

SODIUM ALGINAT SEBAGAI BAHAN FORMULASI GRANULAR NEMATODA ENTOMOPATOGEN *Steinernema* sp.

SODIUM ALGINATE AS A INGREDIENT FOR FORMULATION OF GRANULAR NEMATODE ENTOMOPATHOGENS *Steinernema* sp.

Irwanto Sucipto*, Hari Purnomo, dan Wildan Muhlison
Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Indonesia
*Email: irwanto.sucipto@unej.ac.id

* Corresponding Author, Diterima: 11 Nov. 2022, Direvisi: 5 Des. 2022, Disetujui: 3 Jul. 2023

ABSTRACT

*One alternative that has the potential as a biological agent for the pest *Lepidiotia stigma* Fabr. (Coleoptera: Scarabaeidae) is an entomopathogenic nematode because it is safe, actively looking for hosts, has a wide host range and is environmentally friendly. Although juvenile infective entomopathogenic nematodes can be stored for several months in refrigerated water, the high cost and difficulty of maintaining quality are barriers to this method. So, usually nematodes are formulated in solid or semi-solid form after being produced. One of the formulation methods that can be used is the alginate gel formulation. Observations were made on three variables, namely the resistance of the alginate gel formulation, the viability and virulence of *Steinernema* sp. local isolate in alginate gel formulation. The durability of the formulation was determined by measuring the size of the formulation using a measuring device (ruler). Nematode viability was determined by comparing the number of live nematodes (per gram granule and per 10 gram granule) while nematode virulence was determined by calculating the percentage of deaths of *L. stigma* and *Tenebrio molitor* in each treatment. Observations of the formulation form resistance, viability and virulence were observed every week for 2 months after the formulation. The results showed that the alginate gel formulation would be more stable and durable when stored at 20⁰ C. The combination of isolate type and storage temperature for the best alginate gel formulation was the use of *Steinernema* sp. Kediri isolates stored at 20⁰ C because their viability is higher than other isolates.*

Keywords : *Entomopathogen, formulation, nematode, pathogen*

ABSTRAK

Salah satu alternatif yang berpotensi sebagai agen hayati untuk hama *Lepidiotia stigma* Fabr. (Coleoptera: Scarabaeidae) adalah nematoda entomopatogen karena aman, aktif mencari inang, memiliki kisaran inang yang luas dan ramah lingkungan. Meskipun juvenil infeksi nematoda entomopatogen dapat disimpan selama beberapa bulan di air dalam refrigirator, biaya yang mahal dan kesulitan mempertahankan kualitas menjadi penghalang pada metode ini. Biasanya nematoda diformulasikan dalam bentuk padat atau semi padat setelah diproduksi. Salah satu metode formulasi yang dapat digunakan adalah formulasi gel alginat. Pengamatan dilakukan terhadap tiga variabel yaitu ketahanan bentuk formulasi gel alginat, viabilitas dan virulensi *Steinernema* sp. isolat lokal pada formulasi gel alginat. Ketahanan bentuk formulasi ditentukan dengan mengukur ukuran formulasi menggunakan alat pengukur (penggaris). Viabilitas nematoda ditentukan dengan membandingkan jumlah nematoda hidup (per gram granul dan per 10 gram granul) sedangkan virulensi nematoda ditentukan dengan menghitung persentase kematian *L. stigma* dan *Tenebrio molitor* pada setiap perlakuan. Pengamatan ketahanan bentuk formulasi, viabilitas dan virulensi tersebut diamati setiap minggu selama 2 bulan setelah pembuatan formulasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi gel alginat akan lebih stabil dan tahan lama apabila disimpan pada suhu 20⁰ C. Kombinasi jenis isolat dan suhu penyimpanan untuk formulasi gel alginat yang terbaik adalah penggunaan *Steinernema* sp. isolat Kediri yang disimpan pada suhu 20⁰ C karena viabilitasnya lebih tinggi daripada isolat lainnya

Kata kunci : Entomopatogen, formulasi, nematoda, patogen

1. PENDAHULUAN

Uret tebu, *Lepidiota stigma* Fabr. (Coleoptera: Scarabaeidae) merupakan salah satu hama penting pada tanaman tebu dimana kerusakan serangan hama ini bisa mencapai 50% sampai puso (Hidayah *et al.*, 2019, Sunarto, 2020, Sarjan *et al.*, 2021, Tiffani & Ramdan, 2020, Rahayu *et al.*, 2021). Pengendalian yang umumnya dilakukan oleh petani adalah pengendalian secara mekanis maupun kimiawi. Pengendalian secara mekanis dilakukan dengan cara menggunakan perangkap lampu dan penangkapan serangga dewasa (ampal) serta pemusnahan uret pada saat pengolahan tanah (bongkar ratoon). Cara ini dapat menekan populasi sampai 60%. Pengendalian secara kimiawi pada umumnya akan menimbulkan masalah baru seperti resistensi, menurunkan kualitas tanah, mencemari lingkungan bila tidak dilakukan secara hati-hati dan sesuai dengan rekomendasi.

Pemanfaatan nematoda entomopatogen (NEP) telah banyak dilakukan untuk pengendalian hama (Labaude & Griffin, 2018), termasuk hama uret tebu (Indrayani *et al.*, 2018, Habriantono & Alfariy, 2021). NEP mampu mengendalikan larva *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae) hingga 90% dengan mengaplikasikan 400 sampai 800 Ji/ml nematoda pada uji di laboratorium. Pengendalian dengan menggunakan NEP masih banyak memiliki kendala diantaranya yaitu: penyediaan juvenil infektif secara banyak sulit dipenuhi dan kemasan aplikasinya masih kurang praktis. Oleh karena itu, perlu suatu metode perbanyakan massal yang sederhana sehingga petani dapat memproduksinya sendiri dan pembuatan kemasan yang lebih praktis.

Meskipun NEP dapat disimpan selama beberapa bulan di air dalam refrigirator, diperlukan biaya yang tinggi untuk penyimpanan dalam skala yang besar hal ini dikarenakan NEP memiliki umur simpan yang relatif pendek dan rentan terhadap pengeringan dan sinar UV (Kim *et al.*, 2021). Oleh karena itu, NEP biasanya diformulasikan dalam bentuk padat atau semi padat setelah diproduksi. Salah satu metode formulasi yang dapat digunakan adalah formulasi gel alginat.

Sodium alginat telah banyak dimanfaatkan karena bersifat koloid, membentuk gel dan hidrofilik (mengikat air dan mempertahankan kelembaban) (Kagimu & Malan, 2019). Pembentukan formulasi akan mempermudah penyimpanan, pengiriman produk nematoda namun juga dapat mempengaruhi kualitas dari nematoda. Oleh karena itu, perlu

dilakukan penelitian tentang penggunaan sodium alginat sebagai bahan formulasi granular NEP guna mengetahui pengaruhnya terhadap viabilitas dan virulensi NEP dalam mengendalikan *L. stigma*.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember, pada bulan Juni 2022 sampai dengan Oktober 2022.

Bahan yang digunakan untuk melaksanakan penelitian ini adalah *Steinernema* sp. isolat Kalisat, Kacangan dan Kediri, larva uret tebu *L. stigma*, larva ulat hongkong *Tenebrio molitor*, alkohol 70%, aquades, formalin 0,1%, sodium alginat, CaCl₂, Natrium sitrat. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri plastik, kertas saring, kantong plastik, wadah/box plastik ukuran kecil (diameter 6 cm), sedang (17x12 cm) dan besar (35x28 cm), erlenmeyer, gelas ukur, sprayer, pinset, kamera, hand counter, mikroskop, mikroskop Dino dan laptop, mikropipet, autoklaf, pipet titrasi/ infus.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu: eksplorasi nematoda entomopatogen di lapang, perbanyakan massal *Steinernema* sp. isolat lokal secara *In Vivo* dan dilanjutkan dengan proses *White trap*, pengambilan larva *L. stigma* dan membuat formulasi alginat dengan menggunakan sodium alginat serta melakukan pengamatan dalam beberapa variabel pengamatan seperti ukuran formulasi alginat dan viabilitas

Eksplorasi NEP dilakukan di daerah pertanian tebu dengan cara mencari dan mengambil sample tanah pada lahan tebu. Tanah diambil dari lahan pertanian tebu di daerah Kalisat, PTPN XII Jatirono (Afdeling Kacangan) dan Kediri. Metode sampling yang digunakan untuk pengambilan tanah pada setiap lahan pertanian tebu tersebut adalah metode diagonal. Langkah selanjutnya, adalah melakukan metode baiting *White Trap* (Suwannaroj *et al.*, 2020) untuk melihat dan mendapatkan nematoda entomopatogen. Isolasi nematoda dilakukan sebanyak 5 ulangan dari tiap-tiap lokasi sampel tanah.

Pada tahap selanjutnya dilakukan perbanyakan massal *Steinernema* sp. isolat lokal yang dihasilkan sebelumnya dari proses baiting uret tebu dan *White trap*. Inokulasi dilakukan dalam box plastik berukuran 17x12 cm, kemudian alas bagian dalamnya di lapisi kertas saring. Kertas saring ditetesi dengan suspensi *Steinernema* sp. ± 5 ml

secara merata lalu diberi ulat hongkong (*T. molitor*) dan disimpan ditempat gelap selama 2 hari. *T. molitor* yang mati di *White trap* menggunakan *T. molitor*

Granulasi merupakan salah satu bentuk formulasi nematoda entomopatogen dalam bentuk butiran atau granul atau granuler. Dalam penelitian ini formulasi *Steinernema* sp. isolat lokal menggunakan sodium alginat (Kagimu and Malan, 2019, Kim *et al.*, 2021). Untuk keperluan formulasi, suspensi *Steinernema* sp. isolat lokal yang digunakan adalah suspensi pekat atau konsentrasi yang tinggi (± 9000 Ji/ml) yang dicampur dengan sodium alginat.

Formulasi menggunakan sodium alginat dilakukan dengan cara: melarutkan 2 gram alginat ditambah 100 ml suspensi *Steinernema* sp. isolat lokal, kemudian dimasukkan kedalam pipet titrasi atau infus kemudian diaduk-aduk selama 4-5 menit (Umamaheswari *et. al.*, 2005). Setelah itu, mengatur kecepatan tetesnya dan meletakkan larutan 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (larutan kompleks) yang telah dibuat (melarutkan 1,47 gr CaCl_2 dalam 100 ml aquades) dalam gelas kaca atau wadah dibawah tetesan infus. Campuran sodium alginat dan suspensi *Steinernema* sp. isolat lokal ditetaskan sambil diaduk-aduk terus menerus hingga selesai. Butiran-butiran granular yang terbentuk dibiarkan selama 20-30 menit lalu dipisahkan dari larutan kompleks dengan pengayakan, dibilas dengan air steril (aquades) sebanyak 3 kali dan ditempatkan pada box plastik kecil baru kemudian disimpan pada suhu 20 °C dan 25-27 °C.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan formulasi granular menunjukkan bahwa terjadi penyusutan secara berkala ukuran dari granul pada semua perlakuan. Pada pembuatan awal, ukuran formulasi sebesar 4 mm dengan penyusutan akhir ± 1 mm yang dapat dilihat pada Gambar 1. Formulasi granular yang terbentuk memiliki masa ketahanan bentuk yang semakin lama akan mengalami penyusutan dan pemadatan bentuk. Pada Gambar 2 tampak bahwa adanya perbedaan waktu penyusutan untuk formulasi yang disimpan pada suhu 20°C dan suhu ruang (25-27°C). Formulasi yang disimpan pada suhu 20° C lebih tahan lama bila dibandingkan dengan formulasi yang disimpan pada suhu 27° C.

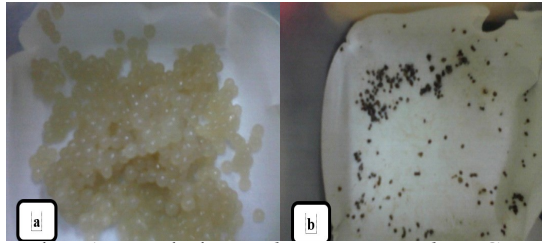
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan formulasi gel alginat pada 3 jenis *Steinernema* sp. isolat lokal hasil eksplorasi dapat

digunakan. Formulasi yang dihasilkan mengalami penyusutan dan pemadatan bentuk setiap minggunya. Formulasi pada masing-masing suhu penyimpanan memiliki daya tahan yang berbeda dimana untuk suhu 20° C mampu bertahan lebih lama (7 minggu) dibandingkan untuk suhu penyimpanan 27° C (4-6 minggu) sesuai dengan yang diungkapkan oleh Jeong *et al.* (2020) dimana ketika ada penurunan suhu terhadap gelas akan memperlambat difusi kalsium sehingga menghasilkan struktur internal yang lebih stabil dan meningkatkan kekuatan dari alginat.

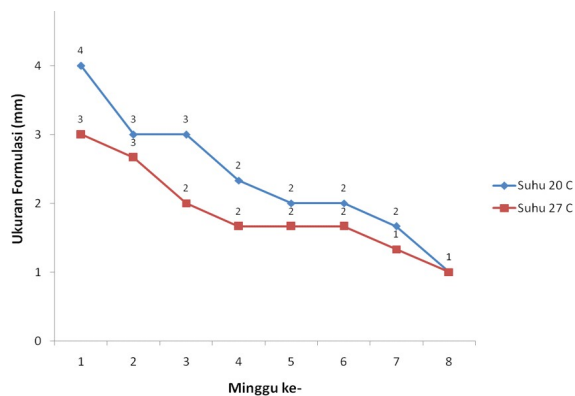
Produk formulasi dapat disimpan selama 6-12 bulan pada suhu penyimpanan 10° C dan selama 1-3 bulan pada suhu ruangan. Pada suhu penyimpanan 20° C keadaan suhu lebih terkendali dan stabil (penyimpanan pada inkubator) sedangkan pada suhu 27° C yang merupakan suhu ruangan keadaannya kurang stabil dimana keadaannya dipengaruhi oleh kondisi ruangan. Pada kondisi ini, formulasi mengalami proses penguapan lebih besar dibandingkan pada suhu penyimpanan 20° C sehingga terjadi penyusutan bentuk granul yang lebih cepat. Penyusutan dan pemadatan bentuk formulasi mempengaruhi kelangsungan hidup *Steinernema* sp. dalam formulasi. *Steinernema* sp. tidak ditemukan pada formulasi yang telah mengalami pemadatan bentuk.

Steinernema sp. isolat lokal mampu bertahan setelah disimpan dalam bentuk formulasi granular. Jumlah *Steinernema* sp. hidup yang ditemukan mengalami penurunan seiring dengan lama penyimpanan baik pada suhu 20° C maupun suhu 27° C. Berdasarkan hasil analisis ragam viabilitas *Steinernema* sp. isolat lokal, interaksi kedua faktor memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah *Steinernema* sp. isolat lokal hidup yang ditemukan ($P\text{-Value} = < 0,0001$).

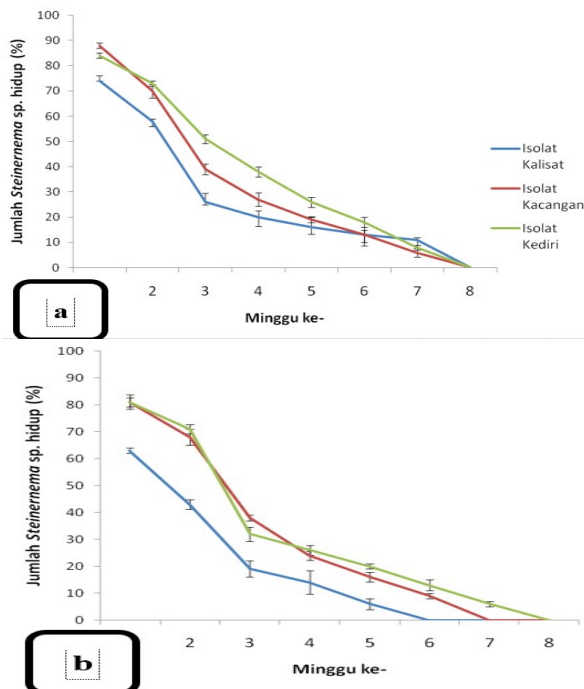
Pada pengamatan 7 hari setelah pembuatan formulasi, perlakuan isolat Kacangan-suhu 20° C ditemukan *Steinernema* sp. hidup yang paling banyak yaitu 88% sedangkan jumlah *Steinernema* sp. hidup paling sedikit ditemukan pada perlakuan isolat Kalisat-suhu 27° C yaitu 63% (Gambar 3). Pada pengamatan minggu ke 2-6, *Steinernema* sp. hidup paling banyak ditemukan pada perlakuan isolat Kediri-suhu 20° C dan yang paling sedikit pada perlakuan isolat Kalisat-suhu 27° C tetapi pada pengamatan minggu ke 7 perlakuan yang paling banyak ditemukan *Steinernema* sp. hidup adalah isolat Kalisat-suhu 20° C sebesar 11% dan yang paling sedikit adalah isolat Kalisat-suhu 27° C dan isolat Kacangan-suhu 27° C sebesar 0%.



Gambar 1. Perubahan Ukuran Formulasi Granular Sodium Alginat (A) Ukuran Awal (B) Penyusutan dan Pemadatan Formulasi



Gambar 2. Perbedaan terjadinya Penyusutan Ukuran Formulasi Granular Sodium Alginat pada Kedua Suhu Penyimpanan



Gambar 3. Perbedaan Jumlah Steinernema sp. Isolat Lokal Hidup yang Ditemukan (A) Pada Suhu Penyimpanan 20°C (B) Pada Suhu Penyimpanan 27°C

Uji Viabilitas pada Tabel 1 menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah *Steinernema* sp. hidup yang ditemukan sehingga mortalitas dari *T. molitor* mengalami penurunan baik pengamatan 24 jam maupun 48 jam. Pada Formulasi yang mengalami penyusutan dan pemadatan bentuk formulasi mempengaruhi kelangsungan hidup *Steinernema* sp. dalam formulasi. *Steinernema* sp. sehingga tidak ditemukan pada formulasi yang telah mengalami pemadatan bentuk.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa adanya interaksi antara jenis *Steinernema* sp. isolat lokal dengan suhu penyimpanan dengan hasil yang tertinggi adalah penggunaan *Steinernema* sp. Isolat lokal Kediri pada penyimpanan suhu 20°C. Masing-masing isolat lokal yang digunakan memiliki kondisi suhu tersendiri untuk dapat bertahan. Hal ini dipengaruhi oleh kondisi asal dari tiap isolat karena berasal dari daerah berbeda yang kondisi lingkungan berbeda. Dengan begitu, toleransi *Steinernema* sp. tiap isolat terhadap suhu perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda. Widiyaningrum & Fauziah (2018) dalam penelitiannya menunjukkan pada suhu rendah (15°C dan 18°C) dan suhu tertinggi (30°C), menunjukkan viabilitas yang berbeda tidak nyata serta pada suhu 21°C, 24°C dan 27°C.

Penelitian terhadap isolat lokal NEP pada beberapa negara seperti India memiliki kisaran suhu yang optimal 25°C diantara suhu 15 dan 30°C. Fenomena ini memperkuat bukti bahwa *Steinernema* sp. mentolerir suhu yang bervariasi di daerah yang berbeda di antara negara-negara, tergantung pada karakteristik ekologi masing-masing wilayah. Gulzar *et al.* (2020) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa nematoda yang diinkubasi dengan suhu 40°C akan mengalami kematian setelah 24 jam. Toleransi suhu tertinggi ada pada 37,5°C, sedangkan suhu optimum ada pada 30°C. Julia *et al.* (2020) juga menunjukkan dalam penelitiannya bahwa virulensi *S. carpocapsae* secara signifikan menurun pada suhu 15°C jika dibandingkan pada suhu 25°C.

Efektivitas perlakuan formulasi dapat diketahui dari viabilitas dan virulensi *Steinernema* sp. isolat lokal. Viabilitas yang diharapkan adalah jumlah *Steinernema* sp. hidup yang banyak ditemukan setelah dilakukan pemecahan formulasi. *Steinernema* sp. hidup banyak ditemukan pada formulasi yang disimpan pada suhu 20°C dan pada penggunaan *Steinernema* sp. isolat Kediri.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Pengaruh Perlakuan Formulasi Granular pada 2 Jenis Suhu Penyimpanan Terhadap Viabilitas *Steinernema* sp. Isolat Lokal.

Perlakuan	Viabilitas <i>Steinernema</i> sp. pengamatan minggu ke- (dalam %)							
	1	2	3	3	4	5	6	7
Isolat Kediri – Suhu 20 ⁰ C	84 a	73 a	51 a	38 a	26 a	18 a	8 b	0 ns
Isolat Kalisat – Suhu 20 ⁰ C	74 b	58 b	26 c	20 b	16 b	13 a	11 a	0 ns
Isolat Kacangan – Suhu 20 ⁰ C	88 a	70 a	39 b	27 b	19 b	13 b	6 c	0 ns
Isolat Kediri – Suhu 27 ⁰ C	81 c	71 c	32 c	26 b	20 b	13 c	6 c	0 ns
Isolat Kacangan – Suhu 27 ⁰ C	81 c	68 c	38 b	24 bc	16 c	9 d	0 d	0 ns
Isolat Kalisat – Suhu 27 ⁰ C	63 d	43 d	19 d	14 c	6 d	0 e	0 d	0 ns

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda menurut Uji Duncan Multiple Range Test pada taraf 5%

4. KESIMPULAN

Nematoda entomopatogen, *Steinernema* sp. isolat lokal Kalisat, Kacangan dan Kediri mampu bertahan setelah dilakukan formulasi selama 7 minggu (suhu 20⁰ C) dan 4-6 minggu (suhu 27⁰ C) baik dalam bentuk gel maupun keberadaannya dalam formulasi (viabilitas). Suhu penyimpanan juga memiliki pengaruh penting terhadap viabilitas, ketahanan bentuk formulasi dan virulensi *Steinernema* sp. isolat lokal. Hal ini tampak pada hasil ketahanan bentuk, viabilitas dan virulensi dimana suhu penyimpanan 20⁰ C memberi hasil tertinggi.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Gulzar, S., M. Usman, W. Wakil, B. Gulcu, C. Hazir, M. Karagoz, S. Hazir, & D. I. Shapiro-Ilan. 2020. Environmental Tolerance of Entomopathogenic Nematodes Differs Among Nematodes Arising from Host Cadavers Versus Aqueous Suspension. *Journal Of Invertebrate Pathology*. 175(107452):1-7.
- Habriantono, B. & F. 2021. Alfariy. Biological Control of White Grubs (*Lepidota Stigma* L; Coleoptera; Scarabaeidae) with Entomopathogenic Nematodes and Fungus *Metharizium Anisopliae* (Metsch). *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science*. 759(012023):1-5.
- Hidayah, A. R., W.S. Harijani, W. Widajati, & D. Ernawati. 2019. Potensi Jamur Entomopatogen *Metarhizium Anisopliae*, *Beauveria Bassiana* dan *Streptomyces* Sp. terhadap Mortalitas *Lepidota Stigma* pada Tanaman Tebu. *Plumula: Berkala Ilmiah Agroteknologi*. 7(2):64-72.
- Indrayani, I. G. A. A., S. Subiyakto, & C. Chaerani. 2018. Pathogenicity of Entomopathogenic Nematode on Sugarcane White Grub *Lepidota Stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Buletin Plasma Nutrafah*. 24(2): 83-88.
- Jeong, C., S. Kim, C. Lee, S. Cho, & S.B. Kim. 2020. Changes in The Physical Properties of Calcium Alginate Gel Beads Under a Wide Range Of Gelation Temperature Conditions. *Foods*. 9(2): 1-15.
- Julià, I., A. Morton, M. Roca, & F. Garcia-Del-Pino. 2020. Evaluation of Three Entomopathogenic Nematode Species Against Nymphs and Adults of The Sycamore Lace Bug, *Corythucha Ciliata*. *Biocontrol*. 65:623-633.
- Kagimu, N. & A. P. Malan. 2019. Formulation of South African Entomopathogenic Nematodes using Alginate Beads and Diatomaceous Earth. *Biocontrol*. 64:413-422.
- Kim, J., I. Hiltbold, G. Jaffuel, I. Sbaiti, B. E. Hibbard, & T. C. Turlings. 2021. Calcium-Alginate Beads as A Formulation for The Application of Entomopathogenic Nematodes to Control Rootworms. *Journal Of Pest Science*. 94:1197-1208.
- Labaude, S. & C. T. Griffin. 2018. Transmission Success of Entomopathogenic Nematodes used in Pest Control. *Insects*. 9(2):1-20.

- Rahayu, S., A. Triyogo, S. M. Widyastuti, & F. Ardianyah. 2021. Pests and Diseases on Falcataria Moluccana Trees in Agroforestry Systems with Pineapple in East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 22(5):2779-2788.
- Sarjan, M., M. Muchlis, & I. Muthahanas. 2021. The Diversity of Major Insect Pests at Sugarcane Development Center in Dompu Distrcit, West Nusa Tenggara. *Journal Of Science Science Education*. 2(1):38-46.
- Sunarto, D. A. 2020. Verification of The Implementation of Land Cover Technology with Plastic Mulch for Control of White Grubs Lepidiota Stigma Fabricius in Sugarcane. International Conference and The 10th Congress of The Entomological Society of Indonesia (Iccesi 2019), *Atlantis Press*. 201-207.
- Suwannaroj, M., T. Yimthin, C. Fukruksa, P. Muangpat, T. Yooyangket, S. Tandhavanant, A. Thanwisai, & A. Vitta. 2020. Survey of Entomopathogenic Nematodes and Associate Bacteria in Thailand and Their Potential to Control Aedes Aegypti. *Journal Of Applied Entomology*. 144: 212-223.
- Tiffani, N. & H. Ramdan. 2020. The Characteristics of Acacia Mangium Stands at Site 23 B, Rph Maribaya, Bkph Parung Panjang, Kph Bogor Which is Attacked by Pests and Diseases. *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science, Iop Publishing*. 1-10.
- Widiyaningrum, P. & L. Fauziyah. 2018. Biological Activity of Local Entomopathogenic Nematodes from Two Different Origins Based on Various Temperatures. *Journal Pakistan Journal of Biological Sciences: Pjbs*. 21:95-100.