

Dekomposisi bahan organik pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung, Bali

Ima Yudha Perwira ^{a*}, Rani Ekawaty ^a, Alfi Hermawati Waskita Sari ^a, Devi Ulinuha ^a

^a Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Udayana, Kampus UNUD Bukit Jimbaran 80361, Bali, Indonesia

* Penulis koresponden. Tel.: +6285338368208
Alamat e-mail: ima.yudha@unud.ac.id

Diterima (received) 26 Juli 2019; disetujui (accepted) 1 Agustus 2019; tersedia secara online (available online) 5 Agustus 2019

Abstract

The sediment properties of Mati and Badung River, Bali were observed in this study. This study was aimed to know the relation between carbon, nitrogen and total bacterial number in the sediment of those rivers. This study was carried out in Mati and Badung River located in Southern part of Bali, Indonesia. Total carbon (TC), total nitrogen (TN), and total bacterial number of the sediment were observed in this study. Slow stirring method was used to estimate the total bacterial number in sediment, based on their environmental DNA intensity after agarose gel electrophoresis. TC of sediment was analyzed by using total carbon analyzer after combustion at 900°C, while TN was analyzed by using indophenol blue method after digested using Kjeldahl at 420°C for 1.5 hours. The result showed that TC of sediment in the Mati and Badung River were 6,100 and 7,000 mg/kg, respectively. TN of sediment in the Mati and Badung River were 380 and 440 mg/kg, respectively. The pH and electrical conductivity (EC) of sediment in the Mati River were 6,88 dan 0,10 µs/cm, while in the Badung River were 6,80 dan 0,11 µs/cm. Total bacterial number in the Mati river was lower ($4,8 \times 10^8$ cell /g) than that in the Badung river ($3,8 \times 10^8$ cell/g). The high value of R² between total bacterial and TC (0.91), and between total bacterial number and TN (0.83), indicating the high influence of bacteria on the decomposition of organic materials in the sediment.

Keywords: *decomposition; organic materials; sediment; Mati River; Badung River.*

Abstrak

Properti sedimen yang ada di Tukad Mati dan Tukad Badung, Bali telah berhasil diamati pada penelitian ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara karbon, nitrogen, dan jumlah total bakteri yang ada pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung. Penelitian ini dilakukan di Tukad Mati dan Tukad Badung yang berlokasi di bagian selatan Pulau Bali, Indonesia. Kandungan karbon total (TC), nitrogen total (TN), dan jumlah total bakteri diamati pada penelitian ini. Metode pengadukan pelan (slow stirring method) digunakan untuk mengestimasi jumlah total bakteri yang ada pada sedimen, dengan didasarkan pada DNA lingkungannya setelah melalui proses elektroforesis gel agarose. Kandungan TC sedimen diukur dengan menggunakan alat Carbon Analyzer setelah melalui proses pemanasan pada suhu 900°C, sedangkan kandungan TN diukur dengan menggunakan metode indophenol biru setelah melalui proses destruksi dengan menggunakan Kejdahl pada suhu 420°C selama 1,5 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan TC sedimen yang ada pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung adalah 6.100 dan 7.000 mg/kg. Kandungan TN pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung adalah 380 dan 440 mg/kg. Tingkat keasaman (pH) dan electrical conductivity di Tukad Mati adalah 6,88 dan 0,10 µs/cm, sedangkan di Tukad Badung adalah 6,80 dan 0,11 µs/cm. Jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Badung lebih tinggi ($4,8 \times 10^8$ sel/g) dibandingkan di Tukad Mati ($3,8 \times 10^8$ sel/g). Nilai R² yang tinggi antara TC dan total bakteri (0,91), serta TN dan total bakteri (0,83) menunjukkan tingginya pengaruh bakteri terhadap tingkat dekomposisi bahan organik di sedimen.

Kata Kunci: *dekomposisi; bahan organik; sedimen; Tukad Mati; Tukad Badung.*

1. Pendahuluan

Tukad Mati dan Tukad Badung merupakan sungai yang berlokasi di bagian selatan Pulau Bali, Indonesia. Kedua sungai ini sangat dipengaruhi oleh kegiatan antropogenik (Al Tanto et al., 2017). Salah satu hal yang dianggap mempengaruhi tersebut adalah kegiatan urbanisasi yang secara tidak langsung menambah beban cemaran pada kedua sungai tersebut sehingga menyebabkan perubahan pada kondisi ekologisnya (Harahap, 2013). Tingginya aktifitas wisata di daerah sekitar Tukad Mati dan Tukad Badung juga berpengaruh terhadap peningkatan beban cemaran yang ada di kedua sungai tersebut. Limpasan air limbah, baik domestik maupun industri rumah tangga, mengalir menuju Tukad Mati dan Tukad Badung sehingga meningkatkan jumlah kontaminan yang ada di kedua sungai itu (Putra et al., 2016). Masyarakat yang tinggal di sekitar kedua sungai itu mengalirkan buangan domestik melalui kanal pembuangan, dan akhirnya berujung pada kedua sungai itu. Tercatat ada beberapa jenis kegiatan antropogenik yang ada di sekitar Tukad Mati dan Tukad Badung, diantaranya adalah: industri, area perkantoran, bengkel mobil dan motor, rumah sakit, dan pasar tradisional (Yasa, 2010). Semua jenis kegiatan tersebut memberikan kontribusi yang sangat besar terhadap peningkatan material organik yang ada di Tukad Mati dan Tukad Badung.

Beberapa faktor diketahui memiliki pengaruh yang nyata terhadap proses dekomposisi bahan organik yang ada di lingkungan perairan. Bakteri dekomposer merupakan salah satu parameter yang sangat mempengaruhi proses dekomposisi tersebut, baik di badan air maupun sedimen (Findlay, 2010). Bakteri amonifikasi berperan dalam tahap awal perombakan bahan organik menjadi NH_4^+ melalui proses amonifikasi (Ward dan Jensen, 2014). Proses tersebut kemudian dilanjutkan oleh bakteri nitrifikasi yang mengubah NH_4^+ menjadi NO_3^- melalui proses nitrifikasi. Adapun proses perombakan NO_3^- dilakukan oleh bakteri denitrifikasi yang mengubahnya menjadi N_2 (Wang et al., 2013). Bakteri-bakteri ini bekerja secara reguler di lingkungan perairan untuk mendekomposisi bahan organik dan menciptakan suatu proses yang disebut sebagai self-purification mechanism.

Bakteri-bakteri yang ada di lingkungan perairan tersebut memiliki pengaruh yang sangat

besar bagi keseimbangan ekosistem perairan sungai. Dan untuk dapat bekerja secara optimal, maka bakteri-bakteri tersebut membutuhkan kondisi yang optimal untuk kehidupannya. Beberapa faktor yang diketahui sangat mempengaruhi kehidupan bakteri adalah ketersediaan karbon dan nitrogen di lingkungan (Khatoon et al., 2017). Oleh sebab itu, untuk mengetahui kondisi lingkungan di Tukad Mati dan Tukad Badung, maka dirasakan penting untuk mengamati tingkat dekomposisi bahan organik di Tukad Mati dan Tukad Badung berdasarkan kandungan karbon, nitrogen, dan jumlah total bakterinya.

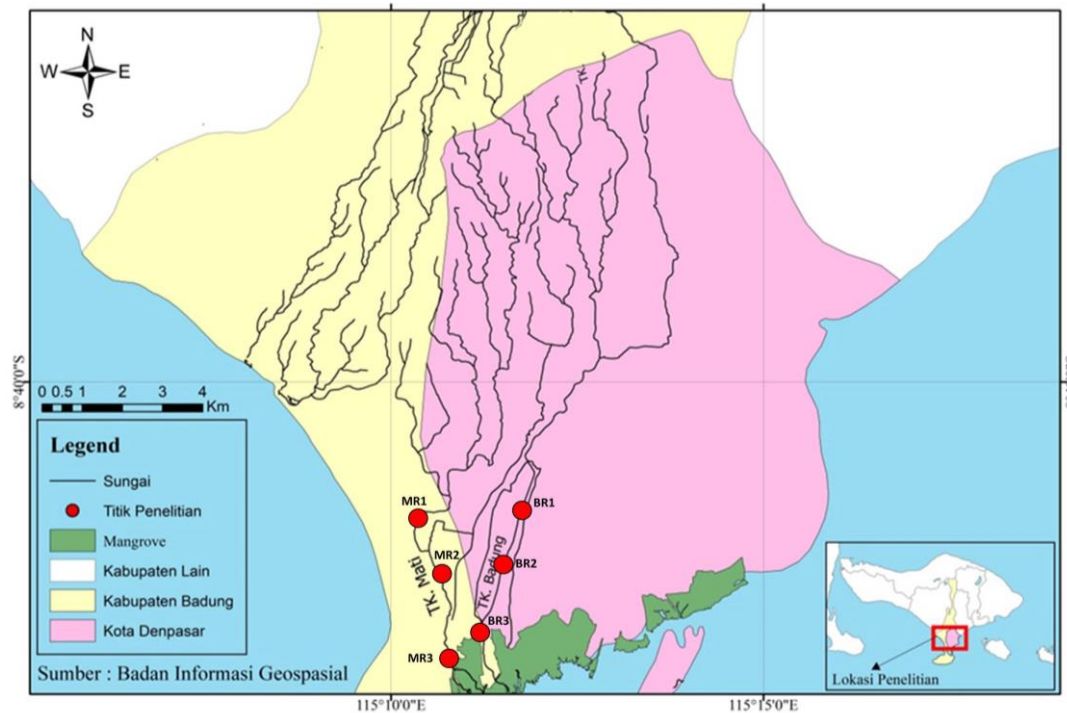
2. Metode Penelitian

2.1 Lokasi penelitian dan sampling sedimen

Penelitian ini dilakukan di Tukad Mati dan Tukad Badung (Propinsi Bali) dari bulan Juli sampai Agustus 2018. Sampel sedimen diambil dari 3 titik di Tukad Mati (MR1, MR2, dan MR3), dan 3 titik di Tukad Badung (BR1, BR2, dan BR3) (Gambar 1). Sampel sedimen diambil dari dasar sungai dengan menggunakan Ekman Grab. Sampel sedimen tersebut kemudian disimpan dalam kantong sampel, dan disimpan pada suhu 4°C sampai proses analisa lebih lanjut.

2.2 Pengukuran properti sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Proses pengukuran kandungan karbon total (TC) dilakukan dengan menggunakan metode Combustion Catalytic Oxidation Method pada alat Carbon Analyzer (Adhikari et al., 2016). Kemudian, pengukuran nitrogen total (TN) dilakukan dengan menggunakan metode indophenol biru sesuai dengan yang diterapkan oleh Kai et al. (2016). Proses analisa TN tersebut diawali dengan tahapan destruksi sampel sedimen. Sampel sedimen (0,5 g) didestruksi dengan menggunakan H_2SO_4 (10 ml) dan H_2O_2 (10 ml) pada suhu 420°C selama 1,5 jam dengan menggunakan Kjeldahl. Untuk mempercepat reaksi destruksi, maka digunakan katalis CuSO_4 sebanyak 0,5 g. Selanjutnya, ekstrak kasar tersebut disaring dengan menggunakan Kertas Saring ADVANTEC no 6. Proses pengukuran kandungan TN dilakukan dengan mencampurkan 1 ml ekstrak dengan 0,6 ml larutan indophenol dan 0,4 ml larutan sodium hipoklorit. Campuran tersebut



Gambar 1. Peta lokasi penelitian di Tukad Mati (MR1-MR3) dan Tukad Badung (BR1-BR3)

kemudian diinkubasikan pada suhu ruang selama 45 menit sampai terjadi perubahan warna. Absorbansi larutan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 635 nm. Pengukuran electrical conductivity (EC) tanah dilakukan dengan menggunakan alat Conductivity Meter (Lutron, YK-43CD), sedangkan pH tanah diukur dengan menggunakan pH meter (Horiba, B-711).

2.3 Penghitungan jumlah total bakteri

Jumlah total bakteri yang ada pada sampel sedimen dihitung dengan menggunakan metode pengadukan pelan (Slow stirring method) seperti yang dilakukan oleh Adhikari et al. (2016). Sampel sedimen yang digunakan adalah sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam tabung falcon. Setelah itu ditambahkan dengan larutan buffer ekstraksi DNA lingkungan (eDNA) sebanyak 8 ml dan larutan Sodium Dodesil Sulfat (SDS) sebanyak 1 ml. Proses tersebut kemudian dilanjutkan dengan tahapan pengadukan secara pelan (slow stirring) dengan menggunakan kecepatan 1.500 rpm selama 20 menit. Suspensi hasil dari pengadukan tersebut kemudian disentrifuge pada kecepatan 6000 \times g selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dari proses tersebut kemudian dipisahkan (0,7 ml), dan ditambahkan larutan kloroform-isoamilalkohol (24:1) sebanyak 0,7 ml.

Untuk memisahkan antara DNA dan partikel lainnya, maka dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 18.000 \times g selama 10 menit. DNA kemudian dipresipitasikan dengan cara sentrifugasi campuran fase aqueos (0,5 ml) dan larutan isopropanol (0,3 ml). Proses sentrifugasi dilakukan pada kecepatan 18.000 \times g selama 20 menit. Pelet DNA kemudian disimpan dalam larutan buffer Tris-EDTA (TE) 1 \times setelah melalui proses pembilasan dengan menggunakan alkohol 70%. Jumlah total bakteri diestimasi dengan menghitung massa DNA pada gel agarose setelah melalui proses elektroforesis 100V selama 20 menit. Marker yang digunakan adalah smartladder.

3. Hasil

3.1 Karbon total, nitrogen total, dan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan karbon total pada sedimen di Tukad Badung lebih tinggi (7,000 mg/kg) dibandingkan karbon total di Tukad Mati (6,100 mg/kg). Kandungan nitrogen total pada sedimen di Tukad Badung juga lebih tinggi (440 mg/kg) jika dibandingkan dengan nitrogen total di Tukad Mati (380 mg/kg). Tingkat keasaman (pH) sedimen dan EC di Tukad Mati adalah 6,8 dan 0,11 μ s/cm, sedangkan pH dan EC di Tukad Badung adalah 6,88 dan 0,10 μ s/cm.

Jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Badung juga relatif lebih tinggi ($4,8 \times 10^8$ sel/g) jika dibandingkan dengan Tukad Mati ($3,8 \times 10^8$ sel/g) (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa input bahan organik di Tukad Badung lebih tinggi jika dibandingkan dengan Tukad Mati.

Tabel 1

Kandungan karbon total, nitrogen total dan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Titik	TC	TN	pH	EC	Total bakteri
MR 1	5.000	310	6,89	0,09	3,1
MR 2	6.300	340	6,90	0,10	3,5
MR 3	7.100	490	6,85	0,10	4,8
Rata-rata	6.100	380	6,88	0,10	3,8
BR 1	6.800	380	6,81	0,10	4,3
BR 2	6.700	420	6,78	0,10	6,4
BR 3	7.500	510	6,80	0,12	3,9
Rata-rata	7.000	440	6,80	0,11	4,8

Catatan: MR adalah Mati River, BR adalah Badung River, TC dan TN dalam mg/kg, EC dalam $\mu\text{s/cm}$, Total bakteri dalam ($\times 10^8$ sel/g)

3.2 Rasio karbon dan nitrogen (C/N) pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Hasil analisa menunjukkan bahwa rasio C/N pada sedimen di Tukad Mati sama dengan rasio C/N pada sedimen di Tukad Badung. Hal ini mengindikasikan tingkat dekomposisi bahan organik di kedua sungai tersebut berada pada level yang sama. Hasil analisa rasio C/N pada sedimen di kedua sungai tersebut ditunjukkan pada Tabel 2.

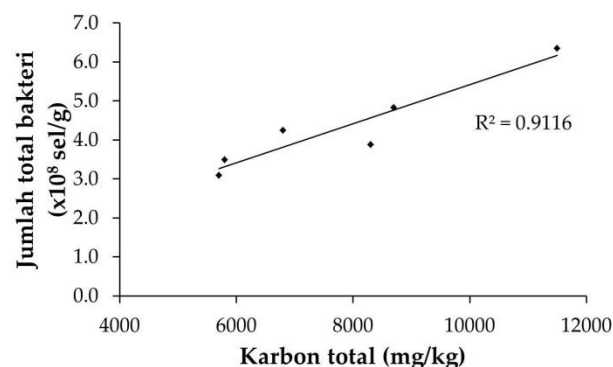
Tabel 2

Rasio karbon dan nitrogen (C/N) pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Titik	TC (mg/kg)	TN (mg/kg)	Rasio C/N
BR 1	6.800	380	18
BR 2	6.700	420	16
BR 3	7.500	510	15
Rata-rata	7.000	440	16
MR 1	5.000	310	16
MR 2	6.300	340	19
MR 3	7.100	490	14
Rata-rata	6.100	380	16

3.3 Hubungan antara karbon total dengan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

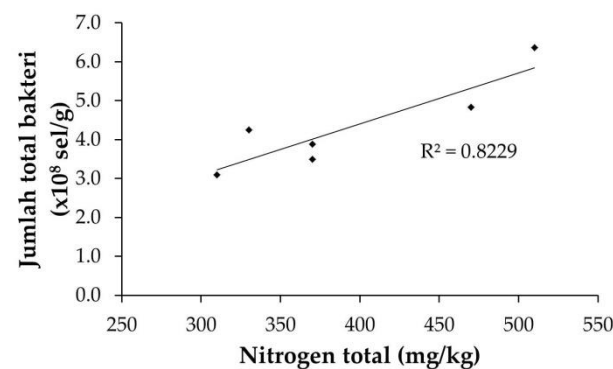
Hasil analisa hubungan antara karbon total dengan jumlah total bakteri pada sedimen menunjukkan nilai koefisien hubungan sebesar 0,9116 ($R^2 = 0.9116$) (Gambar 2). Hasil ini mengindikasikan bahwa kandungan karbon pada sedimen sangat mempengaruhi keberadaan bakteri baik di Tukad Mati dan Tukad Badung.



Gambar 2. Hubungan antara karbon total dan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

3.4 Hubungan antara nitrogen total dengan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

Analisa hubungan antara nitrogen total dan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung menunjukkan nilai korelasi yang sangat tinggi (0,8229) (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan nitrogen juga sangat mempengaruhi keberadaan bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung.



Gambar 3. Hubungan antara karbon total dan jumlah total bakteri pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung

4. Pembahasan

Rasio karbon dan nitrogen (C/N) telah umum diketahui dapat merepresentasikan proses dekomposisi bahan organik yang ada di lingkungan perairan (Ågren et al., 2013). Ada sedikit perbedaan antara kandungan karbon total dan nitrogen total pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung (Tabel 1), tetapi rasio C/N sedimen diantara kedua sungai tersebut sama. Rasio C/N ini tergolong rendah (<20) (Tabel 2), yang mengindikasikan adanya proses dekomposisi bahan organik yang cukup tinggi (Priya et al., 2017). Rendahnya rasio C/N menggambarkan dekomposisi bahan organik secara cepat, dimana pada saat itu akan terjadi proses konversi nitrogen organik (seperti: protein, asam amino, dan lain sebagainya) menjadi nitrogen anorganik (NH₄ dan/atau NH₃). Proses amonifikasi merupakan tahapan awal proses dekomposisi tersebut, yang menghasilkan NH₄ dan/atau NH₃. Selanjutnya, bakteri-bakteri nitrifikasi menjalankan perannya untuk mengubah NH₄ menjadi NO₂ dan NO₃ (Rodríguez et al., 2011; Pei et al., 2010).

Hasil analisa menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara karbon dan nitrogen dengan keberadaan bakteri yang ada di sedimen. Hal ini tidak mengejutkan, karena karbon merupakan sumber energi bagi kebanyakan bakteri di lingkungan, termasuk pada saat menjalankan peran pada siklus nitrogen di alam (Wilkinson, 1963). Beberapa jenis bentuk karbon di dalam sedimen mampu digunakan oleh bakteri selama proses respirasi, dan dilepaskan dalam bentuk CO₂ (2001; Orji et al., 2016). Begitupula keberadaan nitrogen juga memiliki kaitan erat dengan keberadaan bakteri di lingkungan, dimana nitrogen dalam berbagai bentuk sangat dibutuhkan oleh bakteri sebagai nutrisi. Meskipun tidak dilakukan identifikasi jenis bakteri secara spesifik pada penelitian ini, rendahnya rasio C/N pada sedimen di Tukad Mati dan Tukad Badung ini menunjukkan tingginya tingkat dekomposisi nitrogen organik menjadi nitrogen inorganik oleh bakteri. Tingginya nilai kandungan nitrogen dimungkinkan terdiri dari nitrogen inorganik seperti NH₄, NO₂ dan NO₃ (Li et al., 2016). Tingginya jumlah total bakteri di sedimen diduga menjadi salah satu faktor yang mendorong percepatan proses mineralisasi ini.

Pada kondisi dimana rasio C/N rendah seperti ini, tentunya akan menyebabkan tingginya

kelimpahan NO₃ di perairan. Ada dua kemungkinan yang dapat terjadi pada kondisi seperti ini, NO₃ akan diserap oleh tanaman air dan/atau fitoplankton di dalam air atau tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman air/fitoplankton sehingga dapat dimungkinkan terjadinya proses denitrifikasi yang akan mengubah NO₃ menjadi nitrogen bebas (N₂). Akan tetapi proses denitrifikasi hanya dapat terjadi ketika kondisi lingkungan dalam status anaerobik. Bakteri-bakteri denitrifikasi seperti *Acidovorax* sp., *Acinetobacter* sp., *Comamonas* sp. *Pseudomonas* sp. hanya dapat bekerja dalam kondisi anaerob (Maintinguer et al., 2013). Sedangkan sungai dengan sifatnya sebagai lingkungan perairan mengalir, cenderung memiliki kelarutan oksigen yang tinggi (Rajwa-Kuligiewicz et al., 2015), dan menghambat proses denitrifikasi (Rodziewicz et al., 2019).

5. Simpulan

Rasio C/N pada sedimen yang ada di Tukad Mati dan Tukad Badung berada pada kisaran dibawah 20. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat dekomposisi bahan organik pada sedimen di kedua sungai tersebut cukup tinggi sehingga dimungkinkan menghasilkan bahan inorganik yang cukup tinggi. Ada dua kemungkinan yang dapat terjadi pada kondisi ini, yaitu: akan terserapnya nitrogen organik (nitrat) oleh tanaman air dan fitoplankton pada kondisi aerobik, dan terlepasnya nitrogen organik (nitrat) melalui proses denitrifikasi pada kondisi aerobik.

Daftar Pustaka

- Adhikari, D., Mukai, M., Kubota, K., Kai, T., Kaneko, N., Araki, K. S., & Kubo, M. (2016). Degradation of bioplastics in soil and their degradation effects on environmental microorganisms. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 5(01), 23.
- Ågren, G. I., Hyvönen, R., Berglund, S. L., & Hobbie, S. E. (2013). Estimating the critical N: C from litter decomposition data and its relation to soil organic matter stoichiometry. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 312-318.
- Al Tanto, T., Putra, A., Kusumah, G., Farhan, A. R., Pranowo, W. S., Husrin, S., & Ilham. (2017). Sedimentation rate in Benoa Bay coastal waters-Bali based on satellite imagery. *Jurnal Kelautan Nasional*, 12(3), 101-107.
- Findlay, S. (2010). Stream microbial ecology. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(1), 170-181.

- Harahap, F. R. (2013). Dampak urbanisasi bagi perkembangan kota di Indonesia. *Jurnal Society*, **1**(1), 35-45.
- Kai, T., Mukai, M., Araki, K. S., Adhikari, D., & Kubo, M. (2016). Analysis of chemical and biological soil properties in organically and conventionally fertilized apple orchards. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, **5**(02), 92-99.
- Khatoon, H., Solanki, P., Narayan, M., Tewari, L., & Rai, J. P. N. (2017). Role of microbes in organic carbon decomposition and maintenance of soil ecosystem. *International Journal of Chemical Studies*, **5**(6), 1648-1656.
- Li, J., Lin, S., & Qin, S. (2016). Characteristics of sediment bacterial community in response to environmental impacts in a sewage polluted river. *Journal of Coastal Research*, **74**, 196-206.
- Maintinguer, S. I., Sakamoto, I. K., Adorno, M. A. T., & Varesche, M. B. A. (2013). Evaluation of the microbial diversity of denitrifying bacteria in batch reactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **30**(3), 457-465.
- Orji, F. A., Dike, E. N., Lawal, A. K., Sadiq, A. O., Suberu, Y., Famotemi, A. C., Ugbana, A. I., Fashola, F., Ita, B., Olatope, S. O., Itoandoan, E. E., Adefiranye, A. O., & Elemo, G. N. (2016). Properties of Bacillus species Cellulase Produced Using Cellulose from Brewers Spent Grain (BSG) as Substrate. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, **7**(03), 142-148.
- Pei, Y. S., Wang, J., Wang, Z. Y., & Yang, Z. F. (2010). Characteristics of ammonia-oxidizing and denitrifying bacteria at the river-sediment interface. *Procedia Environmental Sciences*, **2**, 1988-1996.
- Priya, V., Lokesh, M., Kesavan, D., Komathi, G., & Naveena, S. (2017). Evaluating the Perfect Carbon: Nitrogen (C:N) Ratio for Decomposing Compost. *International Research Journal of Engineering and Technology*, **4**(9), 1144-1147.
- Putra, I. D. G. (2016). Isu dan permasalahan permukiman di DAS (Daerah Aliran Sungai) Tukad Badung Denpasar. *Jurnal New Media*, **7**(2), 1-11.
- Rajwa-Kuligiewicz, A., Bialik, R. J., & Rowiński, P. M. (2015). Dissolved oxygen and water temperature dynamics in lowland rivers over various timescales. *Journal of Hydrology and Hydromechanics*, **63**(4), 353-363.
- Rodríguez, D. C., Ramírez, O., & Mesa, G. P. (2011). Behavior of nitrifying and denitrifying bacteria in a sequencing batch reactor for the removal of ammoniacal nitrogen and organic matter. *Desalination*, **273**(2-3), 447-452.
- Rodziewicz, J., Ostrowska, K., Janczukowicz, W., & Mielcarek, A. (2019). Effectiveness of Nitrification and Denitrification Processes in Biofilters Treating Wastewater from De-Icing Airport Runways. *Water*, **11**(3), 1-17.
- Wang, P., Yuan, Y., Li, Q., Yang, J., Zheng, Y., He, M., Geng, H., Xion, L., & Liu, D. (2013). Isolation and immobilization of new aerobic denitrifying bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **76**, 12-17.
- Ward, B. B., & Jensen, M. M. (2014). The microbial nitrogen cycle. *Frontiers in Microbiology*, **5**, 1-2.
- Wilkinson, J. F. (1963). Carbon and energy storage in bacteria. *Journal of general microbiology*, **32**, 171-176.
- Yasa, I. M. T. (2010). *Pengendalian pencemaran industri kecil di daerah aliran sungai Tukad Badung*. Dalam Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Teknologi Prasarana Wilayah. Surabaya, Indonesia, 28 Juli 2010 (pp. G1-G6)

© 2018 by the authors; licensee Udayana University, Indonesia. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).