

**PENGARUH BERBAGAI EKSTRAK METANOL TUMBUHAN TERHADAP  
MORTALITAS JUVENIL INSTAR-2 DAN PENETASAN TELUR  
NEMATODA SISTA KENTANG (*Globodera rostochiensis*)**

***THE EFFECT OF SOME PLANT METHANOL EXTRACT TO MORTALITY  
OF THE SECOND-STAGE JUVENILE AND HATCHING  
OF POTATO CYST NEMATODE (*Globodera rostochiensis*)***

**Iis Nur Asyiah**

***Mahasiswa Program Doktor Biologi ITB, Bandung, Indonesia***

***email : iisnz@mail.lycos.com***

**Elin Yulinah, Mumu Sutisna, dan Buchari**

***Dosen Fakultas MIPA ITB, Bandung, Indonesia***

**ABSTRACT**

*The research was conducted to know the influence of methanol extracts from 19 plant species to the second-stage juvenil (J2) mortality and to the hatching of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, the new pest of potato in Indonesia.*

*The research was conducted by using complete random design, where each treatment was repeated 3 times. Cyst hatching was conducted by using  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M. Data obtained to be analyzed with the ANOVA and continued with the DMRT 5%.*

*The result indicated that from 19 species of examined plant, clove flower and leaf methanol extract with concentration 10.000 ppm inflicted 100% and 96,7% J2 mortality and others inflicted <50% J2 mortality. Clove flower and leaf methanol extract permanently inhibited of cyst hatching, methanol extract of *Andrograpis puniculata*, *Capsium frutescens*, *Chrysanthemum* sp., and *Allium sativum* inhibited of cyst hatching non permanently, while other plants extract methanol didn't inhibit of cyst hatching.*

**Key word:** *Globodera rostochiensis, plants extract methanol,*

**INTISARI**

Penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol dari 19 spesies tumbuhan terhadap mortalitas stadium juvenil instar-2 (J2) dan penetasan sista nematoda sista kentang, *Globodera rostochiensis* yang merupakan nematoda parasit baru pada pertanian kentang di Indonesia.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Penetasan telur dalam sista dilakukan dengan menggunakan  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik analisis variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada aras 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 19 spesies tumbuhan yang diuji, ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh (*Eugenium aromaticum*) masing-masing dengan konsentrasi 10.000 ppm menyebabkan mortalitas J2 100% dan 96,7% sedangkan ekstrak metanol tumbuhan lain hanya menyebabkan mortalitas J2 di bawah 50%. Ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh menghambat penetasan sista secara permanen, ekstrak metanol tumbuhan *Andrograpis puniculata*,

*Capsium frutescens*, *Chrysanthemum* sp., dan *Allium sativum* hanya menghambat penetasan telur sementara, sedangkan ekstrak metanol tumbuhan lain sama sekali tidak menghambat penetasan telur dalam sista.

Kata kunci : *Globodera rostochiensis*, ekstrak metanol tumbuhan

## PENGANTAR

Pada awal tahun 2003, untuk pertama kalinya ditemukan serangan nematoda sista kentang, *Globodera rostochiensis* pada perakaran kentang di Indonesia. Diduga nematoda tersebut terbawa ke Indonesia melalui benih impor dari Eropa. Nematoda sista kentang (NSK) sulit dikendalikan, karena tubuh nematoda betina dewasa di dalam tanah akan mengalami penyamakan membentuk sista berwarna coklat, yang berisi 200 sampai 500 telur. Telur dalam sista masih viabel selama 20 sampai 30 tahun (Sing dan Sitaramaiah, 1994; Cook dan Noel, 2002). Telur dalam sista *G. rostochiensis* hanya dapat menetas bila ada rangsangan dari eksudat akar tanaman inang, yaitu kentang (*Solanum tuberosum*) (Rawsthorne dan Brodie, 1986). Walaupun demikian beberapa peneliti menggunakan senyawa anorganik seperti  $ZnSO_4$  sebagai larutan penetas telur dari dalam sista (González dan Estévez-Braun, 1997).

Kehilangan hasil umbi kentang akibat serangan NSK bisa mencapai 80%. Oleh karena itu pengendalian nematoda ini harus segera dilakukan. Metode pengendalian konvensional biasanya menggunakan *low-specific biocidal compounds* yang berperan sebagai racun saraf, seperti karbamat, organofosfat, dan senyawa halogen anorganik. Senyawa-senyawa tersebut banyak yang menyebabkan problema bagi lingkungan. Sebagai contoh adalah metil bromida yang dapat merusak lapisan ozon, sehingga produksinya dibatasi (Ko *et al.*, 1994; Montreal Protocol, 1992). Oleh sebab itu, banyak peneliti yang mencoba mengembangkan senyawa-

fitokimia sebagai dasar dalam pengendalian nematoda. Sebagian besar senyawa fitokimia lebih aman terhadap lingkungan maupun manusia dibanding nematisida kimia konvensional (Chitwood, 2002).

Berbagai tanaman seperti *Tagetes* sp. (Ploeg, 1999), *Chrysanthemum* sp., *Brassica* sp., *Ricinus communis*, *Crotalaria* sp., *Cucurbita moschata*, *Annona squamosa*, *A. muricata*, *Sesamum indicum*, *Brucea javanica*, *Capsicum frutescens*, *Allium sativum*, *Euphorbia hirta*, *Nerium oleander* (Ferris and Zheng, 1999), *Syzygium aromaticum* (Osman and Viglierchio, 1988) dan lain-lain mengandung senyawa-senyawa yang terbukti toksik terhadap nematoda *Meloidogyne* spp, dan atau *Pratylenchus* spp. *G. rostochiensis* satu sub ordo dengan *M. javanica*. Berdasarkan kesamaan taksonomi ini kemungkinan senyawa-senyawa yang toksik terhadap *Meloidogyne* spp., juga toksik terhadap *G. rostochiensis*. Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa ekstrak metanol tumbuhan terhadap mortalitas juvenil instar-2 (J2) dan penetasan telur *G. rostochiensis*.

## BAHAN DAN METODE

Pada penelitian ini digunakan 19 jenis tumbuhan yang dikenal mengandung senyawa nematotoksik. Pembuatan ekstrak metanol tumbuhan dengan cara maserasi dilakukan di Laboratorium Farmakognosi, Farmasi ITB, sedangkan uji hayati dilakukan di Laboratorium Hortikultura UPTD Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan-

Hortikultura, Bojongsoang, Bandung, Jawa Barat. Sista *Globodera rostochiensis* yang digunakan berasal dari Pasirjambu Bandung, yang diambil pada bulan Juli 2003. Sista diekstrak dari tanah dengan menggunakan metode Fenwick. Sista yang digunakan adalah yang berukuran relatif sama dan berwarna coklat tua.

**Penetasan telur.** Untuk mendapatkan J2 *G. Rostochiensis*, penelitian ini mengacu pada metode González dan Estévez-Braun (1997), yaitu sista direndam dengan air dalam cawan petri berdiameter 3,5 cm. Setelah satu minggu air diganti dengan larutan  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M (sebagai larutan penetas telur), kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu 20°C. Setiap dua hari sekali juvenil diambil dan larutan  $ZnSO_4$  diganti dengan yang baru. Juvenil yang digunakan dalam percobaan adalah yang menetas dalam kurun waktu dua minggu setelah perendaman dalam larutan penetas.

**Pengujian mortalitas juvenil instar-2 (J2) *G. Rostochiensis*.** Metode pengujian mengacu pada metode yang dilakukan González dan Estévez-Braun (1997). Dua puluh J2 *G. rostochiensis* diletakkan dalam cawan petri berdiameter 3,5 cm, kemudian direndam dengan 1 mL ekstrak metanol tumbuhan yang telah dilarutkan dalam air dengan konsentrasi 10.000 ppm, sebagai kontrol dua puluh J2 direndam dalam 1 mL air destilasi. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Jumlah J2 yang mati diamati dan dihitung di bawah mikroskop, dinyatakan dalam persen, dengan asumsi bahwa nematoda dianggap mati ketika tidak bergerak dalam larutan dan tidak bereaksi ketika disentuh dengan ujung pancing nematoda (Buskov *et al.*, 2002). Komponen-komponen utama ekstrak metanol tumbuhan yang terbukti menyebabkan mortalitas tertinggi, diuji lanjut terhadap mortalitas J2 dengan konsentrasi 10.000 ppm untuk mengetahui-

komponen aktifnya.

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik analisis variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada tingkat kepercayaan 95%.

**Pengujian penetasan telur *G. rostochiensis*.** Metode pengujian mengacu pada metode yang dilakukan González dan Estévez-Braun (1997). Empat sista *G. rostochiensis* yang telah direndam dalam air selama satu minggu ditaruh dalam cawan petri berdiameter 3,5 cm, kemudian direndam dalam ekstrak metanol tumbuhan yang dilarutkan dalam larutan  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M dengan konsentrasi 10.000 ppm (selanjutnya disebut larutan uji), disimpan dalam inkubator pada suhu 20°C. Sebagai kontrol sista direndam dalam larutan  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M saja, dan masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Setiap dua hari sekali J2 dihitung di bawah mikroskop dan larutan uji diganti dengan yang baru. Setelah 15 hari, larutan uji diganti dengan larutan  $ZnSO_4$   $10^{-2}$  M untuk mengetahui apakah penghambatan penetasan telur bersifat permanen atau sementara. Pada akhir pengamatan, sista diwarnai dengan cryosidin 0,05% selama satu minggu, kemudian dipindahkan ke dalam air, telur dikeluarkan dari sista, setelah 12 jam diamati di bawah mikroskop. Telur atau J2 yang terwarnai sebagian atau seluruhnya merupakan telur atau J2 yang telah mati (Southey, 1985).

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik analisis variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh masing-masing dengan konsentrasi 10.000 ppm menyebabkan mortalitas J2 berturut-turut 100% dan 96,67%, dan berbeda nyata dengan-

Tabel 1. Pengaruh beberapa ekstrak metanol tumbuhan terhadap persentase mortalitas J2 *Globodera rostochiensis*

Jenis Ekstrak	Persentase mortalitas J2
Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	0,00 a
Daun <i>Nicotiana tabacum</i>	1,67 ab
Biji <i>Brucea javanica</i>	1,67 ab
Daun <i>Lantana camara</i>	3,33 ab
Akar <i>Sesamum indicum</i>	3,33 ab
Herba <i>Andrograpis puniculata</i>	5,33 ab
Daun <i>Imperata cylindrica</i>	6,67 ab
Herba <i>Euphorbia hirta</i>	6,67 ab
Buah <i>Capsicum frutescens</i>	10,00 ab
Biji <i>Ricinus communis</i>	10,00 ab
Biji <i>Annona muricata</i>	10,00 ab
Kontrol	10,00 ab
Kulit batang <i>Albizia chinensis</i>	11,33 ab
Kulit batang <i>Annona squamosa</i>	11,67 ab
Kulit batang <i>Annona muricata</i>	11,67 ab
Bunga <i>Chrysanthemum</i> sp	13,33 ab
Buah <i>Cucurbita moschata</i>	13,33 ab
Daun <i>Eugenium aromaticum</i> tanpa minyak atsiri	15,00 ab
Batang <i>Sesamum indicum</i>	16,67 ab
Daun <i>Nerium oleander</i>	16,67 ab
Ubi <i>Manihot utilissima</i>	18,33 ab
Biji <i>Annona squamosa</i>	24,00 b
Daun <i>Brassica esculenta</i>	48,33 c
Umbi <i>Allium sativum</i>	61,00 c
Daun <i>Eugenium aromaticum</i>	96,67 d
Bunga <i>Eugenium aromaticum</i>	100,00 d

Keterangan : angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menyatakan tidak beda nyata menurut DMRT pada aras 5%

mortalitas J2 lainnya (Tabel 1). Ekstrak metanol daun cengkeh yang sudah dipisahkan dengan minyak atsirinya, ternyata hanya menyebabkan mortalitas J2 sebesar 15%, menunjukkan bahwa senyawa yang bersifat nematisida dalam ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh adalah komponen dari minyak atsiri.

Percobaan lanjutan dengan menggunakan komponen-komponen utama minyak cengkeh yaitu eugenol, metil eugenol dan kariofilen berturut-turut menyebabkan mortalitas J2 100% 8,33% dan 13,33 % (Tabel 2). Hal ini membuktikan bahwa senyawa yang-

bersifat nematisida dalam minyak cengkeh adalah eugenol. Hasil ini sesuai dengan penelitian Sangwan *et al.* (1990) bahwa salah satu senyawa fitokimia yang terbukti mempunyai aktivitas nematisida adalah eugenol yang berasal dari minyak cengkeh. Minyak cengkeh sama baiknya dengan eugenol dalam membunuh juvenil *Meloidogyne javanica* dan *Heterodera cajani* di laboratorium.

Tabel 2. Pengaruh komponen minyak cengkeh terhadap persentase mortalitas J2 *Globodera rostochiensis*

Komponen minyak cengkeh	Persentase mortalitas J2
Minyak cengkeh	98,33 c
Eugenol	100,00 c
Metil eugenol	8,33 ab
Kariofilen	13,33 b
Kontrol	6,67 a

Keterangan : angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menyatakan tidak beda nyata menurut DMRT pada aras 5%

Tabel 3. Pengaruh beberapa ekstrak metanol tumbuhan terhadap penghambatan penetasan sista *Globodera rostochiensis* pada hari ke 3, 6, 9, 12 dan 15

Jenis Ekstrak	Jumlah J2 yang menetas/hari pengamatan				
	3	6	9	12	15
Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	20,7 a
Daun <i>Nicotiana tabacum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	15,0 a
Biji <i>Brucea javanica</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,3 a
Daun <i>Lantana camara</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	51,0 b
Herba <i>Andrograpis puniculata</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Daun <i>Imperata cylindrica</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	5,7 a
Herba <i>Euphorbia hirta</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,3 a
Buah <i>Capsicum frutescens</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Biji <i>Ricinus communis</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	18,7 a
Biji <i>Annona muricata</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	13,3 a
Kontrol	0,7 b	0,7 b	0,7 b	6,0 b	10,3 a
Kulit batang <i>Albizia chinensis</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,0 a
Bunga <i>Chrysanthemum</i> sp	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Daun <i>Nerium oleander</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	29,3 ab
Biji <i>Annona squamosa</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,3 a
Daun <i>Brassica esculenta</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	5,0 a
Umbi <i>Allium sativum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Daun <i>Eugenium aromaticum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Bunga <i>Eugenium aromaticum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menyatakan tidak beda nyata menurut DMRT pada aras 5%

Cara kerja eugenol terhadap J2 belum diketahui, kemungkinan melalui sistem respirasi. Eugenol merupakan senyawa aromatik turunan fenil propanoid (Robinson, 1995), senyawa-senyawa fenol atau derivat-

aromatik berperan menghambat pada tingkat mitokondria (*mitochondrial level inhibiting*) atau pelepasan respirasi (*uncoupling respiration*) (Ravanel *et al.*, 1982).

Tabel 4. Pengaruh beberapa ekstrak metanol tumbuhan terhadap penghambatan penetasan *Globodera rostochiensis* pada hari ke 18, 21, 24, 27 dan 30

Jenis Ekstrak	Jumlah J2 yang menetas/hari pengamatan				
	18	21	24	27	30
Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	-	-	-	-	-
Daun <i>Nicotiana tabacum</i>	-	-	-	-	-
Biji <i>Brucea javanica</i>	1,0 a	1,0 a	-	-	-
Daun <i>Lantana camara</i>	-	-	-	-	-
Herba <i>Andrograpis puniculata</i>	1,0 a	13,0 a	-	-	-
Daun <i>Imperata cylindrica</i>	-	-	-	-	-
Herba <i>Euphorbia hirta</i>	2,3 a	-	-	-	-
Buah <i>Capsicum frutescens</i>	1,0 a	9,0 a	-	-	-
Biji <i>Ricinus communis</i>	-	-	-	-	-
Biji <i>Annona muricata</i>	-	-	-	-	-
Kontrol	19,0 b	54,3 b	54,0 b	42,7 b	35,3 b
Kulit batang <i>Albizia chinensis</i>	6,7 a	-	-	-	-
Bunga <i>Chrysanthemum</i> sp	1,7 a	50,7 b	-	-	-
Daun <i>Nerium oleander</i>	-	-	-	-	-
Biji <i>Annona squamosa</i>	0,7 a	4,3 a	-	-	-
Daun <i>Brassica esculenta</i>	-	-	-	-	-
Umbi <i>Allium sativum</i>	5,0 a	-	-	-	-
Daun <i>Eugenium aromaticum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Bunga <i>Eugenium aromaticum</i>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

Keterangan : angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menyatakan tidak beda nyata menurut DMRT pada aras 5%  
 - : pengamatan tidak dilanjutkan karena sudah tidak menghambat penetasan telur

Pengamatan penghambatan penetasan telur dalam sista oleh beberapa ekstrak metanol tumbuhan (Tabel 3 dan Tabel 4), menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh secara nyata menghambat penetasan telur dalam sista. Setelah larutan uji diganti dengan larutan  $ZnSO_4$  yaitu pada hari ke 15 ternyata telur tidak mampu menetas, ini menunjukkan penghambatan penetasan bersifat permanen, diperkuat dengan pewarnaan cryosidin yang menunjukkan juvenil dan telur dalam sista terwarnai sempurna.

Ekstrak metanol tumbuhan lain (*Andrograpis puniculata*, *Capsium frutescens*, *Chrysanthemum* sp., dan *Allium sativum*), hanya menghambat sementara yaitu segera menetas setelah larutan uji diganti-

dengan larutan  $ZnSO_4$  pada hari ke 15, dan bahkan ada yang tidak menghambat sama sekali (ekstrak tumbuhan *Artemisia vulgaris*, *Nicotiana tabacum*, *Imperata cylindrica*, *Euphorbia hirta*, *Ricinus communis*, *Annona muricata*, *Albizia chinensis*, *Nerium oleander*, *Annona squamosa*, dan *Brassica esculenta*), yaitu tetap mampu menetas dalam larutan uji.

Respons metabolik J2 yang belum menetas terhadap larutan penetas sista (eksudat akar) adalah meningkatnya konsumsi oksigen (Atkinson dan Ballantyne, 1977a), turunnya harga energi adenylate (*fall in the adenylate energy charge*), dan naiknya level siklus adenine monophosphat (cAMP) (Atkinson *et al.*, 1987). Perubahan level cAMP

menunjukkan adanya hubungan antara hormon dan penyusun reseptor. Penggunaan lipid endogen oleh J2 meningkat sesaat sebelum menetas, dan ini bertepatan dengan peningkatan aktivitas locomotory (Robinson *et al.*, 1985). J2 bergerak ke segala arah dan mulai menggunakan stiletnya untuk menembus kulit telur, selanjutnya keluar dari sista (Doncastyer dan Seymour, 1973). Cara kerja eugenol terhadap penghambatan penetasan telur kemungkinan melalui penghambatan respons metabolik J2 yang belum menetas terhadap larutan penetas sista.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol bunga dan daun cengkeh masing-masing menyebabkan mortalitas J2 sebesar 100% dan 96,7% dan berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak lainnya (di bawah 50%), dan senyawa yang bersifat nematisida dalam ekstrak bunga dan daun cengkeh adalah eugenol. Ekstrak bunga dan daun cengkeh juga menghambat penetasan telur dalam sista. Ekstrak metanol tumbuhan *Andrograpis puniculata*, *Capsium frutescens*, *Chrysanthemum* sp., dan *Allium sativum* hanya menghambat penetasan telur sementara, sedangkan ekstrak metanol tumbuhan lain sama sekali tidak menghambat penetasan telur dalam sista.

Tulisan ini merupakan sebagian dari penelitian disertasi yang sedang dilaksanakan di Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung. Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dirjen DIKTI atas beasiswa BPPS yang telah diberikan selama studi S3, Kepala Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura, Jawa Barat yang telah memberikan izin penggunaan tempat dan alat pada peneliti dan Dr. Asep Kadarohman, dosen jurusan Kimia UPI Bandung atas bantuan minyak atsirinya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atkinson, H.J. & A.J. Ballantyne. 1977a. Changes in the Oxygen Consumption of Cysts of *Globodera rostochiensis* Associated with the Hatching of Juveniles. *Annals of Applied Biology*. 87: 159-166.
- Atkinson, H.J. & A.J. Ballantyne. 1977b. Changes in the Adenine Nucleotide Content of Cysts of *Globodera rostochiensis* Associated with the Hatching of Juveniles. *Annals of Applied Biology*. 87: 167-174.
- Atkinson, H.J., J.D. Taylor, & M. Fowler. 1987. Changes in the Second Stage Juveniles of *Globodra pallida* and *G. rostochiensis* as a Possible Quantitative Estimate of Field Populations. *Annals of Applied Biology*. 87: 407-414.
- Buskov, S., B. Serra, E. Rosa, H. Sorensen, & J.C. Sorensen. 2002. Effect of Intact Glucosinolates and Product Produced from Glucosinolates in Myrosinase Catalyzed Hydrolysis on the Potato Cyst Nematode (*Globodera rostochiensis* Cv. Woll) *J. Agric. Food Chem.* 50: 690-695
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical Based Strategies for Nematode Control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 221-249.
- Cook, R & G.R. Noel. 2002. *Cyst Nematodes : Globodera and Heterodera species in Plant Resistance to Parasitic Nematode* (eds. J.L. Starr, R. Cook, and J. Bridge). CAB International. Publ.
- Doncastyer, C.C., & M.K. Seymour. 1973. Exploration and Selection of Penetration Site by Tylenchida. *Nematologica*. 19: 137-145.

- Ferris, H. & L. Zheng. 1999. Plant Sources of Chinese Herbal Remedies: Effect on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*. 31: 241-263
- González, J.A. & A.E. Braun. 1997. Phytonematicidal Activity of Aromatic Compounds Related to Shikimate Pathways. *Pesticide bio Chemistry and Physiology*. 58: 193-197.
- Ko, M.K.W., N. Sze, & M.J. Prather. 1994. Protection of Ozon Layer. *Nature*. 367: 505.
- Montreal Protocol. 1992. *Methyl Bromide : Its Atmospheric Science, Technology and Economics*. Assessment Supplement. United Nations Environment Programme. Nairobi.
- Osman, A.A. & D.R. Viglierchio. 1988. Efficacy of Biologically Active Agents as Non-traditional Nematicides for *Meloidogyne javanica*. *Rev. Nématol.* 11: 93-98
- Ploeg, A.T. 1999. Greenhouse Studies on the Effect of Marigolds (*Tagetes* spp.) on Four *Meloidogyne* species. *J. Nematol.* 31: 62-69
- Ravanel, P., M. Tissout, & R. Douce. 1982. Uncoupling Activities of Chalcones and Dihydrochalcones on Isolated Mitochondrial from Potato Tubers and Mung Bean Hypocotyls. *Phytochemistry*. 21: 2845.
- Rawsthorne, D & B.B. Brodie. 1986. Relationship between Root Growth of Potato Root Diffusate Production and Hatching of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*. 18: 379-384.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung. p. 63-64.
- Robinson, M.P., H.J. Atkinson, & R.N. Perry. 1985. The Effect of Delayed Emergence on Infectivity of Juveniles of the Potato Cyst Nematode, *Globodera rostochiensis*. *Nematologica*. 31: 171-178.
- Sangwan, N.K., K.S. Dhindsa, K.K. Verma, & B.S. Verma. 1990. Nematicidal Activity of some Essential Plant Oils. *Pestic. Sci.* 28: 331-335.
- Sing, R.S & K. Sitaramaiah. 1994. *Plant Pathogens: The Plant Parasitic Nematodes*. Science Publ.Inc. USA. 156-174.
- Southey J.F. 1985. *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London. p. 45.