

**Aktivitas Nematisidal Daun, Batang, dan Bunga *Tithonia diversifolia* terhadap Nematoda
Puru Akar *Meloidogyne incognita* secara *in vitro***
(*in vitro* Nematicidal Activity of Leaves, Stems, and Flowers of *Tithonia diversifolia* against
Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*)

Muhammad Firdaus Oktafiyanto, Ankardiansyah Pandu Pradana, dan Abdul Munif
Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Email: abdulmunif@ipb.ac.id

ABSTRACT

Root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is a soil-borne pathogen in plantation crops. Tea, coffee, pepper, tobacco, and patchouli plant have been reported as host of this nematode. Environmentally friendly, inexpensive, and effective technique is required to control the population of *M. incognita*. Utilization of tithonia plant as botanical nematicide is an alternative solution needs to be applied. A total of 1:10 (w/v) of leaves, stems, and flowers of tithonia was boiled. Further, the decoction was used in the *in vitro* mortality test of J2 of *M. incognita*. The result showed that decoction of leaves, stems, and flowers of tithonia at various concentrations led to nematicidal effect against *M. incognita*. Best performance of nematicidal activity was found in the decoction of flowers at a concentration of 50%. This study provides new information concerning nematicidal effect of decoction of leaves, stems, and flowers of tithonia against *M. incognita*.

Keywords: active ingredients, botanical nematicide, decoction, extract, mortality

PENDAHULUAN

Nematoda puru akar (NPA) *Meloidogyne incognita* merupakan patogen yang menginfeksi beberapa tanaman perkebunan. *M. incognita* dilaporkan menginfeksi tanaman kakao (Sharma 1977), kopi (Carneiro *et al.* 2004), nilam (Neog & Bora 2007), tembakau (Sosa-Moss *et al.* 1983), dan lada (Ravindra *et al.* 2014). Akar tanaman yang terinfeksi oleh nematoda ini akan menunjukkan gejala puru, yaitu munculnya benjolan-benjolan pada akar. Puru pada akar menyebabkan akar tidak mampu bekerja secara optimal dalam menyerap air dan nutrisi dari tanah. Terganggunya penyerapan air dan nutrisi berpengaruh pada menurunnya kualitas dan kuantitas produk akhir tanaman yang terinfeksi (McClure *et al.* 1974; Sosa-Moss *et al.* 1983).

Infeksi NPA di Indonesia pada tanaman perkebunan telah dilaporkan, seperti infeksi pada tanaman tembakau di Temanggung (Yulianti 2015). NPA juga dilaporkan menginfeksi tanaman kopi di Kabupaten Lampung Barat, dan Kabupaten Tanggamus Provinsi Lampung. Frekuensi absolut NPA pada tanaman kopi di kedua kabupaten tersebut berkisar 0.17

sampai dengan 0.40. Populasi *Meloidogyne* spp. pada tanaman kopi di Kabupaten Lampung Barat dan Kabupaten Tanggamus merupakan populasi nematoda parasit tertinggi setelah *Pratylenchus* sp., dan *Radopholus* sp (Swibawa 2014). Nematoda ini juga dilaporkan menyebabkan penyakit kuning pada tanaman lada di beberapa daerah di Indonesia. Penyakit kuning tanaman lada di Provinsi Bangka Belitung dilaporkan disebabkan oleh infeksi *Meloidogyne* spp., *Radopholus* sp., dan *Fusarium oxysporum* (Daras & Pranowo 2009).

Populasi NPA di tanah perlu dikelola agar tidak menimbulkan kehilangan hasil yang berarti pada tanaman perkebunan. Pengelolaan populasi NPA perlu dilakukan secara bijak agar tidak menimbulkan efek negatif bagi lingkungan dan produk perkebunan. Salah satu bentuk pengelolaan patogen yang ramah lingkungan adalah memanfaatkan ekstrak nabati sebagai substitusi pestisida kimia sintetik (Cook et al. 2006; Pavela 2007). Tanaman-tanaman yang mengandung senyawa antimikroba memiliki potensi yang besar untuk dimanfaatkan sebagai pengendali hama dan patogen (Chariandy et al. 1999; Kagale et al. 2004).

Tithonia diversifolia atau sering disebut dengan tanaman tithonia atau ki pahit adalah tanaman liar yang banyak tumbuh di sekitar aliran sungai, pekarangan dan lahan pertanian. Tanaman ini dikategorikan sebagai gulma berdaun lebar yang memiliki pertumbuhan sangat cepat (Olabode et al. 2007). *Tithonia* sudah banyak digunakan sebagai pestisida nabati untuk mengendalikan hama dan patogen tanaman karena tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, tanin terpenoid, dan saponin yang mampu menurunkan intensitas serangan hama dan patogen (Adedire & Akinneye 2004).

Tindakan pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT) di lapangan sering terkendala oleh faktor harga bahan pengendali yang mahal, atau teknik aplikasi yang kurang praktis bagi petani. Petani tanaman perkebunan terutama golongan petani kecil membutuhkan teknik pengendalian OPT yang efektif, terjangkau secara ekonomi, namun mudah untuk dilakukan. *Tithonia* sebagai tanaman yang mudah ditemui, dan mengandung senyawa antimikroba berpotensi menjawab masalah di atas. Meskipun memiliki potensi yang besar, namun sampai saat ini keefektifan rebusan tanaman tersebut dalam mengendalikan *M. incognita* belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi keefektifan daun, batang, dan bunga *Tithonia diversifolia* pada berbagai konsentrasi dalam mengendalikan *Meloidogyne incognita* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penyediaan Rebusan Daun, Batang, dan Bunga *Tithonia diversifolia*

Tanaman tithonia diperoleh dari kebun milik petani di Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Bagian tanaman diperoleh atas izin pemilik lahan. Masing-masing bahan (daun, batang, dan bunga) ditimbang kemudian dicampur akuades dengan perbandingan 1:10 (w/v). Campuran tersebut direbus hingga mendidih di dalam gelas kaca. Rebusan kemudian didinginkan hingga suhu mencapai 25 °C – 28 °C. Rebusan yang telah

dingin kemudian disaring menggunakan saringan dengan ukuran 500 mesh agar diperoleh suspensi yang bersih. Suspensi tersebut diukur keasamannya menggunakan kertas pH, kemudian disimpan di botol kaca pada suhu 4 °C sampai dengan digunakan untuk pengujian (Elya & Shodiq 2012).

Penyediaan J2 *Meloidogyne incognita*

Akar tanaman tomat yang terinfeksi *M. incognita* dicuci dengan air mengalir dengan hati-hati. Akar yang telah bersih kemudian dipotong dengan ukuran ± 2 cm. Potongan akar dimasukkan kedalam larutan yang mengandung 1% natrium hipoklorit. Akar yang berada di dalam larutan tersebut kemudian dikocok dengan keras selama 5 menit untuk mendapatkan telur *M. incognita*. Telur yang diperoleh kemudian disaring menggunakan saringan dengan ukuran 500 mesh, dan dibilas sampai bau natrium hipoklorit hilang. Telur yang terdapat di saringan kemudian dimasukkan ke dalam cawan sirakus, lalu diinkubasi selama 5 hari agar menetas. Nematoda J2 yang baru menetas disimpan pada suhu 4 °C sampai dengan digunakan untuk pengujian (Coolen 1979).

Uji Aktivitas Nematisidal

Sebanyak 40 J2 *M. incognita* di dalam 1 mL akuades dimasukkan ke dalam botol kaca. Suspensi tersebut kemudian dicampur dengan rebusan daun, batang, dan buah tithonia dengan konsentrasi setiap rebusan adalah 10%, 20%, 30%, dan 50%. Sebagai kontrol suspensi diberi akuades steril dengan konsentrasi yang sama dengan perlakuan. Dua puluh empat jam setelah perlakuan nematoda di dalam botol disaring menggunakan saringan berukuran 500 mesh dan dicuci hingga bersih. Nematoda yang telah dicuci kemudian dimasukkan ke cawan sirakus untuk diamati. Pengamatan dilakukan 12 jam dan 24 jam setelah perlakuan (Nitao *et al.* 1999).

Konfirmasi Mortalitas Nematoda

Nematoda yang mati dan inaktif seringkali susah dibedakan karena sama-sama tidak menunjukkan aktivitas (bergerak). Uji konfirmasi bertujuan agar tidak terdapat kekeliruan dalam melakukan penghitungan mortalitas nematoda. Sebanyak 40 g NaOH dilarutkan ke dalam 1 liter akuades. Larutan tersebut diteteskan ke suspensi yang mengandung nematoda dengan perbandingan 1:100 (v/v). Setelah ditetesi NaOH, suspensi diinkubasi selama 5 menit. Nematoda yang inaktif akan kembali aktif setelah ditetesi NaOH. Nematoda yang masih hidup akan bergerak aktif kembali atau akan menunjukkan bentuk tubuh yang tidak lurus, sedangkan nematoda yang mati akan terdeteksi bentuk tubuhnya lurus (Harada & Yoshiga 2015; Xiang & Lawrence 2016).

Analisis Statistik

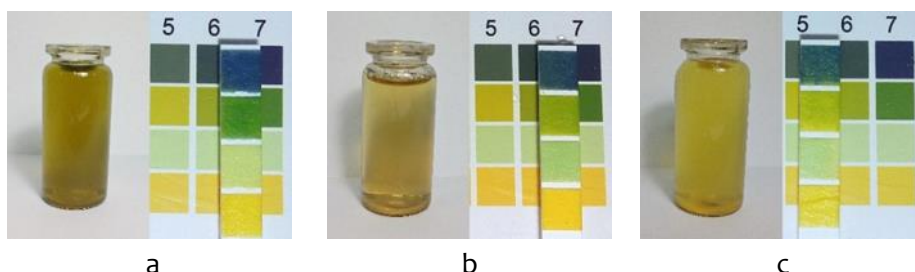
Analisis data dilakukan pada akhir pengamatan menggunakan analisis ragam pada taraf α 0.05. Apabila berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji DMRT pada taraf 5%. Aplikasi yang digunakan untuk analisis adalah DSAASTAT versi 1.021.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman tithonia dipilih sebagai bahan dalam percobaan karena tanaman ini mudah ditemukan di Indonesia. Tithonia memiliki nilai ekonomi yang rendah, dan jarang dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Biasanya tithonia tumbuh secara liar di pekarangan, atau ditepian kebun, sawah, dan jalan. Beberapa petani menganggap tanaman ini sebagai gulma karena pertumbuhannya yang cepat dan sering tumbuh di sekitar tanaman utama (Barus 2003).

Pemanfaatan tithonia dalam dunia pertanian masih relatif sedikit. Meskipun belum banyak dimanfaatkan, tanaman tithonia memiliki potensi sebagai mulsa (Akbar *et al.* 2014), bahan dasar pembuatan kompos, dan pupuk hijau (Surya *et al.* 2013; Pramudika *et al.* 2014). Potensi lainnya yang dimiliki tanaman ini adalah sebagai insektisida nabati. Ekstrak tanaman ini telah diketahui efektif mengendalikan *Telfairia occidentalis* (Akanbi *et al.* 2007). Ekstrak ethanol daun tithonia dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Penicillium atrovenetium*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidium* dan *Fusarium flocciferum* (Liasu & Ayandele 2008). Penelitian di Kenya menunjukkan ekstrak tithonia berpotensi sebagai bahan pengendali rayap (Adoyo *et al.* 1997).

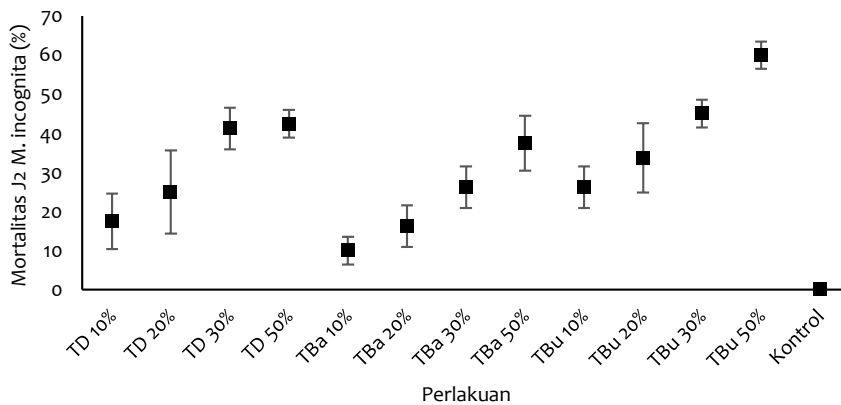
Hasil rebusan daun, batang, dan buah tithonia memiliki warna yang berbeda. Rebusan daun berwarna hijau tua kecokelatan dan keruh, rebusan batang berwarna hijau kekuningan dan sedikit keruh, sedangkan rebusan bunga berwarna kuning dan sedikit keruh. Nilai pH dari rebusan daun dan batang berkisar antara 6 sampai dengan 7, sedangkan rebusan bunga berkisar antara 5 sampai dengan 6. Perbedaan tersebut diduga karena perbedaan kandungan kimia yang terkandung di dalam setiap rebusan. Lebih lanjut hasil rebusan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Rebusan daun (a), batang (b), dan bunga (c) tithonia menunjukkan warna dan pH yang berbeda

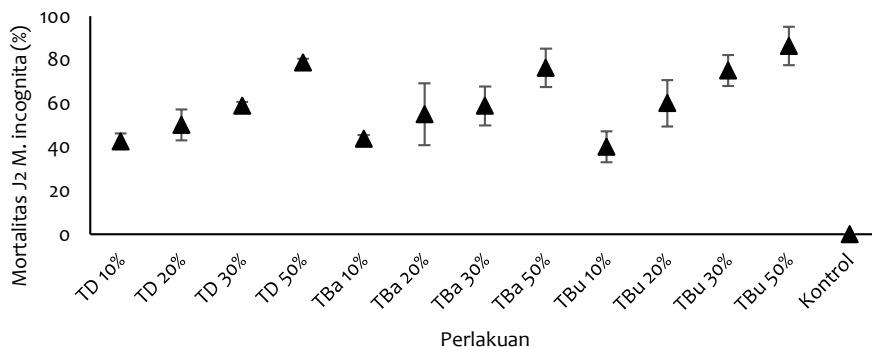
Aplikasi rebusan daun, batang, dan daun tithonia pada berbagai konsentrasi menunjukkan mampu membunuh *J2 M. incognita* antara 10% sampai dengan 60%. Pada setiap bagian tanaman (daun/batang/bunga) menunjukkan mortalitas nematoda semakin tinggi pada aplikasi rebusan dengan konsentrasi yang makin tinggi. Rebusan daun mampu membunuh *J2 M. incognita* 17.5% sampai dengan 42.5%, rebusan batang mampu membunuh 10% sampai dengan 37.5%, dan rebusan bunga mampu membunuh 26.25% sampai dengan

60%. Lebih lanjut keefektifan rebusan tithonia dalam membunuh *J2 M. incognita* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2 Mortalitas *J2 M. incognita* pada perlakuan rebusan daun, batang, dan bunga tithonia dengan berbagai konsentrasi 12 jam setelah perlakuan (Keterangan; TD: rebusan daun tithonia, TBa: rebusan batang tithonia, TBu: rebusan bunga tithonia)

Rebusan daun, batang, dan bunga tithonia lebih efektif dalam membunuh *J2 M. incognita* setelah diaplikasikan 24 jam. Selama 24 jam rebusan tithonia mampu membunuh 40% sampai dengan 86.25% *J2 M. incognita*. Mortalitas rebusan daun berkisar antara 42.5% sampai dengan 78.75%, rebusan batang 43.75% sampai dengan 76.25%, dan rebusan bunga 40% sampai dengan 86.25%. Mortalitas *J2 M. incognita* pada perlakuan 24 jam terdapat pada Gambar 3.



Gambar 3 Mortalitas *J2 M. incognita* pada perlakuan rebusan daun, batang, dan bunga tithonia dengan berbagai konsentrasi 24 jam setelah perlakuan (Keterangan; TD: rebusan daun tithonia, TBa: rebusan batang tithonia, TBu: rebusan bunga tithonia)

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun, batang, dan bunga tithonia pada berbagai konsentrasi memiliki potensi mengurangi jumlah inokulum *J2 M. incognita*. Secara statistik pengamatan 12 jam setelah perlakuan menunjukkan seluruh perlakuan kecuali rebusan batang pada konsentrasi 10% berbeda dengan kontrol. Hasil terbaik terdapat pada perlakuan menggunakan rebusan bunga tithonia pada konsentrasi 50% (Tabel 1a). Aplikasi selama 24 jam memberikan hasil yang relatif sama, yaitu seluruh perlakuan berbeda dengan kontrol. Rebusan bunga tithonia juga menunjukkan hasil terbaik pada aplikasi selama 24 jam (Tabel 1b).

Tabel 1 Mortalitas *J2 M. incognita* pada berbagai perlakuan rebusan tanaman tithonia selama 12 jam (a), dan 24 jam (b)

Perlakuan	Mortalitas (%)	Perlakuan	Mortalitas (%)
a		b	
Kontrol 10%	0 a	Kontrol 10%	0 a
Kontrol 20%	0 a	Kontrol 20%	0 a
Kontrol 30%	0 a	Kontrol 30%	0 a
Kontrol 50%	0 a	Kontrol 50%	0 a
TBa 10%	10 ab	TBu 10%	40 b
TBa 20%	16.25 bc	TD 10%	42.5 b
TD 10%	17.5 bc	TBa 10%	43.75 bc
TD 20%	25 cd	TD 20%	50 bcd
TBa 30%	26.25 cde	TBa 20%	55 bcd
TBu 10%	26.25 cde	TBa 30%	58.75 cd
TBu 20%	33.75 cde	TD 30%	58.75 cd
TBa 50%	37.5 ef	TBu 20%	60 d
TD 30%	41.25 f	TBu 30%	75 e
TD 50%	42.5 f	TBa 50%	76.25 e
TBu 30%	45 f	TD 50%	79.375 e
TBu 50%	60 g	TBu 50%	86.25 e

Keterangan: TD (rebusan daun tithonia), TBa (rebusan batang tithonia), TBu (rebusan bunga tithonia). Angka-angka pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada p-value 0.05 (uji selang berganda Duncan).

Rebusan daun, batang, dan bunga tithonia efektif membunuh *J2 M. incognita* karena tithonia mengandung senyawa antimikroba. Tithonia juga diketahui mengandung saponin pada bagian batang dan bunganya (Ogundare 2007). Saponin bersifat toksik terhadap hewan berdarah dingin. Saponin juga dapat menurunkan tegangan permukaan membran sel sehingga permeabilitas membran sel meningkat. Saat permeabilitas membran meningkat secara tidak terkendali maka akan terjadi kebocoran sel, selanjutnya terjadi

kematian. Saponin juga diketahui dapat menurunkan aktivitas enzim protease dalam saluran pencernaan serangga (Francis *et al.* 2002; Mandal *et al.* 2005; Chen 2008).

Hasil pengamatan menunjukkan nematoda yang diberi perlakuan menggunakan rebusan daun, batang, dan bunga tithonia tidak mengalami kerusakan tubuh. Kematian nematoda diduga karena adanya senyawa yang bersifat racun di dalam rebusan daun, batang, dan bunga tithonia. Lebih lanjut gambar nematoda yang mati karena rebusan tithonia terdapat pada Gambar 4.

Beberapa komponen utama pada ekstrak daun tithonia adalah asam palmiat, 9-pentadikadien-1-ol, benzil benzoat, dan sesquiterpen lakton (Moronkola *et al.* 2007; Chagas-Paula *et al.* 2012). Senyawa-senyawa aktif tersebut diduga juga berperan dalam memberi efek mortalitas terhadap *J2 M. incognita*. Senyawa lainnya seperti flavonoid dan terpenoid juga diketahui mampu mempengaruhi sistem fisiologis mikroba seperti nematoda. Terpenoid diketahui dapat menjadi racun kontak dan racun perut bagi beberapa jenis serangga. Keberadaan terpenoid akan mengganggu sistem syaraf serangga, dan menyebabkan kematian (Sachs *et al.* 1996; Isman 2006).



Gambar 4 *J2 M. incognita* yang mati karena perlakuan rebusan daun, batang, dan bunga tithonia tidak menunjukkan kerusakan pada tubuhnya

KESIMPULAN

Penelitian ini memberikan informasi baru bahwa rebusan daun, batang, dan bunga tithonia memiliki aktivitas nematisidal terhadap *J2 M. incognita*. Rebusan bunga tithonia dengan konsentrasi 50% memiliki performa terbaik dalam mengendalikan populasi *J2 M. incognita*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adedire C, Akinneye J. 2004. Biological activity of tree marigold, *Tithonia diversifolia*, on cowpea seed bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Annals of Applied Biology*. 144(2):185-189. Doi: 10.1111/j.1744-7348.2004.tb00332.x
- Adoyo F, Mukalama JB, Enyola M. 1997. Using *Tithonia* concoctions for termite control in Busia District, Kenya. *ILEIA Newsletter*. 13(4):24-25.

- Akanbi W, Adebayo T, Togun O, Adeyeye A, Olaniran O. 2007. The use of compost extract as foliar spray nutrient source and botanical insecticide in *Telfairia occidentalis*. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(5):642-652.
- Akbar MRA, Nugroho A, Sudiarso S. 2014. Pengaruh mulsa organik pada gulma dan tanaman kedelai (*Glycine max* L.) Var Gema. *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(6):478-485.
- Barus E. 2003. *Pengendalian gulma di perkebunan, efektivitas dan efisiensi aplikasi herbisida*. Bekasi (ID): Kanisius.
- Carneiro RM, Tigano MS, Randig O, Almeida MRA, Sarah J-L. 2004. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp.(Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. *Nematology*. 6(2):287-298. Doi: 10.1163/1568541041217942.
- Chagas-Paula DA, Oliveira RB, Rocha BA, Da Costa FB. 2012. Ethnobotany, chemistry, and biological activities of the genus *Tithonia* (Asteraceae). *Chemistry & biodiversity*. 9(2):210-235. Doi: 10.1002/cbdv.201100019.
- Chariandy C, Seaforth CE, Phelps R, Pollard G, Khambay B. 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *Journal of Ethnopharmacology*. 64(3):265-270. Doi: 10.1016/S0378-8741(98)00130-5.
- Chen MS. 2008. Inducible direct plant defense against insect herbivores: a review. *Insect science*. 15(2):101-114. Doi: 10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x.
- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA. 2006. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*. 52(1):375-400. Doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091407.
- Coolen W. 1979. Methods for extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. Di dalam: Perry RN, Moens M, Starr JL, editor. *Root-knot nematodes*. Cambridge (USA): CABI. Hlm:317-329.
- Daras U, Pranowo D. 2009. Kondisi kritis lada putih Bangka Belitung dan alternatif pemulihannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(1):1-6.
- Elya B, Shodiq AM. 2012. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun cincau hijau rambat (*Cyclea barbata* Miers.) serta identifikasi golongan senyawa dari fraksi yang paling aktif. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 8(2):1-6.
- Francis G, Kerem Z, Makkar HP, Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*. 88(06):587-605. Doi: 10.1079/BJN2002725.
- Harada Y, Yoshiga T. 2015. Distinguishing between inactivated and dead second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* using the NaOH method. *Nematological Research*. 45(1):51-55. Doi: 10.3725/jjn.45.51.
- Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. 51:45-66. Doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151146.

- Kagale S, Marimuthu T, Thayumanavan B, Nandakumar R, Samiyappan R. 2004. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 65(2):91-100. Doi: 10.1016/j.pmpp.2004.11.008.
- Liasu M, Ayandele A. 2008. Antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts from *Tithonia diversifolia* and *Bryum coronatum* collected from Ogbomoso, Oyo state, Nigeria. *Advances in Natural and Applied Sciences*. 2(1):31-34.
- Mandal P, Babu SS, Mandal N. 2005. Antimicrobial activity of saponins from *Acacia auriculiformis*. *Fitoterapia*. 76(5):462-465. Doi: 10.1016/j.fitote.2005.03.004.
- McClure MA, Ellis K, Nigh EL. 1974. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne incognita* in resistant cotton. *Journal of Nematology*. 6(1):21-26.
- Moronkola DO, Ogunwande IA, Walker TM, Setzer WN, Oyewole IO. 2007. Identification of the main volatile compounds in the leaf and flower of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *Journal of Natural Medicines*. 61(1):63-66. Doi: 10.1007/s11418-006-0019-5.
- Neog P, Bora B. 2007. Effect of inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on Patchouli. *Annals of Plant Protection Sciences*. 15(1):276-277.
- Nitao JK, Meyer SL, Chitwood DJ. 1999. In-vitro assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode-antagonistic fungal compounds. *Journal of Nematology*. 31(2):172-183.
- Ogundare A. 2007. Antimicrobial effect of *Tithonia diversifolia* and *Jatropha gossypifolia* leaf extracts. *Trends in Applied Sciences Research*. 2(2):145-150.
- Olabode O, Sola O, Akanbi W, Adesina G, Babajide P. 2007. Evaluation of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) a gray for soil improvement. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(4):503-507.
- Pavela R. 2007. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology*. 1(1):47-52.
- Pramudika G, Tyasmoro SY, Suminarti NE. 2014. Kombinasi kompos kotoran sapi dan paitan (*Tithonia diversifolia* L.) pada pertumbuhan dan hasil tanaman terung (*Solanum melongena* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 2(3):253-259.
- Ravindra H, Sehgal M, Manu T, Murali R, Latha M, Narasimhamurthy H. 2014. Incidence of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in black pepper in Karnataka. *Journal of Entomology and Nematology*. 6(4):51-55. Doi: 10.5897/JEN2013.0089.
- Sachs E, Benedict J, Taylor J, Stelly D, Davis S, Altman D. 1996. Pyramiding CryIA (b) insecticidal protein and terpenoids in cotton to resist tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*. 25(6):1257-1266. Doi: 10.1093/ee/25.6.1257.
- Sharma RD. 1977. Nematodes of the cocoa region of Bahia, Brazil: VI. Nematodes associated with tropical fruit trees. *Sociedade Brasileira de Nematologia*. 2:109-125.

- Sosa-Moss C, Barker K, Daykin M. 1983. Histopathology of selected cultivars of tobacco infected with *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 15(3):392-397.
- Surya BSLRB, Raja LRBSL, Damanik B, Ginting J. 2013. Respons pertumbuhan dan produksi kacang tanah terhadap bahan organik *Tithonia diversifolia* dan pupuk SP-36. *Agroekoteknologi*. 1(3):725-731.
- Swibawa IG. 2014. Komunitas nematoda pada tanaman kopi (*Coffea Canephora* Var. Robusta) muda di Kabupaten Tanggamus Lampung. *Agrotrop*. 4(2):139-147.
- Xiang N, Lawrence KS. 2016. Optimization of in vitro techniques for distinguishing between live and dead second stage juveniles of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita*. *PloS One*. 11(5):1-13. Doi: 10.1371/journal.pone.0154818.
- Yulianti T. 2015. Pengelolaan patogen tular tanah untuk mengembalikan kejayaan tembakau Temanggung di Kabupaten Temanggung. *Perspektif*. 8(1):1-16.