

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kegiatan rumah tangga, industri, dan pertanian dapat merusak lingkungan yaitu pencemaran terhadap air. Pencemaran air apabila dibiarkan dapat merusak ekosistem di dalam perairan, selain itu juga berdampak kepada pada kesehatan manusia. Pencemaran tersebut disebabkan oleh kandungan zat, unsur atau senyawa pencemar yang terdapat pada air limbah, salah satunya adalah senyawa nitrogen (Djuwansah dkk., (2009).

Nitrogen (N) dapat ditemukan hampir pada setiap perairan dalam berbagai macam bentuk. Amoniak ( $\text{NH}_3$ ) adalah senyawa nitrogen yang terionisasi menjadi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) di dalam air, apabila  $\text{NH}_4^+$  dalam keadaan basa menjadi amoniak ( $\text{NH}_3$ ). Amoniak dari air permukaan berasal dari air limbah kegiatan industri pertanian, kimia, tekstil, kulit, makanan, kehutanan dan tinja. Secara alamiah amoniak juga berasal dari oksidasi zat organik secara mikrobiologis (Al-Nozaily dkk., (2000).

Efek negatif dari nitrogen yaitu eutrofikasi, eutrofikasi merupakan kondisi kadar bahan organik dalam perairan mengalami peningkatan, kondisi ini ditandai dengan terjadinya peningkatan fitoplankton serta tumbuhnya tumbuhan air yang meningkat (*blooming algae*) (Simbohon, 2012). Apabila tidak dikendalikan, nitrogen akan memacu eutrofikasi yang memberikan efek negatif bagi lingkungan terutama perairan seperti terganggunya biota air, hal ini karena lumut atau ganggang yang akan mengkonsumsi oksigen sehingga ketersediaan oksigen berkurang (Stearman & B George, 2011).

Proses pengolahan penting dilakukan sebelum air limbah dibuang ke badan air untuk meminimalisir efek terhadap lingkungan. Pengolahan limbah cair dapat dilakukan secara fisika, kimia dan biologi. Pengolahan secara biologi banyak dipilih dan diaplikasikan dalam pengolahan air limbah baik di industri, rumah tangga karena lebih murah secara ekonomis. Pengolahan pencemar nitrogen secara

biologis yaitu melalui proses nitrifikasi-denitrifikasi dan *Anaerobic Ammonium Oxidation* (Anammox) (Jin dkk., 2012).

Proses nitrifikasi dan denitrifikasi membutuhkan jumlah oksigen dan sumber karbon organik komersial sebagai tambahan seperti metanol. Penemuan proses oksidasi amonium anaerobik (*anaerobic ammonium oxidation*/anammox) merupakan alternatif terbaru yang dapat menyisihkan nitrogen pada air limbah dengan membutuhkan sedikit atau tanpa oksigen untuk memungkinkan penyisihan nitrogen yang lebih tinggi (Xing, 2011). Anammox menjadi teknologi alternatif yang lebih efektif dalam penyisihan nitrogen secara biologi dibandingkan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi. Proses anammox menggunakan nitrit sebagai asektor elektron dalam konversi amonium menjadi gas nitrogen dalam kondisi anoksik. Saat ini proses anammox menjadi salah satu teknologi baru yang banyak diaplikasikan dalam pengolahan air limbah untuk penyisihan nitrogen (Jin dkk., 2012).

Perbandingan proses anammox dengan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi yaitu proses anammox menggunakan oksigen yang lebih sedikit, lumpur yang dihasilkan lebih sedikit dan tanpa membutuhkan tambahan karbon organik (Tang dkk., 2011). Dalam aplikasinya, proses anammox mampu menyisihkan amonium yang tinggi, biaya operasional yang lebih rendah dan kebutuhan ruang yang lebih kecil. Selain itu, proses Anammox jika dibandingkan dengan proses pengolahan lainnya lebih efektif karena anammox dapat mereduksi aerasi hingga 64%, karbon organik 100% dan produksi lumpur 80-90% (Van Loosdrecht, 2008).

Bakteri anammox memiliki penyisihan optimal tertinggi pada kisaran suhu 35°C-40°C. Namun, suhu air limbah biasanya lebih rendah (sekitar 10-20°C), dan bisa saja lebih rendah dari 10°C pada daerah subtropis pada musim dingin. Kondisi ini merupakan tantangan dalam proses anammox. Daerah tropis dengan suhu 30°C merupakan suhu ideal untuk beberapa jenis bakteri anammox, namun suhu air limbah daerah tropis yang lebih rendah 25°C-28°C merupakan tantangan bagi proses anammox. Oleh karena itu, untuk mencapai kinerja penyisihan nitrogen

menggunakan proses anammox pada suhu yang rendah telah menjadi fokus banyak penelitian dalam beberapa tahun terakhir (Ma dkk., 2013).

Pertama kalinya di Indonesia, telah dilakukan penelitian kultivasi bakteri anammox menggunakan inokulum dari lumpur Talago Kotobaru pada reaktor *filter bioreactor* (FtBR) yang dioperasikan pada suhu ruangan (25°C-28°C) dan suhu 35°C dengan HRT 24 jam. Operasional reaktor selama 200 hari telah berhasil menyisihkan nitrogen yang tinggi dengan nilai efisiensi penyisihan nitrogen (*nitrogen removal efficiency*) secara berturut-turut yaitu 92,95% dan 92,03% (Putra dkk., 2020). Selain itu percobaan ini berhasil mengidentifikasi 4 spesies bakteri anammox yaitu *Candidatus Brocadia Fulgida*, *Candidatus Brocadia Caroliensis*, *Candidatus Brocadia Sinica* dan *Candidatus Anammoxoglobus Propionicus*, dengan kelimpahan bakteri anammox tertinggi pada Filter Bioreactor (FtBR) yang dioperasikan pada suhu ruangan (25°C-28°C) (Zulkarnaini, 2020).

Penelitian ini menganalisis proses kinerja penyisihan nitrogen menggunakan reaktor *Up Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) yang dioperasikan pada suhu 20°C menggunakan bakteri anammox yang sudah di kultivasi dari Talago Koto Baru pada suhu 35°C. Penggunaan bakteri anammox dari Talago Koto Baru dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Zulfa (2020) yang juga menggunakan inokulum bakteri Talago Koto Baru suhu ruangan (25°C-28°C) dimana bakteri anammox tersebut menghasilkan efisiensi penyisihan yang tinggi dengan nilai NLR:0.50 Kg-N/m<sup>3</sup>.hari, NRR:0.341 Kg-N/m<sup>3</sup>.hari, selain itu persentase nilai NRE dan ACE yaitu 98.12% dan 92.60% . Suhu 20°C dipilih, karena untuk melihat kinerja bakteri anammox di bawah suhu optimum (35°C) dan suhu ruangan (25°C-28°C) dari Talago Koto Baru, Tanah Datar, Indonesia.

## **1.2 Maksud dan Tujuan Penelitian**

Maksud penelitian dari tugas akhir ini adalah untuk menganalisis kinerja penyisihan nitrogen oleh bakteri anammox dari Talago Koto Baru pada suhu 20°C.

Adapun tujuan tugas akhir ini adalah menganalisis kinerja bakteri anammox yang telah dikultivasi dari Talago Koto Baru, Tanah Datar, Indonesia, dalam penyisihan nitrogen pada suhu 20°C menggunakan reaktor UASB.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada berbagai pihak, yaitu:

1. Menjadi salah satu alternatif teknologi dalam menyisihkan senyawa nitrogen pada air limbah sehingga dapat menangani permasalahan pencemaran air;
2. Memberikan informasi pengaruh suhu 20°C pada proses anammox terhadap efisiensi penyisihan nitrogen dalam pengolahan air limbah.

### 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada tugas akhir ini adalah:

1. Percobaan menggunakan bakteri Anammox dari Talago Koto Baru;
2. Percobaan menggunakan air limbah artifisial;
3. Percobaan dilakukan dengan menggunakan reaktor UASB yang diletakkan di dalam inkubator yang diatur pada suhu 20°C;
4. Percobaan dilakukan dengan HRT 12 jam selama 48 hari;
5. Parameter yang diamati adalah  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NO}_3^-$  dengan mengacu kepada SNI 06-2479-1991, SNI 06-6989.9-2004 serta APHA 2017 selain itu pH dan suhu juga diamati;
6. *Specific Anammox Activity* (SAA) diukur melalui eksperimen secara *batch* dengan tujuan untuk mengukur kinerja penyisihan nitrogen pada proses anammox.

### 1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan tugas akhir ini adalah:

#### BAB I PENDAHULUAN

Bab ini berisikan latar belakang, maksud dan tujuan penelitian, manfaat penelitian, batasan masalah penelitian dan sistematika penulisan.

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini membahas tentang parameter kimia nitrogen, proses anammox, dan teori-teori pendukung lainnya yang berkaitan dengan penelitian.

## **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

Bab ini menjelaskan tahapan penelitian yang dilakukan, metode analisis di laboratorium serta lokasi dan waktu penelitian.

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bab ini berisikan hasil penelitian disertai dengan pembahasannya.

## **BAB V PENUTUP**

Bab ini berisikan simpulan dan saran berdasarkan pembahasan yang telah diuraikan.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Umum

Pencemaran nitrogen akibat aktivitas manusia telah meningkat selama empat puluh tahun terakhir karena peningkatan populasi manusia. Pencemaran nitrogen ke perairan dapat menyebabkan eutrofikasi dan penipisan oksigen di perairan. Apabila telah terjadi eutrofikasi dan penipisan oksigen dapat membunuh kehidupan akuatik di dalam perairan (Djuwansah dkk., 2009).

Air limbah industri, rumah tangga, maupun industri pertanian sebagian besar mengandung bahan pencemar nitrogen. Nitrogen yang banyak di perairan akan menyebabkan terjadinya eutrofikasi yang memberikan efek negatif pada lingkungan perairan dimana berkurangnya kadar oksigen perairan menyebabkan terganggunya kehidupan biota air dikarenakan pertumbuhan lumut atau ganggang yang akan mengkonsumsi oksigen sehingga sediaan oksigen untuk biota air akan berkurang (Prayitno, 2014).

### 2.2 Senyawa Nitrogen

Senyawa nitrogen merupakan senyawa yang sangat penting dalam kehidupan, karena nitrogen merupakan salah satu nutrisi utama yang berperan dalam pertumbuhan organisme yang hidup. Senyawa ini juga merupakan komponen dasar protein yang keberadaannya di perairan digunakan untuk memproduksi sel oleh hewan dan tumbuh-tumbuhan. Jumlah nitrogen yang terdapat di atmosfer, paling banyak berada dalam bentuk gas nitrogen sebesar 78 %. Umumnya gas nitrogen ini tidak dapat dipergunakan secara langsung oleh makhluk hidup, hanya beberapa organisme khusus yang dapat mengubahnya ke dalam bentuk organik nitrogen dan proses yang terjadi dinamakan fiksasi (Herlambang, 2003).

Senyawa nitrogen di perairan secara alami berasal dari metabolisme organisme perairan dan dekomposisi bahan-bahan organik oleh bakteri. Nitrogen merupakan bahan dasar penyusun protein yang diserap oleh tumbuhan air dalam bentuk

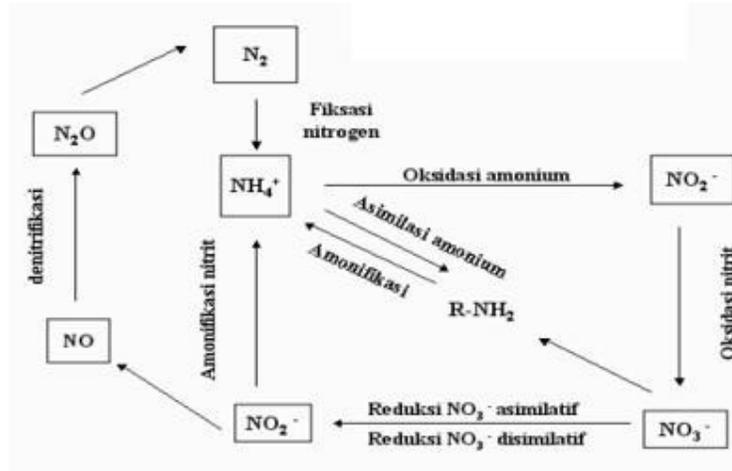
amoniam atau nitrat. Ketersediaan nitrogen mempengaruhi variasi spesies, kelimpahan serta kandungan nutrisi hewan dan tumbuhan akuatik. Nitrogen dalam bentuk nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) merupakan salah satu parameter kesuburan. Keduanya berpengaruh pada nutrisi yang berperan dalam pembentukan biomassa organisme perairan, juga merupakan pembentuk komposisi dan biomassa fitoplanton sebagai produsen perairan (Ervina dkk., 2020).

Nitrat merupakan bentuk utama nitrogen di perairan alami yang penting dalam pertumbuhan tanaman akuatik. Nitrat bersifat stabil, mudah larut di perairan dan memiliki konsentrasi tinggi pada muara sungai. Kadar nitrat yang tinggi tersebut dikarenakan oleh masuknya air limbah domestik maupun pertanian yang mengandung nitrat (Hutagalung dkk., 1997).

### 2.2.1 Siklus Nitrogen

Keberadaan nitrogen di alam, tersedia dalam berbagai bentuk yang dihasilkan melalui proses (transformasi) yang difasilitasi oleh mikro organisme (umumnya bakteri) bagaikan suatu siklus dapat dilihat pada **Gambar 2.1**. Siklus nitrogen di alam meliputi proses fiksasi nitrogen, amonifikasi, nitrifikasi, dan denitrifikasi. Siklus nitrogen sangat dibutuhkan dalam ekologi karena ketersediaan nitrogen di alam dapat mempengaruhi keberlanjutan ekosistem. Transformasi nitrogen di alam dapat terjadi pada berbagai kondisi ekosistem, termasuk pada ekosistem ekstrem seperti daerah bersalju maupun daerah yang memiliki temperatur tinggi (Herlambang, 2003).

Nitrifikasi merupakan proses pengubahan nitrogen amonium ( $\text{N-NH}_4$ ) secara biologis menjadi nitrogen-nitrit ( $\text{N-NO}_2$ ) oleh bakteri *Nitrosomonas* dan kemudian nitrit diubah menjadi nitrat ( $\text{NO}_3$ ) oleh bakteri *Nitrobacter*. Proses nitrifikasi akan berlangsung dalam lingkungan aerob (adanya oksigen). Proses nitrifikasi (perubahan amonium menjadi nitrat) dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu aerasi, suhu, kelembaban, pH, dan nisbah karbon-nitrogen. Proses nitrifikasi biasanya berlangsung pada pH 5,5 hingga pH 10 dan optimum pada pH 8,5 (Damanik, M.M.B., B.E. Hasibuan & Hanum., 2011).



**Gambar 2.1.** Siklus nitrogen

Sumber : (Puji, 2011)

Denitrifikasi adalah proses perubahan senyawa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) menjadi gas nitrogen ( $\text{N}_2$ ). Bakteri yang bekerja pada proses denitrifikasi adalah bakteri anaerobik, yaitu bakteri yang tidak memerlukan oksigen dalam aktivitasnya, bahkan kehadiran oksigen dapat menyebabkan bakteri ini mati. (Herlambang & Marsidi, 2003). Proses denitrifikasi merupakan reaksi anaerob yang dihasilkan dari berbagai spesies anaerobik dan proteobakteria heterotrofik fakultatif, termasuk mereka yang berada pada genera *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, dan *Thiobacillus*. Nitrat tidak selalu tereduksi menjadi  $\text{N}_2$  namun juga berbagai variasi gas berbahan dasar nitrogen dapat dihasilkan. Persamaan untuk denitrifikasi pada contoh metanol sebagai sumber karbon ditunjukkan sebagai berikut (Horan, 1990):

### 2.2.2 Dampak Nitrogen

Nitrogen adalah unsur yang memiliki nilai penting bagi kehidupan makhluk hidup dan lingkungan. Keberadaan nitrogen di lingkungan memberikan dampak positif dan juga negatif. Ketidakseimbangan nitrogen di alam dapat berdampak negatif langsung dan tidak langsung pada lingkungan hidup dan menimbulkan gangguan lingkungan hidup, karena nitrogen di lingkungan akan mengalami transformasi ke dalam bentuk-bentuk senyawa  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_3$  melalui proses nitrifikasi, reduksi nitrat, denitrifikasi (Wantasen dkk., 2012).

Senyawa yang terbentuk akan menyebabkan pertumbuhan gulma air yang melimpah atau terjadinya eutrofikasi. Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) merupakan nutrisi bagi pertumbuhan tanaman air dan alga. Senyawa nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) merupakan senyawa toksik yang dapat mematikan organisme air. Demikian halnya dengan senyawa ammonia yang tidak terionisasi juga bersifat toksik terhadap organisme air, konsentrasi ammonia yang tinggi di dalam perairan akan menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen pada jaringan, turunya kemampuan darah membawa oksigen ke dalam tubuh, serta terjadinya kerusakan insang sehingga menyebabkan kematian pada ikan. (Wantasen dkk., 2012).

Perairan yang mengandung senyawa nitrat yang tinggi apabila dikonsumsi akan menyebabkan keracunan akut. Senyawa nitrat akan membahayakan kesehatan manusia seperti penyakit *baby-blue*, dimana apabila dikonsumsi oleh bayi di bawah umur 3 bulan maka dapat menyebabkan kematian pada bayi, hal ini dikarenakan kemampuan pencernaan bayi masih belum sempurna. Nitrat akan menghambat darah melepaskan oksigen ke sel-sel tubuh, sehingga penderita akan kekurangan oksigen di dalam tubuhnya (Said & Tresnawaty, 2001).

### **2.3 Proses Penyisihan Nitrogen**

Penyisihan nitrogen dapat terjadi pada 2 proses yaitu aerobik maupun anaerob. Proses yang terjadi pada fase aerobik adalah nitrifikasi sedangkan proses pada keadaan anaerob adalah denitrifikasi (Anisa & Herumurti, 2017). Denitrifikasi merupakan proses utama pendegradasi senyawa nitrogen dalam kondisi aerob dan membutuhkan organik karbon sebanyak elektron donor supaya bisa merubah  $\text{NH}_3$  menjadi  $\text{N}_2$ . Proses denitrifikasi mampu menghasilkan produk sampah berupa  $\text{N}_2\text{O}$  yang termasuk dalam gas rumah kaca. Gas ini mampu memberikan kondisi pemanasan bumi dan kerusakan lapisan ozon di atmosfer (Cicerone, 1989).

Nitrifikasi adalah proses oksidasi amonium menjadi nitrat melalui produk antara berupa nitrit dengan melibatkan bakteri pengoksidasi ammonia yang bersifat autotrofik. Kelompok bakteri ini berperan dalam proses oksidasi ammonia menjadi nitrit pada siklus nitrogen, juga pada proses penguraian nitrogen dalam sistem pengolahan limbah cair. Bakteri ini ada dua jenis sesuai tahapan proses nitrifikasi

(oksidasi amonium menjadi nitrit oleh bakteri *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* dan *Nitrosovibrio*) dan oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina* dan *Nitrospira*. Beberapa mikroorganisme yang bersifat heterotrofik juga mampu mengoksidasi dan melakukan nitrifikasi (Agustiyani, 2004).

Pengolahan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi lebih ramah lingkungan karena dilakukan menggunakan bakteri dalam prosesnya. Namun, proses pengolahan limbah dengan nitrifikasi-denitrifikasi juga memiliki kekurangan, yaitu aktivitasnya akan terganggu dalam kondisi pH asam sehingga membutuhkan penambahan zat kapur (USEPA, 2010), menghasilkan lumpur yang banyak dan tidak ekonomis karena membutuhkan biaya energi aerasi untuk proses nitrifikasi serta tambahan bahan organik seperti methanol sebagai karbon dan sumber energi untuk bakteri pada proses denitrifikasi (Ahn, 2006).

#### **2.4 Pembentukan Biofilm dan Kinetika Pertumbuhan pada Mikroba**

Mikroorganisme atau mikroba pada umumnya hidup pada suspensi terdispersi, flok dan film yang melekat. Mikroba dalam bentuk agregat merupakan bentuk yang paling dominan di alam dan bisa menjadi cara yang lebih efisien untuk mikroba dapat bertahan hidup di berbagai kondisi lingkungan. Biofilm merupakan matriks agar-agar yang melekat di permukaan dan terdiri dari mikroorganisme, polimer ekstraseluler yang diekskresikan oleh mikroorganisme (*Extracellular Polymers/ EPS*), dan zat asing seperti molekul adsorpsi dan partikel abiotik (Mara & Horan, 2003).

Matrix mikroba sangat terhidrasi yang bahkan sering ditemukan mengandung lebih dari 90% air (persentase massa). Sifat-sifatnya tergantung kepada tiga macam faktor: biologis (spesies mikroba), kimia (komposisi cairan yang mengalami kontak dengan biofilm), dan fisik (hidrodinamik dan kondisi termal di mana lapisan biologis terbentuk). Ketebalan dari lapisan biofilm dapat mencapai beberapa milimeter, atau bahkan sentimeter, tetapi pada umumnya berkisar dari 10 mikron sampai 1 milimeter (Mara & Horan, 2003).

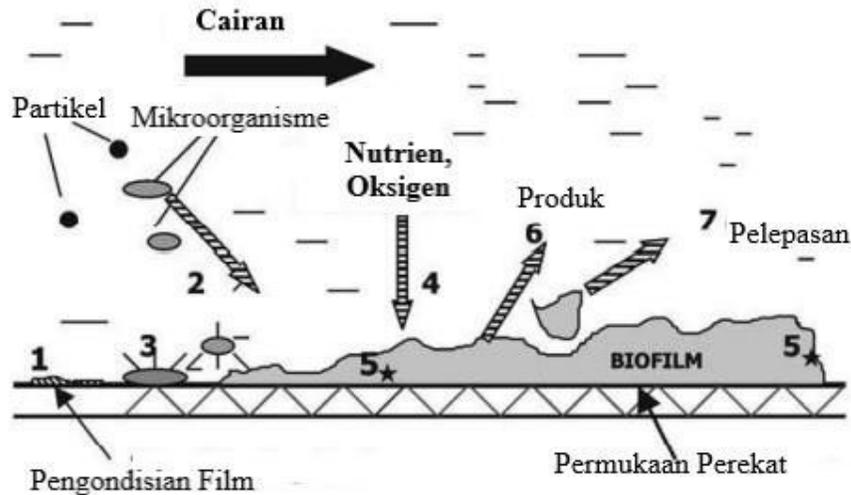
Konsentrasi sel di dalam biofilm biasanya berkisar antara  $10^7 - 10^9$  sel/cm<sup>2</sup>. EPS mewakili lebih dari 50% total massa organik lapisan biologis. Keanekaragaman yang besar pada spesies mikroba ditemukan pada biofilm di lingkungan yang sangat berbeda. Jumlah bakteri mendominasi pada biofilm namun alga dan fungi juga dapat ditemukan pada biofilm (Mara & Horan, 2003).

#### 2.4.1 Pertumbuhan Biofilm

Proses utama yang terlibat dalam pembentukan biofilm adalah sebagai berikut:

1. Pembentukan yang dinamakan (pengondisian film), adalah sebuah lapisan (mono-) molekul organik dan ion-ion yang melekat pada permukaan;
2. Transpor mikroorganisme (dan partikel-partikel lainnya) ke permukaan
3. Pelekatan dan pertumbuhan mikroba;
4. Transpor substrat melewati media cair eksternal dan melalui matriks biofilm;
5. Reaksi biologis pada “situs aktif” di dalam biofilm seperti pada sel mikroba aktif yang mengonsumsi substrat dan tidak hanya memproduksi sel baru tapi juga ekopolimer;
6. Perpindahan massa (dari biofilm kembali ke cairan) dari produk dihasilkan dari reaksi biologis pada *biolayer*;
7. Pelepasan beberapa bagian biofilm akibat erosi dan abrasi (proses yang berkelanjutan) dan peluruhan.

Pada proses terakhir (pelepasan) menyebabkan berkurangnya biomassa tetap ketika keenam proses lainnya berkontribusi langsung maupun tidak langsung terhadap pertumbuhan lapisan biofilm. Fenomena biologis dari pembentukan biofilm dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



**Gambar 2.2.** Fenomena Biologis Pembentukan Biofilm.  
*Sumber: (Mara & Horan, 2003).*

Pembentukan biofilm di atas berjalan secara berurutan, artinya tahapan yang memakan waktu cukup lama akan mengontrol laju mekanisme pertumbuhan. Salah satunya dari tiga proses ini merupakan pengontrol laju mekanisme pertumbuhan yaitu perpindahan massa, terutama pada situasi aliran laminar; transfer massa melewati biofilm; kinetika biologis dalam biofilm. Namun, proses pelepasan juga bergerak secara spontan, seperti proses paralel. Oleh karena itu, laju pembentukan biofilm dihasilkan dari kompetisi antara proses pertumbuhan keseluruhan (meliputi keenam tahapan pertama dan dikontrol oleh salah satunya) dengan proses pelepasan. Semakin cepat kedua proses keseluruhan ini berjalan maka akan mengondisikan laju pembentukan film. Pada aliran turbulen, laju pelepasan menjadi yang paling sering mengontrol laju pertumbuhan dari lapisan yang melekat. Kurva pertumbuhan biofilm dari waktu ke waktu dapat dilihat pada **Gambar 2.3**. Kurva pertumbuhan biofilm dapat dimodelkan dengan persamaan fenomenologi keseluruhan sederhana sebagai berikut:

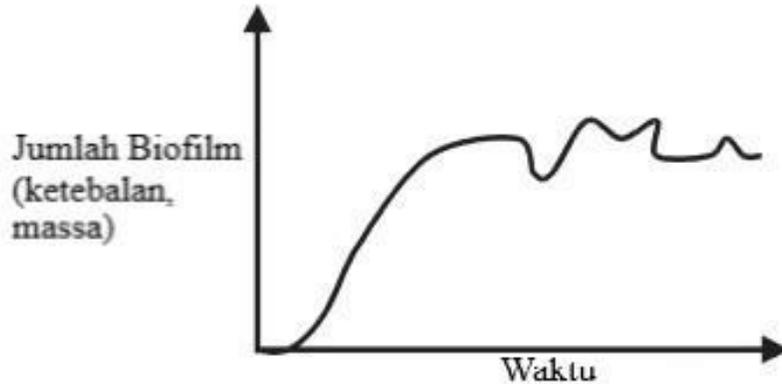
$$m_f = m_f^\infty [1 - \exp(-b \cdot t)] \dots \dots \dots [2.1]$$

Keterangan:

$m_f$  = Massa biofilm yang melekat per unit area permukaan pada waktu  $t$

$m_f^\infty$  = Massa maksimum dari film yang melekat (untuk  $t = \infty$ , keadaan stabil semu)

$b$  = Parameter empiris sebanding dengan gaya hidrodinamik yang bekerja pada permukaan biofilm dan jumlah biomassa yang melekat

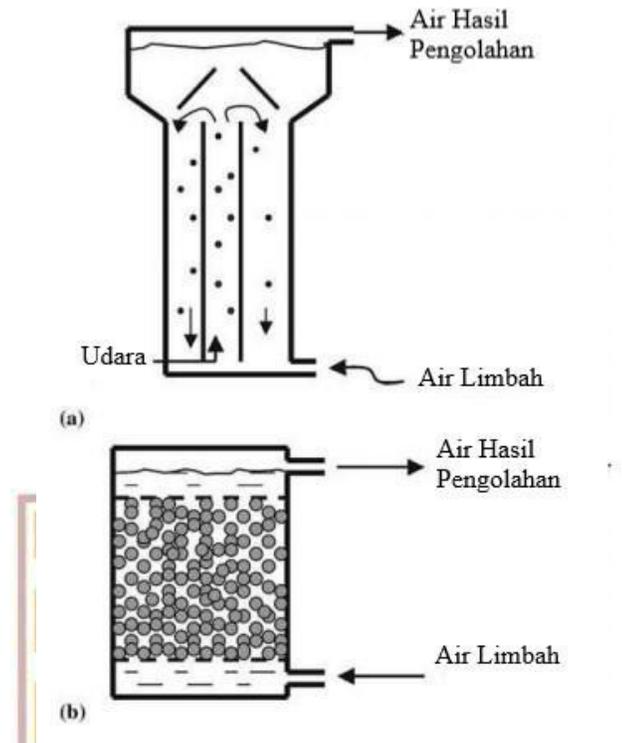


**Gambar 2.3.** Kurva Pertumbuhan Biofilm.  
*Sumber: (Mara & Horan, 2003).*

#### 2.4.2 Biofilm pada Pengolahan Air Limbah

Reaktor biofilm mengandung partikel-partikel pembawa atau bahan pendukung tempat film melekat. Partikel-partikel tersebut ada yang berpori dan biofilm juga ada yang berkembang dengan pori-pori. Air limbah diberi perlakuan dengan mengalirkannya langsung terhadap biofilm dan memungkinkan untuk terjadinya pertukaran nutrisi dan produk metabolisme yang diperlukan antara film dan cairan. Waktu tinggal cairan dalam reaktor harus lebih kecil daripada waktu replikasi sel agar sel menempel pada permukaan pembawa dalam jumlah signifikan (Mara & Horan, 2003).

Contoh konfigurasi dari reaktor biofilm dapat dilihat pada **Gambar 2.4**. Kebanyakan dari reaktor biofilm juga mengandung biomassa tersuspensi, beberapa reaktor tersebut dihasilkan dari pelepasan biomassa yang melekat. Reaktor biofilm pada pengolahan air limbah biasanya didesain berdasarkan parameter empiris (beban yang dihilangkan), yang nilainya diketahui dari pengalaman praktis sebelumnya tanpa memperhitungkan setiap pendekatan fenomenologis apapun (Mara & Horan, 2003).



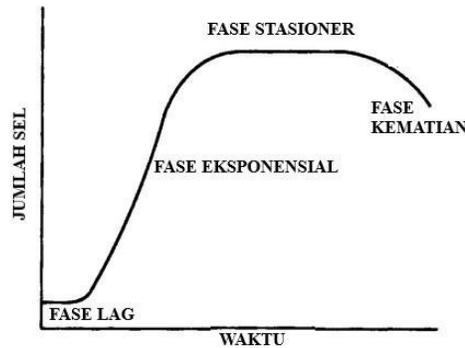
**Gambar 2.4.** Contoh Konfigurasi dari Kedua Reaktor Biofilm: (a) *air-lift reactor*; (b) *up-flow fixed bed*.  
 Sumber: (Mara & Horan, 2003).

### 2.4.3 Kinetika Pertumbuhan Mikroba

Organisme prokariotik seperti bakteri melakukan proses reproduksi dengan cara pembelahan biner (tiap sel membelah dan menghasilkan sel anak). Pertumbuhan dari populasi mikroba dapat didefinisikan sebagai peningkatan dalam bentuk jumlah bakteri ataupun dalam jumlah massa mikroba. Tingkat pertumbuhan adalah pertambahan jumlah sel mikroba atau jumlah massa per unit waktu. Waktu yang dibutuhkan untuk populasi mikroba untuk menggandakan jumlahnya dinamakan waktu generasi atau waktu penggandaan, yang tentunya sangat bervariasi mulai dari hitungan menit hingga hari. Populasi mikroba dapat tumbuh secara kultur *batch* (sistem tertutup) maupun secara kultur berkelanjutan (sistem terbuka) (Bitton, 2005).

Pertumbuhan populasi mikroba akan mengikuti kurva pertumbuhan ketika sel diinokulasikan pada media kultur yang tepat. Kurva pertumbuhan meliputi 4 fase

yaitu, fase lag, fase eksponensial (fase log), fase stasioner, dan fase kematian yang dapat dilihat pada **Gambar 2.5** (Bitton, 2005).



**Gambar 2.5.** Kurva Pertumbuhan Mikroba.  
Sumber: (Bitton, 2005).

#### 2.4.3.1 Fase Lag

Fase lag merupakan periode penyesuaian sel terhadap lingkungan baru. Sel-sel tersebut ikut serta dalam proses sintesis biokimia dan mengalami pembesaran. Durasi dari fase lag tergantung pada sel itu sendiri (umur sel, paparan sel terhadap agen fisik maupun kimia yang merusak, dan media kultur), contohnya seperti tidak adanya fase lag yang teramati ketika sebuah kultur yang tumbuh secara eksponensial dipindahkan ke media kultur yang sama dengan kondisi pertumbuhan sebelumnya. Sebaliknya, periode lag ini dapat diamati ketika adanya sel-sel rusak yang dimasukkan ke dalam media kultur (Bitton, 2005).

#### 2.4.3.2 Fase Pertumbuhan Eksponensial (Fase Log)

Jumlah sel bakteri terus bertambah secara eksponensial selama fase log. Pertumbuhan eksponensial bervariasi berdasarkan tipe mikroorganisme dan kondisi pertumbuhannya (seperti temperatur dan komposisi media). Pada kondisi yang tepat, jumlah sel bakteri (seperti bakteri *Escherichia coli*) akan terus melakukan penggandaan setiap 15-20 menit. Penggandaan tersebut mengikuti deret geometri ( $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^n$ ). Sel-sel bakteri yang berada pada fase pertumbuhan eksponensial akan lebih sensitif terhadap agen fisik maupun kimia daripada sel bakteri yang berada pada fase stasioner (Bitton, 2005).

### 2.4.3.3 Fase Stasioner

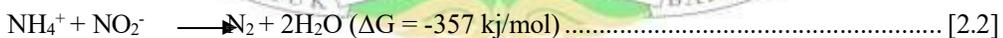
Populasi dari sel bakteri akan mencapai fase stasioner apabila mikroorganismenya tersebut tidak dapat menggandakan populasinya kembali. Penyebab utama dari hal tersebut dikarenakan kurangnya kadar nutrisi, elektron akseptor, dan produksi serta akumulasi dari metabolit toksik. Metabolit sekunder (seperti enzim tertentu dan antibiotik) diproduksi selama fase stasioner. Dalam fase stasioner, bakteri tidak mengalami penambahan jumlah populasi lagi dikarenakan seimbangnya jumlah sel bakteri yang mati atau mengalami lisis (Bitton, 2005).

### 2.4.3.4 Fase Kematian

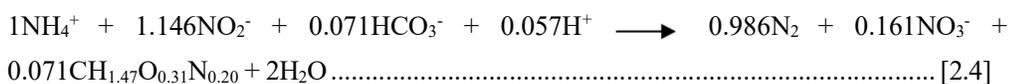
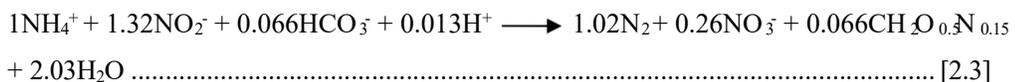
Selama fase ini, tingkat kematian dari populasi mikroba meningkat lebih tinggi dibandingkan tingkat pertumbuhannya. Sel bakteri yang mati bisa disebabkan oleh sel yang mengalami lisis. Jumlah dari mikroorganismenya yang hidup akan terus berkurang walaupun kekeruhan dari suspensi mikroba tetap konstan (Bitton, 2005).

## 2.5 Proses Anammox

Amonia dapat dioksidasi oleh mikroorganismenya dalam kondisi aerobik dan anaerobik. Penemuan dari proses anammox memberikan kesadaran bahwa ada cara lain dalam mengonversi amonia menjadi gas nitrogen terlepas dari jalur konvensional seperti nitrifikasi-denitrifikasi (Kumar dkk., 2016). Proses anammox dilakukan dengan mengubah nitrit menjadi gas nitrogen pada kondisi anaerob yang memanfaatkan  $\text{NH}_4^+$  sebagai pendonor elektron dan  $\text{NO}_2^-$  sebagai penerima elektron seperti pada reaksi kimia berikut (Bitton, 2005):

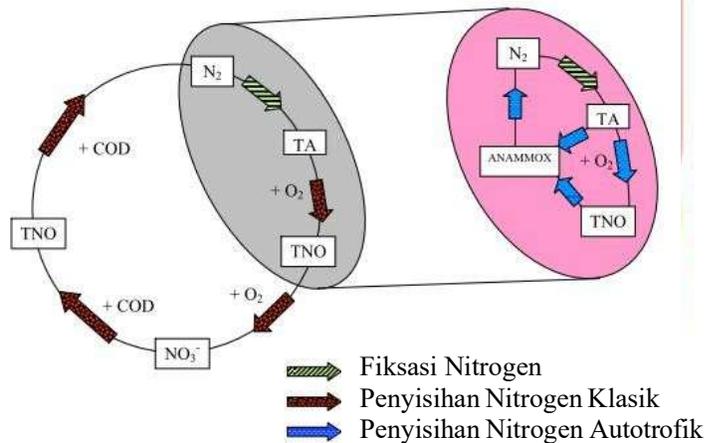


Stoikiometri dari proses anammox dihitung dengan mempertimbangkan amonium sebagai sumber-N dan nitrit/ nitrat sebagai pasangan pendonor elektron untuk reduksi karbon anorganik selama anabolisme. Berikut stoikiometri dari proses anammox oleh Strous dkk., (1998) pada persamaan 2.4 dan Lotti dkk., (2014) pada persamaan 2.5:



Air limbah dengan kadar konsentrasi nitrogen tinggi dan kandungan karbon rendah (C/N rendah) seperti lindi di TPA dan supernatan dari *anaerobic digester* sudah diaplikasikan pada skala besar dengan proses anammox (Lackner dkk., 2014). Pada proses anammox, amonium dioksidasi dalam kondisi anaerob (tanpa oksigen bebas/O<sub>2</sub>) dan nitrit sebagai akseptor elektron. Aplikasi untuk penyisihan amonium pada air limbah, proses anammox harus selalu dikombinasikan dengan proses nitrifikasi parsial (nitritasi), seperti proses SHARON (*Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite*), di mana setengah dari amonium dioksidasi menjadi nitrit (Van Dongen dkk., 2001).

Kedua proses autotrofik akan meningkatkan keberlanjutan pengolahan air limbah karena kebutuhan penambahan karbon (dan peningkatan produksi lumpur secara bersamaan) dihilangkan dan konsumsi oksigen serta emisi oksida nitrat selama oksidasi amonia sebagian besar berkurang (Jetten dkk., 1997). Dengan demikian, proses gabungan (nitritasi parsial dan anammox) disebut proses penghilangan nitrogen autotrofik (Jetten dkk., 2002). Penjelasan dari proses anammox pada siklus nitrogen secara visual dapat dilihat pada **Gambar 2.6.**



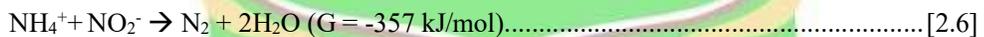
**Gambar 2.6.** Proses Anammox Dalam Siklus Nitrogen.  
 Sumber: (Karthikeyan & Joseph, 2007).

### 2.5.1 Sejarah Anammox

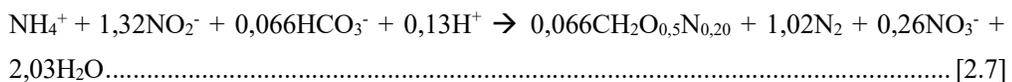
Ahli biokimia Austria Broda tahun 1977 memprediksi adanya keberadaan mikroorganisme yang dapat mengoksidasi amonium dengan nitrit atau nitrat sebagai akseptor elektron. Kemudian, Broda melakukan perhitungan termodinamika dan memprediksi bahwa dua jenis litotrof (mikroorganisme yang menggunakan senyawa anorganik sebagai donor elektron untuk mendapatkan

energi untuk pertumbuhan. Broda berasumsi bahwa litotrof ini dapat mengoksidasi amonia menjadi gas nitrogen menggunakan nitrat atau nitrit sebagai penerima elektron dalam kondisi anaerobik. Tiga puluh tahun kemudian, pada tahun 1995, sebuah pengamatan serupa di sebuah bioreaktor denitrifikasi di Delft, Belanda mengamati kehilangan amonia dengan penambahan nitrit pada reaktor *pilot plant fluidized-bed reactor* (FBR) dalam kondisi anaerobik pada pengolahan air limbah pabrik *yeast* di Gist-Brocades (Belanda) sehingga diprakarsailah pencarian mikroorganisme yang terlibat dalam proses penghilangan amonium tersebut (Mulder dkk., 1995).

Amonia bisa teroksidasi oleh mikro organisme di dalam kondisi aerobik dan anaerobik. Oksidasi aerobik amonia (Persamaan [2.1]) oleh bakteri *ammonia-oxidizing* (AOB) ditemukan sebelum abad ke-19, sedangkan oksidasi amonia anaerobik (anammox) (Persamaan [2.2]) oleh anaerobik AOB (atau anammox bakteri) ditemukan pada awal 1990. Penemuan proses anammox merupakan langkah awal penemuan baru konversi amonia menjadi gas nitrogen yang berbeda dari proses konvensional sebelumnya yaitu nitrifikasi-denitrifikasi (Kumar dkk., 2017).



Istilah “anammox” pertama kali dicetuskan oleh Arnold Mulder. Menggunakan label  $^{20}\text{NH}_4^+$  dan  $^{14}\text{NO}_2^-$  sebagai *tracer* pada FBR dan mendapatkan bahwa gas  $^{14}\text{-}^{20}\text{N}_2$  merupakan produk akhir yang dominan. Berdasarkan hasil penelitian ini van de Graaf dkk. tahun 1996 berkesimpulan bahwa bakteri anammox menggunakan nitrit sebagai penerima elektron dalam reaksi anammox. Tahun 1998, Strous dkk. menggunakan pendekatan kesetimbangan masa (*mass balance*) untuk menghitung persamaan stoikiometri proses anammox, yaitu (Kumar dkk., 2017):



Sejak Strous dan rekan kerja (1998) melaporkan untuk pertama kalinya stoikiometri dari proses yang dilakukan oleh bakteri anammox, setiap penelitian ilmiah menggunakan persamaan tersebut. Stoikiometri Strous diperoleh dengan menyeimbangkan massa pada sekitar 200 hari data percobaan dan diperkirakan 90% retensi pertumbuhan biomassa di reaktor. Keseimbangan elektron dari tingkat konversi yang digunakan oleh Strous untuk rekonsiliasi data juga memiliki kesalahan yang signifikan (20% lebih banyak elektron dalam produk daripada di substrat). Oleh karena itu, Lotti dkk., (2014) mengajukan stoikiometri yang dengan persamaan sebagai berikut:



Bakteri anammox yang pertama, salah satu dari litotrof yang hilang yang sudah dikemukakan oleh Broda tahun 1977, dimasukkan ke dalam bagian filum *Planctomycetes* baru dan diberi nama *Candidatus "Brocadia anammoxidans."* Sampai saat ini sudah dua puluh satu (21) spesies bakteri anammox di temukan dalam ordo *Brocadiales*. Struktur sel dan kondisi kultur bakteri anammox saat ini juga sudah dapat diketahui lebih dalam. Sehingga bakteri ini sudah dikembangkan dan diaplikasikan untuk mengolah berbagai macam air limbah yang mengandung kadar amonia tinggi baik dalam skala *pilot plant* maupun skala besar (*full-scale*) (Kumar dkk., 2017).

### 2.5.2 Karakteristik Granular Bakteri Anammox

Bakteri anammox mempunyai beberapa karakteristik antara lain (Ali dkk., 2013):

#### 1. Warna

Warna lumpur (*sludge*/biomassa) anammox berwarna merah terang atau merah tua. Warna lumpur merupakan indikator visibilitas dan kinerja bakteri anammox. Apabila lumpur berubah warna dari merah menjadi merah pucat atau hitam, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas dari bakteri anammox mengalami pengurangan. Operasi reaktor dalam jangka panjang dapat menyebabkan lumpur berubah warna menjadi merah pucat disebabkan

menjadi hitam disebabkan lumpur tidak memperoleh substrat dalam waktu yang lama.

## 2. Ukuran

Granular anammox memiliki diameter bervariasi antara 2,2 hingga 2,5 mm pada VSS/TSS 87% dan yang dominan berukuran lebih besar dari 2 mm (68-71%). Ukuran lumpur juga merupakan indikator kinerja reaktor. Lumpur ukuran besar akan memiliki laju pengendapan rendah dan lumpur kecil akan memiliki laju pengendapan tinggi. Tingkat pengendapan yang tinggi merupakan indikator yang baik untuk membuat kinerja reaktor menjadi efektif. Diameter granular yang mengapung adalah 2,31-6,96 mm dengan rata-rata berukuran  $4,58 \pm 1,22$  mm, sedangkan granular yang mengendap 0,86-6,98 mm dengan rata-rata  $2,96 \pm 0,99$  mm. Lumpur dengan diameter besar memiliki kantong gas dan volume gas yang lebih besar dari lumpur dengan diameter kecil. Disimpulkan bahwa granular anammox dengan diameter lebih besar dari 4 mm memiliki kecenderungan untuk mengapung pada reaktor karena pengaruh akumulasi gas nitrogen dalam kantong gas.

## 3. Densitas

Densitas lumpur merupakan indikator lain dari performa aktivitas reaktor. Densitas dari granular anammox dalam reaktor diukur oleh Tang dkk. (2011), dan hasilnya sekitar 1,03 g/ml; densitas spesifik dari granular anammox (91-120 g-VSS/L-granular) juga sebanding dengan granular aerobik (40-70 g-VSS/L-granular) dan granular denitrifikasi (128-136 g-VSS/L-granular). Densitas lumpur sebanding dengan hasil kinerja reaktor.

Granular anammox memiliki struktur yang terdiri dari tiga lapisan, di mana interaksi antara bakteri anammox membentuk basis primer, kemudian pengelompokan sel bakteri anammox dienkapsulasi dalam lapisan zat polimer ekstraseluler (*Extracellular Polymeric Substance/EPS*) tipis yang sebagai lapisan kedua, dan terakhir penggabungan kelompok-kelompok bakteri dan polimer lainnya menghasilkan agregat yang kompak.  $\alpha$ -Polisakarida dan protein dianggap sebagai tulang punggung granular anammox, berkontribusi besar terhadap intensitasnya yang sangat baik.  $\beta$ -Polisakarida terkonsentrasi di tepi luar granular anammox dan dikombinasikan dengan makro molekul lain untuk membentuk zona

penyangga atau pelindung, di mana bakteri anammox berkembang biak (Lin & Wang, 2017).



**Gambar 2.7.** Granular Pada Reaktor UASB Anammox

Sumber : Ali dkk., 2013

Granulasi dari bakteri anammox dihipotesiskan terjadi dalam tiga fase yaitu (Lu dkk., 2012):

1. Fase pertama pembentukan *cluster* sel mikroba

Dalam reaktor tingkat tinggi, kecepatan aliran yang sangat tinggi dari laju influen yang besar dan produksi gas besar akan menyebabkan pengeluaran biomassa dengan penurunan yang buruk, terutama untuk bakteri tunggal (Lettinga dkk., 1984). Disisi lain, gaya geser besar yang dihasilkan dari kecepatan aliran tinggi mendorong tumbukan bakteri, bersamaan dengan itu energi permukaan yang tinggi dari bakteri anammox yang tersebar mendukung agregasi sel. Jadi pembentukan kelompok sel mikroba diasumsikan dimulai dengan tabrakan antara bakteri oleh imobilisasi EPS dan membentuk agregat bakteri yang disebut *cluster* sel mikroba (Lu dkk., 2012). sel-sel bakteri berada pada skala dimensi mikro meter, kelompok sel mikroba berada pada skala dimensi beberapa hingga puluhan mikro meter. Waktu penggandaan bakteri anammox berada pada skala rentang waktu mingguan, pembentukan kelompok sel mikroba berada pada skala waktu berbulan-bulan.

2. Fase kedua pembentukan subunit anammox

Subunit anammox diasumsikan dibentuk oleh *cluster* sel mikroba. Bakteri berfilamen dari satu kelompok sel mikroba dapat dihubungkan dengan

kelompok sel mikroba lainnya dengan cara membuat dan menjembatani seperti model granulasi anaerobik (Ahn, 2006). Ketika koneksi bakteri *filamentous* berlangsung, subunit anammox tumbuh dan saluran gas terbentuk antara *cluster* sel mikroba. Karena gugus sel mikroba berada pada skala dimensi beberapa hingga puluhan mikro meter, subunit anammox berada pada skala dimensi ratusan hingga ribuan mikro meter. Pembentukan subunit anammox lebih cepat dari pada *cluster* sel mikroba dan butuh sekitar satu hingga beberapa minggu.

### 3. Fase ketiga pembentukan granular anammox.

Granular anammox diasumsikan terbentuk dari subunit anammox. Subunit anammox menumpuk di reaktor, dan bertabrakan satu sama lain di bawah laju influen yang besar dan laju produksi gas yang tinggi. Bakteri berfilamen dari satu subunit anammox saling terkait dengan subunit anammox lainnya dan subunit anammox kemudian disatukan oleh EPS. Ketika proses berlangsung, butiran anammox terbentuk dan rongga interstisial terjadi bersamaan. Granular anammox berada pada skala dimensi beberapa milimeter, dan pembentukannya berada pada skala waktu beberapa hari.

### 2.5.3 Flotasi biomassa Granular

Di dalam granular yang mengambang, gas saluran tertutup dan di dalam lumpur yang mengendap salurannya terbuka. Fenomena ini menunjukkan bahwa gas di dalam lumpur yang mengendap dapat dilepaskan dengan mudah tetapi gas di dalam lumpur mengambang tidak dapat dilepaskan karena penyumbatan gas saluran. Akibatnya lumpur terapung pada saat pelepasan gas nitrogen tinggi dan pengapungan ini menurunkan kinerja reaktor. Oleh karena itu gas penyebab terjadinya flotasi lumpur dan mekanisme untuk mengontrol flotasi agar kinerja reaktor dapat dipulihkan. Pengapungan biofilm anammox secara ekstensif diselidiki dan mekanisme pengapungan lumpur (**Gambar 2.8**) dapat dijelaskan dalam tiga fase berurutan seperti pembentukan saluran gas, pembentukan gelembung gas, dan pengapungan granular lumpur (Ali dkk., 2013).

#### 1. Pembentukan saluran gas

Bakteri anammox cenderung tumbuh bersama dan dengan demikian granula anammox berkembang dari granular kecil yang menempel satu sama lain, dan

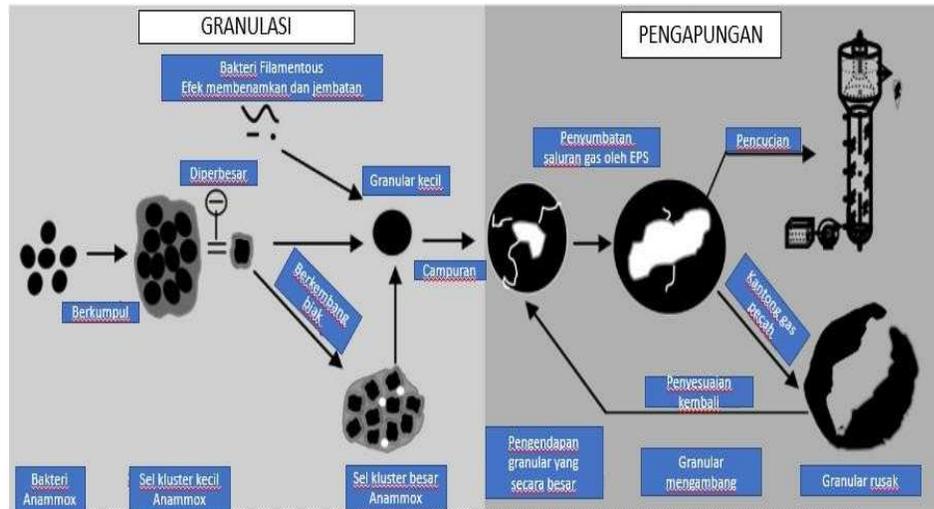
terdapat ruang di dalam granular akibat celah antara lumpur granular kecil. Substrat (amonia dan nitrit) berdifusi ke dalam sel bakteri dari reaktor, dan selanjutnya gas nitrogen di produksi di dalam lumpur akibat aktivitas bakteri dan terakumulasi sebagai gelembung gas. Kemudian gelembung-gelembung gas cenderung terlepas dari lumpur melalui celah interstisial antara butiran lumpur kecil dan membuat saluran gas. Pengamatan mikroskopis memperlihatkan bahwa banyak saluran gas dikembangkan untuk melepaskan gas ke luar lumpur melalui terowongan ini. Saluran gas pada lumpur yang mengendap di bawah tetap terbuka, tetapi di dalam lumpur mengambang dalam keadaan tertutup.

## 2. Pembentukan gelembung gas

Dengan meningkatnya laju influen dan kinerja reaktor yang tinggi, gas nitrogen yang di produksi lebih banyak. Gas nitrogen yang di produksi terperangkap pada granular anammox untuk menjaga keseimbangan gas produksi dan dilepaskan (Dapena-Mora dkk., 2004). Kelebihan gas nitrogen di dalam granular pindah ke sana kemari yang menciptakan resistensi yang lebih besar dan tekanan lebih tinggi. Resistensi yang lebih besar ini dan tekanan yang lebih tinggi mendorong untuk memperbesar ruang kosong interstisial antara *cluster* sel subunit dan dengan demikian menyebabkan terbentuknya gelembung gas. Kantong gas di dalam granular terhubung ke luar melalui saluran gas.

## 3. Pengapungan lumpur granular

Berdasarkan laporan penelitian, produksi EPS meningkat dengan meningkatnya *loading rate* (Tang dkk., 2011) dan EPS yang dihasilkan pada *loading rate* tinggi yang menyebabkan penyumbatan saluran gas. Tingginya *loading rate* menyebabkan lumpur anammox untuk menghasilkan gas nitrogen dalam jumlah besar yang tidak bisa dilepaskan ke luar lumpur melalui terowongan karena penyumbatan saluran gas (Chen dkk., 2010). Akibatnya, gelembung gas yang berlebihan terperangkap di dalam saluran gas. Gas nitrogen yang terperangkap melampaui nilai kritis (5,7%, V/V) dan dengan kerapatan rendah dari air akan menyebabkan flotasi dari granular anammox.

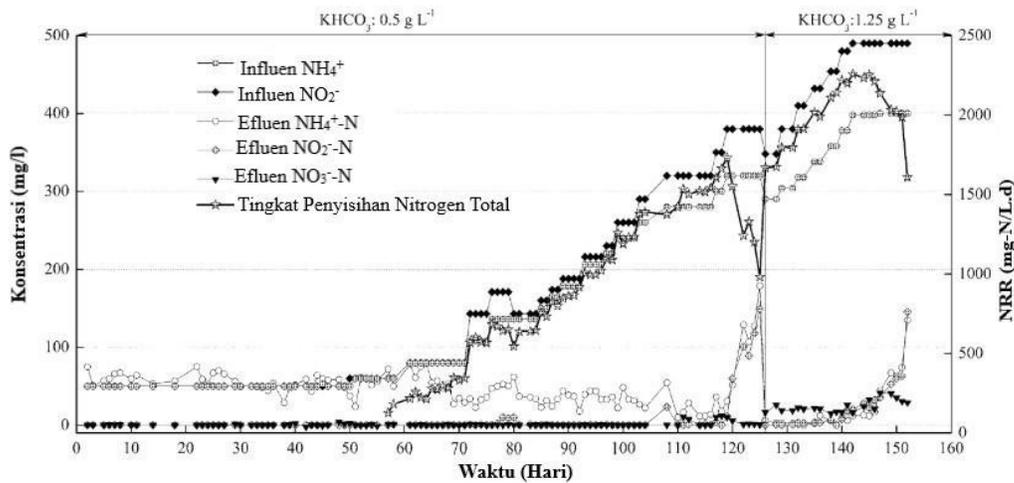


**Gambar 2.8.** Hipotesis Mekanisme Granulasi dan Flotasi Biomassa Anammox.  
 Sumber : (Lu dkk., 2012)

#### 2.5.4 Proses *Start-up* Anammox

Proses *start-up* anammox dapat dibagi menjadi lima tahapan berdasarkan dari kinerja penyisihan amonium yaitu fase lisis sel (dengan konsentrasi amonium pada efluen > konsentrasi influen), fase lag (dengan menurunnya konsentrasi amonium di efluen secara bertahap pada NLR rendah), fase perambatan, fase stasioner, dan fase inhibisi. Profil konsentrasi nitrogen selama pengoperasian reaktor dapat diamati pada **Gambar 2.9.** (Tang dkk., 2009).

Pada fase lisis sel, respirasi endogen dari beberapa mikroorganisme muncul akibat dari pergeseran nutrisi dan kondisi operasional sehingga menyebabkan konsentrasi amonium pada efluen. Amonium secara bertahap berkurang konsentrasinya karena mikroorganisme beradaptasi terhadap lingkungan barunya, dan konsentrasi seterusnya akan terus berkurang akibat dari peningkatan bioaktivitas mikroorganisme anammox (Chen dkk., 2016).



**Gambar 2.9.** Profil Konsentrasi Nitrogen Selama Pengoperasian Reaktor.

*Sumber: (Tang dkk., 2009).*

## 2.6 Faktor yang Memengaruhi Proses Anammox

### 2.6.1 Faktor Suhu

Reaktor anammox sebagian besar dioperasikan pada rentang suhu tinggi berkisar ( $\geq 30^{\circ}\text{C}$ ) dan mengolah air limbah berkonsentrasi nitrogen tinggi. Kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri anammox berkisar antara 30 dan  $40^{\circ}\text{C}$ . Aktivitas enzim metabolisme bakteri anammox dapat berkurang dikarenakan suhu yang lebih rendah dari suhu optimal sehingga penyerapan nitrit oleh bakteri anammox berhenti dan terjadinya penghambatan proses anammox (inhibisi) akibat akumulasi nitrit dalam reaktor (Zulkarnaini, 2020).

Beberapa laporan menyatakan bahwa ketika suhu menurun pada rentang  $20^{\circ}\text{C}$ - $30^{\circ}\text{C}$  maka laju penghilangan nitrogen pada reaktor anammox menurun secara signifikan. Pengoperasian reaktor dalam Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) pada suhu lebih tinggi ( $\geq 30^{\circ}\text{C}$ ) tidak ekonomis sementara pengoperasian reaktor pada suhu lebih rendah ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ) masih menjadi tantangan bagi para peneliti. Di sisi lain, beberapa jenis air limbah seperti air limbah domestik memiliki konsentrasi amonia yang rendah ( $\leq 50 \text{ mg NH}_4^+\text{-N/L}$ ) (Zulkarnaini, 2020).

### 2.6.2 Free Ammonia (FA)

Kinerja dari anammox dapat ditingkatkan dengan menambahkan konsentrasi amonia, nitrit, dan  $\text{HCO}_3^-$  pada substrat. Namun, penambahan substrat dalam jumlah yang berlebih dapat berpotensi menghambat proses anammox. Beberapa penelitian telah dilakukan dan menyatakan bahwa proses anammox tidak dihambat oleh adanya konsentrasi amonium hingga 1 g-N/L (Strous dkk., 1999). Keberadaan amonium bebas (FA) merupakan penghambat dari proses anammox (Jin dkk., 2012). Inhibisi akibat dari konsentrasi FA dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

**Tabel 2.1.** Inhibisi Amonium dan FA.

Biomassa Tersuspensi	Suhu (°C)	pH Influen	HRT (Jam)	Reaktor	$\text{NH}_4^+$ (mg-N/L)	FA (mg- $\text{NH}_3$ /L)	Efek	Referensi
Flokulan	33	7,8	24	SBR	180-750	35-40	40% terhambat	(Fernández dkk., 2012)
Flokulan	30	7,8	-	CSTR	770	-	50 % terhambat	(Dapena-Mora dkk., 2007)
Granular	35±1	-	-	UASB	-	1,7	24% terhambat	(Jung dkk., 2007)
Flokulan	35	7	-	MBBR	180	1,7	Awal terhambat	(Jaroszynski dkk., 2012)
Biofilm	34	7,5-8,5	-	UFB	-	190	10% terhambat	(Aktan dkk., 2012)

MBBR = Moving Bed Biofilm Reactor, UFB = , CSTR = Continuous Stirred Tank Reactor

Sumber: (He dkk., 2015)

Berdasarkan analisis dari total amonium dan total nitrit perhitungan konsentrasi FA dapat dilakukan dengan menggabungkan pH dan temperatur (°C) sehingga dapat dinyatakan kinerja penyisihan nitrogennya sebagai berikut (Anthonisen dkk., 1976):

$$\text{FA (mg/L)} = \frac{17}{14} \times \frac{([\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}} \times 10^{\text{pH}})}{(e^{\frac{6344}{273+T}} + 10^{\text{pH}})} \dots \dots \dots [2.9]$$

Keterangan :

$[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen amonium

T = Suhu (°C)

Fernández dkk., (2012), melakukan uji coba efek jangka pendek dan jangka panjang amonium terhadap proses anammox. Hasilnya adalah, pada uji coba efek

jangka pendek (tes *batch*), pada nilai *Specific Anammox Activity* mengalami penurunan sebesar 50% ketika FA-N berada pada konsentrasi 38 mg/L. Pada uji coba efek jangka panjang yang dilakukan pada reaktor SBR (*Sequencing Batch Reactor*) menunjukkan kinerja yang tidak stabil ketika konsentrasi FA-N melebihi 20-25 mg/L.

Ketika konsentrasi FA-N dinaikan lebih dari 35-40 mg/L dengan efek jangka panjang terhadap anammox, kinerjanya menjadi sangat tidak stabil dan tingkat efisiensi penyisihannya menurun hingga nol. Oleh karena itu, konsentrasi FA-N yang optimal ditemukan berada pada konsentrasi kurang dari 20-25 mg/L untuk menjaga kestabilan pengoperasian anammox (Fernández dkk., 2012). Waki dkk., (2007), juga melaporkan bahwa FA sebagai salah satu faktor penghambat proses anammox yang berada pada konsentrasi >25 mg/L dapat menjadi toksik bagi organisme anammox. Tingginya konsentrasi  $\text{NH}_4^+$  yang diikuti oleh naiknya kadar pH mengakibatkan naiknya konsentrasi FA (Jin dkk., 2012).

### 2.6.3 Free Nitrous Acid (FNA)

Konsentrasi nitrit yang tinggi dilaporkan dapat menghambat berbagai mikroorganisme (Zhou dkk., 2011). Nitrit merupakan salah satu substrat bagi anammox, dan dikarenakan adanya biotoksisitas, konsentrasi nitrit yang melewati ambang batas akan mengalami efek penekanan pada anammox. Nilai ambang batas pada nitrit jauh lebih kecil dibandingkan dengan nilai ambang batas amonium, dengan kata lain, anammox lebih rentan terhadap inhibisi nitrit dibandingkan inhibisi amonium (Dapena-Mora dkk., 2007; Isaka dkk., 2007). Perhitungan konsentrasi FNA didapatkan menggunakan persamaan sebagai berikut (Anthonisen dkk., 1976):

$$\text{FNA}(\text{mg/L}) = \frac{47}{14} \times \frac{([\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}} \times 1)}{\left( e^{\left( \frac{-2306}{273+T} \right)} \times 10^{\text{pH}} \right)} \dots \dots \dots [2.10]$$

Keterangan :

$[\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen nitrit

T = Suhu (°C)

Sejumlah studi telah mengonfirmasi bahwa konsentrasi nitrat menjadi sangat penting dalam stabilitas proses anammox dan bertanggung jawab dalam

penghambatan nitrit dalam beberapa kondisi eksperimen. Nitrit dengan konsentrasi rendah tidak menghambat aktivitas anammox dalam tes pemberian makan secara berkelanjutan (Kimura dkk., 2010). Strous dkk., (1999) menemukan bahwa agregat biomassa anammox yang terdispersi dalam 100 mg-N/L larutan nitrat kehilangan aktivitas anammox secara total. Fernández dkk., (2012) menyatakan dalam penelitiannya bahwa konsentrasi 0,005 mg/L harus dihindari untuk tetap menjaga kestabilan dari pengoperasian sistem anammox dan inhibisi akibat dari nitrit bersifat reversibel, waktu pemulihan yang dibutuhkan sekitar 1 bulan. Perbedaan hasil dari beberapa penelitian mengenai inhibisi nitrit dapat disebabkan oleh perbedaan karakteristik biomassa, termasuk spesies anammox dan kondisi operasional (endapan anammox, temperatur, kualitas air, konfigurasi reaktor, makanan terhadap rasio mikroorganisme, pH, HRT, dan sebagainya) (Cho dkk., 2010).

#### **2.6.4 Dissolve Oxygen (DO)**

*Dissolve Oxygen* (DO) merupakan parameter operasional penting untuk proses anammox (Jung dkk., 2007). Proses anammox dihambat secara reversibel oleh DO pada tingkat rendah (<2% saturasi udara) (Marc Strous & Jetten, 1997). Penghambatan reversibel dari proses anammox terjadi pada konsentrasi dari proses anammox terjadi pada konsentrasi oksigen rendah (<1% saturasi udara), tetapi penghambatan ireversibel terjadi pada konsentrasi oksigen yang lebih tinggi (>18% saturasi udara). Oleh karena itu, DO harus dikontrol dalam sistem anammox untuk menghindari penghambatan oksigen (Egli dkk., 2001).

#### **2.6.5 Penghambatan Logam Berat**

Logam berat merupakan unsur yang tidak mudah terurai secara hayati serta dapat terakumulasi di dalam organisme yang akan menyebabkan akumulasi toksisitas biologis. Logam berat terdapat di beberapa jenis air limbah yang kaya akan nitrogen, seperti lindi di TPA. Secara umum, 1 mmol/L HgCl<sub>2</sub> akan menghambat aktivitas anammox secara total. Namun, sampai saat ini penelitian tentang penghambatan akibat logam berat masih sangat sedikit, sehingga perlu dilakukannya penelitian yang lebih lanjut (Zulkarnaini, 2020).

### 2.6.6 Chemical Oxygen Demand (COD)

Salah satu faktor penghambat proses anammox yaitu *Chemical Oxygen Demand* (COD), COD dapat menyebabkan kematian pada bakteri anammox. Konsentrasi COD melebihi 300 mg/L menyebabkan proses anammox tidak aktif (N. Chamchoi dkk., 2008). Konsentrasi COD lebih dari 292 mg/L juga akan proses anammox terhambat secara total (Molinuevo dkk., 2009). Namun menurut proses anammox akan terhambat jika rasio COD:NO<sub>2</sub>-N sebesar lebih besar sama dengan 1,67 dan proses anammox hampir tidak terjadi saat rasio COD:NO<sub>2</sub>-N bernilai besar sama dengan 2,92 (Chen dkk., 2012).

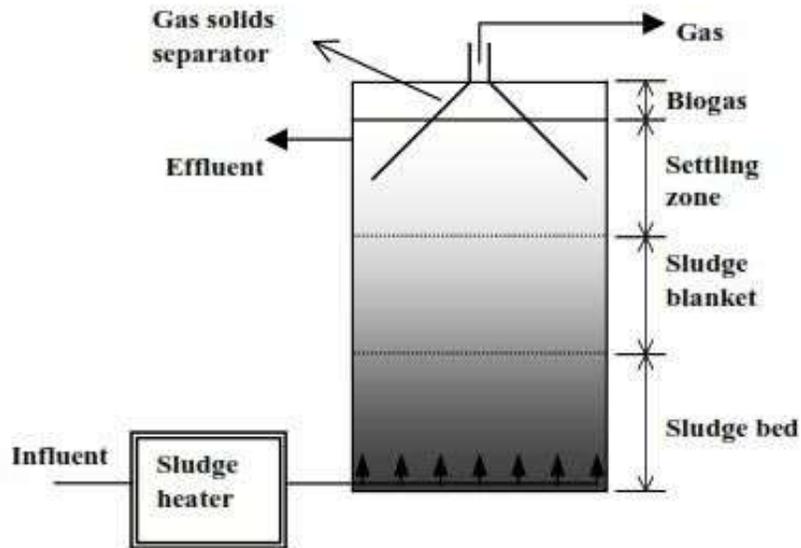
### 2.7 Reaktor-Reaktor dalam Proses Anammox

Waktu penggandaan bakteri anammox dalam proses anammox membutuhkan waktu sekitar 11 hari (Strous dkk., 1998), Oleh karena itu dibutuhkan reaktor yang digunakan dalam proses anammox harus mampu mempertahankan biomassa secara efisien. Ada tiga bioreaktor yang direkomendasikan dan cocok untuk proses anammox yaitu reaktor *Anaerobic Sludge Blanket* (UASB), *Upflow Stationary Fixed Film* (USFF) dan *Anaerobic Sequencing Batch Reactor* (ASBR). Media lekat dalam reaktor USFF menunjang retensi mikro organisme yang pertumbuhannya lambat. Pada reaktor UASB, akumulasi biomassa terjadi melalui proses granulasi lumpur, sedangkan pada SBR, pengendapan lumpur sangat membantu untuk mencegah biomassa anammox keluar dari anammox (Dapena-Mora dkk., 2004).

Indeks kinerja bioreaktor yang paling penting adalah stabilitas karena penerapan bioreaktor sangat tergantung pada stabilitasnya. Oleh karena itu, untuk menetapkan sistem evaluasi stabilitas untuk bioreaktor yang berbeda dan perbandingan kestabilannya sangat berguna dan signifikan (Perez dkk., 1998). Stabilitas ketiga reaktor itu jika diurutkan dimulai dari UASB reaktor > reaktor USFF > ASBR terhadap *shock concentration* dan ASBR > reaktor UASB > reaktor USFF masing-masing untuk *flow rate shock*. Dalam hal stabilitas, Reaktor UASB dapat dikatakan sebagai konfigurasi yang lebih cocok daripada reaktor USFF (Jin dkk., 2008).

## 2.8 Reaktor *Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB)

Dapat dilihat pada **Gambar 2.10** merupakan reaktor UASB (*Up-flow Anaerobic Sludge Blanket*) bisa disebut juga *anaerobic granular sludge* adalah sebuah sistem dimana air limbah akan masuk kedalam tangki anaerobik yang sudah terdapat *sludge* yang mengandung mikroorganisme atau bisa disebut *sludge blanket* kemudian diproses sehingga menghasilkan biogas. Teknologi UASB telah digunakan untuk pengolah berbagai macam limbah industri seperti industri pengolah makanan, industri alkohol, industri kulit dan limbah domestik lainnya (Maria, 2001). UASB berdasarkan butir dari *sludge* atau lumpurnya dibagi menjadi 3 fase. Bagian paling bawah dalam reaktor adalah *sludge bed*. Kemudian di atasnya adalah *sludge blanket* yang butir lumpurnya lebih kecil dibanding *sludge bed*. kemudian bagian paling atas adalah zona pengendapan (Maria, 2001).



**Gambar 2.10** Reaktor *Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB)  
Sumber : Maria, 2001

### 2.8.1 Cara Kerja Reaktor *Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB)

Cara kerja reaktor ini pertama adalah air limbah masuk dari bagian bawah reaktor kemudian dialirkan secara vertikal ke atas. Air limbah akan melewati lapisan *sludge bed*. Lapisan ini air limbah akan mengalami kontak dengan mikroba anaerob

yang berbentuk granula. Biogas yang terbentuk dari metabolisme anaerob akan bergerak ke atas dan mengakibatkan terjadinya proses *vertikal mixing* di dalam reaktor. Hal ini menyebabkan tidak diperlukan alat mekanik untuk pengadukan di dalam reaktor (Maria, 2001).

### **2.8.2 Kelebihan dan Kekurangan Reaktor *Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB)**

Proses anaerobik menggunakan reaktor UASB memiliki beberapa keuntungan dibandingkan proses nitrifikasi dan denitrifikasi. Keuntungan reaktor UASB antara lain (Barbazán, 2014):

1. Menggunakan lahan atau tempat yang sedikit;
2. Biaya konstruksi dan operasional yang rendah;
3. Produksi lumpur rendah;
4. Konsumsi energi yang rendah (hanya untuk stasiun pompa *influen*);
5. Efisiensi pengurangan COD dan BOD yang memuaskan, sebesar 65 hingga 75%;
6. Karakteristik konsentrasi tinggi dan pengeringan air yang baik terhadap lumpur.

Selain itu reaktor UASB juga memiliki beberapa kekurangan antara lain (Barbazán, 2014):

1. Kemungkinan terjadinya bau yang tidak sedap;
2. Akan membutuhkan tahap pasca perawatan;
3. Kemampuan sistem rendah dalam mentolerir bahan beracun;
4. Membutuhkan interval waktu yang lama untuk proses *start-up*.

### **2.8.3 Prinsip Kerja dan Hidrolis Reaktor *Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB)**

Prinsip kerja UASB adalah air limbah masuk dari bagian bawah reaktor lalu dialirkan secara vertikal ke atas. Air limbah pertama-tama akan melewati suatu lapisan yang dinamakan lapisan lumpur. Pada lapisan ini air limbah yang masuk akan berkontak dengan mikroba anaerob yang berbentuk granular (butiran) pada lapisan lumpur. Biogas yang terbentuk dari metabolisme anaerob akan bergerak ke atas dan mengakibatkan terjadinya proses pengadukan vertikal di dalam reaktor.

Dengan demikian, tidak diperlukan alat mekanik untuk pengadukan di dalam reaktor. Kecepatan aliran ke atas (*up flow*) harus dipertahankan sedemikian rupa sehingga dapat menciptakan pembentukan *sludge blanket* yang dapat memberikan area luas untuk kontak antara *sludge* dan air limbah (Lettinga & Hulshoff Pol, 1991).

Reaktor UASB berbentuk tabung yang terbuat dari kaca. Reaktor UASB memiliki filter berupa glass wool untuk menahan biomassa di dalam reaktor. Volume dari reaktor UASB yaitu sebesar 300 ml. Rumus mencari HRT pada reaktor UASB dapat dilihat di bawah (Lee & Lin, 1999):

$$\text{HRT} = \frac{V}{Q} \dots\dots\dots [2.11]$$

Keterangan:

HRT = *Hydraulic Retention Time*

V = Volume

Q = Debit

## 2.9 Aplikasi Proses Anammox

### 2.9.1 Keuntungan Proses Anammox

Anammox sangat efisien dan ramah lingkungan, dengan pengurangan 90% dalam biaya operasional dan pengurangan 50% dalam ruang yang dibutuhkan dibandingkan dengan teknologi penghilangan nitrogen biologis konvensional. Beberapa keuntungan utama dari proses anammox adalah (Gao & Tao, 2011):

1. Sumber karbon organik tidak diperlukan karena bakteri anammox menggunakan amonium sebagai donor elektronnya;
2. Sejumlah besar daya (untuk aerasi) dihemat karena proses anammox tidak membutuhkan oksigen;
3. Metode ini bermanfaat untuk mengendalikan efek rumah kaca. Karbon dioksida, gas pemanasan global, tidak dihasilkan dalam proses anammox, tetapi harus dikonsumsi oleh bakteri anammox;
4. Sekitar 70% kelebihan lumpur dapat dikurangi karena hasil pertumbuhan bakteri anammox yang sangat rendah, yang menguntungkan pengolahan lumpur akhir;

5. Tingkat penghilangan nitrogen yang dapat dicapai dapat mencapai 10 kg N/m<sup>3</sup>.h untuk uji skala penuh dan 75 kg N/m<sup>3</sup>.h untuk percobaan skala laboratorium. Tingkat penghilangan nitrogen ini, lima sampai sepuluh kali lebih tinggi daripada proses nitrifikasi-denitrifikasi dan penurunan yang signifikan dalam biaya operasional dan biaya modal.

### **2.9.2 Aplikasi Proses Anammox Skala Laboratorium**

Terdapat dua faktor kunci yang menentukan start-up dan operasi yang stabil dari proses anammox: penyediaan lumpur dan jenis reaktor. Banyak peneliti telah berusaha untuk mengembangkan bakteri anammox dengan menginokulasi berbagai jenis lumpur menggunakan bioreaktor yang berbeda. Lumpur yang dapat digunakan yaitu lumpur granular anaerobik, lumpur aktif dan meskipun hanya beberapa kasus yang berhasil. Beberapa jenis bioreaktor telah terbukti efisien dalam membiakkan bakteri anammox. Misalnya, *Sequencing Batch Reactor* (SBR), *up-flow anaerobic sludge bed* dan *anoxic fixed bed* adalah tiga reaktor yang paling banyak digunakan untuk bakteri anammox (Gao & Tao, 2011). Selain itu, banyak jenis reaktor anammox telah dioperasikan untuk mengolah berbagai jenis air limbah seperti *black water* (Vlaeminck dkk., 2009), air limbah farmasi (Tang dkk., 2011) dan limbah cair yang diolah secara sekunder (Erler dkk., 2008).

### **2.9.3 Aplikasi Proses Anammox Skala Besar**

Selain memainkan peran penting dalam ekosistem alam, bakteri anammox merupakan suatu proses dalam sistem rekayasa untuk mencapai proses yang ramah lingkungan untuk pengolahan air limbah yang banyak amonia (Jetten dkk., 2001). Menurut Zulkarnaini, (2020) aplikasi anammox skala laboratorium dalam menghilangkan berbagai jenis air limbah yang kaya akan amonia seperti limbah industri optoelektronik, efluen digesti anaerob, lindi lahan urug, telah berhasil dilakukan. Terdapat 114 reaktor anammox skala besar yang berhasil dioperasikan di seluruh dunia. Reaktor skala besar sebagian besar berada di Eropa, Jepang, Taiwan, Cina dan Amerika Serikat. Pada tahun 2007, reaktor skala besar pertama telah dirancang oleh Paques BV dimulai di Rotterdam, Belanda berhasil mengolah hingga 750 kg-N/hari. Waktu *start-up* yang dibutuhkan untuk reaktor pertama ini memakan waktu 3,5 tahun, sedangkan reaktor kedua memakan waktu setahun.

Reaktor anammox skala besar di Asia pertama dibangun di Jepang, cukup waktu 2 bulan untuk *start-up* (Gao & Tao, 2011).

## 2.10 Perhitungan Kinerja Penyisihan Nitrogen

Dalam penelitian anammox nilai dari  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NO}_3^-$  diukur dari *influen* dan *efluen*, kemudian dibaca panjang gelombangnya dengan alat spektrofotometri. Setelah diketahui berapa nilai dari  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NO}_3^-$  maka akan diformulasikan dalam parameter tertentu. Parameter yang diamati dalam penentuan efisiensi proses anammox yaitu dengan menggunakan parameter *Amonium Conversion Efficiency* (ACE), *Nitrogen Removal Efficiency* (NRE), *Nitrogen Loading Rate* (NLR) dan *Nitrogen Removal Rate* (NRR) (Zulkarnaini, 2020):

### 1. Amonium Conversion Efficiency (ACE)

*Amonium Conversion Efficiency* (ACE) menggunakan satuan persen dalam menunjukkan efisiensi penyisihan amonium. Persamaan ACE adalah sebagai berikut :

$$\text{ACE} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}}} \times 100\% \quad (\%) \dots \dots \dots [2.12]$$

### 2. Nitrogen Removal Efficiency (NRE)

*Nitrogen Removal Efficiency* (NRE) menggunakan satuan persen dalam menunjukkan efisiensi penyisihan nitrogen. Persamaan NRE adalah sebagai berikut :

$$\text{NRE} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}}}{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}}} \times 100\% \quad (\%) \dots [2.13]$$

### 3. Nitrogen Loading Rate (NLR)

*Nitrogen Loading Rate* (NLR) menggunakan persatuan volume per satuan waktu dalam menunjukkan nitrogen yang digunakan. Persamaan NLR adalah sebagai berikut:

$$\text{NLR} = \frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}}}{\text{HRT}} \times \frac{24}{1000} \text{ kg-N/m}^3 \cdot \text{h} \dots \dots \dots [2.14]$$

### 4. Nitrogen Removal Rate (NRR)

*Nitrogen Removal Rate* (NRR) memiliki satuan  $\text{kg-N/m}^3 \cdot \text{h}$  dalam menyatakan banyaknya nitrogen yang disisihkan dalam waktu tertentu. Persamaan NRR adalah sebagai berikut:

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

kg-N/m<sup>3</sup>.h.....[2.15]

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 efluen amonium

$[\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen nitrit

$[\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}}$  = Konsentrasi efluen nitrat

HRT = *Hydraulic Retention Time*

### 2.11 Stoikiometri Anammox

Stoikiometri anammox menggambarkan keberlangsungan proses anammox yang terjadi pada suatu reaktor. Stoikiometri anammox dapat diketahui dengan menggunakan perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut (Zulkarnaini, 2020):

1. Perubahan Konsentrasi Amonium

Perubahan konsentrasi amonium dapat dihitung dengan melihat selisih perbedaan konsentrasi influen dan efluen amonium dengan persamaan sebagai berikut:

$$\Delta\text{NH}_4^+ - \text{N} = [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{\text{out}} \text{ mg-N/L} \dots\dots\dots [2.16]$$

2. Perubahan Konsentrasi Nitrit

Perubahan konsentrasi nitrit dapat dihitung dengan melihat selisih perbedaan konsentrasi influen dan efluent nitrit dengan persamaan sebagai berikut:

$$\Delta\text{NO}_2^- - \text{N} = [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{\text{out}} \text{ mg-N/L} \dots\dots\dots [2.17]$$

3. Perubahan Konsentrasi Nitrat

Perubahan konsentrasi nitrat dapat dihitung dengan melihat selisih perbedaan konsentrasi influen dan efluen nitrat dengan persamaan sebagai berikut:

$$\Delta\text{NO}_3^- - \text{N} = [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{in}} - [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{\text{out}} \text{ mg-N/L} \dots\dots\dots [2.18]$$

4. Perhitungan Rasio  $\Delta\text{NO}_2^- - \text{N} / \Delta\text{NH}_4^+ - \text{N}$

