

## Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp. dalam Media Kombinasi Senyawa Humik

WAGIYANA, Didik SULISTYANTO, dan Sugeng WINARSO

Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Jember

**ABSTRACT.** Its well known, That Entomopathogenic Nematods (EPNs) used as biological agents which effective to control pest of *Spodoptera litura* (Noctuidae: Lepidoptera). The aims of this research were to find out the multifunction product as well as a biofertilizer and biopesticide which suitable for agriculture sustainability, secondly the materials were to mixed the humic compound and biological agent Entomopathogenic Nematodes (EPNs). Combination of biopesticide with EPNs as active ingredient and humic compound as biofertilizer to find out a good product combination which indicated the highest viability and activity of EPNs *Steinernema* spp on humic compound, in order application of these material more effective and efficient to prepare the soil fertility and pest problem. This research was done with inoculation of EPNs on the medium/culture e.c: phosphate soluble bacteria *Pseudomonas putida* 27.4B, zeolit and the humic compound (liquid culture). Pathogenicity test of EPNs were done after incubation on the humic compound to the larvae of *S. litura*.

The result of this research showed that long time of viability EPNs only for fourth weeks on the humic culture at (4000 ppm). Actually the EPNs from this incubation could 100 % mortality of the *S. litura* larvae after 72 hours inoculation. The infection rate of EPNs on the larvae *S. litura* was 30,3 tails during 24 hours incubation. The viability of EPNs *Steinernema* spp on the medium with 1000 ppm humic compound was 20 % after 120 hours and after 4 weeks later all EPNs could not survive on this medium. It seems, the medium containing zeolith, *P. putida* 27.4B and humic compound at 1000 ppm was not suitable medium neither for nematods growth or larvae *S. litura* survival.

*Keys words: Viability, EPNs, Humic.*

### PENDAHULUAN

Hingga saat ini sebagian besar lahan-lahan pertanian di Indonesia sangat membutuhkan pupuk dan pestisida untuk mendapatkan produk yang tinggi dan berkualitas, sehingga menguntungkan usahataniannya. Permasalahan utama dalam pemupukan adalah penggunaan jenis (macam unsur) yang terbatas hanya unsure N,P, dan K saja padahal tanaman membutuhkan 16 unsur hara pokok (Tisdale, 1985); disamping itu aplikasinya kurang rasional dalam penentuan dosis pupuk yang diberikan, hal itu menyebabkan penerapan konsep-konsep pertanian modern yang sangat tergantung pada pupuk dan pestisida buatan sering dalam aplikasinya justru dapat menurunkan sifat-sifat tanah lebih lanjut dapat menurunkan produksi dan keamanan lingkungan (Setiono, 1989; Doran and Jones, 1999). Sementara itu teknologi pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) hampir pada semua komodite masih bertumpu pada penggunaan pestisida kimiawi. Seperti insektisida golongan organoklorin (Clordane dan dieldrin) dikenal sangat efektif dan mampu memberikan perlindungan terhadap serangan OPT pada tanaman pertanian, khususnya pada komodite tanaman pangan namun aplikasi insektisida tersebut mempunyai potensi untuk meracuni lingkungan, binatang nontarget, ternak, dan manusia. Pengendalian hayati di dalam konsep dasar Pengendalian Hama Terpadu (PHT) memegang peran yang sangat penting, seperti penggunaan agensia hayati yang makin memperoleh perhatian besar karena bahaya penggunaan insektisida senyawa sintetik sudah

semakin menimbulkan banyak permasalahan pada serangga hama dan lingkungan (Untung, 1993). Penggunaan Nematoda Entomopatogen (NEP) merupakan salah satu alternative untuk mengendalikan hama dari golongan Lepidoptera pada berbagai komodite tanaman yang tanpa menimbulkan dampak negative pada musuh alami hama, lingkungan dan tidak meracuni manusia dan vertebrata (Boomare, 1996).

NEP yang potensial sebagai agensia hayati adalah dari golongan Steinernema dan Heterorhabditis yang bersimbiose dengan bakteri komplek Xenorhabdus dan Photorhabdus dinegara-negara maju sudah digunakan sebagai agensia hayati untuk mengendalikan hama pada tanaman pertanian maupun hama pada padang golf (Akhrust and Boomare, 1990, House, et.al. 1990). Penetrasi NEP dan bakteri simbiannya kedalam tubuh serangga dapat melalui lubang alami, seperti mulut, anus, trachea, stigma atau menembus langsung melalui kutikula (Bedding and Molyneux, 1992) Setelah masuk kedalam tubuh serangga NEP akan melepaskan bakteri dan berkembang biak di dalam haemolimp setelah 24 – 48 jam serangga akan mati (Sulistyanto dan Ehler, 1996).

Penelitian bioteknologi modern untuk meningkatkan patogenesitas, virulensi, produksi missal dan formulasi NEP merupakan rintisian untuk menyediakan agensia hayati yang diharapkan menjadi biopestisida untuk mengatasi permasalahan hama yang semakin komplek. Sebagai contoh aplikasi NEP yang menunjukkan

keberhasilan diantaranya: pengendalian hama uret (Curculionidae) pada akar tanaman jeruk yang dapat mengendalikan 50-60% (Simoes and Rosa, 1996), hama lalat jamur tiram (Sciaridae) dengan *S. fertiae* mampu mengendalikan 51-94% (Grewal dan Richardson, 1993), hama tembakau *Spodoptera litura* dan *Helicoverpa* spp dapat dikendalikan sekitar 80% dengan nematode *S. carpocapsae*, hama uret tebu *Lepidiotia stigma* dan *Annomala viridis* dengan nematode *Heterorhabditis* spp mampu mengendalikan hama tersebut dengan baik (Sulistiyanto, dkk, 1999). Di Eropa aplikasi *H. bacteriophora* berhasil mengendalikan hama uret dari *Phyllopertha horticola* dan *Aphodius contaminotus* (Coleoptera: Scarabaeidae) yang mencapai 65% dan 83% sementara aplikasi nematoda *H. megidis* hanya mampu mengendalikan 52% dan 70% pada serangga hama yang sama (Sulistiyanto dan Ehler, 1996). Di Indonesia pengujian terhadap nematoda entomopatogen isolate lokal dari jenis *Steinernema* spp dapat mengendalikan hama kubis *Plutella xylostella* dan *Crocidolomia binotalis* sebesar 80-90% setelah 48 jam aplikasi dengan dosis 100 infektif *juvenile* (ij) (Sulistiyanto, 1999). Perkembangan teknik pembiakan massal NEP ditekankan pada teknologi produksi massal dan formulasi NEP sehingga murah, mudah, efektif, efisien dan kompatibel dengan teknologi lain seperti dalam produksi biofertilizer (Sulistiyanto, 1999, dan Ehler, 1996).

Sementara itu kajian tentang perbaikan kesuburan tanah dengan bahan-bahan organik telah berkembang dengan diketemukannya mikroba dikomposes seperti EM-4, bakteri pelarut fosfat; sebenarnya bahan organik di dalam tanah terdiri dari campuran sisa-sisa tanaman dan hewan pada berbagai tingkat dekomposisi, campuran dari senyawa-senyawa yang disintesis dari hasil pelapukan baik secara kimiawi maupun biologi serta mikroorganisme, binatang kecil dan sisa-sisa dekomposisi (Schnitzer, 1982; Stevenson, 1982; Paul and Clark, 1989). Sebesar bahan organik tanah tersebut terdiri dari senyawa humik (Barber, 1984) yang diperkirakan mencapai 65-98% pada tanah-tanah anorganik, hasil penelitian Winarso (1996) menunjukkan bahwa distribusi senyawa humik pada tanah *Typic Haplohumult* di Gajrug Jawa Barat terdiri atas 65% humin, 25% asam vulvik, dan 10% asam humik. Pemisahan fraksi-fraksi senyawa humik didasarkan pada kelarutan dalam larutan asam dan alkali yaitu: 1) asam humik merupakan fraksi humik yang larut dalam alkali encer tetapi dapat mengendap oleh pemanasan; 2) asam vulvik merupakan fraksi humik yang dapat larut pada alkali encer maupun asam, dan 3) humin merupakan fraksi humik yang tidak dapat diekstrak dari tanah (sediment) oleh asam maupun basa encer (Schnitzer, 1982; Stevenson, 1982; Schuppli dan Mc Keague, 1984). Fraksi humik khususnya asam fulvik sangat dominant dalam meningkatkan nilai KTK dan menurunkan pH tanah, sertas mengikat logam-logam berat di dalam tanah seperti Al pada tanah mineral masam (Winarso, 2000) apabila dibandingkan dengan fraksi lain dari senyawa humik.

Dari uraian di atas sangatlah penting untuk membuat produk yang mempunyai multifungsi baik sebagai bahan pembenah tanah (pupuk) dan biopestisida berbahan aktif NEP yang ramah lingkungan dan sangat baik diaplikasikan pada tanah-tanah marginal dan rawan serangan OPT penting seperti *S. litura*; *H. armigera*; *L. stiga*; *A. viridis* dan jenis hama lainnya. Sehingga dalam aplikasinya nanti diharapkan produk multifungsi tersebut dapat menghemat biaya tenaga kerja dalam operasional usahatani yang dapat meliputi sasaran penggunaan lahan yang sangat luas dan efektif sebagai produk paket biopestisida dan biofertilizer yang sekaligus dapat mengendalikan hama-hama penting, lebih jauh dapat meningkatkan produksi tanaman yang ramah lingkungan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dalam bulan Juli sampai dengan September 2007 di Laboratorium Pengendalian Hayati Jurusan HPT Fakultas Pertanian UNEJ. Dalam percobaan ini dilakukan uji kemampuan hidup NEP jenis *Steinernema carpocapsae* pada senyawa humik; senyawa humik diperoleh dari ekstrak kompos jerami padi yang dilakukan secara konvensional dengan metode Schuppli and Mc Keague (1984), rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan variasi konsentrasi baik NEP maupun media cair senyawa humik. Dosis NEP yang diinokulasikan pada senyawa humik adalah: 100.000 ij/ml; 250.000 ij/ml; 400.000 ij/ml; 500.000 ij/ml dan kontrol, NEP diinokulasikan pada media humik (biofertilizer) untuk mengetahui viabilitas NEP dalam media tersebut diambil sampel sebanyak 1 ml larutan yang diulang sebanyak tiga kali pada masing-masing perlakuan dengan interval pengambilan sampel 24 jam.

Pengujian patogenitas NEP jenis *Steinernema* spp juga dilakukan terhadap ulat *S. litura* dengan pola rancangan dan perlakuan seperti tersebut di atas. Setelah itu dilakukan penghitungan laju infeksi NEP pada ulat yang mati dengan cara membedah tubuh ulat kemudian dihitung jumlah NEP yang masuk dalam kurun waktu tertentu dengan bantuan mikroskop cahaya.

Viabilitas NEP juga di uji pada media tanah dan humik dengan volume campuran agregat sebanyak 4 kg, NEP dari media Bedding, NEP + humik, dan NEP dari spon formulasi digunakan sebagai perlakuan, konsentrasi NEP yang digunakan 500.000 ij/100 ml dengan ulangan pada setiap perlakuan sebanyak tiga kali, pengamatan dilakukan terhadap viabilitas NEP yang hidup dalam tanah yang diinokulasi NEP dengan cara mengambil sampel sebanyak 10 gr tanah yang masing-masing diulang tiga kali pada setiap pot, pengamatan viabilitas NEP dilakukan pada 7 dan 14 hari setelah inokulasi. Selanjutnya tanah yang telah diinokulasi NEP seperti tersebut di atas diinokulasi larva *S. litura* instar 5 (L5) atau menjelang pupa sebanyak tiga ekor larva pada masing-masing pot, mortalitas larva diamati pada 5, 7, dan 14 hari setelah inokulasi.

Analisis data dilakukan dengan analisis varian jika ada beda nyata antar perlakuan dilakukan uji kisaran jarak berganda Duncans pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian pendahuluan menunjukkan bahwa nematoda entomopatogen jenis *S. carpocapsae* yang diinokulasikan pada media cair senyawa humik tidak mampu bertahan hidup sampai dua minggu setelah inokulasi, bahkan dalam 10 hari setelah inokulasi viabilitas NEP yang masih hidup hanya berkisar 25% dari inokulasi awal sebanyak 500.000 ij/100 ml, hal itu mungkin disebabkan konsentrasi senyawa humik yang sebesar 5000 ppm masih terlalu pekat bagi NEP sehingga menyebabkan viabilitasnya sangat rendah, disamping itu senyawa-senyawa basa pada bahan Zeolit yang ditambahkan kemungkinan dapat mematikan NEP, untuk itu dalam pengujian berikutnya digunakan konsentrasi 1000 ppm. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dengan menurunkan konsentrasi senyawa humik tersebut viabilitas NEP setelah 120 jam pengamatan hanya mencapai 20,7 % (Tabel 1).

**Tabel 1.** Viabilitas Nematoda Entomopatogen dalam media cair senyawa humik 1000 ppm pada berbagai waktu pengamatan

Waktu (jam)	Jumlah NEP hidup (ekor)	Persentase Hidup (%)
24	98	18,1
48	101	18,7
72	102	18,8
96	117	21,7
120	112	20,7

Catatan: inokulasi NEP pada konsentrasi 54.000 ij/ml

**Tabel 2.** Patogenesis NEP *S. carpocapsae* pada Larva *S. litura* pada berbagai konsentrasi pengujian

Konsentrasi inokulasi NEP (ij/ml)	Mortalitas larva <i>S. litura</i> (%) setelah .....inokulasi		
	24 jam	48 jam	72 jam
4000	96,7 c	100 c	100 a
2000	66,7 b	96,7 b	100 a
1000	66,7 b	100 c	100 a
500	60,0 b	98,7 b	100 a
250	30,0 a	76,7 a	100 a

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikutimoleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada taraf 5%.

Efektivitas NEP *S. carpocapsae* didasarkan pada kemampuannya untuk menimbulkan mortalitas larva *S. litura* yang merupakan hama utama tanaman kedele, tembakau, hasil inokulasi setelah 24 jam sudah menunjukkan kematian pada larva yang diujikan dengan mortalitas terendah 30 % dan tertinggi 96% yang jelas semakin tinggi konsentrasi yang diujikan akan semakin tinggi mortalitas yang ditimbulkan (Tabel 2), Setelah 72 jam pengujian larva mati 100%. Hal ini mengindikasikan bahwa NEP *S. carpocapsae* memang efektif untuk mengendalikan hama golongan

Lepidoptera seperti hama kedele atau tembakau *S. litura* (Sulistiyanto dan Ehler, 1996).

Hasil pengamatan laju infeksi NEP yang masuk ke dalam tubuh serangga dilakukan dari larva yang mati pada pengujian di atas hasilnya menunjukkan bahwa jumlah NEP yang masuk ke dalam tubuh larva *S. litura* paling tinggi terjadi setelah 24 jam inokulasi hal itu sesuai dengan tabel 2 yang menunjukkan bahwa mortalitas larva terjadi setelah 24 jam inokulasi NEP. Laju infeksi semakin banyak pada jumlah inokulasi NEP yang tinggi disini sepertinya ada korelasi positif antara laju infeksi dengan jumlah NEP yang diinokulasikan pada ulat *S. litura* Tabel 3.

**Tabel 3.** Laju infeksi NEP *S. carpocapsae* pada Larva *S. litura* pada berbagai konsentrasi inokulasi

Konsentrasi inokulasi NEP (ij/ml)	Jmlh NEP yg masuk pd larva <i>S. litura</i> (ekor) setelah .....inokulasi		
	24 jam	48 jam	72 jam
4000	30,3 d	55,0 c	0,0 a
2000	20,0 c	10,3 b	4,0 b
1000	16,7 b	3,7 a	0,0 a
500	13,7 a	6,0 a	4,0 b
250	11,0 a	2,3 a	4,0 b

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikutimoleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada taraf 5%.

Laju infeksi berhubungan erat dengan potensi NEP sebagai agens hayati dimana semakin tinggi laju infeksi menandakan bahwa jenis NEP tersebut merupakan nematoda yang agresif dalam menemukan dan menyerang inangnya. Selain dipengaruhi oleh sifat dan perilaku nematoda faktor kutikula serangga sangat menentukan tingkatan laju infeksi NEP.

Pengujian viabilitas dan patogenesis NEP di dalam tanah yang diinokulasi senyawa humik menunjukkan jumlah NEP *S. carpocapsae* yang hidup masih cukup tinggi di atas 1000 ekor (Tabel 4). Inokulasi NEP dari media Bedding menunjukkan viabilitas yang tinggi, hal itu disebabkan nematode masih baru dipanen dari media Bedding sehingga masih segar dengan kata lain viabilitas NEP *S. carpocapsae* masih fresh atau segar sehingga mempunyai kemampuan bertahan pada tanah masih sangat tinggi, disamping itu nematoda mempunyai potensi berkembang biak yang sangat besar jika menemukan serangga inangnya.

**Tabel 4.** Viabilitas NEP *S. carpocapsae* di dalam tanah yang diinokulasi dengan senyawa humik pada berbagai perlakuan inokulasi NEP

Perlakuan NEP	Jumlah NEP hidup (ekor) setelah	
	7 hari	14 hari
NEP dari Bedding	3.850 c	1.750 bc
NEP + Senyawa Humik	2.645 b	1.000 b
NEP dari formulasi spon	1.651 a	0 a

Inokulasi NEP+ senyawa humik menunjukkan berbeda nyata dengan inokulasi NEP yang berasal dari spon hal ini dimungkinkan karena adanya senyawa humik pada konsentrasi yang tepat dan berada di dalam tanah dapat membantu viabilitas NEP yang diinokulasikan, kemungkinan lain senyawa=senyawa yang terkandung di dalam senyawa humik dapat membantu dalam menyediakan nutrisi bagi nematode sehingga dapat mendukung viabilitas NEP. Table 4 juga menunjukkan bahwa jumlah NEP berdasarkan waktu inokulasi menurun yaitu sekitar 60% dari 7 hingga 14 hari inokulasi untuk perlakuan NEP dari Bedding dan NEP + senyawa humik, sedangkan untuk NEP dari spon formulasi menurun 100% menjadi nol (mati semua) dengan waktu yang sama.

Patogenesitas NEP *S. carpocapsae* didalam tanah (volume 4 kg) yang diberi senyawa humik ternyata tidak menunjukkan pengaruh yang nyata dibanding dengan inokulasi dan yang berasal dari formulasi spon (Tabel 5).

**Tabel 5** Mortalitas Larva *S. litura* Pada Berbagai Perlakuan Inokulasi NEP selama 14 hari pengamatan

Perlakuan NEP	Mortalitas Larva <i>S. litura</i> (%) pada		
	5 hari	7 hari	14
NEP dari Bedding	0,0 a	23,3 b	88,8 b
NEP + Senyawa Humik	33,3 c	11,1 a	66,6 a
NEP dari formulasi spon	11,1 b	44,4 c	66,6 a

Catatan: larva yang diinokulasikan instar 5 (L 5)

Mortalitas larva *S. litura* tertinggi. mencapai 66,6% setelah 14 hari inokulasi, inokulasi NEP yang berasal dari media Bedding pada tanah menunjukkan patogenesitas tertinggi yang mencapai 88,8% hal ini disebabkan viabilitas NEP yang diinokulasikan masih tinggi sehingga mampu menimbulkan kematian pada larva *S. litura* dengan cepat. Secara umum mortalitas larva *S. litura* meningkat dengan bertambahnya waktu inokulasi hal ini berkaitan dengan kondisi epizootik NEP *S. carpocapsae* yang mana untuk dapat menimbulkan mortalitas larva diperlukan dalam kondisi dan jumlah nematoda tertentu didalam tubuh serangga inang. Lamanya mortalitas larva *S. litura* pada inokulasi di dalam tanah ini disebabkan karena larva yang diujikan berupa instar 5 (L 5) yang mana menjelang prepupa sehingga perilakunya selalau bergerak ke dalam tanah untuk membentuk pupa, pada stadia ini kutikula larva sangat tebal dan kuat sehingga sangat sulit untuk dipenetrasi NEP.

## KESIMPULAN

1. Kombinasi biopestisida dengan bahan aktif nematode entomopatogen *Steinernema carpocapsae* dan biofertilizer *Pseudomonas putida* 27.4B, zeolit dalam media cair senyawa humik tidak mampu bertahan sampai dua minggu inkubasi yang

ditunjukkan oleh rendahnya viabilitas nematoda tersebut

2. Viabilitas Nematoda Entomopatogen pada senyawa humik dengan konsentrsi 1000 ppm mencapai sebesar 20 % setelah 120 jam inokulasi
3. Patogenesitas NEP yang bertahan hidup dalam senyawa humik terhadap larva *Spodoptera litura* mencapai 100% dengan laju infeksi sebesar 30,3 ekor setelah 24 jam inokulasi
4. Patogenesitas NEP di dalam tanah terhadap larva *S. litura* mencapai 66,6% pada peralakuan NEP dan senyawa humik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar— besarnya kepada Kementerian RISTEK yang telah membantu dalam pembiayaan penelitian ini melalui program Insentif Ristek Terapan Tahun 2007, serta kepada semua tim peneliti yang telah membantu selama berlangsungnya penelitian, data ini merupakan sebagian dari penelitian tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhrust ,R.J and N.E. Boomare, 1990. Biology and Taxonomy of Xenorhabdus in: Gaugler R and H.R. Kaya (Eds) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, Florida: CRC. Press
- Barber,S.A. 1994. Soil Nutrient Bioavailability. A Mechanistic Approach. A Willey - Intescience Publ. New York 20-21.
- Bedding, R.A; and R.F. Molyneux, 1992. Low cost in vitro mass production of neoplectana and heterorhabditis species (nematode) for field control of insect pest. *Nematologica*. **27**(1): 110-115.
- Boomare,N.E; J. Lonmand and H. Moulion, 1996. The entomopathogenik nematodes bacterium complex, biology, life cycle and vertebrate safety. *J. Biocontrl. Sci, and Tech*. **6**: 333-346.
- Doran,J.W and A.J. Jones, 1999. Methodes for assessing Soil Quality. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin.
- Ehler, R.U. 1996. Current and future use of nematode in biocontrol. In practice and commercial aspect with regard to regulator policy issues. *J. Biocontrl Sci. Technol*. **6**(3): 116-121.
- Grewal and Richardson, 1993. Effect of application rates of steinernema feltiae on biological control of mushroom fly *Lycopriella auripila* (Diptera: Sciaridae). *J. Biocontrl. Sci. and Tech*. **8**: 29-40
- House, G.J. and J.M.Lana, 1990. Pest Management in Sustainable Agriculture System. In: Edward, C.A; R.Lal, P.Madden; R.H. Millerand, G.House (Eds). Sustainable Agriculture System Soil, Water Conservation. Society Anleny Iowa. 157-173.
- Paul, E.A. and F.E. Clark, 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press Inc USA 132.
- Simoes,N and J.S. Rosa, 1996. Pathogenecity and hosdt specifity of entomopathogenic nematodes. *J. Biocontrl. Sci. and Tech*. **6**: 403 – 412.

- Schnitzer, M. 1982. Organic Matter Characterization In: Page, A.M; R.H. Miller and D.R. Keeney, 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2 Chemical and Microbiology Properties 2<sup>nd</sup> Ed. Amer. Soc. of Agro, Inc. Wisconsin USA
- Schuppli, P.A. and J.A. Mc Keague, 1984. Limitation of alkali-extractable organic fraction as bases of soil classification criteria. *Can. J. Soil Sci* **64**: 173-186.
- Setiono, S. 1989. Problem Kesuburan Tanah Utama Pada Lahan Kering di Jawa Timur. Makalah Lokakarya Potensi dan Problem Lahan Kering di Jawa Timur. HITI Komda Jawa Timur, UNIBRAW 1-12.
- Sulistiyanto, D. 1999. Bioinsektisida Baru NEP Dalam Konsep Pertanian Berwawasan Lingkungan. Sem Reg. Univ, Jember.
- Sulistiyanto, D. and R.U. Ehler, 1997. Host Invasion and Genetic Selection for Enhanced Penetration Activity in: Simoes, N; N.E Boomare and R.U. Ehler (Eds) Entomopathogenic Nematodes Pathogenicity of EPN versus Insect Defence Mechanism. Azorech, Portugal Cost. 812 p: 67-70.
- Stevenson, F.J. 1982. Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reaction. A Willey-Inc. Publish. John Willey and Son, Toronto
- Tisdale, S.L; W.L. Nelson, and J.D. Benton, 1985. Soil Fertility and Fertilizers. 4<sup>nd</sup>. Mc Millan Publish omp. New York
- Untung, K. 1993. Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu, Gadjah Mada University Press Yogyakarta.
- Winarso, S. 1996. Pengaruh Penambahan Bahan Organik Segar dan Dikomposkan Terhadap Pengkelatan Aluminium oleh Senyawa-senyawa Humik pada Typic haplohumult. Tesis S2 IPB Bogor.
- Winarso, S; A. Mujiharjati dan Suhartatik. 2000. Kemampuan Senyawa-senyawa Humik Tanah yang Ditambah Kompos *Glyllicidia sepium* dalam Mengkelat Tembaga (Cu) pada Tanah Inceptisol. Prosd. Sem. HITI Komda Jawa Timur, Jember.