

DEGRADASI HERBISIDA TURUNAN 2,4-D AMINE OLEH BAKTERI PELARUT FOSFAT DAN EFEK RESIDUNYA TERHADAP BAWANG MERAH YANG DIBERI PUPUK KANDANG

DEGRADATION OF 2,4-D AMIDES HERBICIDE BY INOCULATED WITH PHOSPHAT SOLUBILIZING BACTERIA AND ITS RESIDUAL EFFECTS ON GROWTH OF ONION WITH MANURE APPLICATION

I Ketut Ngawit
Fakultas Pertanian Universitas Mataram, NTB

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh periode dekomposisi dan dosis pupuk kandang terhadap kemampuan bakteri pelarut fosfat (BPF) mendegradasi herbisida turunan 2,4-D Amine di dalam tanah. Percobaan dilaksanakan sejak Mei 2009 s/d Januari 2010. Percobaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian Unram, untuk menguji ketahanan BPF terhadap herbisida 2,4-D Amine. Percobaan rumah kaca ditata menurut rancangan acak lengkap dengan dua faktor perlakuan, yaitu dosis pupuk kandang (P), dengan 4 taraf (0, 10, 20 dan 30 ton ha⁻¹); dan lamanya periode dekomposisi herbisida (D), dengan 4 taraf (0, 4, 8, dan 12 minggu). Jenis BPF yang digunakan adalah *Pseudomonas* sp., yang diisolasi dari tanah di sekitar perakaran bawang merah, di Desa Bongor, Lombok Barat. Percobaan dilakukan pada pot yang tanahnya berasal dari daerah tempat isolasi BPF tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media biakan, BPF tersebut tergolong tahan terhadap herbisida turunan 2,4-D Amine sampai konsentrasi 2 ppm dengan laju penghambatan pertumbuhan 2,69%, dan bahkan pada konsentrasi sampai 0,75 ppm, terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan percobaan rumah kaca menunjukkan bahwa lama periode dekomposisi maupun dosis pupuk kandang berpengaruh nyata terhadap populasi maupun jumlah koloni BPF, pH tanah, tingkat serapan P, berat kering tanaman bawang merah pada umur 50 hari, dan residu herbisida 2,4-D Amine di dalam tanah, baik dari hasil deteksi dengan HPLC maupun bioassay. Tingkat keracunan tanaman bawang merah juga berkurang dengan semakin lama waktu dekomposisi. Untuk sebagian besar variabel pengamatan, terdapat interaksi yang nyata antar kedua faktor tersebut. Jadi semakin lama periode waktu dekomposisi dan semakin tinggi dosis pupuk kandang, maka kemampuan BPF *Pseudomonas* sp. semakin tinggi dalam mendegradasi 2,4-D Amine, menurunkan pH tanah maupun melarutkan fosfat alam sehingga menjadi tersedia bagi tanaman bawang merah. Tingkat keracunan tanaman bawang merah juga semakin berkurang, terutama dengan semakin lamanya periode dekomposisi, yaitu berkisar dari tingkat ringan (31-40%) pada periode dekomposisi 0 minggu dengan pupuk kandang 0 kg/ha sampai tanpa ada gejala keracunan pada periode dekomposisi 12 minggu dengan dosis pupuk kandang 30 ton/ha.

Kata kunci: degradasi herbisida 2,4-D Amine

ABSTRACT

This research was aimed to examine effects of different duration of decomposition period and dosage of manure on the ability of one species of Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB), i.e. Pseudomonas sp., to degrade the herbicide 2,4-D Amides in soil. The entire experiment carried out from May 2009 to January 2010. The laboratory experiment, conducted at the Microbiology Lab. Faculty of Agriculture, University of Mataram., aimed to test the resistance of the Pseudomonas sp to 2,4-D Amides. The glasshouse experiment was designed according to the Completely Randomized Design using Split Plot Design consisting of two treatment factors, i.e. manure dosis consisting of four levels (i.e. 0, 10, 20 and 30 ton/ha); and duration of decomposition period consisting of four levels (i.e. 0, 4, 8 and 12 weeks). The PSB species were isolated from rhizosphere soil of onion areas in "Bongor" West Lombok. This pot experiment used the soil from which the PSB species were isolated. The results showed that both PSB species were

resistant to herbicide 2,4-D Amides up to a concentration of 2 ppm in the growing media, with a growth inhibition of 1.87%. At a concentration of 0.75%, *Pseudomonas* sp. was in fact capable of producing more colonies. The results from the glasshouse experiment showed that PSB species and duration of decomposition period had significant effects on the population and colony count of the PSB, soil pH, P sorption and dry weight of onion at 50 days stage, as well as levels of 2,4-D Amides residue in the soil either based on HPLC detection or bioassay results using tomato plant (Intan variety). Onion toxicity levels also reduced as the duration of the decomposition period was longer. There was also a significant effect of inoculation over uninoculated treatments. For most variables, there were significant interaction effects between the two factors. At a longer duration of the decomposition period, the ability of *Pseudomonas* sp. was significantly higher than that of soils steril in degrading 2,4-D Amides, reducing soil pH, and solubilizing phosphate rock to make it available for uptake by Onion. Levels of onion toxicity to 2,4-D Amides ranged from low (31-40%) at the decomposition period of 0 week and 0 ton/ha manure dosis to zero at the decomposition period of 12 weeks and 30 ton/ha manure dosis.

Key words : degradation of 2,4-D Amides herbicide

PENDAHULUAN

Adanya masalah gulma yang cukup sulit diatasi pada pertanaman bawang merah di beberapa wilayah pengembangan lahan kering Lombok Barat, dan juga karena pertimbangan penyelamatan produksi dan efisiensi, maka pengendalian gulma yang bersifat segera dengan cara kimiawi telah dilakukan secara luas oleh petani setempat (Rudiyanto, 2010). Jenis herbisida yang banyak digunakan adalah *Turunan Urea, Oxadison, Alachlor*, dan *2,4-D Amine* terutama untuk mengendalikan gulma pada tanaman padi dan palawija, yang biasanya diaplikasikan secara pra-tanam atau pra-tumbuh.

Pemanfaatan pupuk kandang dan bakteri pelarut fosfat untuk meningkatkan fertilitas tanah lahan kering di satu sisi dan penggunaan herbisida yang bersifat sterilisasi tanah untuk pengendalian gulma di sisi lain merupakan dua komponen dalam sistem budidaya tanaman yang bersifat antagonis. Sehubungan dengan masalah ini maka jenis bakteri pelarut fosfat yang diperlukan adalah jenis yang selain mempunyai kemampuan tinggi melarutkan fosfat juga mampu mendegradasi bahan aktif herbisida yang teresidu di dalam tanah.

Herbisida khususnya yang diaplikasikan melalui tanah dapat berpengaruh positif dan atau negatif terhadap mikrobia dekomposer (Torstensson, 1997). Pengaruh negatif herbisida terhadap bakteri pelarut fosfat diduga dapat langsung meracuni bakteri tersebut dan secara tidak langsung melalui perusakan jaringan proses dekomposisi sehingga aktivitas bakteri tersebut menjadi terhambat. Sedangkan pengaruh positif

herbisida terhadap mikrobia tanah khususnya bakteri pelarut fosfat adalah herbisida dijadikan sumber C dan N sehingga keberadaannya di dalam tanah dapat sebagai stimulan bagi aktivitas hidup bakteri (Assaf dan Turco, 1994; Yanze-Kontchou dan Gschwind, 1994).

Kemampuan setiap jenis bakteri pelarut fosfat melarutkan fosfat terfiksasi sangat berbeda-beda, tergantung dari jenis dan daya adaptasinya terhadap lingkungannya. Sehubungan dengan hal ini Ngawit (1999), melaporkan bahwa bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari vertisol Lombok Selatan kemampuannya semakin meningkat pada tanah jenis lain yang diberi pupuk kompos, meskipun efeknya tidak nyata pada berbagai macam pupuk kompos. Hal ini menurut Ngawit (2004), tidak semua isolat bakteri pelarut fosfat mampu beradaptasi dengan lingkungan baru yang mempengaruhinya. Terlebih-lebih bila lingkungan tersebut aplikasi herbisida melalui tanah cukup tinggi intensitasnya. Namun demikian, mikroba mempunyai "adaptation effect" dalam hal kemampuannya mendegradasi suatu herbisida (Torstensson, 1999). Salah satu contoh hasil penelitian Torstensson *et al.* (1997) adalah pengaruh aplikasi yang berulang-ulang dari 2,4-D dan MCPA terhadap laju degradasinya di dalam tanah.

Menurut Torstensson (1997), proses degradasi herbisida di dalam tanah pada dasarnya merupakan akibat dari proses-proses mikrobia, dan laju degradasi sangat ditentukan oleh besarnya populasi, dan pertumbuhan populasi sangat dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara bagi mikroba tersebut, selain faktor-faktor lingkungan

lainnya. Bahkan salah satu strain dari *Pseudomonas* dilaporkan dapat menggunakan herbisida Atrazin sebagai sumber karbon (Ngawit, 2004), atau herbisida Glyphosate sebagai sumber fosfat oleh jenis mikroba lainnya (More *et al.*, 2003).

Dalam penelitian ini dikaji pengaruh pemberian dosis pupuk kandang sebagai sumber karbon, nitrogen dan fosfat terhadap kemampuan bakteri *Pseudomonas* sp. untuk mendegradasi herbisida 2,4D-Amine dan efek residunya terhadap tanaman bawang merah.

METODE PENELITIAN

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Analitik dan Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Mataram. Contoh tanah yang digunakan, diambil dari sentra produksi bawang merah di Desa Bongor, yang juga merupakan tempat mengisolasi BPF. Secara keseluruhan, percobaan terdiri atas dua tahap, yaitu percobaan laboratorium dan percobaan rumah kaca. Percobaan laboratorium ditujukan untuk menguji ketahanan isolat BPF terhadap herbisida 2,4-D Amine yang dilakukan pada media tumbuh agar padat, menurut metode Assaf dan Turco, (1994). Percobaan dirancang dengan rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan kadar residu herbisida 2,4-D Amine yang mencemari media tumbuh agar-agar padat yaitu : 0,00 ppm; 0,25 ppm; 0,50 ppm; 0,75 ppm; 1,00 ppm; 1,25 ppm; 1,50 ppm; 1,75 ppm dan 2,00 ppm. Masing-masing unit percobaan diulang sebanyak dua kali, sehingga ada 16 unit percobaan. Suspensi bakteri yang telah ditentukan kerapatannya, diinokulasikan ke dalam media tumbuh yang telah dicemari herbisida 2,4-D Amine tersebut. Kemudian biakan diinkubasikan pada temperatur 28°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri

untuk memprediksi tingkat hambatan pertumbuhan bakteri. Tingkat ketahanannya ditentukan berdasarkan nilai kategori seperti disajikan pada Tabel 1, sedangkan persentase hambatan pertumbuhan bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$H = \frac{K_0 - K_1}{K_0} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

di mana:

H = Persentase hambatan pertumbuhan koloni bakteri

K₀ = Jumlah koloni pada media yang tanpa herbisida 2,4-D Amine

K₁ = Jumlah koloni pada media yang diisi herbisida 2,4-D Amine.

Pelaksanaan untuk percobaan pot di rumah kaca meliputi persiapan pot, persiapan dan inokulasi BPF, perlakuan herbisida dan penanaman tanaman uji, yaitu tanaman bawang merah. Percobaan rumah kaca ditata menurut rancangan acak lengkap dengan dua faktor perlakuan, yaitu dosis pupuk kandang (P), dengan 4 taraf (0, 10, 20 dan 30 ton ha⁻¹); dan lamanya periode dekomposisi herbisida (D), dengan 4 taraf (0, 4, 8, dan 12 minggu). Dengan mengkombinasikan kedua faktor, yang masing-masing dibuat dalam 3 ulangan, maka diperoleh 48 unit percobaan. Jenis BPF yang digunakan adalah *Pseudomonas* sp., yang diisolasi dari tanah di sekitar perakaran bawang merah, di Desa Bongor, Gerung, Lombok Barat. Percobaan dilakukan pada pot yang tanahnya berasal dari daerah tempat isolasi BPF tersebut. Contoh tanah diambil pada kedalaman lapisan olah (\pm 25 cm), kemudian dikeringanginkan, dibersihkan dari sisa-sisa tumbuhan dan dihaluskan dengan ayakan bermata saring 2 mesh. Selanjutnya tanah tersebut disterilkan dengan otoklaf pada suhu 120 °C selama satu jam. Setelah dingin lalu diisikan ke dalam pot sebanyak 5 kg berat kering mutlak per pot.

Tabel 1. Nilai skor dan kategori ketahanan *Pseudomonas* sp.

Nilai Skor Ketahanan BPF	Kategori Ketahanan BPF	Persentase Penghambatan Pertumbuhan Koloni
0	sangat tidak tahan	81 % - 100 %
1	tidak tahan	61 % - 80 %
2	kurang tahan	41 % - 60 %
3	Cukup tahan	21 % - 40 %
4	Tahan	1 % - 20 %
5	sangat tahan	< 1 %

Isolat BPF jenis *Pseudomonas sp.* yang telah dimurnikan, diperbanyak dengan mengambil satu ose dari media agar miring, kemudian dikulturkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml media cair pikovskaya, kemudian diinkubasikan pada alat pengocok berputar dengan kecepatan putaran 150 putaran per menit pada temperatur 28 °C. Biakan ini digunakan sebagai sumber inokulum untuk inokulasi dengan kepadatan sel $\pm 50 \times 10^6$ sel ml⁻¹ suspensi. Cara inokulasi yang dilakukan adalah dengan menuangkan isolat ke dalam tiap pot percobaan secara merata sebanyak 6 ml pot⁻¹.

Aplikasi herbisida dilakukan sehari setelah inokulasi masing-masing jenis BPF. Penyemprotan dilakukan menggunakan alat semprot sprayer tipe *Wagner Small Pot Sprayer*. Sebelum pelaksanaan penyemprotan herbisida, dilakukan perhitungan volume semprot sesuai dengan takaran untuk setiap pot unit percobaan. Perhitungan volume semprot dilakukan dengan prosedur kalibrasi berdasarkan lama waktu penyemprotan dan volume air yang disemprotkan oleh sprayer. Semua pot perlakuan disemprot dengan herbisida 2,4-D Amine dengan dosis 1,5 kg ai.ha⁻¹.

Sehari menjelang penanaman tanaman uji, dilakukan pemupukan dasar dan pupuk yang digunakan adalah Urea tablet 75 kg N ha⁻¹ dan KCl 100 kg K₂O ha⁻¹. Aplikasi pupuk kandang sapi, dilakukan sehari sebelum inokulasi bakteri dengan cara dicampur merata dengan tanah. Dosis yang digunakan adalah sesuai dengan perlakuan, dan disterilkan terlebih dahulu dengan cara memasukkan ke dalam kantong plastik kemudian disterilkan dalam otoklaf pada temperatur 120 °C

selama satu jam. Umbi bibit bawang merah ditanam 3 siung pot⁻¹. Penjarangan dilakukan 10 hari setelah tanam dengan menyisakan satu rumpun tanaman setiap pot. Kelembaban tanah dipertahankan pada kondisi kapasitas lapang dengan penyiraman setiap hari dengan air bebas ion berdasarkan penimbangan.

Pengamatan meliputi tingkat ketahanan BPF di laboratorium, residu herbisida di dalam tanah (menggunakan analisis HPLC dan bioassay dengan tanaman mentimun), populasi dan jumlah koloni BPF dalam tanah, pH tanah, serapan P oleh tanaman bawang merah, tingkat keracunan tanaman, berat kering tanaman pada saat umur 50 HST dan berat segar umbi bawang merah.

Tingkat keracunan tanaman, diamati saat tanaman berumur pada umur 10, 20, 30, 40 dan 50 hari setelah tanam. Intensitas keracunan tanaman dihitung berdasarkan kerusakan total daun tanaman akibat keracunan herbisida, yang ditetapkan dengan rumus (Burrill *et al.*, 1996) :

$$I = \frac{D_k}{D_k + D_o} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

di mana:

I = Intensitas keracunan tanaman (%)

D_k = Daun yang keracunan

D_o = Daun yang tidak keracunan.

Berdasarkan nilai intensitas keracunan tersebut, tingkat keracunan tanaman bawang merah akibat residu herbisida dikategorikan berdasarkan nilai skor seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai skor dan kategori keracunan bawang merah oleh herbisida

Nilai skor	Kategori Tingkat Keracunan Tanaman	Intensitas Keracunan Tanaman (%)
9	Tanaman mati	91 % - 100 %
8	Keracunan sangat parah	81 % - 90 %
7	Keracunan parah	71 % - 80 %
6	Keracunan cukup parah	61 % - 70 %
5	Keracunan kurang parah	51 % - 60 %
4	Keracunan sedang	41 % - 50 %
3	Keracunan ringan	31 % - 40 %
2	Keracunan cukup ringan	21 % - 30 %
1	Keracunan sangat ringan	11 % - 20 %
0	Tanaman tidak keracunan	0 % - 10 %

Degradasi herbisida oleh bakteri pelarut fosfat, dianalisis berdasarkan jumlah herbisida yang tersisa (residu) di dalam tanah yang datanya diplotkan berdasarkan lama waktu terdekomposisi, sedangkan banyaknya herbisida yang terdegradasi selama proses dekomposisi ditaksir berdasarkan perhitungan nilai konstanta degradasi menurut persamaan-persamaan sebagai berikut (Naser dan Turco, 1994) :

$$\bullet \quad -dA/dt = kA_0 \dots\dots\dots(3)$$

$$\bullet \quad A = A_0 \cdot e^{-kt} \dots\dots\dots(4)$$

$$\bullet \quad \ln(A/A_0) = -kt \dots\dots\dots(5)$$

$$\bullet \quad -k = \frac{\ln(A/A_0)}{t} \dots\dots\dots(6)$$

di mana:

A = Konsentrasi herbisida setelah terdekomposisi selama t .

A_0 = Konsentrasi herbisida setelah terdekomposisi 0 hari.

k = Nilai konstanta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Residu dan Ketahanan BPF *Pseudomonas* sp. terhadap Herbisida 2,4-D Amine

Ketahanan isolat BPF terhadap herbisida 2,4-D Amine diuji dengan cara membiakkan bakteri tersebut di dalam media yang telah dikontaminasi dengan herbisida 2,4-D Amine pada berbagai konsentrasi. Hasil uji menunjukkan bahwa isolat BPF tersebut tergolong tahan terhadap herbisida 2,4-D Amine, dan bahkan pada kisaran konsentrasi 0,25 - 0,75 ppm, terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri akibat pemberian herbisida tersebut (Tabel 3).

Analisis residu herbisida dilakukan setelah selesai semua perlakuan inkubasi, yaitu sehari menjelang tanam tanaman uji. Residu herbisida akibat terdegradasi jenis BPF pada tanah dilakukan

dalam dua tahap yaitu total residu dengan metode Khromatografi dan yang persisten dengan uji hayati. Ekstraksi residu 2,4-D Amine menggunakan pengestrak Metanol dan kemudian dilakukan deteksi dengan HPLC untuk menentukan tingkat residunya, ternyata dapat memberikan hasil yang cukup baik.

Pada Tabel 4, tampak bahwa residu herbisida 2,4-D Amine semakin berkurang dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Berkurangnya residu herbisida 2,4-D amine tersebut berbeda nyata antara perlakuan penambahan dosis pemberian pupuk kandang. Seperti pada perlakuan masa inkubasi 4 - 8 minggu, penambahan dosis pupuk kandang 10 - 30 ton ha⁻¹ berpengaruh nyata terhadap berkurangnya kadar residu 2,4-D amine, meskipun pada lama waktu inkubasi 12 minggu penambahan dosis pupuk kandang sebanyak 10 - 30 ton ha⁻¹ tidak menunjukkan efek yang nyata.

Tabel 3. Persentase penghambatan pertumbuhan BPF *Pseudomonas* sp. pada media biakan yang terkontaminasi herbisida 2,4-D Amine

Konsentrasi 2,4-D Amine (ppm)	Hambatan Pertumbuhan (%)	Kategori tingkat ketahanan (berdasarkan Tabel 1)
0,00	-0,007	sangat tahan
0,25	- 0,015	sangat tahan
0,50	- 0,029	sangat tahan
0,75	- 0,140	sangat tahan
1,00	0,115	sangat tahan
1,25	0,322	sangat tahan
1,50	0,150	sangat tahan
1,75	1,794	t a h a n
2,00	1,866	t a h a n

Tabel 4. Rata-rata residu herbisida 2,4-D Amine (ppm) berdasarkan analisis HPLC

Lama waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0 minggu	2,960 ab	2,890 b	2,970 a	2,930 ab ^{1/}
4 minggu	2,480 c	2,300 d	2,160 e	2,030 f
8 minggu	0,870 g	0,870 g	0,490 h	0,400 i
12 minggu	0,220 j	0,220 j	0,150 j	0,160 j
BNJ 0,05 =	0,070			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05.

Tabel 5. Rata-rata residu herbisida 2,4-D Amine (ppm) yang persisten pada tanah (berdasarkan hasil analisis bioassay) yang terdegradasi oleh BPF pada setiap perlakuan lama inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0 minggu	2,700 a	2,670 a	2,700 a	2,610 a ^{1/}
4 minggu	1,770 b	1,670 b	1,750 b	1,750 b
8 minggu	0,870 c	0,820 c	0,580 d	0,590 d
12 minggu	0,650 d	0,560 d	0,310 e	0,300 e
BNJ 0,05 =	0,170			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05.

Setelah masa inkubasi lebih dari 4 minggu tampak kehilangan 2,4-D Amine sangat banyak pada setiap perlakuan, sehingga residunya rata-rata di bawah 0,5 ppm, sedangkan pada masa inkubasi sebelum 4 minggu, residunya rata-rata di atas 1,5 ppm. Hal ini erat kaitannya dengan kandungan bahan aktif dari 2,4-D Amine yang terdiri dari Piperofos yang bersifat folatil. Diduga kehilangan senyawa Piperofos lebih banyak karena penguapan, sehingga yang tersisa di dalam tanah hanya gugus molekul 2,4-D. Ini berarti bahwa hanya senyawa Amida yang terdegradasi oleh BPF menjadi senyawa metabolit-metabolit 2,4-D. Kearney dan Kaufman (1995), menyatakan bahwa beberapa jenis herbisida dari kelompok phenolat dan Amida dapat dirombak oleh bakteri *Pseudomonas* menjadi senyawa phenol, kemudian melalui reaksi enzimatik hasil sekresi bakteri, phenol didegradasi menjadi catechol. Catechol diubah menjadi asam mukonat melalui pemutusan cincin aromatik. Diduga senyawa phenol dan catechol masih tetap toksik terhadap tanaman. Kenyataan ini jelas tampak dari hasil uji bioassay, bahwa residu herbisida 2,4-D Amine yang persisten tetap dapat dideteksi, meskipun pada perlakuan lama inkubasi sampai 12 minggu. Berdasarkan uji bioassay (Tabel 5) dengan

menggunakan tanaman mentimun, ternyata residu herbisida yang persisten dapat dideteksi pada semua perlakuan. Konsentrasi 2,4-D Amine yang persisten ternyata pengurangannya sejalan dengan semakin lamanya waktu inkubasi dan semakin meningkatnya dosis pupuk kandang. Penurunan konsentrasi herbisida yang persisten tersebut, terjadi setelah lama waktu inkubasi 8 minggu sampai 12 minggu, dan penurunannya nyata lebih banyak pada perlakuan pupuk kandang dengan dosis 20 - 30 ton ha⁻¹. Ini berarti bahwa kemampuan BPF mendegradasi herbisida ini semakin meningkat dengan semakin tingginya kandungan bahan organik di dalam tanah dari suplai pupuk kandang. Hal yang sama telah dilaporkan terjadi juga terhadap herbisida Atrazin dan Alaklor (Wangiyana *et al.*, 1998). Sehubungan dengan pembahasan di atas, kiranya perlu juga dikaji lebih lanjut diantara senyawa-senyawa metabolit 2,4-D Amine yang terbentuk akibat proses degradasi di dalam tanah, yang masih persisten dan toksik terhadap tanaman yang peka. Karena terbentuknya senyawa phenol, catechol, asam mukonat, dan asam suksinat, dengan pemecahan cincin aromatik, melalui proses reaksi enzimatik, diduga masih aktif dan toksik terhadap tanaman.

Pertumbuhan dan Aktivitas BPF pada Tanah yang Terkontaminasi 2,4-D Amine

Pertumbuhan dan perkembangan BPF pada tanah akibat terkontaminasi herbisida 2,4-D Amine, ditentukan berdasarkan jumlah populasi sel per gram tanah dan kemampuannya membentuk koloni setelah diisolasi kembali ke dalam media pikovskaya padat. Sedangkan aktivitasnya diukur berdasarkan kemampuannya menurunkan pH tanah dan melarutkan fosfat di dalam tanah. Berdasarkan hasil analisis varians, terjadi interaksi antara perlakuan lama waktu inkubasi dan dosis pupuk kandang sapi terhadap populasi bakteri per gram tanah.

Populasi BPF *Pseudomonas* sp. pada perlakuan lama waktu inkubasi 0 minggu, tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada perlakuan aplikasi dosis pupuk kandang dosis 20-30 ton ha⁻¹. BPF tersebut populasinya terus meningkat sejalan dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Kenaikan populasi yang banyak setelah lama inkubasi 4 minggu, kemudian semakin meningkat dengan semakin tingginya dosis aplikasi pupuk kandang. Penambahan dosis pupuk kandang sebanyak 20 – 30 ton ha⁻¹ tampak tidak nyata efeknya terhadap penambahan populasi BPF tersebut. Hal yang sama terjadi pula pada lama inkubasi setelah 8 - 12 minggu.

Kemampuan tumbuh dari BPF setelah diisolasi kembali dan ditumbuhkan secara *in-vitro* ternyata juga berbeda. Terjadi interaksi antara lama waktu inkubasi dengan dosis pupuk kandang terhadap kemampuan BPF membentuk koloni pada media padat pikovskaya. Pada Tabel 7 terlihat bahwa kemampuan BPF *Pseudomonas* sp. membentuk koloni semakin bertambah sejalan dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Penambahan jumlah koloni *Pseudomonas* sp. tersebut juga semakin meningkat dengan semakin tingginya dosis aplikasi pupuk kandang.

Tabel 6. Rata-rata populasi BPF per gram tanah (10⁶) pada tanah yang teresidu herbisida 2,4-D Amine pada setiap perlakuan inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama Waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0	0,44 a	0,72 ae	0,88 e	0,81 e ^{1/}
4	1,10 b	1,98 f	2,69 g	2,59 g
8	1,94 cd	2,98 hi	3,13 h	3,21 h
12	2,19 d	3,12 i	3,68 j	3,55 j
BNJ 0,05		0,320		

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05.

Dinamika populasi dan kemampuan membentuk koloni BPF pada media agar-agar padat, nyata terjadi setelah waktu inkubasi lebih dari 4 minggu kemudian diikuti pula dengan arah yang sama terhadap peningkatan pemberian dosis pupuk kandang. Kenyataan ini diduga berkaitan dengan ketersediaan bahan organik dan an-organik dalam tanah sebagai sumber nutrisi bagi kebutuhan BPF tersebut. Dalam kasus ini sumber bahan organik dan anorganik yang dimaksud adalah herbisida 2,4-D Amine dan pupuk kandang. Karena tanah yang digunakan dalam percobaan ini kadar bahan organiknya sangat rendah (yaitu hanya 2,58 %), maka tidak ada pilihan lain bagi bakteri sebagai sumber nutrisinya selain herbisida yang tersedia. Hal ini juga dilaporkan oleh Smith *et al.* (1994) mengenai kemampuan mikroba termasuk *Pseudomonas* sp. untuk memanfaatkan MCPA, 2,4-D dan herbisida lain dengan struktur dasar *phenoxyalkanoic acid*, dan bila herbisida ini sudah tidak tersedia lagi, maka mikroba akan hidup dari bahan organik lain di dalam tanah. Hasil penelitian lain juga melaporkan bahwa beberapa strain *Pseudomonas* sp. dapat menggunakan herbisida Atrazine (Yanze-Kontchou dan Gschwind, 1994) atau Glyphosate sebagai sumber C organik di dalam tanah (Moore *et al.*, 2003; Fitzgibbon dan Braymer, 1998).

Tabel 7. Rata-rata jumlah koloni BPF pada tanah yang teresidu 2,4-D Amine pada setiap perlakuan inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama Waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0	41,46 a	51,30 a	43,98 a	46,94 a ^{1/}
4	82,14 b	121,72 d	153,45 e	181,06 f
8	92,94 c	180,45 f	187,33 f	251,01 g
12	137,26 d	221,09 g	245,68 g	295,25 i
BNJ 0,05	9,340			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05

Tabel 8. Rata-rata pH tanah yang teresidu herbisida 2,4-D Amine yang telah diinokulasi BPF pada setiap lama inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0 minggu	6,680 b	6,710 ab	6,670 b	6,720 a ^{1/}
4 minggu	6,150 d	6,140 de	6,100 e	6,410 c
8 minggu	6,080 e	6,150 d	6,100 e	6,110 de
12 minggu	6,030 g	6,070 g	6,090 ef	6,110 ef
BNJ 0,05 =	0,040			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05

Selain memiliki kemampuan tumbuh dan berkembang lebih cepat, BPF *Pseudomonas* sp. juga memiliki aktivitas yang semakin tinggi, sejalan dengan semakin lamanya waktu inkubasi dan penambahan dosis pupuk kandang pada tanah. Hal ini terlihat dari hasil pengamatan beberapa parameter bahwa terjadi interaksi antara perlakuan lama waktu inkubasi dengan dosis pupuk kandang, terhadap pH tanah, kandungan P-tersedia tanah dan serapan P oleh tanaman saat tanaman berumur 50 hari setelah tanam (HST).

Pada Tabel 8 terlihat bahwa penurunan pH tanah secara nyata terjadi pada perlakuan lama waktu inkubasi sejak 4 - 12 minggu. Penurunan pH ini mencirikan adanya aktivitas bakteri yang intensitasnya semakin meningkat sejak diinkubasi 4 minggu. Menurut Subba Rao (1992), BPF mensekresi asam-asam organik yang dapat menurunkan pH tanah. Adanya penurunan pH juga dilaporkan oleh peneliti lain seperti Nahas (1996). Kemampuan BPF tersebut mengsekresikan asam-asam organik ke dalam tanah, juga dapat

meningkatkan kandungan P-tersedia tanah. Karena asam-asam organik tersebut dapat membentuk khelat organik dengan Ca⁺⁺ dan Mg⁺⁺ pada Vertisol, sehingga fosfat yang mulanya terfiksasi menjadi terlarut dan tersedia bagi tanaman (Gaur, 1990).

Berdasarkan hasil pengamatan P-tersedia tanah yang dilakukan pada akhir fase vegetatif tanaman (saat tanaman berumur 50 HST), ternyata kemampuan BPF *Pseudomonas* sp. melarutkan fosfat juga cukup tinggi, kemampuan tersebut semakin meningkat pada perlakuan penambahan pupuk kandang yang dosisnya semakin tinggi.

Pada Tabel 9, tampak pula bahwa peningkatan P-tersedia tanah terjadi pada perlakuan lama inkubasi 4 minggu, tetapi peningkatan yang tertinggi terjadi setelah lama waktu inkubasi 12 minggu. P-tersedia yang tertinggi dicapai pada perlakuan inokulasi dengan *Pseudomonas* sp. yang diinkubasi selama 12 minggu. Peningkatan P-tersedia pada perlakuan tersebut mencapai 15,16 ppm bila dibandingkan dengan perlakuan yang diinkubasi 0 minggu.

Tabel 9. Rata-rata P-tersedia tanah (ppm) pada akhir fase vegetatif tanaman, akibat diinokulasi BPF pada setiap perlakuan lama inkubasi dandosis pupuk kandang.

BNJ 0,05 =		0,210			
Lama waktu Inkubasi	Konsentrasi pupuk kandang (ton ha ⁻¹)				
	0	10	20	30	
0 minggu	4,500 m	8,690 k	11,000 j	13,110 i ^{1/}	
4 minggu	4,580 m	14,630 h	16,560 f	20,640 c	
8 minggu	5,350 l	15,710 g	19,010 d	22,420 b	
12 minggu	5,730 l	17,980 e	20,760 c	24,270 a	
BNJ 0,05 =		0,380			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05

Tabel 10. Rata-rata serapan P oleh tanaman (ppm) pada umur akhir fase vegetatif akibat teresidu herbisida 2,4-D Amine yang terdegradasi oleh BPF pada setiap perlakuan lama inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama waktu Inkubasi	Konsentrasi pupuk kandang (ton ha ⁻¹)				
	0	10	20	30	
0 minggu	0,750 j	0,940 i	0,870 ij	0,910 ij ^{1/}	
4 minggu	2,000 h	2,150 h	2,020 h	2,050 h	
8 minggu	4,120 g	5,130 f	5,690 d	6,810 b	
12 minggu	1,180 g	5,610 e	6,540 c	7,450 a	
BNJ 0,05 =		0,170			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05

Sehubungan dengan penambahan dosis pupuk kandang, ternyata semakin tinggi dosis yang diberikan kandungan P-tersedia tanah juga semakin bertambah. Peningkatan tersebut juga terjadi dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Peningkatan P-tersedia tanah pada perlakuan 30 ton ha⁻¹ bila dibandingkan dengan tanpa perlakuan pupuk kandang dengan masa inkubasi 12 minggu sebanyak 18,540 ppm. Sedangkan pada perlakuan lama inkubasi 0 minggu, peningkatan P-tersedia tanah untuk taraf perlakuan tersebut hanya 8,610 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin berkurangnya residu herbisida 2,4-D Amine pada perlakuan lama inkubasi tersebut, diduga sumber nutrisi bagi kehidupan dan aktivitas BPF diperoleh dari penguraian pupuk kandang dan disuplai dari eksudat akar tanaman. Menurut Fernandez *et al.* (1995), sumber nutrisi utama dari bakteri pelarut fosfat adalah bahan organik yang diperoleh dari eksudat akar karena itu sebagian besar populasi BPF di dalam tanah berada di sekitar rhizosfir tanaman. Akibatnya P terlarut akan semakin meningkat, sehingga serapan P oleh tanaman akan semakin meningkat pula. Kenyataan ini jelas tampak pada Tabel 10.

Berdasarkan data yang telah dibahas di atas, secara keseluruhan dapat dirangkum bahwa BPF *Pseudomonas* sp. ternyata kemampuannya juga cukup tinggi untuk mendegradasi herbisida 2,4-D Amine dan melarutkan fosfat alam di dalam tanah. Hal ini diduga berkaitan erat dengan asal dari jenis BPF tersebut. Habitat yang sesuai dari jenis BPF yang digunakan dalam percobaan ini menyebabkan kemampuannya beradaptasi dengan lingkungan baru baik fisik, kimia, dan biologi akan cukup tinggi. *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari rhizosfir bawang merah pada Intisol di Lombok Barat ternyata tetap adaptif pada lingkungan yang mirip dengan habitat aslinya. Hasil yang diperoleh ini sesuai dengan laporan Supadi (1991), bahwa BPF yang berasal dari rizosfir yang berbeda, kemampuannya akan berbeda dalam melarutkan fosfat bila diinokulasikan pada lingkungan tanah yang baru.

Selain itu, kemampuan yang unggul dari BPF *Pseudomonas* sp. untuk tumbuh dan mendegradasi herbisida 2,4-D Amine diduga erat kaitannya dengan banyaknya penggunaan herbisida tersebut untuk pengendalian gulma di wilayah tersebut. Hal ini tentu akan memberikan

kemampuan adaptasi yang lebih luas dari bakteri *Pseudomonas*. Sehubungan dengan hal ini beberapa peneliti juga melaporkan beberapa spesies *Pseudomonas* terbukti telah dapat menguraikan senyawa-senyawa beracun dan logam berat yang teresidu cukup lama dalam tanah. Misalnya strain *Pseudomonas putida* (7NSK-2), dapat memecah senyawa *trikloroetilamin* karena bakteri tersebut dapat mengsekresi *tuluendioksigenase* yang dapat mereduksi senyawa beracun tersebut (Wackett dan Gibson, 1998). Selanjutnya Ramos *et al.* (2001), melaporkan bahwa dari beberapa sampel tanah yang diisolasi tidak ada mikroorganisme yang resisten terhadap herbisida *Phosphinothricin* (PPT) dan mampu menggunakannya sebagai sumber karbon dan energi tunggal, kecuali strain *Pseudomonas putida* EEZ15 (pWWO-EB62).

Efek residu herbisida 2,4-D Amine terhadap Pertumbuhan Bawang Merah

Sejak awal pertumbuhan tanaman (saat berumur 10 hari) sampai akhir fase vegetatifnya (saat berumur 50 hari), tanaman menunjukkan gejala keracunan yang berbeda pada setiap

perlakuan. Tanaman mengalami keracunan mulai dari keracunan ringan pada perlakuan lama inkubasi 0 minggu, kemudian keracunan tersebut semakin berkurang sejalan dengan semakin lamanya waktu inkubasi, menjadi keracunan sangat ringan. Pada Tabel 11 terlihat bahwa, pada perlakuan lama inkubasi 4 minggu, tanaman mengalami keracunan cukup ringan sejak awal pertumbuhannya kemudian menjadi sangat ringan setelah umur tanaman 50 hari.

Perbedaan tingkat keracunan tanaman antara perlakuan yang diberi pupuk kandang dengan tanpa pemupukan, mulai terjadi pada perlakuan dosis 20 ton ha⁻¹. Kemudian keracunan tanaman semakin berkurang sejalan dengan semakin meningkatnya dosis pupuk kandang dan umur tanaman. Tampak pula bahwa pemberian dosis pupuk kandang di atas 20 ton ha⁻¹ pada perlakuan masa inkubasi lebih dari 4 minggu (8-12 minggu), tanaman tidak mengalami keracunan sama sekali, justru terjadi sebaliknya, yaitu pertumbuhan tanaman semakin terpacu, sehingga tanaman dapat menyelesaikan siklus hidupnya dengan sempurna. Hal ini terbukti dari hasil pengamatan terhadap berat kering (biomasa) tanaman pada akhir fase berbunga (Tabel 12).

Tabel 11. Tingkat keracunan tanaman bawang merah akibat residu herbisida 2,4-D Amine pada tanah yang terdegradasi jenis BPF pada setiap lama waktu inkubasi dan dosis pupuk kandang

Dosis Fosfat alam	Lama inkubasi (minggu)	Kategori keracunan pada umur				
		10hst	20hst	30hst	40hst	50hst
0 ton ha ⁻¹	0	(3)*/	(3)	(3)	(3)	(3)
	4	(2)	(2)	(2)	(1)	(1)
	8	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
	12	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
10 ton ha ⁻¹	0	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
	4	(2)	(2)	(2)	(1)	(1)
	8	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
	12	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
20 ton ha ⁻¹	0	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
	4	(2)	(2)	(2)	(1)	(1)
	8	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
	12	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
30 ton ha ⁻¹	0	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
	4	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
	8	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
	12	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)

*/ Keterangan mengenai tingkat keracunan untuk tiap kategori seperti pada Tabel 2.

Tabel 12. Rata-rata biomasa tanaman bawang merah (gram/rumpun) umur 50 hari setelah tanam akibat residu 2,4-D Amine yang terdegradasi oleh BPF pada setiap perlakuan lama inkubasi dan dosis pupuk kandang

Lama waktu Inkubasi	Dosis pupuk kandang (ton ha ⁻¹)			
	0	10	20	30
0 minggu	4,440 l	5,970 k	7,420 j	8,760 j ^{1/}
4 minggu	11,200 i	12,680 g	13,950 e	14,670 d
8 minggu	12,070 h	13,380 f	14,990 d	16,130 b
12 minggu	12,050 h	14,220 e	15,680 c	17,390 a
BNJ 0,05 =	0,410			

^{1/} = Angka dalam tabel yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ taraf nyata 0,05.

KESIMPULAN

1. Pada media biakan, BPF *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari tanah rhizosfir bawang merah tergolong tahan terhadap 2,4-D Amine sampai konsentrasi 2 ppm dengan laju penghambatan pertumbuhan 1,87%, dan bahkan pada kenaikan konsentrasi sampai 0,75 ppm, terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri.
2. Hasil pengamatan percobaan rumah kaca menunjukkan bahwa lama periode dekomposisi maupun dosis pupuk kandang berpengaruh nyata terhadap populasi maupun jumlah koloni BPF, pH tanah, tingkat serapan P dan berat kering tanaman bawang merah pada umur 50 hst, maupun residu 2,4-D Amine di dalam tanah, baik dari hasil deteksi dengan HPLC maupun bioassay.
3. Tingkat keracunan tanaman bawang merah juga berkurang dengan semakin lama waktu dekomposisi, dan pengurangan tingkat keracunan ini semakin tinggi dengan meningkatnya dosis pemberian pupuk kandang.
4. Untuk sebagian besar variabel pengamatan, terdapat interaksi yang nyata antar kedua faktor tersebut. Jadi semakin lama periode waktu dekomposisi dan semakin tinggi dosis pupuk kandang, maka kemampuan BPF *Pseudomonas* sp. semakin tinggi dalam mendegradasi 2,4-D Amine, menurunkan pH tanah maupun melarutkan fosfat di dalam tanah sehingga menjadi tersedia bagi tanaman bawang merah. Tingkat keracunan tanaman bawang merah juga semakin berkurang, terutama dengan semakin lamanya periode dekomposisi, yaitu berkisar dari tingkat ringan (31-40%) pada periode

dekomposisi 0 minggu dengan dosis pupuk kandang 0 ton ha⁻¹ sampai tanpa ada gejala keracunan pada periode dekomposisi 12 minggu dengan dosis pupuk kandang 30 ton ha⁻¹.

DAFTAR PUSTAKA

- Assaf, N.A and R.F. Turco. 1994. Influence of Carbon and Nitrogen Application on the Mineralization of Atrazine and its Metabolites in Soil. *Pestic. Sci.*, 41: 41 - 47.
- Burrill, L.C., J. Cardenas, and E. Locatelli, 1996. *Field Manual for Weed Control Research*. International Plant Protections Center. Oregon State University. Corvallis.
- Fernandez, M., C. Cadlia, A. Garate and R.M. Esteban. 1995. The Electro-Ultrafiltration Method for Controlling the Effect of *Bacillus cereus* on Phosphorus Mobilization in Calcareous Soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1: 97-102.
- Fitzgibbon, J. and H.D. Braymer, 1998. Phosphate starvation induces uptake of Glyphosate by *Pseudomonas* sp. strain PG2982. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54:1886-1888.
- Gaur, A.C., 1990. Phospho-Microorganism and Various Transformations. **In:** *Compost Technology Project Field Document No.13*, FAO.
- Kearney, P.C. dan D.D. Kaufman. 1995. *Herbicide Chemistry, Degradation and Mode of Action*. 2 nd. Marcel Dekker Inc., New York.
- Moore, J.K., H.D. Braymer and A.D. Larson, 2003. Isolation of a *Pseudomonas* sp. which utilizes the phosphate herbicide Glyphosate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46:316-320.

- Nahas, E., 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *World J. Microb. Biotech.*, 12: 567-572.
- Nasser, A.A and R.F. Turco, 1994. Influence of Carbon and Nitrogen Application on the Mineralization of Atrazine and its Metabolites in Soil. *Pestic. Sci.* 41: 141 - 147.
- Ngawit, 1999. Respons tanaman kedelai terhadap residu herbisida Atrazin akibat terdegradasi oleh jenis bakteri pelarut fosfat pada fertisol Lombok Selatan. Laporan Hasil penelitian Matching Grants P2SLPT, Ditjen Dikti.
- Ngawit, 2004. Uji kemampuan bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari vertisol Lombok Selatan mendegradasi herbisida Alaklor dan efek residunya terhadap kedelai. *Jurnal Penelitian, LEMLIT Universitas Mataram*, Edisi sains dan Teknologi, VII (6) 50-61.
- Ramos, J.L., E. Duque and M.I.R. Gonzalez. 2001. Survival in Soil of an Herbicide-Resistant *Pseudomonas putida* Strain Bearing a Recombinant TOL Plasmid. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 206-266.
- Rudiyanto, B., 2010. Untaian Teknologi Padi Gogoranchah. **Dalam:** Adisarwanto *et al.* (Eds). *Risalah Lokakarya Perbaikan Teknologi Tanaman Pangan*. Mataram, Lombok. Nusa Tenggara Barat.
- Smith, A.E., K. Mortensen, A.J. Aubin and M.M. Molloy, 1994. Degradation of MCPA, 2,4-D, and other phenoxyalkanoic acid herbicides using an isolated soil bacterium. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 401-405.
- Subba Rao, N.S. 1992. *Biofertilizer in Agricultural Microbiology*. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi.
- Supadi, T.H., 1991. Bakteri Pelarut Fosfat dari Beberapa Jenis Tanah dan Efeknya terhadap Pertumbuhan dan Hasil Jagung (*Zea mays* L.). **Desertasi**, Universitas Padjadjaran Bandung.
- Torstensson, N.T.L., 1997. Microbial decomposition of herbicides in soil. *Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology*, 6: 249-270.
- Torstensson, T., J. Stark and B. Goransson, 1999. The effect of repeated applications of 2,4-D and MCPA on their breakdown in soil. *Weed Res.*, 15: 159-164.
- Wackett, L.P. and T. Gibson. 1988. Degradation of Trichloroethylene by Toluenedioxygenase in Whole Cell Studies with *Pseudomonas putida* Fl. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1703 - 1708.
- Wangiyana, W., I.K. Ngawit, I.M. Sudarma and L. Irasakti, 1998. The ability of phosphate solubilizing bacteria isolated from southern Lombok vertisols to solubilize phosphates and to degrade some herbicides in soil. Unpublished Research Report, funded by the 3rd Science and Technology Research Grant of the Indonesia Toray Science Foundation, 1997/1998.
- Yanze-Kontchou, C. and N. Gschwind, 1994. Mineralization of the herbicide Atrazine as a carbon source by a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60:4297-4302.