

Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Insektisida Klorpirifos di Tanah Sayuran Kubis di Jawa Barat

Exploration of Chlorpyrifos Insecticide Degrading Bacteria in Cabbage Crop Land at West Java

Eman Sulaeman*¹, Asep Nugraha Ardiwinata¹, Mohamad Yani²

¹Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Jl. Raya Jakenan Km. 5. Kotak Pos 5. Pati 59182 Jawa Tengah

²Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Kampus IPB Darmaga, Jl. Lingkar Akademik, Bogor 16680 Jawa Barat

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat artikel:

Diterima: 06 April 2016
 Direview: 07 April 2016
 Disetujui: 04 November 2016

Katakunci:

Insektisida
 Klorpirifos
 Mikrob
 Kubis

Keywords:

Insecticide
Chlorpyrifos
Cabbage
Microorganisms

Abstrak: Klorpirifos merupakan salah satu jenis insektisida yang paling banyak digunakan oleh petani untuk mengendalikan berbagai jenis organisme pengganggu tumbuhan (OPT). Penggunaan insektisida yang terus menerus dan tidak sesuai dapat menyebabkan kerusakan lingkungan. Perbaikan kerusakan lahan yang tercemar insektisida dapat dilakukan secara bioremediasi dengan memanfaatkan aktifitas mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi bakteri perombak klorpirifos pada areal pertanian kubis. Penelitian dilakukan dengan cara mengambil contoh tanah di lahan tanaman kubis (*Brassica oleracea*) di Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang, Provinsi Jawa Barat. Contoh tanah (Andisol) diekstraksi dengan aquades, dan hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam media *Nutrient Broth* yang telah dicemari insektisida klorpirifos. Setelah itu, dilakukan uji daya tumbuh dan daya degradasi terhadap insektisida klorpirifos. Isolat murni kemudian diuji kemampuannya dalam mendegradasi insektisida klorpirifos, dan diidentifikasi secara molekular dengan 16S RNA. Dari penelitian ini ditemukan 30 isolat bakteri di dalam tanah Andisol. Enam isolat diperoleh dari sampel tanah di Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang. Sepuluh g tanah Andisol kemudian diekstrak dengan 90 ml air destilasi. Sepuluh ml hasil ekstrak ditumbuhkan dalam media *nutrient broth* (NB) yang telah dicemari dengan insektisida klorpirifos. pada lokasi penelitian ini. Enam jenis isolat mampu tumbuh dan mendegradasi insektisida klorpirifos yaitu C1NP, C3NP, P5NP, P6NP, L9NP dan L10NP. Dari 6 isolat bakteri tersebut diketahui 3 isolat yang memiliki efektivitas tertinggi dalam mendegradasi insektisida klorpirifos, yaitu P5NP (50,63%), L9NP (44,98%) dan C3NP1 (39,67%). Berdasarkan hasil identifikasi jenis bakteri secara molekular diketahui bahwa, isolat P5NP homolog (95,60%) terhadap *Bacillus cereus*, isolat L9NP homolog (92,70%) terhadap *Pseudomonas* sp, dan isolat C3NP1 homolog (99,80%) terhadap *Pseudomonas monteilii*.

Abstract. *Chlorpyrifos is the type of insecticide used by the farmer to control many kinds of plant pests. Continous use of this insecticide causes environmental damage and land degradation. Improving quality of land contaminated with this insecticide can be done with bioremediation by using microorganisms. The objective of this research was to explore chlorpyrifos degrading bacteria in cabbage farming areas. This research was started by taking soil samples in cabbage cropland at Cisarua, Pacet, and Lembang districts, West Java Province. Andisol soil sample were extracted with distilled water and the extractant was spread in Nutrient Agar (NA) medium containing chlorpyrifos, and then, the grown isolates were purified. The purified isolates were tested for their ability to degrade chlorpyrifos insecticide, and then identified by 16S rRNA molecular identification. This research found 30 bacterial isolates in the Andisols of this area. Six isolates were obtained from soil samples from Cisarua, Pacet, and Lembang Districts. Ten gram Andisol soil samples were extracted with 90 mL of distilled water. Then, 10 mL of extraction were grown in nutrient broth (NB) media that has been contaminated by insecticide chlorpyrifos. After that, the test the ability to grow and ability to degradation of the insecticide chlorpyrifos. Six isolates were able to grow and degrade the insecticide chlorpyrifos, C1NP, C3NP, P5NP, P6NP, L9NP, and L10NP. From the six, three isolates had the highest effectiveness in degrading chlorpyrifos, an they were C3NP1 (39.67%), P5NP (50.63%), and L9NP (44.98%). Based on the results of molecular identification of bacteria, isolate P5NP homolog (95.60%) to *Bacillus cereus*, L9NP homolog (92.70%) to *Pseudomonas* sp, and C3NP1 homolog (99.80%) to *Pseudomonas monteilii**

Pendahuluan

Pestisida didefinisikan sebagai zat atau senyawa kimia, zat pengatur tubuh atau perangsang tumbuh, bahan lain,

serta mikroorganisme atau virus yang digunakan untuk perlindungan tanaman dan merupakan zat atau campuran zat yang digunakan untuk mencegah, memusnahkan, menolak, atau memusuhi hama dalam bentuk hewan, tanaman, dan mikroorganisme pengganggu (PP-RI No.6

*Corresponding author: sulaeman_23@yahoo.co.id

tahun 1995). Pestisida sudah merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari budidaya pertanian, sehingga penggunaan pestisida semakin meningkat. Jumlah pestisida yang beredar di Indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat. Tahun 2006-2016 jumlah formulasi pestisida yang terdaftar sebanyak 1336-3207 pestisida, dengan demikian formulasi yang beredar terjadi peningkatan sebesar 58,34% (PPI 2006 dan Direktorat Pupuk dan Pestisida 2016). Informasi mengenai jumlah penggunaan bahan aktif (b.a) pestisida di Indonesia sulit didapatkan, namun menurut FAOSTAT (2014) data penggunaan b.a pestisida di Indonesia hanya pada tahun 1990, 1991, 1992 dan 1993 yaitu masing - masing sebanyak 445 ton, 757 ton, 306 ton dan 929 ton.

Klorpirifos didefinisikan sebagai senyawa yang cukup beracun, memiliki LD₅₀ oral; 135-163 mg/kg untuk tikus dan 500 mg/kg untuk marmot. Klorpirifos adalah insektisida golongan organofosfat yang bersifat non sistemik (WHO 2001) yang bekerja ketika terjadi kontak dengan kulit, termakan (masuk ke lambung), dan terhirup (masuk ke sistem pernafasan). Penerapan klorpirifos pada bibit dan tumbuhan dilakukan dengan penyemprotan langsung atau tidak langsung. Penggunaan utama klorpirifos adalah mengontrol lalat, nyamuk (dalam bentuk larva dan dewasa), berbagai jenis hama pertanian, hama rumah tangga (*Blattellidae*, *Muscidae*, *Isoptera*), dan larva dalam air (WHO 2001).

Toksitas klorpirifos terhadap mamalia secara oral (termakan) akan ber-efek akut terhadap tikus dengan LD₅₀= 135-163 mg/kg, terhadap *guinea pigs* dengan LD₅₀= 504 mg/kg dan terhadap kelinci dengan LD₅₀ = 1000 – 2000 mg/kg. Kontak pada kulit dan mata akan ber-efek akut terhadap tikus dengan LD₅₀ > 2000 mg/kg dan terhadap kelinci dengan LD₅₀= 2000 mg/kg. Jika terinhalasi akan ber-efek akut terhadap tikus dengan LD₅₀ (4 – 6 jam) > 0,2 mg/L teratogenik terhadap tikus dengan konsentrasi paparan 0,03 mg/kg/hari dan terhadap anjing 0,01 mg/kg/hari. (Exttoxnet 1996).

Kubis merupakan sayuran daun utama di dataran tinggi bahkan merupakan salah satu sayuran prioritas di Indonesia (Adiyoga dan Ameriana 2008). Dalam pemanfaatannya, kubis dapat dikonsumsi dalam bentuk segar maupun dalam bentuk olahan (Permentan No.88 Tahun 2011). Kandungan residu insektisida endosulfan dan klorpirifos ditemukan pada tanaman di daerah Malang dan Cianjur (dalam bentuk segar) mengandung konsentrasi insektisida tertinggi 10,6 ppb (Miskiyah *et al.* 2009)

Penggunaan insektisida klorpirifos yang berlebihan dapat meningkatkan residu klorpirifos di dalam tanah, karena bahan mineral dan organik tanah dapat menyerap insektisida tersebut. Sulaeman *et al.* (2009) menyebutkan tanah Andisol Cipanas Jawa Barat mampu menyerap insektisida klorpirifos sebesar 88,3%. Penggunaan

insektisida klorpirifos di pertanaman sayuran masih banyak digunakan, hal ini terbukti dengan masih ditemukannya residu insektisida klorpirifos pada tanah, air, dan tanaman (Ardiwinata 2008) dan Insektisida klorpirifos masih ditemukan di tanah pada petanaman padi di Jawa Barat (Ardiwinata *et al.*1999). Lahan tercemar insektisida juga sangat berkontribusi terhadap kandungan residu insektisida dalam produk pertanian, untuk itu perlu dilakukan tindakan pencegahan melalui perbaikan lahan tercemar. Perbaikan lahan tercemar insektisida dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain penggunaan arang aktif dan bioremediasi. Penggunaan arang aktif bertujuan untuk *immobile* klorpirifos dalam tanah, sehingga tidak mencemari lingkungan di sekitarnya. Menurut Harsanti *et al.* (2009) bahwa penggunaan arang aktif yang bersumber dari tongkol jagung dan tempurung kelapa di tanah pertanaman padi dapat meningkatkan populasi mikroorganisme (*Bacillus* sp) di dalam tanah oxisol. Arang aktif tempurung kelapa dapat meningkatkan daya jerap tanah dan menurunkan residu insektisida klorpirifos di area pertanaman kubis dan padi (97,62%) (Wahyuni *et al.* 2012 dan Wahyuni *et al.* 2013). Perbaikan lahan secara bioremediasi dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme yang mampu mendegradasi insektisida klorpirifos. Bioremediasi bisa langsung dilakukan di lahan tercemar dengan menggunakan inokulan yang mampu mendegradasi kontaminan organik (Vidali 2001). Hasil penelitian Bhagobaty dan Malik (2008) menyebutkan, bakteri *Pseudomonas* sp dapat tumbuh pada media kultur yang diberi insektisida klorpirifos dengan konsentrasi 25-300 mg/L. Konsentrasi insektisida klorpirifos sebesar 100-200 mg/L merupakan konsentrasi optimum, akan tetapi pada konsentrasi lebih dari 200 mg/L, pertumbuhan menurun drastis. Hasil penelitian Kumar (2011) *Pseudomonas* sp efektif menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos sebesar 62% selama 30 hari, dalam media tanah yang telah dicemari insektisida klorpirifos sebesar 20 ppm. dan Rokade dan Mali (2013) menyebutkan *Pseudomonas desmoliticum* mampu menurunkan konsentrasi klorpirifos sebesar 98% selama 6 hari pada medium mineral.

Tujuan penelitian ini untuk mengeksplorasi mikroba yang mampu mendegradasi insektisida klorpirifos di tanah pertanaman kubis di Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang.

Bahan dan Metode

Waktu pelaksanaan penelitian dimulai bulan September 2014 hingga Oktober 2015. Identifikasi, isolasi dan purifikasi dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi

dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. Seleksi pertumbuhan dan kemampuan degradasi bakteri dalam menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos dilakukan di Laboratorium Residu Bahan Agrokimia, Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Bogor.

Contoh tanah Andisol diambil dari tiga Kecamatan di Jawa Barat, yaitu Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang (Tabel 1), masing-masing Kecamatan diambil dua desa dan setiap lokasi ditentukan sebanyak 3 titik sampling. Pengambilan contoh tanah dilakukan di area tanaman kubis dengan menggunakan sekop tanah pada lapisan 0-20 cm. Pada setiap titik sampling diambil contoh tanah sebanyak ± 500 g disekitar perakaran tanaman.

Tanah hasil sampling dari tiap-tiap titik tersebut kemudian dikompositkan dan diambil sebanyak 1 kg yang kemudian ditempatkan dalam kantung plastik. Masing-

telah disaring 90 mesh dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 250 mL yang berisi 90 mL aquades steril, larutan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3 jam dalam *rotary shaker* dengan kecepatan sekitar 150 rpm. Setelah proses inkubasi, larutan dibiarkan beberapa saat terjadi pengendapan. Setelah terjadi pengendapan, suspensi diambil sebanyak 50 μ l lalu dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi media NB sebanyak 90 mL. Media NB sebelumnya telah dicemari dengan insektisida klorpirifos dengan konsentrasi 10 μ g/L. Media diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari dalam *rotary shaker* dengan kecepatan sekitar 150 rpm. Setelah isolat tumbuh, kemudian dilakukan pemurnian dalam media *Nutrien Agar* (NA). Pemurnian isolat dilakukan dengan menggunakan metode *streak plate* pada media NA lalu diinkubasi selama ± 72 jam. Setelah tumbuh, koloni tersebut dikulturkan

Tabel 1 Lokasi pengambilan contoh tanah

Table 1. Sampling sites

No	Lokasi	Kode	Titik koordinat	
1	Cidokom 5, Desa Kopo, Cisarua	C1.1	S 06°40'08,7"	E 106°54'37,5"
2	Cidokom 5, Desa Kopo, Cisarua	C1.2	S 06°40'08,7"	E 106°54'37,5"
3	Cidokom 5, Desa Kopo, Cisarua	C1.3	S 06°40'08,7"	E 106°54'37,5"
4	Citeko, Desa Citeko, Cisarua	C3.1	S 06°41'28,6"	E 106°55'43,0"
5	Citeko, Desa Citeko, Cisarua	C3.2	S 06°41'28,6"	E 106°55'43,0"
6	Citeko, Desa Citeko, Cisarua	C3.3	S 06°41'28,6"	E 106°55'43,0"
7	Desa Ciloto, Pacet	P5.1	S 06°42'49,0"	E 107°00'10,9"
8	Desa Ciloto, Pacet	P5.2	S 06°42'49,0"	E 107°00'10,9"
9	Desa Ciloto, Pacet	P5.3	S 06°42'49,0"	E 107°00'10,9"
10	Golendang, Desa Sukatani, Pacet	P6.1	S 06°44'19,1"	E 107°01'44,0"
11	Golendang, Desa Sukatani, Pacet	P6.2	S 06°44'19,1"	E 107°01'44,0"
12	Golendang, Desa Sukatani, Pacet	P6.3	S 06°44'19,1"	E 107°01'44,0"
13	Desa Cibodas, Lembang	L9.1	S 06°48'49,0"	E 107°41'33,0"
14	Desa Cibodas, Lembang	L9.2	S 06°48'49,0"	E 107°41'33,0"
15	Desa Cibodas, Lembang	L9.3	S 06°48'49,0"	E 107°41'33,0"
16	Desa Sunten Jaya, Lembang	L10.1	S 06°49'09,0"	E 107°41'35,0"
17	Desa Sunten Jaya, Lembang	L10.2	S 06°49'09,0"	E 107°41'35,0"
18	Desa Sunten Jaya, Lembang	L10.3	S 06°49'09,0"	E 107°41'35,0"

masing contoh tanah dilakukan analisis pendahuluan residu insektisida organofosfat (Diazinon, Fenitrothion, Metidation, Malation, Klorpirifos, Paration dan Profenofos) dan mikrobiologi tanah (*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Enterobacter* sp, *Azotobacter* sp, dan *Azospirillum* sp) dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Pendegradasi Klorpirifos

Isolasi bakteri pendegradasi klorpirifos dilakukan dengan cara membiakkan bakteri tanah tersebut ke dalam media *Nutrient Broth* (NB). Sebanyak 10 g tanah yang

kembali di media NA hingga diperoleh kultur mikrob yang murni (Laili dan Hartati 2011).

Efektivitas Bakteri dalam Mendegradasi Klorpirifos

Bakteri hasil isolasi kemudian diuji efektivitasnya dalam menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos. Metode uji dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri hasil isolasi dalam media NB. Setelah tumbuh, isolat diambil sebanyak 50 μ L dan dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang telah berisi media NB sebanyak 90 mL, media tersebut sebelumnya telah dicemari insektisida klorpirifos dengan konsentrasi 10 mg/L. Media kemudian

diinkubasi selama ± 72 jam (Laili dan Hartati 2011).

Identifikasi Insektisida Klorpirifos

Sebanyak 50 mL media hasil uji diekstrak di dalam corong pisah 300 mL, tambahkan n-Heksan sebanyak 50 mL, lalu dikocok selama 1-2 menit. Setelah dikocok, diamkan selama kira-kira 2 menit sampai terjadi pemisahan. Ambil bagian atas dan tampung dalam labu bundar, hasil tampungan kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai volume sekitar 1 mL. Bilas labu bundar dengan aseton sebanyak 10 mL, lalu tampung dalam tabung uji 10 mL (larutan siap injek). Pengukuran konsentrasi insektisida klorpirifos dilakukan dengan menyuntikkan 2 μ L larutan siap injek ke alat kromatografi gas cairan (KGC). Konsentrasi residu klorpirifos dihitung dengan cara mengukur area kromatogram kemudian dimasukkan dalam persamaan (Komisi Pestisida, 1997).

Konsentrasi Residu Klorpirifos :

$$R = \frac{Ac}{AS} \times Ks \times \frac{Fc}{Bc}$$

Keterangan :

- R = Residu klorpirifos (mg/kg)
- Ac = Area Contoh
- As = Area Standar
- Ks = Konsentrasi Standar (μ g/g)
- Vc = Volume Contoh (mL)
- Fc = Faktor Pengenceran (mL)

Identifikasi Bakteri Secara Molekuler

Identifikasi bakteri diawali dengan mengkulturkan bakteri pada media NB sebanyak 10 mL selama 3 hari. Isolasi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) genom bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS). Pemisahkan kultur yang telah ditumbuhkan dari larutan dengan cara disentrifusi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Pellet dicuci dengan menggunakan *buffer Tris-HCl Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA)-TE sebanyak 1 mL sampai membentuk suspensi kemudian disentrifusi kembali. Supernatan dibuang dan pellet ditambah 200 μ L *buffer TE* dan ditambahkan *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10% sebanyak 40 μ L dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 65°C selama 90 menit. Suspensi didinginkan pada suhu ruang kemudian ditambahkan *proteinase-K* sebanyak 10 mg/mL. Suspensi DNA disimpan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 4 jam, kemudian ditambahkan fenol dan kloroform sebanyak 120 μ L sampai terbentuk emulsi. Larutan DNA dihomogenkan dengan cara membolak

balikan tabung *eppendorf* 2 mL yang berisi DNA, kemudian disentrifusi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Suspensi yang mengandung DNA dipipet dan dipindahkan ke dalam tabung *eppendorf* 2 mL yang baru dan dipresipitasi dengan menggunakan etanol 100 μ L. Pellet DNA hasil presipitasi ditambah dengan 40 μ L aqua bides steril dan dijadikan sebagai stok DNA.

Pengecekan DNA total dilakukan melalui elektroforesis *gel agarose*. Gel yang digunakan adalah 0,8 g *agarose* dilarutkan dalam 100 mL *Tris Acetic NaEDTA* (TAE) 0,5 kali. Elektroforesis dilakukan diawali mengisi tangki elektroforesis dengan *buffer TAE* 0,5 kali. *Gel agarose* yang sudah dicetak diamsukan ke dalam tangki yang berisi *buffer TAE* sampai *gel agarose* terendam. DNA total yang digunakan sebanyak 2 μ L dicampurkan dengan 3 μ L *loading buffer*. Campuran DNA dengan *loading buffer* dimasukkan ke dalam sumur *gel agarose* dan dielektroforesis. Gel hasil elektroforesis diwarnai dengan cara direndam dalam larutan *Etidium bromide* (EtBr) selama 10 menit dan dibilas dengan menggunakan aquades selama 5 menit. *Gel agarose* didokumentasikan dengan menggunakan kamera digital pada penyinaran ultra violet (UV) *transiluminator*.

Proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) diawali dengan membuat komposisi PCR dengan volume total sebanyak 75 μ L yang terdiri dari, 7,5 μ L *buffer PCR*; 2,25 μ L mM *deoksinukleosida trifosfat* (dNTP); 1,5 μ L 10 mM $MgSO_4$; 10 μ L primer 165F; 10 μ L primer 165R; 1 μ L *template DNA*; 1 μ L *taq DNA polymerase* dan 60,25 μ L aquabides steril. Tahapan PCR dilakukan sebanyak 3 siklus yang terdiri dari (1) pra denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, (2) annealing pada suhu 50°C selama 30 detik, (3) polimerisasi (*extention*) pada suhu 70°C selama 2 menit, (4) siklus akhir polimerisasi (*post extention*) selama 7 menit, dan (5) pendinginan pada suhu 4°C. Hasil PCR divisualisasi dengan menggunakan gel agarose 1% yang dielektroforesis dalam larutan 0,5 *buffer TAE* (Laemmli 1970). Produk PCR dilakukan analisis sekuensing dengan menggunakan alat *DNA Sequencer*. Sekuensing DNA *template* menggunakan metode kit sekuensing. Hasil sekuensing dibandingkan dengan data dari *Gene Bank National Center for Biotechnology Information* (NCBI) melalui tahapan *Basis Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada situs <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Hasil dan Pembahasan

Penggunaan Insektisida Klorpirifos di Lokasi Pengambilan Contoh Tanah

Berdasarkan pengamatan dan wawancara dengan petani, diperoleh informasi bahwa sebanyak delapan jenis

insektisida digunakan pada lokasi penelitian. Di dua lokasi Kecamatan Cisarua yaitu Cidokom 5 Desa Kopo dan Citeko Desa Citeko digunakan sebanyak 5-6 jenis insektisida. Di Kecamatan Pacet di dua lokasi menggunakan sebanyak 5-6 jenis insektisida. Penggunaan jenis insektisida di Kecamatan Lembang. Desa Cibodas sebanyak 4-5 jenis insektisida, sedangkan di desa Sunten Jaya hanya menggunakan 3-4 jenis insektisida (Tabel 2).

Dari keempat lokasi tersebut, insektisida klorpirifos selalu digunakan oleh petani dalam mengendalikan hama pada tanaman sayuran kubis. Alasan penggunaan klorpirifos dalam pengendalian hama dan penyakit antara lain, insektisida tersebut mudah dan praktis dalam hal penggunaan, selain itu insektisida klorpirifos mempunyai spektrum yang luas, sehingga dalam satu kali penggunaan dapat membunuh beberapa jenis hama tanaman sekaligus. Insektisida klorpirifos juga dianggap sangat efektif dalam mengatasi masalah hama tanaman, mencegah munculnya hama, mengurangi populasi hama, menyelamatkan hasil panen, dan menjaga kualitas hasil panen.

Penggunaan insektisida klorpirifos selain dapat mengendalikan hama pada tanama sayuran tapi juga dapat

meninggalkan residu pada sayuran tersebut. Hasil penelitian (Miskiyah dan Munarso 2009) menyebutkan pada buah cabai yang diperoleh dari Bandungan Jawa Tengah menunjukkan adanya klorpirifos dengan konsentrasi 0,0052 ppm, sedangkan sampel yang diperoleh dari Cianjur Jawa Barat mengandung klorpirifos dengan konsentrasi 0,0059 ppm. Penggunaan insektisida yang tidak tepat juga mengakibatkan resistensi dan resurgensi hama dan mematikan serangga predator. Insektisida sipermetrin + klorpirifos 500/20 EC paling membahayakan predator *M. Sexmaculatus* dengan nilai LC₅₀ sebesar 134,8 ppm (Setiawati *et al.* 2007).

Residu Insektisida pada Contoh Tanah

Hasil analisis pada tanah Cisarua, Pacet dan Lembang masih ditemukan sebanyak tujuh jenis insektisida dari golongan organofosfat, dari ketujuh insektisida tersebut, fenitrothion, metidation, malation dan paration cenderung ditemukan disemua lokasi sampling (Tabel 3), sedangkan berdasarkan hasil survai dan wawancara dengan para petani, keempat insektisida tersebut tidak digunakan dalam

Tabel 2. Jenis insektisida yang digunakan di Kecamatan Cisarua (C), Pacet (P) dan Lembang (L)

Table 2. Types of insecticides used in Cisarua (C), Pacet (P) and Lembang (L) Subdistricts

Kode Lokasi					
C1.1	C3.1	P5.1	P6.1	L9.1	L10.1
Deltametrin	Diazinon	Alfamestrin	Deltametrin	Diazinon	Betasiflutrin
Diazinon	Deltametrin	Deltametrin	Imidakloprid	Deltametrin	Profenofos
Klorfenapir	Imidakloprid	Diazinon	Kabofuran	Imidakloprid	Klorpirifos
Profenofos	Kabofuran	Imidakloprid	Klorpirifos	Klorpirifos	
Klorpirifos	Klorpirifos	Klorpirifos	Profenofos	Profenofos	
Tiodikarbamat	Profenofos	Profenofos			
C1.2	C3.2	P5.2	P6.2	L9.2	L10.2
Deltametrin	Diazinon	Deltametrin	Imidakloprid	Alfamestrin	Diazinon
Diazinon	Imidakloprid	Diazinon	Kabofuran	Deltametrin	Profenofos
Profenofos	Kabofuran	Imidakloprid	Klorpirifos	Imidakloprid	Kabofuran
Klorpirifos	Klorpirifos	Klorpirifos	Profenofos	Klorpirifos	Klorpirifos
Tiodikarbamat	Profenofos	Profenofos	Tiodikarbamat	Profenofos	
C1.3	C3.3	P5.3	P6.3	L9.3	L10.3
Alfamestrin	Diazinon	Deltametrin	Alfamestrin	Alfamestrin	Betasiflutrin
Diazinon	Deltametrin	Diazinon	Deltametrin	Deltametrin	Diazinon
Imidakloprid	Kabofuran	Kabofuran	Kabofuran	Klorpirifos	Profenofos
Klorpirifos	Klorpirifos	Imidakloprid	Klorpirifos	Profenofos	Klorpirifos
Tiodikarbamat	Tiodikarbamat	Klorpirifos	Profenofos		
		Profenofos			

Keterangan : C1 = Cidokom 5, Desa Kopo, Kec. Cisarua; C3 = Desa Citeko, Kec. Cisarua; P5 = Desa Ciloto, Kec. Pacet; P6 = Golendang Kec. Sukatani Pacet; L9 = Desa Cibodas, Kec. Lembang; L10 = Desa Sunten Jaya, Kec. Lembang; C1.1.....n, C3.1.....n, P5.1.....n, P6.1.....n, L9.1.....n dan L10.1.....n adalah replikasi/ulangan contoh.

Tabel 3. Konsentrasi beberapa insektisida pada contoh tanah
 Table 3. Concentrations of several insecticides in soil samples

Insektisida organofosfat	Konsentrasi, (Standar Deviasi) dan < limit deteksi						Sifat fisik dan kimia**		
	C1	C3	P5	P6	L9	L10	Kelarutan mg/L	LD ₅₀ mg/kg	waktu paruh hari
	mg/kg*								
Diazinon	0,0329 (± 0.002)	0,0884 (± 0.016)	0,0650 (± 0.011)	0,0262 (± 0.005)	< 0,0180 -	< 0,0180 -	60	80-300	11-21
Fenitrothion	1,0509 (± 0.007)	0,2441 (± 0.015)	0,3927 (± 0.025)	0,2962 (± 0.019)	0,1091 (± 0.020)	0,5362 (± 0.012)	21	1700	12-28
Metidation	0,0390 (± 0.014)	0,1166 (± 0.019)	0,0911 (± 0.025)	0,0819 (± 0.006)	< 0,0175 -	< 0,0175 -	200	25-54	3-18
Malation	0,0082 (± 0.027)	0,0141 (± 0.035)	0,0114 (± 0.012)	0,0370 (± 0.015)	< 0,0085 -	0,0615 (± 0.009)	145	1375-3320	5-20
Klorpirifos	0,1028 (± 0.014)	0,0095 ± 0.004	0,0274 (± 0.011)	0,0146 (± 0.026)	< 0,0175 -	< 0,0175 -	1.4	135-165	10-120
Paration	0,0407 (± 0.028)	< 0,0100 -	< 0,0100 -	< 0,0100 -	0,0523 (± 0.018)	< 0,0100 -	11	2-10	30-180
Profenofos	0,0316 (± 0.014)	0,0370 (± 0.019)	0,0315 (± 0.012)	0,0169 (± 0.020)	< 0,0150 -	< 0,0150 -	25	358	5-93

Keterangan : LD = *Lethal Dose*; C1 = Cidokom 5, Desa Kopo, Kecamatan Cisarua; C3 = Desa Citeko, Kecamatan Cisarua; P5 = Desa Ciloto, Kecamatan Pacet; P6 = Golendang, Kecamatan Sukatani, Pacet; L9 = Desa Cibodas, Kecamatan Lembang; L10 = Desa Sunten Jaya, Kecamatan Lembang. *rata-rata dari triplo, **sumber extoxnet (1996)

mengendalikan hama kubis. Tidak ditemukannya penggunaan insektisida dapat disebabkan tidak adanya pendataan atau pencatatan penggunaan pestisida di lapangan, sehingga dimungkinkan keempat insektisida tersebut digunakan namun tidak tercatat oleh petani atau bisa saja akibat dari penggunaan jenis insektisida tersebut dari sistem budidaya tanaman sebelumnya.

Insektisida fenitrothion mempunyai konsentrasi yang paling tinggi dibandingkan jenis insektisida lainnya. Hal ini dapat disebabkan tingkat penggunaan oleh para petani cukup tinggi dan kelarutan insektisida tersebut dalam tanah sebesar 21 mg/kg sehingga lebih tahan di dalam tanah, akan tetapi insektisida fenitrothion mempunyai nilai LD50 sebesar 1700 mg/kg, sehingga tingkat bahaya terhadap lingkungan relatif lebih kecil. Insektisida klorpirifos ditemukan di empat lokasi sampling dengan tingkat konsentrasi sebesar 0,0095-0,1028 mg/kg. Insektisida klorpirifos mempunyai tingkat kelarutan yang rendah yaitu sebesar 1.4 mg/kg sehingga sangat berbahaya bagi lingkungan.

Masih ditemukannya residu klorpirifos dalam tanah Cisarua, Pacet dan Lembang dapat disebabkan oleh pemakaian insektisida yang terus menerus dalam sistem budidaya tanaman sayuran sehingga pestisida tersebut akan terakumulasi, dan dapat juga disebabkan oleh pemakaian yang tidak sesuai dengan aturan, baik aturan dosis maupun intensitas penggunaannya dalam

mengendalikan hama tanaman. Insektisida golongan organofosfat mempunyai kelarutan yang rendah didalam tanah, Kelarutan insektisida klorpirifos dalam air sebesar 1,4 mg/L sehingga relatif lebih tahan. Kandungan bahan organik juga mempengaruhi tingkat residu insektisida dalam tanah. Tanah Cisarua, Pacet dan Lembang merupakan jenis tanah Andisol yang mempunyai kandungan bahan organik dan liat yang cukup tinggi sehingga dengan sifat tersebut mampu menyerap insektisida yang diaplikasikan dan jatuh ke tanah.

Populasi Mikrob pada Tanah

Hasil analisis mikrob pada contoh tanah menunjukkan bahwa, semua contoh tanah mengandung bakteri *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Entorbacter* sp, *Citobacter* sp, *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp. Contoh tanah yang diambil di dua lokasi Kecamatan Cisarua yaitu desa Cidokom dan desa Citeko diperoleh kandungan bakteri dengan tingkat populasi sebesar 6,28-10,40 log cfu/g. Konsentrasi mikrob pada tanah Kecamatan Pacet di desa Ciloto dan Golendang sebesar 6,90-10,40 log cfu/g sedangkan tanah di Kecamatan Lembang desa Cibodas dan Sunten jaya populasi mikrob sebesar 5,90-10,57 log cfu/g (Tabel 4).

Populasi mikrob di semua lokasi masih tinggi, hal ini dapat disebabkan oleh tingkat kesuburan tanah masih

Tabel 4. Populasi mikrob pada contoh tanah

Table 4. Microbial populations in soil samples

Kode contoh	Populasi mikrob					
	<i>Bacillus</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Enterobacter</i> sp	<i>Citrobacter</i> sp	<i>Azotobacter</i> sp	<i>Azospirillum</i> sp
	Log CFU/g					
C1	6,28	8,40	10,40	10,40	8,18	8,40
C3	9,26	8,18	9,28	9,41	8,40	9,40
P5	8,38	9,18	9,00	9,18	10,18	10,40
P6	6,90	8,56	7,57	8,95	9,99	10,30
L9	5,90	9,56	7,57	8,95	7,99	8,30
L10	8,90	8,56	10,57	7,95	8,99	9,30

Keterangan : C1 = Cidokom 5, Desa Kopo, Kecamatan Cisarua; C3 = Desa Citeko, Kecamatan Cisarua; P5 = Desa Ciloto, Kecamatan Pacet; P6 = Golendang, Kecamatan Sukatani, Pacet; L9 = Desa Cibodas, Kecamatan Lembang; L10 = Desa Sunten Jaya, Kecamatan Lembang.

tinggi, selain itu pemberian pupuk organik pada budidaya tanaman kubis cukup tinggi yaitu sebanyak 4-8 ton/ha sehingga mikrob dapat berkembang dengan baik. Selain itu penggunaan insektisida yang terus menerus dalam sistem budidaya sayuran di tiga Kecamatan tersebut dapat menyebabkan resistensi mikrob terhadap insektisida semakin tinggi.

Lahan pertanian di daerah Lembang yang telah tercemar insektisida organofosfat ditemukan bakteri-bakteri bergenus *Bacillus* yang dapat mendegradasi insektisida organofosfat. *Bacillus alvei* adalah spesies bakteri yang memiliki resistensi terhadap insektisida organofosfat, khususnya klorpirifos. Beberapa jenis insektisida dari golongan organofosfat seperti diazinon, klorpirifos, etion, paration, fonofos, gusation dan malation rentan terhadap hidrolisis oleh mikrob *Flavobacterium*, *Pseudomonas* sp, dan *Arthrobacter*, karena insektisida tersebut menjadi sumber karbon bagi pertumbuhannya (Digrak *et al.* 1995).

Isolasi dan Uji Bakteri Pendegradasi Klorpirifos

Hasil isolasi mikrob yang ditumbuhkan dalam media NB yang telah diperkaya bahan aktif klorpirifos, pada tanah di Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang diperoleh sebanyak enam isolat, dari keenam isolat yang diperoleh kemudian uji kemampuannya dalam menurunkan insektisida klorpirifos. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolate yang diperoleh dari tanah Kecamatan Cisarua dengan kode isolat C1NP dan C3NP masing-masing mampu menurunkan konsentrasi klorpirifos sebesar 17,70% dan 39,67%. Pada tanah yang diambil di Kecamatan Pacet dengan kode isolat P5NP dan P6NP mampu menurunkan sebesar 39,67% dan 50,63%, sedangkan pada tanah yang diambil di Kecamatan Lembang dengan kode isolat L9NP dan L10NP

menurunkan sebesar 44,98% dan 8,66% (Tabel 5).

Isolat yang diperoleh dari tanah di semua lokasi sampling mampu menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos. Kemampuan isolat dalam mendegradasi insektisida klorpirifos dapat disebabkan isolat tersebut mampu beradaptasi di media yang tercemar oleh insektisida dan memanfaatkan insektisida tersebut sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Penurunan konsentrasi klorpirifos pada tanah dapat terjadi akibat adanya adsorpsi oleh bahan organik maupun mineral tanah dan degradasi oleh bakteri. Sulaeman *et al.* (2009) menyebutkan tanah andisol Cipanas Jawa barat mampu menjerap insektisida klorpirifos sebesar 88,3%. Rokade dan Mali (2013) menyebutkan *Pseudomonas desmolticum* mampu menurunkan konsentrasi klorpirifos sebesar 98% selama 6 hari pada medium mineral.

Tabel 5. Jenis isolat yang dapat menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos

Table 5. Isolates that may decrease the concentration of chlorpyrifos insecticide

Kode contoh	Kode isolat	Penurunan klorpirifos
		%
C1	C1NP	17,70± 0,14
C3	C3NP	39,67± 0,02
P5	P5NP	50,63± 0,05
P6	P6NP	19,64± 0,17
L9	L9NP	44,98± 0,02
L10	L10NP	8,66± 0,12

Keterangan : C1 = Cidokom 5, Desa Kopo, Kecamatan Cisarua; C3 = Desa Citeko, Kecamatan Cisarua; P5 = Desa Ciloto, Kecamatan Pacet; P6 = Golendang, Kecamatan Sukatani, Pacet; L9 = Desa Cibodas, Kecamatan Lembang; L10 = Desa Sunten Jaya, Kecamatan Lembang.

Penetapan jenis bakteri pendegradasi secara Molekuler

Berdasarkan hasil seleksi kemampuan isolat dalam mendegradasi insektisida klorpirifos didapat 3 isolat terbaik yaitu C3NP yang diperoleh dari tanah di Kampung Citeko Kecamatan Cisarua, P5NP dari Desa Ciloto Kecamatan Pacet dan L9NP diperoleh dari tanah Desa Ciputri Pasir Angin Kecamatan Pacet. Hasil identifikasi molekuler berbasis sekuen gen 16S rRNA (Tabel 6).

Tabel 6. Identifikasi molekuler berbasis sekuen gen 16S rRNA

Table 6. 16S rRNA gene sequence-based molecular identification

Kode Isolat	Spesies padanan	Homologi (%)
C3NP	<i>Pseudomonas monteilii</i>	99,80
P5NP	<i>Bacillus cereus</i>	95,60
L9NP	<i>Pseudomonas sp</i>	92,70

Hasil identifikasi sekuensing dengan data *gene bank* NCBI menggunakan BLAST pada situs <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> menunjukkan bahwa isolat Isolat P5N1 homolog 92.7% dengan *Pseudomonas sp* strain 155A, C3NP1 homolog 99.8% dengan *Pseudomonas monteilii* strain BFPB81. *Pseudomonas* umumnya berupa bakteri gram negatif yang tidak berspora. *Pseudomonas* juga bersifat non hemolitik di agar darah, motil, aerob fakultatif, serta dapat memproduksi enzim oxidase dan katalase (Uğur *et al.* 2012). Isolat P5NP homolog dengan *Bacillus cereus strain* LCw-22. *Bacillus* secara umum meruakan bakateri gram positif yang dapat membentuk spora. *Bacillus* juga bersifat aerob fakultatif, motil dan

dapat menghasilkan enzim katalase (Maughan dan Geraldine 2011).

Drancourt *et al.* (2000) menyebutkan bahwa hasil analisa molekuler yang memiliki homolog $\geq 99\%$ menunjukkan bahwa isolat merupakan spesies yang sama, homolog 97% sampai 99% isolat merupakan spesies baru dan homolog $< 97\%$ isolat merupakan genus baru. Berdasarkan pernyataan tersebut isolat C3NP homolog 99,80% kemungkinan adalah spesies yang sama dengan *Pseudomonas monteilii*. Isolat P5NP dan L9NP yang memiliki homolog 95,60% dan 92,70% kemungkinan adalah genus baru dari famili *Bacillaceae* dan *Pseudomonadaseae*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas monteilii* dan *Pseudomonas sp* mampu menurunkan konsentrsi insektisida klorpirifos masing-masing sebesar 39,67% dan 44,98% (Table 7). Bila dibandingkan dengan hasil penelitian Kumar (2011) yang mengatakan bahwa *Pseudomonas sp* mampu menurunkan konsentrasi insektisida klorpirifos sebesar 62% selama 30 hari dalam media tanah. *Pseudomonas monteilii* dan *Pseudomonas sp* yang diperoleh dari tanah pertanama kubis, meskipun penurunannya lebih rendah akan tetapi mempunyai waktu degradasi lebih cepat. *Bacillus cereus* dari penelitian ini mampu menurunkan insektisida klorpirifos sebesar 50,63% dalam media NB selama 3 hari, sedangkan hasil penelitian Sing *et al.* (2011) menyebutkan bahwa *Bacillus sp* mampu mendegradasi insektisida malation pada tanah sebesar 68,76% selama 4 hari dan pada medium mineral mampu menurunkan sebesar 95,30% selama 7 hari (Aziz *et al.* 2014). Perbedaan kemampuan dalam menurunkan klorpirifos ini dapat disebabkan karena media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media NB sehingga dalam waktu 3 hari kemungkinan baktiri yang ditambahkan masih ada yang memanfaatkan sumber

Tabel 7. Kemampuan mikroba *Pseudomonas sp.* dan *Bacillus sp.* dalam menurunkan konsentrasi insektisida

Table 7. The ability of microbes *Pseudomonas sp.* and *Bacillus sp.* in reducing Insecticide concentration

Jenis Mikrob	Penurunan konsentrasi Insektisida	Waktu hari	Jenis pencemar	Matrik	Sumber
	%				
<i>Pseudomonas monteilii</i>	39,67	3	Klorpirifos	NB	Penelitian ini
<i>Bacillus cereus</i>	50,63	3	Klorpirifos	NB	Penelitian ini
<i>Pseudomonas sp</i>	44,98	3	Klorpirifos	NB	Penelitian ini
<i>Pseudomonas sp</i>	62,00	30	Klorpirifos	Tanah	Kumar (2011)
<i>Pseudomonas desmolticum</i>	98,00	6	Klorpirifos	Medium mineral	Rokade & Mali (2013)
<i>P. gladioli</i>	99,37	25	Propenofos	Tanah	Malghani <i>et al.</i> (2009)
<i>Pseudomonas sp</i>	90,40	8	Quinalfos	Medium mineral	Pawar and Mali (2014)
<i>P. putida</i>	72,80	1	Propokonazol	Medium mineral	Sakar <i>et al.</i> (2009)
<i>Bacillus sp</i>	68,87	4	Malation	Tanah	Sing <i>et al.</i> (2009)
<i>Bacillus sp</i>	95,30	7	Malation	Medium mineral	Aziz <i>et al.</i> (2014)

Keterangan : NB = *nutrient broth*

karbon dari NB tersebut. Sedangkan pada medium mineral bakteri yang ditambahkan hanya memanfaatkan sumber karbon dari insektisida yang mencemarinya, sedangkan pada media tanah dimungkinkan ada bakteri lain yang berperan aktif dalam menurunkan insektisida klorpirifos.

Kesimpulan

Tanah pertanian sayuran kubis di 3 Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang telah menggunakan berbagai jenis insektisida, antara lain Diazinon, Fenitrotion, Metidation, Malation, Klorpirifos, Paration, dan Profenofos. Pada tanah tersebut masih dapat berkembang bakteri *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Enterobacter* sp, *Citrobacter* sp, *Azotobacter* sp, dan *Azospirillum* sp.

Dari hasil isolasi, diketahui 6 jenis isolat yang mampu tumbuh dalam media *nutrient broth* (NB) dan mendegradasi klorpirifos antara 8,66% sampai 50,62%. Dari 6 isolat tersebut diketahui 3 isolat yaitu C3NP1 (berasal dari tanah Cisarua), P5NP (tanah Pacet), dan L9NP (tanah Lembang) yang memiliki efektivitas tertinggi dalam mendegradasi klorpirifos masing-masing sebesar 39,67%, 50,62%, dan 44,98%. Ketiga isolat terbaik, C3NP teridentifikasi sebagai *Pseudomonas monteilii* dengan nilai homolog 99,80%, P5NP teridentifikasi sebagai *Bacillus cereus* dengan nilai homolog 95,60%, dan L9NP teridentifikasi sebagai *Pseudomonas* sp. dengan nilai homolog 92,70%.

Daftar Pustaka

- Adiyoga, W. dan M. Ameriana. 2008. Segmentasi Pasar dan Pemetaan Persepsi Atribut Produk Beberapa Jenis Sayuran Minor (Under-utilized). *J. Hort* 18(4):466-476.
- Ardiwinata, A.N. 2008. Peran Karbon Aktif Dalam Proses Degradasi Residu Karbofurani di Tanah oleh Mikroba. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Pencemaran Lingkungan Pertanian Melalui Pendekatan Pengelolaan Daerah Aliran Sungai (DAS) Secara Terpadu. Surakarta 28 Maret 2006. Balai Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya lahan Pertanian. pp 171-189.
- Ardiwinata, A.N., S.Y. Jatmiko, dan E.S. Harsanti. 1999. Monitoring Residu Insektisida di Jawa Barat. Risalah seminar hasil penelitian emisi gas rumah kaca. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor 24 April 1999. p. 15
- Aziz, M.W., H. Sabit. dan W. Tawakkal. 2014. Biodegradation of malathion by *Pseudomonas* sp and *Bacillus* sp Isolate from polluted site in Egypt. *Americana-Eurasian. Journal Agric & Environ. Sci.* 14(19): 855-862.
- Bhagobaty, R.K., dan A. Malik. 2008. Utilization of Chlorpyrifos as a Sources of Carbon by Bacteria Isolated from Wastewater Irrigated Agricultural Soils in an Industrial Area of Western Uttar Pradesh, India. *Research Journal of Microbiology*, 3 (5):293-307.
- Digrak, M., S. Ozcelik, dan S. Celik. 1995. Degradation of ethion and methidathion by some microorganisms. *Prosiding of 35th IUPAC Congress, Istanbul.* 14: 19-84.
- Direktorat Pupuk dan Pesticida. 2016. Pesticida Pertanian dan Kehutanan, Direktorat Jenderal Prasarana dan Sarana Pertanian, Kementerian Pertanian. 1096 pp
- Drancourt, M., C. Bollett, A. Carliz, R. Martelin, J.P. Gayral, and D. Raoult. 2000. 16S Ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *J Clinical Microbiol.* 38: 3623-3630.
- Sulaeman, E., A.N. Ardiwinata, dan A. Kurnia. 2009. Adsorpsi Klorpirifos oleh Bahan Mineral Tanah pada Tanah Inseptisol (Karawang) dan Andisol (Cianjur). Prosiding Kebijakan dan Investasi Sumberdaya Lahan dan Lingkungan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. pp 245-251.
- Extoxnet-Extension Toxicology Network. 1996. Pesticide Information Profile. <http://www.extoxnet.orst.edu/books/2004/chlorpur.htm> (14 Januari 2016).
- FAOSTAT-Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014. <http://faostat.fao.org/site/424/default.aspx#ancor> (diakses 14 Juni 2016)
- Harsanti, E.S., A.N. Ardiwinata, dan S. Wahyuni. 2009. Potensi Arang Aktif dari Limbah Pertanian untuk Menurunkan Residu Klorpirifos pada Tanah Oxisol. Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Inovasi Sumberdaya Lahan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Buku I. 281-295.
- Komisi Pesticida. 1997. Metode pengujian residu pestisida dalam hasil pertanian. Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. Jakarta 1997. Halaman 130-153.
- Kumar, S. 2011. Bioremediation Of Chlorpyrifos By Bacteria Isolated From The Cultivated Soils. *Journal of Pharma and Bio Science* 02 (3):359-366
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-685.
- Laili, N. dan I. Hartati. 2011. Isolasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi herbisida diuron dan bromacil dari area perkebunan di Lampung. *Journal of Biological Researches.* 17: 57-61.
- Malghani, S. N., H.X.Yu. Chatterjee, and Z. Lue. 2009. Isolation and identification of propenofos degrading bacteria. *Brazilia Journal of Microbiology.* 40: 893-900.
- Maughan, H. and V.A. Geraldine. 2011. *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Infection, Genetics and Evolution.* 11: 789-797.
- Miskiyah dan S.J. Munarso. 2009. Kontaminasi residu pestisida pada cabai merah, selada, dan bawang merah, studi kasus di Bandung dan Brebes Jawa Tengah serta Cianjur Jawa Barat. *Journal Hortikultur.* 19(1): 101-111.
- Miskiyah, S.J. Munarso. dan Wisnubroto. 2009. Studi kandungan residu pestisida pada kubis, tomat dan wortel di Malang dan Cianjur. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian.* 2: 27-31.
- Pawar, K.R. and G.V. Mali. 2014. Biodegradation of quinalphos insecticide by *Pseudomonas* strain isolate from grafe rhizosphere soil. *Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 3(1): 606-613

- Permentan (Peraturan Menteri Pertanian) Nomor 88/Permentan/PP.340/12/2011. Pengawasan Keamanan Pangan Terhadap Pemasukan dan Pengeluaran Pangan Segar Asal Tumbuhan. luk.staff.ugm.ac.id/atur/horti/ Permentan 88-2011. (25 Oktober 2015).
- PPI- Pusat Perijinan dan Investasi Deptan. 2006. Pestisida Terdaftar (Pertanian dan Kehutanan), Pusat Perijinan dan Investasi, Departemen Pertanian
- PP-RI (Peraturan Pemerintah Republik Indonesia) Nomor 6. 1995. Perlindungan Tanaman. Jakarta. www.bpkp.go.id/uu/filedownload/4/71/1458.bpkp (25 Oktober 2015).
- Rokade, K. B and G.V. Mali. 2013. Biodegradation of chlorpyrifos by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112 Journal of Pharma and Bio Sciences 4(2): (B) 609 - 616
- Sakar, S., S. Seenivasan. and R. Premkumar. 2009. Biodegradation of propiconazole by *Pseudomonas putida* isolated from tea rhizosphere. Plan Soil Environ. 55(5):196–201.
- Setiawati, W., B.K. Udiarto dan T.A. Soetiarso. 2007. Selektivitas beberapa insektisida terhadap hama kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn) dan predator *Menochilus sexmaculatus* Fabr. J. Hort. 17(2): 168-174, 2007.
- Uğur, A., C. Özgür. and A. Belma. 2012. Characterization of *Pseudomonas* sp. from seawater of the southwest coast of Turkey. J Biol Environ Sci. 6(16): 15-23.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. Pure Appl. Cem. 73:1163-1172
- Wahyuni, S., A.N. Ardiwinata, dan E.S. Harsanti. 2012. Penanggulangan Pencemaran Residu Insektisida Organofosfat pada Tanah dan Air di Lahan Padi Sawah. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Padi. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. pp 1119-1599.
- Wahyuni, S., Indratin, dan A.N. Ardiwinata. 2013. Teknologi Arang Aktif untuk Penanggulangan Pencemaran Residu Insektisida Klorpirifos di Lahan Sayuran. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pemupukan dan Pengelolaan Lahan Terdegradasi. Bogor 22-30 Juni 2012. pp 449-456.
- WHO-World Health Organization. 2001. Inventory of IPCS and other pesticide evaluations and summary of toxicological evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Evaluations through 2000., Geneva. 2001.text at: <http://www.who.int/pcs/jmpr/jmpr.htm> (15 Juli 2015)