merupakan tahap peralihan sehingga dianggap sebagai kontrol selama  $\pm 30$  hari. Konsentrasi amonium ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) dan nitrit ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ) ditentukan dengan metode spektrofotometri Vis berdasarkan SNI 06-6989.30-2005 untuk amonium ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) dan SNI 06-6989.9-2004 untuk nitrit ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ). Sedangkan nitrat ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) ditentukan dengan metode skrining UV spektrofotometri<sup>(30)</sup>. Pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800, Kyoto, Japan). Pengamatan proses anammox dianalisis berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan efisiensi konversi amonium (EKA, %), efisiensi penyisihan nitrogen (EPN, %), tingkat pemuatan nitrogen (TPN,  $\text{kg-N/m}^3 \cdot \text{hari}$ ) dan tingkat penyisihan nitrogen (TPyN,  $\text{kg-N/m}^3 \cdot \text{hari}$ ) sebagaimana persamaan sebagai berikut<sup>(31)</sup>:

$$\text{EKA} = \frac{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}}} \times 100 \% \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{EPN} = \frac{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_3^-\text{-N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{in}}} \times 100 \% \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$\text{TPN} = \frac{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{in}}}{\text{WTH}} \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$\text{TPyN} = \frac{[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_3^-\text{-N}]_{\text{out}}}{\text{WTH}} \quad \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan :

$[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{in}}$  = Konsentrasi influen amonium (mg-N/L)

$[\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{in}}$  = Konsentrasi influen nitrit (mg-N/L)

$[\text{NH}_4^+\text{-N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen amonium (mg-N/L)

$[\text{NO}_2^-\text{-N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen nitrit (mg-N/L)

$[\text{NO}_3^-\text{-N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen nitrat (mg-N/L)

WTH = Waktu Tinggal Hidrolis (jam)

EKA = Efisiensi Konversi Amonium (%)

EPN = Efisiensi Penyisihan Nitrogen (%)

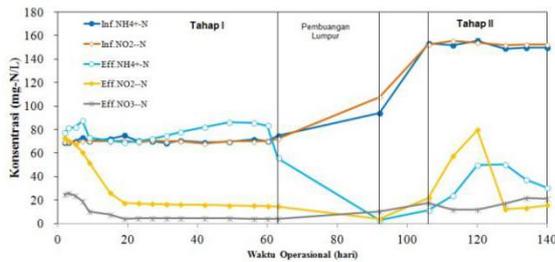
TPN = Tingkat Pemuatan Nitrogen ( $\text{kg-N/m}^3 \cdot \text{hari}$ )

TPyN = Tingkat Penyisihan Nitrogen ( $\text{kg-N/m}^3 \cdot \text{hari}$ )

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Performa Proses Start-up

Pada proses *start-up* ditemukan 4 tahapan yakni; *cell lysis phase*, *lag phase*, *transition phase*, dan *activity elevation phase*<sup>(32)</sup>. Fase atau tahapan ini dapat dilihat pada profil perubahan konsentrasi dari efluen dan influen dari reaktor. *Cell lysis phase* atau fase lisis sel dapat ditandai dengan konsentrasi amonium pada efluen lebih tinggi daripada konsentrasi pada influen. Selain itu, konsentrasi nitrit cenderung menurun dan menunjukkan proses denitrifikasi dominan pada tahapan ini. *Lag phase*/fase penyesuaian ditandai dengan terjadinya penurunan bertahap konsentrasi amonium dan nitrit pada efluen secara simultan dan terjadinya kenaikan konsentrasi nitrat pada efluen yang menandakan mulainya aktivitas dari bakteri anammox. Fase transisi (*transition phase*) adalah fase sebelum fase eksponensial (*activity elevation phase*). Fase ini lebih sulit ditandai karena berkemungkinan terjadi fluktuasi konsentrasi amonium pada efluen. Akan tetapi akhir dari fase ini mudah ditentukan yakni adanya penurunan drastis dari konsentrasi amonium efluen yang merupakan awal dari fase eksponensial. Untuk fase eksponensial, dimulai ketika terjadinya penurunan konsentrasi amonium pada efluen secara drastis atau signifikan dan terus menuju kondisi *steady state*/stabil. Selain itu, nilai dari konsentrasi nitrat pada efluen cenderung menunjukkan kenaikan. Keseluruhan fase sebagai performa dari *start-up* proses anammox dapat dilihat pada Gambar 4 dan profil perubahan nitrogen pada Gambar 5.

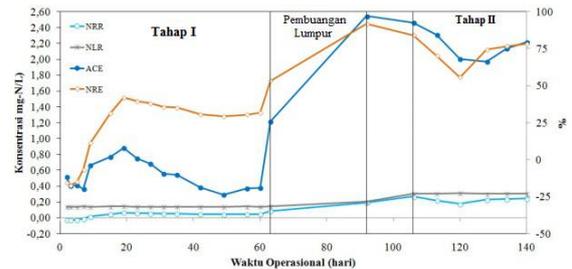


Gambar 4. Profil Perubahan Nitrogen Selama *Start-up*

### A. Fase Lisis Sel (*Cell Lysis Phase*; hari 0 – 15)

Selama fase ini, konsentrasi amonium dan nitrit pada influen berkisar pada kisaran 70 mg-N/L. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Pada fase ini, konsentrasi amonium pada efluen selalu lebih tinggi dari konsentrasi amonium pada influen. Hal ini terjadi disebabkan oleh lisis sel oleh bakteri hidup dalam lumpur yang digunakan sebagai inokulum<sup>(33)</sup>. Selain itu, peningkatan amonium berasal bakteri aerob dan heterotrof yang mati karena perubahan kondisi lingkungan sehingga terjadi lisis sel yang menyebabkan kenaikan amonium<sup>(32)</sup>. Pada penelitian ini, fase lisis sel berlangsung pada 0 hingga 15 hari hampir sama dengan apa yang dialami oleh Chen yakni 16 hari<sup>(32)</sup> dan Wang selama 15 hari<sup>(21)</sup>.

Berbeda dengan konsentrasi nitrit pada efluen cenderung terus menunjukkan penurunan konsentrasi. Sedangkan konsentrasi nitrat pada efluen terjadi fluktuasi, di mana pada awal operasional *start-up*, Konsentrasi nitrat efluen lebih tinggi dari pada influen. Selanjutnya, konsentrasi nitrat pada efluen mengalami penurunan drastis dan kemudian terjadi perubahan di mana konsentrasi pada efluen dan influen hampir sama. Penurunan konsentrasi nitrit dan fluktuasi dari nitrat umumnya merupakan akibat dari lisis sel yang terjadi, serta pada tahap ini umumnya didominasi oleh bakteri denitrifikasi yang menggunakan karbon organik yang ada pada lumpur biakan<sup>(32)</sup>. Akan tetapi hal ini hanya berlangsung sementara, karena karbon organik yang ada akan habis karena terus dikonsumsi oleh bakteri denitrifikasi. Hal ini dapat dilihat bahwa konsentrasi nitrat yang terdeteksi pada efluent (nitrat tidak ditambahkan pada larutan substrat) efluen hampir sama dengan konsentrasi nitrat pada influen. Dikarenakan penyisihan nitrogen belum optimal pada fase ini, maka nilai tertinggi dari EKA, EPN, dan TPN berturut-turut adalah: 2,04%, 31,37% dan 0,048 kg-N/m<sup>3</sup>.hari, dengan TPyN sebesar 0,1418 kg-N/m<sup>3</sup>.hari pada hari ke-15.



Gambar 5. Grafik Kinerja Penyisihan Nitrogen

### B. Fase Penyesuaian (*Lag Phase*; hari 16 – 31)

Pada fase ini, konsentrasi amonium dan nitrit tetap dipertahankan pada kisaran 70 mg-N/L. Fase ini ditandai dengan adanya penurunan konsentrasi amonium hingga mencapai konsentrasi yang hampir sama antara efluen dengan influen. Hal ini teramati pada data hari ke-19, sebesar 68,95 mg-N/L. Untuk nitrit terjadi kecenderungan penurunan konsentrasi pada efluen, dimana didapatkan data dari pengambilan empat kali berturut-turut untuk konsentrasi nitrit adalah: 17,54, lalu 17,03, lalu 16,63, dan selanjutnya 16,49 dalam satuan mg-N/L. Berbeda dengan nitrit, konsentrasi nitrat pada efluen menunjukkan kecenderungan peningkatan. Pada hari ke-19 konsentrasi nitrat pada efluen adalah 3,97 mg-N/L, sedangkan pada hari berikutnya naik menjadi 4,21 mg-N/L. Peningkatan konsentrasi nitrat yang berbanding terbalik dengan konsentrasi amonium dan nitrit yang turun, merupakan indikasi terjadinya proses anammox menurut reaksi biokimianya<sup>(34)</sup>. Fase penyesuaian sendiri berlangsung selama 15 hari dengan nilai tertinggi dari EKA, EPN, dan TPN berturut-turut adalah: 8,03%, 41,99% dan 0,065 kg-N/m<sup>3</sup>.hari dengan TPyN sebesar 0,1457kg-N/m<sup>3</sup>.hari.

### C. Fase Transisi (*Transition Phase*; hari 32 – 60)

Konsentrasi amonium dan nitrit pada fase ini masih dipertahankan dalam kisaran 70 mg-N/L. Pada fase ini, konsentrasi amonium pada efluen mengalami kenaikan sehingga menjadi lebih tinggi dibandingkan konsentrasi pada influen. Sedangkan untuk konsentrasi nitrit dan nitrat mengalami kecenderungan penurunan dibandingkan dengan hari sebelumnya. Hal ini berlangsung dari hari ke-32 hingga hari ke-60. Konsentrasi nitrit efluen pada awal fase ini adalah 16,20 mg-N/L hingga pada hari ke-60 menjadi 14,87 mg-N/L. Kemudian konsentrasi nitrat efluen pada awal fase ini sebesar 4,339 mg-N/L terus turun hingga menjadi 4,043 di hari ke-60. Fenomena ini terjadi berkemungkinan disebabkan oleh proses yang disebut *dissimilatory nitrate reduction to ammonium*

(DNRA) dan fenomena *sluggish*. Fenomena *sluggish* adalah pemecahan nitrogen organik dalam lumpur biakan menjadi amonium<sup>(32,33)</sup>. DNRA sendiri adalah reduksi nitrat menjadi amonium pada suasana anaerobik<sup>(36)</sup>. Proses DNRA sering terjadi bersamaan dengan anammox, di mana anammox menghilangkan nitrit untuk menghasilkan nitrat yang kemudian nitrat tersebut direduksi oleh DNRA menjadi amonium<sup>(36)</sup>. Selanjutnya, turunnya nitrit menunjukkan adanya aktivitas dari bakteri anammox pada fase ini akan tetapi tertutupi akibat fenomena akumulasi amonium oleh DNRA dan *sluggish* sehingga konsentrasi amonium pada effluen menjadi lebih tinggi dari influen bahkan melewati konsentrasi amonium ketika fase lisis sel. Hal ini terus berlangsung hingga hari ke-60. Secara garis besar pada fase transisi didominasi oleh proses DNRA dan *sluggish* sehingga kenaikan konsentrasi amonium pada effluen membuat nilai dari EKA menunjukkan hasil negatif. Akan tetapi, karena aktivitas dari bakteri anammox mulai terlihat membuat nilai dari EPN dan TPN menunjukkan hasil positif. Nilai tertinggi dari EKA, EPN dan TPN selama fase ini adalah berturut-turut sebesar: -10,32%, 31,67% dan 0,054 kg-N/m<sup>3</sup>.hari dengan TPN sebesar 0,1414 kg-N/m<sup>3</sup>.hari.

#### D. Fase Eksponensial (*Activity Elevation Phase*; hari 61 – 140)

Setelah dioperasikan selama 60 hari, akhirnya kinerja dari proses anammox menunjukkan hasil yang nyata, yakni penurunan konsentrasi amonium secara drastis, konsentrasi nitrit yang kecil dan peningkatan konsentrasi nitrat pada effluen. Pada hari ke-60 hingga ke-63, awal terjadinya fase ini, konsentrasi amonium dan nitrit influen masih dipertahankan pada kisaran konsentrasi 70 mg-N/L. setelah hari ke-63, dilakukan pembuangan inokulum awal di dalam reaktor dengan mempertahankan biomasa yang melekat pada *string wound filter cartridge*. Pembuangan sampel ini dilakukan untuk mempermudah pengamatan perubahan biomasa di dalam reaktor. Pembuangan dilakukan setelah 60 hari operasional karena seharusnya biomasa bakteri anammox sudah menempel pada media lekat sehingga inokulum (lumpur) awal sudah tidak diperlukan lagi<sup>(37)</sup>.

Setelah pembuangan lumpur dilakukan, terjadi penurunan konsentrasi amonium dan nitrit secara simultan yang mana merupakan indikasi terjadinya proses anammox<sup>(38)</sup>. Hal ini sama dengan apa yang didapatkan oleh Wang, yang melaporkan aktivitas bakteri anammox mulai terlihat dalam 65 hari<sup>(21)</sup>. Pada hari ke-92 konsentrasi amonium dan nitrit di dalam substrat

dinaikkan menjadi 100 mg-N/L dan berlangsung hingga hari ke-105. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya *shock loading* yang dapat mengakibatkan gangguan pertumbuhan bakteri anammox terutama biomasa berbentuk biofilm<sup>(39)</sup>. Pada tahap ini didapatkan nilai EKA, EPN dan TPN tertinggi yakni 97,07%, 91,91%, dan 0,193 kg-N/m<sup>3</sup>.hari. Melihat indikasi dari kinerja penyisihan nitrogen tersebut, kultivasi dilanjutkan ke tahap 2.

Pada hari ke-106 konsentrasi amonium dan nitrit pada influen dinaikkan menjadi 150 mg-N/L (tahap 2). Pada tahap ini terlihat adanya penurunan kinerja penyisihan nitrogen dibandingkan dengan nilai yang didapatkan pada tahap 1. Hal ini dapat diamati dari kecenderungan kenaikan konsentrasi amonium dan nitrit pada effluen hingga pada hari ke-120. Kemungkinan hal ini akibat terjadinya *shock loading*<sup>(40)</sup>. Hal ini masih dapat terjadi meskipun sudah melalui tahapan peralihan di mana kenaikan konsentrasi substrat secara bertahap dari 70 mg-N/L menjadi 100 mg-N/L hingga 150 mg-N/L. Penurunan kinerja penyisihan nitrogen akan berlangsung hingga proses anammox kembali menjadi stabil (*steady state*)<sup>(40)</sup>.

Pada hari ke-120 merupakan hari terakhir dari penurunan kinerja penyisihan nitrogen didapatkan nilai dari EKA, EPN dan TPN berturut-turut yakni : 68,13%, 55,67% dan 0,177 kg-N/m<sup>3</sup>.hari. Hasil ini lebih baik dari pada yang didapatkan pada penelitian Zulkarnaini menggunakan reaktor yang sama tapi inokulum dari granular anammox dengan spesies *Candidatus Brocadia sinica*, di mana dalam penelitian tersebut didapatkan nilai tertinggi dari EKA sebesar 60% dan EPN sebesar 49%<sup>(22)</sup>. Setelah melewati hari ke-120 konsentrasi amonium dan nitrit secara simultan mulai menunjukkan penurunan dan terja di *recovery* peningkatan kinerja kembali dari penyisihan nitrogen. Hal ini terus berlangsung hingga hari ke-140.

Tabel 1. Operasional *Start-up*

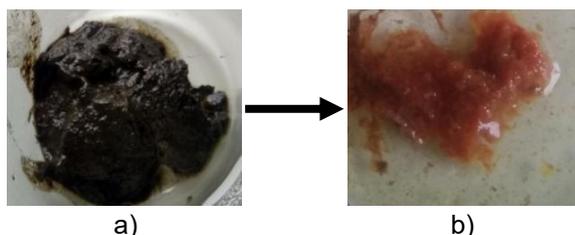
Tahap	Konsentrasi (mg-N/L)		Waktu Tinggal Hidrolis (Jam)	Waktu Operasional (hari)
	Amonium	Nitrit		
I	70	70	24	0-63
Peralihan	100	100	24	64-105
II	150	150	24	106-140

#### 3.2 Perubahan Warna Biomasa Anammox

Beberapa penelitian tentang *start-up* proses anammox menunjukkan bahwa perubahan yang terjadi pada biomasa menunjukkan kesuksesan dari proses *start-up* tersebut<sup>(41)</sup>. Terutama bagi yang mendapatkan biomasa baik berupa granula ataupun biofilm berwarna merah,

umumnya setelah dilakukan analisis mikrobiologi mendeteksi terdapatnya bakteri anammox. Hal ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Suto, yang mendeteksi keberadaan bakteri anammox dari sampel yang terdapat biofilm berwarna merah<sup>(42)</sup>. Pada tahap awal (0 – 10 hari) reaktor yang berisi inokulum berwarna hitam kecoklatan. Perubahan signifikan terjadi pada pengamatan hari ke-106 di mana mulai terbentuknya biomasa berupa biofilm berwarna coklat kemerahan. Hal ini terbukti lebih lama dibandingkan dengan yang didapatkan oleh Tsushima yang mendapatkan perubahan warna ini pada hari ke-40<sup>(38)</sup>. Akan tetapi, ini menjadi suatu indikasi bahwa biomasa dalam reaktor merupakan ciri dari biomasa bakteri anammox yang sejalan dengan kinerja penyisihan nitrogen secara anaerobik pada reaktor.

Pada hari ke-140 perubahan fisik dari segi warna semakin jelas, di mana lapisan biofilm yang berwarna merah semakin tebal bila dibandingkan pada hari ke-106. Lapisan biofilm inipun melekat pada filter di tengah reaktor ataupun pada sekeliling lapisan dalam housing filter dari reaktor. Hal ini semakin memperkuat dugaan bahwa adanya keberadaan biomasa anammox di dalam reaktor. Indikasi ini serupa dengan yang dialami pada penelitian Zhang yang menyatakan pengayaan bakteri anammox dianggap berhasil jika terbentuk perubahan warna *sludge* dari kecoklatan menjadi kemerahan dan merah cerah<sup>(24)</sup>. Warna merah juga menurut Ma merupakan khas dari pengayaan bakteri anammox<sup>(43)</sup>. Perubahan dan bentuk lapisan biofilm dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perubahan Inokulum Dalam Reaktor  
a). 0 - 10 hari dan b). 140 hari.

#### 4. KESIMPULAN

*Start-up* proses anammox dengan operasional pada suhu ruangan di daerah tropis menggunakan inokulum berupa lumpur dari Telaga Koto Baru berhasil dilakukan. Indikator keberhasilan proses *start-up* tersebut dapat dilihat pada perubahan konsentrasi amonium, nitrit, dan nitrat pada efluen yang dijadikan indikasi untuk menentukan fase *start-up*. Kinerja penyisihan nitrogen maksimum selama proses *start-up* dengan nilai EKA, EPN dan TPN

adalah: 97,07%, 91,92% dan 0,271 kg-N/m<sup>3</sup>.hari dengan TPN sebesar 0.3095 kg-N/m<sup>3</sup>.hari pada tahapan fase eksponensial (*activity elevation phase*). Biofilm berwarna merah yang merupakan warna yang khas dari biomasa bakteri anammox tumbuh pada filter dan dinding bagian dalam reaktor.

#### PERSANTUNAN

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan kerjasama dan pendanaan dalam penelitian ini. Penelitian ini dibiayai oleh Kementerian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional dengan kontrak nomor: 034/SP2H/LT/DRPM/2020. Juga kepada kampus Politeknik ATI Padang yang telah menyediakan tempat untuk operasional reaktor serta peralatan pengujian parameter monitoring penyisihan nitrogen.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. 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.
2. Lotti, T., Kleerebezem, R., Hu, Z., Kartal, B., Jetten, M. S. M., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2014). Simultaneous partial nitritation and anammox at low temperature with granular sludge. *Water research*, 66, 111-121.
3. Ali, M., Shaw, D. R., & Saikaly, P. (2019). Application of an enriched marine anammox bacterium "Ca. Scalindua sp. AMX11" for nitrogen removal under moderate salinity and in the presence of organic carbon.
4. Loosdrecht, M. (2008). Innovative nitrogen removal. *Biodegradation*, 12 (2008),139-154
5. Lotti, T., Kleerebezem, R., Lubello, C., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2014). Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water research*, 60, 1-14.
6. Kartal, B., Van Niftrik, L., Rattray, J., Van De Vossenberg, J. L., Schmid, M. C., Sinnighe Damsté, J., ... & Strous, M. (2008). Candidatus 'Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS microbiology ecology*, 63(1), 46-55.
7. Schmid, M., Twachtman, U., Klein, M., Strous, M., Juretschko, S., Jetten, M., ... & Wagner, M. (2000). Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of

- catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Systematic and applied microbiology*, 23(1), 93-106.
8. Van De Vossenberg, J., Rattray, J. E., Geerts, W., Kartal, B., Van Niftrik, L., Van Donselaar, E. G., ... & Jetten, M. S. (2008). Enrichment and characterization of marine anammox bacteria associated with global nitrogen gas production. *Environmental microbiology*, 10(11), 3120-3129.
  9. Kartal, B., Rattray, J., van Niftrik, L. A., van de Vossenberg, J., Schmid, M. C., Webb, R. I., ... & Strous, M. (2007). Candidatus "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Systematic and applied microbiology*, 30(1), 39-49.
  10. Quan, Z. X., Rhee, S. K., Zuo, J. E., Yang, Y., Bae, J. W., Park, J. R., ... & Park, Y. H. (2008). Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor. *Environmental microbiology*, 10(11), 3130-3139.
  11. Viancelli, A., Kunz, A., Esteves, P. A., Bauermann, F. V., Furukawa, K., Fujii, T., ... & Vanotti, M. (2011). Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with ANAMMOX activity inoculated with swine sludge. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(5), 1035-1041.
  12. Khramenkov, S. V., Kozlov, M. N., Kevbrina, M. V., Dorofeev, A. G., Kazakova, E. A., Grachev, V. A., ... & Nikolaev, Y. A. (2013). A novel bacterium carrying out anaerobic ammonium oxidation in a reactor for biological treatment of the filtrate of wastewater fermented sludge. *Microbiology*, 82(5), 628-636.
  13. Miao, L., Yang, G., Tao, T., & Peng, Y. (2019). Recent advances in nitrogen removal from landfill leachate using biological treatments—A review. *Journal of environmental management*, 235, 178-185.
  14. Najib, M., & Astuti, T. (2014). The Characteristic and Trend of Sea Surface Temperature Over Indonesia In 1982-2009. *Pusat Penelitian dan Pengembangan BMKG*, 37-49.
  15. Guillén, J. S., Guardado, P. C., Vazquez, C. L., de Oliveira Cruz, L. M., Brdjanovic, D., & Van Lier, J. B. (2015). Anammox cultivation in a closed sponge-bed trickling filter. *Bioresource technology*, 186, 252-260.
  16. Ali, M., Oshiki, M., Rathnayake, L., Ishii, S., Satoh, H., & Okabe, S. (2015). Rapid and successful start-up of anammox process by immobilizing the minimal quantity of biomass in PVA-SA gel beads. *Water research*, 79, 147-157.
  17. Qian, G., Wang, J., Kan, J., Zhang, X., Xia, Z., Zhang, X., ... & Sun, J. (2018). Diversity and distribution of anammox bacteria in water column and sediments of the Eastern Indian Ocean. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 52-62.
  18. Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., ... & Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878), 889-892.
  19. Purwandari, Y., Purnomo, P. W., & Nitisupardjo, M. (2013). Hubungan Antara Total Bakteri Dengan Bahan Organik, No3 Dan H2s Pada Lokasi Sekitar Eceng Gondok Dan Perairan Terbuka Di Rawa Pening. *Journal of Management of Aquatic Resources*, 2(3), 85-92.
  20. Bagchi, S., Lamendella, R., Strutt, S., Van Loosdrecht, M. C., & Saikaly, P. E. (2016). Metatranscriptomics reveals the molecular mechanism of large granule formation in granular anammox reactor. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
  21. Wang, T., Zhang, H., Yang, F., Li, Y., & Zhang, G. (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), 669-675.
  22. 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.
  23. Tuyen, N. V., Ryu, J. H., Yae, J. B., Kim, H. G., Hong, S. W., & Ahn, D. H. (2018). Nitrogen removal performance of anammox process with PVA-SA gel bead crosslinked with sodium sulfate as a biomass carrier. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 67, 326-332.
  24. Zhang, L., Liu, M., Zhang, S., Yang, Y., & Peng, Y. (2015). Integrated fixed-biofilm activated sludge reactor as a powerful tool to enrich anammox biofilm and granular sludge. *Chemosphere*, 140, 114-118.
  25. Alvita, N. (2017). Pertumbuhan Bakteri Anaerobic Ammonia Oxidation (Anammox)

- Pada Salinitas 2 dan 9 Persen. *Jurnal Biologi Papua*, 9(2), 55–62.
26. Hertach, M., & Wehrli, P. (2008). Term paper Anaerobic Ammonium Oxidation ( Anammox ).
  27. Jetten, M. S., Niftrik, L. V., Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J. T., & Op den Camp, H. J. (2009). Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 44(2-3), 65-84.
  28. Zhang, L., Yang, J., Ma, Y., Li, Z., Fujii, T., Zhang, W., ... & Furukawa, K. (2010). Treatment capability of an up-flow anammox column reactor using polyethylene sponge strips as biomass carrier. *Journal of bioscience and bioengineering*, 110(1), 72-78.
  29. Van de Graaf, A. A., de Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S., & Kuenen, J. G. (1996). Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*, 142(8), 2187-2196.
  30. APHA. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association 23rd edition.
  31. Zulkarnaini, Z., Afrianita, R., & Putra, I. H. (2020). Aplikasi Proses Anammox Dalam Penyisihan Nitrogen Menggunakan Reaktor Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 21(1), 31-39.
  32. Chen, H., Hu, H. Y., Chen, Q. Q., Shi, M. L., & Jin, R. C. (2016). Successful start-up of the anammox process: influence of the seeding strategy on performance and granule properties. *Bioresource Technology*, 211, 594-602.
  33. Chen, C. J., Huang, X. X., Lei, C. X., Zhu, W. J., Chen, Y. X., & Wu, W. X. (2012). Improving anammox start-up with bamboo charcoal. *Chemosphere*, 89(10), 1224-1229.
  34. Kuenen, J. ( 2008). Anammox bacteria: From discovery to application. *Nature Reviews Microbiology*, 6(4), 320–326.
  35. Pietikäinen, J., Kiikkilä, O., & Fritze, H. (2000). Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus. *Oikos*, 89(2), 231-242.
  36. Mirghorayshi, M., Zinatizadeh, A. A., & Van Loosdrecht, M. (2018). Evaluating the process performance and potential of a high-rate single airlift bioreactor for simultaneous carbon and nitrogen removal through coupling different pathways from a nitrogen-rich wastewater. *Bioresource technology*, 260, 44-52.
  37. Narita, Y., Zhang, L., Kimura, Z. I., Ali, M., Fujii, T., & Okabe, S. (2017). Enrichment and physiological characterization of an anaerobic ammonium-oxidizing bacterium 'Candidatus Brocadia sapporoensis'. *Systematic and applied microbiology*, 40(7), 448-457.
  38. Tsushima, I., Ogasawara, Y., Kindaichi, T., Satoh, H., & Okabe, S. (2007). Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors. *Water research*, 41(8), 1623-1634.
  39. Wang, T., Zhang, H., & Yang, F. (2016). Performance of Anammox process and low-oxygen adaptability of Anammox biofilms in a FBR with small ring non-woven carriers. *Ecological Engineering*, 86, 126-134.
  40. Meng, J., et al. (2012). Nitrous oxide emission in Anammox reactor. *Civil Engineering*, 43.
  41. Tikilili, P.V. (2016). *Performance and Modelling of Non-granular Anammox Culture for Wastewater Treatment*. Information Technology.
  42. Suto, R., Ishimoto, C., Chikyu, M., Aihara, Y., Matsumoto, T., Uenishi, H., ... & Waki, M. (2017). Anammox biofilm in activated sludge swine wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 167, 300-307.
  43. Ma, B., Wang, S., Cao, S., Miao, Y., Jia, F., Du, R., & Peng, Y. (2016). Biological nitrogen removal from sewage via anammox: recent advances. *Bioresource technology*, 200, 981-990.