

Isolasi Bakteri Pendegradasi Pestisida dan Herbisida

Isolation of Herbicide and Pesticide-Producing Bacteria

***HR Ratnaningsih¹, Di Ajeng Prameswari², Rizki Adiputra Taopan³**

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor¹

**hanimrahayuani@gmail.com¹*

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor²

ajengprameswari9392@yahoo.com²

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor³

rizkimicro@gmail.com³

Abstract

Pesticides in contaminated soil and water environments have become one of the most sensational problems because of the damaging effects on public health and the environment. This study was conducted to look for potential isolates of pesticides that degrade pesticides from several land uses and test their potential for pesticide degradation. The results obtained were four isolates for herbicide degradation and two isolates for pesticide degradation, four isolates for herbicide degradation were H1RST1, HRT25, H3RSH2 and HRT100, while the two pesticide degrading isolates were PRT50 and P1RST1. The characterization carried out was gram staining, pathogenicity test and viability test. Gram test showed that all isolates were gram negative with the form of coccus cells, long bacill and short bacill. Pathogenicity test on tobacco leaves showed that all isolates were not pathogenic in plants with no symptoms of necrosis. Viability test showed that HRT25 isolate had the highest OD value, 4.0, while P1RST1 and H3RST2 isolates showed the lowest OD value, 0 at 48 hours incubation period.

Keywords: *Herbicide, Isolate, Necrosis, Pesticide, Pathogen*

Abstrak

Pestisida dalam tanah dan lingkungan air yang terkontaminasi telah menjadi salah satu masalah yang paling sensasional karena efek merusak terhadap kesehatan masyarakat dan lingkungan. Kajian ini dilakukan untuk mencari isolat potensial mikroba pendegradasi pestisida dari beberapa penggunaan lahan dan menguji potensinya terhadap degradasi pestisida. Hasil yang diperoleh terdapat empat isolat pendegradasi herbisida dan dua isolat pendegradasi pestisida, empat isolat pendegradasi herbisida adalah H₁RST₁, HRT₂₅, H₃RSH₂ dan HRT₁₀₀, sedangkan dua isolat pendegradasi pestisida adalah PRT₅₀ dan P₁RST₁. Karakterisasi yang dilakukan adalah pewarnaan gram, uji patogenitas dan uji viabilitas. Uji gram menunjukkan semua isolat merupakan gram negatif dengan bentuk sel kokus, basil panjang dan basil pendek. Uji patogenitas pada daun tembakau menunjukkan semua isolat tidak bersifat pathogen pada tanaman dengan tidak adanya gejala nekrosis. Uji viabilitas Nekrosis. Uji viabilitas menunjukkan isolat HRT₂₅ memiliki nilai OD tertinggi 4.0, sedangkan isolat P₁RST₁ dan H₃RST₂ menunjukkan nilai OD terendah yaitu 0 pada masa inkubasi 48 jam.

Kata Kunci: *Herbisida, Isolat, Nekrosis, Pestisida, Pathogen*

Pendahuluan

Penggunaan herbisida di bidang pertanian, kehutanan, perkebunan dan lingkungan mengalami peningkatan yang cukup signifikan dan menjadi bagian penting dari sistem pertanian modern. Bersama-sama dengan adopsi varietas unggul, penggunaan pupuk anorganik, perbaikan sistem pengairan (irigasi) dan penggunaan alat-alat berat (*machinery*), penggunaan herbisida dan berbagai jenis pestisida lainnya telah memberikan kontribusi yang sangat penting terhadap peningkatan produktivitas pertanian.

Kadar penggunaan pestisida yang sangat tinggi telah menimbulkan kekhawatiran di kalangan masyarakat luas karena terdapat bukti-bukti bahwa pestisida dapat menimbulkan dampak negatif terhadap alam lingkungan sekitarnya maupun terhadap manusia sendiri.

Penggunaan herbisida harus sesuai dengan dosis yang telah disarankan pada label. Pemakaian herbisida yang berlebihan dapat memengaruhi kehidupan mikroorganisme tanah. Herbisida yang diaplikasikan tersebut akan tinggal di dalam tanah atau dapat diuraikan sehingga daya racunnya menjadi turun atau hilang sama sekali. Pada permukaan maupun di dalam tanah, pestisida mungkin tetap aktif secara biologis untuk jangka waktu mulai dari hari sampai berbulan-bulan.

Dosis, jenis tanah, kelembaban tanah dan konten bahan organik, suhu dan formula insektisida merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi keberadaan pestisida di dalam tanah. Hal ini cukup menjadi bukti bahwa di alam, pestisida yang berpotensi sebagai residu dapat terdeteksi di tanah bahkan setelah 3 bulan, sehingga dapat menyebabkan potensi *hazards*. Penggunaan intensif pestisida mengakibatkan penyebaran dan potensi polutan lingkungan di seluruh dunia. Pestisida dalam tanah dan lingkungan air yang terkontaminasi telah menjadi salah satu masalah yang paling sensasional karena efek merusak terhadap kesehatan masyarakat dan lingkungan. Pestisida yang diaplikasikan di area pertanian melalui siklus yang panjang, bahkan hingga mencapai lingkungan perairan. Oleh karena itu, dalam siklusnya, pestisida dapat mengkontaminasi area-area lain pada jarak yang jauh dari lingkungan aplikasinya. Akibat penggunaannya yang masal, pestisida terakumulasi di dalam tanah dan dapat masuk ke dalam ekosistem, hingga menunjukkan efek lethal pada sistem-sistem kehidupan (Naphade *et al.* 2012). Karenanya, dekontaminasi area terpolusi pestisida merupakan tugas yang sangat kompleks.

Mikroba memainkan peran penting dalam merendahkan ataupun mendegradasi kimia sintetik di tanah. Mikroba memiliki kapasitas untuk memanfaatkan hampir semua senyawa yang terjadi secara alami. Namun, konsentrasi zat pencemar yang tinggi membuat bakteri pendegradasi senyawa toksik sulit berkembang biak. Dalam mengatasi pencemaran tersebut, sekarang ini banyak dipelajari mengenai teknologi pupuk hayati dengan menggunakan mikroba pendegradasi pestisida. Mekanisme yang dilakukan adalah melalui isolasi mikroba indigenous pendegradasi polutan (pestisida) dan mengubah komposisi media tumbuh bakteri

Metode

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan mengambil tanah pada lahan yang diduga tercemar pestisida dan herbisida. Sampel terdiri dari rhizosfer tanaman padi, talas, sawit, filosfer padi, filosfer talas dan serasah sawit. Pengambilan sampel rhizosfer dilakukan menggunakan alat bantu sekop, tanah yang melekat diperakaran tanaman diambil dan dikompositkan, kemudian dimasukkan ke wadah plastik dan dibawa ke laboratorium. Sampel filosfer padi dan talas di pilih pada tanaman yang tidak terserang hama dan penyakit.

Isolasi

Sampel rhizosfer dan filosfer sebanyak 1 g masing-masing diencerkan dalam 9 mL garam fisiologis 0,85%, kemudian dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Pengenceran 10^{-5} sebanyak 0,1 mL disebar (*spread plate*) pada media MSM dengan konsentrasi pestisida dan herbisida 25 ppm, 50 ppm serta 100 ppm. Hasil inokulasi diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari. Diamati koloni yang terbentuk, selanjutnya di purifikasi pada media NA. Isolat-isolat selanjutnya di simpan pada media agar miring sebagai biakan kerja.

Uji Patogenitas

Isolat-isolat terpilih yaitu P_1RST_1 , P_1RSH_2 , PRT_{50} , H_3RST_2 , HRT_{100} , H_3RSH_2 , HRT_{25} , H_2SSH_1 dan H_3RST_1 masing-masing ditumbuhkan sebanyak 1 ose pada media NB (*Nutrient Broth*) dengan konsentrasi pestisida dan herbisida sesuai dengan komposisi saat isolasi. Suspensi diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Suspensi selanjutnya disuntikan ke daun tembakau sebanyak 3 mL menggunakan syringe steril. Daun tembakau diamati terbentuknya nekrosis atau tidak yang menunjukkan patogenitas isolat.

Pewarnaan Gram

Kaca objek ditetesi 1-2 akuades steril, kemudian diletakan masing-masing 1 ose biakan. Kaca objek dikering anginkan dan difiksasi di atas Bunsen. Hasil fiksasi dibubuhkan Cristal Violet, didiamkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya dibubuhkan Iodin, didiamkan selama 2 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya dilakukan pemucatan dengan alkohol 96% kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya dilakukan dekolorisasi dengan safranin, didiamkan selama 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir. Kelebihan cat diserap dengan tissue. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000X.

Uji Viabilitas

Uji viabilitas dilakukan dengan menumbuhkan isolat masing-masing sebanyak 1 ose pada media NB dengan konsentrasi pestisida 75 ppm di shaker pada suhu ruang. Pengukuran kepadatan sel dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Pengukuran kepadatan sel dilakukan pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam.

Hasil dan Pembahasan

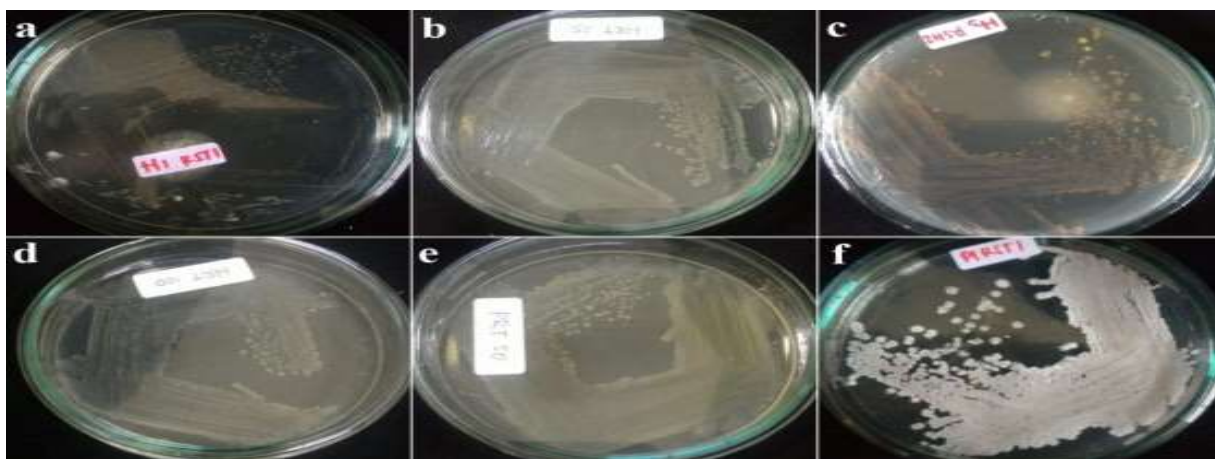
Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Pestisida dan Herbisida

Pengambilan sampel dilakukan di beberapa lahan pertanian dan perkebunan yang secara intensif menggunakan pestisida dan herbisida. Sampel yang diambil terdiri dari sampel tanah, serasah, filosfer dan air. Kontaminasi pestisida seperti organofosfat pada umumnya terjadi pada air, tanah, sayuran, buah-buahan dll (Erin *et al.* 2001). Sampel dipreparasi kemudian diencerkan dan di sebar pada media MSM dengan kandungan bahan aktif pestisida dan herbisida masing-masing 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm.

Hasil isolasi diperoleh empat isolat pendegradasi herbisida dan dua isolat pendegradasi pestisida (Gambar 1). Empat isolat pendegradasi herbisida adalah H_1RST_1 , HRT_{25} , H_3RSH_2 dan HRT_{100} , sedangkan dua isolat pendegradasi pestisida adalah PRT_{50} dan P_1RST_1 . Sebagian besar isolat pendegradasi herbisida menunjukkan ciri-ciri koloni bulat kecil dan berwarna putih. Ciri-ciri berbeda ditunjukkan isolat H_3RSH_2 dengan koloni berwarna pink. Dua isolat bakteri pendegradasi pestisida menunjukkan ciri-ciri yang berbeda. Isolat P_1RST_1 menunjukkan ciri-ciri

koloni bulat besar dan berwarna putih, sedangkan isolat PRT₅₀ menunjukkan ciri-ciri koloni bulat kecil dan berwarna putih.

Gambar 1. Purifikasi isolat hasil isolasi. a= H₁RST₁, b= HRT₂₅, c= H₃RSH₂, d= HRT₁₀₀, f= PRT₅₀, g= P₁RST₁



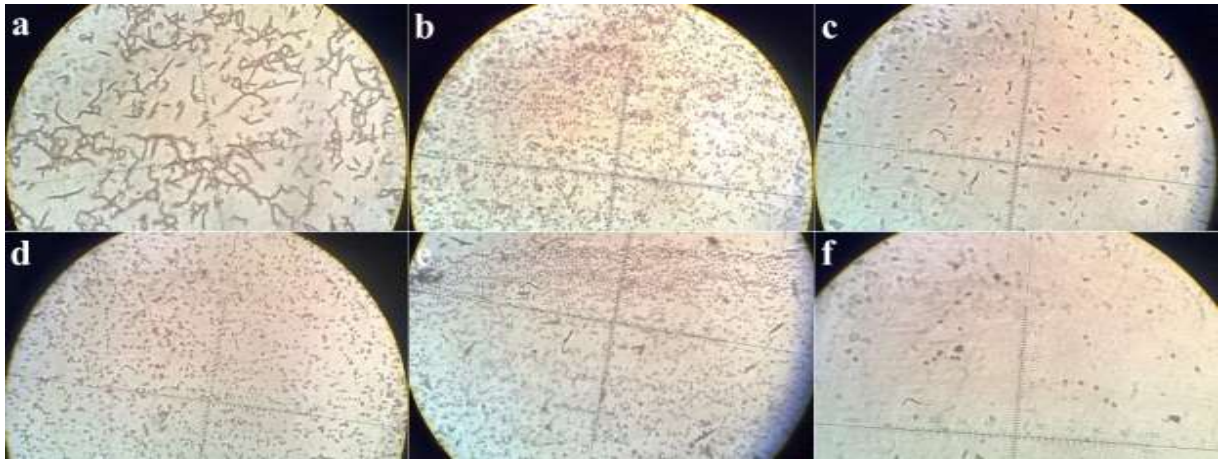
Tabel 1. Morfologi Koloni Bakteri Pendegradasi Pestisida dan Herbisida

Morfologi Koloni Bakteri				
Nama Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
H ₁ RST ₁	Bulat	Konveks	Lobate	Putih
HRT ₂₅	Bulat	Konveks	Entire	Putih
H ₃ RSH ₂	Bulat	Konveks	Lobate	Pink
HRT ₁₀₀	Bulat	Konveks	Lobate	Putih
PRT ₅₀	Bulat	Konveks	Entire	Putih
P ₁ RST ₁	Bulat	Konveks	Entire	Putih

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram pada bakteri dilakukan dengan cara mengamati sel-sel bakteri yang telah mati dan diwarnai. Dengan cara tersebut, bentuk sel akan menjadi lebih jelas karena warna sel dibuat kontras dengan medium disekelilingnya, sehingga lebih mudah dilihat dibawah mikroskop. Pada pewarnaan Gram diperlukan empat jenis larutan yaitu zat warna basa (kristal violet), larutan iodium (lugol), alkohol dan safranin. Sel-sel bakteri yang dapat mengikat zat warna kristal violet, berwarna biru disebut bakteri gram positif. Sel-sel bakteri yang dapat melepaskan kristal violet dan mengikat safranin sehingga berwarna merah termasuk bakteri gram negatif (Lestari 2012).

Semua isolat menunjukkan sifat gram negatif. Hal ini ditunjukkan dengan sel yang berwarna merah ketika diamati dibawah mikroskop (Gambar 2). Sebagian besar isolat hasil isolasi mempunyai bentuk sel kokus, hanya terdapat dua isolat dengan bentuk sel berbeda yaitu H₁RST₁ berbentuk basil panjang dan HRT₂₅ berbentuk basil pendek (Tabel 1). Bakteri pendegradasi senyawa organofosfat dengan sifat gram negatif dilaporkan berasal dari genus *Klebsiella* sp, *Bordetella* sp, *Pseudomonas* sp dan *Brevundimonoas* sp (Yadav et al. 2017; Munir et al. 2016).



Gambar 2. Pewarnaan Gram Isolat Hasil Isolasi. a= H₁RST₁, b= HRT₂₅, c= H₃RSH₂, d= HRT₁₀₀, e= PRT₅₀, f= P₁RST₁.

Tabel 2. Sifat Gram dan Bentuk Isolat Hasil Isolasi

Nama Isolat	Sifat Gram	Bentuk
H ₁ RST ₁	-	Basil panjang
HRT ₂₅	-	Basil pendek
H ₃ RSH ₂	-	Kokus
HRT ₁₀₀	-	Kokus
PRT ₅₀	-	Kokus
P ₁ RST ₁	-	Kokus

Uji Patogenitas

Hasil uji patogenitas pada daun tanaman tembakau menunjukkan bahwa semua bakteri hasil isolasi tidak berpotensi pathogen pada tanaman. Daun tanaman tembakau yang tidak mengalami nekrosis menandakan bakteri yang diinokulasikan pada daun tembakau memiliki pengaruh negatif terhadap tanaman artinya tidak berpotensi pathogen bagi tanaman. Hasil menunjukkan bahwa terdapat enam bakteri yang berpengaruh negatif atau tidak berpotensi pathogen bagi tanaman (Tabel 3).



Gambar 3. Daun Tembakau yang Telah Diinokulasikan Bakteri Hasil Isolasi Menunjukkan Tidak Memiliki Gejala Nekrosis.

Tabel 3. Uji Patogenitas pada Daun Tembakau

Nama Isolat	Patogenitas	Keterangan
H ₁ RST ₁	-	Daun tidak menunjukkan adanya gejala nekrosis atau perubahan warna yang ditimbulkan setelah penyutikan.
HRT ₂₅	-	
H ₃ RSH ₂	-	
HRT ₁₀₀	-	
PRT ₅₀	-	
P ₁ RST ₁	-	

Setiap mikrob memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim dan metabolit sekunder dengan jumlah dan karakteristik berbeda. Senyawa-senyawa aktif inilah yang menyebabkan mikrob berpotensi pathogen bagi tanaman, sehingga diperlukan seleksi mikrob yang menyeluruh guna menghindari penyebaran penyakit di lingkungan. Mekanisme patogenitas ini terkait diduga adanya alelopati yaitu senyawa kimia yang berpotensi pathogen bagi tanaman.

Uji Viabilitas

Uji viabilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat tumbuh pada media yang diberikan organofosfat dan memberikan gambaran kemampuan isolat dalam mengurangi konsentrasi organofosfat. Isolat ditumbuhkan pada media NB yang diberikan pestisida dengan konsentrasi 75 ppm. Konsentrasi ini dipilih karena rata-rata isolat yang diperoleh dapat tumbuh pada media agar dengan konsentrasi pestisida dan herbisida antara 50 ppm sampai 100 ppm. Metode yang digunakan adalah spektrofotometri (Beatriz *et al.* 2016), yaitu kepadatan sel pada media cair diukur menggunakan panjang gelombang. Pada pengukuran ini digunakan panjang gelombang 600 nm.

Tabel 4. Optical Density (OD) Isolat pada Inkubasi 48 Jam

Nama Isolat	OD 48 jam
P ₁ RST ₁	0
H ₃ RST ₂	0
HRT ₁₀₀	3,010
H ₃ RSH ₂	0,108
HRT ₂₅	4,0
PRT ₅₀	2,60

Hasil pengamatan pada waktu inkubasi 24 jam menunjukkan pertumbuhan isolat yang masih rendah. Hal ini ditunjukkan dengan media tumbuh yang belum menunjukkan kekeruhan. Pengamatan pada waktu inkubasi 48 jam menunjukkan nilai *optical density* (OD) tertinggi terdapat pada isolat HRT₂₅ dan terendah pada isolat P₁RST₁ dan H₃RST₂ (Tabel 4). Degradasi pestisida oleh mikroba dapat dilakukan melalui proses-proses seperti biodegradasi, degradasi kimiawi, hidrolisis, oksidasi-reduksi (redox), ionisasi dan fotodegradasi (Zhang & Qiao 2002).

Kesimpulan

Didapatkan 6 isolat bakteri pendegradasi pestisida dan herbisida. Isolat bakteri pendegradasi herbisida adalah H₁RST₁, HRT₂₅, H₃RSH₂ dan HRT₁₀₀, dua isolat pendegradasi pestisida adalah PRT₅₀ dan P₁RST₁. Karakterisasi yang dilakukan adalah pewarnaan gram, uji patogenitas dan uji viabilitas.

Uji gram menunjukkan semua isolat merupakan gram negatif dengan bentuk sel kokus, basil panjang dan basil pendek. Uji patogenitas pada daun tembakau menunjukkan semua isolat tidak bersifat patogen pada tanaman dengan tidak adanya gejala nekrosis. Uji viabilitas menunjukkan isolat HRT₂₅ memiliki nilai OD tertinggi, sedangkan isolat P₁RST₁ dan H₃RST₂ menunjukkan nilai OD terendah pada masa inkubasi 48 jam.

Daftar Pustaka

- Alam, MJ. 2015. Possibilities of Optimizing The Pesticides for The Alternative Agricultural Sustainability in India. *IJSR* 4(12):212-217.
- Aly MM, Al-aidaroos BA, Alfassi FA. 2017. Factors Affecting Biodegradation of The Organophosphorus Insecticide Diazinon by Bacterial Mono-Culture of *Bacillus Sefensis* 7 Isolated from The Rhizosphere of Date Palm Tree. *IOSR-JPBS*.12(3).28-26. doi:10.9790/3008-1203021826.
- Beatriz E, Colorado J, Tobon AB, Ballestas IT. 2016. Organophosphorus Pesticides Degrading Bacteria Present in Contaminated Soils. *Rev Cien Técn Agro*. 25(3):13-22. doi:10.13140/RG.2.2.20023.73126.
- Chanika E, Georgiadou D, Soueref E, Karas P, Karanasios E, Nikolaos GT, Tzortzakakis, EA, and Karpouzias DG. 2011. Isolation of Soil Bacteria Able to Hydrolyze Both Organophosphate and Carbamate Pesticides. *Bioresource Technology*. 102:3184-3192.
- Chapalamadugu S, Chaudhry. 1992. Microbiological and Biotechnological Aspects of Metabolism of Carbamates and Organophosphates. *Crit Rev Biotechnol*. 12:357-38.
- Erin M, Hertz-Picciotto BI, James JB. 2001. Case Cohort Analysis of Agricultural Pesticide Applications Near Maternal Residence and Selected Causes of Fetal Death. *Am J Epidemiol*. 154 (8):702-710.
- Fahmy MA, Fukuto TR, Myers RO, March RB. 1970. Selective Toxicity of New N-Phosphorothioylcarbamate Esters. *J Food Chem*. 18:793-796. doi:10.1021/jf60171a014.

- Franzmann PD, Zappia LR, Tilbury AL, Patterson BM, Davis GB, Mandelbaum RT. 2000. Bioaugmentation of Atrazine and Fenamiphos Impacted Groundwater: Laboratory Evaluation. *Bioremediation Journal*.24(3):48-68.
- Ganash MA, Abdel Ghany TM, and Reyad AM. 2016. Pleurotus Ostreatus as a Biodegradator for Organophosphorus Insecticide Malathion. *J Environ Anal Toxicol* 6(3):1-6.
- Jaya JD, Sandri D, Fatimah F. 2012. Paraquat Residue in Maize Lands: Case in Tanah Laut Regency, Indonesia. Open Access Scientific Report. 1:14-53. doi:10.4172/scientificreports.535.
- Karunanithi S, Sivaganesh A, Dhailappan AK, Packiasamy R. 2017. Biodegradation of Hydrocarbon Pollutant Soil by Indigenous Microbes. *Int J of Res*. 4(3):1038-1047.
- King, AM. and Aaron CK. 2015. Organophosphate and Carbamate Poisoning. *Emerg Med Clin N Am* 33(2015):133-151.
- Krishnaiah NV. 2016. Varietal Resistance Breaking Ability and Insecticide Resistance Developing Ability of BPH- is There Any Relation between the Two?. *Molecular Entomology* 7(1):1-9.
- Munir S et al. 2016. Biodegradation of Organophosphorus Insecticides by Indigenous Soil Bacterium Isolated from Agricultural Contaminated Soil. *Minerva Biotec*.28(3):146-152.
- Naphade S.S., Khadabadi, S.S., Deore, S.L., Jagtap, N.S., Hadke, S.P., Antioxidant Activity of Different Extracts of Plant Tricholepis glaberrima DC (Asteraceae), *IJPRIF* ISSN : 0974-4304 Vol.1, No.3, pp 502-505, July – Sept.
- Odukkathil G and Vasudevan N. 2013. Toxicity and Bioremediation of Pesticides in Agricultural Soil. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 12:421–444.
- Ogot HA, Boga HI, Budambula N, Tsanuo M, Andika DO, and Ogola HJ. 2013. Isolation, Characterization and Identification of Roundup Degrading Bacteria from the Soil and Gut of Macrotermes Michael Seni. *International Journal of Microbiology and Mycology*. 1(1):31-38.
- Porto, AM., Melgar, GZ., Kasemodel MC., and Nitschke, M. (2011). Biodegradation of Pesticides, Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), InTech.
- Rahmansyah, M. and N. Sulistinah. 2009. Performa Bakteri pada Tanah Tercemar Pestisida [Bacterial Perform in Soil Contaminated with Pesticide]. *Berita Biologi*. 9(5):657-664.
- Rani, K and Dhanial G. 2014. Bioremediation and Biodegradation of Pesticide from Contaminated Soil and Water-A Novel Approach. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 3(10):23-33

- Sadashiv, S.O. and Kaliwal, BB. 2016. Resistance in Bacteria, Insecticides Resistance, Prof. Stanislav Trdan (Ed.), InTech.
- Shin, DH , Kim K, Seong C, Song H, and Ka J. 2012. Genetic and Phenotypic Diversity of Carbofuran-Degrading Bacteria Isolated from Agricultural Soils. *J. Microbiol. Biotechnol* 22(4), 448-456.
- Singh, Z, Kaur J, Kaur R, Hundal SS. 2016. Toxic Effects of Organochlorine Pesticides: A Review. *American Journal of Bio Science* 4(3-1):11-18.
- Yadav S, Verma SK, Chaundhary HS. 2015. Isolation and Characterization of Organophosphate Pesticides Degrading Bacteria from Contaminated Agricultural Soil. *J of Bio Sci.*15(1):113-125. doi: 10.3844/ojbsci.2015.113.125.
- Yuanfan H, Jin Z, Qing H, Qian W, Jiandong J, Shunpeng L. 2010. Characterization of A Fenprothrin-Degrading Strain and Construction of A Genetically Engineered Microorganism for Simultaneous Degradation of Methyl Parathion and Fenprothrin. *Journal of Environmental Management*, 91(11):2295-2300.
- Zhang JL, Qiao CL. 2002. Novel Approaches for Remediation of Pesticide Pollutants. *Int J Environ Pollut*. 18(5):423–433. doi: 10.1504/IJEP.2002.002337.
- Zheng, Y, Long L, Fan Y, Gan J, Fang J, Jin W. 2013. A Review on The Detoxification of Organophosphorus Compounds by Microorganisms. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7(20);2127-2134.